

## Détection de cibles pour la neuromodulation dans les maladies neurodégénératives : nouveaux apports de l'IRM de diffusion

Sophie Sébille

### ► To cite this version:

Sophie Sébille. Détection de cibles pour la neuromodulation dans les maladies neurodégénératives : nouveaux apports de l'IRM de diffusion. Sciences cognitives. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2017. Français. NNT : 2017PA066188 . tel-01663590

## HAL Id: tel-01663590 https://theses.hal.science/tel-01663590

Submitted on 14 Dec 2017

**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 DE DOCTORAT DE l'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

### Spécialité Sciences Cognitives

École doctorale nº 158 Cerveau Cognition Comportement (Paris)

Présentée et soutenue publiquement par

## Sophie Sébille

## Détection de cibles pour la neuromodulation dans les maladies neurodégénératives : nouveaux apports de l'IRM de diffusion

Soutenue le 20 septembre 2017 devant le jury composé de :

Rapporteurs :	Mr Habib Benali	Centre PERFORM, Université Concordia,
		Montréal, Canada
	Mme Claire HAEGELEN	Département de Neurochirurgie, CHRU
		Pontchaillou, Rennes, France
Examinateurs :	Mr Jean-François AUBRY	Institut Langevin, ESPCI ParisTech, Paris,
		France
	Mr Éric Bardinet	Institut du Cerveau et de la Moelle épiniére,
		Paris, France
	Mr Daniel RACOCEANU	Université pontificale catholique du Pérou,
		Laboratoire d'imagerie médicale, Lima, Pérou
Directrice de thèse :	Mme Chantal FRANÇOIS	Institut du Cerveau et de la Moelle épiniére,
		Paris, France

#### Résumé - Détection de cibles pour la neuromodulation dans les maladies neurodégénératives : nouveaux apports de l'IRM de diffusion

Le vieillissement de la population, lié à l'amélioration de l'espérance de vie, a vu émerger nombre de maladies liées à l'âge telles que les maladies neurodégénératives. Grâce aux nouvelles techniques d'imagerie, la neuromodulation peut être proposée à certains patients lorsque les traitements médicamenteux ne sont plus efficaces ou qu'ils entraînent des effets secondaires invalidants. L'objectif de cette thèse est de mieux caractériser les structures cérébrales pour optimiser le ciblage de la neuromodulation et, ainsi augmenter les bénéfices thérapeutiques pour les patients.

Le premier axe de recherche porte sur la région locomotrice mésencéphalique (MLR) qui est une cible de neuromodulation en cours d'évaluation pour les patients parkinsoniens souffrant de troubles de la marche et de l'équilibre. Nous avons, en premier lieu, exploré la connectivité de cette région et les résultats nous ont amené à considérer que le noyau pédonculopontin (PPN), qui est une région constituante de la MLR, est la cible de neuromodulation à privilégier. Or, une perte partielle de neurones cholinergiques du PPN a été montrée chez les patients parkinsoniens. Le second projet a donc consisté à étudier la topographie de la perte de neurones cholinergiques chez différents groupes pathologiques (patients parkinsoniens ou atteints de paralysie supranucléaire progressive) par rapport à des sujets sains. Nos résultats montrent que le maximum de densité des neurones cholinergiques chez tous les sujets se situe à +3 mm du début supérieur du PPN et serait la cible optimale de sa neuromodulation. Enfin, nous avons construit un atlas 3D du tronc cérébral humain sain, couplant analyses histologiques et acquisitions IRM d'un même spécimen post mortem. Il est déformable sur l'anatomie des patients afin de guider l'implantation d'électrode dans la MLR pour traiter les patients parkinsoniens, et de façon plus générale à déterminer avec le maximum de précision une cible chirurgicale au sein du tronc cérébral.

Le second axe de recherche concerne le noyau ventral intermédiaire (Vim) du thalamus qui est la cible de neuromodulation usuelle pour les tremblements essentiels. Nous avons appliqué, chez les mêmes sujets, différentes méthodes de ciblage du Vim utilisées dans la littérature puis comparé les localisations obtenues. Nous avons observé que les différences de distance entre les cibles étaient supérieures à 1.5 mm ce qui nous parait significatif et pouvant affecter les résultats de la neuromodulation. Il est à présent important d'évaluer ces méthodes pour choisir celle donnant un ciblage le plus proche de l'électrode choisie lors de la chirurgie et donnant les meilleurs résultats cliniques.

**Mots-clés :** stimulation cérébrale profonde, IRM de diffusion, maladie de Parkinson, région locomotrice mésencéphalique, tremblements essentiels, noyau ventral intermédiaire

Adresse du laboratoire : Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Hôpital Pitié Salpêtrière, 47 Boulevard Hôpital, 75013 Paris, France

Durée de la thèse : 3 ans, du 1er octobre 2014 au 30 septembre 2017

E-mail: sophie.sebille@laposte.net

#### Abstract - Detection of targets for neuromodulation in neurodegenerative diseases : new contributions of diffusion MRI

The aging of the population, linked to the improvement of life expectancy, has led to the emergence of many age-related diseases such as neurodegenerative diseases. Due to new imaging techniques, neuromodulation techniques can be proposed to some patients when medications are no longer effective or have invalidating side effects. The objective of this PhD is to better characterize brain structures in order to optimize neuromodulation targeting and thus increase the therapeutic benefits for patients.

The first area of research concerns the mesencephalic locomotor region (MLR), which is a neuromodulation target being evaluated for Parkinsonian patients who suffer from walking and balance disorders. We first explored the anatomical connectivity of this region and the results led us to consider the pedonculopontin nucleus (PPN), which is a part of the MLR, as the target of neuromodulation to privilege. However, partial loss of cholinergic neurons in the PPN has been shown in Parkinsonian patients. Thus, the second project consisted in studying the topography of the loss of cholinergic neurons in different pathological groups (patients with Parkinson's disease or with progressive supranuclear palsy) compared to healthy subjects. Our results show that the maximum density of cholinergic neurons in all the subjects is situated at +3 mm from the superior edge of the PPN and is the optimal target for its neuromodulation. Finally, we constructed a 3D atlas of the healthy human brainstem by combining histological analyses and MRI acquisitions of the same post mortem specimen. The atlas is deformable to the anatomy of each patient in order to guide the implantation of electrodes in the mesencephalic locomotor region to treat Parkinsonian patients and more generally to determine precise surgical target within the brainstem.

The second area of research concerns the ventral intermediate nucleus (Vim) of the thalamus, which is the usual neuromodulation target for essential tremors. We applied, to the same subjects, various targeting methods of the Vim used in the litterature and compared the locations. We found differences in distance between targets greater than 1.5 mm which we consider significant and which may affect the results of the neuromodulation. It is therefore important to evaluate these methods in order to choose the one that gives the best clinical outcome.

**Keywords :** deep brain stimulation, diffusion MRI, Parkinson's disease, mesencephalic locomotor region, essential tremors, ventral intermediate nucleus

**Laboratory adress :** Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Hôpital Pitié Salpêtrière, 47 Boulevard Hôpital, 75013 Paris, France

Duration of the PhD: 3 years, from October 1, 2014 to September 30, 2017

E-mail: sophie.sebille@laposte.net

### Liste des publications

#### Publications dans des revues internationales à comité de lecture :

Sébille S.B.\*, Belaid H.\*, Philippe A.C., André A., Lau B., François C., Karachi C., Bardinet E.. *Anato-mical evidence for functional diversity of the mesencephalic locomotor region of primates*. NeuroImage, 147(February 2017), 66–78. http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.12.011

Pujol S., Cabeen R., **Sébille S.B.**, Yelnik J., François C., Fernandez-Vidal S., Karachi C., Zhao Y., Cosgrove R., Jannin P., Kikinis R.\*, Bardinet E.\*. *In vivo Exploration of the Connectivity between the Subthalamic Nucleus and the Globus Pallidus in the Human Brain Using Multi-Fiber Tractography.* FR.tiers in Neuroanatomy, **2017**, 10, 1–12. http://doi.org/10.3389/fnana.2016.00119

#### Publications en cours d'écriture :

Sébille S.B., Rolland A.S., Bardinet E., Santin M.D.. Post mortem high resolution diffusion MRI for large specimen at 11.7 Tesla with 3D segmented echo-planar imaging.

Sébille S.B.\*, Rolland A.S.\*, Collomb-Clerc A., Pérez-García F., Faillot M., Goetz L., Lau B., François C., Bardinet E., Karachi C.. *Histological caracterization of the mesencephalic locomotor region in normal human brain and in patients with extrapyramidal diseases.* 

#### Communications dans des congrès internationaux :

**Sébille S.B.**, Rolland A.S., Karachi C., Welter M.L., Bardinet E., Santin M.D.. *High-resolution diffusion imaging of post-mortem monkey brain : comparison of 3D Spin Echo and 3D segmented EPI sequence at 11.7 Tesla.* 25<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Honolulu, USA. **2017**.

**Sébille S.B.**, Rolland A.S., Valabregue R., Karachi C., Welter M.L., Lehéricy S., Bardinet E., Santin M.D.. *On the use of Gadolinium-staining for high resolution ex vivo NODDI measurements at 11.77*. 25<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Honolulu, USA. **2017**.

**Sébille S.B.**, Rolland A.S., Karachi C., Welter M.L., Bardinet E., Santin M.D.. *Exploring ex vivo brainstem complex pathways with diffusion microstructure at 11.7T.* 25<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Honolulu, USA. **2017**.

**Sébille S.B.**, Adanyeguh I., Marsan E., Mondragon-Gonzalez S.L., Gargouri F., Santin M.D.. *In vivo* and ex vivo high resolution imaging of the mouse brain at 11.7T. 25<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Honolulu, USA. **2017**.

**Sébille S.B.**, Belaid H., Philippe A.C., André A., Lau B., François C., Karachi C., Bardinet E.. *Ana-tomical evidence of the functional diversity of the mesencephalic locomotor region in humans*. 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society For Neuroscience (SfN), San Diego, USA. **2016**.

**Sébille S.B.**, Valabregue R., Rolland A.S., François C., Bardinet E.. *In vivo exploration of the human brainstem complex pathways at 3 Tesla with track-density imaging : a digital 3D microscope for anatomists*. 24<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Singapour, Singapour. **2016**.

Philippe A.C., **Sébille S.B.**, François C., Karachi C., Valabregue R., Lehéricy S., Bardinet E.. *Computation of diffusion-based pathway connectivity map : a study of subthalamic nucleus connections*. 21<sup>th</sup> Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (OHBM), Honolulu, USA. **2015**.

### Remerciements

En premier lieu, je souhaite remercier mes directeurs de thèse Chantal François et Éric Bardinet de m'avoir proposé un sujet de thèse passionnant et d'avoir consacré du temps et de l'énergie à me guider et me conseiller. J'ai beaucoup apprécié leur confiance durant ces trois années et leurs remarques pertinentes m'ont aidé à progresser tant sur le plan scientifique que relationnel.

Ensuite, je voudrais remercier Habib Benali et Claire Haegelen d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse. Critiquer un manuscrit résumant trois années de travail est loin d'être une tâche facile et je vous remercie de relever ce défi. Merci également à Jean-François Aubry et Daniel Racoceanu d'être membres du jury.

Rien de ceci n'aurait pu être possible sans un soutien financier, je remercie donc la Fondation Bettencourt Schueller et Jean-François Aubry de m'avoir financée dans le cadre de l'equipex Ultrabrain.

J'aimerais également remercier toutes les personnes du CENIR et l'équipe «Neurochirurgie expérimentale» : Mathieu Santin, Romain Valabrègue, Anne-Charlotte Philippe, Sara Fernandez Vidal, Stéphane Lehéricy, Carine Karachi, Anne-Sophie Rolland, Hayat Belaid, Brian Lau, Fernando Pérez-García, Antoine Collomb-Clerc et bien d'autres encore. Ces années de recherche se sont passées, grâce à vous, dans un environnement chaleureux, convivial et collaboratif.

Une pensée pour mes collègues de bureau de la salle 1.001 qui ont croisés mon chemin et avec qui j'ai partagé de très bons moments : Fatma, Isaac, Eric, Clara, Audrey, Justine, Gizem...

## Abréviations

CA	Commissure antérieure
СР	Commissure postérieure
CuN	Noyau cunéiforme
EPI	Echo-planar imaging
FA	Anisotropie fractionnelle
FISH	Fluorescence in situ hybridization
HIFU	High intensity focused ultrasound
GPe	Globus pallidus externe
GPi	Globus pallidus interne
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
MLR	Région locomotrice mésencéphalique
NODDI	Neurite orientation dispersion and density imaging
PBS	Phosphate buffered saline
PPN	Noyau pédonculo-pontin
QSM	Quantitative de la susceptibilité magnétique
SCP	Stimulation cérébral profonde
SN	Substance noire
STN	Noyau subthalamique
Vim	Noyau ventral intermédiaire
VimE	Noyau ventral intermédiaire externe
VimI	Noyau ventral intermédiaire interne

# Table des matières

Rési	umé	/ Abstr	act	iv
Liste	Liste des publications			
Rem	nerci	iement	S	ix
Abre	évia	tions		xi
Tabl	le de	es matiè	ères	xii
Tabl	le de	es figure	es	xvi
1	Cac	lre de	la thèse	1
Cha	pitr	e 1 : Ne	euromodulation	2
1	l.1	Stimul	lation cérébrale profonde	3
]	1.2	Théraj	pies par ultrasons focalisés de haute intensité	4
		1.2.1	Destruction tissulaire	4
		1.2.2	Neuromodulation tissulaire	4
1	1.3	Problé	matiques liées à la neuromodulation	5
]	1.4	Conclu	usion	6
Cha	pitr	e <b>2 :</b> Ma	aladie de Parkinson et région locomotrice mésencéphalique	8
2	2.1	La ma	ladie de Parkinson	9
		2.1.1	Généralités	9
		2.1.2	Traitements de la maladie de Parkinson	9
		2.1.3	Les troubles de la marche et de l'équilibre à un stade avancé	
			de la maladie	11
2	2.2	La rég	ion locomotrice mésencéphalique	11
		2.2.1	Nomenclature et localisation anatomique	11
		2.2.2	Composition neuronale	13
		2.2.3	Connectivité de la région locomotrice mésencéphalique	15
		2.2.4	Rôles de la région locomotrice mésencéphalique	18
		2.2.5	Région locomotrice mésencéphalique et maladie de Parkinson	20
		2.2.6	Stimulation cérébrale profonde du noyau pédonculopontin .	20
2	2.3	Conclu	usion	21
Cha	pitr	e 3 : Tro	emblements essentiels et noyau ventral intermédiaire	23
3	3.1	Les tre	emblements essentiels : généralités	24

3.2	Traitements des tremblements essentiels	24	
	3.2.1 Médicamenteux	24	
	3.2.2 Neuromodulation	24	
3.3	Le thalamus	25	
3.4	Anatomie et connectivité du noyau ventral intermédiaire	27	
3.5	Ciblage du noyau ventral intermédiaire	28	
3.6	Conclusion	31	
Chapitr	Chapitre 4 : Objectifs de la thèse		

34

2	Région locomotrice mésencéphalique	

Chapitr	e 5 : Ett	ude de la connectivité anatomique de la région locomotrice	~
	me	esencephalique	35
5.1	Présen		36
	5.1.1	Introduction et objectifs	36
	5.1.2	Matériel et méthodes	36
	5.1.3	Principaux résultats	37
	5.1.4	Contributions personnelles	37
5.2	Article	;	38
Chapitı	e 6 : Éta	ude de la répartition topographique des populations neuro-	
	na	les de la région locomotrice mésencéphalique	52
6.1	Introd	uction et objectifs	53
6.2	Matéri	iel et méthodes	54
	6.2.1	Tissu <i>post mortem</i>	54
	6.2.2	Acquisition IRM	55
	6.2.3	Création de l'espace commun	55
	6.2.4	Histologie et immunohistochimie	56
	6.2.5	Pointages des populations de neurones	57
	6.2.6	Quantification et analyse statistique	57
6.3	Princij	paux résultats	59
	6.3.1	La MLR chez le sujet sain	59
	6.3.2	Les neurones cholinergiques du PPN à l'état pathologique	64
6.4	Discus	ssion	67
	6.4.1	La MLR chez le sujet sain	67
	6.4.2	Les neurones cholinergiques du PPN à l'état pathologique	68
6.5	Conclu	usion	68
6.6	Contri	butions personnelles	69
Chapitr	e 7 : Co	nstruction d'un atlas 3D déformable du tronc cérébral humain	71
7.1	Mise e	n place d'un protocole d'IRM de diffusion <i>post mortem</i> à 11.7T	75
	7.1.1	Présentation de l'étude	75
	7.1.2	Article	77
7.2	Atlas d	lu tronc cérébral humain et IRM de diffusion	98
	7.2.1	Introduction et objectifs	98
	7.2.2	Matériel et méthodes	99

		7.2.3 7.2.4	Résultats	
3	No	yau ve	entral intermédiaire du thalamus	]
Cha	apitr	e 8 : Ci	blage du noyau ventral intermédiaire du thalamus	
ł	8.1	Introd	uction et objectifs	•
ł	8.2	Matér	iel et méthodes	•
		8.2.1	Acquisitions IRM et pré-traitements	•
		8.2.2	Segmentation des régions d'intérêts	•
		8.2.3		•
		8.2.4	Ciblage du Vim	•
	0.0	8.2.5	Evaluation quantitative des différences entre ciblages	•
i	8.3	Princi	paux resultats et discussion	•
		8.3.1 0.2.2	Coordonnees des ciblages	•
	Q /	0.3.2 Conch	Evaluation quantitative des différences entre ciblages	•
	0.4	Conci	usion	•
4	Co	nclusi	on et perspectives	
Cha	apitr	e 9 : Co	onclusion et perspectives	
9	9.1	Contri	ibutions générales et perspectives à court terme	
		9.1.1	Région locomotrice mésencéphalique	
		9.1.2	Ciblage du noyau ventral intermédiaire du thalamus	
9	9.2	Perspe	ectives à long terme	•
5	Bib	liogra	phie	
Bib	liogi	aphie		
	U	-		
6	An	nexes		
Cha				
Cna	apitr	e A : Ul	trasons focalisés de haute intensité	
Cna	<b>apitr</b> A.1	<b>e A : Ul</b> Produ	<b>trasons focalisés de haute intensité</b> ction des ondes ultrasonores	
Cna	a <b>pitr</b> A.1 A.2	<b>e A : Ul</b> Produ Focali	<b>trasons focalisés de haute intensité</b> ction des ondes ultrasonores	•
Cha	apitr A.1 A.2 apitr	e A : Ul Produ Focali e B : L'I	trasons focalisés de haute intensitéction des ondes ultrasonoressation des ondes ultrasonoresmagerie par Résonance Magnétique	•
Cha	apitr A.1 A.2 apitr B.1	e A : Ul Produ Focali e B : L'I Réson	trasons focalisés de haute intensitéction des ondes ultrasonoressation des ondes ultrasonoresmagerie par Résonance Magnétiqueance Magnétique Nucléaire	•
Cha	apitr A.1 A.2 apitr B.1	e A : Ul Produ Focali e B : L'I Réson B.1.1	trasons focalisés de haute intensité   ction des ondes ultrasonores   sation des ondes ultrasonores   magerie par Résonance Magnétique   ance Magnétique Nucléaire   Origine physique du signal	
Cha	apitr A.1 A.2 apitr B.1	e A : Ul Produ Focali e B : L'I Réson B.1.1 B.1.2	trasons focalisés de haute intensité   ction des ondes ultrasonores   sation des ondes ultrasonores   magerie par Résonance Magnétique   ance Magnétique Nucléaire   Origine physique du signal   Encodage du signal	
Cha	Apitr A.1 A.2 Apitr B.1	<b>e A : Ul</b> Produ Focali <b>e B : L'I</b> Réson B.1.1 B.1.2 B.1.3	trasons focalisés de haute intensité   ction des ondes ultrasonores   sation des ondes ultrasonores   magerie par Résonance Magnétique   ance Magnétique Nucléaire   Origine physique du signal   Encodage du signal   Reconstruction de l'image	
Cha	Apitr A.1 A.2 Apitr B.1 B.2	e A: Ul Produ Focali e B: L'I Réson B.1.1 B.1.2 B.1.3 IRM a	trasons focalisés de haute intensité   ction des ondes ultrasonores   sation des ondes ultrasonores   magerie par Résonance Magnétique   ance Magnétique Nucléaire   Origine physique du signal   Encodage du signal   Reconstruction de l'image   natomique	
Cha	apitr A.1 A.2 apitr B.1 B.2 B.3	e A: Ul Produ Focali e B: L'I Réson B.1.1 B.1.2 B.1.3 IRM a IRM d	trasons focalisés de haute intensité   ction des ondes ultrasonores   sation des ondes ultrasonores   magerie par Résonance Magnétique   ance Magnétique Nucléaire   Origine physique du signal   Encodage du signal   Reconstruction de l'image   natomique   L	
Cha	Apitr A.1 A.2 Apitr B.1 B.2 B.3	<b>e A : Ul</b> Produ Focali <b>e B : L'I</b> Réson B.1.1 B.1.2 B.1.3 IRM a IRM d B.3.1	trasons focalisés de haute intensité   ction des ondes ultrasonores   sation des ondes ultrasonores   magerie par Résonance Magnétique   ance Magnétique Nucléaire   Origine physique du signal   Encodage du signal   Reconstruction de l'image   natomique   Imagerie pondérée en diffusion	

B.3.3	Déconvolution sphérique contrainte (CSD)	160
B.3.4	Tractographie	161

# Table des figures

1.1 1.2	Illustration générale de la stimulation cérébrale profonde Le volume de tissu activé par l'électrode de SCP module l'activité des axones proches de la cible avec des effets dans des régions éloignées possibles	3 6
2.1 2.2	Approches thérapeutiques de la maladie de Parkinson [Smith et al., 2012 Tronc cérébral et région locomotrice mésencéphalique (en vert)	] 10 12
2.3	Atlas du tronc cérébral au niveau du CuN et du PPN (Planche n°XXXII) [Olszewski and Baxter, 1982]	14
2.4	Principales afférences et efférences du PPN	15
2.5	Principales afférences et efférences du CuN	17
2.6	Dégénérescence des neurones cholinergiques du PPN. A : Cartogra- phie neurones cholinergiques sur un cerveau d'un sujet sain. B : Neu- rones cholinergiques marqués du PPN sur coupes axiales d'un sujet sain, d'un patient parkinsonien non-chuteur et d'un patient parkin- sonien chuteur. C : Nombre total de neurones cholinergiques pour les	
	trois groupes étudiés [Karachi et al., 2010]	20
3.1	Vue tridimensionnelle du thalamus en rouge	26
3.2	Vue schématique du thalamus droit. ATN = noyau antérieur; LDN = noyau latéral dorsal; LN = noyau latéral; IML = lame médullaire in- terne; ILN = noyau intralaminaire; MDN = noyau dorsomédian; Pu = Pulvinar; VL = noyau ventral latéral; VA = noyau ventral antérieur; VLp = noyau postérieur latéral ventral; Vim = noyau ventral intermé- diaire; VPm = noyau postérieure médial	26
3.3	Connectivité fonctionnelle du Vim	27
3.4	Diagramme de Guiot. Selon Guiot, la cible Vim répond aux coordon- nées suivantes : $3/12^{\text{ème}}$ de la distance CA-CP en avant de CP pour la coordonnée antéro-postérieure (y), à hauteur du plan CA-CP pour la cordonnée verticale (z) et entre 13 et 16 mm de part et d'autre de la ligne médiane pour la coordonnée médio-latérale (x). La coordonnée x est fréquemment ajustée en fonction de la largeur du 3 <sup>ème</sup> ventri- cule. Classiquement pour le Vim, la coordonnée x se situe à 11,5 mm du bord latéral ispilatéral du thalamus ou encore à 11,5 mm + (largeur V3/2) à partir de la ligne médiane	20
3.5	Parcellisation du thalamus chez 11 sujets [Johansen-Berg et al., 2005]. Le Vim est en orange sur la figure et ses voxels sont connectés à l'aire	<i>2</i> J
	motrice primaire.	30

6.1	Différentes étapes de la méthodologie	54
6.2	Diagramme général explicitant les différents recalages nécessaires pour	
	la construction de l'espace commun. Image provenant de Fernando	
	Pérez-García (ingénieur en neuroimagerie à l'ICM et sur la plateforme	
	CENIR)	56
6.3	Vue axiale des neurones cholinergiques (points noirs) du CuN et du	
	PPN pars dissipata et pars compacta chez le sujet sain de l'espace com-	
	mun (échelle de 500 $\mu$ m)	59
6.4	Vue axiale des neurones GABAergiques (points noirs) du CuN et du	
	PPN pars dissipata et pars compacta chez le sujet sain de l'espace com-	
	mun (échelle de 500 $\mu$ m)	60
6.5	Vue axiale des neurones glutamatergiques (points noirs) du CuN et	
	du PPN <i>pars dissipata</i> et <i>pars compacta</i> chez le sujet sain de l'espace	
	commun (échelle de 500 $\mu$ m)	61
6.6	Exemple de recalage entre une coupe histologique avec les neurones	
	GABAergiques du CuN (points oranges) et du PPN (points jaunes) mis	
	en évidence, le cryoblock et l'IRM anatomique 11.7T du sujet sain de	
	l'espace commun	61
6.7	Visualisation des neurones cholinergiques (en rouge), GABAergiques	
	(en jaune dans le PPN et en orange dans le CuN) et glutamatergiques	
	(en violet) dans le CuN et le PPN selon l'axe supérieur-inférieur du	
	sujet sain de l'espace commun	62
6.8	Nombre de neurones cholinergiques, GABAergiques et glutamatergiques	
	dans le CuN et le PPN selon l'axe supérieur-inférieur du sujet sain de	
	l'espace commun	63
6.9	Coupes axiales à un niveau similaire du PPN chez un sujet sain, un pa-	
	tient parkinsonien avec et sans troubles de la marche et de l'équilibre,	
	et un patient atteint de PSP. Image adaptée de [Karachi et al., 2010]	64
6.10	Nombre de neurones cholinergiques selon l'axe supérieur-inférieur	
	chez tous les sujets sains (A), les patients atteints de PSP (B), les pa-	
	tients parkinsoniens sans troubles de la marche et de l'équilibre (C),	
	et les patients parkinsoniens avec troubles de la marche et de l'équi-	
	libre (D)	65
6.11	Application du modèle statistique mixte sur les quatre populations de	
	sujets/patients de l'étude	66
6.12	Maximum de densité des neurones cholinergiques (situé à + 3 mm du	
	début supérieur du PPN ou à 33.5 mm de l'obex) superposée sur l'IRM	
	anatomique du sujet de l'espace commun. Les contours de certains	
	faisceaux sont visibles : le fascicule longitudinal médian en bleu, le	
	faisceau central tegmental en violet et le lemnisque médian en vert.	69
71	Le volume de tissu activé par l'électrode de SCD module l'activité dos	
(.1	avones proches de la cible avec des effets dans des régions éloignées	
	nossibles	72
72	Vue aviale des cartes d'anisotronie fractionnelle couleur et IRM ana	13
1.4	tomique du tronc cérébral humain à deux niveaux de courses	101

7.3	Cartes d'anisotropie fractionnelle, de fraction de volume intracellu-	102
74	Vue sagittale des nédoncules cérébelleux à gauche en 3D et vues axiales	102
1.1	des pédoncules cérébelleux à droite en projection sur la coupe. Pé-	
	doncule cérébelleux inférieur en violet, pédoncule cérébelleux moven	
	en orange et pédoncule cérébelleux supérieur en vert	103
75	Vue sagittale des faisceaux à gauche en 3D et vues axiales des faisceaux	100
1.0	à droite en projection sur la coupe. Faisceau pyramidal en rouge. lem-	
	nisque médian en jaune, lemnisque latéral en rose, et faisceau longi-	
	tudinal médian en bleu clair.	104
7.6	Diagramme général explicitant les différentes recalages nécessaires pou	r
	la construction de l'atlas. Image provenant de Fernando Pérez-García	
	(ingénieur en neuroimagerie à l'ICM sur la plateforme CENIR STIM).	105
7.7	Vue axiale d'une coupe histologique (en haut à gauche), de l'IRM ana-	
	tomique 3T (en haut à droite) et de l'IRM anatomique 11.7T (en bas à	
	gauche) avec les contours de structures et les neurones cholinergiques	
	en rouge. Image provenant de Fernando Pérez-García (ingénieur en	
	neuroimagerie à l'ICM sur la plateforme CENIR STIM)	106
7.8	Représentation 3D de l'atlas recalé sur l'IRM anatomique 3T d'un pa-	
	tient opéré pour une SCP du PPN. Les contacts de l'électrode les plus	
	clairs sont entourés par la plus forte densité de neurones choliner-	
	giques. Image provenant de Fernando Pérez-García (ingénieur en neu-	
	roimagerie à l'ICM sur la plateforme CENIR STIM)	107
8.1	Vue générale de la méthodologie	111
8.2	Exemple de ciblages calculés sur le sujet 100408. A : Diagramme de	
	Guiot. B : Recalage de l'atlas YeB avec le Vim en vert. C : Extraction du	
	faisceau dento-rubro-thalamique en vert. D : Parcellisation du thala-	
	mus avec en bordeaux les voxels connectés à l'aire motrice primaire,	
	en jaune ceux connectés au cortex préfrontale, en blanc ceux connec-	
	tés au cortex somatosensorielle, en orange ceux connectés au cortex	
	occipital et en rouge ceux connectés au cortex pré-moteur et l'aire	
	motrice supplémentaire. E : Délimitation du Vim par rapport au fais-	
	ceau pyramidal en rouge et au lemnisque médian en bleu	116
A.1	Génération d'une onde sonore par un élément piézoélectrique	148
A.2	Utilisation d'un matériau placé derrière l'élément piézoélectrique	149
A.3	Focalisation par un élément piézoélectrique	150
D 1		150
B.I	Principe de la RMIN. http://culturesciences.chimie.ens.fr	153
D.2	Croissance de l'almantation longitudinale selon $T_1$ et decroissance de	
	Linda Marrakahi Kacam coutonus en 2011	154
כם	Linua Mariakun-Kacem soulenus en 2011	104
כ.ם	e_MRT/	155
Β <i>1</i>	Illustration de la représentation des images magnétiques	156
D.4 R 5	Contrastes anatomiques $T_1$ , $T_2$ * et $T_2$ en IRM	156
0.0	$= 1, 12^{\circ} \circ 12 \circ 11 \circ 11001 \circ 11 \circ 11001 \circ 11001 \circ 11001 \circ 11001 \circ 11001 \circ 11001 \circ 110001 \circ 1100000000$	100

B.6	Illustration du mouvement isotrope et anisotrope des molécules d'eau	
	[Rosenbloom et al., 2003]	157
B.7	Données pondérées en diffusion. (a) Image acquise sans pondération	
	de diffusion. (b-g) Images de diffusion selon différentes directions de	
	l'espace représentées par des points sur la sphère	158
B.8	Représentation du tenseur de diffusion à l'aide d'ellipsoïdes	159
B.9	Cartes du tenseur de diffusion [Poupon, 2014]	160
B.10	Limites du modèle du tenseur de diffusion [Poupon, 2014]	160
B.11	Illustration d'un ODF	161
B.12	Estimations de l'orientation des fibres par la méthode du tenseur de	
	diffusion (haut) et par CSD (bas)	162
B.13	Schéma de principe de la tractographie	162
<b>B.14</b>	Schéma et résultat 2D d'une tractographie déterministe (du corps cal-	
	leux à l'aire motrice primaire) par suivi de vecteur [Poupon, 2014]	163
B.15	Schéma et résultat 2D d'une tractographie probabiliste (du corps cal-	
	leux à l'aire motrice primaire) [Poupon, 2014]	164



# Cadre de la thèse

# – Chapitre ––––––

## 1 Neuromodulation

## Sommaire

1.1	Stimulation cérébrale profonde		
1.2	Thérapies par ultrasons focalisés de haute intensité		
	1.2.1 Destruction tissulaire	4	
	1.2.2 Neuromodulation tissulaire	4	
1.3	Problématiques liées à la neuromodulation		
1.4	Conclusion	6	

Les conditions de vie s'étant nettement améliorées depuis un siècle, l'espérance de vie est de plus en plus longue et ne fait que s'allonger. Le vieillissement de la population a vu émerger nombre de maladies liées à l'âge telles que les maladies neurodégénératives. Des techniques de neuromodulation sont proposées à certains patients afin de soulager leurs symptômes lorsque les traitements médicamenteux ne sont plus efficaces ou qu'ils entraînent des effets secondaires invalidants.

La neuromodulation est une technique employée pour augmenter ou diminuer l'activité neuronale de régions cérébrales présentant un dysfonctionnement dans certaines maladies neurodégénératives. Cette modification d'activité neuronale peut se faire par courant électrique (technique de stimulation cérébrale profonde) ou par absorption thermique (technique d'ultrasons focalisés de haute intensité). Ces deux techniques vont être exposées brièvement dans ce chapitre.

## 1.1 Stimulation cérébrale profonde

La stimulation cérébrale profonde (SCP) est une méthode chirurgicale invasive consistant à implanter dans le cerveau des électrodes de stimulation connectées à un boîtier mis en place sous la peau et qui délivre un courant électrique de faible intensité dans certaines régions cérébrales variables selon la maladie neurologique à traiter [Kringelbach et al., 2007] (Figure 1.1).



FIGURE 1.1 – Illustration générale de la stimulation cérébrale profonde

Cette technique s'est développée dans les années 1980 quand les premiers patients atteints de tremblements et de la maladie de Parkinson étaient traités par Jean Siegfried à Zurich ainsi que par les français Alim-Louis Benabid et Pierre Pollak à Grenoble. Depuis, la SCP est devenue une composante établie du traitement de nombreuses maladies neurologiques (dystonie, maladie de Parkinson, tremblements essentiels, troubles obsessionnels compulsifs, syndrome de Gilles de la Tourette, etc....). Le principe de la SCP est la délivrance d'un courant électrique à une certaine fréquence qui va modifier l'activité d'un groupe de neurones et des faisceaux de fibres adjacents [Kringelbach et al., 2007]. Les faibles fréquences induisent une excitation du réseau neuronale tandis que les hautes fréquences (au-delà de 100 Hz) inhibent le fonctionnement des cellules nerveuses et empêchent ainsi la transmission du message nerveux [Vitek, 2002]. Les paramètres de stimulation (fréquence, voltage, durée d'impulsion...) sont modulables pour obtenir le meilleur effet thérapeutique. Cependant, le mécanisme d'action de la SCP est complexe et diffère selon la région stimulée. On ne sait toujours pas expliquer comment la stimulation provoque cette inhibition du réseau neuronal ciblé [Benazzouz and Hallett, 2000]. Tous les patients ne peuvent subir une SCP et des critères d'inclusion tels que l'âge ou l'état général de santé sont à prendre en considération.

## 1.2 Thérapies par ultrasons focalisés de haute intensité

L'utilisation des ultrasons focalisés de haute intensité, couramment appelé HIFU (High Intensity Focused Ultrasound en anglais), consiste à faire converger des ondes ultrasonores permettant ainsi un dépôt d'énergie important en un point précis. Cette méthode présente l'avantage d'épargner les tissus entre la sonde et la zone cible et permet d'envisager des traitements non invasifs ou peu invasifs. Cette technique pourrait être proposée comme remplacement de la SCP dans un futur proche.

L'annexe A explique le principe physique des HIFU.

#### 1.2.1 Destruction tissulaire

Les HIFU de haute puissance, par élévation de la température et par absorption thermique, peuvent entraîner une nécrose irréversible des tissus. Cette technique est utilisée de manière routinière en clinique depuis de nombreuses années pour obtenir l'ablation thermique de tumeurs bénignes (fibromes utérins, adénofibrome, nodules thyroïdiens bénins) ou malignes (cancer de la prostate, du foie, de la thyroïde).

Le traitement des lésions intracérébrales par HIFU est difficile en raison de la barrière osseuse, qui déforme les faisceaux ultrasonores. Les premiers tests dans les années 1950 ont ainsi été réalisés à travers une ouverture pratiquée dans le crâne [Fry et al., 1954]. Plus récemment, l'utilisation de réseaux de transducteurs avec correction numérique de la distorsion osseuse basée sur des données tomodensitomé-triques du crâne a permis de pouvoir focaliser les ultrasons à travers un crâne intact [Aubry et al., 2003] et d'expérimenter la technique sur des tumeurs cérébrales [McDannold et al., 2010, Carpentier et al., 2016].

#### 1.2.2 Neuromodulation tissulaire

A des puissances plus faibles que pour la destruction tissulaire, les effets thermiques ou mécaniques des ultrasons peuvent avoir des effets physiologiques qui permettent la préservation du tissu et laissent envisager d'autres applications médicales de cette technique.

Concernant le tissu cérébral, dès les années 50, il a été montré chez le chat que la transmission d'ultrasons dans le corps géniculé latéral du thalamus inhibait de façon réversible le cortex primaire après application d'un stimulus visuel [Fry et al., 1958].

Dans les années 90, des expériences réalisées sur des tranches d'hippocampes de rongeur ont permis de montrer une augmentation ou une diminution de l'amplitude des potentiels d'actions des neurones ciblés en fonction de la puissance des ultrasons [Rinaldi et al., 1991]. Il ne s'agit pas là à proprement parler de stimulation directe par les ultrasons mais d'une modulation de l'excitabilité des neurones. On ne parlera pas dans ce dernier cas de stimulation ultrasonore, expression consacrée à la faculté de stimulation et d'inhibition directe de l'activité neuronale par les ultrasons.

En 2008, l'équipe américaine de William Tyler a démontré la possibilité d'induire une neurostimulation directe à faible pression acoustique [Tyler et al., 2008]. Ce travail présente deux avancées majeures : la possibilité de stimuler directement les neurones et non pas seulement de moduler l'excitabilité neuronale et de le faire à faible pression acoustique, c'est-à-dire avec des risques nécrotiques potentiellement nuls.

Une des limitations principales de la neuromodulation tissulaire par HIFU est le fait cette modulation est transitoire et qu'il n'existe pas encore de système pour rendre cette modulation permanente. De nombreux travaux s'attachent à résoudre ce problème.

Ainsi, la thérapie par HIFU semble être une alternative moins lourde que la SCP pour le traitement de maladies neurologiques dès que son effet ne sera plus transitoire. Les avantages de la thérapie par HIFU résident principalement dans son caractère non invasif et non ionisant, sa flexibilité, l'absence d'effets secondaires délétères et son faible coût.

## 1.3 Problématiques liées à la neuromodulation

Bien que nous n'ayons pas encore une compréhension complète des mécanismes qui sous-tendent les effets de la neuromodulation [Kringelbach et al., 2007], les résultats existants ouvrent un certain nombre de nouvelles possibilités passionnantes. Cependant, de nombreux problèmes persistent aussi bien pour la neuromodulation par SCP que par HIFU.

Un de ces problèmes réside dans la visualisation précise des cibles thérapeutiques. Compte tenu des progrès récents de l'imagerie médicale, certaines cibles de la SCP comme le noyau subthalamique (STN) ou le globus pallidus interne (GPi) peuvent être identifiées de manière fiable et ciblées directement avec l'IRM conventionnelle [Benabid et al., 2002]. D'autre cibles, comme le noyau ventral intermédiaire du thalamus ou la région locomotrice mésencéphalique, sont "invisibles" avec les techniques d'imagerie couramment disponibles [Benabid et al., 2002, Zrinzo et al., 2011]. Pour identifier ces cibles "invisibles", des méthodes de ciblage dites indirectes peuvent être utilisées (recalage d'atlas, mé-

5

thodes proportionnelles, etc....). Ces techniques de ciblage indirectes comportent plus d'*a priori*. Ceci complique le ciblage et ainsi l'obtention d'une neuromodulation optimale. Un effort important doit donc être effectué pour optimiser les techniques d'imagerie et ainsi visualiser de façon plus précise les cibles de la neuromodulation au niveau individuel.

Sachant que la neuromodulation modifie l'activité des axones proches de la cible [Calabrese, 2016], des effets peuvent être observés dans des régions éloignées et reliées à la cible par les faisceaux de fibres myélinisées (Voir Figure 1.2). Or la morphologie et la connectivité de certaines régions anatomiques ciblées par la neuromodulation restent peu connues. Une telle analyse anatomique permettrait d'aider à l'identification de cibles, d'optimiser la trajectoire de l'électrode de stimulation dans le cas de la SCP et de pouvoir corréler les effets cliniques observés chez le patient avec la position des différents faisceaux de fibres.



FIGURE 1.2 – Le volume de tissu activé par l'électrode de SCP module l'activité des axones proches de la cible avec des effets dans des régions éloignées possibles

## 1.4 Conclusion

Les techniques de neuromodulation par SCP et par HIFU offrent des perspectives d'amélioration thérapeutique non négligeables. Développées depuis maintenant plus d'un demi siècle, les applications thérapeutiques des HIFU ne cessent de se multiplier et concernent les pathologies cancéreuses, mais aussi des tumeurs bénignes par destruction cellulaire. La focalisation de mieux en mieux maîtrisée permet des applications plus précises et ambitieuses comme la neuromodulation tissulaire dans le cerveau.

Cependant, de nombreux problèmes persistent pour la neuromodulation par SCP ou par HIFU et des progrès sont nécessaires afin d'optimiser la neuromodulation mais aussi de comprendre ses effets sur la région cible. Une première amélioration est la visualisation des cibles "invisibles" avec l'IRM conventionnelle et l'identification des cibles au niveau individuel. Une deuxième amélioration serait une meilleure connaissance des régions anatomiques ciblées et de leurs connectivités avec les autres régions cérébrales.

Mon travail de thèse s'est attaché à porter ses améliorations pour deux cibles de neuromodulation : la région locomotrice mésencéphalique dans le cadre de la maladie de Parkinson et le noyau ventral intermédiaire du thalamus dans le cadre des tremblements essentiels.

## - Chapitre -

2

## Maladie de Parkinson et région locomotrice mésencéphalique

#### Sommaire

2.1	La mala	adie de Parkinson	9
	2.1.1	Généralités	9
	2.1.2	Traitements de la maladie de Parkinson	9
	2.1.3	Les troubles de la marche et de l'équilibre à un stade	
		avancé de la maladie	11
2.2	La régio	on locomotrice mésencéphalique	11
	2.2.1	Nomenclature et localisation anatomique	11
	2.2.2	Composition neuronale	13
	2.2.3	Connectivité de la région locomotrice mésencéphalique	15
	2.2.4	Rôles de la région locomotrice mésencéphalique	18
	2.2.5	Région locomotrice mésencéphalique et maladie de Par-	
		kinson	20
	2.2.6	Stimulation cérébrale profonde du noyau pédonculopontin	20
2.3	Conclu	sion	21

Comme annoncé au chapitre précédent, une partie de ce travail de thèse s'est attaché à l'étude de la région locomotrice mésencéphalique (MLR pour mesencephalic locomotor region en anglais). Les connaissances sur la maladie de Parkinson et la MLR sont les fondations sur lesquelles peuvent s'interpréter les résultats obtenus dans la Partie 2. Notre étude s'inscrit dans le contexte de la maladie de Parkinson et nous présenterons en premier lieu les généralités sur cette maladie neurodégénérative, et tout particulièrement sur les troubles de la marche et de l'équilibre. Ensuite, nous présenterons une synthèse des connaissances actuelles sur l'organisation anatomique de la MLR (caractéristiques morphologiques et connectivité). De plus, au regard des connaissances actuelles, nous aborderons les différentes fonctions associées à la MLR. Enfin, nous terminerons ce chapitre en présentant les principales données relatives à l'implication de la MLR dans les troubles de la marche et les résultats obtenus par SCP du noyau pédonculopontin qui fut proposée comme nouvelle approche thérapeutique en 2005.

Les données présentées se référeront de préférence aux études menées sur le primate non humain et sur l'humain. Cependant, des références à d'autres modèles animaux tels que les rongeurs pourront être apportées à ce travail lorsqu'elles feront état d'avancées dans les connaissances non encore mises en évidence chez le primate non humain ou l'humain.

### 2.1 La maladie de Parkinson

#### 2.1.1 Généralités

La maladie de Parkinson, seconde pathologie neurodégénérative liée à l'âge la plus commune après la maladie d'Alzheimer, se caractérise par trois symptômes moteurs : l'akinésie, le tremblement de repos et la rigidité [Lang and Lozano, 1998].

La maladie de Parkinson se caractérise également par des symptômes non-moteurs tels que les troubles du langage (aphasie), les troubles cognitifs les démences, la dépression, les troubles du sommeil et les dysfonctionnements du système nerveux autonome [Brown and Marsden, 1988, Huber et al., 1990, Fenelon, 1997, Schrempf et al., 2014, Welter et al., 2015].

La physiopathologie de la maladie de Parkinson se caractérise principalement par une dégénérescence progressive des corps cellulaires dopaminergiques de la substance noire (substance noire) *pars compacta* et de leurs terminaisons dans la partie dorso-latérale du striatum [Song and Haber, 2000]. L'accumulation anormale d'( $\alpha$ )-synucléine dans les cellules a été observée au niveau d'autres systèmes neuronaux (cholinergique, noradrénergique et sérotoninergique) et est maintenant systématiquement incluse dans toute approche physiopathologique de la maladie.

#### 2.1.2 Traitements de la maladie de Parkinson

Il n'existe pas de traitement curatif de la maladie de Parkinson. La Figure 2.1 présente une synthèse des différentes approches thérapeutiques actuellement pos-



sibles. Seuls les traitements médicamenteux et la SCP vont être évoqués.

FIGURE 2.1 – Approches thérapeutiques de la maladie de Parkinson [Smith et al., 2012]

#### Approche pharmacologique

La lévodopa (L-Dopa) est le traitement médicamenteux de premier choix qui permet le rétablissement de la transmission dopaminergique striatale [Muzerengi and Clarke, 2015]. Malheureusement, la L-Dopa produit de nombreux effets secondaires sur le long terme [Ahlskog and Muenter, 2001]. D'autres approches thérapeutiques sont maintenant utilisées, en complément ou non du traitement pharmacologique, telles que la SCP ou la thérapie génique [Palfi et al., 2014].

#### Stimulation cérébrale profonde

Nous avons rappelé au Chapitre 1 l'histoire et le principe de la SCP. Dans le contexte de la maladie de Parkinson, la SCP à haute fréquence est le traitement de référence lorsque la prise en charge de la maladie par voie pharmacologique n'est plus optimale car induisant des fluctuations motrices et des dyskinésies très invalidantes [Limousin et al., 1995]. Deux cibles principales sont implantées à l'heure d'aujourd'hui : le noyau subthalamique (STN) et le globus pallidus interne (GPi). La SCP du STN ou du GPi produit des effets thérapeutiques similaires à une lésion de ces deux cibles mais sans détruire les tissus [Kringelbach et al., 2007]. Il y a maintenant un suivi de plusieurs années sur ces implantations et des études ont validé l'efficacité de la SCP du STN et du GPi pour la maladie de Parkinson [Moro et al., 2010b, Weaver et al., 2012], avec un un bénéfice clinique plus important à long terme pour une SCP du STN par rapport au GPi [Odekerken et al., 2013]. De ce fait, aujourd'hui, la SCP du STN est majoritaire par rapport à la SCP du GPi.

# 2.1.3 Les troubles de la marche et de l'équilibre à un stade avancé de la maladie

Les troubles axiaux sont caractéristiques des stades avancés de la maladie de Parkinson [Gilardi et al., 2001]. Ces troubles comprennent une instabilité posturale, des troubles de l'équilibre [Dubois, 1993] ainsi que des épisodes de « freezing » [Giladi et al., 1992] caractérisés par une suspension brutale et involontaire de la marche. Les patients affectés par le freezing de la marche ne peuvent plus déclencher ou continuer une séquence de marche [Okuma and Yanagisawa, 2008] ce qui peut entraîner des chutes. Ces symptômes axiaux sont généralement dopa-résistants et ne répondent pas à la SCP du STN ou du GPi.

Le traumatisme est la sixième cause de mortalité chez la personne âgée et la majorité des traumatismes sont secondaires à une chute. Même si les traumatismes graves sont assez rares, les conséquences sont fréquentes (90% des patients ont peur de chuter, une diminution d'activité ou un traumatisme psychologique). On considère que 40% des institutionnalisations sont secondaires à une chute [Bloem et al., 2004].

De nombreux travaux cliniques et expérimentaux ont permis d'identifier la MLR du tronc cérébral comme étant une région essentielle de la physiopathologie des troubles de la marche et de l'équilibre.

## 2.2 La région locomotrice mésencéphalique

#### 2.2.1 Nomenclature et localisation anatomique

La MLR est une zone se situant dans le tegmentum mésencéphalique du tronc cérébral (Figure 2.2) qui, lorsqu'elle est stimulée, initie la locomotion chez différentes espèces animales. Elle fait partie de la formation réticulée et est composée de deux structures : le noyau pédonculopontin et le noyau cunéiforme.

Ces deux noyaux sont des noyaux ouverts dont les limites sont imprécises par nature. La description anatomique de la MLR ainsi que les terminologies associées à ses différentes structures ont toujours été source de confusions. Dans notre étude, nous ferons référence au noyau pédonculopontin (pedunculopontine nucleus) avec l'abréviation PPN et au noyau cunéiforme (cuneiform nucleus) avec l'abréviation CuN.



FIGURE 2.2 – Tronc cérébral et région locomotrice mésencéphalique (en vert)

Quatre principaux atlas proposent une description anatomique du tronc cérébral chez l'homme [Schaltenbrand and Wahren, 1978, Olszewski and Baxter, 1982, Paxinos and Huang, 1959, Naidich et al., 2007].

A partir de ces quatre atlas, nous savons que le PPN est une structure allongée qui s'étend du bord caudal du noyau rouge et la substance noire jusqu'au bord caudal du mésencéphale au niveau de la jonction ponto-mésencéphalique. Le PPN est délimité médialement par le pédoncule supérieur cérébelleux et sa décussation, latéralement par les fibres du système lemniscal (lemnisques médian et latéral). Antérieurement, le PPN est en contact avec la substance noire, l'aire rétrorubrale et le noyau rouge. Au niveau postérieur, le PPN est contigu avec le *locus coeruleus* dans sa partie caudale. Il est limité ventralement par les noyaux du pont et dorsalement par le CuN.

De manière similaire, le CuN est une structure de la formation réticulée située dorsalement au PPN et ventralement aux colliculi (supérieur et inférieur). Elle s'étend de la jonction ponto-mésencéphalique jusqu'au noyau rouge. Médialement, le CuN est en contact avec la substance grise périaqueducale et le *locus coeruleus* dans sa partie caudale. Latéralement, le CuN est délimité par les fibres lemniscales (principalement du lemnisque latéral).

Le PPN et le CuN, ainsi que leurs structures adjacentes, sont visibles sur la Figure 2.3.

### 2.2.2 Composition neuronale

La MLR est constituée de populations neuronales hétérogènes d'un point de vue morphologique et neurochimique. Les différences de composition neuronale entre le PPN et le CuN permettent de différencier ces deux noyaux ouverts.

Dans la MLR, seul le PPN est composé de neurones cholinergiques associés au groupe cholinergique Ch5 [Mesulam et al., 1983] et c'est ainsi que sa délimitation est réalisée [Lavoie and Parent, 1994b, Rolland et al., 2009]. Sur la base de la densité cellulaire des neurones cholinergiques, le PPN est subdivisé en deux régions [Olszewski and Baxter, 1954] (Figure 2.3) : *pars compacta* et *pars dissipata*. La *pars compacta*, localisée dorsolatéralement, est composée de neurones cholinergiques (entre 80 et 90%) chez l'humain et le primate [Mesulam et al., 1983]. La *pars dissipata*, localisée médialement, est constituée à 20% de neurones cholinergiques [Mesulam et al., 1983, Mesulam et al., 1989].

La présence de neurones glutamatergiques et GABAergiques au sein du PPN a été bien mis en évidence chez le rongeur et le chat [Clements and Grant, 1990, Ford et al., 1995, Jia et al., 2003, Mena-Segovia et al., 2009, Wang and Morales, 2009, Martinez-Gonzalez et al., 2011], mais elle n'a pas été formellement détectée chez le singe [Lavoie and Parent, 1994a] et n'a jamais été démontrée chez l'homme. Une topographie des différentes populations neuronales a pu être établie chez le rongeur, avec une plus grande densité de neurones cholinergiques et glutamatergiques dans la partie caudale et une plus grande densité de neurones GABAergiques dans la partie rostrale du noyau [Mena-Segovia et al., 2009, Martinez-Gonzalez et al., 2012]. Une telle topographie des différentes populations neuronales du PPN n'a pas été étudiée chez le primate et l'humain. La co-expression d'acétylcholine avec du glutamate ou avec du GABA, initialement mise en évidence chez le singe et le rongeur [Clements and Grant, 1990, Lavoie and Parent, 1994c, Charara et al., 1996, Wang and Morales, 2009], a été récemment remise en question après utilisation d'une technique d'hybridation in situ. Ainsi, cette co-expression au sein des neurones du PPN reste source de débat et de controverse.

Le CuN est différencié du PPN par le fait qu'il ne possède pas de neurones cholinergiques. Le CuN est composé de neurones GABAergiques, nitrergiques et peptidergiques [Lavoie and Parent, 1994a, Pose et al., 2000, Ryczko and Dubuc, 2013]. La présence de neurones glutamatergiques n'a été détectée que chez le chat [Pose et al., 2000].

# CHAPITRE 2. MALADIE DE PARKINSON ET RÉGION LOCOMOTRICE MÉSENCÉPHALIQUE



FIGURE 2.3 – Atlas du tronc cérébral au niveau du CuN et du PPN (Planche n°XXXII) [Olszewski and Baxter, 1982]

### 2.2.3 Connectivité de la région locomotrice mésencéphalique

L'étude la connectivité du PPN a été plus étudiée que la connectivité du CuN. Cependant, au regard des incertitudes anatomiques entre les deux noyaux et l'absence de labellisation de l'un ou l'autre des noyaux dans certaines études, une grande prudence s'impose dans l'interprétation de ces résultats.

Dans cette section, nous nous intéresserons particulièrement aux afférences et efférences de la MLR chez l'animal ainsi que les données obtenues par IRM de diffusion.

#### Noyau pédonculopontin

La connectivité du PPN est résumée sur la Figure 2.4 et sera décrite dans les paragraphes suivants.



FIGURE 2.4 – Principales afférences et efférences du PPN

**Afférences** Le PPN reçoit de nombreuses afférences corticales. Certaines projections ont pour origine, chez le macaque, les cortex moteurs (primaire, pré-moteur et les aires motrices supplémentaires) [Matsumura et al., 2000]. De plus, des projections en provenance du système limbique (aires infralimbiques et prélimbiques) vers le PPN ont été rapportées chez le macaque [Chiba et al., 2001].

Le PPN est également extrêmement connecté avec les ganglions de la base. Le STN émet des projections ipsilatérales excitatrices (glutamatergiques) vers le PPN qui se terminent préférentiellement sur les neurones non cholinergiques, quelle que soit l'espèce animale étudiée [Noda and Oka, 1986, Granata and Kitai, 1991, Spann and Grofova, 1991, Rolland et al., 2011]. Les projections inhibitrices GABAergiques du GPi et de la substance noire *pars reticulata* vers le PPN sont les plus connues et les plus denses [Shink et al., 1997, Parent et al., 2001, Rolland et al., 2009, Rolland et al., 2011].

Enfin, il y a des afférences en provenance des noyaux cérébelleux profonds [Hazrati and Parent, 1992]. D'autres afférences ont été mises en évidence uniquement chez les rongeurs et le chat comme les afférences de la moelle épinière [Grunwerg and Krauthamer, 1992], des noyaux du Raphé, du *locus coeruleus* et du noyau tegmental latéro-dorsal [Semba and Fibiger, 1992, Martinez-Gonzalez et al., 2011].

**Efférences** Les efférences du PPN s'organisent selon des projections ascendantes et descendantes mais certaines de ces projections sont à la fois ascendantes et descendantes [Rye et al., 1987]. Les projections descendantes du PPN atteignent différents noyaux de la formation réticulée ponto-médullaire à l'origine du tractus réticulo-spinal [Sakai et al., 2009] mais aussi le *locus coeruleus* et les noyaux du Raphé [Rolland et al., 2011]. La projection ascendante principale du PPN atteint les noyaux périthalamique et intralaminaires du thalamus, et tout particulièrement les noyaux centre-médian et parafasciculaire) [Steriade et al., 1988, Garcia-Rill, 1991, Lavoie and Parent, 1994c, Galvan and Smith, 2011a].

Le PPN innerve également l'ensemble des structures des ganglions de la base, incluant le STN [Lavoie and Parent, 1994c, Muthusamy et al., 2007], le GPi [Lavoie and Parent, 1994c], la substance noire [Charara et al., 1996, Kitai et al., 1999, Rohrbacher et al., 2000], l'aire tegmentale ventrale [Alderson et al., 2006] et dans une très faible mesure le striatum [Nakano et al., 1990, Lavoie and Parent, 1994b, Dautan et al., 2014].

**IRM de diffusion** L'annexe B explicite le principe de l'IRM de diffusion et de ses utilisations, en particulier la tractographie.

En complément des données expérimentales chez l'animal, des études de connectivité du PPN ont été réalisées par IRM de diffusion et tractographie chez l'homme et le singe [Aravamuthan et al., 2007, Muthusamy et al., 2007, Aravamuthan et al., 2009].

Ces trois études proviennent de l'équipe de Tipu Aziz à Oxford. A partir de données de diffusion acquises chez 8 sujets sains à 1.5T (60 directions, b = 1 000 s/mm<sup>2</sup>, voxels de 2 x 2 x 2 mm<sup>3</sup>) et de la tractographie probabiliste réalisée en partant d'un seul voxel du PPN [Aravamuthan et al., 2007, Muthusamy et al., 2007], des connexions ont été observées entre le PPN et le cervelet, la moelle épinière, le thalamus, le pallidum, le STN et le cortex moteur.

Ces données obtenues chez l'humain ont été comparées à celles obtenues chez un macaque après acquisition d'une IRM de diffusion *post mortem* à 3T (60 directions, b =  $3\ 000\ s/mm^2$ , voxels de  $0.72\ x\ 0.72\ x\ 0.72\ mm^3$ ) et d'une tractographie probabiliste réalisée en partant d'un seul voxel du PPN [Aravamuthan et al., 2009]. Les résultats obtenus sont assez similaires entre les deux espèces sauf sur deux points. Tout d'abord, la tractographie chez le singe ne donne pas de connexion avec le cervelet et la moelle épinière contrairement à la tractographie chez l'homme et aux données de traçage axonales chez le singe et le rongeur. De plus, la tractographie chez l'homme ne met pas en évidence de connexion entre le PPN et la substance noire alors que cette connectivité a été mise en évidence à la fois par tractographie et par
traçage de voies axonales chez le singe.

### Noyau cunéiforme

L'étude de la connectivité du CuN a été plus restreinte que celle du PPN et est donc moins connue. La connectivité du CuN est résumée sur la Figure 2.5 et sera décrite dans les paragraphes suivants.



FIGURE 2.5 – Principales afférences et efférences du CuN

**Afférences** Tout comme pour le PPN, des projections du système limbique (aires infralimbiques et prélimbiques) vers le CuN ont été rapportées chez le macaque [Chiba et al., 2001]. Le CuN reçoit des projections de diverses régions de l'encéphale incluant l'amygdale, la zona incerta, l'hypothalamus, la substance grise péri-ventriculaire et aqueducale et le CuN controlatéral [Bernard et al., 1989, Ryczko and Dubuc, 2013]. Chez le primate, le tractus spino-mésencéphalique et une partie du tractus spinoréticulaire se projettent dans différents sites du mésencéphale caudal incluant le CuN [Wiberg et al., 1987, Yezierski, 1988, Craig, 1995].

Le CuN est connecté avec les ganglions de la base mais de façon plus limité que le PPN. Le CuN, contrairement au PPN, reçoit beaucoup de projections de la substance noire *pars reticulata* et peu de la part du GPi [Rolland et al., 2011].

**Efférences** Les efférences descendantes du CuN sont vers le *locus coeruleus*, le noyau gigantocellulaire, les noyaux du Raphé, le noyau trigéminal et les noyaux réticulaires de la médulla [Rolland et al., 2011]. Chez le primate des efférences ascendantes vers les neurones dopaminergiques de la substance noire ont été mises en évidence [Hong and Hikosaka, 2014].

**IRM de diffusion** A notre connaissance, la connectivité du CuN n'a jamais été étudiée par IRM de diffusion chez aucune espèce.

## 2.2.4 Rôles de la région locomotrice mésencéphalique

La MLR est impliquée dans de nombreuses fonctions motrices, cognitives, ou émotionnelles [Morita et al., 2014]. Les rôles de la MLR dans des fonctions comme la modulation sensorielle [Garcia-Rill, 1991, Datta and Siwek, 1997], la motivation et le renforcement comportemental [Dormont et al., 1998, Winn, 2008] ne seront pas explicités. Par contre, nous détaillerons le rôle de la MLR dans le contrôle de la locomotion et des cycles veille/sommeil, fonctions perturbées avec la maladie de Parkinson.

### Locomotion

La MLR a été initialement décrite en 1966 par stimulation électrique de la partie caudale du tegmentum mésencéphalique d'un chat décérébré [Shik et al., 1966]. Elle se définit fonctionnellement comme un des centres supraspinaux qui déclenche une locomotion lorsqu'une stimulation répétitive est délivrée dans la partie caudale du mésencéphale. La MLR a par la suite été identifiée en utilisant la stimulation chimique ou électrique dans de nombreuses espèces animales incluant la lamproie, la salamandre, les rongeurs, le lapin, le cochon d'inde [Garcia-Rill et al., 1987, Armstrong, 1988, Bernau et al., 1991, Marlinsky and Voitenko, 1991, Sirota et al., 2000, Cabelguen et al., 2003, Takakusaki et al., 2003, Garcia-Rill et al., 2004, Jordan et al., 2008]. La stimulation électrique ou chimique de la MLR chez un animal décérébré induit une augmentation du tonus postural permettant à l'animal de se tenir sur ses pattes, puis des épisodes de locomotion se produisent. De plus, la cadence de la locomotion est en relation avec l'intensité de courant délivré de telle sorte qu'une augmentation d'intensité se traduit par un passage de la marche au trot puis au galop [Le Ray et al., 2011].

Chez le primate, une étude fait référence à un centre locomoteur situé dans le mésencéphale [Eidelberg et al., 1981]. L'objectif de cette étude était la mise en évidence chez un primate normal ou décérébré d'une marche spinale par stimulation électrique ou chimique après une section de la moelle au dessus de l'élargissement lombo-sacrale. Les différents protocoles de stimulation de la moelle ont tous échoué à induire une marche. Cependant, les auteurs ont réussi à mettre en évidence "une région de contrôle de la locomotion" en stimulant électriquement une aire postérieure du STN et une région dans le tegmentum mésencéphalique qu'ils identifient comme étant le CuN. Plus récemment, l'implication des neurones cholinergiques du PPN dans le contrôle de la locomotion chez le primate a été mis en évidence par lésion chimique de ces neurones et l'apparition de troubles locomoteurs et posturaux [Karachi et al., 2010]. En 2016, une étude optogénétique chez la souris a étudié le rôle spécifique de chaque population neuronale de la MLR (cholinergique, glutamatergique et GABAergique) dans l'induction de la locomotion [Roseberry et al., 2016]. L'activation des neurones glutamatergiques entraîne une locomotion dont la vitesse est corrélée à la fréquence de stimulation. L'activation des neurones GABAergiques induit une décélération et un arrêt systématique de la locomotion alors que l'activation des neurones cholinergiques n'entraîne pas la locomotion mais une augmentation de la vitesse lorsque la souris est déjà en mouvement de marche.

Chez l'humain, en utilisant l'IRM fonctionnelle, il a été montré que la région englobant le CuN et la partie dorsale du PPN était activée dans une tâche de marche imaginaire [Jahn et al., 2008b, Jahn et al., 2008a, Karachi et al., 2010].

L'ensemble de ces travaux suggère que l'activité des neurones du PPN joue un rôle prépondérant dans l'initiation et la maintenance de la locomotion ainsi que dans la stabilité posturale. Cependant, le rôle précis du PPN, du CuN et de leurs populations neuronales dans le contrôle de la locomotion chez l'humain n'a pas été établi avec certitude.

#### Veille et sommeil

Les premières expériences démontrant l'implication de la formation réticulée du tronc cérébral dans le contrôle des cycles veille-sommeil datent de 1949 [Moruzzi and Magoun, 1949]. Chez le chat anesthésié, le système réticulé activateur ascendant (SRAA) fut identifié par la stimulation électrique du tegmentum mésencephalique induisant un éveil cortical alors que sa lésion induit un coma. Ce système a pour origine des structures centrales de la formation réticulée tegmentum mésencephalique : les noyaux du Raphé, le *locus coeruleus*, le noyau latérodorsal tegmental et le PPN. Ces deux derniers sont considérés comme le bras cholinergique du SRAA [Shute and Lewis, 1967, Steriade et al., 1988, Steriade et al., 1990, Steriade, 1996, Skinner et al., 2004, Mena-Segovia et al., 2008a].

Une diminution d'activité électrique des neurones du PPN a été mise en évidence chez le chat et le rongeur durant des phases de sommeil à onde lente naturelle [Steriade et al., 1990, Datta and Siwek, 2002]. Ce système ascendant parallèle composé par des structures réticulaires du tegmentum mésencephalique et des noyaux intralaminaires du thalamus permet de transmettre des informations sensitives non-spécifiques jusqu'à l'ensemble des aires corticales pour moduler l'état d'éveil, de vigilance et attentionnel [Kobayashi et al., 2002]. Les projections axonales et dendritiques des neurones cholinergiques du PPN qui diminuent leurs activités durant les phases de sommeil, ont été mises en évidence et se projettent sur les noyaux intralaminaires du thalamus via de nombreuses collatérales ascendantes [Mena-Segovia et al., 2008a].

Les neurones cholinergiques du PPN, de part leurs projections massives sur les neurones dopaminergiques de la substance noire [Lavoie and Parent, 1994a] et leurs efférences sur les noyaux intralaminaires du thalamus, ont une position importante pour moduler l'activité des ganglions de la base en maintenant le niveau d'attention optimal pour la réalisation d'une tâche et conjointement moduler l'activité des neurones de la voie descendante réticulospinale [Matsumoto et al., 2001, Kobayashi et al., 2002, Mena-Segovia et al., 2008b, Galvan and Smith, 2011b, Smith et al., 2011]. Chez le primate, les neurones du PPN sont impliqués à la fois dans la locomotion mais aussi le contrôle des cycles veillesommeil [Goetz et al., 2016]. La possibilité que les neurones du PPN puissent alors être impliqués à la fois dans différents processus tels que le maintien du niveau d'éveil, la régulation du sommeil paradoxal, et des fonctions motrices est maintenant envisagée chez l'humain.

## 2.2.5 Région locomotrice mésencéphalique et maladie de Parkinson

La dégénérescence des neurones cholinergiques du PPN (environ 40%) a été mise en évidence sur du tissu humain *post mortem* de patients parkinsoniens [Hirsch et al., 1987, Jellinger, 1988]. L'importance de cette perte est corrélée à la sévérité de la perte des neurones dopaminergiques de la substance noire [Zweig et al., 1989] et à la sévérité des symptômes parkinsoniens [Rinne et al., 2008]. Une autre étude a mis en évidence une corrélation significative entre cette dégénérescence des neurones cholinergiques du PPN et l'occurrence des chutes et des épisodes de freezing chez le patient parkinsonien (Voir Figure 2.6) [Karachi et al., 2010].

Des modifications structurelles de la MLR, détectées en imagerie par analyse VBM (Voxel-Based Morphometry), ont été mises en évidence chez les patients parkinsoniens ayant un freezing de la marche [Snijders et al., 2011]. De plus, des enregistrements extracellulaires chez des patients parkinsoniens avec des troubles de la marche pendant la procédure de SCP visant la région du PPN ont permis de montrer que certains neurones de la MLR augmentent ou diminuent leur activité de décharge durant toute la durée de la tache de marche imaginaire [Piallat et al., 2009].



FIGURE 2.6 – Dégénérescence des neurones cholinergiques du PPN. A : Cartographie neurones cholinergiques sur un cerveau d'un sujet sain. B : Neurones cholinergiques marqués du PPN sur coupes axiales d'un sujet sain, d'un patient parkinsonien non-chuteur et d'un patient parkinsonien chuteur. C : Nombre total de neurones cholinergiques pour les trois groupes étudiés [Karachi et al., 2010]

## 2.2.6 Stimulation cérébrale profonde du noyau pédonculopontin

Comme nous l'avons vu précédemment, le PPN reçoit des afférences GA-BAergiques de la substance noire *pars reticulata* et du GPi. Celles-ci étant hyperactives à l'état parkinsonien [Herrero et al., 1996], elles induisent une hypoactivité du PPN, comme montré chez un modèle de primates parkinsoniens [Gomez-Gallego et al., 2007]. La SCP basse fréquence du PPN fut donc proposée chez les patients parkinsoniens souffrant de troubles de la marche et de l'équilibre résistants à la L-Dopa afin d'induire une excitation du réseau neuronal et ainsi améliorer les signes moteurs invalidants. Signalons qu'une SCP à haute fréquence du PPN (équivalente à une lésion) empêche la transmission du message nerveux et induit des déficits posturaux et de locomotion chez un modèle de primates parkinsoniens [Karachi et al., 2010].

Deux premières études ont démontré la faisabilité de la SCP du PPN à basse fréquence et les résultats préliminaires étaient encourageants [Mazzone et al., 2005, Plaha and Gill, 2005]. Suite à cela, d'autres équipes ont cherché à évaluer l'efficacité de la SCP du PPN pour traiter le freezing de la marche [Stefani et al., 2007, Pereira et al., 2008, Ferraye et al., 2010, Moro et al., 2010a, Peppe et al., 2010, Shimamoto et al., 2010, Acar et al., 2011, Aviles-Olmos et al., 2011, Thevathasan et al., 2011, Khan et al., 2012, Welter et al., 2015, Mestre et al., 2016]. Les effets cliniques obtenus par ces études sont très hétérogènes et n'ont pas permis de valider ceux obtenus dans les études préliminaires. Il est difficile d'interpréter les résultats de la littérature à cause de la grande variabilité des protocoles utilisés : nombre de patients relativement faible, protocoles "ouvert" ou en "double aveugle", SCP bilatéral ou unilatéral, différentes fréquences de stimulation, et sites d'implantation qui diffère entre les études. La localisation du site d'implantation dans le PPN, et plus généralement dans la formation réticulée mésencéphalique, reste un point majeur non encore résolu dans la communauté scientifique et a été la source de nombreuses controverses [Mazzone et al., 2005, Yelnik et al., 2007, Zrinzo and Zrinzo, 2008, Alam et al., 2011]. En effet, il y a de grandes variabilités anatomiques interindividuelles du tronc cérébral humain (comme son angulation par rapport au cerveau) et le référentiel stéréotaxique de Talairach (basée sur des repères du III<sup>ième</sup> ventricule et ne prenant pas en compte l'angulation du tronc) n'est donc pas adapté aux implantations d'électrodes dans le tronc cérébral et peut conduire à des erreurs de ciblage. De plus, il y a un manque de connaissances anatomo-fonctionnelles de la MLR et certaines équipes décrivent le CuN comme la principale région impliquée dans la locomotion [Piallat et al., 2009] alors que d'autres ciblent une structure qui semble plus profonde que le PPN [Thevathasan et al., 2011].

Cette nouvelle approche thérapeutique, même si elle semble prometteuse, reste encore pour certains auteurs non satisfaisante d'un point de vue clinique pour être validée et pour traiter les troubles de la marche et de l'équilibre apparaissant à un stade avancé de la maladie de Parkinson [Pereira et al., 2008, Ferraye et al., 2010, Moro et al., 2010a, Acar et al., 2011, Thevathasan et al., 2011].

## 2.3 Conclusion

La MLR est une région se situant dans le tegmentum mésencéphalique du tronc cérébral et qui est constituée du PPN et du CuN. Les différences de composition neuronale entre le PPN et le CuN permettent de différencier ces deux noyaux ouverts puisque seul le PPN contient des neurones cholinergiques contrairement au CuN. Les rôles spécifiques de ces deux noyaux sont encore assez peu connus, particulièrement chez le primate non-humain et l'humain. Mieux connaître la connectivité et le fonctionnement du PPN et du CuN permettrait de préciser la cible de la SCP pour les patients parkinsoniens souffrant de troubles de la marche à un stade avancé de la maladie.

Une fois la cible choisie, il nous semble nécessaire d'avoir un atlas 3D déformable du tronc cérébral humain combinant de l'IRM anatomique, de l'IRM de diffusion et

## CHAPITRE 2. MALADIE DE PARKINSON ET RÉGION LOCOMOTRICE MÉSENCÉPHALIQUE

de l'histologie (marquage des neurones cholinergiques dans le cadre de la SCP du PPN). *In fine,* cet atlas sera recalé sur les IRM de patients opérés pour une SCP du PPN afin de personnaliser la cible optimale et d'éviter que la trajectoire de l'électrode de stimulation ne passe par certains faisceaux de fibres provoquant des effets secondaires.

## / Chapitre –

3

# Tremblements essentiels et noyau ventral intermédiaire

## Sommaire

3.1	Les tremblements essentiels : généralités		
3.2	Traitements des tremblements essentiels		
	3.2.1 Mé	dicamenteux	24
	3.2.2 Net	uromodulation	24
3.3	Le thalamus		
3.4	Anatomie et connectivité du noyau ventral intermédiaire 2		
3.5	Ciblage du noyau ventral intermédiaire		
3.6	Conclusion	۰ ٤	31

Dans ce chapitre, nous étudierons la deuxième cible de neuromodulation d'intérêt de ce travail de thèse : le noyau ventral intermédiaire (Vim) situé dans la masse latérale du thalamus et nommé Vim selon Hassler [Hassler, 1959]. Le Vim peut aussi se nommer la partie ventrale et postérieure du noyau postérieur latéral ventral (Vlp) selon la nomenclature d'Hirai et Jones que nous n'allons pas adopter [Hirai and Jones, 1989]. Les méthodes permettant son ciblage pour la neuromodulation dans le cadre des tremblements essentiels seront décrites ainsi que leurs limitations actuelles.

## 3.1 Les tremblements essentiels : généralités

Le tremblement essentiel se définit principalement par un trouble du mouvement caractérisé par un tremblement d'action bilatéral (symétrique) qui affecte les bras, la tête, le cou et/ou la voix, ainsi qu'occasionnellement les jambes, le menton ou le tronc [Louis, 2009].

Ce trouble moteur d'origine neurologique est considéré comme le trouble du mouvement le plus commun chez l'adulte [Louis, 2009]. Cependant, il est assez difficile d'évaluer sa prévalence avec précision, puisque le tremblement essentiel demeure souvent mal diagnostiqué. On estime sa prévalence entre 0.4 et 6% dans la population générale et jusqu'à 21.7% chez les personnes âgées de plus de 95 ans [Louis et al., 1995].

## 3.2 Traitements des tremblements essentiels

## 3.2.1 Médicamenteux

Aucun traitement curatif n'est disponible à ce jour. Les traitements utilisés aujourd'hui ont pour but de minimiser les symptômes moteurs des patients atteints de tremblements essentiels en réduisant principalement l'amplitude des tremblements. Les médicaments les plus couramment utilisés sont le propranolol et la primidone avec un taux d'efficacité respectif de 60% et de 50% [Rajput et al., 2004]. Les contre-indications et les effets indésirables des bêtabloquants, relativement fréquents, constituent autant de limites à leur utilisation.

## 3.2.2 Neuromodulation

La SCP dans le cadre des tremblements essentiels est un traitement alternatif utilisé dans les cas où aucun autre traitement curatif n'est adapté. Le patient doit souffrir de symptômes moteurs graves qui affectent de manière importante ses activités quotidiennes et l'empêchent de subvenir à ses besoins sans aide [Zesiewicz et al., 2005]. Le Vim du thalamus est la cible principale de la chirurgie stéréotaxique pour les tremblements essentiels.

La découverte du Vim comme cible neurochirurgicale pour traiter les tremblements essentiels tient à la fois de la science et du hasard. En effet, l'histoire rapporte qu'un élève d'Irving Cooper croyant réaliser une pallidotomie a obtenu une suppression totale du tremblement. Or les radiographies stéréotaxiques per-opératoires ont montrées que la lésion censée se situer au niveau du pallidum se trouvait en réalité dans le thalamus ventro-latéral. Ceci encouragea par la suite Cooper à pratiquer de nombreuses cryothalamotomies [Cooper et al., 1958]. Parallèlement dans les années 60', grâce à des enregistrements électrophysiologiques, Albe-Fessard et son équipe ont trouvé au sein du Vim des cellules ayant une activité électrique synchrone du tremblement encore appelées «tremor cells» ou trémorosynchrones, ainsi que et des neurones kinesthésiques disposés selon une organisation somatotopique [Albe-Fessard et al., 1961, Albe-Fessard et al., 1963]. De part sa grande efficacité la cible Vim a rapidement et largement conquis une très large majorité de neurochirurgiens stéréotacticiens. Au cours de ces thalamotomies, il a été montré que la stimulation au delà de 100 Hz permettait de réduire le tremblement [Hassler et al., 1960, Ohye et al., 1964]. Cette observation a conduit, une vingtaine d'année plus tard, à placer une électrode de stimulation au sein du Vim pour obtenir le même effet sur le tremblement [Benabid et al., 1996]. D'une chirurgie lésionnelle aux effets indésirables irréversibles, on passait ainsi à une chirurgie modulatrice, adaptable et réversible. De plus, la SCP du Vim permet de supprimer certains effets indésirables fréquemment observés lors des thalamotomies bilatérales tels que les troubles de la parole et de l'équilibre. Ainsi, la SCP du Vim, autrefois réservée comme deuxième recours pour stimuler le thalamus contralatéral chez un patient ayant déjà eu une thalamotomie, est devenue la technique de première intention avec une morbidité moindre des procédures bilatérales [Tasker, 1998]. De nos jours, la SCP à haute fréquence du Vim est efficace pour 60-80% des patients atteints de tremblements essentiels [Shinoda et al., 1993].

## 3.3 Le thalamus

Le thalamus est une structure symétrique, de forme ovoïde, qui représente 80% du diencéphale qui est constitué des thalamus, hypothalamus, épithalamus et sousthalamus (Figure 3.1).

Cette région est le relais de toutes les informations sensitives et sensorielles mais aussi motrices qui se rendent aux différentes aires corticales. Le thalamus joue ainsi un rôle essentiel dans la sensibilité, la motricité, l'excitation corticale (vigilance) comme dans les circuits d'intégration de l'affectivité, de l'humeur et de la mémoire. Chaque noyau du thalamus est relié par la radiation thalamique (une partie de la capsule interne) de façon réciproque avec une partie bien précise du cortex cérébral.

La présence de lames médullaires, faites de fibres myélinisées, permet de subdiviser le thalamus en différents groupes nucléaires. La Figure 3.2 est une vue schématique des différents noyaux thalamiques.

# CHAPITRE 3. TREMBLEMENTS ESSENTIELS ET NOYAU VENTRAL INTERMÉDIAIRE



FIGURE 3.1 – Vue tridimensionnelle du thalamus en rouge



FIGURE 3.2 – Vue schématique du thalamus droit. ATN = noyau antérieur; LDN = noyau latéral dorsal; LN = noyau latéral; IML = lame médullaire interne; ILN = noyau intralaminaire; MDN = noyau dorsomédian; Pu = Pulvinar; VL = noyau ventral latéral; VA = noyau ventral antérieur; VLp = noyau postérieur latéral ventral; Vim = noyau ventral intermédiaire; VPm = noyau postérieure médial.

## 3.4 Anatomie et connectivité du noyau ventral intermédiaire

Le Vim, est un petit noyau  $(10 \times 10 \times 3 \text{ mm}^3)$  composé de larges neurones activateurs glutamatergiques.

Ce noyau est un relais entre le cervelet et le cortex cérébral et est parfois aussi nommé territoire cérébelleux. Le Vim reçoit des axones de tous les noyaux cérébelleux profonds mais en particulier du noyau dentelé [Percheron, 1977, Asanuma et al., 1983]. Le Vim est composé de deux parties, externe (VimE) et interne (VimI). La cible corticale élective du VimE est le cortex moteur primaire [Schell and Strick, 1984, Orioli and Strick, 1989]. Les afférences cérébelleuses y sont organisées selon une carte somatotopique où la jambe est rostrodorsolatérale et la face médiale [Vitek et al., 1994]. Il reçoit aussi des axones du vestibule et du faisceau spinothalamique. Le VimI reçoit essentiellement des informations associatives du noyau dentelé ventral mais aussi des axones tectaux et spinothalamiques. Les neurones thalamocorticaux de VimI envoient leurs axones au cortex prémoteur et pariétal. La figure 3.3 explicite la connectivité du Vim.

La voie cérébello-thalamo-corticale serait le siège d'altérations du fonctionnement normal des neurones. Une augmentation anormale de l'activité des neurones thalamiques du Vim serait responsable des troubles du contrôle moteur et du tremblement observé lors des mouvements [Rincon and Louis, 2005]. La stimulation à haute fréquence du VimE ou sa thermocoagulation entraînerait une normalisation de ces anomalies, corrigeant ainsi le tremblement, voire même le supprimant dans certains cas [Shinoda et al., 1993].



FIGURE 3.3 – Connectivité fonctionnelle du Vim

## 3.5 Ciblage du noyau ventral intermédiaire

Compte tenu des progrès récents de l'imagerie médicale, des cibles pour la SCP comme le STN ou le GPi peuvent être identifiées de manière fiable et ciblées directement avec l'IRM conventionnelle [Hirabayashi et al., 2002]. Cependant, actuellement, la résolution et le contraste inadéquats empêchent l'utilisation d'un ciblage basé sur l'imagerie anatomique pour le Vim [Benabid et al., 2002]. Un ciblage indirect reste donc la méthode la plus utilisée et différentes méthodes peuvent être utilisées pour estimer l'emplacement du Vim.

La méthode de ciblage la plus utilisée actuellement repose sur le diagramme de Guiot où les coordonnées du Vim sont données par extrapolation en mesurant des distances à partir de repères reconnaissables tels que les commissures antérieure et postérieure, et la hauteur du thalamus [Guiot et al., 1967]. Ces repères peuvent être localisés sur une ventriculographie [Guiot and Derôme, 1969], par tomodensitométrie [Spiegelmann and Friedman, 1991], ou par IRM [Machado et al., 2006]. Les coordonnées sont déduites à l'aide de schémas géométriques proportionnels, en supposant que les proportions sont applicables à tout individu. La figure 3.4 illustre le diagramme de Guiot. D'autres auteurs préconisent la visualisation directe des structures anatomiques bordant les noyaux moteurs du thalamus, tels que la capsule interne et la paroi du troisième ventricule [Hua et al., 2002].

Cependant, certaines équipes utilisent des atlas; comme le groupe de la Pitié-Salpêtrière qui utilise un atlas 3D déformable combinant une IRM anatomique à de l'information anatomique provenant de coupes histologiques [Yelnik et al., 2007]. Cet atlas, où les ganglions de la base et le thalamus ont été identifiés et tracés grâce à différents marqueurs histologiques puis reconstruits en 3D, est recalé sur l'IRM des patients candidats à la SCP permettant une visée « directe » du thalamus individuel [Bardinet et al., 2009]. La comparaison de la cible trouvée avec cet atlas et la cible trouvée avec le diagramme de Guiot montre une différence de ciblage et que la cible de Guiot est trop latérale [Bardinet et al., 2011]. D'autres atlas sont existent et e groupe de l'université de Floride utilise lui une version digitalisée de l'atlas de Schaltenbrand-Bailey pour cibler le Vim [Schaltenbrand and Wahren, 1977, Papavassiliou et al., 2008]. CHAPITRE 3. TREMBLEMENTS ESSENTIELS ET NOYAU VENTRAL INTERMÉDIAIRE



FIGURE 3.4 – Diagramme de Guiot. Selon Guiot, la cible Vim répond aux coordonnées suivantes :  $3/12^{\text{ème}}$  de la distance CA-CP en avant de CP pour la coordonnée antéro-postérieure (y), à hauteur du plan CA-CP pour la cordonnée verticale (z) et entre 13 et 16 mm de part et d'autre de la ligne médiane pour la coordonnée médiolatérale (x). La coordonnée x est fréquemment ajustée en fonction de la largeur du  $3^{\text{ème}}$  ventricule. Classiquement pour le Vim, la coordonnée x se situe à 11,5 mm du bord latéral ispilatéral du thalamus ou encore à 11,5 mm + (largeur V3/2) à partir de la ligne médiane.

Une préoccupation majeure du ciblage indirect est le manque de précision inhérent à la technique car elle ne tient pas assez compte de la variabilité interindividuelle des tailles cérébrales et de l'asymétrie possible entre les deux hémisphères

# CHAPITRE 3. TREMBLEMENTS ESSENTIELS ET NOYAU VENTRAL INTERMÉDIAIRE

d'un même individu [Hirabayashi et al., 2002]. Pour compenser cette précision limitée, des équipes ont mis au point des méthodes électrophysiologiques visant à reconnaître des modèles de décharge spécifiques de neurones pour placer de façon optimale l'électrode dans le Vim [Benabid et al., 1996]. Cependant, cette approche expose le patient à des risques supplémentaires liés aux multiples voies cérébrales nécessaires pour obtenir des évaluations physiologiques et au fait que la chirurgie est plus longue. La visualisation directe du Vim semble donc souhaitable pour améliorer la précision du ciblage et réduire le nombre de procédures invasives.

Comme les faisceaux de matière blanche participent aux effets de la SCP [Gabriëls et al., 2003, Hamel et al., 2003], l'étude de ces faisceaux avec l'IRM de diffusion offre une nouvelle possibilité de ciblage. En effet, l'IRM de diffusion permet de subdiviser le thalamus dans son ensemble en se basant sur sa connectivité corticale [Behrens et al., 2004]. Pour chaque voxel du thalamus, une tractographie probabiliste est réalisée vers chacune de ces régions corticales cibles : préfrontale, aire motrice primaire, cortex pré-moteur et l'aire motrice supplémentaire, somatosensorielle, temporale, postérieure pariétal et occipital. Chaque voxel est représenté par un vecteur C de taille 7 (le nombre de régions corticales cibles) où chaque valeur est le nombre de fibres atteignant cette région. En réalisant cette opération pour tous les voxels du thalamus, une carte de probabilité est obtenue pour chaque région cible. A partir des cartes de probabilités, les voxels du thalamus sont classés en prenant le maximum de connectivité. Ainsi, un voxel ayant son maximum de connectivité avec la région temporale est classé « temporal ». La figure 3.5 montre les résultats obtenus en IRM de diffusion sur le thalamus. Ces résultats sont comparables aux données histologiques de la littérature [Johansen-Berg et al., 2005].



FIGURE 3.5 – Parcellisation du thalamus chez 11 sujets [Johansen-Berg et al., 2005]. Le Vim est en orange sur la figure et ses voxels sont connectés à l'aire motrice primaire.

30

Cette subdivision du thalamus a été utilisée avec succès pour le ciblage du Vim et pour traiter les tremblements essentiels [Pouratian et al., 2011, Hyam et al., 2012, Lujan et al., 2012, Hunsche et al., 2013, Sudhyadhom et al., 2013, Anthofer et al., 2014, Torres et al., 2014, Avecillas-Chasin et al., 2016]. D'autres équipes utilisent l'IRM de diffusion pour cibler, avec succès, le faisceau dentorubrothalamique (et non pas le Vim) qui est le faisceau de matière blanche reliant le noyau dentelé dorsal au VimE [Coenen et al., 2011, Calabrese et al., 2015].

## 3.6 Conclusion

Appliquée depuis maintenant plus d'un demi siècle, la neuromodulation à haute fréquence du Vim du thalamus est efficace chez 60-80% des patients atteints de tremblements essentiels [Shinoda et al., 1993]. Différentes méthodes de ciblages du Vim, directes ou indirectes, existent : diagramme de Guiot, par recalage d'atlas ou des méthodes basées sur l'IRM de diffusion. Toutes ces techniques ont été utilisées avec succès pour le ciblage du Vim mais aucune étude, à notre connaissance, ne s'est attachée à regarder si les cibles étaient anatomiquement localisées au même endroit.

## Chapitre

4

## Objectifs de la thèse

L'objectif général de cette thèse est de mieux caractériser les structures cérébrales impliquées dans la neuromodulation pour optimiser le ciblage et, ainsi, augmenter les bénéfices thérapeutiques pour les patients et mieux comprendre les résultats de la neuromodulation.

Le premier axe de recherche porte sur la région locomotrice mésencéphalique qui, comme nous l'avons vu au Chapitre 2, est une cible en cours d'évaluation pour les patients parkinsoniens souffrant de troubles de la marche et de l'équilibre. Les noyaux du PPN et du CuN, qui constituent cette région, sont impliqués dans la locomotion mais leurs rôles spécifiques sont encore assez peu connus chez le primate humain et non humain. Nous avons, en premier lieu, exploré la connectivité anatomique de cette région chez le singe et l'homme pour déterminer si le PPN et le CuN appartiennent à des circuits anatomiques différents (Chapitre 5). Les résultats de ce premier projet ont été publiés [Sébille\* et al., 2017] et nous ont amené à considérer que le PPN est la cible de neuromodulation à privilégier pour améliorer les troubles de la marche et de l'équilibre dont souffrent les patients parkinsoniens.

Or, une perte de neurones cholinergiques du PPN a été démontrée chez les patients parkinsoniens par rapport aux sujets sains. Idéalement, il faudrait cibler la région du PPN où la densité des neurones cholinergiques restants est maximale afin d'augmenter les bénéfices thérapeutiques de la neuromodulation. Le second projet a donc consisté à étudier la topographie 3D de la perte de neurones cholinergiques du PPN chez différentes populations pathologiques par rapport à des sujets sains (Chapitre 6). Ce travail fait l'objet d'un article en préparation.

Enfin, afin de cibler cette densité maximale de neurones cholinergiques du PPN pour chaque patient candidat à la SCP, un atlas 3D déformable du tronc cérébral humain sain *post mortem* sera construit. Il combinera techniques histologiques pour mettre en évidence les différentes populations neuronales et de l'IRM anatomique et de diffusion à très haut champ (11.7T) (Chapitre 7). *In fine*, cet atlas sera recalé sur les IRM de patients opérés pour une SCP du PPN afin de personnaliser la cible optimale et d'éviter que la trajectoire de l'électrode de stimulation ne passe par certains faisceaux de fibres provoquant des effets secondaires. Les acquisitions IRM *post mortem* réalisées à très haut champs (11.7T) ont exigées la mise au point d'un protocole d'imagerie expérimental. La mise au point de ce protocole a été réalisée à partir d'un cerveau de macaque *post mortem* et fait l'objet d'un article en préparation. Ce protocole a ensuite été appliqué au tronc cérébral humain *post mortem* et donnera lieu à un futur article.

Le second axe de recherche concerne le Vim du thalamus qui est la cible usuelle pour les tremblements essentiels. Nous avons vu au Chapitre 3 que différentes méthodes de ciblages du Vim existent : diagramme de Guiot, recalage d'atlas, méthodes basées sur l'IRM de diffusion, etc... Ces techniques ont été utilisées avec succès pour le ciblage du Vim lors de sa neuromodulation pour améliorer le tremblement essentiels des patients. A notre connaissance, aucune étude n'a jamais démontré que ces différentes méthodes résultaient en une même région du Vim localisée. Notre objectif a donc été d'appliquer ces méthodes de ciblage du Vim sur les mêmes sujets et de comparer les différentes localisations obtenues (Chapitre 8).



# Région locomotrice mésencéphalique

# Chapitre Étude de la connectivité anato 5 mique de la région locomotrice mésencéphalique

## Sommaire

5.1	Présentation de l'étude			
	5.1.1	Introduction et objectifs		
	5.1.2	Matériel et méthodes		
	5.1.3	Principaux résultats		
	5.1.4	Contributions personnelles		
5.2	Article	38		

## 5.1 Présentation de l'étude

## 5.1.1 Introduction et objectifs

La MLR est une structure du tronc cérébral se retrouvant chez les vertébrés. Nous avons vu au Chapitre 2 que la MLR joue un rôle crucial dans la locomotion mais également dans d'autres fonctions telles que la veille sommeil, les processus attentionnels, d'apprentissage, de récompense et de renforcement. La MLR se compose du PPN et du CuN, deux noyaux dont les rôles spécifiques sont peu connus chez les singe set l'homme. Si les études anatomiques ont montré l'existence de connexions entre le PPN et les ganglions de la base, le thalamus et la formation réticulée bulbaire, il reste à déterminer les territoires anatomo-fonctionnels sur lesquels ces projections se font. De plus, la connectivité du CuN a été peu étudiée. Ces informations apporteraient une meilleure compréhension des rôles spécifiques du PPN et du CuN dans les fonctions motrices, cognitives et émotionnelles chez le singe et l'homme.

Ainsi, avec cette étude, nous avons cherché à caractériser la connectivité anatomique, chez le singe et l'homme, du PPN et du CuN vers et à partir des ganglions de la base, du thalamus, de l'amygdale et du cortex, avec un intérêt spécifique pour l'identification des territoires anatomo-fonctionnels. À cette fin, nous avons utilisé des techniques d'IRM de diffusion chez l'homme et de traçage de voies axonales chez le singe.

## 5.1.2 Matériel et méthodes

L'étude de la connectivité chez l'homme s'est faite par IRM de diffusion chez 30 sujets sains provenant du "Human Connectome Project"<sup>1</sup>. Nous avons réalisé des tractographies probabilistes en partant du PPN ou du CuN vers des régions cibles. Ensuite, nous avons sélectionné les extrémités de fibres se terminant dans ces régions cibles pour créer une carte de densité de connexion. Ces cartes ont ensuite été seuillées et binarisées pour l'analyse statistique des résultats de connectivité anatomique chez les 30 sujets.

Par ailleurs, une étude de la connectivité du PPN et du CuN chez le singe a été réalisée en parallèle. L'analyse des résultats a fait l'objet d'un travail de thèse (H. Belaid) qui ne sera pas détaillée ici. Des injections du traceur BDA (Biotin Dextran Amine), traceur à la fois antérograde et rétrograde, ont été effectuées chez 5 macaques adultes. Les singes ont été sacrifiés 13 jours post-injection et les cerveaux extraits ont été coupés au microtome à congélation en coupes de 50  $\mu$ m perpendiculaires à la ligne CA-CP. Les corps cellulaires et terminaisons nerveuses ayant capté le traceur ont été mis en évidence par immunohistologie puis cartographiés à l'aide d'un microscope relié à un ordinateur.

<sup>1.</sup> http://www.humanconnectomeproject.org/

## 5.1.3 Principaux résultats

Nous avons constaté que les connexions de la MLR sont fortement conservées entre le macaque et l'homme. Concernant les connexions corticales, le PPN est connecté aux cortex moteur primaire et pré-moteur de façon prépondérante mais aussi aux cortex associatif et limbique avec de plus faible connections. Chez le singe, une connectivité plus forte entre le PPN antérieur et le cortex moteur a été mise en évidence, suggérant une organisation topographique de cette projection. Le PPN projette vers les territoires sensori-moteur, associatif et limbique des ganglions de la base (GPi, GPe, STN, substance noire et l'aire ventrale tegmentale), vers les noyaux médian et parafasciculaire du thalamus et vers le noyau central de l'amygdale. Le GPi et le STN sont les deux structures où la connectivité avec le PPN est la plus forte. Aucunes connections entre le PPN et le striatum n'ont été mises en évidence.

Le CuN projette sur des structures cérébrales similaires au PPN mais dans des territoires anatomo-fonctionnels différents. En effet, ses projections sont beaucoup plus fortes vers les territoires limbiques des ganglions de la base, du thalamus et vers le noyau central de l'amygdale. L'aire ventrale tegmentale est une structure purement limbique et où la connectivité avec le CuN est extrêmement forte. Aucunes connections entre le CuN et le striatum n'ont été mises en évidence. Tout ceci suggère que le CuN n'est pas principalement impliqué dans des fonctions motrices.

Nos résultats mettent en évidence le fait que le PPN et le CuN projettent vers différents territoires anatomo-fonctionnels des ganglions de la base et du thalamus chez le singe et l'homme. Le PPN intègre des informations sensori-motrices, cognitives et émotionnelles alors que le CuN participe à un réseau plus restreint intégrant principalement des informations émotionnelles. Ainsi, dans le contexte de la SCP chez les patients parkinsoniens ayant des troubles de la marche et de l'équilibre, nous préconisons le PPN comme cible optimale de stimulation puisqu'il intègre des informations sensori-motrices.

## 5.1.4 Contributions personnelles

J'ai effectué l'ensemble de la partie diffusion et tractographie chez l'homme de l'étude. Ceci comprend :

- La sélection de sujets à partir de la base de données du Human Connectome Project;
- La segmentation manuelle du PPN et du CuN avec Carine Karachi (neurochirurgienne) et Chantal François (neuroanatomiste) chez 10 sujets;
- La création d'un template à partir des segmentations manuelles chez ces 10 sujets;
- La segmentation automatique du PPN et du CuN chez 20 autres sujets à partir du template;
- La segmentation automatique des régions corticales et sous-corticales;
- L'étape de tractographie;
- La sélection des extrémités des fibres avec Anne-Charlotte Philippe (ingénieure de recherche en neuroimagerie);
- L'analyse statistique des résultats.

## 5.2 Article

NeuroImage 147 (2017) 66-78

Contents lists available at ScienceDirect

## NeuroImage

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neuroimage

# Anatomical evidence for functional diversity in the mesencephalic locomotor region of primates



euroImag

Sophie B. Sébille<sup>a,c,1</sup>, Hayat Belaid<sup>a,b,1</sup>, Anne-Charlotte Philippe<sup>a,c</sup>, Arthur André<sup>a,b</sup>, Brian Lau<sup>a</sup>, Chantal François<sup>a</sup>, Carine Karachi<sup>a,b</sup>, Eric Bardinet<sup>a,c,\*</sup>

<sup>a</sup> Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, INSERM, APHP GH Pitié-Salpêtrière, Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), F-75013 Paris, France

<sup>b</sup> Département de Neurochirurgie, Hôpital Pitie Salpêtrière, AP-HP, F-75013 Paris, France

<sup>c</sup> Centre de Neuro-Imagerie de Recherche (CENIR), Paris, France

#### ARTICLE INFO

Keywords: Pedunculopontine nucleus Cuneiform nucleus Tract tracing Monkey Human Tractography

#### ABSTRACT

The mesencephalic locomotor region (MLR) is a highly preserved brainstem structure in vertebrates. The MLR performs a crucial role in locomotion but also controls various other functions such as sleep, attention, and even emotion. The MLR comprises the pedunculopontine (PPN) and cuneiform nuclei (CuN) but their specific roles are still unknown in primates. Here, we sought to characterise the inputs and outputs of the PPN and CuN to and from the basal ganglia, thalamus, amygdala and cortex, with a specific interest in identifying functional anatomical territories. For this purpose, we used tract-tracing techniques in monkeys and diffusion weighted imaging-based tractography in humans to understand structural connectivity. We found that MLR connections are broadly similar between monkeys and humans. The PPN projects to the sensorimotor, associative and limbic territories of the basal ganglia nuclei, the centre median-parafascicular thalamic nuclei and the central nucleus of the amygdala. The PPN receives motor cortical inputs and less abundant connections from the associative and limbic cortices. In monkeys, we found a stronger connection between the anterior PPN and motor cortex suggesting a topographical organisation of this specific projection. The CuN projected to similar cerebral structures to the PPN in both species. However, these projections were much stronger towards the limbic territories of the basal ganglia and thalamus, to the basal forebrain (extended amygdala) and the central nucleus of the amygdala, suggesting that the CuN is not primarily a motor structure. Our findings highlight the fact that the PPN integrates sensorimotor, cognitive and emotional information whereas the CuN participates in a more restricted network integrating predominantly emotional information.

#### 1. Introduction

The pedunculopontine nucleus (PPN) is located within the mesencephalic reticular formation of the upper brainstem. Together with the cuneiform nucleus (CuN), they have been named "the mesencephalic locomotor region" (MLR) because early studies showed that electrical stimulation of the MLR produces locomotion in various animal species (Garcia-Rill et al., 2014). Because of its anatomical location and the possibility to generate locomotor pattern, the MLR is considered to be a key generator of gait in the brain. However, the specific roles of the PPN and the CuN remain unclear, even if in decerebrate cat, stimulation of the CuN elicits locomotor patterns whereas stimulation of the PPN is able to change muscle tone (Takakusaki et al., 2003). Because the PPN and the CuN have no clear cut boundaries and are composed of clusters of various neuronal types (GABAergic, glutamatergic, cholinergic) (Mena-Segovia et al., 2009; Wang and Morales, 2009), their precise anatomical identification leads to divergence between authors and increases the confusion between these two nuclei.

http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.12.011 Received 21 September 2016; Accepted 5 December 2016 Available online 09 December 2016 1053-8119/ © 2016 Elsevier Inc. All rights reserved.

Abbreviations: IV, trochlear nucleus; AC, anterior commissure; AM, amygdala; Ant, anterior; Assoc, associative territory; aud, auditory cortex; BC, brachium conjunctivum; BDA, biotine dextran amine; BM, nucleus basalis of Meynert; Ce, central nucleus of the amygdala; CM, centre median; cs, central sulcus; CuN, cuneiform nucleus; DBC, decussation of the brachium conjunctivum; BDS, deep brain stimulation, Dor: dorsal; FR, retroflex fascicle; DWI, diffusion-weighted imaging; GPi, internal pallidum; GPe, external pallidum; ia, anterior insula; IC, inferior colliculus; ins, insula; lat, lateral; Lim, limbic territory; MLF, medial longitudinal tract; MLR, mesencephalic locomotor region; NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; OT, optical tract; PAG, periaqueductal gray; PF, parafascicular nucleus; Post, posterior; PPN, pedunculopontine nucleus; Pu, putamen; SM, sensori-motor territory; SMA, supplementary motor area; SN, substantia nigra; STN, subthalamic nucleus; Sup, superior; temp, temporal cortex; VTA, ventral tegmental area. \* Correspondence to: Eric Bardinet, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, 47 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France.

*E-mail address:* eric.bardinet@upmc.fr (E. Bardinet).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Authors contributed equally to this work.

Recently, deep brain stimulation (DBS) of the PPN area has been attempted in patients with Parkinson disease to improve gait disorders (Ferraye et al., 2009; Mazzone et al., 2005; Moro et al., 2010). Even if expected alleviation of gait remains disappointing, clinical and electrophysiological results strongly suggest that the MLR controls locomotion also in humans (Lau et al., 2015; Piallat et al., 2009; Tattersall et al., 2014). However, the precise implantation target within the MLR remains undefined, some suggests that DBS of the CuN should give better results than PPN DBS (Moro et al., 2010).

Besides locomotion, the MLR is known to control many other functions in the brain. As a part of the ascending reticular activating system, the PPN regulates sleep and arousal in rat (Datta, 2002; Steriade et al., 1990). Lesioning the rat PPN also affects attentional resources (Ainge et al., 2006; Okada et al., 2009), learning, reward and reinforcement processes (Inglis et al., 2001; Kozak et al., 2004; Steiniger and Kretschmer, 2004). PPN manipulations in rat are able to alter self-administration of nicotine and cocaine (Corrigall et al., 2002). In the macaque, PPN neurons send positive reward-related signals to nigral neurons where dopaminergic neurons are known to encode motivational values (Hong and Hikosaka, 2014; Okada and Kobayashi, 2013). In PD patients, DBS of the PPN has been shown to modulate non-motor functions. Indeed, PPN DBS could significantly improve sleep (Arnulf et al., 2010), executive functions and working memory (Stefani et al., 2013). These results emphasise the complex and integrative role of the PPN (Lau et al., 2015). The role of the CuN is much less known but this nucleus seems implicated in locomotion if related to aversive reactions, and in the perception of nociception in rodents (Allen et al., 1996). This result highlights the fact that the CuN is not just devoted to generating locomotion - it also integrates contextual information.

Analysis of the detailed connectivity of the MLR should help us understand the specific role that the PPN and CuN could play in motor, cognitive and emotional functions. Tract tracing studies in monkey have revealed that the PPN receives afferents from the motor cortices (Matsumura et al., 2000), from the output structures of the basal ganglia (internal pallidum (GPi) and substantia nigra (SN)) and from the subthalamic nucleus (STN) (Lavoie and Parent 1994a,b; Shink et al., 1997). The PPN ascending pathway projects to non-specific nuclei of the thalamus, in particular to the centre-median-parafascicular nuclei (CM-PF) (Parent et al., 1988; Steriade et al., 1988). The PPN descending outputs project to the ponto-bulbar reticulospinal formation (Rolland et al., 2011). Even if the connections of the CuN are less known, it has been demonstrated in monkey that the CuN only receives projections from the SN (Rolland et al., 2011) and projects back to various thalamic nuclei (Lavoie and Parent, 1994a), to dopaminergic neurons of the mesencephalon (Hong and Hikosaka, 2014), and to the reticulospinal formation (Rolland et al., 2011). Anatomical connectivity has also been explored in vivo in primates using diffusion weighted imaging (DWI). This technique is the only non-invasive method allowing access to white matter structural connectivity (Le Bihan et al., 1986) through tractography algorithms (Mori and van Zijl, 2002). Results of DWI-based analyses provide evidence for strong connections between the PPN and the cortex, pallidum, STN, thalamus and spinal cord in macaque and human (Aravamuthan et al., 2007; 2009; Muthusamy et al., 2007).

Altogether, these anatomical results provide insights into the complex connectivity of the MLR and its close relationship with basal ganglia. However, the delineation of the PPN remains controversial, the CuN connectivity remains poorly studied, and the connectivity of these two specific nuclei has not been determined in relation to the anatomo-functional subdivisions of different brain structures. This partial anatomical knowledge of the MLR limits our understanding of the specific role of the PPN and the CuN. The aim of our study was to examine the PPN and the CuN inputs and outputs focusing on how projection patterns relate to the cortical, basal-ganglia, amygdala and thalamic anatomo-functional territories that process sensorimotor, cognitive and emotional information. For this purpose, we used tracttracing experiments in monkeys and DWI-based tractography in humans.

#### 2. Material and methods

#### 2.1. Monkeys and volunteers

All experiments were carried out in strict accordance with the European Community Council Directive of 2010 (2010/63/UE) for care and use of laboratory animals. The authorisation for conducting our experiments was approved by the local Committee on the Ethics of Animal Experiments. The animals were kept under standard conditions (12-h light/dark cycle [light on at 20 h], 23 °C and 50% humidity). We used five adult monkeys weighing between 2 and 5 kg (four *Macaca fascicularis*, MI53, MI58, MI82, MIW7 and one *Cercopithecus aethiops*, CA8). Both species are Old World monkeys, with comparable body size and brain development.

Data from 30 healthy volunteers (12 males, range 22 to 35 years) were included in this study, provided by the Human Connectome Project (HCP) (Van Essen et al., 2013). HCP experiments were performed in accordance with relevant guidelines and regulations and the experimental protocol was approved by the Institutional Review Board.

#### 2.2. Tracer injections and analysis

All the procedures used have already been described in detail (Jan et al., 2000; Rolland et al., 2011). For all stereotaxic injections, we used biotin dextran amine (BDA, Sigma, St-Louis, MO) as an anterograde and retrograde tracer (10% in 0.01 M phosphate buffer saline). We made unilateral (CA8, MI58, MIW7) or bilateral (MI53) injections in the MLR at -3.5 to 4.5 mm from the Posterior Commissure (PC), 3 to 4 mm from the midline, and -6 to 7 mm below PC. We also performed one injection in the infralimbic cortex (MI82) at 12 mm from the frontal pole, 1 mm from the midline and at a depth of 8 mm from the dura.

Thirteen days after injections, animals were sacrificed, brains removed and cut on a freezing microtome into 50  $\mu$ m coronal sections perpendicular to the Anterior Commissure (AC)-PC line. The BDA tracer was revealed on regularly spaced sections (500  $\mu$ m) as previously described (Rolland et al., 2011). A second series of sections were first processed to precisely localise the BDA injections, and then processed with nicotinamide adenine dinucleotide phosphate diaphorase histochemistry (NADPH) to identify PPN cholinergic neurons (Hirsch et al., 1987). Representative sections distributed regularly over the whole extent of the regions studied were selected.

NADPH+ neurons were used to delimit the boundaries of the PPN, following criteria previously used (Rolland et al., 2011). For the delineation of the CuN, we used anatomical landmarks: medially, the periaqueductal grey matter, dorsally the colliculi, laterally the lateral lemniscus, and ventrally the PPN. Maps of the retrograde BDA-labelled cell bodies and anterograde labelled terminals (characterised by thin, varicose and bifurcating fibres) were drawn using a computer assisted image analysis (Mercator, ExploraNova, La Rochelle, France). Contralateral labelling was not considered. All the data obtained from the left side were flipped to the right side to simplify comparisons.

Brain structure functional territories were delineated from previous studies: in the STN (Karachi et al., 2009), in the SN (François et al., 1994), in the GPi and GPe (François et al., 2004), in the posterior intralaminar thalamic nuclei (centre median (CM), parafascicular nucleus (PF)) (Galvan and Smith, 2011). The ventral tegmental area (VTA), considered as a part of the limbic system, was delineated following criteria already described (François et al., 1999). An overview of the PPN and the CuN where the tracer was injected and their basal ganglia and thalamic target regions in monkey is summarized (Fig. 1A).

40

Since the injected amount of tracer was variable, no quantitative histological data were available in monkey.

#### 2.3. Image acquisition and preprocessing

Three Tesla MRI acquisitions were performed and pre-processed by the HCP (Glasser et al., 2013; Sotiropoulos et al., 2013). A T1 weighted image was first collected with a 0.7 mm<sup>3</sup> resolution. A set of diffusionweighted images (voxel size =  $1.25 \text{ mm}^3$ , 90 directions, b-value =  $3000 \text{ s/mm}^2$ ) was then acquired.

We designed and used a methodological pipeline to estimate DWIbased connectivity (Philippe et al., 2015) of the PPN and CuN similar to the approaches used for studies of thalamic, striatal or subthalamic nucleus connectivity (Behrens et al., 2003; Draganski et al., 2008; Johansen-Berg et al., 2005; Lambert et al., 2012; Leh et al., 2007) that provide results consistent with histological findings. Our pipeline is summarised in supplementary figure 1 and its three main steps are detailed below.

#### 2.4. Segmentation of regions of interest

The motor cortical areas were segmented using a Brodmann atlas (areas 4 and 6)<sup>2</sup>. The insula and limbic cortex were segmented with the Freesurfer *recon-all* pipeline (Destrieux et al., 2010). We applied an indicator function of the cortical ribbon to obtain homogenised cortical ROIs sizes.

To identify the basal ganglia and their anatomo-functional territories, we used our in-house 3D histological and deformable atlas (YeB atlas) (Bardinet et al., 2009; Yelnik et al., 2007).

The right and left PPN and CuN were manually segmented for the first ten subjects on the visualization of surrounding structures (inferior colliculus, medial and lateral lemniscus and the decussation of the superior cerebellar peduncle) (Fournier-Gosselin et al., 2013) using T1-weighted images and colored fractional anisotropy (FA) maps in order to visualize local fiber orientations. The corresponding ROIs were normalized and superimposed in the Montreal Neurological Institute (MNI) space (all HCP data are provided with MNI spatial normalization matrices), yielding probabilistic templates that were thresholded at 70% and provided PPN and CuN deterministic templates. Then, the template was applied (projected) onto the remaining 20 human brains of this study. Anatomical experts (CK, CF) carefully verified the delineation of the PPN and CuN on each side of each subject that have been produced by this automatic segmentation and manual corrections were performed if needed. Additionally, we checked the validity of these templates by back-projecting them onto the first ten human brains, and computing Dice coefficients between the manual delineations and the back-projected templates. We found Dice coefficients (Dice, 1945) ranging close to 1 (from 0.80 to 0.97), indicating a high similarity between the segmented masks.

We manually segmented the amygdala using T1-weighted images and the delineation from the 3<sup>rd</sup> edition of Mai's human brain atlas (Mai et al., 2007).

An overview of the regions of interest in human, including PPN and CuN, surrounding structures, and basal ganglia and thalamic nuclei, superimposed on T1-weighted and color FA (computed from diffusion MRI) images is summarised (Fig. 1B).

#### 2.5. Probabilistic tractography

We estimated the distribution of fiber orientations present within each imaging voxel using the Constrained Spherical Deconvolution (CSD) framework (Tournier et al., 2007). Probabilistic CSD-based tractography was run in subject-specific native space using MRtrix software from a seed mask to a target mask. We applied probabilistic tractography from every voxel inside the PPN or CuN seed masks to the SN, VTA, GPe, GPi, Pu, STN, amygdala, CM, PF, area 4, area 6, insula and limbic cortices (parameters: 100 000 tracks, step length of 0.625 mm, curvature threshold of 45°, minimum tract length of 10 mm, maximum tract length of 250 mm and fiber orientation distribution amplitude cut-off of 0.1). When the CuN was the seed mask, PPN was used as an exclusion region to avoid PPN fibers passing dorsally through the CuN towards the basal ganglia.

We selected fibers extremities ending in target regions using the *test\_ends\_only* option of the *tckedit* command of MRtrix. For each voxel in a target, the number of extremities stopping in that voxel was counted to obtain a connectivity map. Finally, each map was thresholded at 20, meaning that only voxels which have received 20 or more fiber extremities are kept, and further binarised.

#### 2.6. Statistical analysis

To compare connectivity results between PPN and CuN, we calculated the percentage of connected voxels from the target nuclei (total number of connected voxels divided by total number of the nuclei's voxels), or from their anatomo-functional territories for the putamen, GPe, GPi and STN. The variability is expressed as standard deviation. Comparisons of percentage values of connected voxels between PPN tractography and CuN tractography were performed using the Wilcoxon signed-rank test and MATLAB 2010b.

#### 3. Results

#### 3.1. Injections sites

In monkey, we performed two BDA injections into the PPN, one restricted to the anterior part (CA8) and one to the posterior part of the nucleus (MIW7). Similarly, we performed two BDA injections into the CuN, one restricted to the anterior part (MI58), and one to the posterior part of the nucleus (MI53, left side). A fifth larger injection including both PPN and CuN was also performed (MI53, right side) (Fig. 2A).

#### 3.2. Cortical projections to the PPN and CuN

In monkey, numerous retrogradely labelled cell bodies were found in the premotor area (A6), supplementary motor area (A6), oculomotor area (A8), and in the primary motor area (A4) following PPN injections (Fig. 3A). A stronger connection with motor areas was observed with anterior (CA8) rather than with posterior PPN injections (MIW7). Labelled cell bodies were also observed in the anterior and posterior insular cortex (A12-13 and 16), with fewer in the cortical limbic area (A25).

To confirm the non-motor cortical projections to the PPN, BDA was injected in the infralimbic cortical area (A10m, MI82) (Fig. 2B). Anterogradely labelled terminals were seen in the dorsal, lateral and ventral parts of the PPN delimited using NADPH+ neurons (Fig. 2B). Consistent with previous reports (Chiba et al., 2001; Semba and Fibiger, 1992), numerous labelled fibers and terminals were also distributed in the adjacent dorsolateral tegmental nucleus, in the hypothalamus, and in the periaqueductal area (data not shown).

The great majority of the retrogradely labelled cell bodies following CuN injections were found in the limbic area (A25), and over the whole extent of the insular cortex (A12-13 and A16) (Fig. 2A). Very few cell bodies were encountered in the adjacent auditory and secondary somatosensory cortices (A1-2). Practically no labelled cell bodies were found in the premotor or motor cortices. The infralimbic cortical injection described above resulted in labelled terminals distributed in the most medio-ventral part of the CuN.

In the human subjects, connections of the PPN with the primary

41

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> www.mccauslandcenter.sc.edu/mricro/mricro/lesion.html#brod



Fig. 1. (2-column): Overview of the PPN and CuN, and their basal ganglia and thalamic targets. (A) The PPN and CuN where the tracer was injected, and the basal ganglia and thalamic targets were represented on coronal sections counterstained with cresyl violet. The different anatomo-functional territories were also shown. (B) The same seed and target regions were shown on coronal and sagittal MRI slices in human. Left panel: coronal map of FA of the mesencephaleon including the PPN and CuN region. For abbreviations, see list.



Fig. 2. (2-column): BDA injection sites in the mesencephalic locomotor region in macaques. (A) Maps showing sites confined to either the PPN (red) in two macaques, or to the CuN (blue) in two other macaques, or both (black) in another. The anatomical localisation of the PPN and CuN is shown in a Nissl-stained section (upper part). (B) Left, photograph and maps showing the BDA injection in the limbic cortical area 10mc in a macaque (MW7). Right, photomicrograph and map of anterogradely labelled terminals (grey lines) and NADPH-diaphorase neurons (black dots) on a brainstem coronal section following cortical BDA injection. The photomicrograph in the lower part shows labelled terminals at high magnification. For abbreviations, see list.

motor area (A4) and premotor area (A6) were found with slightly more connections with area A4 (66% of connected voxels from A4 versus 38% from A6) (Fig. 3B). A very weak connection was also observed between the PPN and the insular (4% of connected voxels) and limbic cortices (1% of connected voxels). The CuN also exhibited connections with the motor (A4) and premotor (A6) areas, but less dense than the PPN (66% of connected voxels from A4 and 38% from A6 for the PPN, compared to 54% from A4 versus 25% from A6 for the CuN) (Fig. 2B). We also observed weak connections between the CuN and the insular cortex (3% of connected voxels), but practically no connection was found with the limbic cortex (0.8% of connected voxels).

## 3.3. PPN and CuN projections to the basal ganglia and the adjacent amygdala in monkey

In monkey, injections into the PPN of CA8, MIW7 and MI53 gave labelled terminals homogeneously distributed in the three anatomofunctional territories of the STN (Fig. 4A) with higher terminal density in MIW7 where the injection was posterior. All these PPN injections also resulted in numerous labelled terminals in the three anatomofunctional territories of the pallidum, the GPi being more strongly innervated than the GPe (Fig. 5A). A few labelled terminals were also found scattered within the ventral striatum and in the sensorimotor putamen. Labelled terminals were observed over the whole extent of



Fig. 3. (2-column): Cortical projections to the MLR (A) Left, photograph of retrogradely labelled neurons in area 6 (A6) after PPN injection in the macaque CA8. Right, Maps of retrogradely labelled neurons after BDA tracer injection in the PPN (red dots) and in the CuN (blue dots) on coronal sections of the brain ipsilateral to the injections shown in Fig 1 A. (B) Average results of connections of the PPN and CuN to cortical area 4, area 6, insula and limbic cortex in 30 human subjects. The error bars represent standard deviation. For abbreviations, see list.

the SN, the pars compacta (SNc) being more densely innervated than the pars reticulata (SNr), and the adjacent VTA (Fig. 6A). Anterior injection (case CA8) gave more labelled terminals in the SN than in the VTA, whereas the posterior injection (case MIW7) gave equal density of terminals in the SN and VTA. Numerous PPN labelled terminals were found in the basal forebrain of CA8 and MIW7, including the extended amygdala and the amygdala itself, specifically into the central nucleus (Fig. 5A). In all cases, a few retrogradely labelled cells were found inside the clusters of anterogradely labelled terminals.

CuN BDA injections of MI58 and MI53 resulted in an anterograde labelling in similar nuclei than after PPN injections. However, labelled terminals were mainly located in the anterior and medio-ventral limbic territories of the various nuclei. Indeed, a high density of labelled CuN terminals was observed in the most medial part of the STN (Fig. 4A), in the anse lenticularis surrounding the GPi (Fig. 5A) and in the VTA (extending to the proximal medio-dorsal part of the SNc) (Fig. 6A). Dense clusters of label extended ventrally to the GPi and GPe, in the extended amygdala and in the central nucleus of the amygdala.

Similarly to that observed following PPN injections, a few retrograde labelled cell bodies were found inside the clusters of anterogradely labelled terminals in the SN and in the STN after CuN injections (Fig. 4A, 6A).



**Fig. 4.** (2-column): PPN (red) and CuN (blue) outputs to the STN. (A) Three representative coronal sections of monkey STN showing the functional territories delineated from (Karachi et al., 2009), and the distribution of labelled PPN terminals (middle column), and CuN terminals (last column) in one representative macaque. The three functional territories are represented as three shades of grey: dark for limbic territory (limb), intermediate for associative territory (assoc), and light for sensorimotor (SM). Black points represent retrogradely labelled cell bodies. Photomicrograph showing retrogradely labelled cell bodies within a region of anterogradely labelled axons after BDA injection in the CuN of macaque M158. The antero-posterior position of all coronal sections is indicated with respect to the posterior commissure (PC). (**B**) Histograms showing percentages of connected voxels from the STN and its functional territories to the PPN and CuN, averaged in 30 human subjects. The error bars represent standard deviation. Note that the PPN is more connected to the STN (uniformly over its territories) than the CuN (Wilcoxon signed-rank test: \*p < 0.05; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001). (C) Sagittal view of fibers (yellow) connecting the CuN and the limbic part of the STN. The sensorimotor, associative and limbic anatomo-functional territories of the human STN are represented in green, pink and yellow, respectively. For abbreviations, see list.

## 3.4. PPN and CuN projections to the basal ganglia and the adjacent amygdala in human

In human subjects, we found strong PPN connections with the STN (28% of connected voxels), with lower number of connections of the associative compared to the limbic and sensorimotor territories of the STN (Fig. 4B). PPN connections were also found for the three anatomofunctional territories of the GP, predominantly the GPi (35% of connected voxels) (Fig. 5B, C). No PPN connection to the striatum was detected (0.7% of connected voxels) (Fig. 5B, C). We found that the PPN was also connected to the whole extent of the SN and the adjacent VTA (19% and 18% of connected voxels, respectively) (Fig. 6C, D). No precise delineation between the two nigral parts were possible because clusters of SNc neurons are deeply embedded within the SNr. The central nucleus of the amygdala was also strongly connected to the PPN (32% of connected voxels) (Fig. 5B, C).

Compared to the PPN, the number of connections identified between the CuN and the basal ganglia was lower for the STN, SN, GPi and GPe (21%, 15%, 7% and 2% of connected voxels, respectively). The CuN connections concerned the three anatomo-functional territories delineated in the different basal ganglia nuclei, but were denser in the limbic than in the associative and sensorimotor territories for the STN, SN and GPe, but not the GPi (Fig. 4B, C, 5B, C, 6 C, D). Again, nearly no connections were observed between the CuN and the striatum (0.6% of connected voxels) (Fig. 5B, C). The central nucleus of the amygdala also appeared strongly connected to the CuN (32% of connected voxels) (Fig. 5B, C).

#### 3.5. PPN and CuN projections to the thalamus

In the monkey, PPN labelled axons arborised mainly in the perithalamic, midline nuclei and in the posterior intralaminar nuclei. Prominent clusters of labelled terminals were observed in the three functional territories of these nuclei, thus in both the PF and the CM except its most lateral part (Fig. 6B). In comparison, CuN labelled axons were observed in the same thalamic nuclei, except that the PF

45

S.B. Sébille et al.

NeuroImage 147 (2017) 66–78



**Fig. 5.** (2-column): PPN (red) and CuN (blue) outputs to the pallidum, central nucleus of the amygdala and putamen. (A) Two representative coronal sections of monkey GPi, GPe and Pu showing the functional territories delineated from (François et al., 2004), and the distribution of labelled PPN terminals (middle column), and CuN terminals (last column) in one representative macaque. The three functional territories are represented as three shades of grey as in Fig. 3. Black points represent retrogradely labelled cell body within a region of anterogradely labelled axons after BDA injection into the GPi of macaque 58. Note that the PPN innervates the whole extent of the GPi, only partly the GPe, but not the Pu. In comparison, the CuN innervates the most ventral portion of the two segments of the pallidum, as well as the nucleus basalis of Meynert (BM) and the central nucleus (Ce) of the amygdala (AM). (B) Histograms showing percentages of connected voxels from the GPe and GPi, Ce of the AM, Pu and their functional territories to the PPN and CuN, averaged in 30 human subjects (Wilcoxon signed-rank test: \*p < 0.05; \*\*p < 0.01; \*\*\*p < 0.001). The error bars represent standard deviation. (C) Two representative coronal sections of human GPi, GPe, AM and Pu showing the functional territories segmented with the YeB atlas of 30 subjects, showing the distribution of connections from the GPN or CuN to the GPe were also found but they were less numerous than to the GPi. Only very few connections from the PPN or CuN to the GPe were also found but they were less numerous than to the GPi. Only very few connections from the PPN or CuN to the GPe were also found but they were less numerous than to the GPi. Only very few connections from the PPN or CuN to the GPe were also found but they were less numerous than to the GPi, with a relatively high curvature. For abbreviations, see list.

S.B. Sébille et al.

NeuroImage 147 (2017) 66-78



**Fig. 6.** (2-column): PPN and CuN outputs to the SN, VTA and the posterior intralaminar nuclei of the thalamus. (A) Three representative coronal sections of monkey SN showing the functional territories delineated from (François et al., 1994), and the distribution of labelled PPN terminals (middle row), and CuN terminals (lower row) in one representative macaque. The three functional territories are represented as three shades of grey as in Fig. 3. Note that the PPN mainly projects to the whole extent of the SN pars compacta (SNc), while the CuN mainly terminates in the VTA. Black points represent retrogradely labelled cell bodies (B) Three representative coronal sections of monkey CM-PF showing the functional territories delineated from (Galvan and Smith, 2011), and the distribution of labelled PPN terminals (middle row), and CuN terminals (lower row) in one representative macaque. The three functional territories are represented as three shades of grey as in Fig. 3. (C) Histograms showing percentages of connected voxels from the SN, VTA, CM and PF to the PPN and CuN, averaged in 30 human subjects. The error bars represent standard deviation. Note that more connections were observed between the CuN and the VTA and the PF than between the PPN and CuN, see list.

was more densely innervated than the CM (Fig. 6B).

In human subjects, the PPN was also found to be connected to both the PF and the CM (19% and 11% of connected voxels, respectively), whereas the CuN was more densely connected to the PF than the CM (24% and 15% of connected voxels, respectively) (Fig. 6C, D).

#### 4. Discussion

Our study supports the view that both the PPN and the CuN project to the sensorimotor, associative and limbic anatomo-functional territories of the basal ganglia and the thalamus in monkeys and humans. The analysis of these projections highlights the fact that the PPN could act as an integrator of sensorimotor, cognitive and emotional information, with the anterior part of the PPN more devoted to motor control in the monkey. In contrast, the CuN appears to participate in a more restricted network involving predominantly limbic brain regions.

#### 4.1. Methodological considerations

Since the MLR is characterised by its high density of fibers of passage, our BDA injections in monkey could have labelled structures innervated by these fibers. In particular, the sensorimotor-related cortical areas labelled after these injections could be the sources of lower brainstem and spinal cord projections passing through the MLR. Being aware of this possibility, we performed very small injections to ascertain the position of the tracer within a given part of the chosen structure, avoiding contamination of adjacent structures. Because such injections resulted in retrograde labelled cell bodies in the motor cortices but not in sensory and frontal cortices which are the main sources of the descending projections, we considered that fibers of passage that could have been labelled did not provide significant false positives to our data. However, our small and specific injections did not completely fill the entire PPN or CuN, leading to fewer labelled terminals or retrograde cell bodies in the brain regions of interest.

We chose several methodological options inherent to the DWIbased tractography method. First, when building our PPN and CuN templates from our manually segmented ROIs, we had to fix a threshold to include only common voxels in order to be as specific as possible. The value of 70% was chosen because it leads to CuN and PPN volumes of 216 and 218 mm<sup>3</sup> (Olszewski and Baxter, 1954). Second, we used probabilistic tractography, which traces a large number of possible pathways from a set starting point. The advantages of probabilistic tractography are improved resolution of crossing tracts and sensitivity for curving fibers compared to deterministic algorithms (Tournier et al., 2012) that is particularly well adapted for studying the complex brainstem anatomical connectivity. We have chosen to illustrate fiber tracts originating from the PPN and CuN and descending to the cerebellum and the spinal cord that validate the specificity of the reconstructed tracts, as reported using diffusion MRI in macaque and human (Aravamuthan et al., 2007; 2009; Muthusamy et al., 2007) and axonal tracing in monkey (Rolland et al., 2011).

Due to the small size and complexity of the brainstem anatomy, there was a risk of partial volume effects. To minimize potential confounds, delineation of the seeds (PPN and CuN) was performed conservatively, meaning that only voxels clearly identified within the structures were included in the seeds. The anatomical landmarks, on the other hand, were identified on the T1-weighted MR image (for the inferior colliculus) with a voxel size of 0.7mm<sup>3</sup>, and on the color FA maps (for the medial and internal lemniscus, and decussation) with a voxel of 1.25mm<sup>3</sup>. Their identification was easy and accurate.

One limitation of the present study is that diffusion imaging was not performed on macaques injected with axonal tracer. We were thus unable to directly compare labeled fibers revealed on histological sections with corresponding tracts calculated from the in vivo data on the same animal. However, for now, histology still offers a resolution that is far beyond that of diffusion weighted images and enables a more precise delineation of fiber tracts (Bürgel et al. 2006). We were thus able to trace neuronal connections of the PPN and CuN on histological sections in monkey and to compare these data to diffusion MR images in human.

#### 4.2. The PPN participates in motor, associative and limbic networks

The present data confirms that the PPN innervates the STN and the GP in primates as already reported using tract tracing (Shink et al., 1997; Lavoie and Parent 1994a) and tractography (Aravamuthan et al., 2007; 2009; Muthusamy et al., 2007). Our data demonstrate that PPN axons innervate the whole extent of these basal ganglia nuclei, including all the three anatomo-functional territories of each nucleus. Thus numerous labelled PPN fibers innervated the SNc and the

adjacent limbic VTA in both monkey and human, as reported using tract tracing (Lavoie and Parent, 1994b) and tractography (Aravamuthan et al., 2008). The fact that no PPN connection to the nigra was previously been reported in humans (Aravamuthan et al., 2008) contrary to our present results is probably due to differences in the method used as we discussed above. Our results also show that a weak PPN-striatal projection exists in monkey as already reported (Nakano et al., 1990; Smith and Parent, 1986), but this connection was nearly undetectable in human compared to connections to other basal ganglia. Indeed, no PPN-striatal connection was previously shown in monkey and human (Aravamuthan et al., 2007; 2009; Muthusamy et al., 2007). This contrasts with the strong PPN-striatal projection reported in rodent (Dautan et al., 2014), suggesting an important role of this connection in rodent but not in primate.

Our data show that only the PPN and not the CuN drives the motor cortical components of the MLR in monkey and human. These motor cortical projections come from the primary, supplementary and premotor cortices, as well as the frontal eye fields. These motor projections were previously shown in human using tractography (Aravamuthan et al., 2007; 2009; Muthusamy et al., 2007) and in monkey using histological techniques (Matsumura et al., 2000). Here, we showed that the motor cortex has stronger connection to the anterior PPN than its posterior part in monkey, suggesting a topographical organization within the PPN itself. Moreover, anterior PPN axons densely innervated the SNc, whereas axons from the posterior PPN innervated mostly the limbic VTA. Similar antero-posterior topography of the nigral-PPN connection was also reported in rodent (Oakman et al., 1995). Whether such an antero-posterior topography exists in humans could not be examined in this diffusion-based study because we cannot differentiate fibers that terminate in the posterior part of the PPN and cross the anterior part from the ones that terminate in the anterior part.

We also showed that the whole PPN receives projections from associative and limbic cortices. In particular, the insular cortex (A12-13 and A16) gave projections to both the monkey and human PPN, suggesting that the PPN could integrate functions related to interoception and error processing. Limbic cortices have also been shown to project, although weakly, to the PPN in monkey (Chiba et al., 2001) and in rodent (Semba and Fibiger, 1992; Sesack et al., 1989), but we do not find this direct limbic projection in humans. It is possible that tractography sensitivity is too low to detect such weak cortical connections. However, the fact that anatomical differences exist between species has already been suggested (Aravamuthan et al., 2008) and this could be especially the case for limbic structures and connectivity.

The PPN is also part of a major ascending pathway through the non-specific nuclei of the thalamus (Steriade et al., 1988) known to modulate arousal. Our data showed that PPN axons innervate the limbic, associative and motor territories of the CM/PF nuclei of the thalamus, avoiding the most lateral part known to be interconnected with the motor cortex (Galvan and Smith, 2011). Moreover, the dense projection linking the PPN to the central nucleus of the amygdala that we observed in both monkey and human strengthens the notion that the PPN is not only a motor structure. The central nucleus of the amygdala is known to be the major output of the amygdala. This specific nucleus receives both direct and highly processed sensory information and is known to project to the hypothalamus and brainstem areas that mediate autonomic response and behavioural signs of fear (Sah et al., .2003). Because the CuN also densely projects to amygdala central nucleus, it is possible that the MLR as a whole could be crucial to generate escape behaviour in the context of locomotion.

#### 4.3. The CuN is part of a limbic network

Here, we showed for the first time that the CuN is preferentially

48

connected to the limbic territory of the basal ganglia and thalamus in both species. In monkeys, the location of the labelled terminals coming from the CuN was preferentially within the limbic territories of the basal ganglia (STN and GP), and thalamus (PF nucleus). In humans, even if the CuN connections concerned the three anatomo-functional territories of these different basal ganglia nuclei, much denser connections were found in the limbic STN, SN and GPi. These results are in agreement with previous data obtained in rodents reporting a similar topography of the connections from the deep mesencephalic nucleus (equivalent of the cuneiform nucleus) (Rodríguez et al., 2001) to the ventromedial, limbic STN and GP (Veazey and Severin, 1980a). Moreover, the CuN preferentially innervated the limbic VTA and gave strong projections to the basal forebrain, extended amygdala and the central nucleus of the amygdala in both species. The CuN receives also cortical inputs from the insular cortex in both monkey and human, and from limbic cortices in monkey. Differences between monkey and human exist; the CuN also exhibited a few connections with motor cortical areas as well as associative and sensorimotor territories of the basal ganglia nuclei only in humans. This may be due to the fact that the whole CuN was not injected with the axonal tracer in monkey in order to avoid false positive as discussed above. However, as a whole, the CuN exhibits few connections with motor cortical areas as well as to associative and sensorimotor territories of the basal ganglia nuclei, which suggests that the CuN of the MLR is not primarily a motor structure.

#### 4.4. Functional implications

The preferential link of the anterior PPN to motor network in monkey is consistent with the effects of experimental lesions restricted to the anterior PPN that reduce spontaneous locomotion in rat while posterior PPN lesions have no obvious motor consequences (Alderson et al., 2008). This suggests that the locomotor generator of the MLR might be located anteriorly in the PPN. Cholinergic neurons are known to be numerous in this anterior part of the PPN in monkey (Manaye et al., 1999), suggesting that these cholinergic PPN neurons could have a motor role. Consistent with this, specific lesions of PPN cholinergic neurons gave postural and locomotor deficits in monkey (Karachi et al., 2010). Moreover, PPN cholinergic cell loss in PD patients is correlated with falls (Karachi et al., 2010), leading consequently to a significant decrease in cholinergic concentration of the thalamus (Bohnen et al., 2009). However, the exact location of the cholinergic neuronal loss within the PPN remains to be determined in these PD patients. Taken together, these data suggest that the anterior PPN, should be the best target to improve locomotion in PD patients using DBS or future innovative therapy such as High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) (Carpentier et al., 2016), or targeted pharmacologic therapy such as an acetylcholinesterase inhibitor (Henderson et al., 2016).

The PPN also belongs to non motor networks and plays a crucial role in sleep and arousal. Thus, PD patients with severe gait disorders report changes in sleep quality with PPN-DBS (Arnulf et al., 2010) and increased alertness (Stefani et al., 2013). Moreover, PPN neurons were reported to be strongly activated by visual stimuli, motor movement and imagined locomotion (Lau et al., 2015), showing that the PPN integrates many information sources at the scale of a single neuron.

While effective sites for chemically evoked locomotion in decerebrate cats are located within and around the CuN (Takakusaki et al., 2003), lesions of the CuN in intact rats do not produce locomotor deficits (Allen et al., 1996). However, CuN neurons that also project to the reticulospinal pathway in primate (Rolland et al., 2011), could modulate the activity of excitatory and inhibitory locomotor descending neurons. Thus, while the CuN might be critical for the production of movement in certain conditions, it does not appear to be a strictly locomotion generating centre (Walker and Winn, 2007), as we confirmed here by the analysis of its particular non-motor anatomical connections. Indeed, CuN lesions are able to produce behavioural changes in response to reinforcing events (Allen et al., 1996). Moreover, CuN lesions generate anxiety-like effects (reactions to threat) in rat (Walker and Winn, 2007), which is not the case when the lesion is restricted to the PPN (Winn, 2008). Thus the CuN is likely best understood in terms of its relationship with the organisation of defensive behaviours (Redgrave et al., 1987; Walker and Winn, 2007). Given its position as a major target of the ipsilateral descending projection from the superior colliculus as well as its role in mediating physiological responses to stress, it seems that the CuN is probably part of an anatomically low-level, rapid response system vital for dealing with unexpected threatening events (Allen et al., 1996; Walker and Winn, 2007). The CuN within the MLR could represent an interface between the limbic and the motor system able to adapt locomotor programs as fast as possible to the environmental environment.

#### 5. Conclusion

Overall, our results suggest that MLR connectivity could form the anatomical basis for the integration of numerous and varied sources of information in order to generate and adapt locomotor behaviour to the environmental context. The PPN appears to be a structure where motor, cognitive and emotional information converge whereas the CuN serves to preferentially process emotional information.

#### Funding sources for study

Research wad funded by "Investissements d'avenir" (investing in the future) program ANR-10-IAIHU-06, and the ATIP-Avenir program and Sanofi-Aventis R&D to BL. SS has been supported by the Bettencourt Schueller Foundation and by the National Agency for Research under the program "Investissements d'avenir" ANR-10-EQPX-15. Human data were provided by the Human Connectome Project, WU-Minn Consortium (Principal Investigators: David Van Essen and Kamil Ugurbil;1U54MH091657) funded by the 16 NIH Institutes and Centers that support the NIH Blueprint for Neuroscience Research; and by the McDonnell Center for Systems Neuroscience at Washington University.

#### **Financial disclosures**

The authors declare that there are no financial considerations that represent potential conflicts of interest.

#### **Conflict of interest**

The authors declare no conflicts of interest.

#### Acknowledgements

The authors would like to thank Max Westby for language editing.

#### Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.12. 011.

#### References

- Ainge, J.A., Keating, G.L., Latimer, M.P., Winn, P., 2006. The pedunculopontine tegmental nucleus and responding for sucrose reward. Behav. Neurosci. 120, 563–570. http://dx.doi.org/10.1037/0735-7044.120.3.563.
- Alderson, H.L., Latimer, M.P., Winn, P., 2008. A functional dissociation of the anterior and posterior pedunculopontine tegmental nucleus: excitotoxic lesions have differential effects on locomotion and the response to nicotine. Brain Struct. Funct. 213, 247–253. http://dx.doi.org/10.1007/s00429-008-0174-4.

Allen, L.F., Inglis, W.L., Winn, P., 1996. Is the cuneiform nucleus a critical component of

S.B. Sébille et al.

the mesencephalic locomotor region? An examination of the effects of excitotoxic lesions of the cuneiform nucleus on spontaneous and nucleus accumbens induced locomotion. Brain Res. Bull. 41, 201–210.

- Aravamuthan, B.R., McNab, J.A., Miller, K.L., Rushworth, M., Jenkinson, N., Stein, J.F., Aziz, T.Z., 2009. Cortical and subcortical connections within the pedunculopontine nucleus of the primate Macaca mulatta determined using probabilistic diffusion tractography. J. Clin. Neurosci. 16, 413–420. http://dx.doi.org/10.1016/ j.jocn.2008.03.018.
- Aravamuthan, B.R., Muthusamy, K. a, Stein, J.F., Aziz, T.Z., Johansen-Berg, H., 2007. Topography of cortical and subcortical connections of the human pedunculopontine and subthalamic nuclei. Neuroimage 37, 694–705. http://dx.doi.org/10.1016/ j.neuroimage.2007.05.050.
- Aravamuthan, B.R., Stein, J.F., Aziz, T.Z., 2008. The anatomy and localization of the pedunculopontine nucleus determined using probabilistic diffusion tractography [corrected]. Br. J. Neurosurg. 22 (Suppl 1). http://dx.doi.org/10.1080/ 02688690802448251.
- Arnulf, I., Ferraye, M., Fraix, V., Benabid, A.L., Chabardès, S., Goetz, L., Pollak, P., Debû, B., 2010. Sleep induced by stimulation in the human pedunculopontine nucleus area. Ann. Neurol. 67, 546–549. http://dx.doi.org/10.1002/ana.21912.
- Bardinet, E., Bhattacharjee, M., Dormont, D., Pidoux, B., Malandain, G., Schüpbach, M., Ayache, N., Cornu, P., Agid, Y., Yelnik, J., 2009. A three-dimensional histological atlas of the human basal ganglia. II. Atlas deformation strategy and evaluation in deep brain stimulation for Parkinson disease. J. Neurosurg. 110, 208–219. http:// dx.doi.org/10.3171/2008.3.17469.
- Behrens, T.E.J., Johansen-Berg, H., Woolrich, M.W., Smith, S.M., Wheeler-Kingshott, C.A.M., Boulby, P.A., Barker, G.J., Sillery, E.L., Sheehan, K., Ciccarelli, O., Thompson, A.J., Brady, J.M., Matthews, P.M., 2003. Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging. Nat. Neurosci. 6, 750–757. http://dx.doi.org/10.1038/nn1075.
- Neurosci. 6, 750–757. http://dx.doi.org/10.1038/nn1075.
  Bohnen, N.I., Müller, M.L.T.M., Koeppe, R.A., Studenski, S.A., Kilbourn, M.A., Frey, K.A., Albin, R.L., 2009. History of falls in Parkinson disease is associated with reduced cholinergic activity. Neurology 73, 1670–1676. http://dx.doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181c1ded6.
- Bürgel, U., Amunts, K., Hoemke, L., Mohlberg, H., Gilsbach, J.M., Zilles, K., 2006. White matter fiber tracts of the human brain: three-dimensional mapping at microscopic resolution, topography and intersubject variability. Neuroimage 29, 1092–1105.
- Carpentier, A., Canney, M., Vignot, A., Reina, V., Beccaria, K., Horodyckid, C., Karachi, C., Leclercq, D., Lafon, C., Chapelon, J.-Y., et al., 2016. Clinical trial of blood-brain barrier disruption by pulsed ultrasound. Sci. Transl. Med. 8, 343re2. http:// dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf6086.
- Chiba, T., Kayahara, T., Nakano, K., 2001. Efferent projections of infralimbic and prelimbic areas of the medial prefrontal cortex in the Japanese monkey, Macaca fuscata. Brain Res. 888, 83–101.
- Corrigall, W.A., Coen, K.M., Zhang, J., Adamson, L., 2002. Pharmacological manipulations of the pedunculopontine tegmental nucleus in the rat reduce selfadministration of both nicotine and cocaine. Psychopharmacol. (Berl.). 160, 198–205. http://dx.doi.org/10.1007/s00213-001-0965-2.
- Datta, S., 2002. Evidence that REM sleep is controlled by the activation of brain stem pedunculopontine tegmental kainate receptor. J. Neurophysiol. 87, 1790–1798. http://dx.doi.org/10.1152/jn.00763.2001.
- Dautan, D., Huerta-Ocampo, I., Witten, I.B., Deisseroth, K., Bolam, J.P., Gerdjikov, T., Mena-Segovia, J., 2014. A major external source of cholinergic innervation of the striatum and nucleus accumbens originates in the brainstem. J. Neurosci. 34, 4509–4518. http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5071-13.2014.
- Destrieux, C., Fischl, B., Dale, A., Halgren, E., 2010. Automatic parcellation of human cortical gyri and sulci using standard anatomical nomenclature. Neuroimage 53, 1–15. http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.06.010.
- Dice, L.R., 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. Ecology 26 (3), 297–302.
- Draganski, B., Kherif, F., Klöppel, S., Cook, P. a, Alexander, D.C., Parker, G.J.M., Deichmann, R., Ashburner, J., Frackowiak, R.S.J., 2008. Evidence for segregated and integrative connectivity patterns in the human Basal Ganglia. J. Neurosci. 28, 7143–7152. http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1486-08.2008.
- Ferraye, M.U., Debu, B., Fraix, V., Goetz, L., Ardouin, C., Yelnik, J., Henry-Lagrange, C., Seigneuret, E., Piallat, B., Krack, P., Le Bas, J.-F., Benabid, A.-L., Chabardes, S., Pollak, P., 2009. Effects of pedunculopontine nucleus area stimulation on gait disorders in Parkinson's disease. Brain 133, 205–214. http://dx.doi.org/10.1093/ brain/awp229.
- Fournier-Gosselin, M.-P., Lipsman, N., Saint-Cyr, J.A., Hamani, C., Lozano, A.M., 2013. Regional anatomy of the pedunculopontine nucleus: relevance for deep brain stimulation. Mov. Disord. 28, 1330–1336. http://dx.doi.org/10.1002/mds.25620.
- François, C., Grabli, D., McCairn, K., Jan, C., Karachi, C., Hirsch, E.-C., Féger, J., Tremblay, L., 2004. Behavioural disorders induced by external globus pallidus dysfunction in primates II. Anatomical study. Brain 127, 2055–2070. http:// dx.doi.org/10.1093/brain/awh239.
- François, C., Yelnik, J., Percheron, G., Fénelon, G., 1994. Topographic distribution of the axonal endings from the sensorimotor and associative striatum in the macaque pallidum and substantia nigra. Exp. Brain Res. 102, 305–318.
- François, C., Yelnik, J., Tandé, D., Agid, Y., Hirsch, E.C., 1999. Dopaminergic cell group A8 in the monkey: anatomical organization and projections to the striatum. J. Comp. Neurol. 414, 334–347. http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19991122) 414:3 < 334::AID-CNE4 > 3.0.CO;2-X.
- Galvan, A., Smith, Y., 2011. The primate thalamostriatal systems: anatomical organization, functional roles and possible involvement in Parkinson's disease. Basal Ganglia 1, 179–189. http://dx.doi.org/10.1016/j.baga.2011.09.001.
- Garcia-Rill, E., Hyde, J., Kezunovic, N., Urbano, F.J., Petersen, E., 2014. The physiology

of the pedunculopontine nucleus: implications for deep brain stimulation. J. Neural Transm. 122, 225–235. http://dx.doi.org/10.1007/s00702-014-1243-x.

- Glasser, M.F., Sotiropoulos, S.N., Wilson, J.A., Coalson, T.S., Fischl, B., Andersson, J.L., Xu, J., Jbabdi, S., Webster, M., Polimeni, J.R., Van Essen, D.C., Jenkinson, M., 2013. The minimal preprocessing pipelines for the Human Connectome Project. Neuroimage 80, 105–124. http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.04.127.
- Henderson, E.J., Lord, S.R., Brodie, M.A., Gaunt, D.M., Lawrence, A.D., Close, J.C.T., Whone, A.L., Ben-Shlomo, Y., Allen, N., Schwarzel, A., et al., 2016. Rivastigmine for gait stability in patients with Parkinson's disease (ReSPonD): a randomised, doubleblind, placebo-controlled, phase 2 trial. Lancet Neurol. 15, 249–258. http:// dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00389-0.
- Hirsch, E.C., Graybiel, a M., Duyckaerts, C., Javoy-Agid, F., 1987. Neuronal loss in the pedunculopontine tegmental nucleus in Parkinson disease and in progressive supranuclear palsy. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 84, 5976–5980, (doi:VL - 84).
- Hong, S., Hikosaka, O., 2014. Pedunculopontine tegmental nucleus neurons provide reward, sensorimotor, and alerting signals to midbrain dopamine neurons. Neuroscience 282C, 139–155. http://dx.doi.org/10.1016/ i.neuroscience.2014.07.002.
- Inglis, W.L., Olmstead, M.C., Robbins, T.W., 2001. Selective deficits in attentional performance on the 5-choice serial reaction time task following pedunculopontine tegmental nucleus lesions. Behav. Brain Res. 123, 117–131.
- Jan, C., François, C., Tandé, D., Yelnik, J., Tremblay, L., Agid, Y., Hirsch, E., 2000. Dopaminergic innervation of the pallidum in the normal state, in MPTP-treated monkeys and in parkinsonian patients. Eur. J. Neurosci. 12, (4525–1535).
- Johansen-Berg, H., Behrens, T.E.J., Sillery, E., Ciccarelli, O., Thompson, A.J., Smith, S.M., Matthews, P.M., 2005. Functional-anatomical validation and individual variation of diffusion tractography-based segmentation of the human thalamus. Cereb. Cortex 15, 31–39. http://dx.doi.org/10.1093/cercor/bh1105.Karachi, C., Grabli, D., Baup, N., Mounayar, S., Tandé, D., François, C., Hirsch, E.C.,
- Karachi, C., Grabli, D., Baup, N., Mounayar, S., Tandé, D., François, C., Hirsch, E.C., 2009. Dysfunction of the subthalamic nucleus induces behavioral and movement disorders in monkeys. Mov. Disord. 24, 1183–1192. http://dx.doi.org/10.1002/ mds.22547.
- Karachi, C., Grabli, D., Bernard, F.A., Tandé, D., Wattiez, N., Belaid, H., Bardinet, E., Prigent, A., Nothacker, H.-P., Hunot, S., Hartmann, A., Lehéricy, S., Hirsch, E.C., François, C., 2010. Cholinergic mesencephalic neurons are involved in gait and postural disorders in Parkinson disease. J. Clin. Invest. 120, 2745–2754. http:// dx.doi.org/10.1172/JCI42642.
- Kozak, R., Bowman, E.M., Latimer, M.P., Rostron, C.L., Winn, P., 2004. Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus in rats impair performance on a test of sustained attention. Exp. Brain Res. 162, 257–264. http://dx.doi.org/ 10.1007/s00221-004-2143-3.
- Lambert, C., Zrinzo, L., Nagy, Z., Lutti, A., Hariz, M., Foltynie, T., Draganski, B., Ashburner, J., Frackowiak, R., 2012. Confirmation of functional zones within the human subthalamic nucleus: patterns of connectivity and sub-parcellation using diffusion weighted imaging. Neuroimage 60, 83–94. http://dx.doi.org/10.1016/ j.neuroimage.2011.11.082.
- Lau, B., Welter, M.-L., Belaid, H., Fernandez Vidal, S., Bardinet, E., Grabli, D., Karachi, C., 2015. The integrative role of the pedunculopontine nucleus in human gait. Brain 138, 1284–1296. http://dx.doi.org/10.1093/brain/awv047.
- Lavoie, B., Parent, A., 1994a. Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: projections to the basal ganglia as revealed by anterograde tract-tracing methods. J. Comp. Neurol. 344, 210–231. http://dx.doi.org/10.1002/cne.903440204.
- Lavoie, B., Parent, A., 1994b. Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: cholinergic and glutamatergic projections to the substantia nigra. J. Comp. Neurol. 344, 232–241. http://dx.doi.org/10.1002/cne.903440205.
- Le Bihan, D., Breton, E., Lallemand, D., Grenier, P., Cabanis, E., Laval-Jeantet, M., 1986. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. Radiology 161, 401–407. http://dx.doi.org/10.1148/ radiology.161.2.3763909.

Leh, S.E., Ptito, A., Chakravarty, M.M., Strafella, A.P., 2007. Fronto-striatal connections in the human brain: a probabilistic diffusion tractography study. Neurosci. Lett. 419, 113–118. http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2007.04.049.Mai, J., Paxinos, G., Voss, T., 2007. Atlas of the Human Brain. Acad. P. Ed.

- Mai, J., Paxinos, G., Voss, I., 2007. Atlas of the Human Brain. Acad. P. Ed.. Manaye, K., Zweig, R., Wu, D., Hersh, L., De Lacalle, S., Saper, C., German, D., 1999. Quantification of cholinergic and select non-cholinergic mesopontine neuronal populations in the human brain. Neuroscience 89, 759–770. http://dx.doi.org/ 10.1016/S0306-4522(98)00380-7.
- Matsumura, M., Nambu, A., Yamaji, Y., Watanabe, K., Imai, H., Inase, M., Tokuno, H., Takada, M., 2000. Organization of somatic motor inputs from the frontal lobe to the pedunculopontine tegmental nucleus in the macaque monkey. Neuroscience 98, 97–110.
- Mazzone, P., Lozano, A., Stanzione, P., Galati, S., Scarnati, E., Peppe, A., Stefani, A., 2005. Implantation of human pedunculopontine nucleus: a safe and clinically relevant target in Parkinson's disease. Neuroreport 16, 1877–1881.
- Mena-Segovia, J., Micklem, B.R., Nair-Roberts, R.G., Ungless, M.A., Bolam, J.P., 2009. GABAergic neuron distribution in the pedunculopontine nucleus defines functional subterritories. J. Comp. Neurol. 515, 397–408. http://dx.doi.org/10.1002/ cne.22065.
- Mori, S., van Zijl, P.C.M., 2002. Fiber tracking: principles and strategies a technical review. NMR Biomed. 15, 468–480. http://dx.doi.org/10.1002/nbm.781.
   Moro, E., Hamani, C., Poon, Y.-Y., Al-Khairallah, T., Dostrovsky, J.O., Hutchison, W.D.,
- Moro, E., Hamani, C., Poon, Y.-Y., Al-Khairallah, T., Dostrovsky, J.O., Hutchison, W.D., Lozano, A.M., 2010. Unilateral pedunculopontine stimulation improves falls in Parkinson's disease. Brain 133, 215–224. http://dx.doi.org/10.1093/brain/awp261.
- Muthusamy, K.A., Aravamuthan, B.R., Kringelbach, M.L., Jenkinson, N., Voets, N.L., Johansen-Berg, H., Stein, J.F., Aziz, T.Z., 2007. Connectivity of the human pedunculopontine nucleus region and diffusion tensor imaging in surgical targeting.

S.B. Sébille et al.

J. Neurosurg. 107, 814-820. http://dx.doi.org/10.3171/JNS-07/10/0814.

- Nakano, K., Hasegawa, Y., Tokushige, A., Nakagawa, S., Kayahara, T., Mizuno, N., 1990. Topographical projections from the thalamus, subthalamic nucleus and pedunculopontine tegmental nucleus to the striatum in the Japanese monkey, Macaca fuscata. Brain Res. 537, 54-68.
- Oakman, S.A., Faris, P.L., Kerr, P.E., Cozzari, C., Hartman, B.K., 1995. Distribution of pontomesencephalic cholinergic neurons projecting to substantia nigra differs significantly from those projecting to ventral tegmental area. J. Neurosci. 15, 5859–5869.
- Okada, K., Toyama, K., Inoue, Y., Isa, T., Kobayashi, Y., 2009. Different pedunculopontine tegmental neurons signal predicted and actual task rewards. J. Neurosci. 29, 4858–4870. http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4415-08.2009.
- Okada, K.-I., Kobayashi, Y., 2013. Reward prediction-related increases and decreases in tonic neuronal activity of the pedunculopontine tegmental nucleus. Front. Integr. Neurosci. 7, 36. http://dx.doi.org/10.3389/fnint.2013.00036.
   Olszewski, J., Baxter, D., 1954. Cytoarchitecture of the human brainstem. By Jerzy
- Olszewski, J., Baxter, D., 1954. Cytoarchitecture of the human brainstem. By Jerzy Olszewski and Donald Baxter. Published and distributed in North America for S. Karger by J. B. Lippincott Company, Philadelphia and Montreal. 1954. 199 pages. Price \$16.00 (Reviewed by Gerhardt von Bonin). J. Comp. Neurol. 101. http:// dx.doi.org/10.1002/cne.901010308.
- Parent, A., Paré, D., Smith, Y., Steriade, M., 1988. Basal forebrain cholinergic and noncholinergic projections to the thalamus and brainstem in cats and monkeys. J. Comp. Neurol. 277, 281–301. http://dx.doi.org/10.1002/cne.902770209.
- Philippe, A.-C., Sébille, S., François, C., Karachi, C., Valabregue, R., Lehéricy, S., Bardinet, E., 2015. Computation of diffusion-based pathway connectivity maps: a study of subthalamic nucleus connections. 21th Annu. Meet. Organ. Hum. Brain Mapp., Honol., USA.
- Piallat, B., Chabardès, S., Torres, N., Fraix, V., Goetz, L., Seigneuret, E., Bardinet, E., Ferraye, M., Debu, B., Krack, P., Yelnik, J., Pollak, P., Benabid, A.L., 2009. Gait is associated with an increase in tonic firing of the sub-cuneiform nucleus neurons. Neuroscience 158, 1201–1205. http://dx.doi.org/10.1016/ j.neuroscience.2008.10.046.
- Redgrave, P., Mitchell, I.J., Dean, P., 1987. Further evidence for segregated output channels from superior colliculus in rat: ipsilateral tecto-pontine and tectocuneiform projections have different cells of origin. Brain Res. 413, 170–174.
- Rodríguez, M., Abdala, P., Barroso-Chinea, P., González-Hernández, T., 2001. The deep mesencephalic nucleus as an output center of basal ganglia: morphological and electrophysiological similarities with the substantia nigra. J. Comp. Neurol. 438, 12–31.
- Rolland, A.-S., Karachi, C., Muriel, M.-P., Hirsch, E.C., François, C., 2011. Internal pallidum and substantia nigra control different parts of the mesopontine reticular formation in primate. Mov. Disord. 26, 1648–1656. http://dx.doi.org/10.1002/ mds.23705.
- Sah, P., Faber, E.S.L., Lopez De Armentia, M., Power, J., 2003. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. Physiol. Rev. 83, 803–834. http://dx.doi.org/10.1152/ physrev.00002.2003.
- Semba, K., Fibiger, H.C., 1992. Afferent connections of the laterodorsal and the pedunculopontine tegmental nuclei in the rat: a retro- and antero-grade transport and immunohistochemical study. J. Comp. Neurol. 323, 387–410. http://dx.doi.org/ 10.1002/cne.903230307.
- Sesack, S.R., Deutch, A.Y., Roth, R.H., Bunney, B.S., 1989. Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. J. Comp. Neurol. 290, 213–242. http://dx.doi.org/10.1002/cne.902900205.
- Shink, E., Sidibé, M., Smith, Y., 1997. Efferent connections of the internal globus pallidus in the squirrel monkey: ii. Topography and synaptic organization of pallidal efferents to the pedunculopontine nucleus. J. Comp. Neurol. 382, 348–363.
- Smith, Y., Parent, A., 1986. Differential connections of caudate nucleus and putamen in

the squirrel monkey (Saimiri sciureus). Neuroscience 18, 347-371.

- Sotiropoulos, S.N., Jbabdi, S., Xu, J., Andersson, J.L., Moeller, S., Auerbach, E.J., Glasser, M.F., Hernandez, M., Sapiro, G., Jenkinson, M., Feinberg, D.A., Yacoub, E., Lenglet, C., Van Essen, D.C., Ugurbil, K., Behrens, T.E.J., 2013. Advances in diffusion MRI acquisition and processing in the Human Connectome Project. Neuroimage 80, 125–143. http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.05.057.
- Stefani, A., Peppe, A., Galati, S., Bassi, M.S., D'Angelo, V., Pierantozzi, M., 2013. The serendipity case of the pedunculopontine nucleus low-frequency brain stimulation: chasing a gait response, finding sleep, and cognition improvement. Front. Neurol. 4, 68. http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2013.00068.
- Steiniger, B., Kretschmer, B.D., 2004. Effects of ibotenate pedunculopontine tegmental nucleus lesions on exploratory behaviour in the open field. Behav. Brain Res. 151, 17–23. http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2003.08.001.
- Steriade, M., Datta, S., Paré, D., Oakson, G., Curró Dossi, R.C., 1990. Neuronal activities in brain-stem cholinergic nuclei related to tonic activation processes in thalamocortical systems. J. Neurosci. 10, 2541–2559.
- Steriade, M., Paré, D., Parent, A., Smith, Y., 1988. Projections of cholinergic and noncholinergic neurons of the brainstem core to relay and associational thalamic nuclei in the cat and macaque monkey. Neuroscience 25, 47–67.
- Takakusaki, K., Habaguchi, T., Ohtinata-Sugimoto, J., Saitoh, K., Sakamoto, T., 2003. Basal ganglia efferents to the brainstem centers controlling postural muscle tone and locomotion: a new concept for understanding motor disorders in basal ganglia dysfunction. Neuroscience 119, 293–308. http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00095-2.
- Tattersall, T.L., Stratton, P.G., Coyne, T.J., Cook, R., Silberstein, P., Silburn, P.A., Windels, F., Sah, P., 2014. Imagined gait modulates neuronal network dynamics in the human pedunculopontine nucleus. Nat. Neurosci. 17, 449–454. http:// dx.doi.org/10.1038/nn.3642.
- Tournier, J.D., Calamante, F., Connelly, A., 2012. MRtrix: diffusion tractography in crossing fiber regions. Int. J. Imaging Syst. Technol. 22, 53-66. http://dx.doi.org/ 10.1002/ima.22005.
- Tournier, J.-D., Calamante, F., Connelly, A., 2007. Robust determination of the fibre orientation distribution in diffusion MRI: non-negativity constrained super-resolved spherical deconvolution. Neuroimage 35, 1459–1472. http://dx.doi.org/10.1016/ j.neuroimage.2007.02.016.
- Van Essen, D.C., Smith, S.M., Barch, D.M., Behrens, T.E.J., Yacoub, E., Ugurbil, K., 2013. The WU-Minn Human Connectome Project: an overview. Neuroimage 80, 62–79. http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.05.041.
- Veazey, R.B., Severin, C.M., 1980a. Efferent projections of the deep mesencephalic nucleus (pars lateralis) in the rat. J. Comp. Neurol. 190, 231–244. http://dx.doi.org/ 10.1002/cne.901900203.
- Walker, S.C., Winn, P., 2007. An assessment of the contributions of the pedunculopontine tegmental and cuneiform nuclei to anxiety and neophobia. Neuroscience 150, 273–290. http://dx.doi.org/10.1016/ j.neuroscience.2007.09.018.
- Wang, H.-L., Morales, M., 2009. Pedunculopontine and laterodorsal tegmental nuclei contain distinct populations of cholinergic, glutamatergic and GABAergic neurons in the rat. Eur. J. Neurosci. 29, 340–358. http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06576.x.
- Winn, P., 2008. Experimental studies of pedunculopontine functions: are they motor, sensory or integrative? Park. Relat. Disord. 14, S194–S198. http://dx.doi.org/ 10.1016/j.parkreldis.2008.04.030.
- Yelnik, J., Bardinet, E., Dormont, D., Malandain, G., Ourselin, S., Tandé, D., Karachi, C., Ayache, N., Cornu, P., Agid, Y., 2007. A three-dimensional, histological and deformable atlas of the human basal ganglia. I. Atlas construction based on immunohistochemical and MRI data. Neuroimage 34, 618–638. http://dx.doi.org/ 10.1016/j.neuroimage.2006.09.026.

## Chapitre Étude de la répartition topographique des populations neuronales de la région locomotrice mésencéphalique

## Sommaire

6.1	Introduction et objectifs		
6.2	Matériel et méthodes		
	6.2.1	Tissu post mortem	54
	6.2.2	Acquisition IRM	55
	6.2.3	Création de l'espace commun	55
	6.2.4	Histologie et immunohistochimie	56
	6.2.5	Pointages des populations de neurones	57
	6.2.6	Quantification et analyse statistique	57
6.3	Principaux résultats		
	6.3.1	La MLR chez le sujet sain	59
	6.3.2	Les neurones cholinergiques du PPN à l'état pathologique	64
6.4	Discussion		67
	6.4.1	La MLR chez le sujet sain	67
	6.4.2	Les neurones cholinergiques du PPN à l'état pathologique	68
6.5	Conclusion		68
6.6	Contributions personnelles		<b>69</b>
### 6.1 Introduction et objectifs

Les troubles de la marche et de l'équilibre sont caractéristiques des stades avancés de la maladie de Parkinson [Gilardi et al., 2001]. Ces symptômes sont aussi observés chez les patients atteints de paralysie supranucléaire progressive (PSP). Ils sont généralement dopa-résistants et ne répondent pas à la SCP du STN ou du GPi. Comme indiqué au Chapitre 2, la MLR joue un rôle crucial dans la locomotion et les neurones cholinergiques du PPN sont fortement activés par la marche imaginaire chez les patients parkinsoniens [Lau et al., 2015].

La SCP du PPN à basse fréquence a été mise en place pour atténuer ces troubles de la marche et de l'équilibre chez les patients parkinsoniens. Cependant, après un premier espoir, les résultats obtenus se sont révélés hétérogènes avec une atténuation des symptômes subjective mais qui ne se retrouve pas en étudiant des paramètres objectifs de la marche [Mazzone et al., 2005, Plaha and Gill, 2005, Stefani et al., 2007, Pereira et al., 2008, Ferraye et al., 2010, Moro et al., 2010a, Peppe et al., 2010, Shimamoto et al., 2010, Acar et al., 2011, Aviles-Olmos et al., 2011, Thevathasan et al., 2011, Khan et al., 2012, Welter et al., 2015, Mestre et al., 2016]. La SCP du PPN à basse fréquence a aussi été proposée à six patient atteints de PSP mais seuls deux patients ont bénéficié d'une amélioration de la marche et de l'équilibre [Hazrati et al., 2012, Doshi et al., 2015]. L'ensemble de ces résultats, hétérogènes et imprévisibles, montre la nécessité de mieux évaluer l'efficacité de la SCP de la MLR en étudiant des cohortes de patients plus importantes et avec un suivi clinique plus long.

Une explication possible de l'hétérogénéité des résultats de la SCP du PPN peut provenir du manque de connaissances anatomiques sur la MLR chez le volontaire humain, sains et pathologique. En effet, comme nous l'avons vu au Chapitre 2, il y a de nombreuses questions restantes autour des différentes populations neuronales présentes au niveau de la MLR, de leurs topographies et de la co-expression ou non de différents médiateurs au sein d'un même neurone chez le primate et l'homme sain. De plus, la dégénérescence des neurones cholinergiques du PPN a été mise en évidence sur du tissu humain *post mortem* de patients parkinsoniens [Hirsch et al., 1987, Jellinger, 1988, Zweig et al., 1989, Rinne et al., 2008], ainsi qu'une corrélation significative entre cette dégénérescence et l'occurrence des chutes et des épisodes de freezing [Karachi et al., 2010]. Cependant, la localisation exacte des neurones cholinergiques chez le sujet sain mais surtout chez le patient parkinsonien ou atteint de PSP est toujours inconnue. Cette information aiderait à trouver un consensus sur la cible optimale de la SCP au niveau de la MLR et, par conséquent, d'augmenter les bénéfices thérapeutiques de la neuromodulation.

Les objectifs principaux de cette étude sont 1) d'étudier la répartition topographique 3D des populations neuronales cholinergiques, glutamatergiques et GABAergiques dans le PPN et le CuN d'un sujet sain, et 2) de quantifier et comparer la répartition topographique 3D des neurones cholinergiques restants dans le PPN chez des patients parkinsoniens avec et sans troubles de la marche et de l'équilibre, et chez des patients atteints de PSP en comparaison avec des sujets sains.

### 6.2 Matériel et méthodes

La Figure 6.1 résume les différentes étapes de la méthodologie employée et qui est décrite dans les sous-sections suivantes.



FIGURE 6.1 – Différentes étapes de la méthodologie

### 6.2.1 Tissu post mortem

Nous avons utilisé 24 troncs cérébraux provenant de notre banque de cerveau : 7 sujets sains (décédés sans maladie neurodégénérative connue), 6 patients parkinsoniens sans troubles de la marche et de l'équilibre, 6 patients parkinsoniens avec troubles de la marche et de l'équilibre et 5 patients atteints de PSP. 19 de ces troncs cérébraux ont déjà été utilisés dans un autre projet et publiés [Karachi et al., 2010]. Tous les diagnostics cliniques ont été confirmés *post mortem* sur la base d'un examen neuropathologique avec un examen des dossiers cliniques. L'âge moyen au décès était de  $67 \pm 16$  ans pour les sujets sains,  $84 \pm 7$  ans pour les patients parkinsoniens sans troubles de la marche et de l'équilibre,  $76.5 \pm 9$  ans pour les patients parkinsoniens avec troubles de la marche et de l'équilibre et  $76 \pm 8$  pour les patients atteints de PSP.

Afin de localiser et comparer la topographie des neurones cholinergiques des différents sujets sains et patients dans un même espace, un autre tronc cérébral utilisé dans cette étude a été obtenu chez un homme de 72 ans sans maladie neurodégénérative et avec un délai *post mortem* de 36 heures. Dans le reste de ce chapitre, ce tronc cérébral sera appelé le tronc cérébral de l'espace commun.

### 6.2.2 Acquisition IRM

Le tronc cérébral de l'espace commun a été extrait et immergé dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS pour phosphate buffered saline), de PFA 4% et acide picrique 10% durant 8 jours pour fixer le tissu. Ensuite, le tronc a été rincé durant 16 jours dans du PBS et azide 4%.

L'acquisition IRM de ce tronc a été faite à l'IRM 11.7T Biospec 117/16 (Bruker Biospin, Allemagne) équipée avec le logiciel Paravision 6.0.1 et un résonateur pour émission d'un diamètre interne de 72 mm. Une IRM anatomique T2\* a été acquise avec une séquence 3D RARE. Les paramètres de séquence étaient : champ de vue 5,28 \* 5,28 \* 7,8 cm<sup>3</sup>; taille de matrice 352 \* 352 \* 512 conduisant à une résolution isotropique de 150  $\mu$ m, TR / TE = 200 / 7,8 ms, 12 moyennages, RARE-factor de 8 et un temps d'acquisition total de 8 heures et 15 minutes.

### 6.2.3 Création de l'espace commun

La Figure 6.2 explicite les étapes de recalage nécessaires pour créer l'espace commun de ce projet et les données utilisées.

Après acquisition d'une IRM anatomique à 11.7T, le tronc cérébral a été cryoprotégé par ajout de sucrose durant 7 jours [Graybiel et al., 1987]. Il a ensuite été congelé et coupé tous les 50  $\mu$ m selon l'axe inférieur-supérieur au microtome à congélation (coupes axiales, perpendiculaires au plus grand axe du tronc cérébral).

Des photos, prises à chaque coupe, ont ensuite été recalées ensemble (similitude 2D à 4 degrés de liberté) grâce à des marqueurs présents sur le microtome et un cryoblock a été reconstruit selon une méthode déjà décrite [Yelnik et al., 2007].

L'IRM anatomique 11.7T a été recalée sur le cryoblock en utilisant un algorithme 3D de block-matching avec une transformation rigide à 6 degrés de liberté puis une similitude à 7 degrés de liberté [Ourselin et al., 2000].

Après mise en évidence des différentes populations neuronales par technique d'immunohistologie, les coupes ont été scannées avec un nanozoomer (Hamamastu) pour obtenir des images hautes résolutions et recalées avec une transformation rigide 3D à 3 degrés de liberté sur les photos correspondantes du cryoblock [Ourselin et al., 2000].

### CHAPITRE 6. ÉTUDE DE LA RÉPARTITION TOPOGRAPHIQUE DES POPULATIONS NEURONALES DE LA RÉGION LOCOMOTRICE MÉSENCÉPHALIQUE



FIGURE 6.2 – Diagramme général explicitant les différents recalages nécessaires pour la construction de l'espace commun. Image provenant de Fernando Pérez-García (ingénieur en neuroimagerie à l'ICM et sur la plateforme CENIR)

### 6.2.4 Histologie et immunohistochimie

Pour le tronc cérébral de l'espace commun, 10 coupes (50  $\mu$ m d'épaisseur) régulièrement espacées de 1000  $\mu$ m et couvrant l'étendue supérieure-inférieure de la MLR ont été utilisées pour mettre en évidence :

- la myéline à l'aide de la coloration Luxol Fast Blue;
- les neurones glutamatergiques avec un anticorps dirigé contre le transporteur vésiculaire du glutamate type 2 (vGlut2, 1 :50; Millipore);
- les neurones GABAergiques avec un anticorps dirigé contre la glutamate décarboxylase (GAD65/67, 1 :500; Millipore);
- les neurones cholinergiques avec un anticorps dirigé contre la choline acétyltransférase (ChAT, 1 :100; Millipore).

Nous avons également sélectionné entre 5 et 7 coupes (couvrant l'étendue

supérieure-inférieure de la MLR) d'autres troncs cérébraux qui avaient déjà été utilisés pour une étude précédente [Karachi et al., 2010]. Ces coupes de 40  $\mu$ m étaient marquées pour l'acétylcholinestérase (AChE) pour mettre en évidence les neurones cholinergiques [Graybiel et al., 1987]. Nous avons rajouté des coupes de 5 troncs cérébraux de patients PSP, dont 3 pour lesquels les neurones cholinergiques ont été mis en évidence par AChE, et 2 par immunohistologie dirigée contre la choline acétyltransférase (ChAT, 1 :100; Millipore) comme pour le tronc de l'espace commun.

### 6.2.5 Pointages des populations de neurones

Les coupes du tronc cérébral de l'espace commun, scannées pour obtenir des images haute résolution, ont été utilisées pour compter les neurones cholinergiques, glutamatergiques et GABAergiques à l'aide du logiciel 3D Slicer et d'un plug-in mise en place par Fernando Pérez-García (ingénieur en neuroimagerie à l'ICM et sur la plateforme CENIR).

Pour les autres troncs cérébraux, les neurones ont été comptés à l'aide d'un microscope (au grossissement x40) relié à un ordinateur équipé du logiciel Mercator (ExploraNova) comme décrit et publié précédemment [Karachi et al., 2010].

Nous avons vérifié que les nombres totaux de neurones comptés avec le microscope ou sur les images scannées étaient similaires (différence inférieure à 6%, p = 0.705 avec un t-test).

### 6.2.6 Quantification et analyse statistique

L'analyse statistique et la visualisation des données ont été réalisées avec le logiciel R<sup>tm</sup> (version 3.1.2, R Core Team, 2014).

Chaque coupe a été scannée et recalée manuellement sur l'IRM anatomique 11.7T de l'espace commun par une anatomiste avec une transformation permettant les trois translations et la rotation selon l'axe supérieur-inférieur. Lles deux autres rotations étaient bloquées pour que toutes les coupes restent parallèles dans l'espace commun et respectent la nature du matériel *post mortem* de base.

L'épaisseur des coupes utilisées étant de 50  $\mu$ m pour l'espace commun et de 40  $\mu$ m pour les coupes des autres troncs cérébraux, le nombre de neurones cholinergiques sur chaque coupe du tronc cérébral de l'espace commun a été multiplié par 40/50 = 0.8 afin d'estimer le nombre de neurones sur 40  $\mu$ m. Le nombre de neurones pour chaque sujet/patient a ensuite été corrigé par le facteur de correction de Konigsmark afin de compenser le double comptage dans les coupes adjacentes [Konigsmark and Murphy, 1970].

A partir de ces données et pour chaque sujet/patient, une courbe selon l'axe supérieur-inférieur a été construite à partir des comptages réalisés avec une interpolation par la méthode des splines [Becker et al., 1988]. Pour calculer le nombre total de neurones dans la structure, nous avons fait la somme du nombre de neurones sur la courbe de chaque sujet/patient tous les 40  $\mu$ m.

Un modèle statistique mixte a été appliqué sur nos données pour chacune des

CHAPITRE 6. ÉTUDE DE LA RÉPARTITION TOPOGRAPHIQUE DES POPULATIONS NEURONALES DE LA RÉGION LOCOMOTRICE MÉSENCÉPHALIQUE

quatre populations en utilisant le package R lme4 (version 1.1). Il a été évalué significativement en utilisant des ANOVAs à effets mixtes en utilisant le package R lmerTest (version 2.0).

### 6.3 Principaux résultats

### 6.3.1 La MLR chez le sujet sain

Les résultats de cette partie proviennent du sujet sain de l'espace commun sur lequel les neurones cholinergiques, GABAergiques et glutamatergiques de la MLR ont été mise en évidence.

### Neurones cholinergiques

Le PPN a été différencié du CuN par la présence de neurones cholinergiques. La *pars compacta* et la *pars dissipata* du PPN ont été facilement identifiables grâce à la densité des neurones cholinergiques et sont cohérentes avec la littérature [Olszewski and Baxter, 1954]. La Figure 6.3 montre une coupe du PPN avec une densité de neurones cholinergiques plus forte dans la *pars compacta* que dans la *pars dissipata*.



FIGURE 6.3 – Vue axiale des neurones cholinergiques (points noirs) du CuN et du PPN *pars dissipata* et *pars compacta* chez le sujet sain de l'espace commun (échelle de 500  $\mu$ m)

### **Neurones GABAergiques**

Des neurones GABAergiques ont été observés dans le CuN et dans le PPN (Figure 6.4). La répartition de ces neurones semble homogène dans le PPN. Aucune différence de densité ,'a été constatée entre la *pars dissipata* et la *pars compacta*.



FIGURE 6.4 – Vue axiale des neurones GABAergiques (points noirs) du CuN et du PPN pars dissipata et pars compacta chez le sujet sain de l'espace commun (échelle de 500  $\mu$ m)

### Neurones glutamatergiques

La mise en évidence des neurones glutamatergiques a été difficile car le marquage par vGlut2 des corps cellulaires est très faible. Les résultats présentés sur les neurones glutamatergiques sont donc préliminaires et nécessiteront une validation supplémentaire qui est en cours.

Des neurones glutamatergiques ont été observés dans le PPN mais pas dans le CuN (Figure 6.5). La répartition de ces neurones semble homogène dans le PPN avec aucune différence de densité entre la *pars dissipata* et la *pars compacta*.

### CHAPITRE 6. ÉTUDE DE LA RÉPARTITION TOPOGRAPHIQUE DES POPULATIONS NEURONALES DE LA RÉGION LOCOMOTRICE MÉSENCÉPHALIQUE



FIGURE 6.5 – Vue axiale des neurones glutamatergiques (points noirs) du CuN et du PPN *pars dissipata* et *pars compacta* chez le sujet sain de l'espace commun (échelle de 500  $\mu$ m)

### Comparaison des trois populations neuronales

Le recalage entre les coupes histologiques, le cryoblock et l'IRN anatomique 11.7T est satisfaisant, suite à une inspection visuelle (Figure 6.6), et nous allons donc utiliser l'IRM anatomique 11.7T comme support pour comparer les populations neuronales.



FIGURE 6.6 – Exemple de recalage entre une coupe histologique avec les neurones GABAergiques du CuN (points oranges) et du PPN (points jaunes) mis en évidence, le cryoblock et l'IRM anatomique 11.7T du sujet sain de l'espace commun

## CHAPITRE 6. ÉTUDE DE LA RÉPARTITION TOPOGRAPHIQUE DES POPULATIONS NEURONALES DE LA RÉGION LOCOMOTRICE MÉSENCÉPHALIQUE

La Figure 6.7 et la Figure 6.8 explicitent la localisation des populations neuronales de la MLR selon l'axe supérieur-inférieur. Des neurones cholinergiques, GA-BAergiques et glutamatergiques ont été mis en évidence dans toute l'étendue du PPN alors que seuls des neurones GABAergiques ont été vus dans le CuN (ce qui reste à confirmer). Une topographie de la densité des neurones du PPN selon l'axe supérieur-inférieur a été observée : les neurones GABAergiques du PPN ont un pic de densité situé plus au pôle supérieur (+ 2 mm du début supérieur du PPN) que le pic de densité des neurones cholinergiques (+ 3 mm du début supérieur du PPN ou à 33.5 mm de l'obex). Les neurones glutamatergiques ont, eux, une forme différente sans pic de densité mais avec un plateau de densité qui recouvre la majorité du PPN.



FIGURE 6.7 – Visualisation des neurones cholinergiques (en rouge), GABAergiques (en jaune dans le PPN et en orange dans le CuN) et glutamatergiques (en violet) dans le CuN et le PPN selon l'axe supérieur-inférieur du sujet sain de l'espace commun

### CHAPITRE 6. ÉTUDE DE LA RÉPARTITION TOPOGRAPHIQUE DES POPULATIONS NEURONALES DE LA RÉGION LOCOMOTRICE MÉSENCÉPHALIQUE



FIGURE 6.8 – Nombre de neurones cholinergiques, GABAergiques et glutamatergiques dans le CuN et le PPN selon l'axe supérieur-inférieur du sujet sain de l'espace commun

Le tableau suivant donne le nombre total de neurones cholinergiques, GABAergiques et glutamatergiques dans le PPN et le CuN du sujet sain de l'espace commun. On ne retrouve pas de neurones cholinergiques et glutamatergiques dans le CuN contrairement au PPN. Les nombres de neurones cholinergiques (30 271) et glutamatergiques (28 323) dans le PPN sont assez similaires alors que les neurones GABAergiques sont beaucoup plus nombreux (50 349). Les neurones cholinergiques représentent 27% du nombre de neurones total du PPN, les GABAergiques 46% et les glutamatergiques 27%.

	PPN	CuN
Nombre de neurones cholinergiques	30 271	0
Nombre de neurones GABAergiques	50 349	8 515
Nombre de neurones glutamatergiques	28 323	0

### 6.3.2 Les neurones cholinergiques du PPN à l'état pathologique

A l'état pathologique, nous nous sommes focalisés sur l'étude de la topographie des neurones cholinergiques du PPN dans l'espace commun. La Figure 6.9 montre un exemple d'une coupe axiale à un niveau similaire du PPN chez un sujet sain, un patient parkinsonien avec et sans troubles de la marche et de l'équilibre, et un patient atteint de PSP. Qualitativement, et par rapport au sujet sain, une perte de neurones cholinergiques peut être observée chez le patient parkinsonien avec troubles de la marche et de l'équilibre et surtout chez le patient atteint de PSP.



FIGURE 6.9 – Coupes axiales à un niveau similaire du PPN chez un sujet sain, un patient parkinsonien avec et sans troubles de la marche et de l'équilibre, et un patient atteint de PSP. Image adaptée de [Karachi et al., 2010]

La Figure 6.10 montre le nombre de neurones cholinergiques selon l'axe supérieur-inférieur avec des courbes individuelles pour chaque sujet et patient. Les différences intra-groupe de topographie et de nombre de neurones de neurones semblent assez faibles. Les courbes du groupe comprenant les sujets sains semble plus homogène que les courbes des sujets pathologiques. Au niveau inter-groupe, il semblerait avoir une perte neuronale entre le groupe des sujets sains et les groupes de patients. Ceci va être analysé avec le modèle statistique mixte.



FIGURE 6.10 – Nombre de neurones cholinergiques selon l'axe supérieur-inférieur chez tous les sujets sains (A), les patients atteints de PSP (B), les patients parkinsoniens sans troubles de la marche et de l'équilibre (C), et les patients parkinsoniens avec troubles de la marche et de l'équilibre (D)

## CHAPITRE 6. ÉTUDE DE LA RÉPARTITION TOPOGRAPHIQUE DES POPULATIONS NEURONALES DE LA RÉGION LOCOMOTRICE MÉSENCÉPHALIQUE

La Figure 6.11 présente les résultats obtenus pour chaque population après application du modèle statistique mixte. On observe une perte de neurones cholinergiques chez les patients parkinsoniens avec troubles de la marche et de l'équilibre (p = 1.18e-05) et surtout chez les patients atteints de PSP (p = 2.54e-10) par rapport aux sujets sains. De plus, cette perte de neurones cholinergiques chez le patient parkinsonien ou atteint de PSP est homogène selon l'axe supérieur-inférieur.

Ainsi, le maximum de densité des neurones cholinergiques chez le sujet sain, patient parkinsonien ou atteint de PSP se situe à + 3 mm du début supérieur du PPN ou à 33.5 mm de l'obex (fraction du système nerveux située à la base du bulbe rachidien).



FIGURE 6.11 – Application du modèle statistique mixte sur les quatre populations de sujets/patients de l'étude

### CHAPITRE 6. ÉTUDE DE LA RÉPARTITION TOPOGRAPHIQUE DES POPULATIONS NEURONALES DE LA RÉGION LOCOMOTRICE MÉSENCÉPHALIQUE

Le tableau suivant donne le nombre de neurones cholinergiques pour chaque sujet/patient ainsi que la moyenne et l'écart type par population. Par rapport aux sujets sains, la perte de neurones cholinergiques est de 36% chez les patients parkinsoniens avec troubles de la marche et de l'équilibre (non significatif avec un test de Kruskal-Wallis suivi d'un test U de Mann-Whitney), 53% chez les patients parkinsoniens sans troubles de la marche et de l'équilibre (significatif, p < 0.01) et 71% chez les patients atteints de PSP (significatif, p < 0.01).

	Sujets sains	Parkinsoniens	Parkinsoniens	Patients at-
		non-chuteurs	chuteurs	teints de PSP
	34 192	30 311	31 881	10 035
	34 088	33 827	15 228	10 549
	42 169	20 131	16 368	17 597
	41 182	31 502	31 338	18 547
	41 668	21 828	12 563	8 848
	41 607	29 519	18 186	
	34 469			
	30 271			
Moyenne	37 456	23 874	17 938 ***	10 929 ***
Écart type	4 684	11 681	11 064	6741

### 6.4 Discussion

### 6.4.1 La MLR chez le sujet sain

Nous avons mis en évidence, pour la première fois, la présence de neurones glutamatergiques et GABAergiques au sein du PPN chez l'homme sain. Ceci est cohérent avec les données de la littérature sur la présence de ces deux populations neuronales chez le rat et le chat [Clements and Grant, 1990, Ford et al., 1995, Jia et al., 2003, Mena-Segovia et al., 2009, Wang and Morales, 2009, Martinez-Gonzalez et al., 2011]. Cependant la présence de neurones glutamatergiques et leur quantification restent à confirmer par des techniques d'hybridation in situ en fluorescence. Concernant la topographie des trois populations neuronales i.g. cholinergique, GABAergique et glutamatergique, on a observé un pic de densité de neurones GABAergiques qui est situé plus proche du pôle supérieur que le pic de densité des neurones cholinergiques. Cependant, la moitié supérieure du PPN ne contient pas la majorité des neurones GABAergiques mais 60% des neurones cholinergiques. La topographie établie chez le rongeur avec une plus grande densité de neurones cholinergiques dans la partie postérieure (correspondant à la partie inférieure chez l'homme) et une plus grande densité de neurones GABAergiques dans la partie supérieure du noyau n'a donc pas été retrouvée [Mena-Segovia et al., 2009, Martinez-Gonzalez et al., 2012]. Ceci peut s'expliquer par l'anatomie et l'orientation du tronc cérébral qui diffèrent entre le rongeur et l'humain.

Au niveau du CuN, seuls des neurones GABAergiques ont été mis en évidence pour la première fois chez l'homme sain. Nous n'avons pas détecté la présence de neurones glutamatergiques ; contrairement aux données de la littérature où cette population a été détectée chez le chat [Pose et al., 2000]. Comme dit précédemment, la mise en évidence des neurones glutamatergiques a été difficile car le marquage immunohistochimique du transporteur vésiculaire vGlut2 au sein des corps cellulaires est très faible. Les résultats présentés sur les neurones glutamatergiques sont donc préliminaires et nécessitent une validation supplémentaire qui est en cours.

### 6.4.2 Les neurones cholinergiques du PPN à l'état pathologique

Nos données confirment que les neurones cholinergiques du PPN dégénèrent chez le patient parkinsonien, avec une perte qui varie de 40 à 57% comme indiqué dans la littérature [Hirsch et al., 1987, Jellinger, 1988, Zweig et al., 1989, Rinne et al., 2008, Karachi et al., 2010]. De plus dans notre étude, nous avons observé que seuls les patients parkinsoniens avec troubles de la marche et de l'équilibre présentaient une perte significative de 53% des neurones cholinergiques, alors que la perte de 36% observée chez les patients sans troubles de la marche et de l'équilibre n'était pas significative. Ces résultats sont conformes avec ce que l'équipe avaient précédemment publié [Karachi et al., 2010]. Nous avons observé que la perte était plus importante chez les patients atteints de PSP. Sachant que la PSP est caractérisée par l'occurrence d'une instabilité posturale majeure, nos données suggèrent une corrélation entre la dégénérescence des neurones cholinergiques du PPN et les chutes et troubles de l'équilibre. Cependant l'existence d'une dégénérescence des neurones non-cholinergiques au sein du PPN et du CuN reste à déterminer.

Nous avons vu que, par rapport aux sujets sains, la perte des neurones cholinergiques est homogène selon l'axe supérieur-inférieur pour tous les patients (parkinsoniens avec et sans troubles de la marche et de l'équilibre et atteints de PSP). Ainsi, la densité maximale des neurones cholinergiques est située à la même hauteur chez tous les sujets/patients. Dans le cadre de la SCP du PPN, cibler le maximum de densité des neurones cholinergiques du PPN permettrait d'améliorer les bénéfices thérapeutiques. Pour faire cela, on peut utiliser une carte de densité des neurones cholinergiques du PPN provenant d'un sujet sain. Ainsi, un atlas du tronc cérébral avec cette information serait une vraie aide pour le ciblage et permettrait d'avoir une cible optimale.

### 6.5 Conclusion

Chez l'homme sain, le PPN est constitué de neurones cholinergiques, GABAergiques et glutamatergiques alors que le CuN ne contient que des neurones GABAergiques. La présence ou non de neurones glutamatergiques dans le PPN ou le CuN est en cours de validation.

Il existe un maximum de densité de neurones cholinergiques chez le sujet sain et la perte des neurones cholinergiques chez le patient parkinsonien ou atteint de PSP est homogène selon l'axe supérieur-inférieur. Ainsi, le maximum de densité des neurones cholinergiques chez le sujet sain, patient parkinsonien ou atteint de PSP

### CHAPITRE 6. ÉTUDE DE LA RÉPARTITION TOPOGRAPHIQUE DES POPULATIONS NEURONALES DE LA RÉGION LOCOMOTRICE MÉSENCÉPHALIQUE

se situe à + 3 mm du début supérieur du PPN ou à 33.5 mm de l'obex. Ce maximum peut être visualisé sur la Figure 6.12 et serait la cible optimale de la SCP au niveau de la MLR et, par conséquent, permettrait d'augmenter les bénéfices thérapeutiques de cette neuromodulation.



FIGURE 6.12 – Maximum de densité des neurones cholinergiques (situé à + 3 mm du début supérieur du PPN ou à 33.5 mm de l'obex) superposée sur l'IRM anatomique du sujet de l'espace commun. Les contours de certains faisceaux sont visibles : le fascicule longitudinal médian en bleu, le faisceau central tegmental en violet et le lemnisque médian en vert.

### 6.6 Contributions personnelles

J'ai effectué différentes parties de cette étude :

- La préparation du tronc cérébral de l'espace commun pour l'acquisition IRM avec Anne-Sophie Rolland (neuroanatomiste) ;
- L'acquisition IRM du tronc cérébral de l'espace commun avec Anne-Sophie Rolland (neuroanatomiste) et Mathieu Santin (neuroimageur);
- Le scan des coupes histologiques;

- Le recalage des données sur les coupes histologiques scannées;
- La mise dans l'espace commun des données avec Anne-Sophie Rolland (neuroanatomiste) ;
- La préparation des données pour le modèle statistique mixte;
- L'analyse des résultats du modèle statistique mixte avec Brian Lau.

### 🦯 Chapitre –

7

### Construction d'un atlas 3D déformable du tronc cérébral humain

### Sommaire

7.1	Mise en place d'un protocole d'IRM de diffusion <i>post mortem</i> à 11.7T <b>75</b>			
	7.1.1	Présentation de l'étude 75		
	7.1.2	Article		
7.2	Atlas d	u tronc cérébral humain et IRM de diffusion		
	7.2.1	Introduction et objectifs		
	7.2.2	Matériel et méthodes		
	7.2.3	Résultats		
	7.2.4	Contributions personnelles		

### CHAPITRE 7. CONSTRUCTION D'UN ATLAS 3D DÉFORMABLE DU TRONC CÉRÉBRAL HUMAIN

Nous avons présenté dans les deux chapitres précédents des travaux concernant spécifiquement la MLR, chez le sujet sain et pathologique, à partir de données d'imagerie *in vivo* (IRM de diffusion) et de tissu *post mortem* avec des coupes 2D traitées par histologie et immunohistochimie. En parallèle de ces travaux, notre équipe a lancé la construction d'un atlas 3D déformable du tronc cérébral humain complet en 2015, comprenant à la fois imagerie de diffusion *post mortem* et immunohistochimie. Ce nouveau chapitre présente ces travaux, et en particulier mes contributions à ce projet.

En combinant IRM de diffusion, IRM anatomique, histologie et immunohistochimie, ce nouvel atlas permettra une meilleure compréhension 3D du tronc cérébral et de ses noyaux et faisceaux de fibres. Cet atlas sera déformable c'est à dire qu'il sera recalé, par une méthode adaptée et validée, sur les IRM de patients opérés pour une SCP du PPN afin de personnaliser la cible optimale. Cependant, cet atlas est un outil qui sera utile au delà de la problématique de la SCP du PPN dans le cadre de la maladie de Parkinson. En effet, cet atlas contiendra tout le tronc cérébral et sera utile pour toute étude clinique s'intéressant au tronc cérébral humain ou pour faire de la SCP du tronc pour soulager la douleur [Hamani et al., 2006] ou rétablir l'audition [Lenarz et al., 2006].

Les différentes structures du tronc cérébral dont la MLR ont déjà été délimitées sur quatre atlas "papier" [Schaltenbrand and Wahren, 1978, Olszewski and Baxter, 1982, Paxinos and Huang, 1959, Naidich et al., 2007]. Dans le cadre de la SCP de la région du PPN, ces atlas ont des limitations. En effet, certains ne contiennent pas d'IRM anatomique [Schaltenbrand and Wahren, 1978, Olszewski and Baxter, 1982, Paxinos and Huang, 1959] alors que le ciblage des patients se fait généralement avec ce type d'acquisition et certains atlas ne contiennent pas d'immunoshistologie mettant en évidence les neurones cholinergiques (seule approche permettant une localisation une précise du PPN) [Schaltenbrand and Wahren, 1978, Olszewski and Baxter, 1982, Naidich et al., 2007].

De plus, nous savons que la SCP module l'activité des axones proches de la cible avec des effets dans des régions éloignées possibles (Voir Figure 7.1) [Kringelbach et al., 2007]. Les quatre atlas ont délimités les principaux faisceaux de fibres du tronc cérébral humain. Cependant, même avec ces atlas détaillés, l'orientation et la position spatiale 3D de ces faisceaux est parfois difficile à comprendre sur des coupes 2D où l'orientation n'est pas indiquée.



FIGURE 7.1 – Le volume de tissu activé par l'électrode de SCP module l'activité des axones proches de la cible avec des effets dans des régions éloignées possibles

L'IRM de diffusion haute résolution couplée à une méthode de tractographie de fibres performantes permettrait :

- d'aider à l'identification de cibles si on souhaite cibler un faisceau ou si la cible est définie anatomiquement par les faisceaux qui l'entourent;
- d'optimiser la trajectoire de l'électrode pour éviter de stimuler certains faisceaux connus pour induire des effets secondaires : (troubles oculomoteurs après une stimulation du nerf oculomoteur (III), syndrome cérébelleux après une stimulation du pédoncule cérébelleux supérieur, ou paresthésie après une stimulation du lemnisque médian, etc...);
- de corréler les effets cliniques observés suite à la SCP avec la distance de la cible à certains faisceaux.

Ainsi, il nous semble nécessaire d'avoir un atlas 3D déformable du tronc cérébral humain combinant de l'IRM anatomique et de diffusion avec de l'information histologique (marquage des neurones cholinergiques dans le cadre de la SCP de la région du PPN). Le recalage de cet atlas sur les IRM de patients opérés pour une SCP du PPN permettra d'optimiser la procédure en ciblant la densité maximale des neurones cholinergiques du PPN et en anticipant les potentiels effets secondaires du passage l'électrode dans certains faisceaux de fibres.

Peu de données existent concernant des acquisitions IRM de diffusion *post mortem* à hauts champs combinés à des techniques immunohistologiques sur cerveaux humains. La mise au point d'un protocole expérimental alliant de l'IRM de diffusion permettant de réaliser de la tractographie avec un temps d'acquisition assez court pour ne pas trop abîmer le tissu a donc été nécessaire. Différents tests ont été

### CHAPITRE 7. CONSTRUCTION D'UN ATLAS 3D DÉFORMABLE DU TRONC CÉRÉBRAL HUMAIN

réalisés sur un cerveau de macaque (de taille similaire à un tronc cérébral humain) afin de mettre au point ce protocole expérimental. Les résultats sont décrits dans la première section de ce chapitre et font l'objet d'un article en cours d'écriture. La deuxième section du chapitre présente l'application de ce protocole expérimental à un tronc cérébral humain.

### 7.1 Mise en place d'un protocole d'IRM de diffusion *post mortem* à 11.7T

### 7.1.1 Présentation de l'étude

### Introduction et objectifs

L'IRM de diffusion *post mortem* offre des avantages par rapport à l'imagerie *in vivo* comme la possibilité de faire de plus longues acquisitions et ainsi obtenir une résolution spatiale élevée et pouvoir extraire, avec une méthode de tractographie adéquate, de petits et complexes faisceaux de fibres avec de nombreux croisements de fibres. Cependant, les propriétés IRM du tissu *post mortem* (temps de relaxation T1 et T2) sont différentes du tissu *in vivo* en raison de la mort et de la fixation du tissu choisie. Des agents de contraste, tel que le gadolinium, ont déjà été utilisés dans des études *post mortem* pour réduite le temps T1 et se rapprocher des valeurs *in vivo*. De plus, le coefficient de diffusion apparent est réduit avec une acquisition *post mortem* en vue d'obtenir le même type de contraste que pour une expérience *in vivo*. Ainsi, l'application directe de protocoles développés pour l'imagerie *in vivo* pour de l'imagerie *post mortem* sera insuffisante pour obtenir la qualité de données requise pour des études contenant de la tractographie par exemple.

Ainsi, nous avons acquis des séquences T1-T2 et deux types de séquences d'IRM de diffusion 3D (Spin Echo qui est considérée comme la séquence optimale mais avec un temps d'acquisition très long pouvant endommager le tissu et EPI segmentée que nous avons souhaité évaluer) sur un cerveau de macaque *post mortem* à 11,7T. Le but de ce travail était de :

- Évaluer les changements longitudinaux du temps T1 après l'imprégnation au gadolinium du cerveau;
- Évaluer les effets de l'imprégnation au gadolinium du cerveau sur les temps T1-T2 et l'IRM de diffusion;
- Comparer les résultats obtenus avec la séquence 3D spin écho et la séquence 3D EPI segmentée.

### Matériel et méthodes

Toutes les acquisitions IRM ont été faites à l'IRM 11.7T sur un cerveau de macaque *post mortem* perfusé et fixé. Trois types d'expériences ont été réalisées avec une résolution isotropique de 200  $\mu$ m. Tout d'abord, pour évaluer les changements longitudinaux des cartes T1 après l'imprégnation du cerveau au gadolinium, nous avons fait des acquisitions de cartes T1 répétées séquentiellement sur 12 jours. Ensuite, pour évaluer les effets de l'imprégnation au gadolinium sur les cartes T1-T2 et l'IRM de diffusion, nous avons fait les mêmes acquisitions T1, T2 et d'IRM de diffusion avec et sans imprégnation au gadolinium. Enfin, nous avons fait une acquisition 3D EPI segmentée (73 heures) et une acquisition 3D spin echo (222 heures) avec les mêmes directions pour les comparer. Les données d'IRM de diffusion ont été pré-traitées et de la tractographie réalisée avec le logiciel MRtrix ainsi que le calcul des cartes de microstructure. Nous avons comparé nos résultats quantitativement avec diverses métriques comme des mesures de signal sur bruit et des coefficients de Dice pour les faisceaux de fibres extraits.

### Principaux résultats

Le temps T1, acquis séquentiellement sur 12 jours après imprégnation du cerveau au gadolinium, ne varie plus après 2 jours pour les structures de la matière blanche et les structures corticales de matière grise. Par contre, pour les structures de matière grise sous-corticales, le temps T1 est stabilisé au bout de 12 jours. Cette variation du temps T1 selon les régions après imprégnation au gadolinium du cerveau implique d'attendre la stabilisation du temps T1 pour réaliser des acquisitions IRM durant plusieurs jours nécessitant un T1 fixe.

La comparaison avec et sans imprégnation au gadolinium du cerveau montre qu'il n'y a aucun changement du temps T2 entre ces deux expériences. Cependant, après imprégnation au gadolinium, il y a une inversion de contraste T1 entre la matière blanche et la matière grise. De plus, l'imprégnation au gadolinium donne de plus grandes mesures de signal sur bruit sur les acquisitions d'IRM de diffusion. Ainsi, les faisceaux de fibres reconstruits après imprégnation au gadolinium sont plus cohérents anatomiquement que ceux reconstruits sans imprégnation au gadolinium. L'imprégnation au gadolinium permet donc, en réduisant le temps T1, de raccourcir le temps TR sans perdre beaucoup de signal ; ce qui est extrêmement important pour une acquisition 3D. Enfin, les résultats liés à l'IRM de diffusion sont meilleurs (plus hautes mesures de signal sur bruit) après imprégnation au gadolinium sans avoir à rajouté des étapes de pré-traitements comme un débruitage par exemple.

Enfin, nous avons fait une acquisition 3D EPI segmentée (73 heures) et une acquisition 3D Spin Echo (222 heures) avec les mêmes directions pour les comparer. L'acquisition 3D spin echo offre une mesure de signal sur bruit plus haute que l'acquisition 3D EPI segmentée. Cependant, les cartes dérivées de l'IRM de diffusion sont extrêmement proches visuellement et les distorsions sont minimes avec l'acquisition 3D EPI segmentée. Au niveau de la tractographie, de nombreux faisceaux ont pu être reconstruits avec les deux acquisitions sauf un faisceau assez complexe avec l'acquisition 3D EPI segmentée (voie nigro-striée). Ainsi, nous pensons qu'une acquisition 3D EPI segmentée avec un grand nombre de segments est une bonne alternative aux acquisitions 3D Spin Echo pour les études nécessitant un temps d'acquisition plus court.

#### **Contributions personnelles**

J'ai effectué différentes parties de cette étude :

 La préparation du cerveau pour les acquisitions IRM avec Anne-Sophie Rolland (neuroanatomiste);

- Les pré-traitements des données;
- L'étape de tractographie;
- Les calculs des cartes de microstructure;
- Les mesures de signal sur bruit pour comparer quantitativement les données brutes d'IRM de diffusion;
- Les calculs des coefficients de Dice pour comparer quantitativement les faisceaux obtenus.

### 7.1.2 Article

### *Post mortem* high resolution diffusion MRI for large specimen at 11.7 Tesla with 3D segmented echo-planar imaging

Sophie Bernadette Sébille<sup>1,2</sup>, Anne-Sophie Rolland<sup>1</sup>, Éric Bardinet<sup>1,2</sup>, Mathieu David Santin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, INSERM, APHP GH Pitié-Salpêtrière, Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), F-75013 Paris, France

<sup>2</sup> Centre de Neuro-Imagerie de Recherche (CENIR), Paris, France

**Correspondence to**: Mathieu D. Santin, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, 47 boulevard de l'Hôpital, 75013 Paris, France ; Phone : + 33 (0)1 57 27 46 30 ; email : mathieu.santin@icm-institute.org

**Abstract**: Diffusion weighted imaging (DWI) has established itself as a powerful tool for detection and diagnostic evaluation of neuropathological conditions in the brain. *Post mortem* DWI is an increasingly popular method due to its unrestricted time limitations, thereby allowing high spatial resolution to be achieved. However, alterations to *post mortem* tissue happen following death and fixation and DWI protocols must be adapted. In this work, we evaluate longitudinal changes of T1 maps after gadolinium-staining (Gd-staining) of a *post mortem* macaque brain at 11.7T and the effects of Gd-staining on T1 and T2 mapping as well as DWI. In addition, we compared a 3D-diffusion-weighted segmented echo planar imaging (3D-DW seg-EPI) with a 3D diffusion-weighted spin echo (3D-DW SE). We have demonstrated the feasibility of diffusion imaging of whole, *post mortem* macaque brain using a 11.7T scanner and a 3D-DW seg-EPI sequence. With a 37-hours protocol, it is possible to acquire data with a 0.2 mm isotropic resolution and 73 directions at b = 10 000 s/mm<sup>2</sup>. Our data is of sufficient quality to provide excellent visualization of white and gray matter anisotropy and to enable diffusion tractography with results similar to the ones obtained with a 3D-DW SE acquisition. We advise to stain specimen with Gd during 7 days because it will shorten T1 and give a higher signal to noise ratio than without Gd-staining.

**Key words:** *Post mortem*; Segmented echo planar imaging; Diffusion MRI; Tractography; High field; T1 and T2 parametric maps

#### List of abbreviations:

- DWI: diffusion weighted imaging
- EPI: echo planar imaging
- FA: fractional anisotropy
- FOD: fiber orientation distributions
- Gd: gadolinium
- ICVF: intra-cellular volume fraction
- MRI: magnetic resonance imaging
- MSME: multi slice spin echo
- NODDI: neurite orientation dispersion and density imaging
- OD: orientation dispersion
- ROI: region of interest
- SE: spin echo
- SEG: segmented
- SIFT: spherical-deconvolution informed filtering of tractograms
- SNR: signal to noise ratio

### 1. Introduction

Diffusion-weighted imaging (DWI) is a magnetic resonance imaging (MRI) technique that maps the diffusion process of water, knowing that molecular diffusion in tissues is not free but reflects interactions with many obstacles (Jones, 2010). In brain white matter, tissue consists of bundles of myelinated axons. In such tissue diffusion is "hindered", i.e. it progresses more slowly than it would in water. Crucially, it is more hindered across than along such bundles. Hence, by measuring diffusion along many directions and observing that it is faster in one direction than in others, we can deduce the direction of the fiber bundles at every point in the brain. Once this orientation of fibers is known, these directions can be joined up to reconstruct entire pathways using tractography techniques and hence brain connections (Jbabdi and Johansen-Berg, 2011).

*Post mortem* DWI offers advantages over *in vivo* imaging. For example, a *post mortem* sample can be sliced for histological examination after the MRI acquisition or can be tested in ways that are not appropriate for living subjects. The ability to scan samples for long periods of time could further enable high spatial resolution for reconstructing small tracts or fine tract features.

However, *post mortem* DWI presents new challenges compared to *in vivo* imaging. In particular, the MRI properties of *post mortem* tissue change due to death and fixation. Differences in water mobility between different tissue types are the keys to tissue discriminability by MRI. T1 (longitudinal) and T2 (transverse) relaxation times of water protons rely on mobility of water within the tissue. Soaking or rinsing fixed tissue in phosphate buffer solution significantly increases T2 (D'Arceuil et al., 2007; Shepherd et al., 2009; Thelwall et al., 2006). These results suggest that short T2 is driven, at least in part, by the presence of fixative in tissue. Washing with pure buffer solution appears to have little effect on T1 (D'Arceuil et al., 2007; Shepherd et al., 2007), but gadolinium-doped buffer has been observed to reduce the T1 (D'Arceuil et al., 2007). In addition, with *post mortem* DWI, the apparent diffusion coefficient is drastically reduced (Sun et al., 2003, 2005; D'Arceuil et al., 2007), requiring higher b-values in order to obtain comparable diffusion contrast *to in vivo* experiments. Straightforward application of protocols developed for *in vivo* imaging in a *post mortem* application will be insufficient to obtain the quality of data required for applications such as tractography.

In this manuscript, we acquired T1 and T2 parametric maps as well as two type of 3D diffusion-weighted sequences: 3D diffusion-weighted spin echo (3D-DW SE) and 3D-diffusion-weighted segmented EPI (3D-DW seg-EPI) on a *post mortem* macaque brain at 11.7T. The purpose of the current work was to:

(1) Evaluate longitudinal changes of T1 maps after gadolinium-staining (Gd-staining);

(2) Evaluate the effects of Gd-staining on both T1 and T2 mapping as well as diffusionweighted images ; (3) To compare SNR (signal to noise ratio) and tractography results obtained with the two diffusion MRI protocols.

### 2. Material and methods

#### 2.1. Tissue preparation

One adult macaque was deeply anesthetized and perfused transcardially with PFA 4% glutaraldehyde 5% and PB (4 liters in 30 minutes). The brain was extracted immediately following perfusion and postfixed for 6 hours in the same fixative at 4°C under constant, gentle agitation. After fixation and for some MRI experiments, a 1:200 gadolinium MR contrast agent was added to the buffer 5 days before imaging for the MRI experiments regarding the variation of T1 relaxation parameter after Gd-staining and 5 days before imaging for the rest of the MRI experiments. The specimen was degas with a vacuum pump for 3 hours before imaging.

All animal experiments were conducted in accordance with the EU Directive 2010/63/EU for animal experiments.

#### 2.2. MRI experiments

All experiments were performed on the macaque brain using a 11.7T Biospec 117/16 (Bruker Biospin, Germany) running Paravision 6.0.1, equipped with a 72-mm transceiver and with a maximum gradient amplitude of 750 mT/m. Prior to start every MR imaging experiment, the brain was transferred to an MR compatible vial and immersed in a liquid perfluorocarbon aprotonic solution (Fluorinert, Sigma-Aldricht, Germany) for susceptibility matching and thus allowing better magnetic field homogeneity.

#### 2.2.1. Variation of T1 relaxation parameter after Gd-Staining

*Post mortem* brain was first soaked in a mixture of a Gadolinium-based contrast agent (Dotarem, Guerbet, France) and Phosphate Buffer Saline (PBS) with a ratio of 1:200 for 7 days before MR experiment. *T1* maps were then obtained in three axially 2-mm oriented slices (centered on brain center) using a multi slice spin echo (MSME) sequence with variable TR with the following parameters: FOV 7.68\*5.76 cm<sup>2</sup>; matrix size 384\*288 leading to an in plane 0.2\*0.2 mm<sup>2</sup> resolution; TE=7.2 ms; 8 TR values (6 000, 3 000, 1 500, 800, 400, 200, 100 and 50 ms); 4 averages; scan time of 3 hours and 51 minutes. This experiment was sequentially repeated for a period of 12 days, leading to a longitudinal estimation of T1 relaxation.

#### 2.2.2. Effects of Gd-staining on diffusion-weighted imaging

Two imaging sessions (with and without Gd-staining) were conducted with the same sequences parameters. DWI was performed with a 3D-DW seg-EPI sequence using 32 segments. Sequence parameters were: FOV 7.68\*5.76\*5.12 cm<sup>3</sup>; matrix size 384\*288\*256 leading to an isotropic resolution of 200  $\mu$ m; TR/TE=250/26.6 ms; gradient delay  $\delta$ =6.5 ms and gradient separation  $\Delta$ =12.3 ms. Three different data sets were acquired with different b-values of 10 000, 4 000 and 500 s/mm<sup>2</sup> with respectively 64, 32 and 8 non-collinear directions. 8 A0 images (without diffusion-encoding gradients) were also acquired. Total scan time was 64 hours.

In addition, *T1* and *T2* parametric maps were obtained at the beginning and at the end of the two series (with and without Gd-staining) to assess for *T1* and *T2* modification during experiment. For T1, three axially 2-mm oriented slices were acquired using a Spin Echo sequence with variable TR with the following parameters: FOV 7.68\*5.76 cm<sup>2</sup>; matrix size 384\*288 leading to resolution of  $0.2*0.2 \text{ mm}^2$ ; TE=7,2 ms; 8 TR values (6 000, 3 000, 1 500, 800, 400, 200, 100 and 50 ms); 4 averages; scan time of 3 hours and 51 minutes. *T2* maps were acquired on the same three slices using a Multi Slice Multi Echo (MSME) sequence with the following parameters: TR=6000 ms; 8 TEs values (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 and 80 ms); 4 averages; scan time of 1 hour and 55 minutes.

#### 2.2.3. Comparison of 3D-DW SE and 3D-DW seg-EPI

For this comparison, we only considered Gd-stained brain (brain without Gd-staining was not acquired because of scanning time). Images were acquired with a 3D DW seg-EPI sequence using 32 segments. Sequence parameters were: FOV 7.68\*5.76\*5.12 cm<sup>3</sup>; matrix size 384\*288\*256 leading to an isotropic resolution of 200  $\mu$ m; TR/TE=250/26.6 ms; gradient delay  $\delta$ =6.5 ms and gradient separation  $\Delta$ =12.3 ms. Four different data sets were acquired with b-values of 10 000, 4 000, 1 000 and 500 s/mm<sup>2</sup> with respectively 64, 32, 16, and 8 non-collinear directions. 9 A0 images (without diffusion encoding gradient) were also acquired. Total scan time was 73 hours.

We then acquired DW images using a 3D-DW SE sequence during the same session to guarantee good registration and similar tissue deformation. Sequence parameters were: FOV 7.68\*5.76\*5.12 cm<sup>3</sup>; matrix size 384\*288\*256 leading to an isotropic resolution of 200  $\mu$ m; TR/TE=250/25 ms; A partial fourier factor (PF) of  $\frac{2}{3}$  was used to maintain scan time below 10 days; b-value=10 000 s/mm<sup>2</sup> with 64 non-collinear directions (the same directions as the previous protocol described). One A0 image (without diffusion gradient) was also acquired. Total scan time was approximately 222 hours.

#### 2.3. Data analysis

#### 2.3.1. Pre-processing

All DW acquisitions were denoised as the first step of the image-processing pipeline (Veraart et al., 2016a, 2016b). Then, we performed B1-field inhomogeneity correction for all DW volume series (Tustison et al., 2010).

#### 2.3.2. Tractography

We estimated the distribution of fiber orientations (FOD) present within each voxel using the Constrained Spherical Deconvolution framework (Jeurissen et al., 2014; D'hollander et al., 2016).

Whole brain probabilistic tractography was run with the following parameters: 10 000 000 tracks, step length of 0.1 mm, curvature threshold of 45°, minimum tract length of 6 mm, maximum tract length of 250 mm and fiber orientation distribution amplitude cut-off of 0.6. The spherical-deconvolution informed filtering of tractograms (SIFT) was applied to reduce the number of streamlines to 1 million to provide a biologically meaningful estimate of structural connection density by removing false positive tracts (Smith et al., 2013). The tracts of interest in the resulting tractogram were isolated from the tractogram with manually defined regions of interest (ROI).

#### 2.3.3. Microstructure information

We fitted neurite orientation dispersion and density imaging (NODDI) on the multi b-value DW data sets using the NODDI Matlab toolbox (Zhang et al., 2012). Briefly, this toolbox estimates the following microstructure information: the intra-cellular volume fraction (ICVF) referring to the space bounded by the membranes of neurites, their orientation dispersion (OD), and the isotropic volume fraction.

#### 2.3.4. SNR measurements

We performed SNR measurements in different images: on "unweighted" A0 images, on DW scans at b=10 000 s/mm<sup>2</sup>, on the NODDI maps and on the fractional anisotropy (FA) map. ROI included the background and a coherently oriented white matter region (the splenium part of the corpus callosum). The mean of the signal intensity (SI) and the noise level taken as the standard deviation (SD) were computed for each ROI and for each scan. SNR was then computed as SI<sub>corpus</sub> callosum/SD<sub>background</sub>.

#### 2.3.5. Dice measurements

To evaluate the tractography, we generated tract density imaging (Calamante et al., 2010) for all reconstructed pathways and we computed Dice coefficients (Dice, 1945). Dice coefficients were computed for tracts reconstructed with the 3D-DW seg-EPI and 3D-DW SE protocol with Gdstaining. Dice coefficients were also computed for the 3D-DW seg-EPI with and without Gd-staining.

#### 2.3.6. T1 and T2 relaxation value

T1 and T2 values were computed using the Paravision built-in ISA software (Bruker Biospin, Germany). ROIs were manually defined on different brain structures: gray matter, white matter, corpus callosum, thalamus, caudate nucleus and putamen.

### 3. Results

### 3.1. Experiment n°1: longitudinal changes of T1 values after Gdstaining

Figure 1 shows the evolution of T1 value over a period of 12 days. We observe that on white matter and cortical gray matte, T1 does not evolve after a period of 2 days. For some subcortical gray matter structures like the thalamus, T1 reaches a plateau after a period of 12 days. Moreover, after 12 days, white matter T1 value remains higher that other gray matter region.



Figure 1: Evolution of T1 value in different ROIs over a period of 12 days

# 3.2. Experiment n°2: effects of Gd-staining on T1-T2 maps and DWI

Figure 2 compares the T1 and T2 maps and Table 1 indicates the T1 and T2 values without and with Gd-staining at two different times.

Without Gd-staining, we did not observe significant change in white and gray matter T1 and T2 over time.

With Gd-staining, T1 is reduces and there is an inversion of T1 contrast between gray matter and white matter. The change of T2 values is limited in gray matter and white matter.



Figure 2: T1 and T2 maps without and with Gd-staining.

White matter	T1		T2	
	t = 0	$\mathbf{t} = \mathbf{64h}$	t = 0	t = 64h
Without Gd-staining	$528 \pm 22$	$628\pm25$	$25 \pm 30$	$27 \pm 30$
With Gd-staining	242 ± 16	263 ± 11	$22 \pm 10$	22 ± 10
Gray matter	T1		Τ2	

	t = 0	t = 64h	t = 0	$\mathbf{t} = \mathbf{64h}$
Without Gd-staining	1 147 ± 51	$1\ 055\pm44$	$45 \pm 20$	$44\pm20$
With Gd-staining	$194 \pm 70$	$215\pm70$	32 ± 10	34 ± 10

**Table 1 :** T1 and T2 values without and with Gd-staining. Values were measured at the beginning and at the end of experiment.

Table 2 indicates the SNRs at b-values of 0 and 10 000 s/mm<sup>2</sup>. Fig. 3 compares diffusion indices ("unweighted" DWI scans, DWI scans at b=10 000 s/mm<sup>2</sup>, FA color map and NODDI maps) derived from the macaque brain scanned using the DWI protocol without and with Gd-staining and preprocessed without and with denoising. Visually and with the calculated SNRs, we see that the denoising technique show highly enhanced SNR for the DWI protocol without Gd-staining: the SNR with denoising at 10 000 s/mm<sup>2</sup> is about 1.5 higher compared to the SNR without denoising did not differ at b = 10 000 s/mm<sup>2</sup> but increased with denoising at b = 0. These SNRs discrepancies on the raw DWI data leaded to the differences observed on the FA color and NODDI maps (Fig. 3). Indeed, results are similar with Gd-staining regarding if the denoising step is done or not whereas denoising is really useful for the acquisition without Gd-staining and gives great images. Some differences in contrast can be seen on the intra-cellular volume fraction map: a clear delimitation between gray and white matters is more visible with Gd-staging than without Gd-staining.

	Without Gd-staining		With Gd-staining	
	Without denoising	With denoising	Without denoising	With denoising
$\mathbf{b} = 0  \mathrm{s/mm^2}$	28.13	31.74	34.91	61.34
$b = 10\ 000\ s/mm^2$	6.43	10.08	10.37	10.74

**Table 2:** SNR values calculated in the *splenium* part of the corpus callosum using the DWI protocol

 without and with Gd-staining.



**Figure 3:** Diffusion indices derived from the macaque brain scanned using the DWI protocol without and with Gd-staining and preprocessed without and with denoising.

Fiber tractography for the corpus callosum, pallido-thalamic tract, nigrostriatal pathway, superior cerebellar peduncle, middle cerebellar peduncle and the inferior cerebellar peduncle are shown in Fig. 4. The corpus callosum, the nigrostriatal pathway and the three cerebellar peduncles were reconstructed using the DWI protocol without and with Gd-staining. The acquisition with Gd-staining produced the highest-quality tract reconstruction. We found Dice coefficients of 0.75, 0.40, 0.43, 0.41, 0.63 and 0.57 for, respectively, the corpus callosum, the left nigrostriatal pathway, the right nigrostriatal pathway, the superior cerebellar peduncle, middle cerebellar peduncle and the inferior cerebellar peduncle. The reconstruction of the pallido-thalamic tract was not possible in the DWI protocol without Gd-staining contrary to the DWI protocol with Gd-staining. The Dice

coefficient for the pallido-thalamic is very low with a value of 0.25 for the right side and 0.27 for the left side.



**Figure 4:** Tractography performed on the macaque brain scanned using the DWI protocol without and with Gd-staining and denoised. The corpus callosum, the pallido-thalamic tract, the nigrostriatal pathway, the superior cerebellar peduncle, the middle cerebellar peduncle and the inferior cerebellar peduncle were extracted.

# 3.3. Experiment n°3: comparison of 3D-DW SE and 3D-DW seg-EPI

Table 3 indicates the SNRs at b-values of 0 and 10 000 s/mm<sup>2</sup> using the 3D-DW SE and the 3D-DW seg-EPI. Fig. 5 compares diffusion indices ("unweighted" DWI scans, DWI scans at b=10 000 s/mm<sup>2</sup> and FA color map). As expected, the noise level of the 3D-DW SE taken as the standard
deviation in the background is close to zero which gives a high SNR value. The denoising step make no difference on the SNR values for the 3D-DW SE but it increases the SNR for the 3D-DW seg-EPI. Visually, the different diffusion indices are quite similar between the two acquisitions even if there is a small discrepancy on the brain edges with the FA color map. In addition, we can notice a minimal deformation on the superior-inferior axis of the brain with 3D-DW seg-EPI compared to the 3D-DW SE.

	3D-D	W SE	3D-DW	seg-EPI
	Without denoising	With denoising	Without denoising	With denoising
$\mathbf{b} = 0  \mathrm{s/mm^2}$	52.56	52.85	20.48	47.38
$b = 10\ 000\ s/mm^2$	22.44	23.05	15.48	16.32

**Table 3:** SNR values calculated in the *splenium* part of the corpus callosum using the 3D-DW SE andthe 3D-DW seg-EPI.



Figure 5: Diffusion indices derived from the macaque brain scanned using the 3D-DW SE protocol and the 3D-DW seg-EPI. All DWI data were denoised.

Fiber tractography for the corpus callosum, pallido-thalamic tract, nigrostriatal pathway, superior cerebellar peduncle, middle cerebellar peduncle and the inferior cerebellar peduncle are shown in Fig. 6. All tracts were reconstructed using the 3D-DW SE and the 3D-DW seg-EPI. We found Dice coefficients of 0.85, 0.82, 0.83, 0.53, 0.60, 0.83, 0.87 and 0.80 for, respectively, the

corpus callosum, the left pallido-thalamic tract, the right pallido-thalamic tract, the left nigrostriatal pathway, the right nigrostriatal pathway, the superior cerebellar peduncle, middle cerebellar peduncle and the inferior cerebellar peduncle. We observed the biggest discrepancies with the reconstruction of the nigrostriatal pathway between the two acquisitions. Even with the 3D-DW SE protocol, that pathway is difficult to extract and the reconstructed tract contains false positive streamlines.



**3D segmented EPI - 37 hours** 

3D Spin Echo - 222 hours

Figure 6: Tractography performed on the macaque brain scanned using the 3D-DW SE and the 3D-

DW seg-EPI. All DWI data were denoised. The corpus callosum, the pallido-thalamic tract, the nigrostriatal pathway, the superior cerebellar peduncle, the middle cerebellar peduncle and the inferior cerebellar peduncle were extracted.

Since the acquisition time for 3D-DW seg-EPI is shorter compared to the 3D-DW SE, we were able to acquire multi-shell data and calculated NODDI maps. Fig. 7 shows the reconstructed lateral lemniscus, medial lemniscus and medial longitudinal fasciculus pathways using the multi-shell

3D-DW seg-EPI. The ROIs were segmented on the OD map instead of the B0, FA or the intra-cellular fraction volume. The OD map highlighted the ROI used for the delimitation of each tract which is harder to distinguish on the B0, FA or intra-cellular volume fraction maps.



**Figure 7:** Extraction of the lateral lemniscus (in purple), the medial lemniscus (in yellow) and the medial longitudinal fasciculus (in blue) using the 3D-DW seg-EPI and the denoised data. The OD map highlighted the ROI (in red) used for the delimitation of each tract which is harder to distinguish on the B0, FA or intra-cellular volume fraction maps.

# 4. Discussion

#### 4.1. Relaxation times

An appreciation of tissue relaxation parameters is an important component of sequence optimization for any purpose. Relaxation parameters have been reported for live macaque brain at 4.7 T (Pfeuffer et al., 2004): 1520/67.5 ms for T1/T2 in gray matter and 1080/63.8 ms in white matter. In formaldehyde fixed brain, measurements were 494/46 ms for T1/T2 in gray matter and 423/34 ms in

white matter (D'arceuil et al., 2007). In perfused and fixed brain, we measured, without Gd-staining, 1 147/45 ms for T1/T2 in gray matter and 528/25 ms in white matter. With Gd-staining, we measured 194/32 ms for T1/T2 in gray matter and 242/22 ms in white matter. The decrease in gray matter T1 in fixed tissue, without and with Gd-staining, was much greater than the decrease in white matter T1, consistent with observations in human tissue (Tovi and Ericsson, 1992) and resulting in minimal T1 contrast in fixed brain images. Conversely, the drop in white matter T2, without and with Gd-staining was slightly more than the drop in gray matter T2 although there was a clear gray/white T2 difference remaining. The difference in T1/T2 between white matter than gray matter after fixation is unclear. The cause may be related to the different lipid composition of myelin, a prominent feature of white matter, as compared to the lipids that comprise the cell membranes of glia and astrocytes in gray matter. It is possible that fixation affects myelin lipid in a manner that causes relatively greater hindrance to water motion.

With Gd-staining, T1 is reduces and there is an inversion of T1 contrast between gray matter and white matter. The change of T2 values is limited in gray matter and white matter. By reducing T1, Gd-staining allows us to shorten the TR value without losing too much signal which is extremely important for 3D-imaging. However, we showed that, with Gd-staining, T1 value varies in subcortical gray matter regions during experiments. Special care should be taken when using T1 mapping of *post mortem* specimen to calculate model like the g-ratio for example (Stikov et al., 2015).

#### 4.2. Effects of Gd-staining on diffusion measurements

While the use of Gd agents in fixed brains can reduce T1 contrast, it is important to consider potential effects upon the diffusion measurements. We found that Gd-staining gives higher SNR at b = 0 and at  $b = 10\,000$  s/mm<sup>2</sup>. These SNRs discrepancies disappear at  $b = 10\,000$  s/mm<sup>2</sup> when a denoising step is applied to the raw DWI. That denoising step have no effect on the SNR at  $b = 10\,000$  s/mm<sup>2</sup> for the DWI with Gd-staining. Our results show that Gd-staining and denoising DWI without Gd-staining have the same effect on SNR. Nevertheless, for some *post mortem* specimens with a low number of directions for instance, the denoising step have no effect on SNR for the acquisition without Gd-staining (unpublished data). Moreover, Gd-staining improves the signal of the images while the denoising step is an image processing technique that relies on many assumptions (Veraart et al., 2016a, 2016b). For these reasons, we clearly advise to use Gd-staining instead of the denoising step.

#### 4.3. Comparison of 3D-DW SE and 3D-DW seg-EPI

We found that diffusion indices are quite similar between 3D-DW SE and 3D-DW seg-EPI even if SNR for 3D-DW SE is higher. However,  $SNR/\sqrt{(acquisition time)}$  at b = 10 000 s/mm<sup>2</sup> for 3D-DW SE is 1.5 and is 2.5 for 3D-DW seg-EPI. So, for a given time, 3D-DW seg-EPI gives a better SNR.

Minimal deformation on the superior-inferior axis of the brain was found for the 3D-DW seg-EPI compared to the 3D-DW SE. Geometric distortions are unequivocally regarded as the main problem associated with single-shot EPI readout trajectories. Geometric distortion for 3D-DW seg-EPI is reduced compared to standard EPI by a factor proportional to the segments width (Yeom et al., 2012). By using a high number of segments, we can reduce these distortions and having similar results to the 3D-DW SE.

3D-DW seg-EPI makes it possible to have images without much distortion but also coherent diffusion indices which are similar to the 3D-DW SE. Due to its shorter acquisition time than the 3D-DW SE for identical acquisition, it is possible to acquire a large number of directions while preserving the tissue. This preservation of the tissue allows many multimodal applications. For instance, we can validate tractography with histology (myelin staining) or with different clearing methods such as iDISCO (Renier et al., 2014) or CLARITY (Chung et al., 2013) on the same specimen.

#### 4.4. Practical considerations

Several imaging challenges emerged in this study. Among the most challenging was specimen motion and the fact that the brain needed to be firmly stabilized during imaging. This was accomplished by surrounding the specimen with pierced syringes. Others solutions have included embedding the specimen in agar in a rectangular container (Pfefferbaum et al., 2004) or using a plexiglass cradle that supports the brain in a desired orientation and maintains high humidity during imaging (Schumann et al., 2001).

In addition, aspects of *post mortem* brain morphology differ significantly from *in vivo* morphology. Physical changes that occur with death and fixation include changes in water proton environment, collapse of CSF spaces, lack of flowing blood and other fluids, and collapse of capillary volume. In order to prevent the appearance of bubbles in these empty areas, we have to degas with a vacuum pump the specimen 3 hours before imaging.

Changes in the properties of fixed tissue are an important consideration for *post mortem* imaging. T1 and T2, compared *to in vivo*, are altered which appears to depend on specifics of the tissue preparation. Soaking or rinsing fixed tissue in phosphate buffer (non-fixative) solution significantly increases T2 (D'Arceuil et al., 2007; Shepherd et al., 2009b; Thelwall et al., 2006), potentially even exceeding *in vivo* values depending on the *post mortem* interval (Shepherd et al., 2009a). These results suggest that short T2 is driven, at least in part, by the presence of fixative in tissue. Washing with pure buffer solution appears to have little effect on T1 (D'Arceuil et al., 2007; Shepherd et al., 2009b), but gadolinium-doped buffer has been observed to reduce the T1 in our study and others (D'Arceuil et al., 2007). Given the variability in T1 and T2 reported for *post mortem* brains, which appears at least in part to relate to tissue preparation, a conservative approach is to measure these properties and adapt the 3D-DW seg-EPI protocol for those values.

# 5. Conclusion

We have demonstrated the feasibility of diffusion imaging of whole, *post mortem* macaque brain using a 11.7T scanner and a 3D-DW seg-EPI sequence. With a 37-hours protocol, it is possible to acquire data with a 0.2 mm isotropic resolution and 73 directions at  $b = 10\ 000\ s/mm^2$ . Our data is of sufficient quality to provide excellent visualization of white and gray matter anisotropy and to enable diffusion tractography with results similar to the ones obtained with a 3D-DW SE acquisition.

Our data suggest that care must be taken in preparing *post mortem* brains because the changes to *post mortem* tissue due to death and fixation present significant challenges for data acquisition. We advise to stain specimen with Gd during 7 days because it will shorten T1 and give a higher SNR than without Gd-staining. After 7 days Gd-staining, they will be no variation of T1.

**Funding sources for study**: The research leading to these results received funding from the "Investissements d'avenir" (investing in the future) program ANR-10-IAIHU-06 and the Michael J. Fox Foundation for Parkinson's Research. SBS has been supported by the Bettencourt Schueller Foundation and by the National Agency for Research under the program "Investissements d'avenir" ANR-10-EQPX-15.

**Financial disclosures:** The authors declare that there are no financial considerations that represent potential conflicts of interest.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflicts of interest.

#### References

Calamante, F., Tournier, J.-D., Jackson, G.D., Connelly, A., 2010. Track-density imaging (TDI): Super-resolution white matter imaging using whole-brain track-density mapping. Neuroimage 53, 1233–1243. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.07.024

Chung, K., Wallace, J., Kim, S.Y., Kalyanasundaram, S., Andalman, A.S., Davidson, T.J., Mirzabekov, J.J., Zalocusky, K.A., Mattis, J., Denisin, A.K., Pak, S., Bernstein, H., Ramakrishnan, C., Grosenick, L., Gradinaru, V., Deisseroth, K., 2013. Structural and molecular interrogation of intact biological systems. Nature. 16;497(7449):332-7. doi: 10.1038/nature12107.

D'Arceuil, H., de Crespigny, A., 2007. The effects of brain tissue decomposition on diffusion tensor imaging and tractography. Neuroimage 36, 64–8. doi:10.1016/j.neuroimage.2007.02.039

Dhollander, T., Raffelt, D., Connelly, A., 2016. Unsupervised 3-tissue response function estimation from single-shell or multi-shell diffusion MR data without a co-registered T1 image. ISMRM Workshop on Breaking the Barriers of Diffusion MRI, 5

Dice, L.R., 1945. Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species Author ( s ): Lee R . Dice Published by : Wiley Stable URL : http://www.jstor.org/stable/1932409 Accessed : 08-04-2016 13 : 33 UTC Your use of the JSTOR archive indicates your acceptance of th. Ecology 26, 297–302.

Jbabdi, S., Johansen-Berg, H., 2011. Tractography: Where Do We Go from Here? Brain Connect. 1, 169–183. doi:10.1089/brain.2011.0033

Jeurissen, B., Tournier, J.-D., Dhollander, T., Connelly, A., Sijbers, J., 2014. Multi-tissue constrained spherical deconvolution for improved analysis of multi-shell diffusion MRI data. Neuroimage 103, 411–426. doi:10.1016/j.neuroimage.2014.07.061

Jones DK. Diffusion MRI: Theory, Methods, and Applications. Oxford, USA: Oxford University Press, 2010.

Pfeuffer, J., Merkle, H., Beyerlein, M., Steudel, T., Logothetis, N.K., 2004. Anatomical and functional MR imaging in the macaque monkey using a vertical large-bore 7 Tesla setup. Magn Reson Imaging. 22(10):1343-59.

Pfefferbaum, A., Sullivan, E.V., Adalsteinsson, E., Garrick, T., Harper, C., 2004. Postmortem MR imaging of formalin-fixed human brain. NeuroImage 21 (4), 1585–1595.

Renier, N., Wu, Z., Simon, D.J., Yang, J., Ariel, P., Tessier-Lavigne, M., 2014. iDISCO: a simple, rapid method to immunolabel large tissue samples for volume imaging. Cell. 159(4):896-910. doi: 10.1016/j.cell.2014.10.010.

Schumann, C.M., Buonocore, M.H., Amaral, D.G., 2001. Magnetic reso- nance imaging of the post mortem autistic brain. J. Autism Dev. Disord. 31, 561–568.

Shepherd, T.M., Flint, J.J., Thelwall, P.E., Stanisz, G.J., Mareci, T.H., Yachnis, A.T., Blackband, S.J., 2009a. Postmortem interval alters the water relaxation and diffusion properties of rat nervous tissue - Implications for MRI studies of human autopsy samples. Neuroimage 44, 820–826. doi:10.1016/j.neuroimage.2008.09.054

Shepherd, T.M., Thelwall, P.E., Stanisz, G.J., Blackband, S.J., 2009b. Aldehyde fixative solutions alter the water relaxation and diffusion properties of nervous tissue. Magn. Reson. Med. 62, 26–34.

Smith, R.E., Tournier, J.D., Calamante, F., Connelly, A., 2013. SIFT: Sphericaldeconvolution informed filtering of tractograms. Neuroimage 67, 298–312. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.11.049

Stikov, N., Campbell, J.S., Stroh, T., Lavelée, M., Frey, S., Novek, J., Nuara, S., Ho, M.K., Bedell, B.J., Dougherty, R.F., Leppert, I.R., Boudreau, M., Narayanan, S., Duval, T., Cohen-Adad, J., Picard, P.A., Gasecka, A., Côté, D., Pike, G.B., 2015. In vivo histology of the myelin g-ratio with magnetic resonance imaging. Neuroimage. 118:397-405. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.05.023.

Sun, S.W., Neil, J.J., Song, S.K., 2003. Relative indices of water diffusion anisotropy are equivalent in live and formalin-fixed mouse brains. Magn. Reson. Med. 50, 743–748. doi:10.1002/mrm.10605

Sun, S.-W., Neil, J.J., Liang, H.-F., He, Y.Y., Schmidt, R.E., Hsu, C.Y., Song, S.-K., 2005. Formalin fixation alters water diffusion coefficient magnitude but not anisotropy in infarcted brain. Magn. Reson. Med. 53, 1447–1451. doi:10.1002/mrm.20488

Thelwall, P.E., Shepherd, T.M., Stanisz, G.J., Blackband, S.J., 2006. Effects of temperature and aldehyde fixation on tissue water diffusion properties, studied in an erythrocyte ghost tissue model. Magn. Reson. Med. 56, 282–289. doi:10.1002/mrm.20962

Tovi, M., Ericsson, A., 1992. Measurements of T1 and T2 over time in formalin-fixed human whole-brain specimens. Acta Radiol. 33(5):400-4.

Tustison, N.J., Avants, B.B., Cook, P.A., Zheng, Y., Egan, A., Yushkevich, P.A., Gee, J.C., 2010. N4ITK: improved N3 bias correction. IEEE Trans. Med. Imaging 29, 1310–1320.

Veraart, J., Novikov, D.S., Christiaens, D., Ades-aron, B., Sijbers, J., Fieremans, E., 2016. Denoising of diffusion MRI using random matrix theory. NeuroImage, in press, doi: 10.1016/j.neuroimage.2016.08.016

Veraart, J., Fieremans, E., Novikov, D.S., 2016. Diffusion MRI noise mapping using random matrix theory. Magn. Res. Med., early view, doi: 10.1002/mrm.26059

Yeom, K.W., Holdsworth, S.J., Van, A.T., Iv, M., Skare, S., Lober, R.M., Bammer, R., 2013. Comparison of Readout-Segmented Echo-Planar Imaging (EPI) and Single-Shot EPI in Clinical Application of Diffusion-Weighted Imaging of the Pediatric Brain. AJR Am J Roentgenol. 200(5):W437-43. doi: 10.2214/AJR.12.9854.

Zhang, H., Schneider, T., Wheeler-Kingshott, C.A., Alexander, D.C., 2012. NODDI: Practical in vivo neurite orientation dispersion and density imaging of the human brain. Neuroimage 61, 1000–1016. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.03.072

# 7.2 Atlas du tronc cérébral humain et IRM de diffusion

Le travail sur l'IRM de diffusion du tronc cérébral humain présenté dans ce chapitre est inclus dans un projet plus large : la construction d'un atlas 3D déformable du tronc cérébral humain sain *post mortem* qui sera recalé sur les IRM de patients opérés pour une SCP du PPN afin de personnaliser la cible optimale.

Plusieurs troncs cérébraux humains ont été utilisés pour mettre au point les protocoles d'imagerie IRM ou d'histologie. Ce projet est toujours en cours et regroupe le travail de nombreuses personnes (Antoine Collomb-Clerc qui est doctorant en histologie, Matthieu Faillot qui est étudiant en médecine, Fernando Pérez-García qui est ingénieur en neuroimagerie, Anne-Sophie Rolland qui est neuroanatomiste et moimême). Dans ce chapitre, nous allons présenter la partie IRM de diffusion *post mortem* et tractographie de ce projet, qui est ma contribution personnelle, sur le dernier tronc cérébral acquis. La partie histologique est toujours en cours d'analyse sur ce tronc cérébral.

# 7.2.1 Introduction et objectifs

Le tronc cérébral est une structure complexe, cruciale pour le maintien des fonctions de survie telles que la respiration, le sommeil, la conscience et la transmission des informations sensorielles et motrices entre le cerveau et la moelle épinière [Nicholls and Paton, 2009]. La concentration spatiale de structures cérébrales cruciales au sein du tronc cérébral le rend vulnérable à un large éventail de troubles neurologiques comme la maladie de Parkinson [Braak et al., 2000], la maladie de Huntington [Nasrallah and Wolk, 2014] et la sclérose en plaques [Skorić et al., 2014]. Des applications récentes de la stimulation électrique dans le tronc cérébral pour traiter les troubles de la marche chez les patients parkinsoniens [Mazzone et al., 2005, Plaha and Gill, 2005, Stefani et al., 2007, Pereira et al., 2008, Ferraye et al., 2010, Moro et al., 2010a, Peppe et al., 2010, Shimamoto et al., 2010, Acar et al., 2011, Aviles-Olmos et al., 2011, Thevathasan et al., 2011, Khan et al., 2012, Welter et al., 2015, Mestre et al., 2016], soulager la douleur [Hamani et al., 2006] ou rétablir l'audition [Lenarz et al., 2006] montrent le potentiel de cette technique pour traiter les troubles neurologiques. La chirurgie du tronc cérébral humain nécessite une compréhension détaillée de son anatomie 3D pour éviter des dommages critiques pouvant entraîner des déficits post-opératoires dévastateurs. Les techniques de ciblage de structures du tronc cérébral pour la SCP fondées sur l'IRM doivent doivent être améliorées pour augmenter les bénéfices thérapeutiques de cette opération.

En effet, les séquences classiques d'IRM telles que les images pondérées T1 et T2 ne permettent pas une visualisation précise de l'anatomie du tronc cérébral [Alvarez-Linera, 2010]. Des études utilisant l'IRM de diffusion ont montré le potentiel de cette technique pour identifier les structures et les fibres dans le tronc cérébral [Meola et al., 2016]. En raison de sa petite taille, de sa complexité et de son emplacement dans le crâne, l'IRM de diffusion *in vivo* du tronc cérébral humain souffre souvent d'une faible résolution spatiale, d'effets de volume partiels, d'artefacts de susceptibilité magnétique et de distorsions liées aux courant de Foucault [Le Bihan et al., 2006].

L'IRM de diffusion *post mortem* peut surmonter de nombreuses limitations propres aux études *in vivo* grâce à l'utilisation d'agents de contraste exogènes ou de plus long temps d'acquisition par exemple. Certaines équipes ont utilisé l'IRM de diffusion *post mortem* sur des tronc cérébraux humains pour étudier l'anatomie complexe de la matière blanche du cerveau profond [McNab et al., 2009, Edlow et al., 2012, Aggarwal et al., 2013, Ford et al., 2013, Calabrese et al., 2015]. Beaucoup de ces études ont dû trouver un compromis entre la résolution spatiale, l'échantillonnage angulaire et le champ de vue pour que le temps de scan soit raisonnable. Par exemple, certaines études n'ont imagé qu'une partie du tronc cérébral [McNab et al., 2009, Edlow et al., 2012], d'autres n'ont recueilli qu'un nombre limité de directions de diffusion restreignant ainsi la qualité de la tractographie [Aggarwal et al., 2013] et une dernière étude s'est focalisée sur un seul faisceau de fibres (voie cérébello-thalamo-corticale) [Calabrese et al., 2015].

Ainsi, pour contrer ces différentes limitations, nous avons développé un atlas 3D détaillé des noyaux de matière grise et des fibres de matière blanche du tronc cérébral humain en utilisant une IRM anatomique haute résolution et une IRM de diffusion *post mortem* acquises à 11,7 T. Pour cela, nous avons appliqué à un tronc cérébral humain le protocole d'acquisition, décrit à la section précédente, d'IRM de diffusion *post mortem* à 11.7T mis au point et validé sur un cerveau de macaque.

# 7.2.2 Matériel et méthodes

#### Préparation du tissu

Le tronc cérébral utilisé dans cette étude a été obtenue chez un homme de 69 ans sans maladie neurodégénérative. Le délai *post mortem* était de 8 heures.

Après extraction de la boite crânienne, le tronc a été immergé dans un mélange de PBS, de PFA 4% et d'acide picrique 10% durant 8 jours pour fixer le tissu. Ensuite, le tronc a été rincé durant 16 jours dans un mélange de PBS et d'azide 4% pour faire descendre la valeur du temps de relaxation T2. Du gadolinium (1 :200) a été ajouté au tampon 8 jours avant l'acquisition pour augmenter la valeur du temps de relaxation T1.

#### **Acquisitions IRM**

Les acquisitions ont été faites sur le tronc cérébral humain entier à l'IRM 11.7T Biospec 117/16 (Bruker Biospin, Allemagne) équipée avec le logiciel Paravision 6.0.1 et un résonateur pour émission d'un diamètre interne de 72 mm.

L'imagerie par diffusion *post mortem* a été réalisée avec une séquence 3D EPI segmentée. Les paramètres de la séquence étaient : 32 segments, champ de vue 7,68 \* 5,76 \* 5,12 cm<sup>3</sup>; taille de la matrice 384 \* 288 \* 256 conduisant à une résolution isotropique de 0.2 mm; TR / TE = 250 / 26,6 ms;  $\delta$  = 6,5 ms et  $\Delta$  = 12,3 ms. Trois

shells différents ont été acquis avec des valeurs b de 10 000, 4 000 et 500 mm<sup>2</sup>/s avec respectivement 64, 20 et 4 directions non colinéaires. En outre, 4 images A0 (sans gradient de diffusion) ont également été acquises avec les mêmes paramètres. Le temps d'acquisition total était de 53 heures.

Une IRM anatomique T2\* a aussi été acquise avec une séquence 3D RARE. Les paramètres de séquence étaient : champs de vue 7,68 \* 6,24 \* 4,8 cm<sup>3</sup>; taille de matrice 512 \* 416 \* 320 conduisant à une résolution isotropique de 0,15 mm, TR / TE = 200 / 7,8 ms, 12 moyennages et rare-factor de 8. Le temps d'acquisition total était de 8 heures et 52 minutes.

#### **Pré-traitements**

Les volumes de diffusion acquis ont tout d'abord été débruités [Veraart et al., 2016b, Veraart et al., 2016a]. Ensuite, nous avons corrigé les courants de Foucault et les mouvements du tronc liés à l'application des gradients de diffusion [Smith et al., 2004a, Andersson and Sotiropoulos, 2016]. Enfin, l'inhomogénéité du champ B1 en réception a été corrigée [Tustison et al., 2010].

#### Informations sur la microstructure

Nous avons calculé les cartes de "neurite orientation dispersion and density imaging" ou NODDI sur nos données de diffusion afin d'avoir accès à différentes informations telles que la fraction de volume intracellulaire qui correspond à l'espace délimité par les membranes des neurites et leur dispersion d'orientation [Zhang et al., 2012].

#### Tractographie

Nous avons estimé la distribution de l'orientation des fibres présentes dans chaque voxel en utilisant la méthode de déconvolution sphérique contrainte et le logiciel MRtrix [Jeurissen et al., 2014, Dhollander et al., 2016].

La tractographie probabiliste du tronc cérébral a été effectuée avec les paramètres suivants suite à différents tests et à la visualisation du tractogramme : 10 000 000 faisceaux, longueur du pas de 0,1 mm, seuil de courbure de 45°, longueur minimale de 6 mm, longueur maximale de 250 mm et limitation de l'amplitude de la distribution de l'orientation des fibres à 0,6. Ensuite, la méthode SIFT a été appliquée pour réduire le nombre de faisceaux à 1 million et fournir une estimation biologiquement cohérente de la densité de connexion en éliminant les faux positifs [Smith et al., 2013].

Les faisceaux de fibres ont été isolés du tractogramme avec des régions d'intérêt définies manuellement par moi-même et Anne-Sophie Rolland (neuroanatomiste) à partir de nos connaissances anatomiques et de la littérature [Schaltenbrand and Wahren, 1978, Olszewski and Baxter, 1982, Paxinos and Huang, 1959, Naidich et al., 2007, Meola et al., 2016].

# 7.2.3 Résultats

# Carte d'anisotropie fractionnelle

La Figure 7.2 montre les cartes d'anisotropie fractionnelle couleur du tronc cérébral humain acquis avec une résolution de 0.2 mm<sup>3</sup>. Les coupes de l'IRM anatomique (résolution de 0,15 mm<sup>3</sup>) sont aussi montrées pour comparaison. On observe un contraste important à 11.7T qui permet de délimiter visuellement un grand nombre de faisceaux de fibres (lemnisque médian, faisceau cortico-spinal, pédoncule cérébelleux moyen, les fibres pontines, etc....) mais aussi certaines structures (noyau réticulaire du pont, *locus coeruleus*, matière grise périaqueducale, etc....).



FIGURE 7.2 – Vue axiale des cartes d'anisotropie fractionnelle couleur et IRM anatomique du tronc cérébral humain à deux niveaux de coupes.

#### Informations sur la microstructure

Les cartes NODDI et la carte d'anisotropie fractionnelle sont montrées sur la Figure 7.3. Les résultats sont cohérents avec l'anatomie du cerveau entier et du tronc cérébral humain : la fraction de volume intracellulaire est plus faible dans la matière grise que dans la matière blanche, contrairement à la dispersion d'orientation qui est plus élevée dans la matière grise que dans la matière blanche.

La carte de la fraction de volume intracellulaire et la carte de dispersion d'orientation fournissent de nouveaux contrastes par rapport à l'IRM anatomique classique. En combinant les cartes de microstructure, l'IRM anatomique et les cartes FA nous pouvons délimiter avec précision des structures du tronc cérébral et ainsi placer des régions d'intérêt pour la tractographie en utilisant tous ces contrastes en même temps.



FIGURE 7.3 – Cartes d'anisotropie fractionnelle, de fraction de volume intracellulaire et de dispersion d'orientation en vue axiale.

#### Tractographie

De nombreux faisceaux ont pu être reconstruits avec l'IRM de diffusion acquise, ce qui fournit un modèle 3D complet des faisceaux du tronc cérébral humain et permet des analyses anatomiques fines.

Les trois pédoncules cérébelleux ont été extraits (Figure 7.4) et leurs trajectoires sont cohérentes avec ce qui est décrit dans la littérature [Schaltenbrand and Wahren, 1978, Olszewski and Baxter, 1982, Paxinos and Huang, 1959, Naidich et al., 2007].

En effet, le pédoncule cérébelleux supérieur part du noyau dentelé du cervelet, croise au niveau du mésencéphale et atteint le noyau rouge contralatéral.

Le pédoncule cérébelleux moyen est latéral au niveau du cervelet par rapport aux pédoncules cérébelleux supérieur et inférieur, et suit les fibres transverses entre le nerf trijumeau et le cervelet.

Enfin, le pédoncule cérébelleux inférieur part du cervelet et se situe médialement par rapport au pédoncule cérébelleux moyen et latéralement par rapport au pédoncule cérébelleux supérieur au niveau de la moelle allongée.



FIGURE 7.4 – Vue sagittale des pédoncules cérébelleux à gauche en 3D et vues axiales des pédoncules cérébelleux à droite en projection sur la coupe. Pédoncule cérébelleux inférieur en violet, pédoncule cérébelleux moyen en orange, et pédoncule cérébelleux supérieur en vert.

Outre les trois pédoncules cérébelleux, d'autres faisceaux ont été extraits (Figure 7.5).

Le lemnisque médian, au niveau de mésencéphale, suit la limite postérieure des pédoncules cérébelleux, derrière la substance noire, ventrolatéral au pédoncule cé-rébelleux supérieur et latéral au noyau rouge.

Le lemnisque latéral, au niveau du pont, est postérieur au lemnisque médian et médial au pédoncule cérébelleux moyen alors qu'au niveau du mésencéphale il est latéral au pédoncule cérébelleux supérieur.

Enfin, le faisceau pyramidal constitue les pyramides au niveau de la moelle allongée, est dissocié en petits faisceaux au niveau du pont qui se mêlent au pédoncule cérébelleux supérieur au niveau du mésencéphale.



FIGURE 7.5 – Vue sagittale des faisceaux à gauche en 3D et vues axiales des faisceaux à droite en projection sur la coupe. Faisceau pyramidal en rouge, lemnisque médian en jaune, lemnisque latéral en rose, et faisceau longitudinal médian en bleu clair.

#### Atlas multimodal

Comme dit précédemment, le travail sur l'IRM de diffusion du tronc cérébral humain présenté dans ce chapitre est inclus dans un projet plus large : la construction d'un atlas 3D déformable du tronc cérébral humain sain *post mortem* qui sera recalé sur les IRM de patients opérés pour une SCP du PPN afin de personnaliser la cible optimale.

La Figure 7.6 explicite les nombreuses étapes de recalage nécessaires pour créer cet atlas et les données utilisées. Après une acquisition d'IRM de diffusion et anatomique à 11.7T et une acquisition anatomique à 3T, le tronc cérébral a été congelé. Il a ensuite été coupé selon l'axe inférieur-supérieur au microtome à congélation (coupes axiales, perpendiculaires au plus grand axe du tronc cérébral). Des photos, prises à chaque coupe, ont ensuite été recalées ensemble (similitude à 4 degrés de liberté) grâce à des marqueurs présents sur le microtome et un cryoblock a été reconstruit selon une méthode déjà décrite [Yelnik et al., 2007]. Ce cryoblock sert d'espace commun et toutes les autres modalités sont recalées sur lui. Les IRM anatomiques ont été recalées sur le cryoblock en utilisant un algorithme 3D de block-matching avec une transformation rigide à 6 degrés de liberté et une similitude à 7 degrés de liberté [Ourselin et al., 2000].

Ensuite, des immunohistochimies ont été réalisées sur les coupes pour mettre en

évidence différentes populations neuronales :

- Marquage TH : neurones dopaminergiques et noradrenergiques ;
- Marquage ChAT : neurones cholinergiques;
- Marquage 5-HT : neurones serotoninergiques;
- Marquage GAD : neurones GABAergiques ;
- Marquage Luxol Fast Blue : faisceaux de fibres.

Après mise en évidence des différentes populations de neurones par immunohistochimie, les coupes ont été scannées avec un nanozoomer (Hamamastu) pour obtenir des images hautes résolutions et recalées avec une transformation rigide à 3 degrés de liberté sur les photos correspondantes du cryoblock [Ourselin et al., 2000].



FIGURE 7.6 – Diagramme général explicitant les différentes recalages nécessaires pour la construction de l'atlas. Image provenant de Fernando Pérez-García (ingénieur en neuroimagerie à l'ICM sur la plateforme CENIR STIM)

A la fin de toutes les étapes de traitements, nous avons dans un même espace l'information provenant des IRM anatomiques et des coupes histologiques (contours de structures ou comptage de neurones).

La Figure 7.7 montre un exemple de l'atlas à un niveau de coupe sur le tronc cérébral n°2 ayant servi à mettre au point les immunohistochimies. La même procédure est en cours sur le tronc cérébral définitif.



FIGURE 7.7 – Vue axiale d'une coupe histologique (en haut à gauche), de l'IRM anatomique 3T (en haut à droite) et de l'IRM anatomique 11.7T (en bas à gauche) avec les contours de structures et les neurones cholinergiques en rouge. Image provenant de Fernando Pérez-García (ingénieur en neuroimagerie à l'ICM sur la plateforme CE-NIR STIM)

Les résultats préliminaires de l'atlas du tronc cérébral n°2 ont été recalés sur l'IRM anatomique 3T de quatre patients opérés pour une SCP du PPN (Figure 7.8 pour un exemple). Grâce à l'information sur la densité des neurones cholinergiques du PPN et les structures adjacentes, il est possible de prévoir une trajectoire optimale de l'électrode.



FIGURE 7.8 – Représentation 3D de l'atlas recalé sur l'IRM anatomique 3T d'un patient opéré pour une SCP du PPN. Les contacts de l'électrode les plus clairs sont entourés par la plus forte densité de neurones cholinergiques. Image provenant de Fernando Pérez-García (ingénieur en neuroimagerie à l'ICM sur la plateforme CENIR STIM)

# 7.2.4 Contributions personnelles

J'ai effectué différentes parties de cette étude :

- La préparation du cerveau pour les acquisitions IRM avec Anne-Sophie Rolland (neuroanatomiste);
- Les acquisitions IRM avec Anne-Sophie Rolland (neuroanatomiste) et Mathieu Santin (neuroimageur);
- Les pré-traitements des données de diffusion;
- L'étape de tractographie;
- Le calcul de cartes de microstructure.



# Noyau ventral intermédiaire du thalamus

# – Chapitre -

8

# Ciblage du noyau ventral intermédiaire du thalamus

# Sommaire

8.1	Introd	uction et objectifs
8.2	Matéri	iel et méthodes
	8.2.1	Acquisitions IRM et pré-traitements
	8.2.2	Segmentation des régions d'intérêts
	8.2.3	Tractographie
	8.2.4	Ciblage du Vim
	8.2.5	Évaluation quantitative des différences entre ciblages 114
8.3	Princi	paux résultats et discussion
	8.3.1	Coordonnées des ciblages
	8.3.2	Évaluation quantitative des différences entre ciblages 117
8.4	Conclu	1sion

Ce travail a été réalisé en collaboration avec Anis Kobb, étudiant de master 2, que j'ai co-encadré avec Eric Bardinet durant son stage de 6 mois à l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière.

Il s'agit d'une étude pilote dont les résultats seront à développer.

# 8.1 Introduction et objectifs

Nous avons vu au Chapitre 3 que la SCP du Vim est utilisée avec succès dans le cadre du traitement des tremblements essentiels [Shinoda et al., 1993]. Des erreurs de ciblage peuvent compromettre l'efficacité de la SCP et conduire à des effets secondaires indésirables tels que des déficits moteurs [Baizabal-Carvallo and Jankovic, 2016], l'hypomanie [Chopra et al., 2012], des troubles du contrôle des impulsions [Amami et al., 2015] et de la dysarthrie [Tripoliti et al., 2011]. Ainsi, des approches améliorées et novatrices du ciblage sont nécessaires pour fournir un guidage optimal et augmenter les bénéfices thérapeutiques de la SCP du Vim pour les tremblements essentiels.

Le Vim fait partie du thalamus et la délimitation des noyaux thalamiques n'est actuellement pas visible en imagerie conventionnelle in vivo; ce qui empêche un ciblage direct à partir d'IRM anatomique. Il n'existe pas de méthode sans défaut pour cibler la région du Vim mais différentes méthodes, directes ou indirectes, existent : diagramme de Guiot, par recalage d'atlas ou des méthodes basées sur l'IRM de diffusion car la connectivité du thalamus et du Vim est connue [Percheron, 1977]. Toutes ces techniques ont été décrites au Chapitre 3 et ont été utilisées avec succès pour le ciblage du Vim [Coenen et al., 2011, Pouratian et al., 2011, Hyam et al., 2012, Lujan et al., 2012, Hunsche et al., 2013, Sudhyadhom et al., 2013, Anthofer et al., 2014, Torres et al., 2014, Avecillas-Chasin et al., 2016, Sammartino et al., 2016]. Cependant, aucune étude, à notre connaissance, ne s'est attachée à regarder si les cibles du Vim mises en évidence par ces techniques étaient anatomiquement localiséss au même endroit dans l'espace natif de chaque patient.

L'objectif de cette étude pilote est de localiser, avec plusieurs méthodes, une zone cible dans le Vim pour traiter les tremblements essentiels avec la SCP. Les différentes techniques de ciblage étudiées sont :

- Diagramme de Guiot [Guiot et al., 1967];
- Recalage de l'atlas YeB [Yelnik et al., 2007, Bardinet et al., 2009];
- Extraction du faisceau dento-rubro-thalamique par tractographie [Coenen et al., 2011, Calabrese et al., 2015];
- Parcellisation du thalamus par tractographie [Behrens et al., 2004];
- Délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents extraits par tractographie [Sammartino et al., 2016].

Le second objectif est de quantifier les différences de ciblages entre ces cinq techniques.

# 8.2 Matériel et méthodes

La Figure 8.1 résume les étapes principales, décrites ci-dessous, de la méthodologie employée dans cette étude.



FIGURE 8.1 – Vue générale de la méthodologie

# 8.2.1 Acquisitions IRM et pré-traitements

Des acquisitions IRM à 3T ont été réalisées et pré-traitées chez 5 sujets dans le cadre du "Human Connectome Project"<sup>1</sup> [Glasser et al., 2013, Sotiropoulos et al., 2013].

Des IRM anatomiques T1 et T2 ont été acquises avec une résolution de 0.7 mm<sup>3</sup>.

1. http://www.humanconnectomeproject.org/

Un ensemble d'images pondérées en diffusion ont aussi été acquises avec les paramètres suivants : résolution de  $0.7 \text{ mm}^3$ , 3 shells à b = 1 000, 2 000 et 3 000 s/mm<sup>2</sup> avec 90 directions pour chaque shell).

# 8.2.2 Segmentation des régions d'intérêts

Pour identifier le pédoncule cérébral, le noyau rouge, le thalamus et le Vim, nous avons recalé l'atlas YeB dans l'espace natif de chaque sujet [Yelnik et al., 2007, Bardinet et al., 2009].

Les aires corticales ont été segmentées avec la chaîne de traitement "*recon-all*" du logiciel Freesurfer<sup>2</sup> [Destrieux et al., 2010].

# 8.2.3 Tractographie

Nous avons estimé la distribution de l'orientation des fibres présentes dans chaque voxel en utilisant la méthode de déconvolution sphérique contrainte et le logiciel MRtrix [Jeurissen et al., 2014, Dhollander et al., 2016].

La tractographie probabiliste du cerveau a été effectuée avec les paramètres suivants : 100 000 000 faisceaux, longueur du pas de 0,1 mm, seuil de courbure de 45°, longueur minimale de 6 mm, longueur maximale de 250 mm et limitation de l'amplitude de la distribution de l'orientation des fibres à 0,1. Ensuite, la méthode SIFT a été appliquée pour réduire le nombre de faisceau à 10 million et fournir une estimation biologiquement cohérente de la densité de connexion en éliminant les faux positifs [Smith et al., 2013].

# 8.2.4 Ciblage du Vim

Cinq méthodes différentes, détaillées ci-après, ont été mises en place pour cibler la région du Vim.

# Diagramme de Guiot

Pour calculer la cible du diagramme de Guiot, nous avons transformer les IRMs anatomiques T1 dans l'espace CA-CP c'est à dire que le point CA et le point CP se trouve sur une même coupe axiale. Dans cet espace et avec l'IRM anatomique T1, nous avons extrait les coordonnées du point CA qui correspond au bord postérieur de CA et du point CP qui correspond au bord antérieur de CP. En plus de ces deux points, nous avons mesuré la largeur du 3<sup>ième</sup> ventricule sur une coupe coronale dans l'espace CA-CP. La cible du diagramme de Guiot a été calculée de la manière suivante [Guiot et al., 1967] :

-  $x = 11.5 \text{ mm} + 0.5^*(\text{largeur du } 3^{\text{ième}} \text{ ventricule});$ 

—  $y = 1/4^{eme}$  de la distance CA-CP en avant de CP;

<sup>2.</sup> https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/

- z = hauteur du plan CA-CP.

Nous avons ensuite appliqué la transformation inverse à cette cible pour mettre ses coordonnées dans l'espace natif de chaque sujet.

#### Recalage de l'atlas YeB

L'atlas YeB été construit à partir d'un cerveau *post mortem* passé à l'IRM puis traité avec des techniques histologiques. Ceci a permis de disposer d'un ensemble de surfaces correspondant aux ganglions de la base et aux noyaux thalamiques chez un sujet de référence [Yelnik et al., 2007]. Une stratégie de déformation linéaire a ensuite été mise en œuvre et validée pour recaler cet atlas dans l'espace natif de chaque sujet [Bardinet et al., 2009]. Cette stratégie fournit une segmentation du Vim pour chaque sujet. La cible sélectionnée correspond à la partie la plus inférieure du Vim.

#### Extraction du faisceau dento-rubro-thalamique

La tractographie du faisceau dento-rubro-thalamique a été faite en mettant une région graine dans le noyau rouge et une région d'intérêt d'arrêt dans le cortex moteur primaire. La cible sélectionnée correspond, au niveau CA-CP selon l'axe supérieur-inférieur, au centre du faisceau dento-rubro-thalamique.

#### Parcellisation du thalamus

Il est possible d'obtenir une parcellisation complète du thalamus en utilisant les connexions cortico-thalamiques bien connues [Behrens et al., 2004].

Le masque du thalamus provenant de l'atlas YeB a été parcellisé en en se basant sur sa connectivité corticale. Pour chaque voxel du thalamus, une tractographie probabiliste est réalisée vers chacune de ces régions corticales cibles : préfrontale, aire motrice primaire, cortex pré-moteur et l'aire motrice supplémentaire, somatosensorielle, temporale, postérieure pariétal et occipital. Chaque voxel est représenté par un vecteur C de taille 7 (le nombre de régions cibles) où chaque valeur est le nombre de fibres atteignant cette région. En réalisant cette opération pour tous les voxels du thalamus, une carte de probabilité est obtenue pour chaque région cible. A partir des cartes de probabilités, les voxels du thalamus sont classés en prenant le maximum de connectivité. Ainsi, un voxel ayant son maximum de connectivité avec la région temporale est classé « temporal ».

Nous avons ainsi obtenu une parcellisation du thalamus et la cible sélectionnée correspond, au niveau CA-CP selon l'axe supérieur-inférieur, à la partie la plus laté-rale de la région connectée au cortex moteur primaire.

#### Délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents

Cette méthode permet la localisation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents [Sammartino et al., 2016] : le faisceau pyramidal et le lemnisque médian définissent, respectivement, les limites ventrales latérales et postérieures du Vim. Les régions d'intérêts pour extraire le faisceau pyramidal sont le pédoncule cérébral et le cortex moteur primaire ipsilatéral. Pour le lemnisque médian, les régions d'intérêt sont placées au niveau du cortex sensoriel primaire et sur la colonne dorsale au niveau du tronc cérébral.

La cible sélectionnée correspond, au niveau CA-CP selon l'axe supérieurinférieur, au centre d'un cube équidistant de 3 mm des bordures du faisceau pyramidal et du lemnisque médian. La distance de 3 mm a été considérée comme une marge d'erreur suffisante pour éviter des effets secondaires moteurs ou sensoriels liés à la SCP du faisceau pyramidal ou du lemnisque médian.

# 8.2.5 Évaluation quantitative des différences entre ciblages

Nous avons quantifié les différences de ciblage du Vim entre les cinq méthodes proposées en calculant la distance euclidienne entre les coordonnées de deux cibles provenant de méthodes différentes. Les distances supérieures à 1,5 mm ont été considérées plus significatives car, en dessous de cette valeur, divers paramètres tels que la taille du voxel ou la précision de l'appareil de stéréotaxie se combinent d'une manière qui ne peut pas être prédite.

# 8.3 Principaux résultats et discussion

# 8.3.1 Coordonnées des ciblages

Les cinq méthodes de ciblages ont été mises en œuvre sur cinq sujets sains et ont fourni 50 coordonnées de ciblage. Les deux tableaux suivants donnent les coordonnées du ciblage de chaque méthode dans l'espace natif des sujets et pour les deux hémisphères. La Figure 8.2 montre les différents ciblages pour le sujet 100408.

On observe que toute les méthodes ont pu fournir un ciblage à partir de nos données. Aucun ciblage ne semble être incohérent.

Sur l'axe médio-latéral, une tendance se dessine avec des méthodes ciblant une zone plus médiane que d'autres. Les méthodes ciblant de la zone la plus médiane à la plus latérale sont : recalage de l'atlas YeB, extraction du faisceau dento-rubrothalamique, diagramme de Guiot, délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents et parcellisation du thalamus.

Une autre tendance se dessine sur l'axe antérieur-postérieur. Les méthodes ciblant de la zone la plus antérieure à la plus postérieure sont : diagramme de Guiot, extraction du faisceau dento-rubro-thalamique, recalage de l'atlas YeB, délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents et parcellisation du thalamus.

De part la méthodologie employée, les cibles de quatre méthodes ont la même position sur l'axe supérieur-inférieur. Seul le recalage avec l'atlas YeB est différent et donne une cible localisée plus supérieure dans la plupart des cas.

	Coordonnées des ciblages dans l'espace natif (en mm)											
Hémisph gauch	1ère 1e	Diagramme de Guiot	Recalage de l'atlas YeB	Extraction du faisceau dentorubrothalamique	Parcellisation du thalamus	Délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents						
	Х	-13,61	-12,29	-13,57	-15,01	-15,79						
100307	Y	-17,42	-18,88	-17,14	-19,42	-18,36						
	Ζ	-2,71	-3,64	-2,71	-2,71	-2,71						
	Х	-12,91	-13,38	-12,52	-13,87	-10,05						
100408	Y	-20,98	-20,96	-20,72	-21,15	-21,16						
	Ζ	-1,93	-0,6	-1,93	-1,93	-1,93						
	Х	-12,16	-10,67	-10,38	-11,29	-11,09						
101915	Y	-16,1	-16,74	-16,11	-16,23	-17,62						
	Ζ	-4,13	-3,43	-4,13	-4,13	-4,13						
	Х	-12,88	-12,39	-12,91	-14,14	-11						
103414	Y	-16,8	-17,68	-16,47	-18,37	-17,15						
	Ζ	-3,35	-3,32	-3,35	-3,35	-3,35						
	X	-12,2	-11,23	-11,2	-12,19	-11,54						
106016	Y	-18,2	-18,27	-17,94	-18,88	-18,18						
	Z	-2,27	1,82	-2,27	-2,27	-2,27						

			Coordonné	es des ciblages dans l'e	space natif (en	mm)
Hémisp	hère	Diagramme	Recalage de	Extraction du faisceau	Parcellisation	Délimitation du Vim par rapport
droi	t	de Gulot	l'atlas YeB	dentorubrothalamique	du thalamus	aux faisceaux adjacents
	х	13,74	12,27	13,42	14,85	14,2
100307	Y	-16,84	-16,78	-15,46	-17,21	-17,33
	Z	-3,41	-3,9	-3,41	-3,41	-3,41
100408	X	14,43	13,66	14,39	15,19	12,359
	Y	-20,4	-19,36	-18,19	-20,86	-21,48
	Z	0,17	0,81	0,17	0,17	0,17
	X	15,13	11,5	12,63	14,08	13,55
101915	Y	-16,8	-17,39	-16,23	-16,74	-17,32
	Z	-3,39	-3,65	-3,39	-3,39	-3,39
	X	11,59	11,19	10,69	13,45	10,43
103414	Y	-16,1	-16,7	-16,33	-17,12	-15,88
	Z	-4,1	-2,69	-4,1	-4,1	-4,1
	Х	12,32	10,12	12,68	12,19	10,31
106016	Y	-18,2	-18,56	-16,86	-18,67	-17,42
	Z	-1,32	-1,8	-1,32	-1,32	-1,32



FIGURE 8.2 – Exemple de ciblages calculés sur le sujet 100408. A : Diagramme de Guiot. B : Recalage de l'atlas YeB avec le Vim en vert. C : Extraction du faisceau dentorubro-thalamique en vert. D : Parcellisation du thalamus avec en bordeaux les voxels connectés à l'aire motrice primaire, en jaune ceux connectés au cortex préfrontale, en blanc ceux connectés au cortex somatosensorielle, en orange ceux connectés au cortex occipital et en rouge ceux connectés au cortex pré-moteur et l'aire motrice supplémentaire. E : Délimitation du Vim par rapport au faisceau pyramidal en rouge et au lemnisque médian en bleu.

# 8.3.2 Évaluation quantitative des différences entre ciblages

Nous avons quantifié les différences de ciblage entre les cinq méthodes proposées en calculant la distance euclidienne entre les coordonnées de deux cibles provenant de méthodes différentes. Les tableaux des trois pages suivantes donnent les coordonnées de ciblage pour chacune des techniques dans l'espace natif des cinq sujets et pour les deux hémisphères.

La distance euclidienne entre deux cibles varie de 0.28 mm à 4.25 mm. Elle est plus grande que 1.5 mm dans 62 des comparaisons sur les 100 calculées.

La méthode ayant le plus grand nombre de distance supérieure à 1.5 mm est le recalage de l'atlas YeB avec l'extraction du faisceau dento-rubro-thalamique (8 comparaisons sur 10 dont la distance entre cibles est supérieure à 1.5 mm). Au contraire, la méthode du diagramme de Guiot avec l'extraction du faisceau dentorubro-thalamique ainsi que le diagramme de Guiot avec la parcellisation du thalamus offrent un nombre de distance supérieure à 1.5 mm le plus faible (3 comparaisons sur 10 dont la distance entre cibles est supérieure à 1.5 mm).

					Distance euclidien	ne entre les cible	es (en mm)			
Hémisphère gauche	Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB	Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique	Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus	Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau dentorubrothalamique	Recalage de l'atlas YeB et parcellisation du thalamus	Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus	Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	Parcellisation du thalamus et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents
100307	2,18	0,28	2,44	2,37	2,35	2,92	3,66	2,70	2,53	1,32
100408	1,41	0,47	0,97	2,87	1,60	1,43	3,59	1,42	2,51	3,82
101915	1,77	1,78	0,88	1,86	0,99	1,07	1,20	0,92	1,67	1,40
103414	1,01	0,33	2,01	1,91	1,32	1,88	1,49	2,26	2,03	3,37
106016	1,07	1,03	0,68	0,66	0,56	1,22	0,55	1,37	0,42	0,96
Moyenne	1,49	0,78	1,40	1,93	1,36	1,70	2,10	1,73	1,83	2,17
Ecart-type	0,49	0,63	0,78	0,82	0,68	0,75	1,43	0,73	0,87	1,32

Distance euclidienne entre les cibles (en mm)											
émisphère gauche	Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB	Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique	Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus	Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau dentorubrothalamique	Recalage de l'atlas YeB et parcellisation du thalamus	Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus	Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	Parcellisation du thalamus et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	
100307	2,18	0,28	2,44	2,37	2,35	2,92	3,66	2,70	2,53	1,32	
100408	1,41	0,47	0,97	2,87	1,60	1,43	3,59	1,42	2,51	3,82	
101915	1,77	1,78	0,88	1,86	0,99	1,07	1,20	0,92	1,67	1,40	
103414	1,01	0,33	2,01	1,91	1,32	1,88	1,49	2,26	2,03	3,37	
106016	1,07	1,03	0,68	0,66	0,56	1,22	0,55	1,37	0,42	0,96	
	1 4 4 0	0.79	1 / 1 / 1	193	1.36	1.70	2.10	1.73	1.83	2.17	
Moyenne Ecart-type	0,49	0,63	0,78	0,82	0,68 Distance euclidien	0,75	1,43	0,73	0,87	1,32	
Moyenne icart-type	0,49 Diagramme de Guiot et recalaçe de	0,75 0,63 Diagramme de Guiot et extraction du faisceau	0,78 Diagramme de Guiot et parcellication	0,82 Diagramme de Guiot et délimitation du	0,68 Distance euclidien Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau	0,75 ne entre les cible Recalage de l'atlas YeB et	1,43 s (en mm) Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par raport aux	0,73 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du	0,87 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Vim par capport	1,32 Parcellisation du thalamus et délimitation du Vim par ranport aux	
oyenne art-type nisphère droit	0,49 Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB	0,63 0,63 Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique	0,78 Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus	0,82 Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	0,68 Distance euclidien Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau dentorubrothalamique	0,75 ne entre les cible Recalage de l'atlas YeB et parcellisation du thalamus	1,43 s (en mm) Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	0,73 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus	0,87 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	1,32 Parcellisation du thalamus et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	
oyenne art-type nisphère droit 100307	0,49 Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB 1,55	0,63 0,63 Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique	0,78 Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus	0,82 Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,67	0,68 Distance euclidien Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,82	0,75 ne entre les cible Recalage de l'atlas YeB et parcellisation du thalamus 2,66	1,43 s (en mm) Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,07	0,73 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus 2,26	0,87 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,03	1,32 Parcellisation du thalamus et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,66	
oyenne cart-type misphère droit 100307 100408	Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB 1,55 1,44	0,63 Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,42 2,21	Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus	Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,67 2,34	0,68 Distance euclidien Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,82 1,52	0,75 ne entre les cible Recalage de l'atlas YeB et parcellisation du thalamus 2,66 2,24	1,43 s (en mm) Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,07 2,57	0,73 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus 2,26 2,79	0,87 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,03 3,87	1,32 Parcellisation du thalamus et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,66 2,90	
loyenne cart-type misphère droit 100307 100408 101915	Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB 1,55 1,44 3,69	0,63 Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,42 2,21 2,56	Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus 1,17 0,89 1,05	Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,67 2,34 1,66	0,68 Distance euclidien Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,82 1,52 1,64	0,75 ne entre les cible Recalage de l'atlas YeB et parcellisation du thalamus 2,66 2,24 2,67	1,43 s (en mm) Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,07 2,57 2,07	0,73 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus 2,26 2,79 1,54	0,87 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,03 3,87 1,43	1,32 Parcellisation du thalamus et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,66 2,90 0,79	
10yenne cart-type misphère droit 100307 100408 101915 103414	Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB 1,55 1,44 3,69 1,58	0,78 0,63 Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,42 2,21 2,56 0,93	Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus 1,17 0,89 1,05 2,12	Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,67 2,34 1,66 1,18	0,68 Distance euclidien Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,82 1,52 1,64 1,54	0,75 ne entre les cible Recalage de l'atlas YeB et parcellisation du thalamus 2,66 2,24 2,67 2,70	1,43 s (en mm) Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,07 2,57 2,07 1,80	0,73 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus 2,26 2,79 1,54 2,87	0,87 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,03 3,87 1,43 0,52	1,32 Parcellisation du thalamus et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,66 2,90 0,79 3,26	
loyenne cart-type misphère droit 100307 100408 101915 103414 106016	0,49 Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB 1,55 1,44 3,69 1,58 2,28	0,78 0,63 Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,42 2,21 2,56 0,93 1,39	Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus 1,17 0,89 1,05 2,12 0,49	Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,67 2,34 1,66 1,18 2,16	0,68 Distance euclidien Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,82 1,52 1,64 1,54 3,11	0,75 ne entre les cible Recalage de l'attas YeB et parcellisation du thalamus 2,66 2,24 2,67 2,70 2,13	1,43 s (en mm) Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,07 2,57 2,07 1,80 1,25	0,73 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus 2,26 2,79 1,54 2,87 1,88	0,87 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,03 3,87 1,43 0,52 2,44	1,32 Parcellisation du thalamus et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,66 2,90 0,79 3,26 2,26	
Aoyenne cart-type misphère droit 100307 100408 101915 103414 106016 loyenne	0,49 Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB 1,55 1,44 3,69 1,58 2,28 2,11	0,78 0,63 Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,42 2,21 2,56 0,93 1,39 1,70	Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus 1,17 0,89 1,05 2,12 0,49 1,14	Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,67 2,34 1,66 1,18 2,16 1,60	0,68 Distance euclidien Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau dentorubrothalamique 1,82 1,52 1,64 1,54 3,11 1,93	0,75 ne entre les cible Recalage de l'attas YeB et parcellisation du thalamus 2,66 2,24 2,67 2,70 2,13 2,48	1,43 s (en mm) Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,07 2,57 2,07 1,80 1,25 1,95	0,73 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus 2,26 2,79 1,54 2,87 1,88 2,27	0,87 Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 2,03 3,87 1,43 0,52 2,44 2,05	1,32 Parcellisation du thalamus et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents 0,66 2,90 0,79 3,26 2,26 1,97	

	Hémisphère gauche	Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB	Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique	Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus	Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	Recalage de l'atlas YeB et extraction du faisceau dentorubrothalamique	Recalage de l'atlas YeB et parcellisation du thalamus	Recalage de l'atlas YeB et délimitation du Vim par rapport auz faisceauz adjacents	Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus	Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Yim par rapport aux faisceaux adjacents	Parcellisation du thalamus et délimitation du ¥im par rapport aux faisceaux adjacents
	100307	-1,32	-0,04	1,40	2,18	1,28	2,72	3,50	1,44	2,22	0,78
	100408	0,47	-0,39	0,96	-2,86	-0,86	0,49	-3,33	1,35	-2,47	-3,82
	101915	-1,49	-1,78	-0,87	-1,07	-0,29	0,62	0,42	0,91	0,71	-0,20
Difference selon X	103414	-0,49	0,03	1,26	-1,88	0,52	1,75	-1,39	1,23	-1,91	-3,14
SEIOILY	106016	-0,97	-1,00	-0,01	-0,66	-0,24	0,96	0,31	0,99	0,34	-0,65
	Moyenne	-0,76	-0,64	0,55	-0,86	0,08	1,31	-0,10	1,18	-0,22	-1,41
	Ecart-type	0,79	0,76	0,96	1,90	0,83	0,93	2,52	0,23	1,94	1,98
	100307	1,46	-0,28	2,00	0,94	-1,74	0,54	0,54	2,28	1,22	-1,06
	100408	-0,02	-0,26	0,17	0,18	-0,24	0,19	0,19	0,43	0,44	0,01
	101915	0,64	0,01	0,13	1,52	-0,63	-0,51	-0,51	0,12	1,51	1,39
Selon Y	103414	0,88	-0,33	1,57	0,35	-1,21	0,69	0,69	1,90	0,68	-1,22
Selon	106016	0,07	-0,26	0,68	-0,02	-0,33	0,61	0,61	0,94	0,24	-0,70
	Moyenne	0,61	-0,22	0,91	0,59	-0,83	0,30	0,30	1,13	0,82	-0,32
	Ecart-type	0,61	0,13	0,84	0,63	0,63	0,49	0,49	0,93	0,53	1,06
	100307	0,93	0,00	0,00	0,00	-0,93	-0,93	-0,93	0,00	0,00	0,00
	100408	-1,33	0,00	0,00	0,00	1,33	1,33	1,33	0,00	0,00	0,00
	101915	-0,70	0,00	0,00	0,00	0,70	0,70	0,70	0,00	0,00	0,00
Difference	103414	-0,03	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03	0,03	0,00	0,00	0,00
Selon Z	106016	-0,45	0,00	0,00	0,00	0,45	0,45	0,45	0,00	0,00	0,00
	Moyenne	-0,32	0,00	0,00	0.00	0,32	0,32	0,32	0,00	0,00	0,00
	Ecart-type	0,84	0,00	0,00	0.00	0,84	0,84	0,84	0,00	0,00	0,00

	Hémisphère droit	Diagramme de Guiot et recalage de l'atlas YeB	Diagramme de Guiot et extraction du faisceau dentorubrothalamique	Diagramme de Guiot et parcellisation du thalamus	Diagramme de Guiot et délimitation du Vim par rapport aux faisceaux adjacents	Recalage de l'atlas YeB et estraction du faisceau dentorubrothalamique	Recalage de l'atlas YeB et parcellisation du thalamus	Recalage de l'atlas YeB et délimitation du ¥im par rapport aux faisceaux adjacents	Extraction du faisceau dentorubrothalamique et parcellisation du thalamus	Extraction du faisceau dentorubrothalamique et délimitation du Yim par rapport aux faisceaux adjacents	Parcellisation du thalamus et délimitation du ¥im par rapport aux faisceaux adjacents
	100307	1,47	0,32	-1,11	-0,46	-1,15	-2,58	-1,93	-1,43	-0,78	0,65
	100408	0,77	0,04	-0,76	2,07	-0,73	-1,53	1,30	-0,80	2,03	2,83
littéranaa	101915	3,63	2,50	1,05	1,58	-1,13	-2,58	-2,05	-1,45	-0,92	0,53
Selon X	103414	0,40	0,90	-1,86	1,16	0,50	-2,26	0,76	-2,76	0,26	3,02
Selon A	106016	2,20	-0,36	0,13	2,01	-1,17	-2,07	-0,19	0,49	2,37	1,88
	Moyenne	1,69	0,68	-0,51	1,27	-0,74	-2,20	-0,42	-1,19	0,59	1,78
	Ecart-type	1,28	1,12	1,13	1,04	0,71	0,44	1,53	1,18	1,54	1,17
	100307	-0,06	-1,38	0,37	0,49	-1,32	0,43	0,43	1,75	1,87	0,12
	100408	-1,04	-2,21	0,46	1,08	-1,17	1,50	1,50	2,67	3,29	0,62
	101915	0,59	-0,57	-0,06	0,52	-1,16	-0,65	-0,65	0,51	1,09	0,58
Selon Y	103414	0,60	0,23	1,02	-0,22	-0,37	0,42	0,42	0,79	-0,45	-1,24
Jeion I	106016	0,36	-1,34	0,47	-0,78	-1,70	0,11	0,11	1,81	0,56	-1,25
	Moyenne	0,09	-1,05	0,45	0,22	-1,14	0,36	0,36	1,51	1,27	-0,23
	Ecart-type	0,69	0,92	0.38	0,72	0,48	0,77	0,77	0,87	1,41	0,94
	100307	0,49	0,00	0,00	0,00	-0,49	-0,49	-0,49	0,00	0,00	0,00
	100408	-0,64	0,00	0,00	0,00	0,64	0,64	0,64	0,00	0,00	0,00
	101915	0,26	0,00	0,00	0,00	-0,26	-0,26	-0,26	0,00	0,00	0,00
Selon 7	103414	-1,41	0,00	0,00	0,00	1,41	1,41	1,41	0,00	0,00	0,00
2010112	106016	0,48	0,00	0,00	0,00	-0,48	-0,48	-0,48	0,00	0,00	0,00
	Moyenne	-0,16	0,00	0,00	0.00	0,16	0,16	0,16	0,00	0,00	0,00
	Ecart-type	0,84	0,00	0.00	0.00	0.84	0,84	0,84	0,00	0,00	0,00

L

# 8.4 Conclusion

Nous avons calculé sur cinq sujets sains cinq méthodes de ciblage utilisées dans le cadre de la SCP de la région du Vim pour traiter les tremblements essentiels. Les cinq méthodes ont fourni des coordonnées cohérentes. Cependant, nous avons trouvé des différences de distance entre cibles supérieures à 1.5 mm ce qui nous parait significatif et pouvant affecter les résultats de la SCP. Il est donc important d'évaluer ces méthodes pour choisir celle donnant les meilleurs résultats cliniques.

Pour cela, nous souhaitons calculer ces cinq techniques de ciblage chez des patients candidats à une SCP de la région du Vim pour traiter les tremblements essentiels. Nous aurons donc accès à la position de nos différents ciblages mais aussi à la position de l'électrode choisie par le neurochirurgien et qui donne les meilleurs résultats cliniques. Ainsi, nous pourrons dire quelle méthode donne un ciblage le plus proche de l'électrode choisie par le neurochirurgien et est donc à privilégier.



# Conclusion et perspectives

# Chapitre \_\_\_\_\_ 9 Conclusion et perspectives

L'objectif général de cette thèse était de mieux caractériser les structures cérébrales impliquées dans la neuromodulation pour optimiser le ciblage et, ainsi, augmenter les bénéfices thérapeutiques pour les patients et mieux comprendre les résultats de la neuromodulation.

Nous nous sommes intéressé à deux pathologies et à deux cibles de neuromodulation : la MLR qui est une cible en cours d'évaluation pour les patients parkinsoniens souffrant de troubles de la marche et de l'équilibre et le Vim du thalamus qui est la cible de neuromodulation usuelle pour les tremblements essentiels.

# 9.1 Contributions générales et perspectives à court terme

# 9.1.1 Région locomotrice mésencéphalique

## Étude de la connectivité anatomique de la région locomotrice mésencéphalique

Nous avons exploré pour la première fois la connectivité de la MLR chez le singe et chez l'homme pour déterminer si le PPN et le CuN appartiennent à des circuits anatomiques différents (Chapitre 5). Nos résultats mettent en évidence le fait que le PPN et le CuN projettent vers différents territoires anatomo-fonctionnels des ganglions de la base et du thalamus chez le singe et l'humain. Le PPN intègre des informations sensori-motrices, cognitives et émotionnelles alors que le CuN participe à un réseau plus restreint intégrant principalement des informations émotionnelles.

Ainsi, dans le contexte de la neuromodulation chez les patients parkinsoniens ayant des troubles de la marche et de l'équilibre, nous préconisons le PPN comme cible optimale de stimulation puisque ce noyau intègre des informations sensorimotrices.

## Publication liée :

**Sébille S.B.**\*, Belaid H.\*, Philippe A.C., André A., Lau B., François C., Karachi C., Bardinet E.. *Anatomical evidence for functional diversity of the mesencephalic locomotor region of primates*. NeuroImage, 147(February **2017**), 66–78. http://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.12.011

# <u>Communications liées</u> :

**Sébille S.B.**, Valabregue R., Rolland A.S., François C., Bardinet E.. *In vivo exploration of the human brainstem complex pathways at 3 Tesla with track-density imaging : a digital 3D microscope for anatomists*. 24<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Singapour, Singapour. **2016**.

Philippe A.C., **Sébille S.B.**, François C., Karachi C., Valabregue R., Lehéricy S., Bardinet E.. *Computation of diffusion-based pathway connectivity map : a study of subthalamic nucleus connections*. 21<sup>th</sup> Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping (OHBM), Honolulu, USA. **2015**.
## Étude de la répartition topographique des populations neuronales de la région locomotrice mésencéphalique

L'étude précédente nous a amené à étudier la répartition topographique 3D des différentes populations neuronales du PPN et du CuN chez l'homme (Chapitre 6). Nous avons ainsi mis en évidence chez un sujet humain sain, pour la première fois, les neurones cholinergiques, glutamatergiques et GABAergiques et montré que le PPN est constitué de ces trois populations neuronales alors que le CuN ne contient que des neurones GABAergiques. Un maximum de densité des neurones cholinergiques a été identifié. De plus nous avons quantifié et comparé la répartition topographique 3D des neurones cholinergiques restants dans le PPN chez des patients parkinsoniens avec et sans troubles de la marche et de l'équilibre, et chez des patients atteints de PSP en comparaison avec des sujets sains. Nous avons conclu que la perte de neurones cholinergiques est homogène selon l'axe supérieur-inférieur chez les patients. Ainsi, le maximum de densité des neurones cholinergiques chez le sujet sain, patient parkinsonien ou atteint de PSP se situe à + 3 mm du début supérieur du PPN ou à 33.5 mm de l'obex et serait la cible optimale de la SCP au niveau de la MLR. Nous espérons que cette étude permettra d'augmenter les bénéfices thérapeutiques de la SCP du PPN.

## Perspectives à court terme :

Il reste à confirmer la présence de neurones glutamatergiques du PPN chez l'homme (en plus des neurones cholinergiques et GABAergiques que nous avons déjà étudiés) en utilisant la technique d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH, de l'anglais fluorescence *in situ* hybridization) afin de mettre en évidence l'expression des ARN messagers du gène du transporteur du glutamate vGlut2. De plus, avec cette technique FISH, nous espérons mettre en évidence l'expression des ARN messagers des gènes chat, gad1 et vglut2 afin de déterminer la présence ou non de colocalisation d'acetylcholine avec du GABA ou du glutamate au sein d'un même neurone du PPN chez l'homme.

## Publication liée :

**Sébille S.B.**\*, Rolland A.S.\*, Collomb-Clerc A., Pérez-García F., Faillot M., Goetz L., Lau B., François C., Bardinet E., Karachi C.. *Histological caracterization of the mesen-cephalic locomotor region in normal human brain and in patients with extrapyrami-dal diseases*. En cours d'écriture.

#### Construction d'un atlas du tronc cérébral humain

Au regard des incertitudes relatives à l'anatomie du tronc cérébral humain, nous avons très vite compris la nécessité d'utiliser les outils d'imagerie IRM pour augmenter la précision de la SCP du tronc cérébral humain et donc les bénéfices thérapeutiques (Chapitre 7).

Nous avons d'abord mis au point un protocole expérimental d'imagerie d'IRM *post mortem* à 11.7T sur un cerveau de macaque (de taille similaire à un tronc cérébral humain). Ce protocole permet de faire une acquisition d'IRM de diffusion *post mortem* de haute résolution spatiale et angulaire tout en conservant un temps d'acquisition permettant de faire de l'histologie sur le tissu. Nous conseillons, lors d'acquisition d'IRM de diffusion *post mortem* avec des valeurs de b élevées, d'imprégner le cerveau dans du gadolinium durant une semaine pour réduire le temps T1 et atteindre un plateau. Ceci permet d'avoir un meilleur ratio signal sur bruit. De plus, en utilisant la séquence 3D EPI segmentée avec un grand nombre de segments, les déformations sont réduites et les données de haute qualité.

Ce protocole expérimental a ensuite été appliqué à un tronc cérébral humain afin de construire un atlas 3D déformable du tronc cérébral humain sain *post mortem*. L'atlas propose actuellement la localisation de 22 faisceaux de fibres.

#### Perspectives à court terme :

L'extraction des faisceaux par IRM de diffusion est terminée mais il serait intéressant de valider cette extraction en mettant en évidence sur le même tissu la myéline. Il est possible de faire ceci par marquage histologique de la myéline ou en utilisant la tomographie en cohérence optique (technique d'imagerie qui utilise une onde lumineuse pour capturer des images 3D d'un tissu biologique, avec une résolution de l'ordre du micromètre) [Assayag et al., 2013]. Nous explorerons cette dernière possibilité : les premières acquisitions en tomographie en cohérence optique ont été réalisées et les résultats sont encourageants.

Au niveau histologique, il reste à délimiter toutes les structures du tronc cérébral en utilisant l'information des coupes histologiques. Ainsi, nous aurons les cartes de densité de différentes populations neuronales, la délimitation des structures et les faisceaux de fibres provenant de l'IRM de diffusion dans un même atlas.

## Publication liée :

**Sébille S.B.**, Rolland A.S., Bardinet E., Santin M.D.. *Post mortem high resolution diffusion MRI for large specimen at 11.7 Tesla with 3D segmented echo-planar imaging*. En cours d'écriture.

## Communications liées :

**Sébille S.B.**, Rolland A.S., Karachi C., Welter M.L., Bardinet E., Santin M.D.. *Highresolution diffusion imaging of post-mortem monkey brain : comparison of 3D Spin Echo and 3D segmented EPI sequence at 11.7 Tesla.* 25<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Honolulu, USA.

## **2017**.

**Sébille S.B.**, Rolland A.S., Valabregue R., Karachi C., Welter M.L., Lehéricy S., Bardinet E., Santin M.D.. *On the use of Gadolinium-staining for high resolution ex vivo NODDI measurements at 11.7T.* 25<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Honolulu, USA. **2017**.

**Sébille S.B.**, Rolland A.S., Karachi C., Welter M.L., Bardinet E., Santin M.D.. *Exploring ex vivo brainstem complex pathways with diffusion microstructure at 11.7T.* 25<sup>th</sup> Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM), Honolulu, USA. **2017**.

## 9.1.2 Ciblage du noyau ventral intermédiaire du thalamus

Le Vim du thalamus est la cible usuelle de la SCP pour les tremblements essentiels. Différentes méthodes de ciblage, directes ou indirectes, du Vim existent et ont été utilisées avec succès pour améliorer ce symptôme très invalidant. Nous avons appliqué cinq méthodes de ciblage du Vim [Guiot et al., 1967, Behrens et al., 2004, Bardinet et al., 2009, Coenen et al., 2011, Sammartino et al., 2016] sur les mêmes sujets et comparé les différentes localisations de la cible (Chapitre 8).

Nos résultats préliminaires montrent que les cinq méthodes de ciblage induisent des différences de distance entre cibles supérieures à 1.5 mm ce qui nous parait significatif et pouvant affecter les résultats de la SCP. Il est donc important d'évaluer ces méthodes pour choisir celle donnant les meilleurs résultats cliniques.

Perspectives à court terme :

Quinze sujets sains seront à ajouter à l'analyse : les données d'imagerie sont déjà acquises et il reste à calculer la cible avec les cinq différentes méthodes.

De plus, nous souhaitons calculer ces cinq techniques de ciblage chez vingt patients candidats à une SCP de la région du Vim pour traiter les tremblements essentiels. Nous aurons donc accès à la position de nos différents ciblages mais aussi à la position de l'électrode choisie par le neurochirurgien grâce à des enregistrements électrophysiologiques et qui donne les meilleurs résultats cliniques. Ainsi, nous pourrons dire quelle méthode donne un ciblage le plus proche de l'électrode choisie par le neurochirurgien et est donc à privilégier.

## 9.2 Perspectives à long terme

L'ensemble des résultats obtenus dans cette thèse permettent de dessiner les futures perspectives possibles dans la lignée de de ce travail.

Les perspectives à plus long terme concernant la MLR et sa neuromodulation sont nombreuses. Grâce aux deux études anatomiques réalisées sur la MLR (Chapitres 5 et 6) et à la construction de l'atlas du tronc cérébral humain (Chapitre 8), une étude a été mise en place dans l'équipe "Neurochirurgie expérimentale" dont l'objectif est de tester l'efficacité de la SCP bilatéral au niveau du PPN et au niveau du CuN chez douze patients parkinsoniens avant des troubles de la marche et de l'équilibre. Pour chaque patient, une électrode est implantée avec au minimum un contact dans le PPN et un autre dans le CuN. Les paramètres de la stimulation sont réglés durant un mois après l'opération. Ensuite, la cible de la SCP (PPN ou CuN, avec ou sans stimulation) est choisie de façon aléatoire et en double-aveugle. Cette cible est stimulée durant deux mois et le patient est évalué. La même méthodologie est ensuite appliquée pour les deux cibles restantes. L'évaluation du patient à la fin de chaque période de stimulation permettra de conclure sur la meilleure cible pour traiter les troubles de la marche et de l'équilibre chez les patients parkinsoniens. Aujourd'hui, trois patients sur les douze prévus ont été stimulés et nous sommes toujours dans la phase double-aveugle pour ces trois patients.

En outre, une acquisition d'IRM de diffusion à 3T (Siemens Prisma), multi-shells et de haute résolution spatiale et angulaire, a été acquise chez tous ces patients avant la chirurgie. Ces données permettront d'étudier la connectivité de la MLR chez les patients parkinsoniens candidats à une SCP de la MLR en utilisant la méthodologie mise en place chez les sujets sains au Chapitre 5 et de comparer les résultats entre les deux populations pour étudier les différences de connectivité. De plus, il sera possible de corréler les effets cliniques observés chez les patients suite à la SCP avec le volume de tissu activé de la cible englobant certains faisceaux.

Concernant les perspectives à long terme de la neuromodulation du Vim, certains patients atteints de tremblements essentiels ne peuvent pas profiter de la SCP car le risque chirurgical peut sembler trop élevé pour une pathologie ne mettant pas en jeu le pronostic vital. Comme alternative à la SCP, une thalamotomie radiochirurgicale (gamma-knife) peut être proposée avec des résultats récents satisfaisants [Kondziolka et al., 2008].

Actuellement, les lésions avec des HIFU de haute puissance représentent une alternative de qualité à la thalamotomie. Il est possible d'effectuer un ciblage stéréotaxique en bénéficiant des travaux réalisés au Chapitre 8 et, ainsi, d'obtenir une définition optimale de la zone anatomique visée. Dans un deuxième temps, un essai d'inhibition réversible par les ultrasons permettrait de s'assurer du bon effet clinique et de l'absence d'effets secondaires (en particulier l'absence de dystonie pyramidale homolatérale et l'absence de dysrathrie). Dans un troisième temps, dans les cas favorables, une lésion définitive de petite taille (1.5 x 1.5 x 5 mm<sup>3</sup>) sera réalisée afin de conserver l'effet clinique obtenu avec l'inhibition réversible. Cette nouvelle procédure est en cours à la Pitié Salpêtrière et a été financée dans le cadre de l'EQUIPEX ULTRABRAIN.



# Bibliographie

## Bibliographie

- [Acar et al., 2011] Acar, F., Acar, G., Bir, L., Gedik, B., and Oğuzhanoğlu, A. (2011). Deep brain stimulation of the pedunculopontine nucleus in a patient with freezing of gait. *Stereotactic and functional neurosurgery*, 89(4) :214–9.
- [Aggarwal et al., 2013] Aggarwal, M., Zhang, J., Pletnikova, O., Crain, B., Troncoso, J., and Mori, S. (2013). Feasibility of creating a high-resolution 3d diffusion tensor imaging based atlas of the human brainstem : a case study at 11.7 t. *NeuroImage*, 74 :117–27.
- [Ahlskog and Muenter, 2001] Ahlskog, J. and Muenter, M. (2001). Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 16(3):448–58.
- [Alam et al., 2011] Alam, M., Schwabe, K., and Krauss, J. (2011). The pedunculopontine nucleus area : critical evaluation of interspecies differences relevant for its use as a target for deep brain stimulation. *Brain : a journal of neurology*, 134.
- [Albe-Fessard et al., 1963] Albe-Fessard, D., Arfel, G., Guiot, G., Derome, P., Dela, H., Korn, H., Hertzog, E., Vourc'h, G., and Aleonard, P. (1963). Characteristic electric activities of some cerebral structures in man. *Ann Chir*, 17 :1185–214.
- [Albe-Fessard et al., 1961] Albe-Fessard, D., Arfel, G., Guiot, G., Hardy, P., Vourc'h, G., Hertzog, E., and Aleonard, P. (1961). Identification and precide delimitation of certain subcortical structures in man by electrophysiology. its importance in stereotaxic surgery of dyskinesia. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Academie des sciences*, 253 :2412–4.
- [Alderson et al., 2006] Alderson, H., Latimer, M., and Winn, P. (2006). Intravenous self-administration of nicotine is altered by lesions of the posterior, but not anterior, pedunculopontine tegmental nucleus. *The European journal of neuroscience*, 23(8) :2169–75.
- [Alexander, 2005] Alexander, D. (2005). Multiple-fiber reconstruction algorithms for diffusion mri. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1064 :113–33.
- [Alvarez-Linera, 2010] Alvarez-Linera, J. (2010). Magnetic resonance techniques for the brainstem. *Seminars in ultrasound, CT, and MR*, 31:230–45.
- [Amami et al., 2015] Amami, P., Dekker, I., Piacentini, S., Ferré, F., Romito, L., Franzini, A., Foncke, E., and Albanese, A. (2015). Impulse control behaviours in patients with parkinson's disease after subthalamic deep brain stimulation : de novo cases and 3-year follow-up. *Journal of neurology*, *neurosurgery*, and psychiatry, 86(5):562–4.
- [Andersson and Sotiropoulos, 2016] Andersson, J. and Sotiropoulos, S. (2016). An integrated approach to correction for off-resonance effects and subject movement in diffusion mr imaging. *NeuroImage*, 125:1063–78.
- [Anthofer et al., 2014] Anthofer, J., Steib, K., Fellner, C., Lange, M., Brawanski, A., and Schlaier, J. (2014). The variability of atlas-based targets in relation to surrounding major fibre tracts in thalamic deep brain stimulation. *Acta neurochirurgica*, 156(8):1497–504; discussion 1504.
- [Aravamuthan et al., 2007] Aravamuthan, B., Muthusamy, K., Stein, J., Aziz, T., and Johansen-Berg, H. (2007). Topography of cortical and subcortical connections of the human pedunculopontine and subthalamic nuclei. *NeuroImage*, 37(3):694–705.

- [Aravamuthan et al., 2009] Aravamuthan, B. R., McNab, J. a., Miller, K. L., Rushworth, M., Jenkinson, N., Stein, J. F., and Aziz, T. Z. (2009). Cortical and subcortical connections within the pedunculopontine nucleus of the primate Macaca mulatta determined using probabilistic diffusion tractography. *Journal of Clinical Neuroscience*, 16(3):413–420.
- [Armstrong, 1988] Armstrong, D. (1988). The supraspinal control of mammalian locomotion. *The Journal of physiology*, 405 :1–37.
- [Asanuma et al., 1983] Asanuma, C., Thach, W., and Jones, E. (1983). Anatomical evidence for segregated focal groupings of efferent cells and their terminal ramifications in the cerebellothalamic pathway of the monkey. *Brain research*, 286(3):267–97.
- [Assaf et al., 2004] Assaf, Y., Freidlin, R., Rohde, G., and Basser, P. (2004). New modeling and experimental framework to characterize hindered and restricted water diffusion in brain white matter. *Magnetic resonance in medicine*, 52(5):965–78.
- [Assayag et al., 2013] Assayag, O., Grieve, K., Devaux, B., Harms, F., Pallud, J., Chretien, F., Boccara, C., and Varlet, P. (2013). Imaging of non-tumorous and tumorous human brain tissues with full-field optical coherence tomography. *NeuroImage. Clinical*, 2:549–57.
- [Aubry et al., 2003] Aubry, J., Tanter, M., Pernot, M., Thomas, J., and Fink, M. (2003). Experimental demonstration of noninvasive transskull adaptive focusing based on prior computed tomography scans. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 113(1):84–93.
- [Avecillas-Chasin et al., 2016] Avecillas-Chasin, J., Rascón-Ramírez, F., and Barcia, J. (2016). Tractographical model of the cortico-basal ganglia and corticothalamic connections : Improving our understanding of deep brain stimulation. *Clinical anatomy (New York, N.Y.)*, 29(4):481–92.
- [Aviles-Olmos et al., 2011] Aviles-Olmos, I., Foltynie, T., Panicker, J., Cowie, D., Limousin, P., Hariz, M., Fowler, C., and Zrinzo, L. (2011). Urinary incontinence following deep brain stimulation of the pedunculopontine nucleus. *Acta neurochirurgica*, 153(12):2357–60.
- [Baizabal-Carvallo and Jankovic, 2016] Baizabal-Carvallo, J. and Jankovic, J. (2016). Movement disorders induced by deep brain stimulation. *Parkinsonism related disorders*, 25:1–9.
- [Bardinet et al., 2011] Bardinet, E., Belaid, H., Grabli, D., Welter, M. L., Vidal, S. F., Galanaud, D., Derrey, S., Dormont, D., Cornu, P., Yelnik, J., and Karachi, C. (2011). Thalamic stimulation for tremor : Can target determination be improved? *Movement Disorders*, 26(2):307–312.
- [Bardinet et al., 2009] Bardinet, E., Bhattacharjee, M., Dormont, D., Pidoux, B., Malandain, G., Schüpbach, M., Ayache, N., Cornu, P., Agid, Y., and Yelnik, J. (2009). A three-dimensional histological atlas of the human basal ganglia. ii. atlas deformation strategy and evaluation in deep brain stimulation for parkinson disease. *Journal of neurosurgery*, 110(2) :208–19.
- [Basser and Jones, 2002] Basser, P. and Jones, D. (2002). Diffusion-tensor mri : theory, experimental design and data analysis a technical review. *Biophysical journal*, 15(7) :456–67.
- [Basser et al., 1994] Basser, P., Mattiello, J., and LeBihan, D. (1994). Mr diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical journal*, 66(1):259–67.
- [Becker et al., 1988] Becker, R., Chambers, J., and Wilks, A. (1988). *The New S Language*. Wadsworth Brooks/Cole.
- [Behrens et al., 2007] Behrens, T., Berg, H., Jbabdi, S., Rushworth, M., and Woolrich, M. (2007). Probabilistic diffusion tractography with multiple fibre orientations : What can we gain? *NeuroImage*, 34(1):144–55.
- [Behrens et al., 2004] Behrens, T. E. J., Woolrich, M. W., Smith, S. M., Boulby, P. A., Barker, G. J., Sillery, E. L., Sheehan, K., Ciccarelli, O., Thompson, A. J., Brady, J. M., and Matthews, P. M. (2004). Noninvasive Mapping of Connections Between Human Thalamus and Cortex Using Diffusion Imaging. *Neurosurgery*, 54(1):1.
- [Benabid et al., 1996] Benabid, A., Pollak, P., Gao, D., Hoffmann, D., Limousin, P., Gay, E., Payen, I., and Benazzouz, A. (1996). Chronic electrical stimulation of the ventralis intermedius nucleus of the thalamus as a treatment of movement disorders. *Journal of neurosurgery*, 84(2):203–14.
- [Benabid et al., 2002] Benabid, A. L., Koudsie, A., Benazzouz, A., Le Bas, J. F., and Pollak, P. (2002). Imaging of subthalamic nucleus and ventralis intermedius of the thalamus.

- [Benazzouz and Hallett, 2000] Benazzouz, A. and Hallett, M. (2000). Mechanism of action of deep brain stimulation. *Neurology*, 55(12).
- [Bernard et al., 1989] Bernard, J., Peschanski, M., and Besson, J. (1989). Afferents and efferents of the rat cuneiformis nucleus : an anatomical study with reference to pain transmission. *Brain research*, 490(1):181–5.
- [Bernau et al., 1991] Bernau, N., Puzdrowski, R., and Leonard, R. (1991). Identification of the midbrain locomotor region and its relation to descending locomotor pathways in the atlantic stingray, dasyatis sabina. *Brain research*, 557(1).
- [Bloem et al., 2004] Bloem, B., Hausdorff, J., Visser, J., and Giladi, N. (2004). Falls and freezing of gait in parkinson's disease : a review of two interconnected, episodic phenomena. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 19(8):871–84.
- [Braak et al., 2000] Braak, H., Rüb, U., Sandmann-Keil, D., Gai, W., de Vos, R., Jansen Steur, E., Arai, K., and Braak, E. (2000). Parkinson's disease : affection of brain stem nuclei controlling premotor and motor neurons of the somatomotor system. *Acta neuropathologica*, 99(5) :489–95.
- [Brown and Marsden, 1988] Brown, R. and Marsden, C. (1988). Internal versus external cues and the control of attention in parkinson's disease. *Brain : a journal of neurology*, 111.
- [Cabelguen et al., 2003] Cabelguen, J., Bourcier-Lucas, C., and Dubuc, R. (2003). Bimodal locomotion elicited by electrical stimulation of the midbrain in the salamander notophthalmus viridescens. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 23(6) :2434–9.
- [Calabrese, 2016] Calabrese, E. (2016). Diffusion Tractography in Deep Brain Stimulation Surgery : A Review. *Frontiers in neuroanatomy*, 10(May) :45.
- [Calabrese et al., 2015] Calabrese, E., Hickey, P., Hulette, C., Zhang, J., Parente, B., Lad, S., and Johnson, G. (2015). Postmortem diffusion mri of the human brainstem and thalamus for deep brain stimulator electrode localization. *Human brain mapping*, 36(8) :3167–78.
- [Carpentier et al., 2016] Carpentier, A., Canney, M., Vignot, A., Reina, V., Beccaria, K., Horodyckid, C., Karachi, C., .., ., and Robinson, B. A. (2016). Clinical trial of blood-brain barrier disruption by pulsed ultrasound. *Science translational medicine*, 8(343) :343re2.
- [Charara et al., 1996] Charara, A., Smith, Y., and Parent, A. (1996). Glutamatergic inputs from the pedunculopontine nucleus to midbrain dopaminergic neurons in primates : Phaseolus vulgarisleucoagglutinin anterograde labeling combined with postembedding glutamate and gaba immunohistochemistry. *J Comp Neurol*, 364(1):254–66.
- [Chiba et al., 2001] Chiba, T., Kayahara, T., and Nakano, K. (2001). Efferent projections of infralimbic and prelimbic areas of the medial prefrontal cortex in the japanese monkey, macaca fuscata. *Brain research*, 888(1):83–101.
- [Chopra et al., 2012] Chopra, A., Tye, S., Lee, K., Sampson, S., Matsumoto, J., Adams, A., Klassen, B., Stead, M., Fields, J., and Frye, M. (2012). Underlying neurobiology and clinical correlates of mania status after subthalamic nucleus deep brain stimulation in parkinson's disease : a review of the literature. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 24(1):102–10.
- [Clements and Grant, 1990] Clements, J. and Grant, S. (1990). Glutamate-like immunoreactivity in neurons of the laterodorsal tegmental and pedunculopontine nuclei in the rat. *Neuroscience letters*, 120(1):70–3.
- [Coenen et al., 2011] Coenen, V. a., M\u00e4dler, B., Schiffbauer, H., Urbach, H., and Allert, N. (2011). Individual fiber anatomy of the subthalamic region revealed with diffusion tensor imaging : A concept to identify the deep brain stimulation target for tremor suppression. *Neurosurgery*, 68(4) :1069–1076.
- [Cooper et al., 1958] Cooper, I., Bravo, G., Riklan, M., Davidson, N., and Gorek, E. (1958). Chemopallidectomy and chemothalamectomy for parkinsonism. *Geriatrics*, 13(3):127–47.
- [Copelan et al., 2015] Copelan, A., Hartman, J., Chehab, M., and Venkatesan, A. (2015). High-intensity focused ultrasound : Current status for image-guided therapy. *Seminars in interventional radiology*, 32(4) :398–415.
- [Craig, 1995] Craig, A. (1995). Distribution of brainstem projections from spinal lamina i neurons in the cat and the monkey. *The Journal of comparative neurology*, 361(2) :225–48.

- [Datta and Siwek, 1997] Datta, S. and Siwek, D. (1997). Excitation of the brain stem pedunculopontine tegmentum cholinergic cells induces wakefulness and rem sleep. *Journal of neurophysiology*, 77(6) :2975–88.
- [Datta and Siwek, 2002] Datta, S. and Siwek, D. (2002). Single cell activity patterns of pedunculopontine tegmentum neurons across the sleep-wake cycle in the freely moving rats. *Journal of neuroscience research*, 70(4):611–21.
- [Dautan et al., 2014] Dautan, D., Huerta-Ocampo, I., Witten, I., Deisseroth, K., Bolam, J., Gerdjikov, T., and Mena-Segovia, J. (2014). A major external source of cholinergic innervation of the striatum and nucleus accumbens originates in the brainstem. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 34(13):4509–18.
- [Descoteaux et al., 2009] Descoteaux, M., Deriche, R., Knösche, T., and Anwander, A. (2009). Deterministic and probabilistic tractography based on complex fibre orientation distributions. *IEEE transactions on medical imaging*, 28(2):269–86.
- [Destrieux et al., 2010] Destrieux, C., Fischl, B., Dale, A., and Halgren, E. (2010). Automatic parcellation of human cortical gyri and sulci using standard anatomical nomenclature. *NeuroImage*, 53(1):1–15.
- [Dhollander et al., 2016] Dhollander, T., Raffelt, D., and Connelly, A. (2016). Unsupervised 3-tissue response function estimation from single-shell or multi-shell diffusion mr data without a coregistered t1 image. *ISMRM Workshop on Breaking the Barriers of Diffusion MRI*.
- [Dormont et al., 1998] Dormont, J., Condé, H., and Farin, D. (1998). The role of the pedunculopontine tegmental nucleus in relation to conditioned motor performance in the cat. i. context-dependent and reinforcement-related single unit activity. *Experimental brain research*, 121(4):401–10.
- [Doshi et al., 2015] Doshi, P., Desai, J., Karkera, B., and Wadia, P. (2015). Bilateral pedunculopontine nucleus stimulation for progressive supranuclear palsy. *Stereotactic and functional neurosurgery*, 93(1):59–65.
- [Dubois, 1993] Dubois, B. (1993). Parkinsonian syndromes. etiology, diagnosis, treatment. *La Revue du praticien*, 43(18) :2439–44.
- [Edlow et al., 2012] Edlow, B., Takahashi, E., Wu, O., Benner, T., Dai, G., Bu, L., Grant, P., Greer, D., Greenberg, S., Kinney, H., and Folkerth, R. (2012). Neuroanatomic connectivity of the human ascending arousal system critical to consciousness and its disorders. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 71(6) :531–46.
- [Eidelberg et al., 1981] Eidelberg, E., Walden, J., and Nguyen, L. (1981). Locomotor control in macaque monkeys. *Brain : a journal of neurology*, 104.
- [Einstein, 1905] Einstein, A. (1905). Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Fl<sup>--</sup>ussigkeiten suspendierten Teilchen, volume 322. Annalen der physik.
- [Fenelon, 1997] Fenelon, G. (1997). Diagnosis and course (under treatment) of parkinson disease. *La Revue du praticien*, 47(1) :109–13.
- [Ferraye et al., 2010] Ferraye, M., Debû, B., Fraix, V., Goetz, L., Ardouin, C., Yelnik, J., Henry-Lagrange, C., Seigneuret, E., Piallat, B., Krack, P., Le Bas, J., Benabid, A., Chabardès, S., and Pollak, P. (2010). Effects of pedunculopontine nucleus area stimulation on gait disorders in parkinson's disease. *Brain : a journal of neurology*, 133.
- [Ford et al., 2013] Ford, A., Colon-Perez, L., Triplett, W., Gullett, J., Mareci, T., and Fitzgerald, D. (2013). Imaging white matter in human brainstem. *Frontiers in human neuroscience*, 7:400.
- [Ford et al., 1995] Ford, B., Holmes, C., Mainville, L., and Jones, B. (1995). Gabaergic neurons in the rat pontomesencephalic tegmentum : codistribution with cholinergic and other tegmental neurons projecting to the posterior lateral hypothalamus. *The Journal of comparative neurology*, 363(2):177–96.
- [Fry et al., 1958] Fry, F., Ades, H., and Fry, W. (1958). Production of reversible changes in the central nervous system by ultrasound. *Science (New York, N.Y.)*, 127(3289) :83–4.
- [Fry et al., 1954] Fry, W., Mosberg, W., Barnard, J., and Fry, F. (1954). Production of focal destructive lesions in the central nervous system with ultrasound. *Journal of neurosurgery*, 11(5):471–8.

- [Gabriëls et al., 2003] Gabriëls, L., Cosyns, P., Nuttin, B., Demeulemeester, H., and Gybel, J. (2003). Deep brain stimulation for treatment-refractory obsessive compulsive disorder : psychopathological and neuropsychological outcome in three cases. *Acta Psychiatr. Scand*, 107 :275–2828.
- [Galvan and Smith, 2011a] Galvan, A. and Smith, Y. (2011a). The primate thalamostriatal systems : Anatomical organization, functional roles and possible involvement in parkinson's disease. *Basal ganglia*, 1(4) :179–189.
- [Galvan and Smith, 2011b] Galvan, A. and Smith, Y. (2011b). The primate thalamostriatal systems : Anatomical organization, functional roles and possible involvement in parkinson's disease. *Basal ganglia*, 1(4) :179–189.
- [Garcia-Rill, 1991] Garcia-Rill, E. (1991). The pedunculopontine nucleus. *Progress in neurobiology*, 36(5):363–89.
- [Garcia-Rill et al., 2004] Garcia-Rill, E., Homma, Y., and Skinner, R. (2004). Arousal mechanisms related to posture and locomotion : 1. descending modulation. *Progress in brain research*, 143 :283–90.
- [Garcia-Rill et al., 1987] Garcia-Rill, E., Houser, C., Skinner, R., Smith, W., and Woodward, D. (1987). Locomotion-inducing sites in the vicinity of the pedunculopontine nucleus. *Brain research bulletin*, 18(6) :731–8.
- [Giladi et al., 1992] Giladi, N., McMahon, D., Przedborski, S., Flaster, E., Guillory, S., Kostic, V., and Fahn, S. (1992). Motor blocks in parkinson's disease. *Neurology*, 42(2):333–9.
- [Gilardi et al., 2001] Gilardi, N., Treves, T., Simon, E., Shabtai, H., Orlov, Y., Kandinov, B., Paleacu, D., and Korczyn, A. (2001). Freezing of gait in patients with advanced parkinson's disease. *J Neural Transm*, 108(1):53–61.
- [Glasser et al., 2013] Glasser, M., Sotiropoulos, S., Wilson, J., Coalson, T., Fischl, B., Andersson, J., Xu, J., Jbabdi, S., Webster, M., Polimeni, J., Van Essen, D., and Jenkinson, M. (2013). The minimal pre-processing pipelines for the human connectome project. *NeuroImage*, 80 :105–24.
- [Goetz et al., 2016] Goetz, L., Piallat, B., Bhattacharjee, M., Mathieu, H., David, O., and Chabardès, S. (2016). The primate pedunculopontine nucleus region : towards a dual role in locomotion and waking state. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 123(7) :667–78.
- [Gomez-Gallego et al., 2007] Gomez-Gallego, M., Fernandez-Villalba, E., Fernandez-Barreiro, A., and Herrero, M. (2007). Changes in the neuronal activity in the pedunculopontine nucleus in chronic mptp-treated primates : an in situ hybridization study of cytochrome oxidase subunit i, choline acetyl transferase and substance p mrna expression. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 114(3) :319–26.
- [Granata and Kitai, 1991] Granata, A. and Kitai, S. (1991). Inhibitory substantia nigra inputs to the pedunculopontine neurons. *Experimental brain research*, 86(3):459–66.
- [Graybiel et al., 1987] Graybiel, A., Hirsch, E., and Agid, Y. (1987). Differences in tyrosine hydroxylaselike immunoreactivity characterize the mesostriatal innervation of striosomes and extrastriosomal matrix at maturity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(1):303–7.
- [Grunwerg and Krauthamer, 1992] Grunwerg, B. and Krauthamer, G. (1992). Sensory responses of intralaminar thalamic neurons activated by the superior colliculus. *Experimental Brain Research*, 88(3):541–50.
- [Guiot and Derôme, 1969] Guiot, G. and Derôme, P. (1969). *The principles of stereotaxic thalamo-tomy*. Kahn EA, Crosby EC, Schneider RC, Taren J, editors. pages 376-401.
- [Guiot et al., 1967] Guiot, G., Derôme, P., and Trigo, J. (1967). Le tremblement d'attitude. indication la meilleure de la chirurgie stéréotaxique. *Press Med*, 75 :2513–8.
- [Hamani et al., 2006] Hamani, C., Schwalb, J., Rezai, A., Dostrovsky, J., Davis, K., and Lozano, A. (2006). Deep brain stimulation for chronic neuropathic pain : long-term outcome and the incidence of insertional effect. *Pain*, 125(1).
- [Hamel et al., 2003] Hamel, W., Fietzek, U., Morsnowski, A., Schrader, B., Herzog, J., Weinert, D., Pfister, G., Müller, D., Volkmann, J., Deuschl, G., and Mehdorn, H. (2003). Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in parkinson's disease : evaluation of active electrode contacts. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 74(8) :1036–46.

- [Hassler, 1959] Hassler, R. (1959). *Introduction to stereotaxis with an atlas of the human brain*. Stuttgart New York Georg Thieme. pages 230-290.
- [Hassler et al., 1960] Hassler, R., Riechert, T., Mundinger, F., Umbach, W., and Ganglberger, J. (1960). Physiological observations in stereotaxic operations in extrapyramidal motor disturbances. *Brain* : *a journal of neurology*, 83 :337–50.
- [Hazrati and Parent, 1992] Hazrati, L. and Parent, A. (1992). Projection from the deep cerebellar nuclei to the pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey. *Brain research*, 585(1).
- [Hazrati et al., 2012] Hazrati, L., Wong, J., Hamani, C., Lozano, A., Poon, Y., Dostrovsky, J., Hutchison, W., Zadikoff, C., and Moro, E. (2012). Clinicopathological study in progressive supranuclear palsy with pedunculopontine stimulation. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 27(10) :1304–7.
- [Herrero et al., 1996] Herrero, M., Levy, R., Ruberg, M., Javoy-Agid, F., Luquin, M., Agid, Y., Hirsch, E., and Obeso, J. (1996). Glutamic acid decarboxylase mrna expression in medial and lateral pallidal neurons in the mptp-treated monkey and patients with parkinson's disease. *Advances in neurology*, 69 :209–16.
- [Hirabayashi et al., 2002] Hirabayashi, H., Tengvar, M., and Hariz, M. (2002). Stereotactic imaging of the pallidal target. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 17.
- [Hirai and Jones, 1989] Hirai, T. and Jones, E. (1989). A new parcellation of the human thalamus on the basis of histochemical staining. *Brain Res Brain Res Rev*, 14:1–34.
- [Hirsch et al., 1987] Hirsch, E., Graybiel, A., Duyckaerts, C., and Javoy-Agid, F. (1987). Neuronal loss in the pedunculopontine tegmental nucleus in parkinson disease and in progressive supranuclear palsy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(16):5976–80.
- [Hong and Hikosaka, 2014] Hong, S. and Hikosaka, O. (2014). Pedunculopontine tegmental nucleus neurons provide reward, sensorimotor, and alerting signals to midbrain dopamine neurons. *Neuroscience*, 282 :139–55.
- [Hosey et al., 2005] Hosey, T., Williams, G., and Ansorge, R. (2005). Inference of multiple fiber orientations in high angular resolution diffusion imaging. *Magnetic resonance in medicine*, 54(6):1480–9.
- [Hua et al., 2002] Hua, S., Garonzik, I., Lee, J., and Lenz, F. (2002). *Thalamotomy for tremor*. Tarsy D., Vitek J.L., Lozano A.M. pages 99-114.
- [Huber et al., 1990] Huber, S., Freidenberg, D., Paulson, G., Shuttleworth, E., and Christy, J. (1990). The pattern of depressive symptoms varies with progression of parkinson's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 53(4):275–8.
- [Hunsche et al., 2013] Hunsche, S., Sauner, D., Runge, M., Lenartz, D., El Majdoub, F., Treuer, H., Sturm, V., and Maarouf, M. (2013). Tractography-guided stimulation of somatosensory fibers for thalamic pain relief. *Stereotactic and functional neurosurgery*, 91(5):328–34.
- [Hyam et al., 2012] Hyam, J., Owen, S., Kringelbach, M., Jenkinson, N., Stein, J., Green, A., and Aziz, T. (2012). Contrasting connectivity of the ventralis intermedius and ventralis oralis posterior nuclei of the motor thalamus demonstrated by probabilistic tractography. *Neurosurgery*, 70(1):162–9.
- [Jahn et al., 2008a] Jahn, K., Deutschländer, A., Stephan, T., Kalla, R., Hüfner, K., Wagner, J., Strupp, M., and Brandt, T. (2008a). Supraspinal locomotor control in quadrupeds and humans. *Progress in brain research*, 171:353–62.
- [Jahn et al., 2008b] Jahn, K., Deutschländer, A., Stephan, T., Kalla, R., Wiesmann, M., Strupp, M., and Brandt, T. (2008b). Imaging human supraspinal locomotor centers in brainstem and cerebellum. *NeuroImage*, 39(2):786–92.
- [Jellinger, 1988] Jellinger, K. (1988). The pedunculopontine nucleus in parkinson's disease, progressive supranuclear palsy and alzheimer's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 51(4):540–3.
- [Jeurissen et al., 2014] Jeurissen, B., Tournier, J., Dhollander, T., Connelly, A., and Sijbers, J. (2014). Multi-tissue constrained spherical deconvolution for improved analysis of multi-shell diffusion mri data. *NeuroImage*, 103:411–26.

- [Jia et al., 2003] Jia, H., Yamuy, J., Sampogna, S., Morales, F., and Chase, M. (2003). Colocalization of gamma-aminobutyric acid and acetylcholine in neurons in the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei in the cat : a light and electron microscopic study. *Brain research*, 992(2) :205–19.
- [Johansen-Berg et al., 2005] Johansen-Berg, H., Behrens, T. E. J., Sillery, E., Ciccarelli, O., Thompson, A. J., Smith, S. M., and Matthews, P. M. (2005). Functional-anatomical validation and individual variation of diffusion tractography-based segmentation of the human thalamus. *Cerebral Cortex*, 15(1):31–39.
- [Jordan et al., 2008] Jordan, L., Liu, J., Hedlund, P., Akay, T., and Pearson, K. (2008). Descending command systems for the initiation of locomotion in mammals. *Brain research reviews*, 57(1):183–91.
- [Karachi et al., 2010] Karachi, C., Grabli, D., Bernard, F., Tandé, D., Wattiez, N., Belaid, H., Bardinet, E., Prigent, A., Nothacker, H., Hunot, S., Hartmann, A., Lehéricy, S., Hirsch, E., and François, C. (2010). Cholinergic mesencephalic neurons are involved in gait and postural disorders in parkinson disease. *The Journal of clinical investigation*, 120(8) :2745–54.
- [Khan et al., 2012] Khan, S., Gill, S., Mooney, L., White, P., Whone, A., Brooks, D., and Pavese, N. (2012). Combined pedunculopontine-subthalamic stimulation in parkinson disease. *Neurology*, 78(14):1090–5.
- [Kitai et al., 1999] Kitai, S., Shepard, P., Callaway, J., and Scroggs, R. (1999). Afferent modulation of dopamine neuron firing patterns. *Current opinion in neurobiology*, 9(6):690–7.
- [Kobayashi et al., 2002] Kobayashi, Y., Inoue, Y., Yamamoto, M., Isa, T., and Aizawa, H. (2002). Contribution of pedunculopontine tegmental nucleus neurons to performance of visually guided saccade tasks in monkeys. *Journal of neurophysiology*, 88(2):715–31.
- [Kondziolka et al., 2008] Kondziolka, D., Ong, J., Lee, J., Moore, R., Flickinger, J., and Lunsford, L. (2008). Gamma knife thalamotomy for essential tremor. *J Neurosurg*, 108 :117–7.
- [Konigsmark and Murphy, 1970] Konigsmark, B. and Murphy, E. (1970). Neuronal populations in the human brain. *Nature*, 228(5278) :1335–6.
- [Kreher et al., 2005] Kreher, B., Schneider, J., Mader, I., Martin, E., Hennig, J., and Il'yasov, K. (2005). Multitensor approach for analysis and tracking of complex fiber configurations. *Magnetic resonance in medicine*, 54(5):1216–25.
- [Kringelbach et al., 2007] Kringelbach, M. L., Jenkinson, N., Owen, S. L. F., and Aziz, T. Z. (2007). Translational principles of deep brain stimulation. *Nature reviews. Neuroscience*, 8(8):623–635.
- [Lang and Lozano, 1998] Lang, A. and Lozano, A. (1998). Parkinson's disease. first of two parts. *The New England journal of medicine*, 339(15) :1044–53.
- [Lau et al., 2015] Lau, B., Welter, M., Belaid, H., Fernandez Vidal, S., Bardinet, E., Grabli, D., and Karachi, C. (2015). The integrative role of the pedunculopontine nucleus in human gait. *Brain : a journal of neurology*, 138.
- [Lavoie and Parent, 1994a] Lavoie, B. and Parent, A. (1994a). Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey : cholinergic and glutamatergic projections to the substantia nigra. *The Journal of comparative neurology*, 344(2) :232–41.
- [Lavoie and Parent, 1994b] Lavoie, B. and Parent, A. (1994b). Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey : distribution of cholinergic and monoaminergic neurons in the mesopontine tegmentum with evidence for the presence of glutamate in cholinergic neurons. *The Journal of comparative neurology*, 344(2) :190–209.
- [Lavoie and Parent, 1994c] Lavoie, B. and Parent, A. (1994c). Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey : projections to the basal ganglia as revealed by anterograde tract-tracing methods. *The Journal of comparative neurology*, 344(2) :210–31.
- [Le Bihan et al., 2006] Le Bihan, D., Poupon, C., Amadon, A., and Lethimonnier, F. (2006). Artifacts and pitfalls in diffusion mri. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 24(3) :478–88.
- [Le Ray et al., 2011] Le Ray, D., Juvin, L., Ryczko, D., and Dubuc, R. (2011). Chapter 4–supraspinal control of locomotion : the mesencephalic locomotor region. *Progress in brain research*, 188 :51–70.

- [Lenarz et al., 2006] Lenarz, T., Lim, H., Reuter, G., Patrick, J., and Lenarz, M. (2006). The auditory midbrain implant : a new auditory prosthesis for neural deafness-concept and device description. Otology neurotology : official publication of the American Otological Society, American Neurotology Society [and] European Academy of Otology and Neurotology, 27(6) :838–43.
- [Limousin et al., 1995] Limousin, P., Pollak, P., Benazzouz, A., Hoffmann, D., Le Bas, J., Broussolle, E., Perret, J., and Benabid, A. (1995). Effect of parkinsonian signs and symptoms of bilateral subthalamic nucleus stimulation. *Lancet (London, England)*, 345(8942) :91–5.
- [Louis, 2009] Louis, E. (2009). Essential tremors : a family of neurodegenerative disorders? *Archives of neurology*, 66(10) :1202–8.
- [Louis et al., 1995] Louis, E., Marder, K., Cote, L., Pullman, S., Ford, B., Wilder, D., Tang, M., Lantigua, R., Gurland, B., and Mayeux, R. (1995). Differences in the prevalence of essential tremor among elderly african americans, whites, and hispanics in northern manhattan, ny. *Archives of neurology*, 52(12) :1201–5.
- [Lujan et al., 2012] Lujan, J., Chaturvedi, A., Malone, D., Rezai, A., Machado, A., and McIntyre, C. (2012). Axonal pathways linked to therapeutic and nontherapeutic outcomes during psychiatric deep brain stimulation. *Human brain mapping*, 33(4):958–68.
- [Machado et al., 2006] Machado, A., Rezai, A., Kopell, B., Gross, R., Sharan, A., and Benabid, A. (2006). Deep brain stimulation for parkinson's disease : surgical technique and perioperative management. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 21.
- [Marlinsky and Voitenko, 1991] Marlinsky, V. and Voitenko, L. (1991). The effect of procaine injection into the medullary reticular formation on forelimb muscle activity evoked by mesencephalic locomotor region and vestibular stimulation in the decerebrated guinea-pig. *Neuroscience*, 45(3):753–9.
- [Martinez-Gonzalez et al., 2011] Martinez-Gonzalez, C., Bolam, J., and Mena-Segovia, J. (2011). Topographical organization of the pedunculopontine nucleus. *Frontiers in neuroanatomy*, 5:22.
- [Martinez-Gonzalez et al., 2012] Martinez-Gonzalez, C., Wang, H., Micklem, B., Bolam, J., and Mena-Segovia, J. (2012). Subpopulations of cholinergic, gabaergic and glutamatergic neurons in the pedunculopontine nucleus contain calcium-binding proteins and are heterogeneously distributed. *The European journal of neuroscience*, 35(5):723–34.
- [Matsumoto et al., 2001] Matsumoto, N., Minamimoto, T., Graybiel, A., and Kimura, M. (2001). Neurons in the thalamic cm-pf complex supply striatal neurons with information about behaviorally significant sensory events. *Journal of neurophysiology*, 85(2) :960–76.
- [Matsumura et al., 2000] Matsumura, M., Nambu, A., Yamaji, Y., Watanabe, K., Imai, H., Inase, M., Tokuno, H., and Takada, M. (2000). Organization of somatic motor inputs from the frontal lobe to the pedunculopontine tegmental nucleus in the macaque monkey. *Neuroscience*, 98(1):97–110.
- [Mazzone et al., 2005] Mazzone, P., Lozano, A., Stanzione, P., Galati, S., Scarnati, E., Peppe, A., and Stefani, A. (2005). Implantation of human pedunculopontine nucleus : a safe and clinically relevant target in parkinson's disease. *Neuroreport*, 16(17) :1877–81.
- [McDannold et al., 2010] McDannold, N., Clement, G. T., Black, P., Jolesz, F., and Hynynen, K. (2010). Transcranial magnetic resonance imaging– guided focused ultrasound surgery of brain tumors : Initial findings in 3 patients. *Neurosurgery*, 66(2) :323.
- [McNab et al., 2009] McNab, J., Jbabdi, S., Deoni, S., Douaud, G., Behrens, T., and Miller, K. (2009). High resolution diffusion-weighted imaging in fixed human brain using diffusion-weighted steady state free precession. *NeuroImage*, 46(3) :775–85.
- [Mena-Segovia et al., 2009] Mena-Segovia, J., Micklem, B., Nair-Roberts, R., Ungless, M., and Bolam, J. (2009). Gabaergic neuron distribution in the pedunculopontine nucleus defines functional sub-territories. *The Journal of comparative neurology*, 515(4):397–408.
- [Mena-Segovia et al., 2008a] Mena-Segovia, J., Sims, H., Magill, P., and Bolam, J. (2008a). Cholinergic brainstem neurons modulate cortical gamma activity during slow oscillations. *The Journal of physiology*, 586(12) :2947–60.
- [Mena-Segovia et al., 2008b] Mena-Segovia, J., Winn, P., and Bolam, J. (2008b). Cholinergic modulation of midbrain dopaminergic systems. *Brain research reviews*, 58(2):265–71.

- [Meola et al., 2016] Meola, A., Yeh, F., Fellows-Mayle, W., Weed, J., and Fernandez-Miranda, J. (2016). Human connectome-based tractographic atlas of the brainstem connections and surgical approaches. *Neurosurgery*, 79(3):437–55.
- [Mestre et al., 2016] Mestre, T., Sidiropoulos, C., Hamani, C., Poon, Y., Lozano, A., Lang, A., and Moro, E. (2016). Long-term double-blinded unilateral pedunculopontine area stimulation in parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 31(10) :1570–1574.
- [Mesulam et al., 1989] Mesulam, M., Geula, C., Bothwell, M., and Hersh, L. (1989). Human reticular formation : cholinergic neurons of the pedunculopontine and laterodorsal tegmental nuclei and some cytochemical comparisons to forebrain cholinergic neurons. *The Journal of comparative neurology*, 283(4) :611–33.
- [Mesulam et al., 1983] Mesulam, M., Mufson, E., Wainer, B., and Levey, A. (1983). Central cholinergic pathways in the rat : an overview based on an alternative nomenclature (ch1-ch6). *Neuroscience*, 10(4) :1185–201.
- [Mori et al., 1999] Mori, S., Crain, B., Chacko, V., and van Zijl, P. (1999). Three-dimensional tracking of axonal projections in the brain by magnetic resonance imaging. *Annals of neurology*, 45(2):265–9.
- [Morita et al., 2014] Morita, H., Hass, C., Moro, E., Sudhyadhom, A., Kumar, R., and Okun, M. (2014). Pedunculopontine nucleus stimulation : Where are we now and what needs to be done to move the field forward? *Frontiers in neurology*, 5 :243.
- [Moro et al., 2010a] Moro, E., Hamani, C., Poon, Y., Al-Khairallah, T., Dostrovsky, J., Hutchison, W., and Lozano, A. (2010a). Unilateral pedunculopontine stimulation improves falls in parkinson's disease. *Brain : a journal of neurology*, 133.
- [Moro et al., 2010b] Moro, E., Lozano, A. M., Pollak, P., Agid, Y., Rehncrona, S., Volkmann, J., Kulisevsky, J., Obeso, J. A., Albanese, A., Hariz, M. I., Quinn, N. P., Speelman, J. D., Benabid, A. L., Fraix, V., Mendes, A., Welter, M.-L., Houeto, J.-L., Cornu, P., Dormont, D., Torn-qvist, A. L., Ekberg, R., Schnitzler, A., Timmermann, L., Wojtecki, L., Gironell, A., Rodriguez-Oroz, M. C., Guridi, J., Bentivoglio, A. R., Contarino, M. F., Romito, L., Scerrati, M., Janssens, M., and Lang, A. E. (2010b). Longterm results of a multicenter study on subthalamic and pallidal stimulation in parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 25(5):578–86.
- [Moruzzi and Magoun, 1949] Moruzzi, G. and Magoun, H. (1949). Brain stem reticular formation and activation of the eeg. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 1(4):455–73.
- [Muthusamy et al., 2007] Muthusamy, K., Aravamuthan, B., Kringelbach, M., Jenkinson, N., Voets, N., Johansen-Berg, H., Stein, J., and Aziz, T. (2007). Connectivity of the human pedunculopontine nucleus region and diffusion tensor imaging in surgical targeting. *Journal of neurosurgery*, 107(4):814–20.
- [Muzerengi and Clarke, 2015] Muzerengi, S. and Clarke, C. (2015). Initial drug treatment in parkinson's disease. *BMJ (Clinical research ed.)*, 351 :h4669.
- [Naidich et al., 2007] Naidich, T., Duvernoy, H., Delman, B., Sorensen, A., Kollias, S., and Haacked, E. (2007). Duvernoy's Atlas of the Human Brain Stem and Cerebellum. High-Field MRI, Surface Anatomy, Internal Structure, Vascularization and 3 D Sectional Anatomy. Springer.
- [Nakano et al., 1990] Nakano, K., Hasegawa, Y., Tokushige, A., Nakagawa, S., Kayahara, T., and Mizuno, N. (1990). Topographical projections from the thalamus, subthalamic nucleus and pedunculopontine tegmental nucleus to the striatum in the japanese monkey, macaca fuscata. *Brain research*, 537(1).
- [Nasrallah and Wolk, 2014] Nasrallah, I. and Wolk, D. (2014). Multimodality imaging of alzheimer disease and other neurodegenerative dementias. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, 55(12) :2003–11.
- [Nicholls and Paton, 2009] Nicholls, J. and Paton, J. (2009). Brainstem : neural networks vital for life. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 364(1529):2447–51.
- [Noda and Oka, 1986] Noda, T. and Oka, H. (1986). Distribution and morphology of tegmental neurons receiving nigral inhibitory inputs in the cat : an intracellular hrp study. *The Journal of comparative neurology*, 244(2) :254–66.

- [Odekerken et al., 2013] Odekerken, V. J., van Laar, T., Staal, M. J., Mosch, A., Hoffmann, C. F., Nijssen, P. C., Beute, G. N., van Vugt, J. P., Lenders, M. W., Contarino, M. F., Mink, M. S., Bour, L. J., van den Munckhof, P., Schmand, B. A., de Haan, R. J., Schuurman, P. R., and de Bie, R. M. (2013). Subthalamic nucleus versus globus pallidus bilateral deep brain stimulation for advanced parkinson's disease (nstaps study): a randomised controlled trial. *Lancet neurology*, 12(1):37–44.
- [Ohye et al., 1964] Ohye, C., Kubota, K., Hongo, T., Nagao, T., and Narabayashi, H. (1964). Ventrolateral and subventrolateral thalamic stimulation. motor effects. *Archives of neurology*, 11:427–34.
- [Okuma and Yanagisawa, 2008] Okuma, Y. and Yanagisawa, N. (2008). The clinical spectrum of freezing of gait in parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 23.
- [Olszewski and Baxter, 1954] Olszewski, J. and Baxter, D. (1954). Cytoarchitecture of the human brainstem. *The Journal of comparative neurology*, 101(3):825–825.
- [Olszewski and Baxter, 1982] Olszewski, J. and Baxter, D. (1982). *Cytoarchitecture of the human brain stem*. S Karger Pub.
- [Orioli and Strick, 1989] Orioli, P. and Strick, P. (1989). Cerebellar connections with the motor cortex and the arcuate premotor area : an analysis employing retrograde transneuronal transport of wgahrp. *The Journal of comparative neurology*, 288(4):612–26.
- [Ourselin et al., 2000] Ourselin, S., Roche, A., Prima, S., and Ayache, N. (2000). Block Matching : A General Framework to Improve Robustness of Rigid Registration of Medical Images. In DiGioia, A. and Delp, S., editors, *Third International Conference on Medical Robotics, Imaging And Computer Assisted Surgery (MICCAI 2000)*, volume 1935 of *Lectures Notes in Computer Science*, pages 557–566, Pittsburgh, Penn, USA, United States. Springer.
- [Palfi et al., 2014] Palfi, S., Gurruchaga, J., Ralph, G., Lepetit, H., Lavisse, S., Buttery, P., Watts, C., Miskin, J., Kelleher, M., Deeley, S., Iwamuro, H., Lefaucheur, J., Thiriez, C., Fenelon, G., Lucas, C., Brugières, P., Gabriel, I., Abhay, K., Drouot, X., Tani, N., Kas, A., Ghaleh, B., Le Corvoisier, P., Dolphin, P., Breen, D., Mason, S., Guzman, N., Mazarakis, N., Radcliffe, P., Harrop, R., Kingsman, S., Rascol, O., Naylor, S., Barker, R., Hantraye, P., Remy, P., Cesaro, P., and Mitrophanous, K. (2014). Long-term safety and tolerability of prosavin, a lentiviral vector-based gene therapy for parkinson's disease : a dose escalation, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet (London, England)*, 383(9923) :1138–46.
- [Papavassiliou et al., 2008] Papavassiliou, E., Rau, G., Heath, S., Abosch, A., Barbaro, N., Larson, P., Lamborn, K., and Starr, P. (2008). Thalamic deep brain stimulation for essential tremor : relation of lead location to outcome. *Neurosurgery*, 62.
- [Parent et al., 2001] Parent, M., Lévesque, M., and Parent, A. (2001). Two types of projection neurons in the internal pallidum of primates : single-axon tracing and three-dimensional reconstruction. *The Journal of comparative neurology*, 439(2) :162–75.
- [Paxinos and Huang, 1959] Paxinos, G. and Huang, X. (1959). *Atlas of the human brainstem*. Academic Pr.
- [Peppe et al., 2010] Peppe, A., Pierantozzi, M., Chiavalon, C., Marchetti, F., Caltagirone, C., Musicco, M., Stanzione, P., and Stefani, A. (2010). Deep brain stimulation of the pedunculopontine tegmentum and subthalamic nucleus : effects on gait in parkinson's disease. *Gait posture*, 32(4) :512–8.
- [Percheron, 1977] Percheron, G. (1977). The thalamic territory of cerebellar afferents and the lateral region of the thalamus of the macaque in sterotaxic ventricular coordinates. *Journal fur Hirnforschung*, 18(5):376–400.
- [Pereira et al., 2008] Pereira, E., Muthusamy, K., De Pennington, N., Joint, C., and Aziz, T. (2008). Deep brain stimulation of the pedunculopontine nucleus in parkinson's disease. preliminary experience at oxford. *British journal of neurosurgery*, 22.
- [Piallat et al., 2009] Piallat, B., Chabardès, S., Torres, N., Fraix, V., Goetz, L., Seigneuret, E., Bardinet, E., Ferraye, M., Debu, B., Krack, P., Yelnik, J., Pollak, P., and Benabid, A. (2009). Gait is associated with an increase in tonic firing of the sub-cuneiform nucleus neurons. *Neuroscience*, 158(4):1201–5.
- [Plaha and Gill, 2005] Plaha, P. and Gill, S. (2005). Bilateral deep brain stimulation of the pedunculopontine nucleus for parkinson's disease. *Neuroreport*, 16(17):1883–7.
- [Pose et al., 2000] Pose, I., Sampogna, S., Chase, M., and Morales, F. (2000). Cuneiform neurons activated during cholinergically induced active sleep in the cat. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 20(9) :3319–27.

[Poupon, 2014] Poupon, C. (14 avril 2014). Cours donnés au cenir.

- [Pouratian et al., 2011] Pouratian, N., Zheng, Z., Bari, A., Behnke, E., Elias, W., and Desalles, A. (2011). Multi-institutional evaluation of deep brain stimulation targeting using probabilistic connectivitybased thalamic segmentation. *Journal of neurosurgery*, 115(5):995–1004.
- [Rajput et al., 2004] Rajput, A., Robinson, C., and Rajput, A. (2004). Essential tremor course and disability : A clinicopathologic study of 20 cases. *Neurology*, 62(6) :932–6.
- [Rinaldi et al., 1991] Rinaldi, P., Jones, J., Reines, F., and Price, L. (1991). Modification by focused ultrasound pulses of electrically evoked responses from an in vitro hippocampal preparation. *Brain research*, 558(1):36–42.
- [Rincon and Louis, 2005] Rincon, F. and Louis, E. (2005). Benefits and risks of pharmacological and surgical treatments for essential tremor : disease mechanisms and current management. *Expert opinion on drug safety*, 4(5) :899–913.
- [Rinne et al., 2008] Rinne, J., Ma, S., Lee, M., Collan, Y., and Röyttä, M. (2008). Loss of cholinergic neurons in the pedunculopontine nucleus in parkinson's disease is related to disability of the patients. *Parkinsonism related disorders*, 14(7):553–7.
- [Rohrbacher et al., 2000] Rohrbacher, J., Ichinohe, N., and Kitai, S. (2000). Electrophysiological characteristics of substantia nigra neurons in organotypic cultures : spontaneous and evoked activities. *Neuroscience*, 97(4) :703–14.
- [Rolland et al., 2011] Rolland, A., Karachi, C., Muriel, M., Hirsch, E., and François, C. (2011). Internal pallidum and substantia nigra control different parts of the mesopontine reticular formation in primate. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 26(9) :1648–56.
- [Rolland et al., 2009] Rolland, A., Tandé, D., Herrero, M., Luquin, M., Vazquez-Claverie, M., Karachi, C., Hirsch, E., and François, C. (2009). Evidence for a dopaminergic innervation of the pedunculopontine nucleus in monkeys, and its drastic reduction after mptp intoxication. *Journal of neurochemistry*, 110(4) :1321–9.
- [Roseberry et al., 2016] Roseberry, T., Lee, A., Lalive, A., Wilbrecht, L., Bonci, A., and Kreitzer, A. (2016). Cell-type-specific control of brainstem locomotor circuits by basal ganglia. *Cell*, 164(3):526–37.
- [Rosenbloom et al., 2003] Rosenbloom, M., E.V., S., and Pfefferbaum, A. (2003). Using magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging to assess brain damage in alcoholics. *Alcohol research health : the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 27(2) :146–52.
- [Ryczko and Dubuc, 2013] Ryczko, D. and Dubuc, R. (2013). The multifunctional mesencephalic locomotor region. *Current pharmaceutical design*, 19(24) :4448–70.
- [Rye et al., 1987] Rye, D., Saper, C., Lee, H., and Wainer, B. (1987). Pedunculopontine tegmental nucleus of the rat : cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum. *The Journal of comparative neurology*, 259(4):483–528.
- [Sakai et al., 2009] Sakai, S., Davidson, A., and Buford, J. (2009). Reticulospinal neurons in the pontomedullary reticular formation of the monkey (macaca fascicularis). *Neuroscience*, 163(4) :1158–70.
- [Sammartino et al., 2016] Sammartino, F., Krishna, V., King, N., Lozano, A., Schwartz, M., Huang, Y., and Hodaie, M. (2016). Tractography-based ventral intermediate nucleus targeting : Novel methodology and intraoperative validation. *Mov Disord.*, 31(8) :1217–25.
- [Schaltenbrand and Wahren, 1977] Schaltenbrand, G. and Wahren, W. (1977). *Atlas for Stereotaxy of the Human Brain*. Stuttgart New York Georg Thieme.
- [Schaltenbrand and Wahren, 1978] Schaltenbrand, G. and Wahren, W. (1978). *Atlas for stereotaxy of the human brain*. Year Book Medical Publishers, Incorporated.
- [Schell and Strick, 1984] Schell, G. and Strick, P. (1984). The origin of thalamic inputs to the arcuate premotor and supplementary motor areas. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 4(2):539–60.
- [Schrempf et al., 2014] Schrempf, W., Brandt, M., Storch, A., and Reichmann, H. (2014). Sleep disorders in parkinson's disease. *Journal of Parkinson's disease*, 4(2):211–21.
- [Sébille\* et al., 2017] Sébille\*, S. B., Belaid\*, H., Philippe, A.-c., André, A., Lau, B., François, C., Karachi, C., and Bardinet, E. (2017). Anatomical evidence for functional diversity in the mesencephalic locomotor region of primates. *NeuroImage*, 147(February 2017) :66–78.

- [Semba and Fibiger, 1992] Semba, K. and Fibiger, H. (1992). Afferent connections of the laterodorsal and the pedunculopontine tegmental nuclei in the rat : a retro- and antero-grade transport and immunohistochemical study. *The Journal of comparative neurology*, 323(3):387–410.
- [Shik et al., 1966] Shik, M., Severin, F., and Orlovskiĭ, G. (1966). [control of walking and running by means of electric stimulation of the midbrain]. *Biofizika*, 11(4):659–66.
- [Shimamoto et al., 2010] Shimamoto, S., Larson, P., Ostrem, J., Glass, G., Turner, R., and Starr, P. (2010). Physiological identification of the human pedunculopontine nucleus. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 81(1):80–6.
- [Shink et al., 1997] Shink, E., Sidibé, M., and Smith, Y. (1997). Efferent connections of the internal globus pallidus in the squirrel monkey : Ii. topography and synaptic organization of pallidal efferents to the pedunculopontine nucleus. *The Journal of comparative neurology*, 382(2):348–363.
- [Shinoda et al., 1993] Shinoda, Y., Futami, T., and Kakei, S. (1993). Input-output organization of the ventrolateral nucleus of the thalamus. *Stereotactic and functional neurosurgery*, 60(1).
- [Shute and Lewis, 1967] Shute, C. and Lewis, P. (1967). The ascending cholinergic reticular system : neocortical, olfactory and subcortical projections. *Brain : a journal of neurology*, 90(3) :497–520.
- [Sirota et al., 2000] Sirota, M., Di Prisco, G., and Dubuc, R. (2000). Stimulation of the mesencephalic locomotor region elicits controlled swimming in semi-intact lampreys. *The European journal of neuroscience*, 12(11):4081–92.
- [Skinner et al., 2004] Skinner, R., Homma, Y., and Garcia-Rill, E. (2004). Arousal mechanisms related to posture and locomotion : 2. ascending modulation. *Progress in brain research*, 143 :291–8.
- [Skorić et al., 2014] Skorić, M., Adamec, I., Mađarić, V., and Habek, M. (2014). Evaluation of brainstem involvement in multiple sclerosis. *Can J Neurol Sci*, 41(3):349–9.
- [Smith et al., 2013] Smith, R., Tournier, J., Calamante, F., and Connelly, A. (2013). Sift : Sphericaldeconvolution informed filtering of tractograms. *NeuroImage*, 67 :298–312.
- [Smith et al., 2004a] Smith, S., Jenkinson, M., Woolrich, M., Beckmann, C., Behrens, T., Johansen-Berg, H., Bannister, P., De Luca, M., Drobnjak, I., Flitney, D., Niazy, R., Saunders, J., Vickers, J., Zhang, Y., De Stefano, N., Brady, J., and Matthews, P. (2004a). Advances in functional and structural mr image analysis and implementation as fsl. *NeuroImage*, 23.
- [Smith et al., 2004b] Smith, S., Jenkinson, M., Woolrich, M., Beckmann, C., Behrens, T., Johansen-Berg, H., Bannister, P., De Luca, M., Drobnjak, I., Flitney, D., Niazy, R., Saunders, J., Vickers, J., Zhang, Y., De Stefano, N., Brady, J., and Matthews, P. (2004b). Advances in functional and structural mr image analysis and implementation as fsl. *NeuroImage*, 23.
- [Smith et al., 2011] Smith, Y., Surmeier, D., Redgrave, P., and Kimura, M. (2011). Thalamic contributions to basal ganglia-related behavioral switching and reinforcement. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(45):16102–6.
- [Smith et al., 2012] Smith, Y., Wichmann, T., Factor, S., and DeLong, M. (2012). Parkinson's disease therapeutics : new developments and challenges since the introduction of levodopa. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 37(1):213–46.
- [Snijders et al., 2011] Snijders, A., Leunissen, I., Bakker, M., Overeem, S., Helmich, R., Bloem, B., and Toni, I. (2011). Gait-related cerebral alterations in patients with parkinson's disease with freezing of gait. *Brain : a journal of neurology*, 134.
- [Song and Haber, 2000] Song, D. and Haber, S. (2000). Striatal responses to partial dopaminergic lesion : evidence for compensatory sprouting. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 20(13) :5102–14.
- [Sotiropoulos et al., 2013] Sotiropoulos, S., Jbabdi, S., Xu, J., Andersson, J., Moeller, S., Auerbach, E., Glasser, M., Hernandez, M., Sapiro, G., Jenkinson, M., Feinberg, D., Yacoub, E., Lenglet, C., Van Essen, D., Ugurbil, K., and Behrens, T. (2013). Advances in diffusion mri acquisition and processing in the human connectome project. *NeuroImage*, 80:125–43.
- [Spann and Grofova, 1991] Spann, B. and Grofova, I. (1991). Nigropedunculopontine projection in the rat : an anterograde tracing study with phaseolus vulgaris-leucoagglutinin (pha-l). *The Journal of comparative neurology*, 311(3) :375–88.

- [Spiegelmann and Friedman, 1991] Spiegelmann, R. and Friedman, W. (1991). Rapid determination of thalamic ct-stereotactic coordinates : a method. *Acta neurochirurgica*, 110(1).
- [Stefani et al., 2007] Stefani, A., Lozano, A., Peppe, A., Stanzione, P., Galati, S., Tropepi, D., Pierantozzi, M., Brusa, L., Scarnati, E., and Mazzone, P. (2007). Bilateral deep brain stimulation of the pedunculopontine and subthalamic nuclei in severe parkinson's disease. *Brain : a journal of neurology*, 130.
- [Steriade, 1996] Steriade, M. (1996). Arousal : revisiting the reticular activating system. *Science (New York, N.Y.)*, 272(5259) :225–6.
- [Steriade et al., 1990] Steriade, M., Datta, S., Paré, D., Oakson, G., and Curró Dossi, R. (1990). Neuronal activities in brain-stem cholinergic nuclei related to tonic activation processes in thalamocortical systems. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 10(8) :2541–59.
- [Steriade et al., 1988] Steriade, M., Paré, D., Parent, A., and Smith, Y. (1988). Projections of cholinergic and non-cholinergic neurons of the brainstem core to relay and associational thalamic nuclei in the cat and macaque monkey. *Neuroscience*, 25(1):47–67.
- [Sudhyadhom et al., 2013] Sudhyadhom, A., McGregor, K., Okun, M., Foote, K., Trinastic, J., Crosson, B., and Bova, F. (2013). Delineation of motor and somatosensory thalamic subregions utilizing probabilistic diffusion tractography and electrophysiology. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 37(3):600–9.
- [Takakusaki et al., 2003] Takakusaki, K., Habaguchi, T., Ohtinata-Sugimoto, J., Saitoh, K., and Sakamoto, T. (2003). Basal ganglia efferents to the brainstem centers controlling postural muscle tone and locomotion : a new concept for understanding motor disorders in basal ganglia dysfunction. *Neuroscience*, 119(1) :293–308.
- [Tasker, 1998] Tasker, R. (1998). Deep brain stimulation is preferable to thalamotomy for tremor suppression. *Surgical neurology*, 49(2):145–53; discussion 153–4.
- [Thevathasan et al., 2011] Thevathasan, W., Coyne, T., Hyam, J., Kerr, G., Jenkinson, N., Aziz, T., and Silburn, P. (2011). Pedunculopontine nucleus stimulation improves gait freezing in parkinson disease. *Neurosurgery*, 69(6):1248–53; discussion 1254.
- [Torres et al., 2014] Torres, C., Manzanares, R., and Sola, R. (2014). Integrating diffusion tensor imaging-based tractography into deep brain stimulation surgery : a review of the literature. *Stereotactic and functional neurosurgery*, 92(5) :282–90.
- [Tournier et al., 2007] Tournier, J., Calamante, F., and Connelly, A. (2007). Robust determination of the fibre orientation distribution in diffusion mri : non-negativity constrained super-resolved spherical deconvolution. *NeuroImage*, 35(4) :1459–72.
- [Tournier et al., 2013] Tournier, J., Calamante, F., and Connelly, A. (2013). Determination of the appropriate b value and number of gradient directions for high-angular-resolution diffusion-weighted imaging. *NMR in biomedicine*, 26(12):1775–86.
- [Tournier et al., 2004] Tournier, J., Calamante, F., Gadian, D., and Connelly, A. (2004). Direct estimation of the fiber orientation density function from diffusion-weighted mri data using spherical deconvolution. *NeuroImage*, 23(3):1176–85.
- [Tripoliti et al., 2011] Tripoliti, E., Strong, L., Hickey, F., Foltynie, T., Zrinzo, L., Candelario, J., Hariz, M., and Limousin, P. (2011). Treatment of dysarthria following subthalamic nucleus deep brain stimulation for parkinson's disease. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 26(13) :2434–6.
- [Tuch, 2004] Tuch, D. (2004). Q-ball imaging. Magnetic resonance in medicine, 52(6):1358-72.
- [Tuch et al., 2002] Tuch, D., Reese, T., Wiegell, M., Makris, N., Belliveau, J., and Wedeen, V. (2002). High angular resolution diffusion imaging reveals intravoxel white matter fiber heterogeneity. *Magnetic resonance in medicine*, 48(4) :577–82.
- [Tustison et al., 2010] Tustison, N., Avants, B., Cook, P., Zheng, Y., Egan, A., Yushkevich, P., and Gee, J. (2010). N4itk : improved n3 bias correction. *IEEE transactions on medical imaging*, 29(6) :1310–20.
- [Twieg, 1983] Twieg, D. (1983). The k-trajectory formulation of the NMR imaging process with applications in analysis and synthesis of imaging methods, volume 10. Medical Physics.

- [Tyler et al., 2008] Tyler, W., Tufail, Y., Finsterwald, M., Tauchmann, M., Olson, E., and Majestic, C. (2008). Remote excitation of neuronal circuits using low-intensity, low-frequency ultrasound. *PloS one*, 3(10) :e3511.
- [Veraart et al., 2016a] Veraart, J., Fieremans, E., and Novikov, D. (2016a). Diffusion mri noise mapping using random matrix theory. *Magnetic resonance in medicine*, 76(5):1582–1593.
- [Veraart et al., 2016b] Veraart, J., Novikov, D., Christiaens, D., Ades-Aron, B., Sijbers, J., and Fieremans, E. (2016b). Denoising of diffusion mri using random matrix theory. *NeuroImage*, 142:394–406.
- [Vitek, 2002] Vitek, J. (2002). Mechanisms of deep brain stimulation : excitation or inhibition. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 17.
- [Vitek et al., 1994] Vitek, J., Ashe, J., DeLong, M., and Alexander, G. (1994). Physiologic properties and somatotopic organization of the primate motor thalamus. *Journal of neurophysiology*, 71(4):1498–513.
- [Wang and Morales, 2009] Wang, H. and Morales, M. (2009). Pedunculopontine and laterodorsal tegmental nuclei contain distinct populations of cholinergic, glutamatergic and gabaergic neurons in the rat. *The European journal of neuroscience*, 29(2):340–58.
- [Weaver et al., 2012] Weaver, F., Follett, K., Stern, M., Luo, P., Harris, C., Hur, K., Marks, W., Rothlind, J., Sagher, O., Moy, C., Pahwa, R., Burchiel, K., Hogarth, P., Lai, E., Duda, J., Holloway, K., Samii, A., Horn, S., Bronstein, J., Stoner, G., Starr, P., Simpson, R., Baltuch, G., De Salles, A., H. G. R. D., and Group, S. S. (2012). Randomized trial of deep brain stimulation for parkinson disease : thirty-sixmonth outcomes. *Neurology*, 79(1):55–65.
- [Wedeen et al., 2005] Wedeen, V., Hagmann, P., Tseng, W., Reese, T., and Weisskoff, R. (2005). Mapping complex tissue architecture with diffusion spectrum magnetic resonance imaging. *Magnetic resonance in medicine*, 54(6):1377–86.
- [Welter et al., 2015] Welter, M., Demain, A., Ewenczyk, C., Czernecki, V., Lau, B., El Helou, A., Belaid, H., Yelnik, J., François, C., Bardinet, E., Karachi, C., and Grabli, D. (2015). Ppna-dbs for gait and balance disorders in parkinson's disease : a double-blind, randomised study. *Journal of neurology*, 262(6):1515–25.
- [Wiberg et al., 1987] Wiberg, M., Westman, J., and Blomqvist, A. (1987). Somatosensory projection to the mesencephalon : an anatomical study in the monkey. *The Journal of comparative neurology*, 264(1):92–117.
- [Winn, 2008] Winn, P. (2008). Experimental studies of pedunculopontine functions : are they motor, sensory or integrative? *Parkinsonism related disorders*, 14.
- [Yelnik et al., 2007] Yelnik, J., Bardinet, E., Dormont, D., Malandain, G., Ourselin, S., Tandé, D., Karachi, C., Ayache, N., Cornu, P., and Agid, Y. (2007). A three-dimensional, histological and deformable atlas of the human basal ganglia. i. atlas construction based on immunohistochemical and mri data. *NeuroImage*, 34(2):618–38.
- [Yezierski, 1988] Yezierski, R. (1988). Spinomesencephalic tract : projections from the lumbosacral spinal cord of the rat, cat, and monkey. *The Journal of comparative neurology*, 267(1):131–46.
- [Zesiewicz et al., 2005] Zesiewicz, T., Elble, R., Louis, E., Hauser, R., Sullivan, K., Dewey, R., Ondo, W., Gronseth, G., and Weiner, W. (2005). Practice parameter : therapies for essential tremor : report of the quality standards subcommittee of the american academy of neurology. *Neurology*, 64(12) :2008–20.
- [Zhang et al., 2012] Zhang, H., Schneider, T., Wheeler-Kingshott, C., and Alexander, D. (2012). Noddi : practical in vivo neurite orientation dispersion and density imaging of the human brain. *NeuroI-mage*, 61(4) :1000–16.
- [Zrinzo and Zrinzo, 2008] Zrinzo, L. and Zrinzo, L. (2008). Surgical anatomy of the pedunculopontine and peripeduncular nuclei. *British journal of neurosurgery*, 22.
- [Zrinzo et al., 2011] Zrinzo, L., Zrinzo, L., Massey, L., Thornton, J., Parkes, H., White, M., Yousry, T., Strand, C., Revesz, T., Limousin, P., Hariz, M., and Holton, J. (2011). Targeting of the pedunculopontine nucleus by an mri-guided approach : a cadaver study. *Journal of neural transmission* (*Vienna, Austria*: 1996), 118(10):1487–95.
- [Zweig et al., 1989] Zweig, R., Jankel, W., Hedreen, J., Mayeux, R., and Price, D. (1989). The pedunculopontine nucleus in parkinson's disease. *Annals of neurology*, 26(1):41–6.



Annexes

## Ultrasons focalisés de haute intensité

## Sommaire

Annexe

A

A.1	Production des ondes ultrasonores	
A.2	Focalisation des ondes ultrasonores	

Développées depuis maintenant plus d'un demi siècle, les applications thérapeutiques des ultrasons focalisés de haute intensité ne cessent de se multiplier et concernent les pathologies cancéreuses, mais aussi des tumeurs bénignes par destruction cellulaire [McDannold et al., 2010, Carpentier et al., 2016]. Dans cette annexe, nous allons expliquer le principe physique des ultrasons focalisés de haute intensité. L'ultrason est une onde mécanique et élastique, qui se propage au travers de supports fluides, solides, gazeux ou liquides. La gamme de fréquences des ultrasons se situe entre 20 000 et 10 000 000 Hertz, trop élevées pour être perçues par l'oreille humaine. L'application médicale des ultrasons la plus couramment utilisée et la plus connue est l'échographie, principalement en raison de son coût raisonnable, de ses bonnes résolutions temporelles et spatiales mais aussi l'absence d'effet irradiant. Cependant, les ultrasons ne se limitent pas à l'échographie.

## A.1 Production des ondes ultrasonores

Pour générer des ondes ultrasonores, un transducteur piézoélectrique qui convertit l'énergie électrique en son peut être utilisé [Copelan et al., 2015]. Comme l'illustre la figure A.1, l'élément piézoélectrique oscille en expansion et en contraction à plusieurs reprises sous l'effet de la tension sinusoïdale qui lui est appliquée, générant une onde sonore.



FIGURE A.1 - Génération d'une onde sonore par un élément piézoélectrique

Un matériau est généralement ajouté à l'arrière et joue le rôle de réflecteur, ce qui permet à la fois de réfléchir l'onde arrière et de renforcer l'onde émise par la face avant (Figure A.2). Les ondes ultrasonores générées sont ainsi transmises à partir de l'élément piézoélectrique par sa face avant [Copelan et al., 2015].



FIGURE A.2 – Utilisation d'un matériau placé derrière l'élément piézoélectrique

## A.2 Focalisation des ondes ultrasonores

Afin d'obtenir une image de bonne qualité, il faut balayer le milieu à explorer par un faisceau ultrasonore très fin pour obtenir une bonne résolution. Une nouvelle approche est proposée dans les années 40 à 50 avec l'apparition des sondes de thérapie de forme concave (Figure A.3). Ainsi le faisceau ultrasonore émis se concentre en une zone appelée zone focale de forme ellipsoïdale dont les dimensions dépendent de la fréquence d'émission des ultrasons et de la géométrie du transducteur. Avec la focalisation, il est possible d'atteindre des densités d'énergie de l'ordre de 1000W.cm<sup>-2</sup> et porter ainsi la température à 80°C [McDannold et al., 2010]. De plus, l'utilisation de la focalisation permet d'éviter d'endommager les tissus situé ente la surface émettrice et le point de recoupement des faisceaux ultrasonores. La focalisation des ultrasons porte l'appellation de HIFU pour high intensity focused ultrasound (ultrasons focalisés de haute intensité) [Copelan et al., 2015].



FIGURE A.3 – Focalisation par un élément piézoélectrique

## ✓ Annexe

B

## L'Imagerie par Résonance Magnétique

#### Sommaire

B.1	Résona	nce Magnétique Nucléaire
	B.1.1	Origine physique du signal
	B.1.2	Encodage du signal
	B.1.3	Reconstruction de l'image
B.2	IRM an	atomique
B.3	IRM de	diffusion
	B.3.1	Imagerie pondérée en diffusion
	B.3.2	Le tenseur de diffusion (DTI)
	B.3.3	Déconvolution sphérique contrainte (CSD)
	B.3.4	Tractographie

L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) est une technique d'imagerie non invasive permettant d'accéder à la structure, la fonction et le réseau de connectivité cérébral sous-jacent, à partir de différentes modalités : IRM anatomique, fonctionnelle ou de diffusion.

Nous aborderons tout d'abord le phénomène de Résonance Magnétique Nucléaire sur lequel repose le principe de l'IRM. Ensuite, les bases des différents contrastes d'IRM anatomique seront détaillées. Enfin, le principe de l'IRM de diffusion sera décrit.

## **B.1** Résonance Magnétique Nucléaire

L'IRM est basée sur le phénomène de résonance magnétique nucléaire (RMN). Ce phénomène a été décrit par Bloch et Purcell en 1946, mais l'idée d'utiliser ce phénomène pour obtenir des images n'est apparue qu'en 1973 avec les travaux de Lauterbur et Mansfield.

Dans le phénomène de résonance magnétique nucléaire, un noyau atomique absorbe le rayonnement électromagnétique à une fréquence spécifique, caractéristique du noyau considéré, en présence d'un fort champ magnétique. Seuls les noyaux ayant un nombre impair de protons ou de neutrons ou des deux sont concernés par ce phénomène. La particularité de ces noyaux est qu'ils ont un moment magnétique nucléaire non nul. Dans ce chapitre et dans cette thèse, nous nous intéresserons à la **résonance magnétique du noyau d'atome d'hydrogène**, grandement présent dans le corps humain et possédant des propriétés spéciales qui permettent son utilisation pour l'IRM.

## **B.1.1** Origine physique du signal

Les spins nucléaires représentant chaque atome d'hydrogène interagissent entre eux en présence d'un champ magnétique. Cette caractéristique est à la base des résultats obtenus en RMN. Plus précisément, une expérience de RMN se compose de trois phases (Figure B.1) :

1. On place les spins dans un champ magnétique statique intense  $B_0$  : tous les spins ont alors un mouvement de précession autour de  $B_0$  avec une fréquence  $v_0$  appelée fréquence de Larmor :

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} \left\| B_0 \right\| \tag{B.1}$$

où  $\gamma$  est le rapport gyromagnétique spécifique de l'atome d'hydrogène. Le système de spins génère alors un champ magnétique total parallèle à  $B_0$ , en position dite longitudinale.

- 2. Ensuite, on applique au système un deuxième champ  $B_1$  non colinéaire à  $B_0$ , oscillant à la fréquence de Larmor, ce qui a pour effet de basculer les spins dans le plan dit transversal. On a alors un basculement des spins d'un angle  $\alpha = 90^\circ$  et donc une absorption résonante des champs magnétiques de radio-fréquence (RF) des spins nucléaires. Ce phénomène est la RMN.
- 3. Lors de l'arrêt de l'excitation par RF, la dynamique de retour des spins à l'état d'équilibre crée un courant électrique qui peut être mesuré. La relaxation est le retour à l'état initial des spins.

a) équilibre initial du système de spin soumis à B<sub>0</sub>



FIGURE B.1 - Principe de la RMN. http://culturesciences.chimie.ens.fr

Le temps de retour à l'équilibre des spins dépend des propriétés locales des tissus. On appelle  $T_1$  le temps de relaxation longitudinale et  $T_2$  le temps de relaxation transversale.  $T_1$  correspond au temps nécessaire pour que l'aimantation longitudinale retourne à 63% de sa valeur finale et  $T_2$  correspond au temps nécessaire pour que l'aimantation transversale revienne à 37% de sa valeur initiale comme le montre la figure B.2. Ces deux constantes dépendent des tissus et de l'intensité du champ magnétique  $B_0$ . L'ordre de grandeur pour le temps de relaxation  $T_1$  des tissus biologiques est de 500ms à 1000ms pour un champ magnétique de 1,5T. L'ordre de grandeur pour le temps de relaxation  $T_2$  des tissus biologiques varie entre 50ms et 100ms pour un champ magnétique de 1,5T, soit un ordre de grandeur inférieur au temps  $T_1$ .



FIGURE B.2 – Croissance de l'aimantation longitudinale selon  $T_1$  et décroissance de l'aimantation transversale selon  $T_2$ . Figure provenant de la thèse de Linda Marrakchi-Kacem soutenus en 2011.

#### **B.1.2** Encodage du signal

Pour pouvoir obtenir des images de RMN, il faut localiser le signal dans l'espace. En pratique, cette localisation est assurée grâce à 3 types de gradients de champ magnétique : un gradient de sélection de coupe, un gradient d'encodage en phase et un gradient d'encodage de fréquence.

- Le gradient de sélection de coupe sert à sélectionner la coupe que l'on souhaite imager. Cette sélection utilise le fait que les seuls spins dont le moment magnétique macroscopique est basculé dans le plan xoy sont ceux qui précessent à la même pulsation ω<sub>1</sub> que l'onde RF. Si on ajoute un gradient de champ magnétique linéaire G<sub>z</sub> au champ magnétique B<sub>0</sub>, les protons tourneront à une vitesse angulaire dépendante de leur position en z : ω(z) = ω<sub>0</sub> + γB(z). Pour sélectionner à chaque fois une coupe différente, il suffit de changer la fréquence de l'onde RF.
- Le gradient d'encodage de phase sert à créer un déphasage des spins. L'application d'un gradient  $G_{\phi}$  selon l'axe oy modifie la fréquence de rotation des spins. Cette dernière s'exprime alors sous la forme :  $\omega(y, z) = \omega(z) + \gamma G_{\phi}(y y_0)$ . Lorsque l'application de  $G_{\phi}$  est interrompue, les spins précessent de nouveau à la vitesse  $\omega(z)$  mais avec une phase qui dépend de position en l'axe y.
- Le gradient d'encodage en fréquence sert à créer une différence de vitesse de rotation des spins. L'application d'un gradient de champ magnétique  $G_{\omega}$  selon l'axe des x modifie la vitesse de rotation des spins. Cette vitesse s'exprime alors sous la forme  $\omega(x, y, z) = \gamma \omega(y, z) + G_{\omega}(x x_0)$ . Si on veut maintenir cette différence de vitesse de rotation, il faut appliquer ce gradient pendant l'acquisition du signal car à l'arrêt de ce gradient les spins reprennent la même vitesse angulaire  $\omega(y, z)$ .

La figure B.3 représente le diagramme de la séquence dite d'écho de spin. Ce diagramme montre l'enchaînement des ondes RF ainsi que les différents gradients d'encodage du signal. Le temps de répétition TR désigne le temps entre deux impulsions RF de 90° et le temps d'écho TE désigne le temps entre l'impulsion de 90° et la mesure du signal.



FIGURE B.3 - Séquence de l'écho de spin. http://www.imaios.com/fr/e-Cours/ e-MRI/

## **B.1.3** Reconstruction de l'image

Le signal recherché en IRM correspond à l'amplitude de l'aimantation transversale  $M_T$  en chaque point (x, y, z) de l'espace. Or si l'on mesurait directement le signal sans l'encoder, on obtiendrait un mélange de toutes les aimantations transversales correspondant à chaque point de l'espace. L'encodage du signal présenté précédemment a permis de donner une phase et une fréquence différente à chaque point du plan xoy. Cet encodage résulte en une **relation de Fourier directe entre l'aimantation mesurée et le signal recherché** :

$$S_{z}(k_{x}(t), k_{y}(t)) = \int_{x} \int_{y} M_{T}(t) exp(-j(k_{x}(t)x + k_{y}(t)y)) dxdy$$
(B.2)

où  $k_x(t) = \gamma \int_0^t G_\omega(u) du$  et  $k_y(t) = \gamma \int_0^t G_\phi(u) du$  définissent l'espace k ou plan de Fourier dans lequel l'image sera acquise [Twieg, 1983].



FIGURE B.4 – Illustration de la représentation des images magnétiques

## **B.2** IRM anatomique

L'IRM anatomique permet d'avoir une vue statique du volume cérébral ou de certaines coupes du cerveau. Elle constitue la base de toutes les études morphologiques. **Plusieurs contrastes statiques peuvent être obtenus grâce à l'IRM** : pondération en  $T_1$ , pondération en  $T_2$ , pondération en  $T_2*$  et pondération en densité de protons. Chacun de ces contrastes fournit des informations différentes des autres et permet de mettre en valeur certaines structures que d'autres contrastes ne permettent pas de mettre en valeur comme le montre la figure B.5.



FIGURE B.5 – Contrastes anatomiques  $T_1$ ,  $T_2 *$  et  $T_2$  en IRM

Il est alors possible en faisant **varier les temps TR et TE d'obtenir des contrastes physiques très différents**. Par exemple, avec un TE négligeable devant la valeur de  $T_2$ , l'image résultante dépend essentiellement de la valeur de  $T_1$  (on dit qu'elle est pondérée en  $T_1$ ). Inversement, si le TR est beaucoup plus long que  $T_1$ , le contraste de l'image sera dominé par la valeur de  $T_2$ , on aura donc une image dite pondérée en  $T_2$ . Pour avoir une image pondérée en  $T_2*$ , il faut appliquer un temps de répétition TR beaucoup plus long que le  $T_1$  et un temps d'écho TE long. La séquence d'écho de gradient permet d'obtenir ce type de contraste.

## **B.3 IRM de diffusion**

L'IRM de diffusion permet d'obtenir des informations caractérisant le mouvement spontané des molécules d'eau dans un milieu, et de remonter à la structure sous-jacente de ce dernier. En particulier, **cette technique permet de visualiser indirectement la structure microscopique de la matière blanche du système nerveux**.

L'IRM de diffusion explore les **micro-mouvements des molécules d'eau**. Ces mouvements sont aléatoires et le comportement d'une seule molécule n'est pas prévisible. Albert Einstein prouve pourtant que l'observation d'un grand ensemble de molécules permet d'augurer le phénomène [Einstein, 1905]. Cette modélisation à l'échelle macroscopique du mouvement brownien est le phénomène de diffusion.

La diffusion de ces molécules peut être libre (comme dans le liquide céphalorachidien) ou restreinte (par les membranes cellulaires, les macromolécules, les fibres...). Elle peut s'effectuer dans toutes les directions de l'espace (diffusion isotrope) ou de façon préférentielle dans une direction donnée (diffusion anisotrope) comme dans les fibres nerveuses. La figure B.6 illustre ces mouvements.



FIGURE B.6 – Illustration du mouvement isotrope et anisotrope des molécules d'eau [Rosenbloom et al., 2003]

#### **B.3.1** Imagerie pondérée en diffusion

Le signal de résonance magnétique peut être rendu sensible à la diffusion par l'utilisation de séquences IRM spécifiques, qui supposent l'application successive de deux gradients de champ magnétique courts et intenses. Ces gradients ont pour rôle d'imprimer aux protons un déphasage de précession qui dépend de leur position.

En effet, le premier gradient donne à la précession des protons une avance de phase proportionnelle à leur position sur l'axe du gradient. Le second gradient, exactement opposé au premier, imprime aux protons un retard de phase de même angle. Au total, un proton qui est resté immobile subit donc un déphasage nul. Les protons qui se sont déplacés entre l'application des deux gradients subissent un déphasage non nul proportionnel à leur déplacement le long de l'axe des gradients. Ainsi le signal mesuré est identique à celui que l'on aurait obtenu sans les gradients de diffusion, à l'exception des **déphasages supplémentaires introduits par le phénomène de diffusion des molécules**. On obtient alors une image volumique représentant l'intensité du signal dans une direction de gradient de diffusion (figure B.7).



FIGURE B.7 – Données pondérées en diffusion. (a) Image acquise sans pondération de diffusion. (b-g) Images de diffusion selon différentes directions de l'espace représentées par des points sur la sphère

Afin d'étudier l'anisotropie de la diffusion en chaque voxel, il faut multiplier le nombre de directions de diffusion à acquérir pour avoir une information sur le mouvement des molécules d'eau dans plusieurs directions.

## **B.3.2** Le tenseur de diffusion (DTI)

La microarchitecture particulière des fibres nerveuses est à l'origine d'une anisotropie de diffusion dans la substance blanche cérébrale : la diffusion des molécules d'eau est privilégiée dans le sens des fibres, et restreinte perpendiculairement aux fibres.

Basser et collaborateurs [Basser et al., 1994, Basser and Jones, 2002] ont proposé une modélisation de la diffusion dans un milieu anisotrope par une matrice *D* appelée tenseur de diffusion d'ordre 2. Il s'agit d'une matrice 3 x 3 symétrique définie positive, qui **caractérise la diffusion en tout point et dans toute direction**. Elle est obtenue en calculant la covariance du vecteur déplacement *R* par généralisation de la loi d'Einstein [Einstein, 1905] :

$$D = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{xy} & D_{yy} & D_{yx} \\ D_{xz} & D_{yz} & D_{zz} \end{pmatrix} = \frac{1}{6\tau} \langle RR^{\top} \rangle$$
(B.3)

Les éléments diagonaux de la matrice correspondent aux diffusivités selon 3 axes orthogonaux et les autres éléments à la corrélation entre les déplacements le long de ces axes orthogonaux. Cette matrice contient 6 coefficients inconnus à estimer. Cette matrice est diagonalisable dans une base de vecteurs propres  $e_1$ ,  $e_2$  et  $e_3$  de valeurs propres associées  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  et  $\lambda_3$  positives et telles que  $\lambda_1 > \lambda_2 > \lambda_3$ . Le tenseur de diffusion peut être représenté sous forme d'un ellipsoïde dont la taille, la forme et l'orientation décrivent d'importantes caractéristiques de la diffusion. La direction principale de l'ellipsoïde est donnée par la direction du vecteur propre associé à la valeur propre la plus élevée comme le montre la figure B.8.

and the second

FIGURE B.8 - Représentation du tenseur de diffusion à l'aide d'ellipsoïdes

Un post-traitement de ces informations, plus ou moins complexes, permet d'obtenir différentes mesures scalaires comme le montre la figure B.9 :

- Coefficient de diffusion apparent;
- Anisotropie fractionnelle (nulle lorsque la diffusion est isotrope, de valeur croissante lorsque la diffusion devient anisotrope);
- Direction de diffusion principale.

Le modèle du tenseur de diffusion reste encore le modèle le plus utilisé en imagerie de diffusion et a permis de grandes avancées dans la compréhension du fonctionnement du cerveau et des neuropathologies. Malgré toutes les avancées rendues possibles grâce à ce modèle, il présente le grand inconvénient de reposer sur une hypothèse très forte d'une diffusion libre, ce qui n'est pas le cas dans le tissu cérébral. **Ce modèle suppose aussi qu'un même voxel ne contient qu'une seule population de fibres de même orientation ce qui n'est pas le cas**. Dans un voxel contenant un croisement de fibres comme celui présenté dans la figure B.10, le tenseur est plat et il ne permet pas de retrouver les différentes orientations des fibres présentes dans ce voxel.

Ainsi, d'autres modèles sont apparus permettant de distinguer les croisements de fibres. Certaines des techniques proposées reposent sur un modèle analytique du processus de diffusion alors que d'autres tentent de s'affranchir de tout modèle





FIGURE B.10 – Limites du modèle du tenseur de diffusion [Poupon, 2014]

mathématique. Dans la section suivante nous présenterons le modèle utilisé dans le cadre de cette thèse.

## **B.3.3** Déconvolution sphérique contrainte (CSD)

De nombreuses approches ont été développées pour estimer plusieurs directions des fibres par voxel : méthodes multi-tenseurs [Tuch et al., 2002, Hosey et al., 2005, Kreher et al., 2005, Behrens et al., 2007], Q-ball imaging [Tuch, 2004], Diffusion Spectrum Imaging (DSI) [Wedeen et al., 2005], modèles CHARMED [Assaf et al., 2004], déconvolution sphérique contrainte (CSD) [Tournier et al., 2007], etc.... Pour un fonctionnement optimal, toutes ces méthodes requièrent la mesure de la diffusion. Un minimum de 60 directions est recommandé pour les méthodes DSI et Q-ball imaging [Alexander, 2005], tandis que 45 directions sont suffisantes pour la CSD [Tournier et al., 2013].

La déconvolution sphérique a été proposée en premier lieu pour estimer direc-
tement la distribution de l'orientation des fibres dans un voxel à partir de données à haute résolution angulaire [Tournier et al., 2004] :

$$S(\Theta_i, \phi_i) = \sum_i f_i C_i R(\Theta)$$
(B.4)

où  $S(\Theta, \phi)$  est le signal de diffusion,  $f_i$  est la fraction volumique pour la i<sup>th</sup> population de fibres et  $C_i$  est l'opérateur représentant une rotation vers la direction  $(\Theta_i, \phi_i)$ . Le signal de diffusion peut aussi être exprimé comme la convolution sur la sphère unitaire de la fonction réponse  $R(\Theta)$  avec la fonction de distribution d'orientation des fibres (fODF) :

$$S(\Theta_i, \phi_i) = \sum_i F(\Theta, \phi) \otimes R(\Theta)$$
(B.5)

La limite principale de la déconvolution sphérique est sa sensibilité au bruit, ce qui se traduit souvent par des pics parasites dans la fODF. La méthode originale utilise un filtre passe-bas pour réduire ces pics mais ce filtrage réduit également la résolution angulaire.

La CSD place une contrainte de non-négativité sur la fODF car une orientation négative des fibres est physiquement impossible. Cette contrainte élimine la nécessité d'un filtrage passe-bas et fournit suffisamment d'informations pour estimer la fODF. La figure B.12 illustre un exemple typique où le tenseur de diffusion est inadapté pour modéliser correctement la direction des fibres dans les zones de croisement. La zone rouge délimite le croisement d'un faisceau du corps calleux avec un faisceau cortico-spinal. La méthode CSD parvient à modéliser plusieurs directions par voxel (Figure B.11), contrairement au tenseur qui ne peut en modéliser qu'une.



FIGURE B.11 – Illustration d'un ODF

Dans la suite de ce travail, nous avons sélectionné la CSD pour estimer l'orientation des fibres car c'est un modèle estimant plusieurs directions de fibres par voxel et une implémentation facile d'utilisation de cette méthode est fournie par le logiciel MRtrix<sup>1</sup>.

## **B.3.4** Tractographie

L'IRM de diffusion est la seule modalité d'imagerie non invasive donnant accès à la micro-structure de la matière blanche.

<sup>1.</sup> http://www.mrtrix.org/



FIGURE B.12 – Estimations de l'orientation des fibres par la méthode du tenseur de diffusion (haut) et par CSD (bas)

L'architecture des axones en faisceaux parallèles, ainsi que leur gaine de myéline, facilite la diffusion des molécules d'eau le long de leur axe. **La direction des fibres est donc la direction de plus grande diffusivité**, indiquée par le vecteur propre associé à la plus grande valeur propre du tenseur de diffusion. Des algorithmes de suivi de fibres peuvent être utilisés pour reconstruire le trajet d'un faisceau de fibres nerveuses sur toute sa longueur. Il existe deux grands types d'algorithme de tractographie : déterministe et probabiliste.

Lorsque l'on parle de tractographie, on doit désigner une région de départ des fibres (que l'on appellera **région graine** dans ce rapport) et une région d'arrivée (que l'on nommera **région cible**). La figure B.13 présente un schéma de principe de la tractographie.



FIGURE B.13 – Schéma de principe de la tractographie

## La tractographie déterministe

A partir du modèle de diffusion (tenseur de diffusion, CSD, etc...), nous choisissons un voxel de départ et l'algorithme de tractographie déterministe [Mori et al., 1999] suit la direction principale de la fibre tel que révélée par le mo**dèle** et des séquences de points sont générées pour former une trajectoire. Un schéma et un résultat 2D de la tractographie par suivi de vecteur est présenté à la figure B.14.



FIGURE B.14 – Schéma et résultat 2D d'une tractographie déterministe (du corps calleux à l'aire motrice primaire) par suivi de vecteur [Poupon, 2014]

Néanmoins, les algorithmes de tractographie déterministe sont très **sensibles au bruit** et, dans le cadre du tenseur, ne suivent que la direction principale : les croisements de fibres ne sont pas reconstruits. L'alternative la plus employée consiste à utiliser les algorithmes de tractographie probabiliste [Descoteaux et al., 2009].

## La tractographie probabiliste

Les algorithmes probabilistes [Smith et al., 2004b] nécessitent des temps de calcul plus élevés que les algorithmes déterministes mais traitent mieux le problème de l'incertitude liée au bruit.

Le concept fondant l'approche probabiliste consiste à exploiter l'incertitude dans l'orientation de la direction principale du tenseur. Cette incertitude est directement intégrée dans le processus de propagation. À chaque étape de la propagation, au lieu de se propager le long du vecteur propre principal du tenseur, **l'orientation est perturbée par un facteur aléatoire** pour former une fonction de densité de probabilité (PDF), qui représente le modèle d'erreur. Cette PDF peut être construite en utilisant diverses techniques. Les fibres peuvent ensuite utilisées pour créer une carte de probabilité de connexion.

Un schéma et un résultat 2D de la tractographie probabiliste est présenté à la figure B.15.



FIGURE B.15 – Schéma et résultat 2D d'une tractographie probabiliste (du corps calleux à l'aire motrice primaire) [Poupon, 2014]

Dans le cadre de cette thèse, nous avons utilisé un algorithme de tractographie probabiliste car ces techniques sont robustes au bruit et au volume partiel et nous permettrons de traverser un croisement de fibres. Ces algorithmes sont gourmand en temps de calcul mais nous avons parallélisé nos calculs pour réduire ce temps et qu'il reste dans une gamme correcte.