



HAL
open science

Cartographier le traitement de l'information visuelle cérébrale grâce aux ultrasons fonctionnels

Kevin Blaize

► **To cite this version:**

Kevin Blaize. Cartographier le traitement de l'information visuelle cérébrale grâce aux ultrasons fonctionnels. Neurosciences [q-bio.NC]. Sorbonne Université, 2018. Français. NNT : 2018SORUS114 . tel-02938557

HAL Id: tel-02938557

<https://theses.hal.science/tel-02938557>

Submitted on 15 Sep 2020

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.

CARTOGRAPHIER LE TRAITEMENT DE L'INFORMATION VISUELLE CEREBRALE GRACE AUX ULTRASONS FONCTIONNELS



BLAIZE KEVIN

Préparée à l'Institut de la Vision,
Dirigée par Serge PICAUD
Co-encadrée par Fabrice ARCIZET

Encadrée par l'Ecole Doctorale Cerveau – Cognition – Comportement

En collaboration avec l'Institut Langevin et l'Institut du Cerveau et de la Moelle-épineière

Présentée et soutenue publiquement le 13/09/2018,

Devant un jury composé de :

- Suliann Ben Hamed (Rapportrice)
- Guillaume Masson (Rapporteur)
- Stéphane Lehericy
- Benoit Larrat
- Serge Picaud (Directeur de thèse)

« Le simple est toujours faux. Ce qui ne l'est pas est inutilisable. »

Paul Valéry

Remerciements

Cette thèse s'étant déroulée à l'Institut de la Vision (« IDV » pour les locaux), je tiens évidemment à remercier Alain José Sahel pour son accueil au sein de ce laboratoire d'excellence internationale où il faisait bon vivre et travailler (si l'on peut réellement dissocier ces deux comportements).

Il est coutume pour un doctorant de critiquer régulièrement son directeur de thèse auprès de ses proches pour « se décharger ». Merci beaucoup à Serge Picaud de ne m'en avoir jamais donné l'occasion. En effet, ces trois années qui se sont déroulées avec une relation de confiance ont été un réel plaisir. J'ai été grandement surpris par sa rapidité d'avoir un recul des choses, la pertinence de ses critiques, sa qualité scientifique, sa pédagogie mais surtout sur les relations qu'il entretient avec les membres de son équipe. Ce dernier aspect humain a réellement participé à mon épanouissement dans ce domaine (qui n'est pas toujours évident).

Fabrice Arcizet, rugbyman imposant et barbu (un peu terrifiant au premier abord), m'a rapidement pris sous son aile et m'a formé quotidiennement à l'expérimentation avec les primates. Très professionnel, il a tout fait pour m'envoyer poursuivre aux USA (en vain, désolé !); même si je me souviendrai encore longtemps des visites divertissantes à Washington DC (notamment un certain karaoké...). Merci énormément à lui pour m'avoir transmis toute son expérience avec pédagogie, rigueur et ce, toujours dans la bonne humeur.

Ce projet n'aurait nullement été possible sans l'aide de Marc Gesnik. En effet, après avoir développé la machine à ultrasons et les séquences d'acquisitions, il a dû m'expliquer toute la physique qui s'y cache derrière (et je ne sais pas ce qui a été le plus compliqué entre les deux pour lui !). Mais je souhaiterais également remercier Laura Zamfirov pour avoir initié ces travaux avant de me laisser la place ! Dans sa globalité, je voudrais dire un grand Merci à tout l'institut Langevin pour l'efficacité scientifique et logistique qu'ils ont apportées dans nos projets communs, et plus particulièrement Mathias Fink, Thomas Deffieux et Mickaël Tanter. C'est notamment grâce à cette étroite collaboration entre l'IDV et l'institut Langevin que le projet ERC Helmholtz a pu faire naître mon projet de thèse.

Je voudrais également remercier deux experts qui ont supporté une grande partie de mes questions, m'ont aiguillé et formé : Pierre Pouget, avec des échanges de mails jusqu'à 3h du matin pour s'assurer de la cohérence des lags de triggers ; et Frédéric Chavane qui a permis

d'orienter les protocoles chez le primate étant donné ses fortes connaissances du cortex visuel.
A bientôt !

Il est évident que j'ai appris beaucoup de gestes en expérimentation animal grâce différentes personnes que je ne peux pas oublier : Merci à Julie Degardin pour le temps passé à développer les fenêtres chroniques mais également à Manuel Simonutti. Merci à Harry Ahnine, Estelle Chavret-Reculon, Morgane Weissenburger et tous ceux que j'ai croisés à l'animalerie de l'IDV et de l'ICM pour votre aide, votre bonne humeur et tout ce que vous avez pu m'apprendre.

Mes collègues (ou ex-collègues), et maintenant amis, m'ont permis d'apprécier chaque moment à l'IDV (ou durant les soirées TNDC), même si je ne suis pas toujours le plus sociable devant mon ordinateur, je vous l'accorde. Je pense notamment à Paul-Henri Prevot (super maître de stage !), Gregory Gauvain, Antoine Chaffiol, Marcela Garita, Elric Esposito, Fanny Joubert, Louiza Arouche, Guillaume Blot, William Deschamps, Antoine Rizkallah, Laure Guibbal, Manon Valet, et toute l'équipe S8 en général. Merci !

Je tiens à souligner que c'est un honneur pour moi de faire évaluer mes travaux de thèse aux experts composant mon jury : Suliann Ben Hamed, Guillaume Masson, Stéphane Lehericy et Benoit Larrat. Merci à eux, et notamment à Benoit Larrat qui suit l'histoire depuis le début puisqu'il a assisté à mes deux conseils de suivi de thèse (tout comme Frédéric Chavane !).

Je pense devoir à mes parents (mais aussi à ma famille et à mes amis) toutes ces valeurs humaines qui me sont chères et qui ont contribué au bon déroulement de ces trois années de thèse. Merci infiniment.

J'aurais toujours une petite pensée pour ceux qui m'ont permis d'en arriver là, ou plutôt, qui ont permis à la Science d'en arriver là. Je citerais par exemple Primero, Rémy, Fasol, Window, Cheesecake, Luis, Leet...

Enfin, je ne pourrais pas m'arrêter là sans remercier celle qui me fait apprécier chaque journée, même lorsqu'il y a la fatigue ou le ras-le bol des manips qui ne fonctionnent pas. Celle qui supporte le jargon des scientifiques régulièrement et qui me pousse (avec raison) à partir en voyage pour découvrir le monde. Merci à Aude pour sa participation active tout au long de cette thèse.

Table des matières

REMERCIEMENTS	1
TABLE DES MATIÈRES	3
INTRODUCTION	6
I. EXPLORATION FONCTIONNELLE DE L'ACTIVITÉ CÉRÉBRALE	7
A. Les techniques usuelles :	7
i. L'électrophysiologie de contact.....	7
a) L'imagerie par Electro-Encéphalographie (EEG)	7
b) L'électrocorticographie (ECoG).....	9
c) Les grilles d'électrodes intracorticales	10
ii. L'imagerie fonctionnelle	11
a) L'imagerie par colorant sensible au potentiel de membrane (Voltage Sensitive Dye imaging : VSDi)12	
b) L'imagerie calcique	13
c) L'imagerie optique intrinsèque (IOSi).....	16
d) La Tomographie par Cohérence Optique Doppler (dOCT)	17
e) L'Imagerie fonctionnelle par Résonance Magnétique (IRMf)	19
B. L'imagerie fonctionnelle par ultrasons	22
i. Mesure du volume sanguin cérébral (CBV) à l'échelle micrométrique.....	22
a) L'échographie	22
b) L'imagerie par effet Doppler.....	24
c) L'imagerie ultrasonore ultrarapide.....	26
d) L'imagerie fonctionnelle ultrasonore ultrarapide.....	29
ii. Applications de la fUSi.....	30
II. LE SYSTÈME VISUEL	32
A. L'œil, le récepteur	32
i. La rétine.....	32
a) Les photorécepteurs captent la lumière	34
b) Les cellulaires bipolaires	35

c)	Les cellules ganglionnaires	36
ii.	La projection du champ visuel sur la rétine.....	39
B.	<i>Le Noyau Géniculé Latéral (LGN)</i>	39
i.	Chez le rat :	40
ii.	Chez le primate.....	40
C.	<i>Le Colliculus Supérieur (CS)</i>	43
D.	<i>Le cortex visuel</i>	46
i.	Une segmentation des aires	47
a)	Chez le rongeur	47
b)	Chez le primate.....	48
ii.	L'organisation spatiale du cortex primaire V1	50
a)	La rétinotopie	51
b)	Les colonnes d'orientations.....	52
c)	Les bandes de dominances oculaires	53
d)	Les CO-Blobs.....	53
e)	Les colonnes de fréquences spatiales	54
III.	L'EXPLORATION FONCTIONNELLE DE V1	55
A.	<i>L'électrophysiologie</i>	55
B.	<i>L'imagerie intrinsèque</i>	57
C.	<i>La VSDi</i>	58
D.	<i>L'imagerie calcique</i>	59
E.	<i>L'IRMf</i>	61
F.	<i>Conclusion sur les cartographies fonctionnelles actuelles</i>	62
	TRAVAUX DE RECHERCHES	64
I.	TRAVAUX SUR LE RAT ANESTHÉSIÉ	65
A.	<i>Résumé</i>	65
B.	<i>Article Scientifique</i>	68
II.	TRAVAUX SUR LE PRIMATE VIGILE	76
A.	<i>Résumé</i>	76
B.	<i>Article Scientifique</i>	79

CONCLUSIONS	123
I. LES ATOUTS ET ÉVOLUTIONS À VENIR DE LA FUSI	124
A. <i>Analyse comparative des méthodes d'imagerie</i>	124
B. <i>Une haute résolution spatiale liée à la profondeur d'imagerie</i>	126
C. <i>Une bonne résolution temporelle</i>	128
D. <i>Un bon signal sur bruit</i>	129
E. <i>La fUSi, facile à mettre en place pour des expérimentations (notamment en éveillé).....</i>	130
F. <i>Une technique d'imagerie « peu » invasive</i>	131
G. <i>Une imagerie 3D en continue</i>	132
H. <i>Le développement de sondes sans fils chroniques</i>	133
II. LA FUTURE PLACE DE LA FUSI DANS LES NEUROSCIENCES	134
A. <i>Pour l'étude du système visuel</i>	134
B. <i>L'implémentation à d'autres outils et/ou stratégies</i>	134
C. <i>Une rapidité d'utilisation pour des contrôles quotidiens</i>	135
D. <i>Le passage chez l'homme</i>	136
III. CONCLUSION GÉNÉRALE	138
BIBLIOGRAPHIE	139
TABLE DES FIGURES	172
Liste des abréviations.....	175
RÉSUMÉ - ABSTRACT	176

Introduction

Avant-propos

La vision est le sens le plus exploité par les primates pour analyser et interagir avec le milieu extérieur. L'œil capte la lumière et transforme cette information en signal électrique qui est transporté notamment jusqu'au cortex visuel. Cette aire cérébrale permet alors à l'individu d'obtenir une image consciente. Cela est possible grâce à des réseaux de neurones organisés spatialement et fonctionnellement. En effet, le signal visuel est subdivisé en différents signaux selon les attributs qui le compose (la couleur, l'orientation, la position, la vitesse des mouvements etc.) et cela permet une analyse et une intégration en parallèle de toutes ces informations. Il devient donc essentiel de mieux comprendre comment le cortex visuel traite toutes ces informations, et à quel niveau spatiotemporel, pour pouvoir imaginer développer certaines méthodes de restauration visuelle ciblant cette structure cérébrale. Des technologies permettent aujourd'hui d'enregistrer l'activité de cette structure cérébrale mais toutes possèdent des inconvénients non négligeables : certaines ne permettent pas de visualiser simultanément une large zone (l'électrophysiologie), d'autres sont limités par une profondeur d'imagerie (l'imagerie optique) ou n'ont tout simplement pas une résolution spatiotemporelle suffisante pour une étude approfondie (l'Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle). Depuis quelques années une nouvelle technologie d'imagerie fonctionnelle par ultrasons promet de pouvoir combiner la plupart des avantages de ces techniques comblant ainsi un vide entre l'imagerie cellulaire (microscopique de surface) et l'IRM (macroscopique en profondeur). Le projet présenté dans cette thèse posait la question des nouvelles possibilités offertes par cette innovation technologique. Dans un partenariat avec l'Institut Langevin, nous avons adressé cette question sur le système visuel du rongeur et du primate. Par conséquent, avant de présenter les résultats, je souhaite introduire les différentes mesures d'activité cérébrale avec un focus particulier sur l'imagerie fonctionnelle ultrasonore. Ensuite, pour pouvoir discuter mes résultats et l'intérêt de cette dernière technique d'imagerie, je présenterai le système visuel et son étude par les différentes techniques d'imagerie présentées ci-dessus.

I. Exploration fonctionnelle de l'activité cérébrale

Mesurer l'activité cérébrale peut s'avérer utile pour le diagnostic de pathologies humaines comme nous le verrons ici, par intérêt scientifique pour la compréhension du cerveau ou pour la recherche médicale.

A. Les techniques usuelles :

L'activité cérébrale fut initialement mesurée au niveau de la cellule individuelle à l'aide d'une électrode comme cela avait été initié sur les axones géants de calmar (Hodgkin and Huxley, 1939, 1952). Cependant, on ne parle pas là d'imagerie étant donné que la dimension spatiale est nulle (« l'image est limitée à un seul pixel »). Cependant, le développement de matrice d'électrodes a permis la reconstitution de l'activité cérébrale à un niveau plus macroscopique pouvant s'apparenter à une forme d'imagerie.

L'électrophysiologie consiste en l'étude et la mesure des phénomènes électriques se produisant au sein des cellules ou des tissus vivants. Différentes techniques couramment utilisées seront décrites dans ce rapport : l'électrophysiologie de contact (via des électrodes), ou les méthodes d'imageries (optiques ou magnétiques).

i. L'électrophysiologie de contact

a) L'imagerie par Electro-Encéphalographie (EEG)

L'Electro-Encéphalographie (ou EEG), mise au point initialement par le neurologue allemand Hans Berger en 1929 (Tudor et al., 2005), consiste à venir placer des électrodes au niveau du cuir chevelu. Cela permet l'enregistrement d'une activité électrique diffuse due aux neurones présents sous le crâne.

Les potentiels de champs locaux enregistrés sont lissés spatio-temporellement (Buzsáki et al., 2012). Dès lors, en utilisant plusieurs électrodes réparties à la surface du scalp, il est possible de reconstituer une carte fonctionnelle de l'activité neuronale à l'échelle du cerveau

(Liotti et al., 2010; Ridder et al., 2016; Roemer et al., 1995; Waite et al., 2014). Ces représentations de l'activité cérébrale sont donc uniquement superficielles (Figure 1).

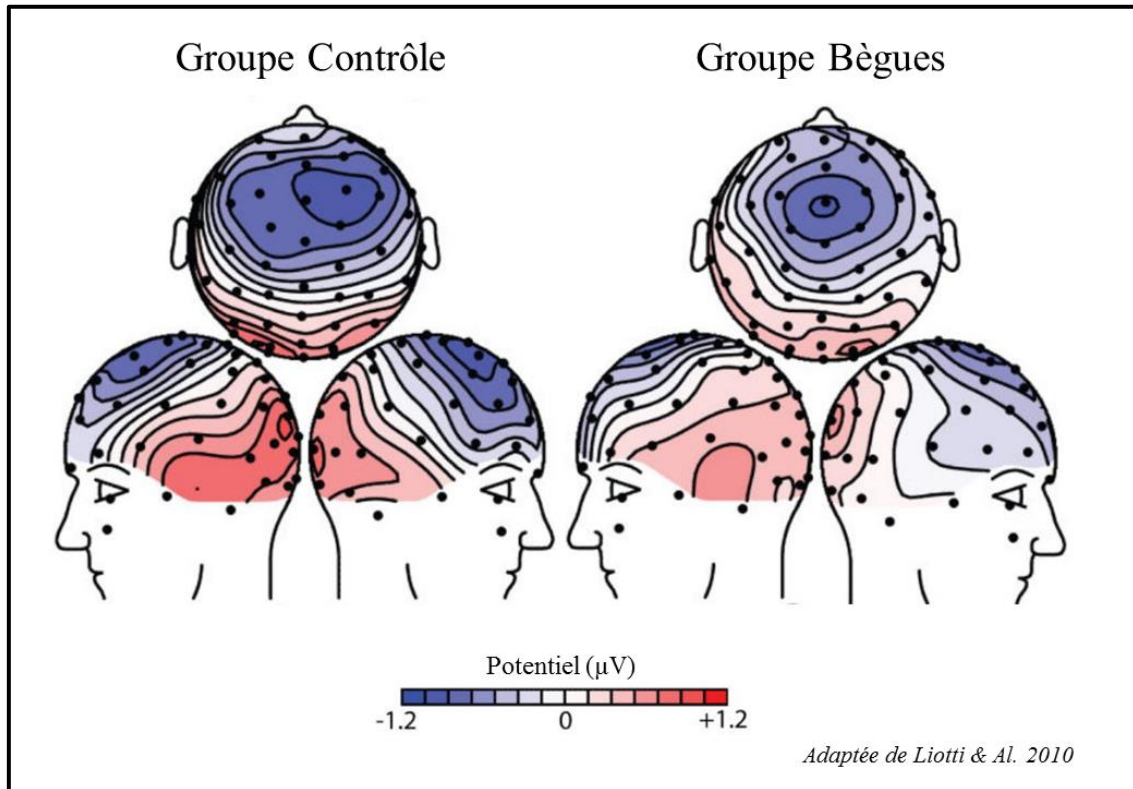


Figure 1 : Représentation de l'activité électrique enregistrée par EEG lors d'une stimulation auditive, selon deux groupes différents (Contrôle ou Bègues). Chaque point noir représente la position d'une électrode d'enregistrement.

Le principal obstacle à cette méthode est le crâne. En effet, en plus d'atténuer les signaux électriques, il les déforme de par ses irrégularités morphologiques.

Cette technique est régulièrement couplée à une méthode d'enregistrement appelée MagnétoEncéphaloGraphie (ou MEG). Celle-ci mesure les champs magnétiques provoqués par l'activité des neurones en surface. Etant donné sa sélectivité pour les sources tangentes, il devient plus aisé de réaliser des modélisations (sLORETA pour «standardized Low Resolution Brain Electromagnetic Tomography») afin de déterminer des sources d'activité cérébrale en profondeur (Jatoi et al., 2014; Liotti et al., 2010).

b) L'électrocorticographie (ECoG)

Une approche similaire à l'EEG permet de surpasser le problème de la présence du crâne : l'ElectroCorticoGraphie (ou ECoG). Dans ce cas, au lieu de positionner les électrodes à la surface du scalp, elles sont positionnées directement à la surface du cerveau après à une craniotomie. Cette méthode est donc très invasive mais permet d'obtenir une qualité de signal bien meilleure que l'EEG, avec parfois, la détection possible de potentiels d'action (Buzsáki et al., 2012; He et al., 2011; Nakanishi et al., 2017; Tran et al., 1997).

Cette méthode d'étude est utilisée chez l'humain en pré-chirurgie pour localiser des tumeurs cérébrales ou la source d'épilepsies sévères (Cervenka et al., 2013; He et al., 2011; Nakanishi et al., 2017; Tran et al., 1997; Yang et al., 2014). Elle a une précision spatiale environ 20 fois supérieure à l'EEG (Buzsáki et al., 2012). Ainsi, les cartographies sont plus précises spatialement (les électrodes sont plus proches les unes des autres) mais ne permettent pas d'imager la totalité du cerveau (Figure 2).

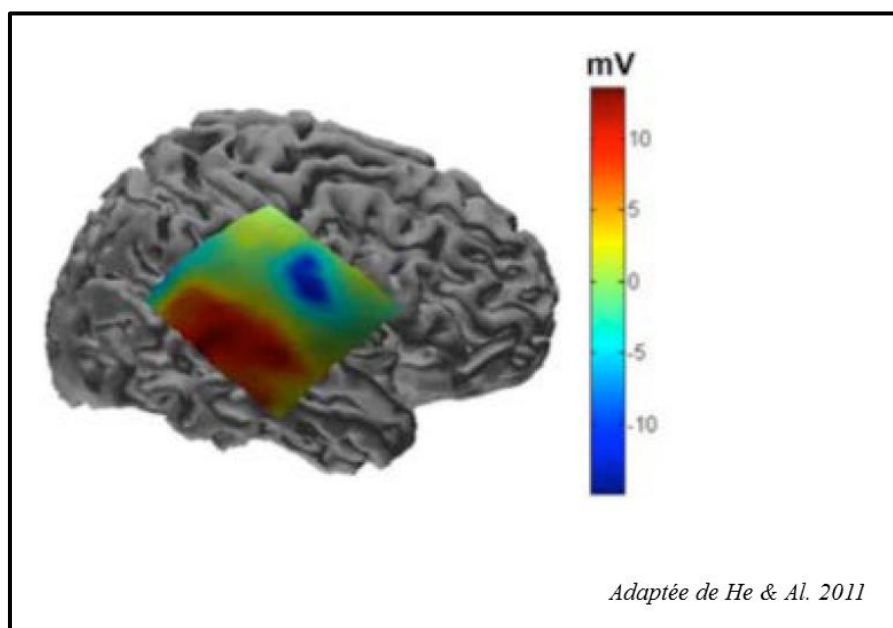


Figure 2 : Cartographie par ECoG du potentiel cortical de surface en amont d'une crise d'épilepsie permettant de localiser la source des crises.

Plus précise spatialement que l'EEG, cette méthode de mesure invasive ne permet cependant qu'une étude mesoscopique et surfacique de certaines aires cérébrales qui peut être représentée sous forme de cartes d'activité.

c) Les grilles d'électrodes intracorticales

Toujours basé sur un concept d'enregistrements avec plusieurs électrodes, il est possible d'enregistrer un signal neuronal avec une résolution spatiale bien meilleure que l'ECOG, jusqu'à discerner les potentiels d'actions des neurones (ou les potentiels de champs locaux), et ce, non plus uniquement en surface mais aussi en profondeur.

Historiquement, ce type d'enregistrement était réalisé à l'aide d'une seule électrode qui était déplacée à chaque acquisition. Cela permettait donc de cartographier fonctionnellement une zone mais, évidemment, cela prenait beaucoup de temps.

Depuis les années 90 (Rousche and Normann, 1992) des grilles d'électrodes en forme d'aiguille pouvant s'implanter au sein du cortex font leur apparition. Selon les matériaux utilisés pour leur conception, elles peuvent être flexibles (Hassler et al., 2011; Kozai and Kipke, 2009; Rousche et al., 2001; Viventi et al., 2011) ou rigides comme les grilles Neuroprobes (Calixto et al., 2013), les Michigan (Seymour and Kipke, 2007) ou les plus répandues : les grilles Utah (Normann, 2007; Normann et al., 1999) (Figure 3).

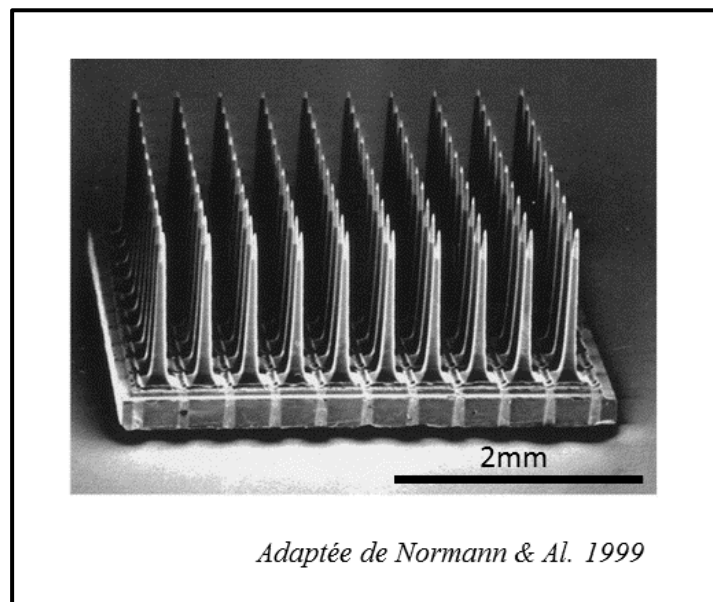


Figure 3: Microscopie électronique d'une grille Utah contenant 100 électrodes.

Ces grilles d'électrodes intracorticales peuvent être utilisées pour la stimulation (Fernández et al., 2014; Normann et al., 1999) mais également pour l'enregistrement (ce qui nous intéresse ici) et donc, l'imagerie fonctionnelle (Alivisatos et al., 2013).

Prenons l'exemple des travaux de Klaes C. où, après avoir implanté une grille Utah de 100 électrodes dans le cortex somatosensoriel d'un primate non-humain (1,5mm de profondeur), ils ont pu établir une carte de l'organisation somatotopique de la main (Figure 4) (Klaes et al., 2014).

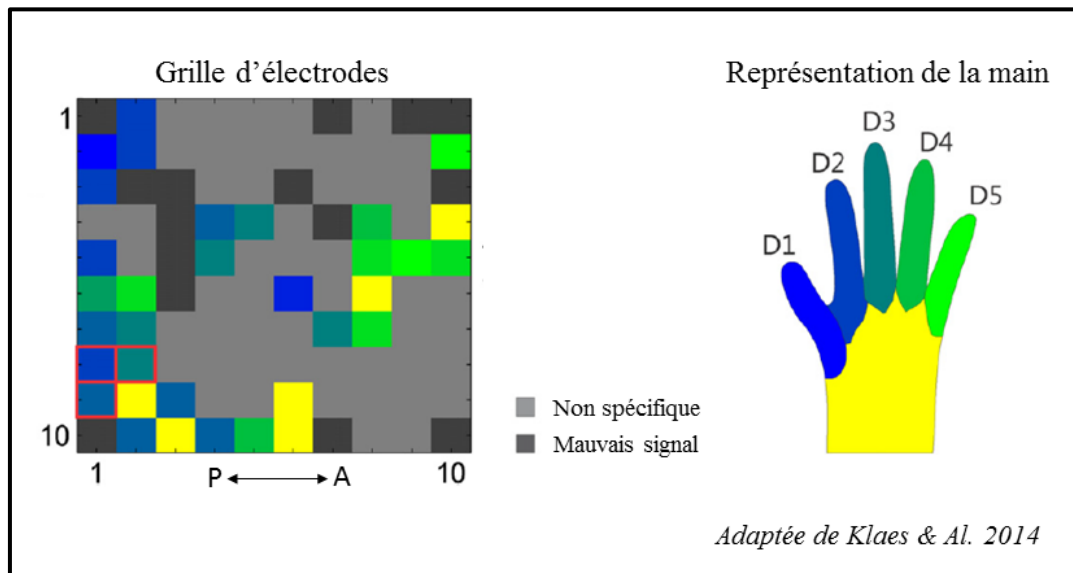


Figure 4: La grille d'électrodes (10x10) est représentée à gauche. La couleur attribuée à chaque électrode détermine si celle-ci enregistre l'activité d'un neurone spécifique au toucher d'un doigt ou de la paume de la main (représentation de la main à droite) ou non (en gris).

Ces grilles permettant ainsi de mesurer l'activité de neurones corticaux avec une haute résolution temporelle (similaire à l'EEG et l'ECOG) mais « seuls » quelques neurones peuvent être enregistrés simultanément et ce, sur une surface corticale réduite (4 mm x 4 mm en général).

ii. L'imagerie fonctionnelle

L'activité cérébrale peut être analysée par différentes méthodes d'imagerie basées soit sur des mesures directes du potentiel membranaire soit sur des mesures indirectes comme celle des flux calciques entraînés par la dépolarisation cellulaire ou celles basées sur le couplage neurovasculaire. Les résolutions temporelles de ces techniques sont très variables (~0,5-1kHz), tout comme leur résolution spatiale (du neurone jusqu'à la structure cérébrale) avec un champ d'observation également très variable (moins du millimètre jusqu'au cerveau entier). Certaines méthodes d'imagerie fonctionnelle utilisent la lumière comme signal d'acquisition procurant

une grande résolution spatiale et temporelle mais l'inconvénient est de rester limité à la surface du cerveau du fait de l'absorption et de la diffusion de la lumière par les cellules.

a) L'imagerie par colorant sensible au potentiel de membrane (Voltage Sensitive Dye imaging : VSDi)

L'imagerie par colorant sensible au potentiel membranaire (ou VSDi pour « Voltage Sensitive Dye imaging ») a été développée à la fin des années 60 sur des cellules en cultures (Davila et al., 1973; Tasaki et al., 1968), puis adaptée sur des échantillons *in vitro* comme des tranches de cerveau (Grinvald A. et al., 1982; Jin et al., 2002) et enfin *in vivo* sur le rongeur, le chat et le primate non humain (Grinvald et al., 1994; Roland et al., 2006; Shoham et al., 1999).

Concrètement, La fluorescence du colorant fluctue en fonction du potentiel de membrane des cellules dans laquelle il s'est inséré. Ce potentiel peut donc être mesuré par la variation de fluorescence à l'aide d'une caméra CCD (Chemla and Chavane, 2010; Orbach and Cohen, 1983). L'utilisation de ce type de capteur permet d'obtenir une grande fréquence d'échantillonnage des images (au-delà de 1kHz) ainsi qu'une grande résolution spatiale (20 à 50 μ m) qui est, elle, dépendante de l'optique (Chemla and Chavane, 2010). Cependant, cette méthode d'imagerie fonctionnelle requiert une craniotomie, une durotomie (ouverture de la dure-mère) ainsi que la diffusion tissulaire du colorant aux caractéristiques hydrophobes pour faciliter son insertion dans la membrane. Enfin, l'atténuation de la lumière dans la profondeur des tissus limite cette mesure très précise de l'activité de réseaux neuronaux.

Au-delà de ces limitations purement physiques, l'interprétation des signaux est également compliquée par la densité des membranes dans le tissu cérébral. En effet, la fluorescence provient des neurones excitateurs et inhibiteurs, mais également des cellules gliales ; à l'échelle cellulaire, elle mesure tant l'activité des axones, des dendrites que du corps cellulaire. Certains modèles concluent cependant que le signal VSD « reflète principalement l'activité dendritique (75%) des neurones excitateurs (80%) dans les couches superficielles (80%) » (Chemla; Chemla and Chavane, 2010; Lippert et al., 2007).

Cette technique permet donc d'imager directement l'activité électrique des réseaux de neurones en surface (400 μ m à 800 μ m de profondeur maximale), sur un champ d'observation de plusieurs millimètres avec comme signal intermédiaire la lumière (fluorescence) (Figure 5).

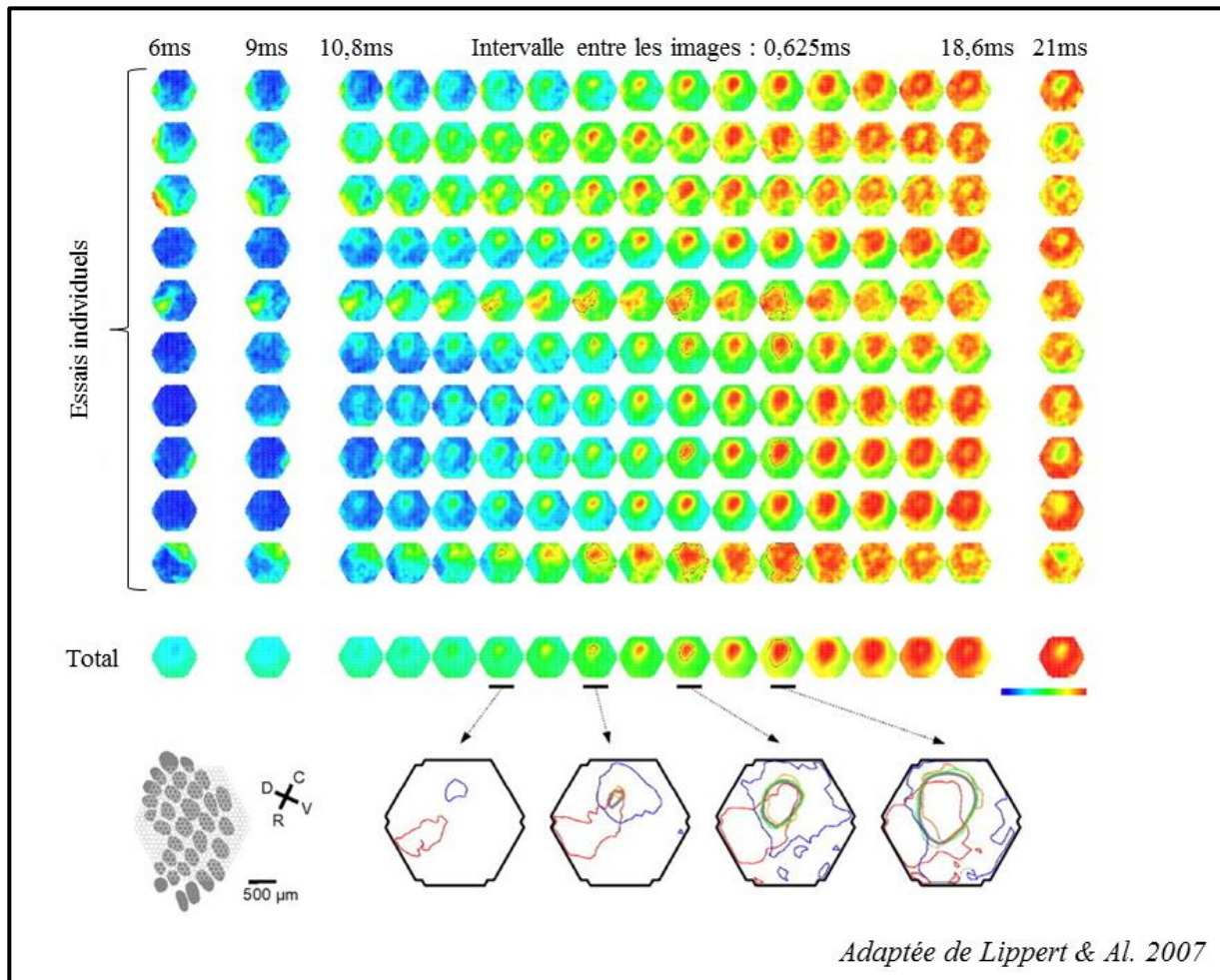


Figure 5: L'évolution de l'activité du cortex sensoriel mesurée par VSDi chez le rat lors de la stimulation d'une vibrisse. 10 répétitions sont présentées (lignes), puis la moyenne de ces dix signaux (Total). Des régions d'activations au cours du temps peuvent ensuite être définies par seuillage (en bas).

b) L'imagerie calcique

L'imagerie calcique mesure l'activité de cellules par l'intermédiaire des flux calciques associés à la dépolarisation neuronale. A nouveau, il s'agit d'une mesure par fluorescence qui fluctue en fonction de la concentration calcique intracellulaire. Les flux calciques sont principalement médiés par les canaux calciques sensibles au potentiel membranaire mais certains récepteurs ionotropiques cationiques peuvent également présenter une perméabilité calcique. Ces différentes conductances calciques sont donc associées aux potentiels d'action et plus largement à l'activité neuronale (Neher and Sakaba, 2008).

Différentes molécules permettent de révéler les variations de calcium intracellulaire (Grienberger and Konnerth, 2012). On retrouve les indicateurs chimiques (Fura-2 (Sohya et al.,

2007), Indo-1 (Stosiek et al., 2003), Rhod-2 (Yaksi et al., 2009)... et plus récemment les indicateurs protéiques (Grienberger and Konnerth, 2012), comme GCaMP6, qui peuvent faire l'objet d'un encodage génétique. Cette protéine fluorescente membranaire « ultrasensible » permet de révéler les potentiels d'action des neurones (Chen et al., 2013).

Grâce à cette technique il est alors possible de réaliser une cartographie fonctionnelle à l'échelle cellulaire en surface du cortex (Figure 6) avec une très haute résolution spatiotemporelle. Le champ d'observation reste cependant limité du fait du système optique et l'approche optique limite également la profondeur d'investigation malgré le développement des approches bi-photon ou tri-photon. A nouveau, cette approche requiert une craniotomie ainsi que le retrait de la dure-mère.

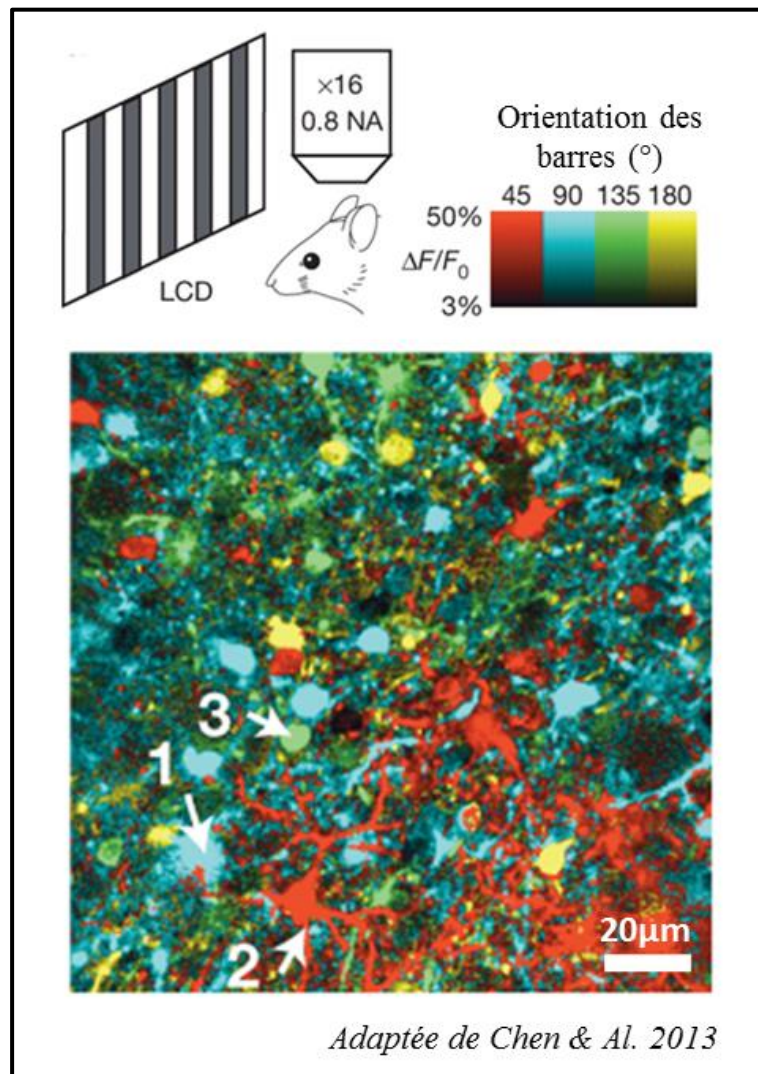


Figure 6: L'imagerie calcique dans le cortex visuel de souris avec GCaMP6S permet de distinguer des réponses préférentielles selon l'orientation de la stimulation visuelle au niveau cellulaire.

L'acquisition d'images peut être réalisée à l'aide de différents systèmes optiques selon la résolution spatiale, le champ d'observation et la profondeur souhaitée. Historiquement des grilles de photodiodes étaient utilisées (Ross and Werman, 1987), mais elles ont été remplacées ensuite par des caméras CCD ou CMOS (Baker et al., 2005; Carlson and Coulter, 2008) étant donnée la meilleure résolution spatiotemporelle de ces équipements. Cependant, cela ne permet d'enregistrer l'activité des neurones qu'en surface. Le microscope confocal s'est développé et a permis l'acquisition de données en profondeur jusqu'à 150 μm (Takahara et al., 2011). Enfin, la microscopie biphotonique a fait son apparition au début des années 90 (Denk et al., 1990; Svoboda and Yasuda, 2006). Cette technique d'imagerie fonctionnelle est à haute résolution et haute sensibilité mais elle a surtout l'avantage de pouvoir imager en profondeur (jusqu'à 600 μm) sans dommage pour les tissus (Helmchen and Denk, 2005; Oheim et al., 2001).

Jusqu'à maintenant, les méthodes d'imagerie fonctionnelle qui ont été décrites se basaient sur des mesures directes de l'activité électrique des neurones. Cependant, il existe une autre approche permettant d'observer les réponses corticales en se basant sur l'augmentation de la consommation métabolique par l'activité cérébrale. Cette augmentation métabolique des neurones avait d'ailleurs permis des marquages anatomiques des zones actives avec notamment le deoxyglucose (Horton and Hubel, 1981; Tootell et al., 1982) ou avec une enzyme mitochondriale, la cytochrome oxydase (Seligman et al., 1968; Wong-Riley, 1979). Cette augmentation de consommation métabolique va se traduire par une modification des paramètres vasculaires tels que l'oxygénation du sang, la dilatation des vaisseaux, le flux sanguin. En effet, il est très largement connu qu'une augmentation de l'activité neuronale va entraîner, après quelques secondes, une augmentation locale de l'apport sanguin, afin de balancer la dépense énergétique (en glucose et oxygène principalement) (Phillips et al., 2016; Scott, 2015; Segal, 2000; Welsh and Ledoux, 2015; Welsh and Segal, 1998). Ce phénomène est appelé le couplage neurovasculaire.

c) L'imagerie optique intrinsèque (IOSi)

C'est Grinvald A. qui, après avoir travaillé sur la VSDi, a mis en évidence la possibilité de mesurer l'activité cérébrale par imagerie optique intrinsèque (ou IOSi pour « Intrinsic Optical Signal imaging ») (Grinvald et al., 1986). Cette modalité consiste à illuminer le cerveau (après avoir réalisé une craniotomie ou un amincissement du crâne (Bosking et al., 1997; Masino et al., 1993) ou même à travers le crâne (Kalatsky and Stryker, 2003; Schuett et al., 2002) avec une source de lumière dont la (les) longueur(s) d'onde est (sont) contrôlée(s) (entre 400 et 1100nm pour le signal artériel (Grinvald et al., 1986) mais celles utilisées couramment sont entre 550 et 700 nm), puis d'analyser la réflexion de cette dernière après enregistrement à l'aide d'une caméra CCD. Les propriétés optiques (notamment réfléchives) des tissus varient en fonction de l'activité locale. Ainsi, selon la source de lumière utilisée, il est possible de suivre l'évolution, soit de la proportion d'hémoglobines oxygénées (HbO₂) et d'hémoglobines non oxygénées (HbR), soit le total d'hémoglobines (HbT), soit la dispersion de la lumière. Tout en sachant que ces trois caractéristiques optiques sont directement corrélées à l'activité neuronale locale (Frostig et al., 1990; Narayan et al., 1994).

Ainsi, grâce à cette méthode d'imagerie fonctionnelle, on mesure l'activité corticale en surface par la détection de paramètres vasculaires. L'utilisation d'une caméra CCD permet une bonne résolution spatiotemporelle (~34µm à 10Hz pour les travaux de Chen Bee et ~40µm à 8Hz pour ceux de Haidong D.Lu) (Chen-Bee et al., 2010; Lu et al., 2017). Cependant, étant donné que l'on enregistre en réalité les variations de la vascularisation du cortex, il existe certaines limites (principalement temporelles) dues aux paramètres hémodynamiques, qui sont de nature bien plus lents (~ secondes) que les paramètres électriques neuronaux (~milliseconde) (Carandini et al., 2015; Chen-Bee et al., 2010; Denfield et al., 2016).

Certaines cartographies fonctionnelles peuvent ainsi être mises en évidence, comme par exemple celle de Masino sur le cortex somatosensoriel des vibrisses du rat (Figure 7).

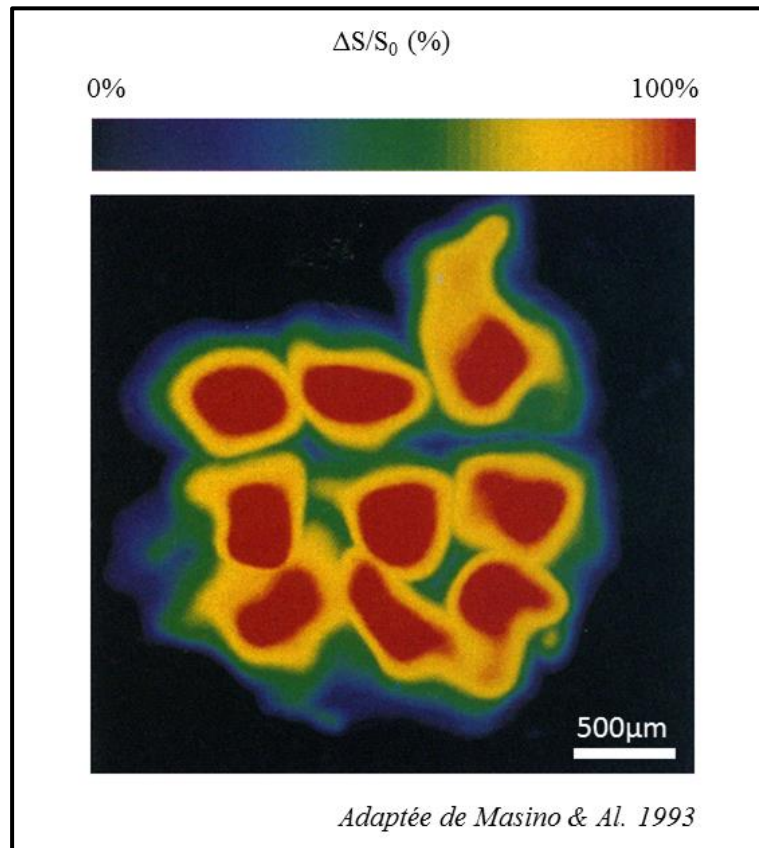


Figure 7: Cartographie fonctionnelle de 9 vibrisses B1/B2/B3/C1/C2/C3/D1/D2/D3 stimulées par imagerie optique intrinsèque. La barre d'échelle représente l'intensité normalisée du signal optique.

d) La Tomographie par Cohérence Optique Doppler (dOCT)

Développée au début des années 90 (Huang et al., 1991), la Tomographie par Cohérence Optique (ou OCT pour « Optical Coherence Tomography ») repose sur le principe d'interférométrie à faible cohérence et permet de réaliser des images par mesure des réflexions en profondeur d'une lumière infrarouge (Izatt et al., 1997). Cela permet d'obtenir des images en profondeur (jusqu'à 3,2mm) (Chen et al., 2016) et avec une résolution spatiale de l'ordre du micron.

Il existe une multitude de variantes d'imagerie par OCT selon les applications, les organes et la dynamique étudiée (Kim et al., 2015). Nous nous intéresserons ici qu'aux applications d'imagerie fonctionnelle du cerveau et notamment la technique la plus utilisée permettant de mesurer les flux sanguins : le Doppler OCT.

L'effet Doppler est un principe physique permettant d'expliquer un changement fréquentiel d'une onde réfléchi sur un objet en mouvement. Celui-ci sera d'avantage expliqué dans la partie [I. B. i. b)]. L'objectif est en réalité de pouvoir mesurer les flux sanguins cérébraux grâce à la réflexion de la lumière infrarouge sur les globules rouges (Chen et al., 2016; Srinivasan et al., 2010; You et al., 2014). Les travaux de Chen & Al. ont ainsi réussi à mesurer la vitesse des flux, dans un volume 3D ($8,5 \times 5 \times 3,2\text{mm}^3$) à travers un crâne aminci de souris, après une injection de cocaïne. Il est ensuite possible de discriminer les vitesses pour chacun des vaisseaux d'après la haute résolution spatiale ($10,2\mu\text{m}$) dans un plan d'imagerie (en profondeur) qui est acquis en 80s (mauvaise résolution temporelle) (Figure 8).

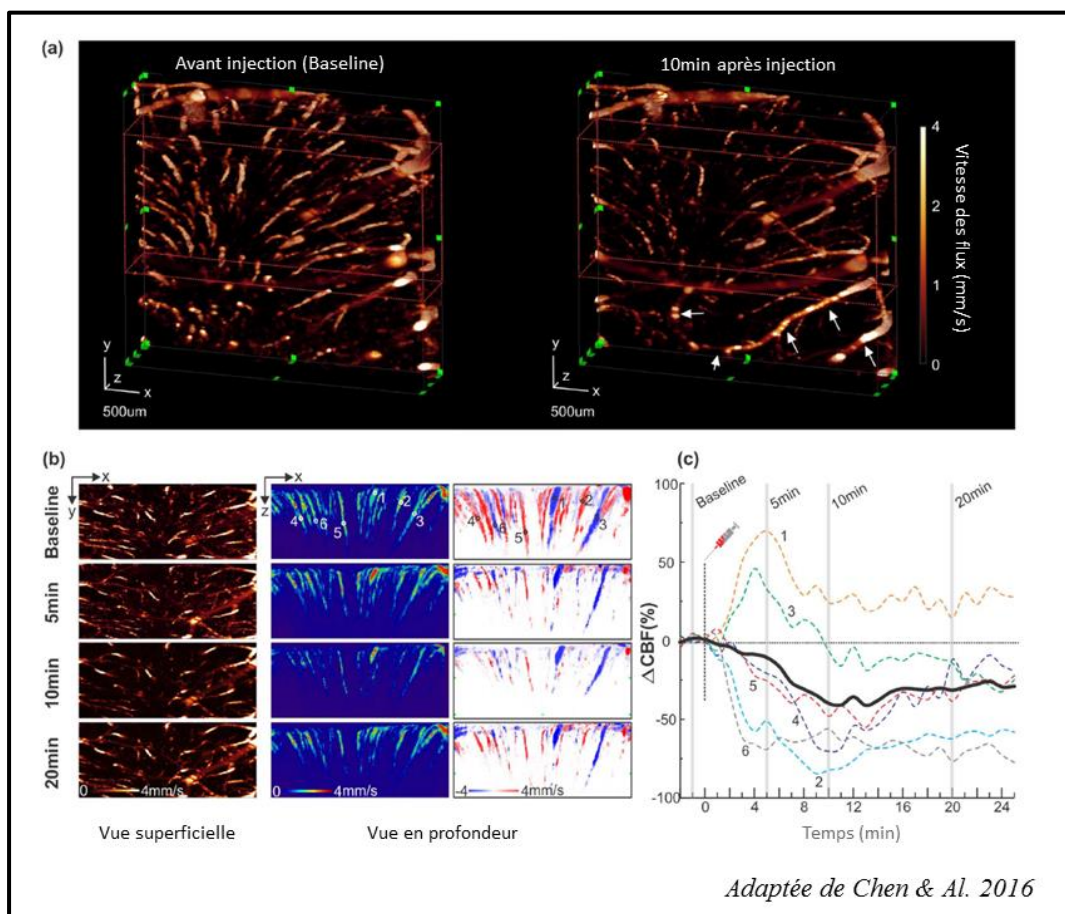


Figure 8: (a) Reconstruction 3D des changements hémodynamiques dans le cortex somatosensuelle avant et après l'injection de cocaïne. (b) Représentation de la surface et en coupe de la vitesse des flux sanguins après injection de cocaïne. (c) Evolution temporelle des flux sanguins cérébraux (ou CBF pour « Cerebral Blood Flow ») au sein des veinules et artérioles en réponse à la cocaïne.

e) L'Imagerie fonctionnelle par Résonance Magnétique (IRMf)

L'Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle (IRMf) repose sur des phénomènes de résonances magnétiques entre les noyaux de molécules et le champ magnétique environnant. Grâce à l'introduction d'imagerie écho-planaire par Peter Mansfield en 1977 (Mansfield, 1977), les premières reconstructions d'images par résonance magnétique naissent et très rapidement, les premières acquisitions anatomiques de l'intégralité d'un corps humain (Damadian et al., 1978). C'est ensuite au début des années 90 que la notion de BOLD (pour « Blood Oxygen Level Dependent ») est apparue et a permis d'imager l'activité du cerveau (Ogawa and Lee, 1990; Ogawa et al., 1990). C'est aujourd'hui la méthode d'imagerie fonctionnelle la plus utilisée pour l'homme étant donnée sa bonne résolution spatiotemporelle, sa capacité d'enregistrer tout le cerveau, mais surtout le fait qu'elle soit non invasive (plus de 25 000 publications scientifiques/an avec les mots clés « fMRI human », recherche réalisée sur pubmed le 25/04/2018).

Toute la théorie de l'IRMf repose donc sur le signal BOLD qui est dépendant du taux d'oxygénation des hémoglobines dans le sang. En effet, l'oxyhémoglobine et la désoxyhémoglobine ont des caractéristiques magnétiques différentes (Pauling and Coryell, 1936). Il est alors possible de quantifier un taux d'oxy/désoxyhémoglobine qui peut varier très localement selon l'activité neuronale, et ce taux (BOLD) est mesurable et localisable par IRMf (Bandettini et al., 1992; Kwong et al., 1992; Ogawa et al., 1992) (Figure 9).

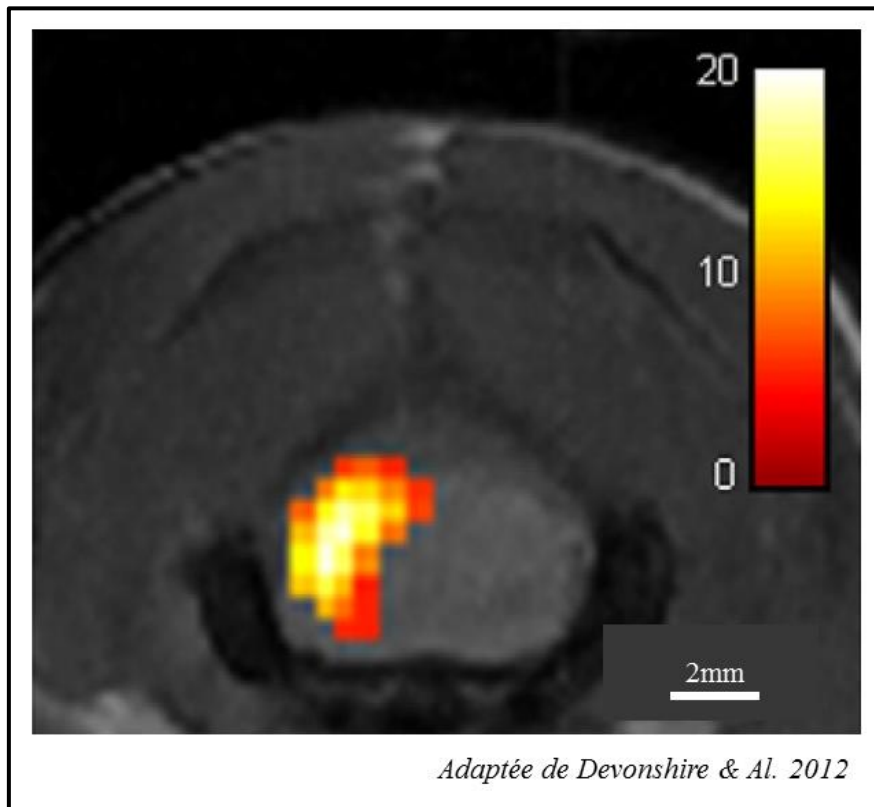


Figure 9: Carte d'activation BOLD enregistrée par IRMf lors d'une stimulation électrique au niveau des vibrisses du rat en plan transversal Bregma -16mm. Barre d'échelle : % augmentation BOLD.

Aujourd'hui, l'IRMf permet d'obtenir de bonnes résolutions temporelle (~ 1 s) et spatiale ($\sim 2 \times 2 \times 2 \text{mm}^3$) (Buxton, 2013; Moeller et al., 2010). Cependant, les dernières machines d'IRM possédant un très haut champ magnétique (11,7 Tesla pour l'homme (Kangarlu, 2016) ou 17,6 Tesla pour le petit animal (Pham et al., 2011)) permettent d'obtenir des résolutions spatiales jusqu'à $750\mu\text{m}$ (Turner, 2016).

Cette technique d'imagerie fonctionnelle regroupe donc beaucoup d'avantages mais elle est très sensible aux mouvements du sujet et a un coût et des contraintes non négligeables. De plus, la nécessité de placer l'individu au cœur de l'aimant réduit les possibilités de le stimuler pendant une tâche fonctionnelle. Si cela s'avère plus facile chez l'homme, la performance devient très difficile chez l'animal et notamment chez le primate non-humain. De plus, il est difficilement concevable d'avoir un tel équipement dans une salle de chirurgie ou dans tout laboratoire du fait de son encombrement et de son coût.

Nous avons ainsi pu passer en revue les principales méthodes d'imageries fonctionnelles se basant sur des mesures de changements hémodynamiques. Même si leur robustesse est certaine et est largement acceptée par la communauté scientifique, le fait de réaliser des acquisitions indirectes de l'activité neuronales par cet intermédiaire qu'est le couplage neurovasculaire, entraîne des questionnements (Carandini et al., 2015; Denfield et al., 2016; Hall et al., 2016; Kim and Ogawa, 2012). En effet, quelles sont les réelles résolutions spatiales et temporelles de ces outils ? Combien de neurones doivent être activés pour pouvoir être détectés par l'IRMf ? Cela dépend-il de la densité et la surface d'activation ? Grâce à un couplage d'IRMf et d'électrophysiologie, Devonshire & Al. ont par exemple montré que les modalités du couplage neurovasculaire dépendent de la région étudiée (Devonshire et al., 2012). Certains tentent de modéliser la cinétique de l'activité neuronale d'après la forme des signaux BOLD (Pallier et al., 2011).

B. L'imagerie fonctionnelle par ultrasons

L'imagerie fonctionnelle par ultrasons ultrarapides est la technique que j'ai exploitée tout au long de cette thèse. Développée par l'institut Langevin il y a quelques années, et notamment par Emilie Macé (Macé et al., 2011), elle apporte de nouvelles perspectives dans l'imagerie fonctionnelle et donc, dans la compréhension des neurosciences du cerveau.

Dans cette partie nous expliquons simplement les principes physiques fondamentaux sur lesquels repose cette nouvelle technique.

i. Mesure du volume sanguin cérébral (CBV) à l'échelle micrométrique

Etudions brièvement les principes physiques permettant la mesure des changements de volumes sanguins au sein du cerveau, à l'échelle des capillaires, et donc, d'imager indirectement l'activité cérébrale au cours du temps.

a) L'échographie

Les ultrasons sont des ondes acoustiques, c'est-à-dire mécaniques et élastiques et elles ont la particularité d'être à hautes fréquences (supérieures à 20 kHz, donc non perceptibles par l'oreille humaine). Elles se propagent dans tous les milieux (solides, liquides, gazeux), et comme toutes les ondes, elles répondent aux lois de la réflexion (lois de Snell-Descartes). En effet, lorsqu'elles rencontrent une interface (changement de milieu avec des propriétés physiques différentes), une partie traverse celle-ci en se propageant dans le second milieu, tandis qu'une autre sera réfléchi. Dans le domaine des ultrasons, la partie qui est réfléchi est appelée un « écho ».

Une image ultrasonore anatomique (ou image « B-mode ») est une représentation des différents réflecteurs présents au sein du plan d'imagerie. C'est-à-dire que chaque pixel contiendra une valeur liée à la réflectivité locale (capacité à réfléchir les ultrasons). Cela est possible grâce à l'émission de faisceaux ultrasonores focalisés par une sonde (ou transducteur) composée d'une multitude (128 en général) d'éléments piézoélectriques agencés

linéairement. Les ondes vont se propager et être réfléchies par les réflecteurs. Les échos sont alors captés par les mêmes éléments piézoélectriques. Il est possible de déterminer le temps mis par les ultrasons pour être faire ce trajet, et ainsi déterminer la distance entre l'interface et la sonde elle-même. En pratique clinique, plusieurs faisceaux focalisés sont émis successivement pour pouvoir réaliser le même processus sur toute la largeur du transducteur (Figure 10). La sonde ultrasonore est donc à la fois l'émetteur et le récepteur.

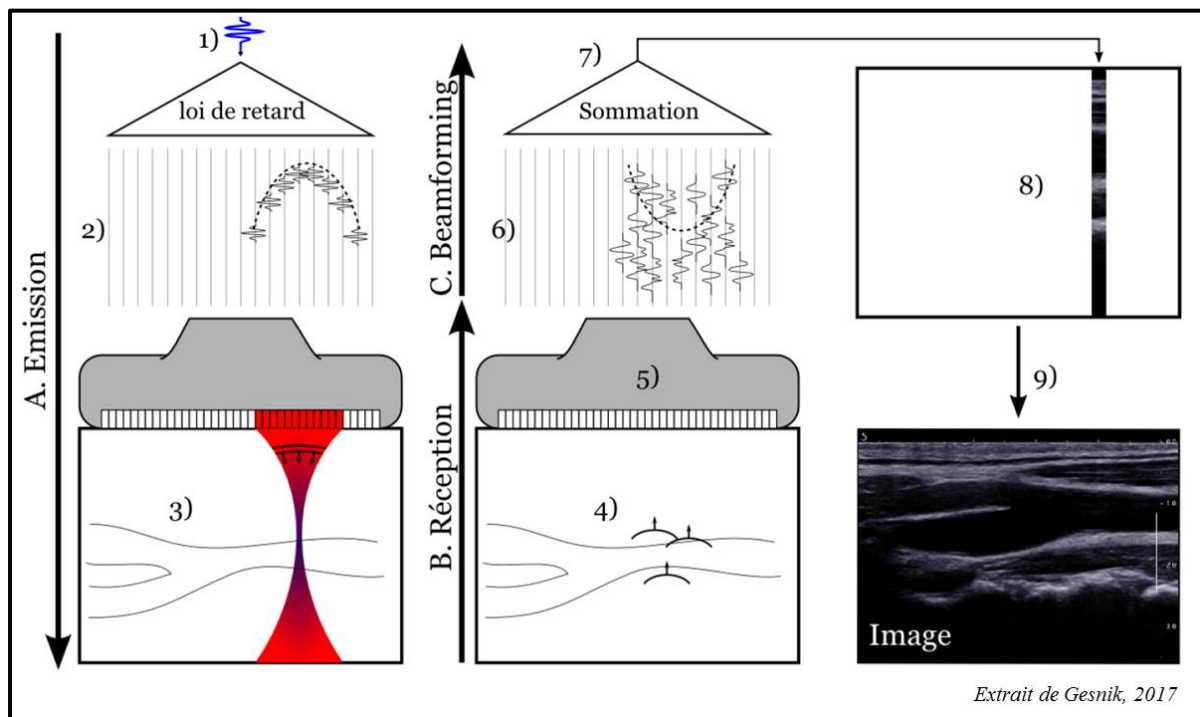


Figure 10: Principe général de formation d'une image B-mode par faisceau focalisé. A. Une onde ultrasonore focalisée est émise en profondeur grâce à la stimulation électrique de différents éléments piézoélectriques de la sonde. B. Les échos sont captés par l'ensemble des éléments piézoélectriques de la sonde. C. L'étape de parallélisations des signaux et de calculs sont réalisées (Beamforming). On peut ainsi recomposer une image des réflecteurs présentes dans la profondeur du faisceau émis. On reproduit cette étape 128 fois en décalant le faisceau d'un élément piézoélectrique à chaque itération. Cela permet alors d'obtenir une image B-mode des tissus présents sous la sonde.

Etant donné la vitesse de propagation des ultrasons dans un tissu biologique mou (la vitesse est dépendante de la masse volumique et de la compressibilité du milieu) qui avoisine 1500m/s, il faut environ 67 μ s pour émettre et réceptionner les échos pour un faisceau focalisé, pour une profondeur d'imagerie maximale de 5cm. En reproduisant ce processus sur toute la largeur de la sonde (en considérant qu'elle est constituée de 128 éléments), il faudra alors 8ms pour former l'image finale, soit une fréquence d'échantillonnage de 120 images par seconde.

Cette cadence est largement suffisante pour des applications cliniques traditionnelles (échographies obstétriques ou cardiologiques).

La résolution spatiale des images est inversement proportionnelle à la fréquence des ultrasons utilisée. Par exemple, en considérant une sonde émettant à 1MHz, on obtiendra une précision d'environ 1mm, alors qu'avec des ondes à 15 MHz on est proche de 100µm. Il semblerait donc évident d'utiliser la fréquence la plus élevée possible (40MHz aujourd'hui). Cependant, un autre paramètre essentiel de la qualité d'imagerie est étroitement lié à ce premier : l'atténuation du signal en profondeur. En effet, plus la fréquence des ultrasons est élevée, plus ceux-ci s'atténueront rapidement au sein des tissus. Ainsi, aucune image ne pourra être exploitable en profondeur si la fréquence des ultrasons est trop élevée.

Il est donc essentiel de considérer cette fréquence d'ultrasons, intrinsèque à la sonde, selon le compromis qui est fait entre la résolution spatiale de l'image et la taille du champ d'observation (profondeur et largeur) souhaité.

b) L'imagerie par effet Doppler

L'effet Doppler est un principe physique présenté et expliqué pour la première fois en 1842 par Christian Doppler. Ce phénomène est couramment illustré avec la perception de la tonalité des sirènes des ambulances qui varie selon si le véhicule se rapproche (le son perçu est plus aigu) ou s'éloigne (le son perçu est plus grave). C'est grâce à celui-ci qu'il est possible de mesurer des vitesses et nous allons expliquer comment.

Considérons un émetteur d'onde sonore à fréquence fixe. Si celui-ci est immobile, (ainsi que le récepteur), le son perçu aura toujours la même tonalité (la fréquence captée est la même que celle émise). Cependant, si l'émetteur est en mouvement par rapport au récepteur, la fréquence qui sera captée sera légèrement différente dû à l'ajout d'une composante dépendante de la vitesse relative entre les deux objets (Figure 11). Dans notre cas, seul le réflecteur est en mouvement. Si l'on connaît la fréquence émise, en mesurant la fréquence perçue il est possible de connaître la vitesse du réflecteur par la formule suivante :

$$v = \frac{(f_{reçue} - f_{émise}) * c}{2 * f_{émise} * \cos(\theta)}$$

Où c désigne la célérité de l'onde dans le milieu de propagation et θ l'angle entre la trajectoire de l'objet et le récepteur.

Il est à noter qu'en réalité pour l'imagerie Doppler ultrasonore, c'est le Doppler impulsionnel qui est exploité. La méthode reste similaire mais il existe une nuance au sens physique qui ne sera pas détaillée dans ce rapport.

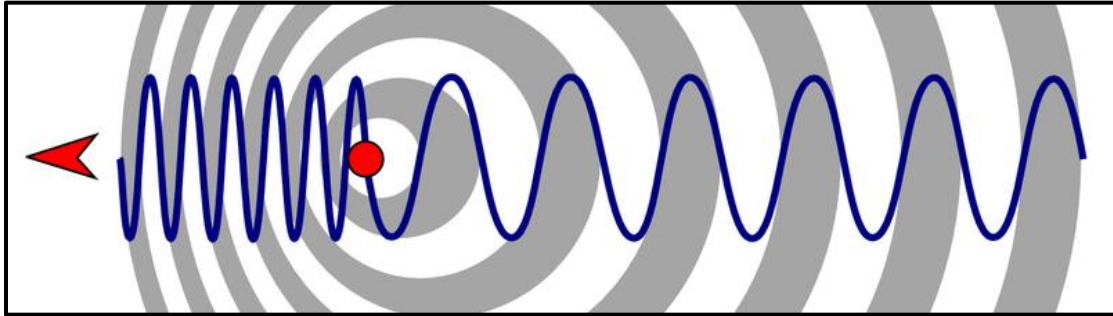


Figure 11: illustration de l'effet Doppler. Le point rouge (émetteur d'ondes à fréquence fixe) est en mouvement vers la gauche. La fréquence des ondes perçues va être plus élevée si le capteur se situe à gauche, ou plus basse s'il se situe à droite.

En exploitant ce phénomène physique au domaine de l'imagerie ultrasonore, il devient alors possible de mesurer la vitesse de flux sanguins. En effet, la sonde émet des ondes acoustiques à une fréquence donnée. Les échos vont être perçus par cette même sonde, mais en plus d'analyser le temps mis pour les recevoir (ce qui permet de déterminer la distance réflecteur-sonde), on mesurera la fréquence de ces derniers pour ainsi déterminer la vitesse relative des réflecteurs (les globules rouges) qui les a produits. Ces acquisitions sont réalisées par balayage, c'est-à-dire, par succession d'émission/réception des éléments piézoélectriques.

Avec cette méthode on peut obtenir des images suffisamment bien résolues (Figure 12) pour détecter certaines pathologies vasculaires par exemple.

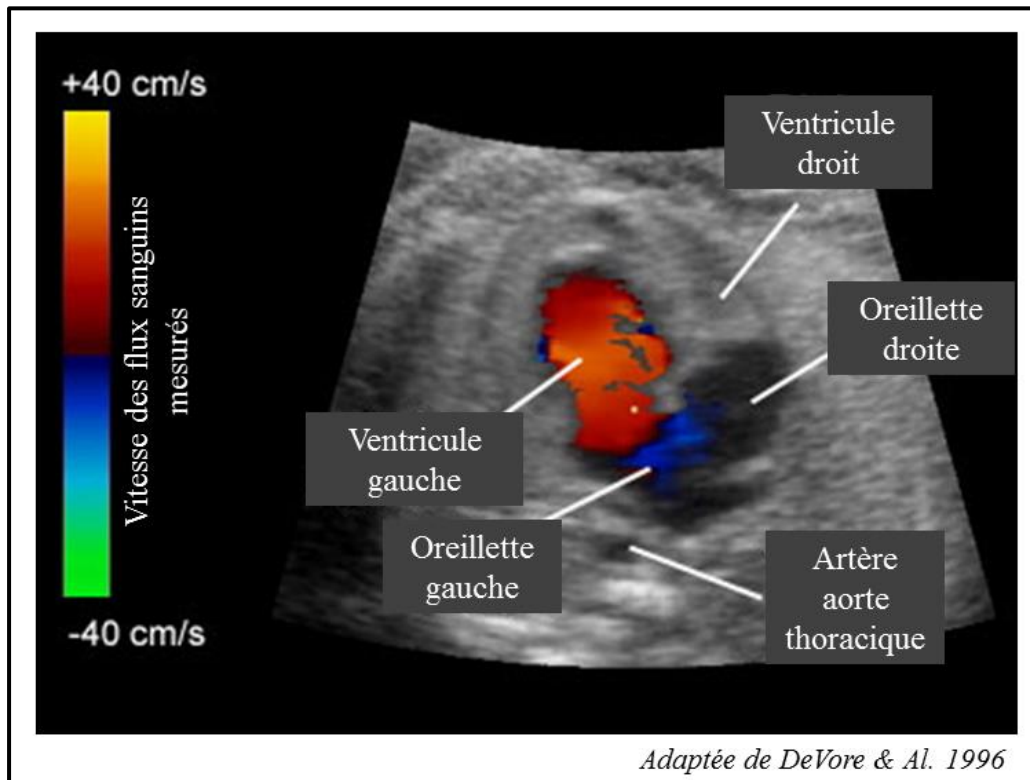


Figure 12: Exemple d'une acquisition Doppler en échographie cardiaque. La vitesse des flux sanguins dans le cœur est ainsi mesurée et représentée par une échelle de couleurs (gauche). Des vitesses négatives indiquent que le sang s'éloigne de la sonde d'enregistrement.

Nous avons donc vu comment les ultrasons médicaux pouvaient mesurer des flux sanguins grâce au Doppler conventionnel. Cependant, les résolutions spatiale et temporelle actuelles ne permettent pas d'imager avec précision les variations au niveau des capillaires. Ce sont pourtant celles qu'il faut cibler pour étudier l'activité du cerveau avec précision.

c) L'imagerie ultrasonore ultrarapide

La technique d'échographie a ensuite été modifiée pour augmenter les cadences d'acquisition et développer l'imagerie fonctionnelle ultrasonore ultrarapide permettant de distinguer les flux sanguins à l'échelle des capillaires. Les prémices de cette stratégie ultrarapide remontent aux années 70 (Bercoff et al., 2011; Delannoy et al., 1979; Sandrin et al., 1999; Tanter et al., 2002).

Au lieu de réaliser une mesure en un point répétée progressivement sur tous les éléments de la sonde, le principe consiste à émettre et réceptionner les ondes ultrasonores avec tous les

éléments simultanément sous forme d'ondes planes. Avec un transducteur composé de 128 piézoélectriques, la fréquence d'acquisition ne sera pas multipliée par 128 fois mais en réalité bien plus, car les faisceaux ultrasonores individuels sont focalisés à différentes profondeurs tandis que l'onde plane procure des informations sur toute la profondeur d'imagerie. La figure 13 illustre ces différences de principe des deux méthodes (Tanter and Fink, 2014).

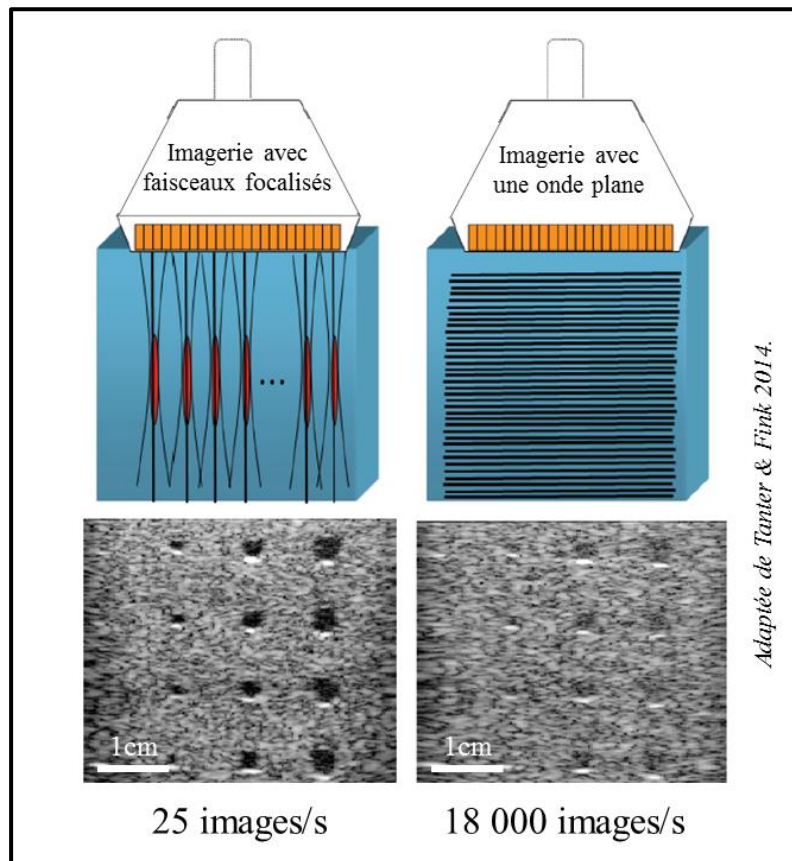


Figure 13: Comparaison des techniques utilisées pour l'imagerie ultrasonore : Focalisée ou par ondes planes.

Grâce à la technique ultrarapide, il devient possible de passer d'une fréquence d'échantillonnage de 25 images/seconde à près de 18 000 image/s ! Cependant, Lorsque l'on observe le rapport signal sur bruit de l'acquisition (notamment au niveau des contrastes sur un fantôme de tissu) il apparaît immédiatement que la qualité individuelle des images est plus réduite. En effet, il n'y a aucune focalisation des ultrasons. Pour pallier à ce phénomène, l'alternative consiste à focaliser de manière « synthétique » grâce à l'émission d'ondes planes émises avec différents angles. En effet, plus le nombre d'inclinaisons utilisées est élevé, plus le contraste de l'image est bon. Ce gain a été quantifié (Montaldo et al., 2009) et le rapport signal sur bruit augmente proportionnellement avec la racine carré du nombre d'angles utilisés. En

contrepartie, la fréquence d'échantillonnage s'en voit forcément réduite (de 18 000 images/seconde pour un seul angle à 350 images/seconde pour 40 angles) (Figure 14).

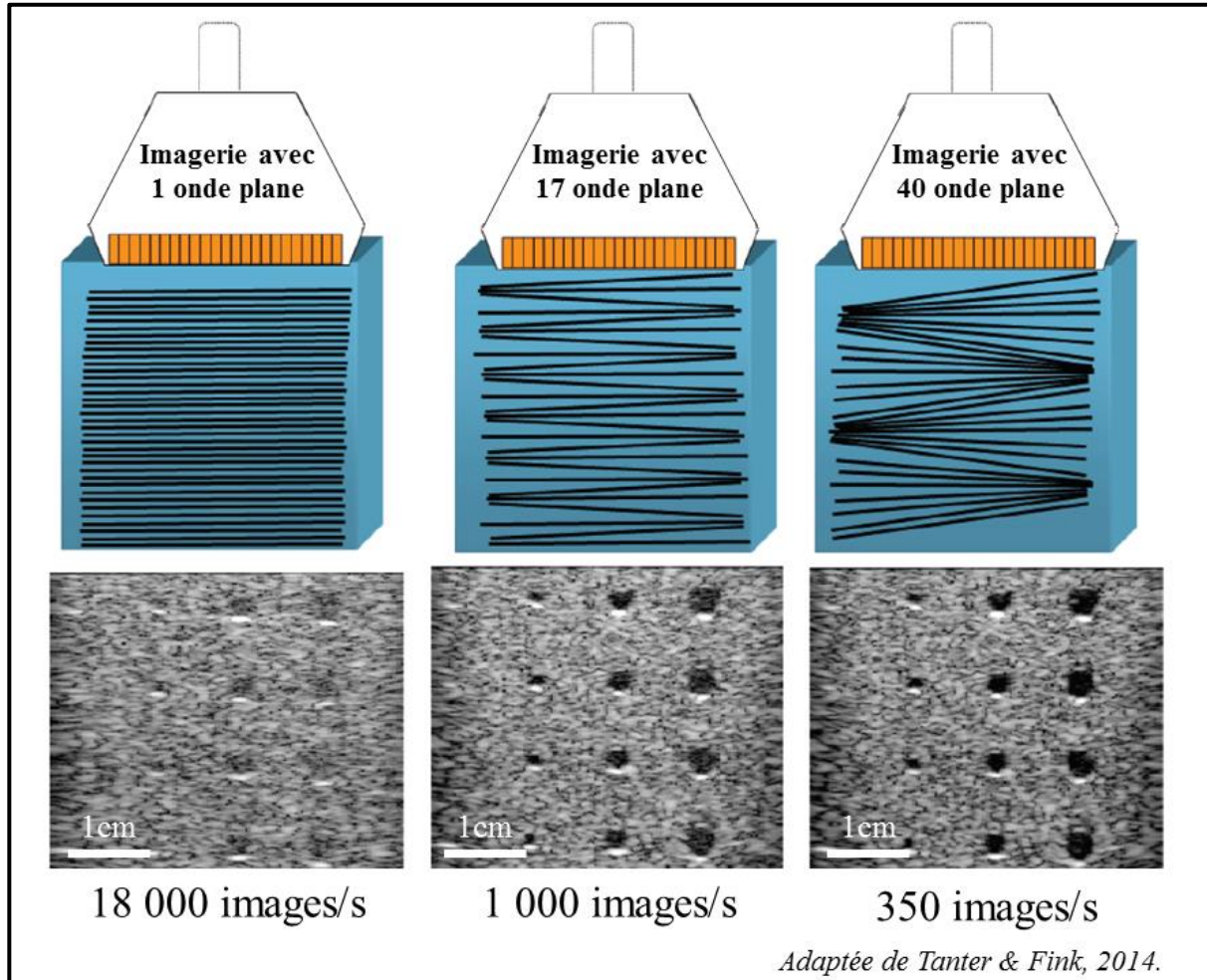


Figure 14: Comparaison de fréquences d'échantillonnage et d'images obtenues selon le nombre d'angles utilisés pour une imagerie par ondes planes.

Pour chaque application, il est donc question de trouver le meilleur compromis entre la qualité d'image souhaitée et la fréquence d'échantillonnage minimale. Cette question s'est posée en particulier pour la mesure des flux sanguins au sein des capillaires cérébraux avec une sensibilité suffisante pour produire une imagerie fonctionnelle.

d) L'imagerie fonctionnelle ultrasonore ultrarapide

L'aspect fonctionnel de l'imagerie ultrasonore ultrarapide requiert l'association de cette technique avec l'effet Doppler. En recoupant ces deux principes, il devient possible d'enregistrer des séquences de la dynamique vasculaire cérébrale. Après traitement des signaux par filtrage spatial, décomposition en valeurs singulières et divers filtrages fréquentiels, les données sont présentées sous la forme d'une matrice 3D (les deux premières dimensions représentent l'image en profondeur, la 3^{ème} dimension représente le temps de l'acquisition). La valeur de ces pixels est une « puissance Doppler » qui est en réalité une unité arbitraire proportionnelle au volume sanguin cérébral (ou CBV pour « Cerebral Blood Volume »). En d'autres termes, chaque pixel correspond à un volume (dans notre cas : $\sim 100 \times 100 \times 400 \mu\text{m}^3$) dont le signal doppler est proportionnel au nombre de globules rouges contenus dans celui-ci puisque ces globules en mouvement constituent la majorité des éléments Doppler-rélecteurs, d'où l'appellation du paramètre : CBV (Rubin et al., 1994). De plus, étant donné que les acquisitions de CBV sont régulières (dans notre cas : une toutes les secondes il est possible d'enregistrer l'évolution de ce CBV au cours du temps.

Il est important de prendre en considération deux éléments importants quant à cette mesure du CBV :

- Au vu de la complexité et de la diversité de l'architecture de la vascularisation cérébrale (et même corticale) (Scremin, 2012), il est évident qu'au sein d'un pixel on enregistre plusieurs vaisseaux de tailles différentes (du capillaire de quelques micromètres à l'artériole d'environ $30 \mu\text{m}$), et de dynamiques opposées (veinules et artérioles). Bien qu'il soit possible de distinguer et même, d'isoler ces flux les uns des autres en post-traitement (Gesnik, 2017; Macé et al., 2011), il faut en avoir conscience lors de l'utilisation de cette méthode.
- A une autre échelle mais dans une logique similaire, la variation de CBV au sein d'un pixel peut résulter d'une augmentation de l'activité d'une multitude de neurones selon leur densité dans la structure en question. En considérant une grandeur de 100 millions de neurones/gramme de cortex (Collins et al., 2010), pour une résolution spatiale de $100 \times 100 \times 400 \mu\text{m}^3$ (ce qui est notre cas), on peut calculer qu'un pixel contient environ 400 neurones. C'est un facteur essentiel à prendre en compte pour l'interprétation des images. De plus, il est souvent probable qu'un groupement de cellules actives dans un pixel, engendre une augmentation du CBV dans le(s) pixel(s) voisin(s), uniquement dû

au fait que le sang circule dans un système fermé et que l'apport de nutriments/oxygène peut se faire par diffusion dans le milieu interstitiel (Carandini et al., 2015; Denfield et al., 2016).

ii. Applications de la fUSi

Cela fait près de 7 ans (en 2018) que la fUSi a été développé pour la première fois (Macé et al., 2011). C'est E. Macé qui a cartographié en premier des réponses cérébrales à la suite de stimulations des vibrisses sur rat anesthésié. Elle a également étudié la propagation corticale et sous-corticales de crises épileptiformes au cours du temps (toujours chez le rat anesthésié) grâce à cette technique.

B.F. Osmanski a ensuite exploité cette imagerie fonctionnelle en cartographiant le système olfactif chez le rat sain anesthésié. Il a pu mettre en évidence une certaine organisation spatiale des odeurs dans le bulbe olfactif, organisation qui ne se retrouve pas au niveau du cortex piriforme antérieur (Osmanski et al., 2014a). Les acquisitions ont été réalisées à travers un amincissement crânien et non une craniotomie.

B.F. Osmanski a également étudié (dans la même année) la connectivité intrinsèque des aires du cerveau du rat anesthésié dans différents plan d'imagerie. Il a ainsi pu apporter une nouvelle vision des cartographies fonctionnelles des réseaux neuronaux déjà mis en évidence par d'autres méthodes (Osmanski et al., 2014b).

A. Urban a démontré la possibilité d'utiliser la méthode d'imagerie après l'amincissement crânien pour des observations répétées à long terme sur le rat anesthésié. Dans ce cas, les réponses hémodynamiques du cortex sensoriel étaient enregistrées suite à des stimulations électriques de la patte jusqu'à 7 jours après la chirurgie initiale avec des réponses variables suivant la durée des stimulations (Urban et al., 2014). Ce même chercheur ainsi qu'un autre groupe ont ensuite fait des mesures par fUSi sur rat éveillé et mobile (Sieu et al., 2015; Urban et al., 2015). Cela a notamment été permis grâce à l'utilisation d'une sonde plus petite que celles utilisées précédemment et une optimisation du câble de la sonde. L'un a utilisé une approche avec une craniotomie chronique (ajout d'un polymère transparent en Polyméthylpentène en remplacement du crâne), lorsque l'autre a préféré une craniotomie totale.

L'introduction de microbulles de $1\mu\text{m}$ à $5\mu\text{m}$ de diamètre dans le système sanguin produit un effet agent de contraste pour la fUSi (Errico et al., 2016). De par la nature de l'air, les microbulles provoquent une plus grande réflexion des ondes ultrasonores que les globules rouges. Cette augmentation du contraste a permis sur des rats anesthésiés d'observer une réponse corticale suite à une stimulation électrique du nerf sciatique directement à travers un crâne intact (Errico et al., 2016).

La technique a récemment permis de montrer que la lumière peut induire une vasodilatation des vaisseaux cérébraux, chez le rat anesthésié (Rungta et al., 2017).

La fUSi a été appliquée sur la souris éveillée sur des expériences longitudinales jusqu'à 1 an pour montrer que cette méthode est applicable chez ce modèle, sans nécessiter une craniotomie étant donné l'épaisseur restreinte du crâne, et pour des expérimentations sur de longues périodes (Tiran et al., 2017).

R. Rau & Al. ont également développé la fUSi en 2018 pour l'étude du système visuel et auditif chez le pigeon éveillé.

Depuis 2017, les premières publications montrent l'intérêt diagnostique de la technologie fUSi chez le patient humain dans les deux contextes suivants (Deffieux et al., 2018; Demene et al., 2017, 2018; Imbault et al., 2017):

- Lors d'interventions chirurgicales impliquant des tumeurs et dont la craniotomie était nécessaire. Une activation des aires somatosensorielles et motrices a pu être enregistrée.
- Chez le nourrisson, la fontanelle est encore transparente aux ultrasons (car la soudure osseuse n'a pas encore eu lieu) permettant ainsi de localiser des zones à l'origine de troubles neurologiques.

Bien que non appliquée au cerveau jusqu'à aujourd'hui, J. Provost a développé en 2014 une nouvelle sonde composée de 32×32 éléments piézoélectriques et a ainsi pu cartographier en 3D et mesurer les flux de l'artère carotide par fUSi (Provost et al., 2014, 2015). Ce type de sonde appliqué au système cérébral pourrait permettre une grande avancée dans l'imagerie 3D fonctionnelle par fUSi.

II. Le système visuel

Dans cette partie, l'objet est de décrire le cheminement des signaux visuels de l'œil jusqu'à son intégration dans les aires visuelles cérébrales. L'idée est de montrer comment le traitement de l'information visuelle suit un traitement parallèle tout le long du circuit. Enfin, mon étude portant sur le rat et le primate, nous préciserons les spécificités du système visuel des primates par rapport à celui des rongeurs notamment avec la présence de la macula et une organisation corticale fonctionnelle plus complexe.

A. L'œil, le récepteur

L'œil est la première structure impliquée dans l'intégration de signaux visuels puisqu'il capte la lumière, le transforme en signal électrique et le filtre (Wässle, 2004). Nous ne nous intéresserons ici qu'à la partie fonctionnelle de cet organe, c'est-à-dire, à la rétine.

i. La rétine

La rétine est l'organe qui tapisse le fond de l'œil (Figure 15), qui va capter une image et transmettre l'information jusqu'au cerveau par le nerf optique. Chez l'homme comme chez le rat, la lumière traverse la cornée, l'humeur aqueuse, le cristallin et l'humeur vitreuse avant d'atteindre la rétine. Ce chemin optique complexe permet de focaliser une image sur le fond de l'œil. Une différence notable entre la structure de l'œil humain et celle du rat (en plus de la taille) est la présence d'une fovéa qui joue un rôle essentiel dans l'organisation fonctionnelle de la vision et qui n'est présente que chez le primate (Masland, 2001; Provis et al., 2013).

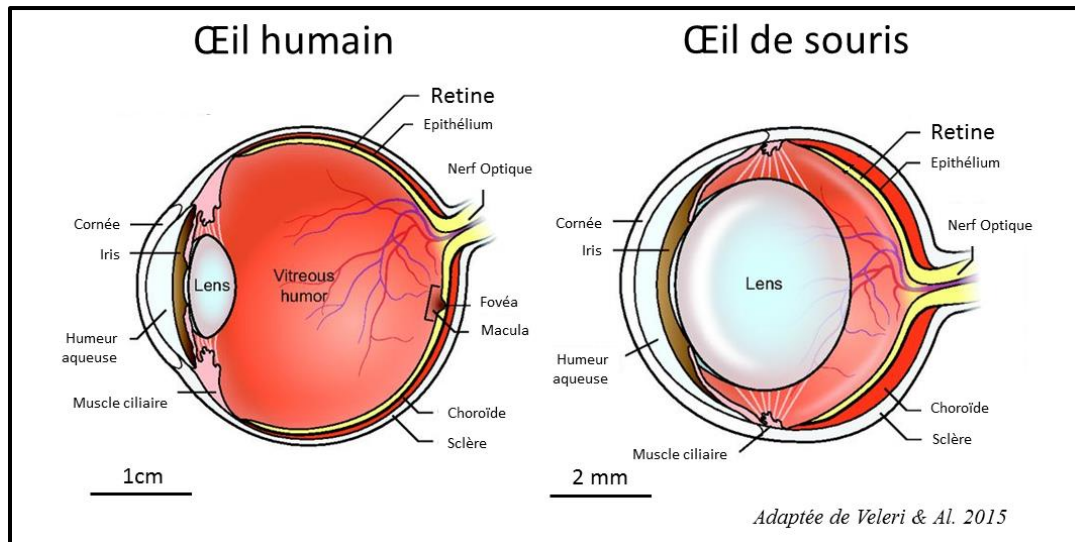


Figure 15: Schémas d'œil humain et de souris (Veleri et al., 2015)

La rétine est principalement composée de 3 couches de cellules dans lesquelles les photorécepteurs, les cellules bipolaires et les cellules ganglionnaires assurent la transmission verticale de l'information (Figure 16). D'autres types cellulaires sont présents au sein de cette structure organisée (cellules horizontales, de Müller et amacrines) qui ne feront pas l'objet d'une présentation dans cette thèse.

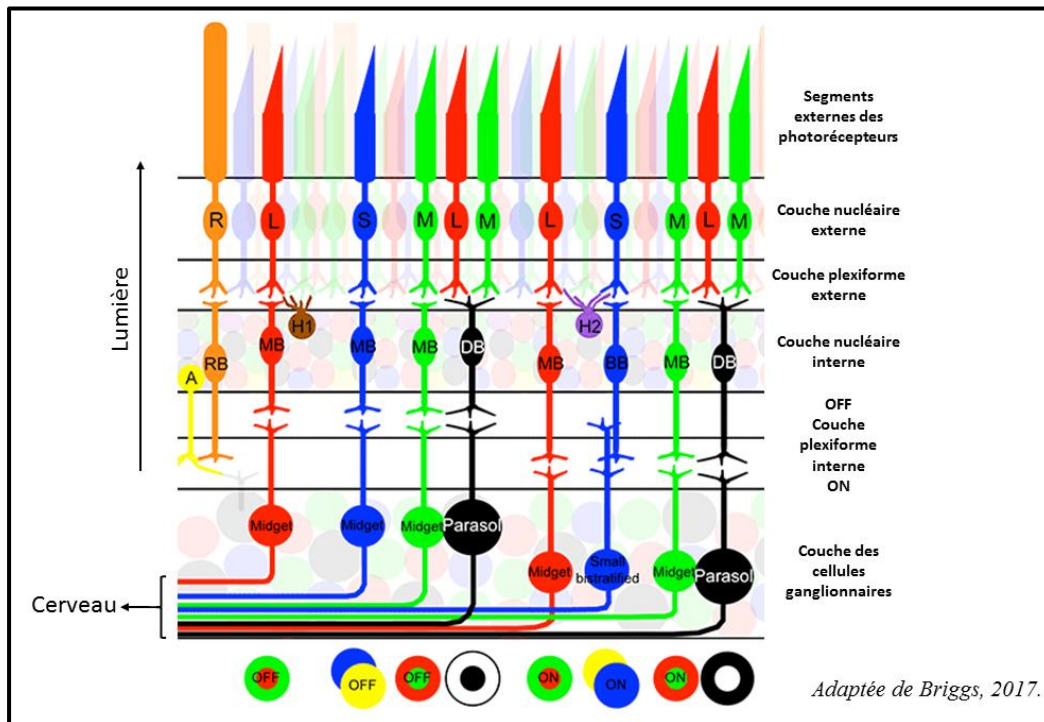


Figure 16: Composition cellulaire de la rétine (Briggs, 2017)

a) Les photorécepteurs captent la lumière

Les photorécepteurs sont des cellules nerveuses photosensibles, c'est-à-dire qu'elles peuvent transformer un signal lumineux en signal électrique grâce à des protéines membranaires appelées pigments. La rétine contient deux types de photorécepteurs (Boycott and Wässle, 1999) de structures relativement comparables : un segment externe (partie sensible à la lumière), un segment interne, un corps cellulaire et une terminaison synaptique (Figure 16).

- Les bâtonnets : très sensibles aux faibles luminosités et donc responsables de la vision nocturne.
- Les cônes : moins sensibles à la lumière, ils se distinguent en plusieurs populations de sensibilité spectrale différente offrant ainsi la perception des couleurs (Johansson, 1964). Les primates de l'ancien monde (ou « Catarhiniens ») possèdent trois sensibilités spectrales (Jacobs, 1993; Wässle, 2004) contre deux seulement pour le rat et les autres mammifères (Jacobs et al., 2001; Szél and Röhlich, 1992; Yokoyama and Radlwimmer, 2001)
 - Les S-cônes (pour « Short-cones ») ou cônes bleus, sensibles aux faibles longueurs d'onde (primate : 420nm, rat : 359nm).
 - Les M-cônes (pour « Medium-cones) ou cônes verts, sensibles aux longueurs d'onde moyennes (primate et rat : 531nm).
 - Les L-cônes (pour « Long-cones ») ou cônes rouges uniquement présents chez les primates, sensibles aux longueurs d'onde élevées (559nm).

Chez les primates, la répartition centrale des photorécepteurs est particulière avec la fovéa qui concentre uniquement des cônes en très haute densité (Figure 15). La très haute densité en cônes permet une acuité visuelle élevée. A l'inverse, en vision périphérique (sur l'extérieur de la rétine), la densité des cônes est très réduite par rapport à celle des bâtonnets (Grünert and Martin, 1991; Hendrickson, 1994; Packer et al., 1989). Chez le rat, les UV-cônes (ou S-cônes) sont essentiellement situés dans la partie inférieure de la rétine (vision du champ visuel supérieur) contrairement aux M-cones (Jacobs et al., 2001).

Il est ainsi possible de remarquer que la première couche de cellules de la rétine est déjà organisée structurellement et fonctionnellement. Les photorécepteurs sont dépolarisés à l'obscurité libérant en continu leur neuromédiateur, le glutamate, et vont s'hyperpolariser sous

l'effet de la lumière. Ce signal électrique généré par les photorécepteurs est ensuite transmis à la couche suivante : les cellules bipolaires.

b) Les cellulaires bipolaires

Il existe une grande diversité de cellules bipolaires qui sont classées selon leur morphologie, leur connexions aux cellules voisines et leur comportement fonctionnel (Connaughton et al., 2004; Euler et al., 1996; Kolb et al., 1981; Wu et al., 2000).

Hormis dans la région centrale de la rétine, les cellules bipolaires intègrent les signaux de plusieurs photorécepteurs, qu'il est d'ailleurs possible de quantifier (Behrens et al.). Le premier critère fonctionnel de classification est basé sur leur réponse à la lumière et donc à la libération de glutamate par les photorécepteurs (Ayoub and Copenhagen, 1991). A l'inverse des photorécepteurs, les cellules bipolaires ON sont dépolarisées sous l'effet de la lumière alors que les cellules bipolaires OFF sont hyperpolarisées comme les photorécepteurs (Nawy and Jahr, 1990, 1991). Certaines vont avoir des réponses soutenues sous l'effet d'une augmentation ou diminution de lumière alors que d'autres ont des réponses plus transitoires (Awatramani and Slaughter, 2000).

Un autre critère de classification est le type de photorécepteurs auxquels elles sont liées synaptiquement, cônes ou bâtonnets. Les cellules horizontales jouent également un rôle important dans la modulation et la transmission du signal des photorécepteurs (Boycott et al., 1987). Ce rôle porte notamment sur l'introduction d'un contraste rouge/vert, ou bleu/jaune (Dacey and Lee, 1994; Ghosh et al., 1997; Ii et al., 1999). Pour les cellules bipolaires aux bâtonnets, leur information visuelle transite via les cellules amacrines AII pour être intégrée dans les cellules bipolaires à cônes (Smith et al., 1986; Strettoi Enrica et al., 2004).

Enfin, il est possible de distinguer des cellules bipolaires selon la morphologie de leur arbre dendritique, et également selon la position et l'étendu des axones ciblant les cellules ganglionnaires et/ou amacrines (Kolb, 1970).

Pour conclure, de par la multitude de cellules bipolaires (qui ont une morphologie et des comportements fonctionnels différents), de cellules horizontales, d'amacrines et selon les réseaux qu'elles peuvent former entre elles, cette seconde couche de la rétine a une importance majeure dans le filtrage et l'intégration des signaux visuels.

c) Les cellules ganglionnaires

Une fois que les cellules bipolaires ont transmis le signal à la dernière couche de la rétine, c'est-à-dire, aux cellules ganglionnaires, ces dernières vont intégrer et transporter l'information jusqu'au cerveau. Comme les photorécepteurs, les cellules bipolaires ont des réponses graduées à la lumière alors que la transmission des informations visuelles impose un codage en fréquence de potentiels d'action. Les cellules ganglionnaires vont donc opérer cette transformation de l'information visuelle. La diversité des cellules bipolaires se retrouvent dans la diversité morphologique des cellules ganglionnaires et dans leurs réponses à la lumière (Kuffler, 1953). Ces réponses ON et/ou OFF suivant les stimulations, soit centrales, soit périphériques peuvent être toniques ou phasiques, avoir des champs récepteurs variables, avoir une sensibilité aux contrastes, aux mouvements ou aux couleurs... Certaines cellules ganglionnaires, dites « à mélanopsine », sont spécialisées dans les rythmes circadiens et le contrôle de la contraction de l'iris (Berson et al., 2002; Lucas et al., 2001). Chez les primates, la très haute acuité visuelle dans la fovéa est assurée par des cellules ganglionnaires dites « midget » qui assurent une connexion 1:1 avec leur cellule bipolaire midget, ces dernières pouvant également se lier à un seul cône. Ce câblage spécifique concerne les cônes rouges et verts alors que les cônes bleus seraient relayés par des cellules bipolaires bistratifiées ON/OFF connectées à des cellules ganglionnaires bistratifiées ON/OFF. Les cellules ganglionnaires dites « parasol » ont un arbre dendritique très large car elles permettraient d'opérer des opérations complexes sur les mouvements et la détection d'objets (opposées aux « midget cells »).

Le regroupement des axones de tous ces neurones composent le nerf optique et projettent vers le corps genouillé latéral (ou LGN pour « Lateral Geniculate Nucleus ») (Figure 17), mais aussi vers le colliculus supérieur et d'autres régions du système optique accessoire comme le noyau suprachiasmique ou le noyau pretectal (Giolli, 1963; Moore, 1973; Weiskrantz and S, 1990). Les proportions des projections selon les aires sont variables selon les espèces (Ellis et al., 2016; Gauvain and Murphy, 2015; Perry and Cowey, 1984; Perry et al., 1984).

Les nerfs optiques des deux yeux se recoupent au niveau du chiasma optique (Figure 17), en amont du LGN. Il y a un « échange » des fibres selon les cellules ganglionnaires correspondantes (et notamment selon la position de leur arbre dendritique au sein de la rétine (Figure 17)). Il est intéressant d'étudier la différence de ségrégation des fibres selon les deux modèles : chez le rongeur, 96% des fibres seront projetées dans le LGN controlatéral alors que

chez le primate, c'est « uniquement » 55% (Dräger, 1974; Godement et al., 1984; Hubel and Wiesel, 1977; Neveu and Jeffery, 2007; Polyak, 1957; Priebe and McGee, 2014). Nous reviendrons sur le devenir de ces projections dans le LGN et ce qu'induit cette division des fibres.

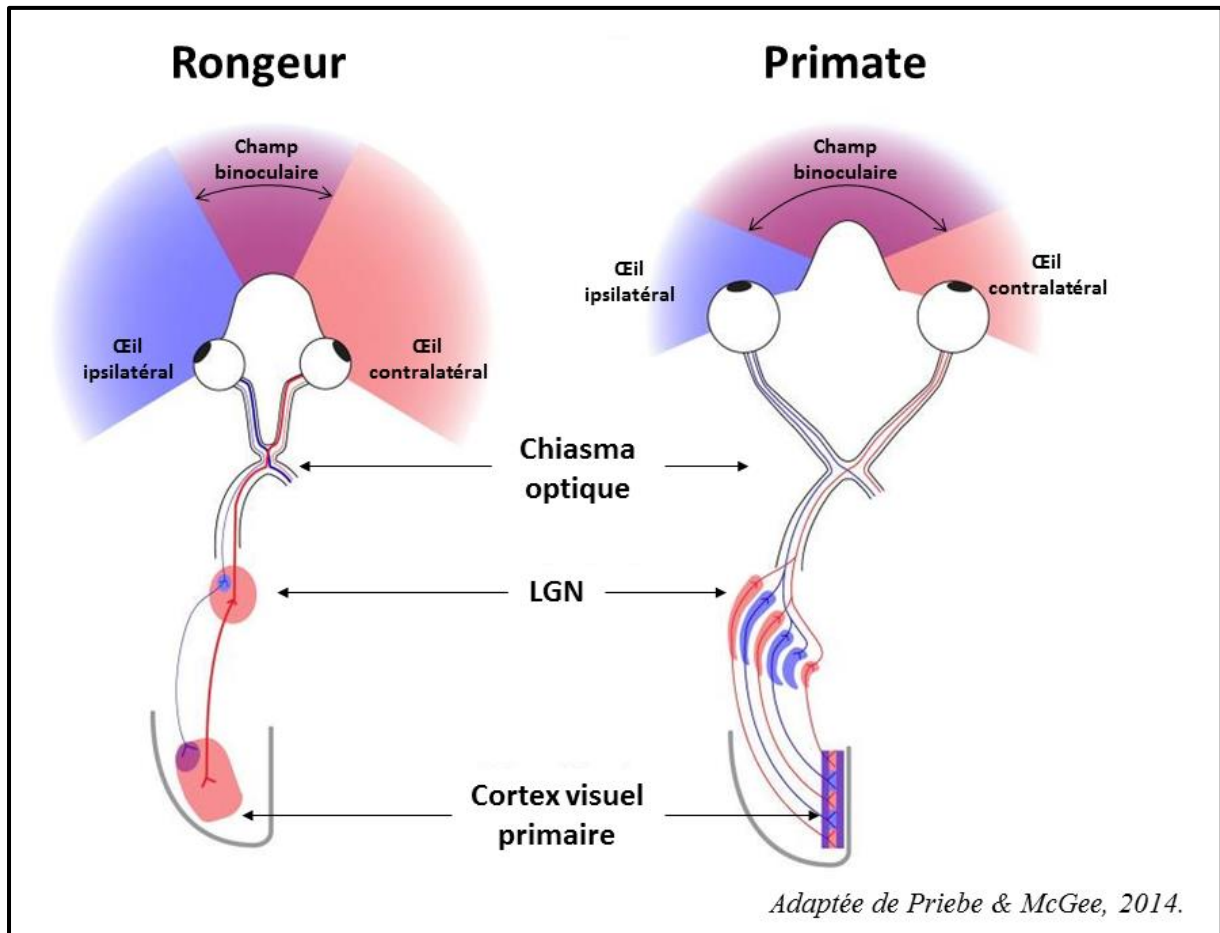


Figure 17: Représentation schématique des Chemins visuels chez le rongeur et chez le primate.

Dans la rétine, l'organisation cellulaire en couches aboutit à une importante convergence de l'information : plusieurs photorécepteurs sont connectés à une cellule bipolaire, plusieurs cellules bipolaires sont connectées à une cellule ganglionnaire. Cette convergence permet la production de champs récepteurs pour les cellules ganglionnaires. C. S. Sherrington est le premier à décrire en 1906 la notion de champs récepteurs suite à l'observation du réflexe de grattage chez le chien (Sherrington, 1920). C'est ensuite H.K. Hartline qui a transposée cette notion aux cellules ganglionnaires de la rétine (Hartline, 1969; Hartline H., 1938).

Le champ récepteur d'une cellule ganglionnaire est la zone de la rétine qui, lorsqu'elle est stimulée par la lumière, provoque une réponse de celle-ci. Cette réponse peut être une augmentation de la fréquence de décharge (cellules ON) ou une diminution (cellules OFF) pour la stimulation de la zone centrale (Figure 18). Ce champ récepteur est organisé en centre/pourtour avec une inversion de la polarité des réponses suivant la zone stimulée par la lumière (Figure 18). Il existe en réalité une multitude de champs récepteurs qui varient en taille, en sensibilité et en fonctionnalité (Bytautiene and Baranauskas, 2017; Enroth-Cugell and Pinto, 1972; Fukuda et al., 1979; Hubel and Wiesel, 1959; Koehler et al., 2011; Prévost et al., 2007) .

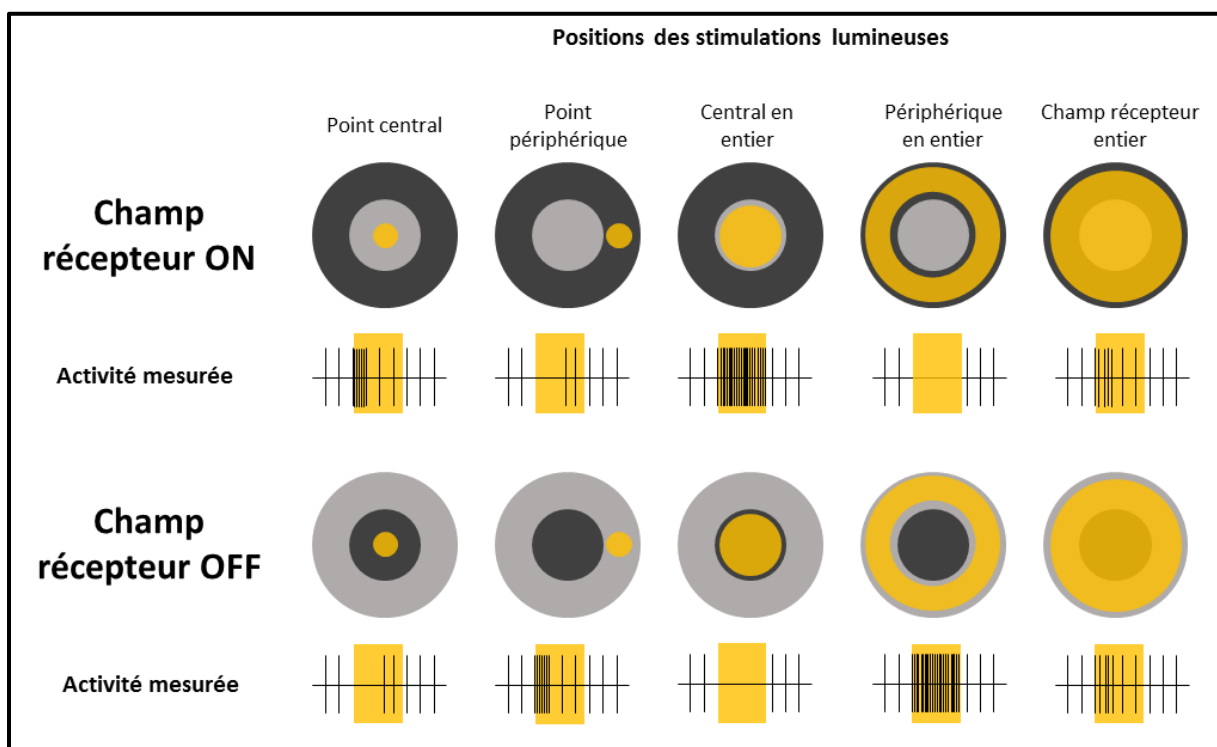


Figure 18: Les deux types de champs récepteurs de cellules ganglionnaires et leur réponse selon la taille et la position des stimulations.

Cette organisation élémentaire est à la base de tous les traitements de l'information visuel. La rétine étant composée d'une mosaïque de champs récepteurs qui se chevauchent.

ii. La projection du champ visuel sur la rétine

Maintenant que la composition et les fonctions de la rétine ont été décrites à l'échelle cellulaire, il est intéressant de remettre le sujet dans un contexte plus macroscopique.

Le champ visuel est la région spatiale visible pour un sujet lorsque sa tête est fixe. Lorsque l'on ne considère qu'un seul œil, on parle de champ visuel monoculaire (représentés en bleu et rose saumon sur la Figure 17). Selon la position des yeux (et leur morphologie), les deux champs visuels monoculaires peuvent se recouper : cette zone de chevauchement est appelée le champ visuel binoculaire (Figure 17).

Considérons maintenant que la position de l'œil est fixe (lorsqu'un individu fixe un point par exemple). On parle d'excentricité lorsque l'on évoque la distance entre le point de fixation et le point périphérique considéré. Celle-ci est mesurée en degré d'angle visuel. Pour avoir une idée approximative, 1 degré correspond à environ 1cm sur un objet situé à 50cm de l'œil. Ainsi, il y a une projection linéaire entre l'excentricité et la taille sur la rétine : 1 degré de champ visuel correspond à environ 300µm sur la rétine Chez le primate (Provis et al., 2013). Nous verrons dans les prochaines parties que la projection n'est pas obligatoirement linéaire au niveau du cortex visuel.

Lorsque l'on parle de vision centrale, cela correspond à la zone maculaire sur la rétine, c'est-à-dire 5° à 10° d'excentricité. A l'inverse, la vision périphérique correspond à la zone plus excentrique.

Une représentation rétinotopique d'une structure visuelle est une projection spatiale du champ visuel sur celle-ci. Nous verrons qu'elle existe à tous les niveaux mais avec des degrés de complexité différents (selon la structure et l'espèce considérées).

B. Le Noyau Géniculé Latéral (LGN)

Comme il a été mentionné dans la partie ci-dessus, la majorité des cellules ganglionnaires projettent leur axone au sein du thalamus et plus précisément, au sein du corps genouillé latéral (ou LGN pour « Lateral Geniculate Nucleus ») pour la voie rétino-corticale (Perry and Cowey, 1984). Cette structure est un relais de l'information visuel car les neurones qui le composent projettent ensuite vers le cortex visuel (Figure 17).

i. Chez le rat :

Chez le rat, les projections des cellules ganglionnaires se font sur la face dorsale du LGN. La structure de celui-ci est peu complexe comparée à celle du primate (voir ci-dessous).

On peut observer deux niveaux d'organisation du LGN :

- Chaque LGN reçoit des axones provenant de chaque œil. Cependant, seuls 5% proviennent de l'œil ipsilatérale (Assali et al., 2014; Petros et al., 2008). Il est possible de localiser et distinguer deux zones selon l'origine des neurones (Figure 19).
- Il existe un agencement spatial organisé des neurones réalisant ainsi une projection de la position des cellules ganglionnaires au sein de la rétine (Figure 19).

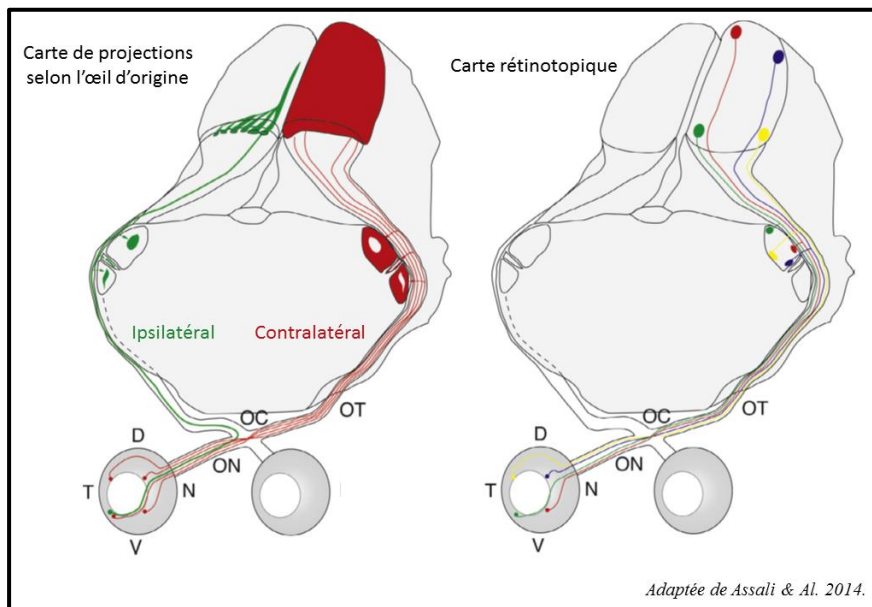


Figure 19: Organisation des projections de la rétine au sein des structures sous-corticales chez le rongeur. V :Ventral ; D :Dorsal ; N :nasal ; T :Temporal ; ON : Nerf Optique (« Optic Nerve ») ; OC : chiasma optique (« Optic Chiasm ») ; OT : tractus optique (« Optic Tract ») ;

ii. Chez le primate

Chez le primate, le LGN est composé de 6 couches identifiables qui semblent se replier sur elles-mêmes (Figure 20) (Harrington, 1964; Hooser and Nelson, 2005).

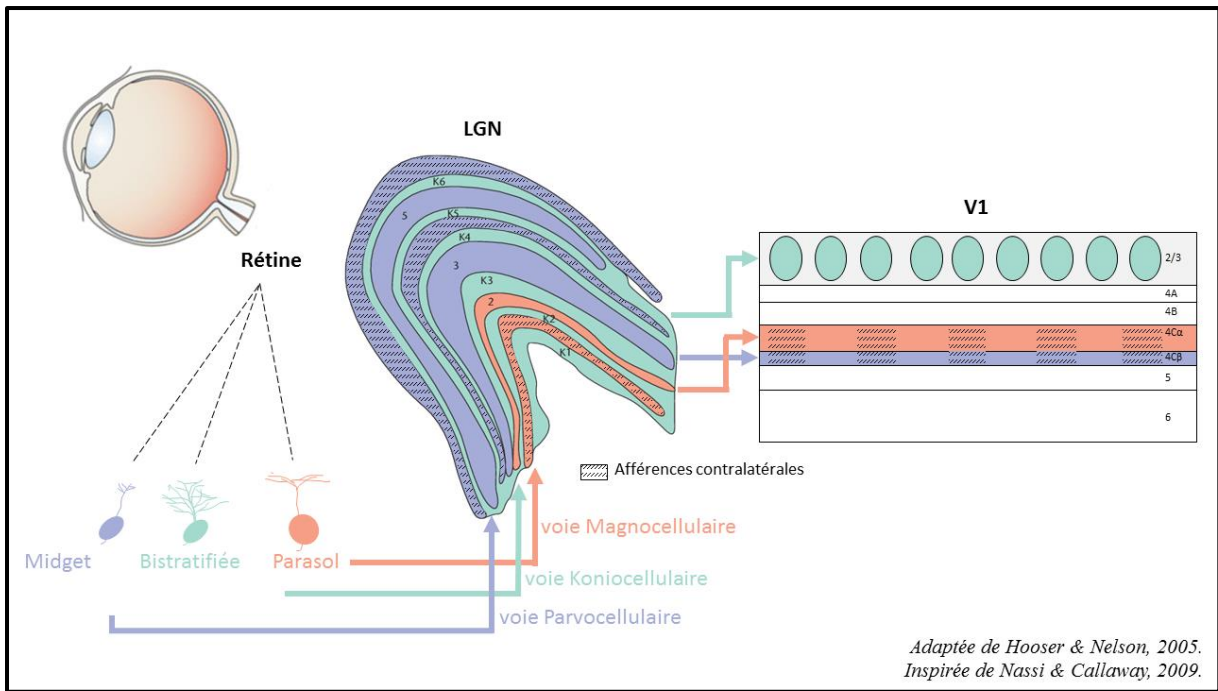


Figure 20: Schéma du LGN et de V1 (primate) en coupe mettant en évidence les 6 couches du LGN et de V1 et les trois voies Magno, Parvo et Koniocellulaire. Les CO-Blobs (couche 2/3) et les bandes de dominance oculaire (couches 4C) sont également indiqués sur V1.

On peut observer trois niveaux d'organisation :

- Selon la provenance : les couches 1, 4 et 6 sont formées à partir des axones des cellules ganglionnaires de l'œil controlatéral et les couches 2, 3 et 5 à partir de ceux de l'œil ipsilatéral (Hajdu et al., 1983; Perry et al., 1984).
- Selon la position au sein de la rétine : Comme pour le rat, il est possible d'observer une projection de la position des cellules ganglionnaires au sein de la rétine dans le LGN (Daniel and Whitteridge, 1961; Kaas et al., 1972; Polyak, 1953).
- Selon la fonction (Derrington and Lennie, 1984; Hicks et al., 1983; Hubel and Livingstone, 1990; Kaplan and Shapley, 1982; Lee et al., 1979; Nassi and Callaway, 2009; Reid and Shapley, 2002; Schiller and Malpeli, 1978; Schiller et al., 1990; Shapley, 1990) (Figure 20) :
 - La voie Magnocellulaire. Elle compose les 2 premières couches du LGN. Ses neurones ont un champ récepteur large, sont très sensibles aux contrastes, et aux mouvements mais sont insensibles à la couleur. Elles sont constituées à partir des axones des cellules « parasoles ».
 - La voie Parvocellulaire. Elle compose les 4 dernières couches du LGN. Ses neurones ont un petit champ récepteur, sont peu sensibles au contraste, mais très

sensibles aux hautes fréquences spatiales et temporelles ainsi qu'aux couleurs rouge/vert. Elles sont constituées à partir des axones des cellules « midget ».

- La voie Koniocellulaire. Elle compose l'espace inter-couches du LGN mais on retrouve également certaines de ces cellules de façon ponctuelle au sein des couches. Ses neurones sont sensibles aux couleurs bleu/jaune.

Du fait de la profondeur de cette structure (que ce soit chez le primate ou chez le rongeur), les différentes cartographies fonctionnelles ont pu être mise en évidence de trois façons :

- L'analyse de coupes histologiques permet de révéler les connexions anatomiques interneurons et ainsi de suivre l'évolution du signal visuel depuis la rétine vers les aires cérébrales. Cela reste une observation anatomique et impose le sacrifice de l'animal.
- **L'enregistrement électrophysiologique multi-unitaire**. C'est la méthode d'exploration fonctionnelle historique qui a permis l'étude du LGN (Wiesel and Hubel, 1966). En effet, il est possible de descendre des électrodes suffisamment en profondeur et à différentes positions pour obtenir une cartographie de la structure. Cependant, même en considérant des grilles d'électrodes, ces expérimentations restent chronophages. De plus, afin de confirmer la (les) position(s) de la (des) électrode(s), il est en général nécessaire de réaliser le sacrifice de l'animal (quand cela est possible) pour avoir une confirmation par histologie (Piscopo et al., 2013; Vidyasagar and Urbas, 1982). Cette stratégie de cartographie reste donc très invasive.
- **L'IRMf**. Cette méthode d'imagerie fonctionnelle présente le grand intérêt d'être non invasive, et donc applicable chez l'homme. Malgré la faible résolution spatiale de cette technique, certaines équipes ont tout de même réussi à mettre en évidence l'organisation rétinotopique du LGN chez l'homme et le primate en éveillé (Figure 21) (Arcaro and Livingstone, 2017; Chen et al., 1999; Denison et al., 2014; DeSimone et al., 2015; Schneider et al., 2004).

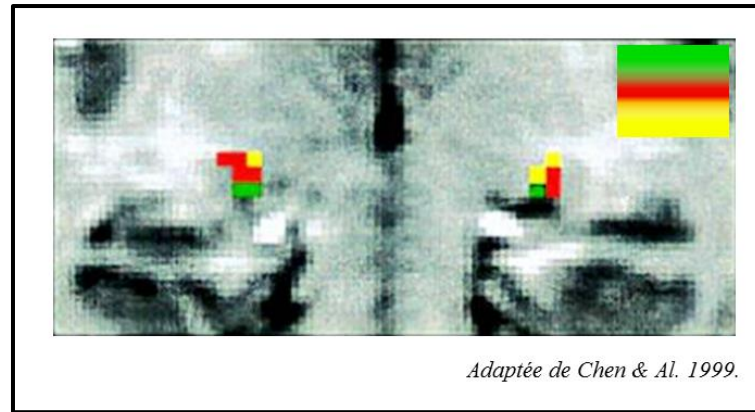


Figure 21: Représentation rétinotopique du LGN chez l'homme en IRMf. Les pixels verts indiquent les zones actives par une stimulation du champ visuel supérieur, le jaune par une stimulation du champ visuel inférieur et le rouge pour les deux.

L'information visuelle est donc de plus en plus organisée spatialement et fonctionnellement. Le LGN n'étant qu'un relais entre la rétine et le cortex visuel, nous nous intéresserons ensuite au devenir du signal au niveau des aires visuelles corticales.

C. Le Colliculus Supérieur (CS)

Le colliculus supérieur est une structure sous corticale située dans la partie dorsale du mésencéphale, qui correspond à la partie rostrale du tronc cérébral. Il reçoit une diversité d'informations sensorielles (Dräger and Hubel, 1975; May, 2006; Perry and Cowey, 1984; Triplett et al., 2012; Zingg et al., 2017) dont notamment l'information visuelle. On dit que c'est un centre intégrateur « inconscient » car il serait responsable de la plupart des réflexes, notamment ceux impliqués dans un déplacement oculaire (saccade), de tête ou pour la fuite (Liang et al., 2015; Munoz and Wurtz, 1995; Robinson, 1972; Shang et al., 2015; Shen et al., 2011; Sparks et al., 1990; Stryker and Schiller, 1975; Wei et al., 2015).

Les cellules ganglionnaires de la rétine projettent directement leur synapse après le chiasma optique (similairement au LGN, Figure 19) et cette structure reçoit également des informations d'aires corticales (Ito and Feldheim, 2018). Il existe des connexions afférentes et efférentes entre le colliculus supérieur et le cortex visuel, le LGN (Ellis et al., 2016; Krauzlis et al., 2013).

Il existe une différence notable au niveau de cette structure entre le rongeur et le primate. En effet : 10% des cellules ganglionnaires projettent vers le colliculus supérieur chez le primate

(Perry et al., 1984) alors que c'est entre 85 et 90% chez la souris (Ellis et al., 2016). Cette observation pourrait s'expliquer par le fait que les rongeurs utilisent majoritairement l'information visuelle comme indicateur de danger alors que le primate l'utilise pour d'autres aspects plus comportementaux et conscients.

A l'image du LGN, il existe plusieurs niveaux d'organisation de l'information visuelle au sein du colliculus supérieur :

- Selon l'origine des cellules ganglionnaires (ipsi ou controlatérales) : chez le rat par exemple, les fibres provenant de l'œil controlatéral seront situées sur la partie dorsale du colliculus supérieur (et à l'inverse, celles provenant de l'œil ipsilatéral seront situées sur la partie ventrale) (Figure 19).
- Selon la position des cellules ganglionnaires au sein de la rétine : on retrouve bien une organisation rétinotopique au sein du Colliculus supérieur, chez le rat comme chez le primate (Feinberg and Meister, 2015; Krauzlis et al., 2013).
- Selon l'orientation des stimulations (Ahmadlou and Heimel, 2015; Feinberg and Meister, 2015).

Comme pour le LGN, la profondeur de cette structure dans le cerveau rend l'imagerie fonctionnelle difficile. C'est pourquoi, les différentes méthodes utilisées jusqu'à maintenant sont :

- L'analyse de coupes histologiques afin d'étudier la connectivité des neurones (Ellis et al., 2016). (Voir partie [II. B. ii.] pour les avantages et inconvénients).
- **L'enregistrement électrophysiologique multi-unitaire** (Fig25) (Godement et al., 1984; Robinson, 1972).
- **L'IRMf** (DeSimone et al., 2015).

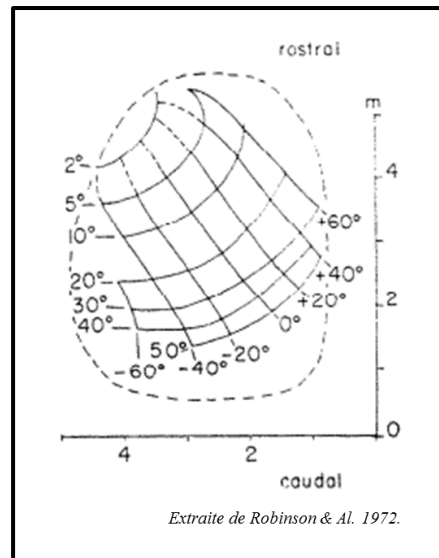


Figure 22: Représentation rétinotopique du colliculus supérieur grâce à l'étude de saccades lors d'enregistrements électrophysiologiques chez le macaque.

Cependant, grâce à une méthode de chirurgie très invasive (retirer le cortex visuel qui se trouve au-dessus du colliculus supérieur), il devient possible d'utiliser des techniques d'imagerie de surface :

- **L'imagerie calcique** (Ahmadlou and Heimel, 2015; Feinberg and Meister, 2015) (Figure 23)
- **L'imagerie optique intrasèque** (Cang et al., 2008; Triplett et al., 2009)

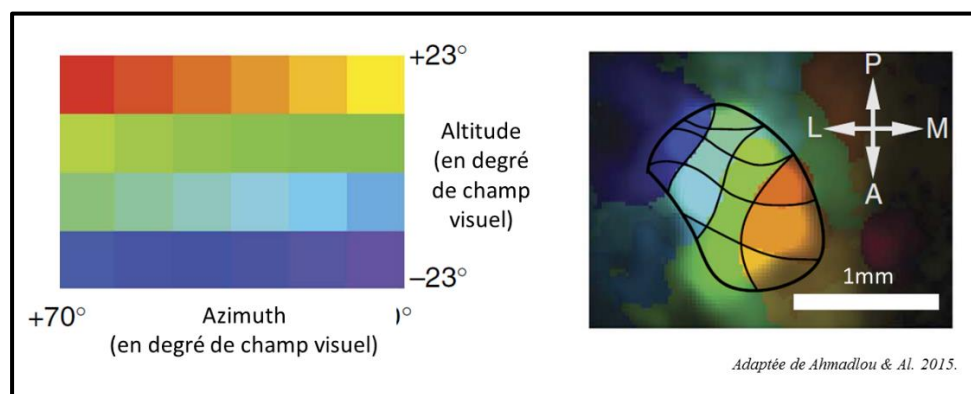


Figure 23: Représentation rétinotopique du colliculus supérieur obtenue chez la souris par imagerie calcique.

Il est évident que ces techniques ont des applications restreintes du fait de la leucotomie qui est nécessaire. De plus, elles ne peuvent cartographier qu'en surface de la structure.

Pour conclure, les deux aires sous-corticales majoritairement impliquées dans le relais et le traitement de l'information visuelle sont le LGN pour la voie consciente, et le Colliculus supérieur pour la voie réflexe (et notamment pour les saccades oculaires). Ces deux structures sont organisées spatialement à différents niveaux selon l'échelle de fonctionnalité. Etudions maintenant le traitement de l'information visuelle au niveau cortical, donc dans la formation d'images conscientes : le cortex visuel.

D. Le cortex visuel

Historiquement, c'est le neurologue et neurophysiologiste K. Brodmann qui a mis au point un atlas du cerveau au début du XX^{ème} siècle (GUILLERY, 2000). Il a tenté de distinguer spatialement certaines régions en surface du cerveau (cortex) en fonction d'observations purement structurelles à l'échelle cellulaire. Il dénombre alors 52 aires différentes. Il a ensuite attribué une fonction à chacune d'entre-elles. Ainsi, les aires 17 (Cortex visuel primaire), 18 (Cortex visuel secondaire) et 19 (Cortex visuel tertiaire) seraient impliquées dans le traitement de l'information visuelle. Cette classification reste très approximative d'après les connaissances actuelles et est donc devenue désuète avec le temps.

Le cortex visuel est la dernière structure qui intègre l'information visuelle (sans parler de certaines projections de neurones issus de celui-ci vers le Colliculus supérieur par exemple). Il est communément admis que c'est cette aire qui permet la création d'une image consciente.

La différence majeure (déjà mentionnée dans ce manuscrit) entre le rongeur et le primate est la proportion de cellules ganglionnaires qui projettent jusqu'au cortex visuel : environ 95% chez le primate (Perry and Cowey, 1984) alors que c'est uniquement 10 à 15% pour le rongeur (Ellis et al., 2016). Avec ce premier constat on peut imaginer que le cortex visuel chez le singe est, d'une part, plus exploité fonctionnellement pour récupérer des informations visuelles plus complexes ; et d'autre part, qu'il est plus organisé structurellement pour, justement, optimiser l'extraction d'attributs visuels pertinents.

i. Une segmentation des aires

Le cortex visuel est l'ensemble des neurones corticaux qui traitent l'information visuelle. Il est possible de décomposer cet ensemble en plusieurs aires mesoscopiques. Les critères de classification sont différents selon les espèces :

a) Chez le rongeur

Le cortex visuel primaire (ou cortex strié) du rongeur est principalement segmenté en deux aires distinctes selon le(s) LGN qui y projettent ses (leurs) axones : on retrouve alors le cortex visuel monoculaire et le binoculaire (Reid and Juraska, 1991; Sefton et al., 1991; Zilles et al., 1984). En effet, au niveau médial, on ne retrouve que des axones provenant du LGN ipsilatéral (et donc de l'œil controlatéral), c'est donc le cortex visuel monoculaire (V1M). A l'inverse, au niveau latéral les axones proviennent des deux LGN, c'est donc le cortex visuel binoculaire (V1B) (Figure 17). On retrouve donc une première organisation structurelle grossière dépendante de la projection du champ visuel au sein de V1.

Chez le rongeur on retrouve également du cortex extrastrié, cela indique qu'il y a un autre niveau du traitement de l'information visuelle après le cortex visuel primaire : le cortex visuel secondaire V2 ou aire 18 de Brodmann). Celui-ci reste cependant peu étudié malgré des premiers travaux dès les années 80 (Coogan and Burkhalter, 1993; Espinoza and Thomas, 1983; Malach, 1989). Il a été montré récemment que le cortex extrastrié était en réalité composé d'au moins neuf aires visuelles différentes chez la souris (Wang and Burkhalter, 2007). Cependant, les degrés de spécialisation dans le traitement de l'information, l'extraction d'attributs visuels, la sélectivité à certaines caractéristiques restent peu connus.

Certains travaux de comportements menés sur des rats ont mis en évidence grâce à des lésions du cortex que V1 était impliqué dans la discrimination d'images, d'orientation et de mouvements à l'inverse de V2 (Petrino et al., 2013). Grâce à l'imagerie optique intrinsèque et calcique biphotonique, J.H. Marshel a récemment mis en évidence que les aires extrastriées sont organisées de façon rétinotopique, mais sont aussi très spécialisées (par rapport à V1) dans la détection de hautes fréquences spatiales et temporelles, et également dans la discrimination d'orientations et de directions (Marshel et al., 2011).

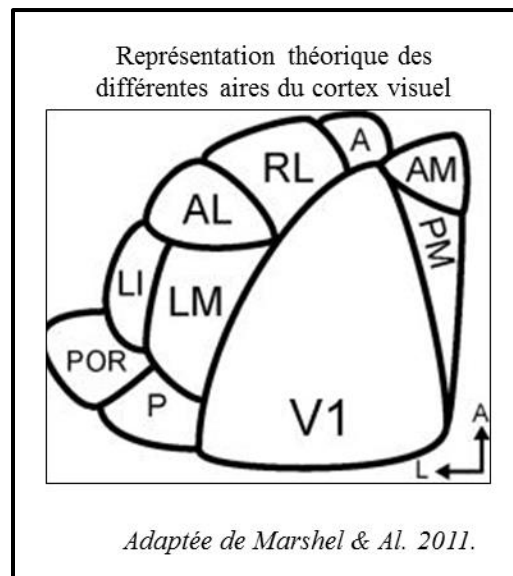


Figure 24: Extrait de Marshel & Al. 2011. Segmentations théorique des aires visuelles striées et extra-striées chez la souris

Malgré l'organisation mono et binoculaire du cortex strié et cette segmentation récente de l'aire extra-striée chez le rongeur, on considère qu'il n'existe que deux cortex visuels distincts : V1 (strié) et V2 (extra-strié).

b) Chez le primate

Chez le primate il existe un plus grand nombre d'aires visuelles présentes dans le lobe occipital dont la classification peut se faire de façon similaire à celle du rongeur. On dénombre cinq structures différentes dans le cortex visuels (numérotés de 1 à 5) :

- V1, le cortex visuel primaire qui reçoit directement toutes les informations en provenance du LGN. Il projette ensuite des informations sur d'autres structures cérébrales. D'après ses connexions neuronales et ses fonctions on le surnomme parfois la passerelle du système visuel cortical. Son organisation structurelle et fonctionnelle sera d'avantage détaillée dans la partie suivante.
- V2, le cortex visuel secondaire, contient des cellules sensibles à la couleur, à la direction du mouvement et à la forme des objets. Son rôle est de recevoir les informations de V1 et de les répartir différenciellement vers les aires visuelles supérieures (V3 à V5) selon leurs caractéristiques (Felleman and Van Essen, 1991; Van Essen et al., 2001; Zeki, 1978a).

- V3 est souvent divisé en plusieurs structures différents selon leur position sur le cerveau et leur(s) sensibilité(s) (Tootell et al., 1997; Zeki, 2003) :
 - o V3, VP ou V3A : La majorité des cellules sont sensibles à l'orientation, aux mouvements et aux contrastes.
 - o V3B ou KO : antérieur à V3, cette structure serait sensible aux contours en mouvement.
- V4 est principalement impliqué dans le traitement de l'information de la couleur (Hadjikhani et al., 1998; Heywood and Cowey, 1987; Lueck et al., 1989; Meadows, 1974). Cependant, certaines cellules semblent sensibles à l'orientation uniquement et d'autres à la couleur et à l'orientation (Cowey and Heywood, 1995).
- V5 est essentiellement impliqué dans le traitement de l'information des objets en mouvement, ou discriminer des directions. En réalité, MT (Middle Temporal area) est souvent associé à d'autres aires « satellites » (MST pour « Medial Superior-Temporal » et FST pour « Fundus of the Superior Temporal ») pour former la « famille » de V5 (Kolster et al., 2010; McKeefry et al., 1997; Snowden et al., 1992; Van Essen et al., 1981; Watson et al., 1993).

Comme pour le rat, on appelle V1 le « cortex strié », et les autres (V2, V3, V4, V5) sont qualifiés d'extrastriés. On note une distinction de plus en appelant uniquement V3, V4 et V5 comme les aires associatives ou préstriées.

La notion qu'il est important de mettre en évidence à la vue de toutes ces aires visuelles est qu'il existe un traitement de l'information visuelle en parallèle et non en cascade. De plus, cette séparation pour l'analyse des signaux se fait selon les caractéristiques visuelles, dans des aires différentes. C'est V1 qui distribue en premier l'information aux aires extrastriées et il existe ensuite une communication dense et complexe entre toutes les structures (Figure 25).

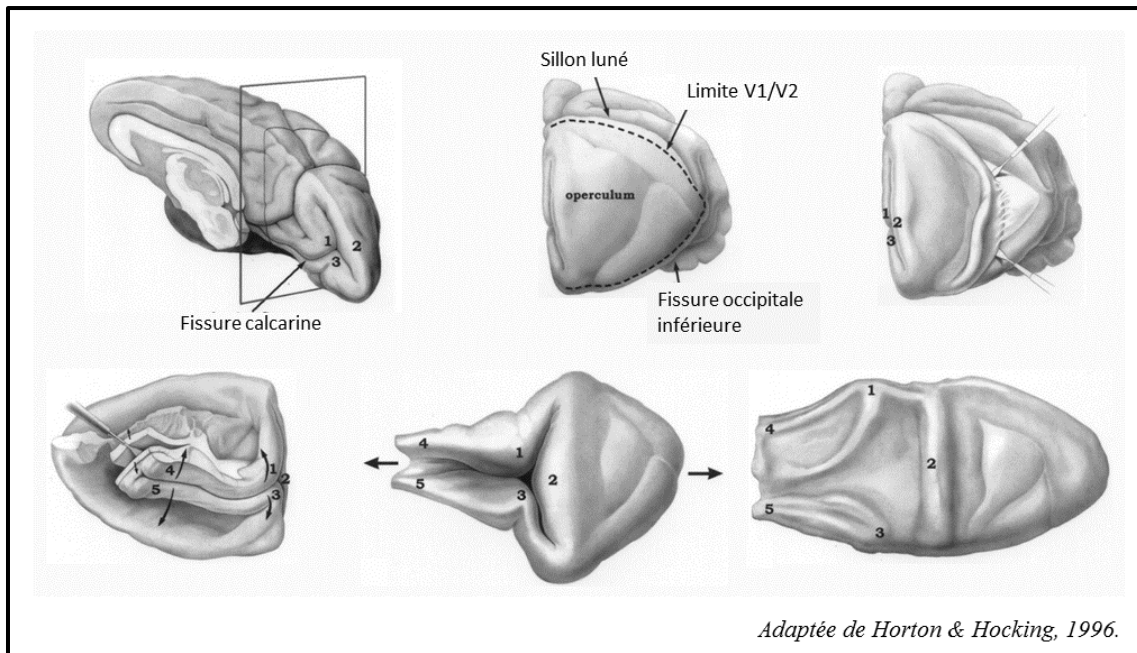


Figure 26: Détail des repliements de V1 au sein de la fissure Calcarine chez le primate (*Macaca Fascicularis*).

Malgré cette différence dans son positionnement, V1 se présente dans ces deux espèces sous la forme d'une organisation laminaire en 6 couches (Layer I à VI, Figure 20) comme toutes les structures corticales en général. Ces couches se différencient selon leur composition cellulaire mais également fonctionnellement selon l'origine des fibres afférentes et des fibres efférentes.

a) La rétinotopie

La plus connue des cartographies fonctionnelles est bien évidemment la rétinotopie. Gordon Holmes, en 1918, a créé la première correspondance entre une zone du champ visuel et une zone du cerveau. Il ne s'est basé que sur la position de fragments de balles présents chez des soldats encore vivants (au niveau du lobe occipital) et l'analyse de leur champ visuel (Holmes, 1918). Depuis, la rétinotopie est réalisée par différentes techniques d'exploration fonctionnelle. Cette représentation rétinotopique est différente chez le rongeur et le primate. En effet, chez le rongeur c'est une projection linéaire d'un référentiel cartésien, avec peu de déformation alors que chez le primate c'est une projection d'un référentiel polaire (le champ visuel) en référentiel quasi cartésien non linéaire. C'est à dire qu'il est couramment préféré de se repérer sur le cortex visuel en utilisant le couple (Excentricité, Angle polaire) plutôt que

(Altitude, Azimut) (Benson et al., 2012) (Figure 27). Cette non linéarité tient à la surface disproportionnée occupée par le champ visuel central ($<10^\circ$ d'excentricité) par rapport à celle réservée au champ visuel périphérique ($>10^\circ$).

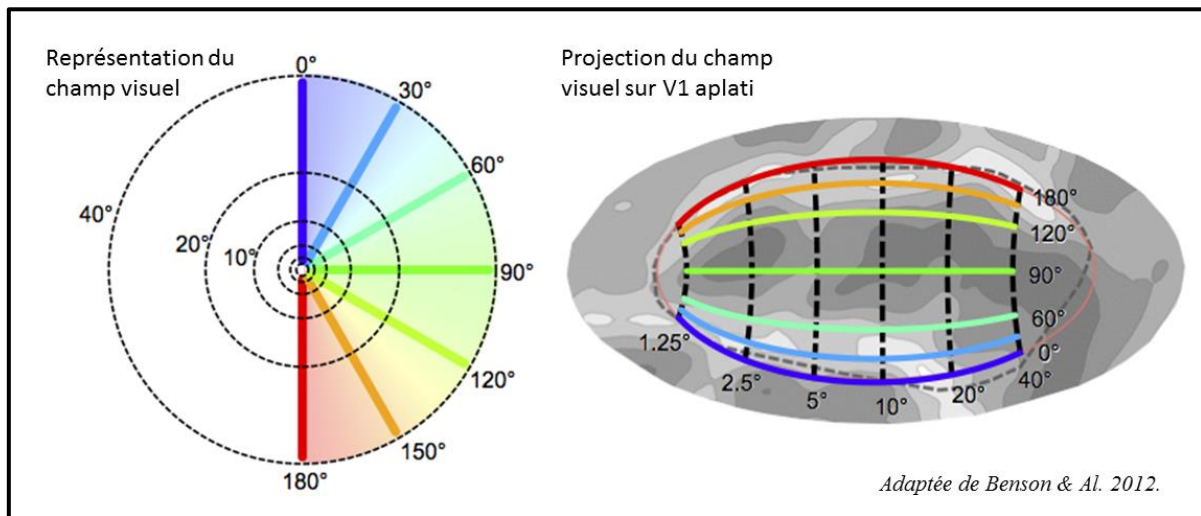


Figure 27: Représentation rétinotopique de V1 chez le primate. (Gauche) représentation du champ visuel en coordonnées polaires. (Droite) Représentation de la projection théorique du champ visuel sur V1.

La rétinotopie est donc la représentation du cortex visuel la plus connue et la plus ancienne. A ce titre, cette cartographie est souvent choisie pour évaluer l'efficacité d'une nouvelle méthode d'imagerie. En effet, elle s'étend sur une aire large (pas de restriction sur la résolution spatiale), elle peut être mesurée à la surface du cortex (pas d'inconvénient avec l'atténuation de signaux en profondeur), et il est relativement facile de produire les stimulations correspondantes.

b) Les colonnes d'orientations

Certains neurones du cortex visuel sont dits sensibles à l'orientation. C'est-à-dire qu'ils vont répondre uniquement lorsque la stimulation visuelle est une barre dans le champ récepteur du neurone mais surtout qu'à certaines orientations de la barre. On quantifie en général un degré de sélectivité à l'orientation d'un neurone par son indice OSI (pour « Orientation Selectivity Index ») (Mazurek et al., 2014).

Cette sélectivité des neurones a largement été étudié chez le primate et le chat car les cellules corticales sont agencées spatialement selon cette similarité fonctionnelle. Il est alors

possible de révéler des cartes sous forme de colonnes d'orientation. Une telle organisation n'existe pas chez le rongeur.

c) Les bandes de dominances oculaires

S. LeVay a mis en évidence les bandes de dominance oculaires chez le primate (LeVay et al., 1985) (Figure 28). Cette structuration en bande du cortex avait été mise en évidence par Hubel et Wiesel chez le chat et le primate par des études autoradiographiques au deoxyglucose (Hubel and Wiesel, 1969; Wiesel et al., 1974). Ces colonnes traduisent l'organisation des projections qui proviennent chez le primate pour 55% des neurones afférents du LGN contralatéral et 45% du LGN ipsilatéral. Ces afférences sont organisées en bandes parallèles de largeurs quasi constantes selon leur origine dans la couche IV (Figure 20).

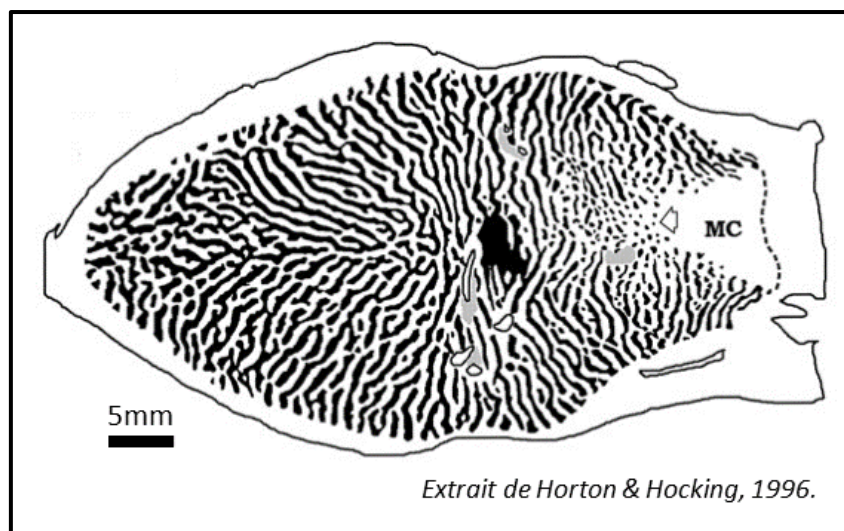


Figure 28: Représentation des bandes de dominances oculaires observées sur V1 chez le macaque en marquage radioactif.

Cette cartographie a été beaucoup étudiée par marquage radioactif au deoxyglucose (Horton and Hocking, 1996a; Hubel and Wiesel, 1969; Wiesel et al., 1974) mais certaines techniques d'exploration fonctionnelle permettent maintenant de les révéler (voir partie [III.]).

d) Les CO-Blobs

En 1979, Wong-Riley M. révèle des taches (blobs) dans les couches 2/3 de V1 du chat par marquage à la Cytochrome Oxydase une enzyme mitochondriale (d'où le nom « CO-

Blobs ») (Figure 29) (Wong-Riley, 1979). Ces taches régulièrement dispersées soulignent une activité métabolique accrue de leurs neurones dont les fibres afférentes proviennent de la couche 4C β de V1 et se projettent vers V2 (Livingstone and Hubel, 1984a).

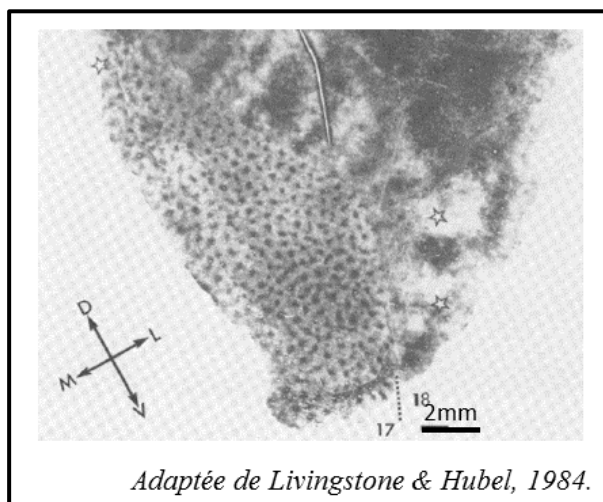


Figure 29: Mise en évidence des CO-Blobs dans l'aire 17 chez le singe écureuil par marquage histologique.

Les neurones des blobs sont sensibles à la couleur, alors que ceux inter-blobs sont sensibles à l'orientation (Livingstone and Hubel, 1984a). De plus, une observation est faite chez le macaque et le galagos : leur disposition au sein de la couche 2/3 semble corrélée aux bandes de dominance oculaires (Condo and Casagrande, 1990; Horton and Hubel, 1981) alors que cela reste encore ambiguë chez le chat et le singe écureuil (Horton and Hocking, 1996b; Murphy et al., 1995).

e) Les colonnes de fréquences spatiales

Similairement à l'organisation en colonnes d'orientation (voire partie [II. D. ii. b]), une organisation des neurones corticaux de V1 selon la fréquence spatiale de la stimulation a pu être révélée chez le primate (Henriksson et al., 2008; Nauhaus et al., 2012, 2016; Xu et al., 2003) et chez le chat (Everson et al., 1998; Issa et al., 2000; Sirovich and Uglesich, 2004). Cette carte des colonnes de fréquences spatiales semble largement corrélée à la carte de dominance oculaire (Nauhaus et al., 2016).

III. L'exploration fonctionnelle de V1

Dans cette partie nous allons étudier les différentes méthodes d'exploration (partie [I. A.]) et ce qu'elles ont permis, jusqu'à aujourd'hui, de révéler comme cartographie fonctionnelle du cortex visuel primaire V1 chez le rongeur, le chat (modèle très utilisé pour le cortex visuel), le primate non-humain et l'homme.

A. L'électrophysiologie

Daniel et Whitteridge ont réalisé en 1961 une cartographie du champ visuel chez le singe au niveau de la fissure calcarine en insérant des électrodes à différentes profondeurs et à différentes localisations (Figure 30) et en projetant la position des neurones enregistrés au sein du champ visuel réalisant ainsi une première **rétinotopie** du primate non-humain (Daniel and Whitteridge, 1961).

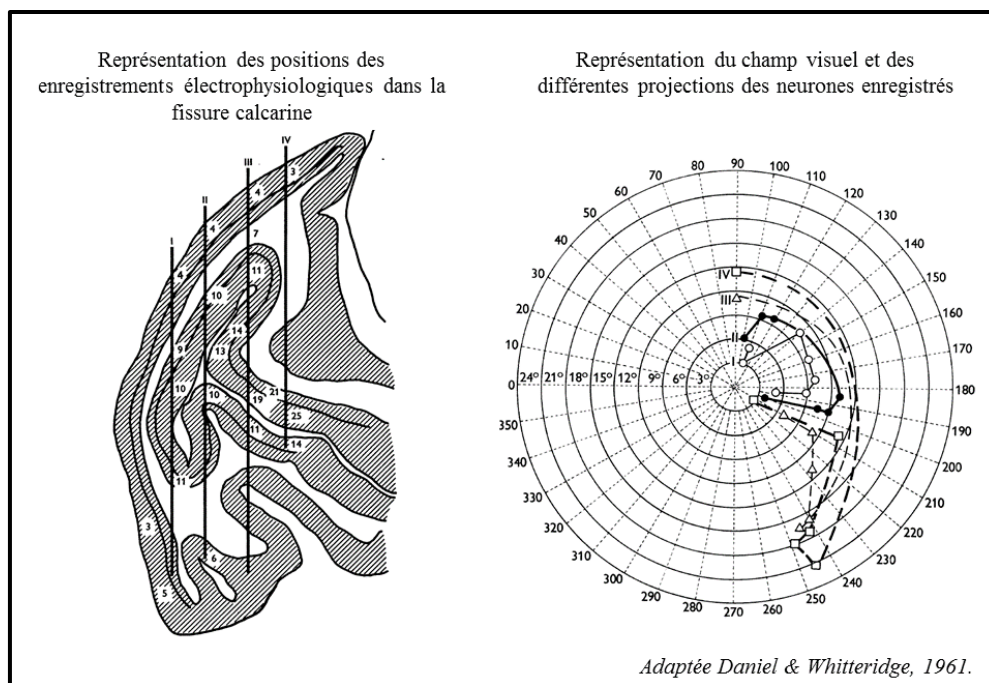


Figure 30: Projection entre les positions d'enregistrements en électrophysiologie dans V1 et le champ visuel.

Cette méthode historique fût largement utilisée chez le singe (Dow et al., 1981; Van Essen et al., 1984a) mais également chez le chat (Movshon et al., 1978).

Les enregistrements électrophysiologiques ont l'avantage que toutes les zones du cerveau sont accessibles, quelle que soit la profondeur. Cependant, loin d'être la méthode idéale pour prouver l'existence de cartes fonctionnelles, Hubel et Wiesel (Hubel and Wiesel, 1974) ont réussi à démontrer l'organisation de V1 en **colonnes d'orientation** en insérant une électrode de façon oblique dans le cortex visuel et en enregistrant les neurones au fur et à mesure de la pénétration (Figure 31).

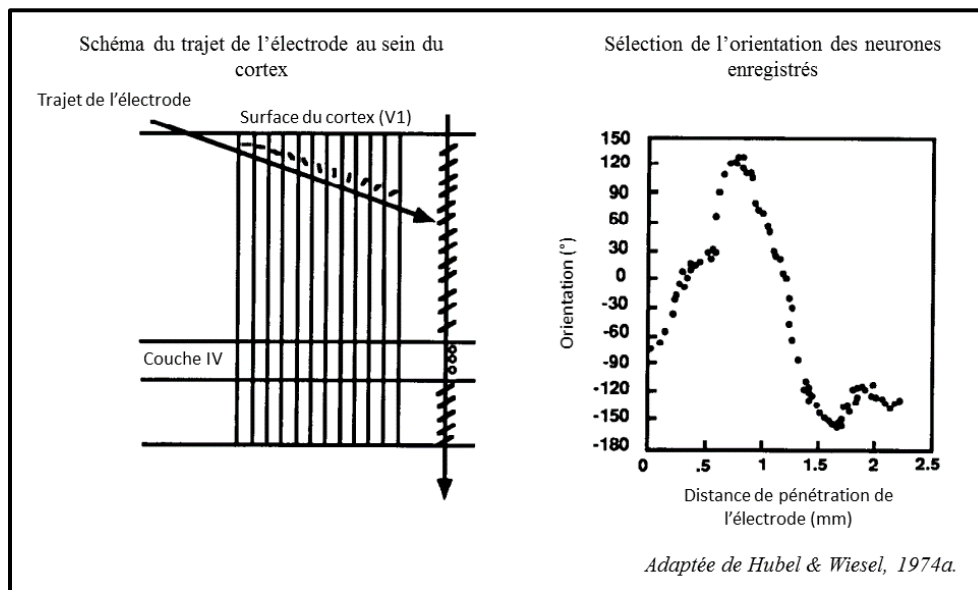


Figure 31: Premiers enregistrements révélant les colonnes d'orientation dans V1.

Similairement, Hubel et Wiesel ont également apporté une preuve fonctionnelle **des cartes de dominances** oculaires trois ans plus tard (Hubel et al., 1977). Par la même approche, Movshon & al. ont suggéré l'existence d'une carte fonctionnelle dans V1 selon les **fréquences spatiales** des stimuli chez le chat (Movshon et al., 1978). La méthodologie fût ensuite réexploitée pour une étude plus poussée des colonnes d'orientation dans V1 (Leventhal et al., 1995; Livingstone and Hubel, 1984a). En ajoutant la couleur aux stimuli, plusieurs groupes ont ensuite réussi à étudier les neurones au sein des **CO-blobs** et des inter-blobs en plus des colonnes d'orientation (Leventhal et al., 1995; Livingstone and Hubel, 1984b).

Ainsi, cette méthode d'exploration du système visuel permet de cartographier le cortex à l'échelle cellulaire mais cela reste très chronophage étant donné l'enregistrement successif des neurones. De plus, de par la pénétration des électrodes dans le cerveau, cela reste invasif, mais l'avantage est que l'acquisition de signaux en profondeur reste possible.

B.L'imagerie intrinsèque

L'imagerie intrinsèque permet de révéler en surface de V1 **les cartes rétinotopiques** (Heider et al., 2005), **de colonnes d'orientation** (Everson et al., 1998; Issa et al., 2000; Ohki et al., 2006), **de dominance oculaire** (Kaskan et al., 2007), **les CO-Blobs** (Landisman and Ts'o, 2002; Lu and Roe, 2008; Salzman et al., 2012) et de **fréquences spatiales** (Everson et al., 1998; Issa et al., 2000; Ribot et al., 2013; Xu et al., 2003) (Figure 32).

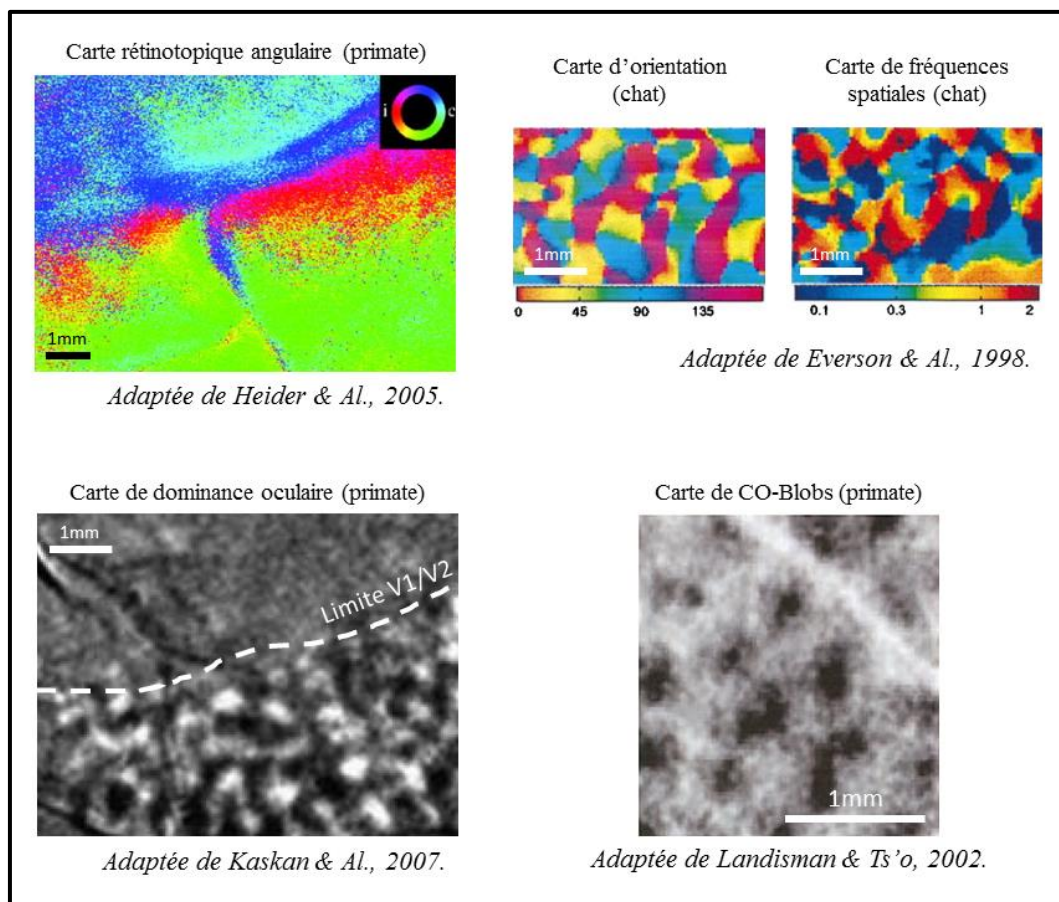


Figure 32: Exemples de cartes rétinotopique, d'orientation, de fréquences spatiales, de dominance oculaire et de CO-Blobs (en réalité, « carte de couleur » mais corrélation avec les CO-Blobs prouvée) révélées par imagerie intrinsèque (chez le chat ou chez le primate).

Cette technique d'imagerie très répandue a permis de cartographier le cortex visuel avec une grande précision spatiale et un grand champ d'imagerie. Cependant, les limites principales restent que la dynamique temporelle du signal est limitée mais aussi le manque d'informations en profondeur.

C. La VSDi

L'imagerie par colorants sensibles au potentiel permet bien évidemment de réaliser des **rétinotopies** avec une haute précision (Figure 33, (Blasdel and Campbell, 2001; Chen et al., 2012b)) mais également avec une grande rapidité grâce à de nouvelles stratégies (Yang et al., 2007).

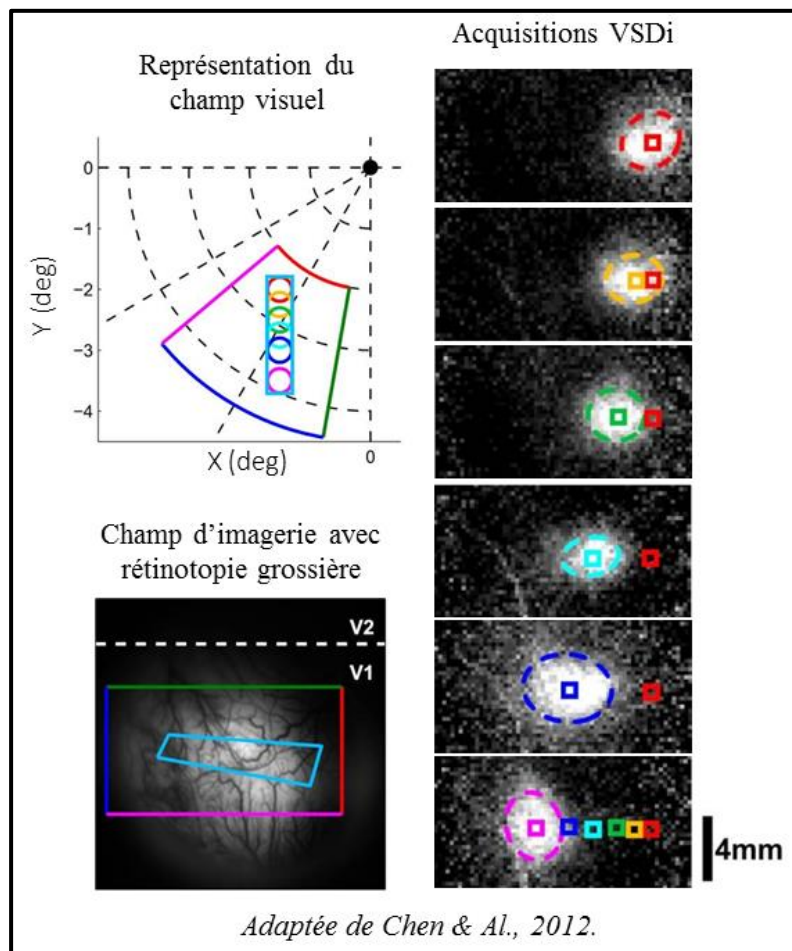


Figure 33: Rétinotopie réalisée chez le singe par VSDi

Blasdel a réalisé la majorité des cartes fonctionnelles de V1 chez le primate non-humain par VSDi comme les **cartes d'orientation**, de **dominances oculaires** et des **Co-Blobs** (Blasdel, 1992a, 1992b; Blasdel and Campbell, 2001; Blasdel and Salama, 1986).

Cette technique, proche de l'imagerie intrinsèque, a l'avantage supplémentaire de pouvoir étudier l'activité des neurones à des résolutions temporelles bien plus élevées. Cependant, la capacité à imager en profondeur reste limitée.

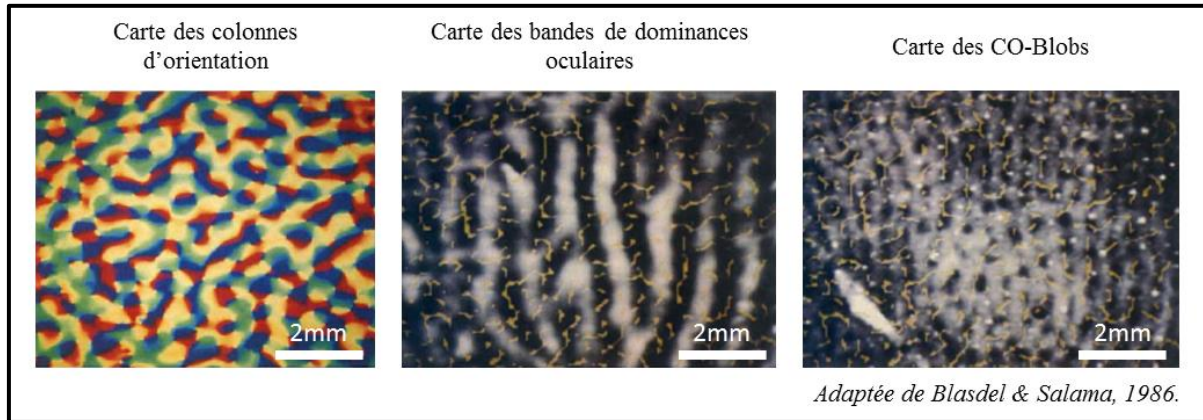


Figure 34: Différentes cartes fonctionnelles obtenues par VSDi

D. L'imagerie calcique

Comme l'imagerie par VSD, l'imagerie calcique permet de révéler la **rétinotopie** de V1 en surface (Figure 35) (Carandini et al., 2015; Smith et al., 2017).

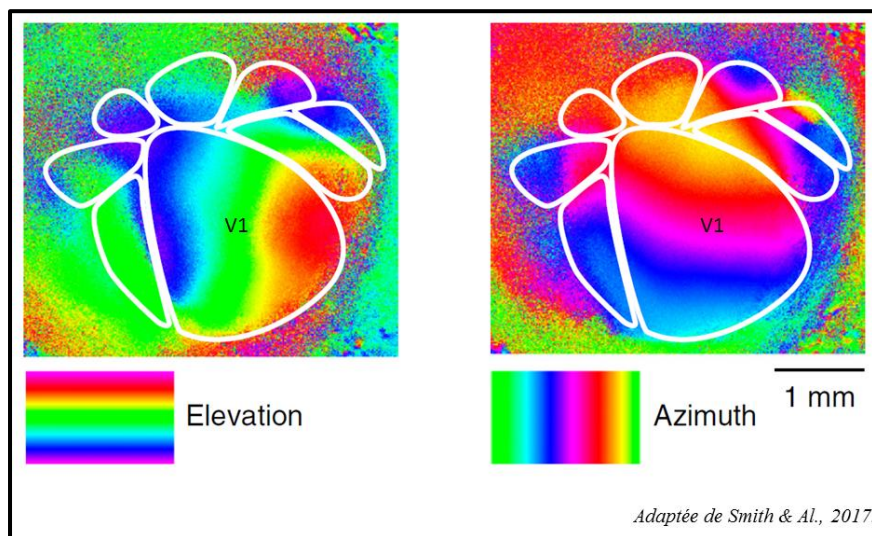


Figure 35: Rétinotopie des aires visuelles chez le rat.

L'imagerie calcique (et notamment par microscopie biphotonique) a également permis de prouver l'existence de **micro-colonnes d'orientation** chez le rongeur (Figure 36) (Kondo et al., 2016; Wertz et al., 2015) mais aussi de construire des **cartes d'orientation** chez le primate (Ikezoe et al., 2013; Nauhaus et al., 2016; Ohki et al., 2005, 2006), de **dominance oculaire** (Nauhaus et al., 2016), et de **fréquences spatiales** (Nauhaus et al., 2012, 2016) (Figure 37). La technologie biphotonique permet en effet d'acquérir des informations sur une profondeur de 400-600 μ m donnant accès à la couche 4 voire 5 chez le rongeur.

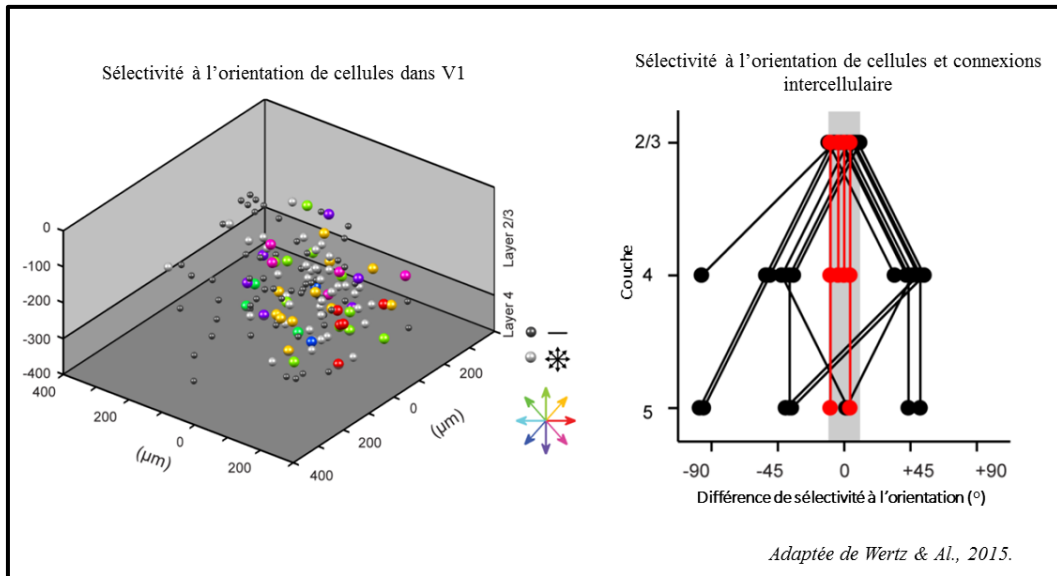


Figure 36: Preuve de l'existence des micro-colonnes d'orientation dans V1 chez le rongeur obtenue par imagerie calcique

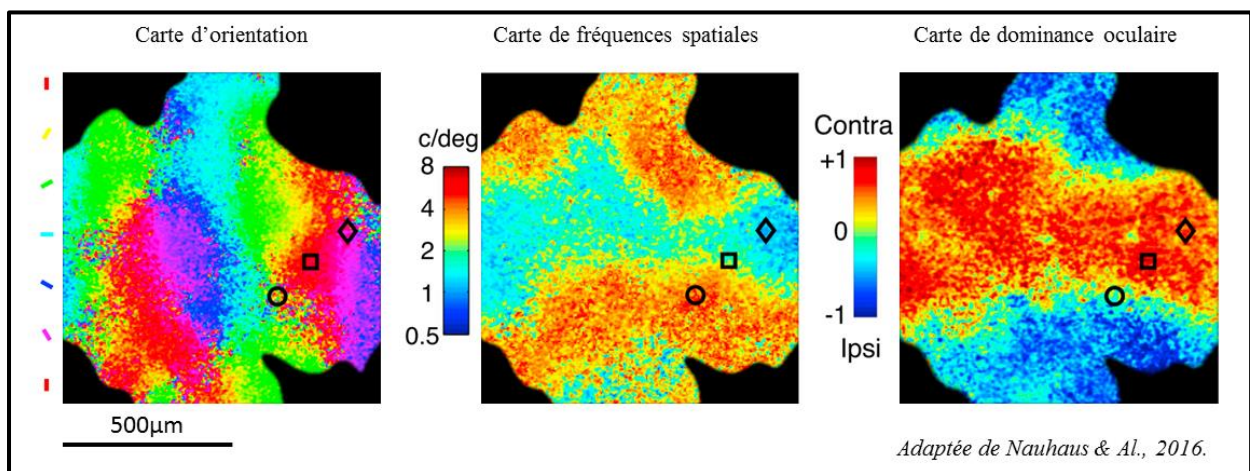


Figure 37: Cartes fonctionnelles d'orientation, de fréquences spatiales et de dominance oculaire acquises par imagerie calcique chez le primate.

L'imagerie calcique, couplée à la microscopie biphotonique, permet d'améliorer nettement l'enregistrement de l'activité des cellules, à l'échelle du neurone et du potentiel d'action, avec un champ d'observation élevé, et tout cela, avec une profondeur d'imagerie plus grande qu'avec les techniques précédemment citées. Cela reste de l'imagerie de surface avec, comme seuls caractères invasifs, la craniotomie et la durotomie.

E. L'IRMf

Alors que les **rétinotopies** révélées par IRMf sont largement acceptées et assez évidentes à réaliser (chez le primate non-humain comme chez l'homme) (Aine et al., 1996; Henriksson et al., 2012; Warnking et al., 2002), toutes les autres cartes fonctionnelles restent encore controversées du fait de la « faible » résolution spatiale de la technique d'imagerie. Cependant, certains travaux affirment mettre en évidence par IRMf **les colonnes d'orientation** (Kim et al., 2000; Yacoub et al., 2008), **les bandes de dominance oculaire** (Shmuel et al., 2010; Yacoub et al., 2007, 2008) et **les colonnes de fréquences spatiales** (Henriksson et al., 2008).

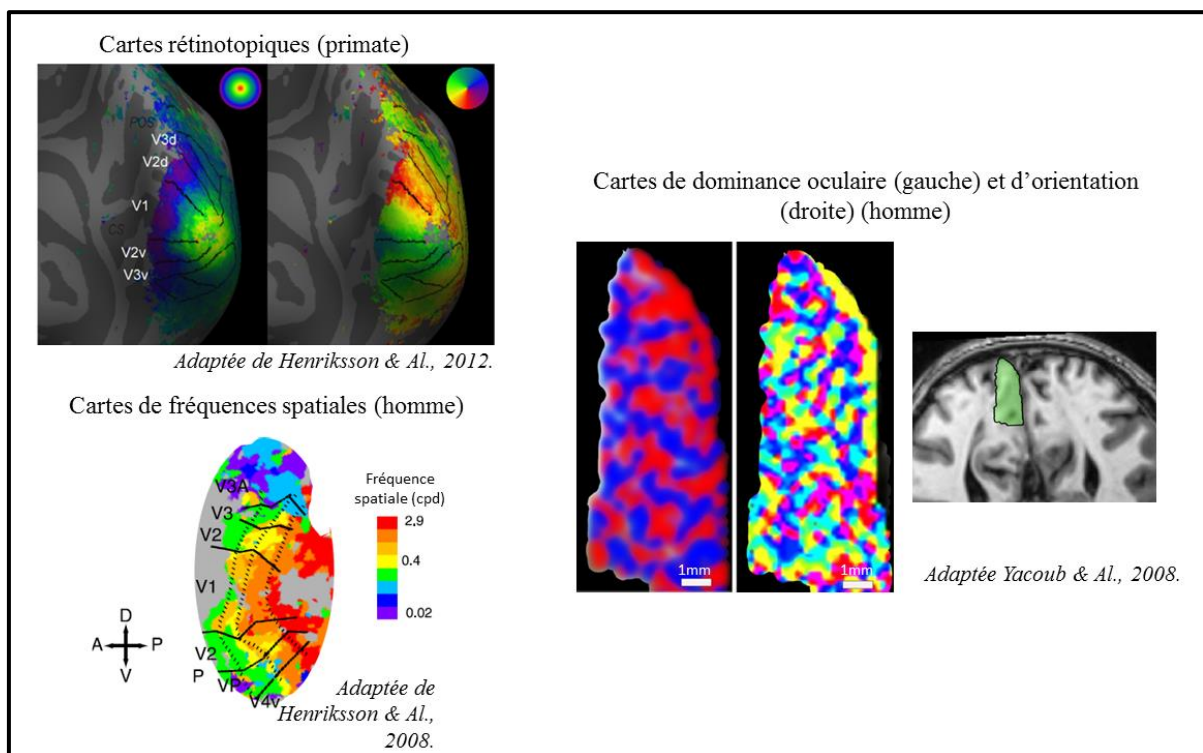


Figure 38: Cartes rétinotopiques, de dominance oculaire, d'orientation et de fréquence spatiale révélées chez le primate et l'homme par IRMf.

L'avantage principal de l'IRMf reste l'enregistrement possible de toute l'activité du cerveau en même temps, et ce, de façon non invasive. Ainsi, l'étude des couches corticales profondes ou des replis corticaux profonds devient accessible (et même des structures sous-corticales). Cependant, les inconvénients purement théoriques de cette technique sont les faibles résolutions spatiale et temporelle. Même si certaines équipes le font (Chen et al., 2012a; Cléry et al., 2018; Hung et al., 2015), il reste difficile d'entraîner des primates non-humains à réaliser des tâches cognitives durant une acquisition d'IRM (cloisonnement, bruit sonores stressants, etc.) et cela reste onéreux.

F. Conclusion sur les cartographies fonctionnelles actuelles

Cette dernière partie a ainsi pu mettre en évidence qu'il existe une diversité de cartographies fonctionnelles différentes au sein de V1. Celles-ci sont toutes présentes et visibles à la surface du cortex visuel strié du primate, ce qui laisse entendre un traitement de l'information visuel en parallèle selon les caractéristiques du signal. Cependant, certains travaux ont montré qu'il existe des correspondances entre certaines de ces cartes : ce traitement en parallèle ne l'est pas entièrement. Par exemple, Blasdel a montré grâce à l'imagerie optique qu'il y aurait des intersections régulières (et donc des liens) entre la carte de dominance oculaire et celle d'orientations (Blasdel, 1992a).

De plus, nous avons pu constater tout au long de cette partie que la plupart des techniques d'imagerie fonctionnelle exploitées jusqu'à aujourd'hui pour obtenir ces connaissances ne sont que de surface (maximum 600 μ m). En effet, les deux autres modalités permettant une cartographie plus profonde ont leur(s) limite(s) : L'électrophysiologie est très chronophage et peu répétable, et l'IRMf a une mauvaise résolution spatiale, ne permettant pas des cartographies à l'échelle micrométrique. Or, comme indiqué dans la Figure 26, V1 chez le primate est une structure repliée sur elle-même et profonde (jusqu'à 1,5cm). De par la rétinotopie que nous connaissons, cela signifie que toutes les études menées jusqu'à aujourd'hui ont été réalisées uniquement sur la vision centrale des animaux.

L'introduction souligne l'absence de technologie permettant de mesurer avec une résolution inférieure au millimètre (celle de l'IRMf) dans la profondeur du cerveau. En effet, les autres techniques d'imagerie apportent des informations de très grandes qualités spatio-temporelles à la surface ou du moins jusqu'à une profondeur maximale de 600 μ m. C'est pourquoi dans cette thèse, j'ai examiné le potentiel de l'imagerie ultrasonore pour déterminer si cette technique pouvait combler une partie de ce manque dans l'exploration fonctionnelle du cerveau, et plus précisément, du système visuel cérébral.

Travaux de recherches

Pour commencer ce travail, nous avons d'abord travaillé sur le rat anesthésié comme cela avait été préalablement fait dans la première étude d'investigation fonctionnelle (Macé et al., 2011). Cette première étape a permis de perfectionner la technique d'imagerie ultrasonore, de tester les stimulations visuelles les plus efficaces pour activer les structures visuelles, de démontrer le potentiel de cette technologie pour l'investigation (Partie [I.]). En particulier, nous avons pu imager différentes aires fonctionnelles visuelles sur le même animal en réponse à des stimulations visuelles et ainsi établir leur dynamique relative de réponse. Ensuite, montrant que l'amplitude des signaux était bien plus grande sur l'animal éveillé, nous avons mis en place l'enregistrement fonctionnelle par fUS sur rat et primate non-humain éveillés. Dans cette deuxième étude (Partie [II.]), nous avons alors réalisé les cartes rétinotopiques et les cartes de dominance oculaires sur le cortex visuel du primate non-humain éveillé. Ce travail qui permet de visualiser l'ensemble des couches du cortex visuel de primate procure de nouvelles informations sur l'organisation fonctionnelle de cette structure visuelle.

I. Travaux sur le rat anesthésié

A. Résumé

Dans un premier temps le but était de se familiariser et d'optimiser l'acquisition, l'analyse et l'interprétation de données fUS. Pour cette mise au point nous avons donc choisi d'utiliser le modèle le plus accessible : le rat. En effet, il possède les avantages d'être largement étudié en neurosciences (la littérature est donc abondante sur le système visuel), d'être disponible en nombre et le cerveau est plus grand que celui de la souris. Afin de faciliter les premières acquisitions nous avons préféré réaliser des acquisitions sur l'animal anesthésié.

La machine fUS et les séquences que nous avons utilisées tout au long de cette thèse (Aixplorer® de Supersonic Imagine ; Figure 39) ont été mises au point par Marc Gesnik durant sa première année de thèse à l'institut Langevin. La sonde US avait été conçue en amont et fabriquée par une société extérieure (Vermon, Tour, France ; Figure 39). Elle possède les caractéristiques souhaitées pour nos expérimentations : 15MHz, 128 éléments, 1,6cm de largeur (environ la largeur du cerveau de rat).

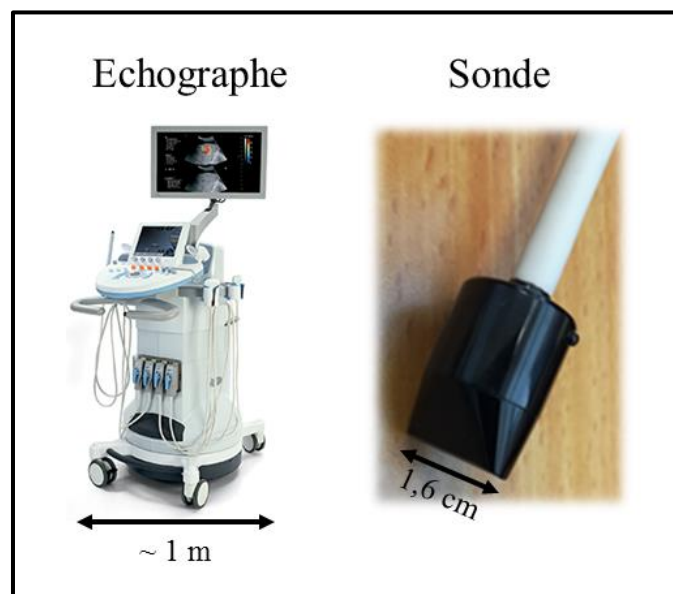


Figure 39: (Gauche) Machine d'échographie utilisée lors de cette thèse : l'Aixplorer® de Supersonic Imagine (Aix-En-Provence, France). (Droite) Sonde utilisée (15Mhz, 128 éléments) fabriquée par Vermon (Tour, France).

L'objectif principal de ces travaux fût donc de réaliser une première cartographie des aires impliquées dans le traitement de l'information visuelle cérébrale grâce à l'acquisition du CBV en profondeur et au cours du temps couplée à des stimulations épisodiques. Pour ce faire, une chirurgie (craniotomie) est nécessaire en amont étant donné que le crâne ne peut pas être traversé par les ultrasons.

L'animal est donc anesthésié en début de session et le restera (bolus réguliers de Kétamine/Medetomidine) jusqu'à la fin de l'expérimentation, au terme de laquelle il est sacrifié. Une large craniotomie ($\beta+2\text{mm}$ à $\beta-8\text{mm}$ sur toute la largeur) est réalisée sur cadre stéréotaxique à l'aide d'une fraiseuse. L'animal est ensuite placé sur le banc expérimental : sur un tapis chauffant, la tête est fixée en pièce de gueule et devant un écran d'ordinateur (permettant les stimulations visuelles), la sonde est positionnée (à l'aide d'un bloc de moteurs à 3 axes et rotation) au niveau de la craniotomie. Du gel échographique est disposé entre le cerveau et la sonde pour favoriser le couplage acoustique entre les deux (l'air étant un isolant) [Fig.1. A.].

Le protocole de stimulations visuelles consiste en 5 stimulations de 30s de flashes (fréquence des flashes variable : entre 0 et 10Hz) espacés de 30s de pause (durée totale d'une acquisition : 330s) [Fig.1. A. B.].

Grâce à ce protocole, nous avons ainsi pu mettre en évidence une activation des trois structures principales (dans un même plan d'imagerie) impliquées dans le traitement de l'information visuelle cérébrale : le LGN, le colliculus supérieur et le cortex visuel [Fig. 2. A-B.]. En observant l'évolution du CBV au cours du temps de ces trois régions d'intérêt, on observe une nette augmentation durant les stimulations (indiquées par les rectangles noirs) [Fig.2. C].

Nous avons alors souhaité observer et quantifier l'influence de paramètres de stimulation visuelle comme la fréquence et le contraste des flashes. Pour ce faire, nous avons répété et moyenné chaque condition 5 fois de façon aléatoire. Cela a permis de révéler que la fréquence temporelle de stimulation provoquant une réponse maximale pour le cortex visuel et le colliculus supérieur est d'environ 3Hz [Fig. 3. D] mais qu'à haute fréquence (10Hz), la réponse du cortex visuel s'atténue à l'inverse du colliculus supérieur qui reste stable. Enfin, nous avons également montré que le contraste engendrant une réponse maximale du cortex visuel et du Colliculus supérieur était 100% mais une activation apparaît dès 5% [Fig.3. E]. Ces

résultats furent utilisés pour la suite des expériences afin d'observer les meilleures réponses des aires visuelles.

Afin de tester la robustesse de la technique nous avons stimulé uniquement le champ visuel droit et observé une réponse qu'au niveau du cortex visuel controlatéral [Fig. 4. A], et réciproquement [Fig. 4. B].

Pour réaliser une reconstruction 3D des aires visuelles, il a suffi de répéter l'acquisition révélant les structures cérébrales impliquées dans le traitement de l'information visuelle et de décaler la sonde dans le sens longitudinal (de 500 μ m) entre chacune de ces acquisitions (11 plans au total). Cela permet alors de révéler en 3D les aires visuelles chez le rat avec une belle précision [Fig. 5.].

Enfin, grâce à une analyse temporelle par corrélation croisée [Fig. 6. B.] des signaux de CBV obtenus pour les régions d'intérêt [Fig. 6. A.], nous avons pu montrer des délais d'activation différents selon les aires visuelles étudiées. En considérant le Colliculus supérieur comme référence, le LGN semble s'activer moins rapidement (un délai moyen inférieur mais proche de 0.1s) alors que le cortex visuel s'active plus de 0.3s après [Fig. 6. C.].

Ces premiers travaux ont donc permis de révéler tous les intérêts de l'imagerie fonctionnelle par ultrasons ultrarapides et notamment pour l'étude du système visuel. Sa robustesse, son bon SNR, ses hautes résolutions spatiales (100 μ m) et temporelles (1Hz) et surtout sa profondeur d'imagerie sont des atouts majeurs qui nous ont convaincus de réaliser des études plus approfondies sur le cortex visuel.

B. Article Scientifique

NeuroImage 149 (2017) 267–274



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

NeuroImage

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



3D functional ultrasound imaging of the cerebral visual system in rodents



Marc Gesnik^{a,*}, Kevin Blaize^{b,1}, Thomas Deffieux^a, Jean-Luc Gennisson^a,
José-Alain Sahel^{b,c,d,e,f}, Mathias Fink^a, Serge Picaud^{b,2}, Mickaël Tanter^{a,2}

^a Institut Langevin, ESPCI Paris, PSL Research University, CNRS UMR 7587, INSERM U979, 75012 Paris, France

^b Institut de la Vision, Sorbonne Universités UPMC, University of Paris 06, INSERM UMR_S 968, CNRS UMR 7210, 75012 Paris, France

^c Fondation Ophthalmologique Adolphe de Rothschild, 75019 Paris, France

^d CHNO des Quinze-Vingts, DHU Sight Restore, INSERM-DGOS CIC 1423, 75012 Paris, France

^e Department of Ophthalmology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, 15213 PA, USA

^f Academie des Sciences, Paris

ABSTRACT

3D functional imaging of the whole brain activity during visual task is a challenging task in rodents due to the complex tri-dimensional shape of involved brain regions and the fine spatial and temporal resolutions required to reveal the visual tract. By coupling functional ultrasound (fUS) imaging with a translational motorized stage and an episodic visual stimulation device, we managed to accurately map and to recover the activity of the visual cortices, the Superior Colliculus (SC) and the Lateral Geniculate Nuclei (LGN) in 3D. Cerebral Blood Volume (CBV) responses during visual stimuli were found to be highly correlated with the visual stimulus time profile in visual cortices ($r=0.6$), SC ($r=0.7$) and LGN ($r=0.7$). These responses were found dependent on flickering frequency and contrast, and optimal stimulus parameters for largest CBV increases were obtained. In particular, increasing the flickering frequency higher than 7 Hz revealed a decrease of visual cortices response while the SC response was preserved. Finally, cross-correlation between CBV signals exhibited significant delays ($d=0.35$ s ± 0.1 s) between blood volume response in SC and visual cortices in response to our visual stimulus. These results emphasize the interest of fUS imaging as a whole brain neuroimaging modality for brain vision studies in rodent models.

Introduction

The ability to process visual information surrounding each individual is one of the most astonishing and complex task each vertebrate can perform. This ability relies on the cerebral visual system. Its complex chain of information processing begins with the gathering of photons on the retina. Visual information travels along the optic nerves, is pre-processed in sub-cortical relays such as the left and right Lateral Geniculate Nuclei (LGN) or the Superior Colliculus (SC) and is finally processed in the Visual Cortex. The so-processed information is then sent to other cerebral areas that will for instance trigger an action or a memorization (Nolte, 2009). This complex and multi-component system has been widely studied using electrophysiology (Adams and Forrester, 1968; Espinoza et al., 1983; Hubel et al., 1962). Nevertheless, due to its three dimensional spatial complexity at varying depths in the brain, to its interactions with other functional regions of the brain and to a variety of dynamic tasks performed

along the chain, the full understanding of the visual system remains a challenge.

Although electrophysiology benefits from an excellent sensitivity and gives fundamental information from the direct measurement of the neurons activity, it is mainly restricted to local measurements. Mapping the full visual system activity, is therefore a time-consuming task and remains constrained by a limited number of implantable electrodes per subject. Furthermore, this approach is very invasive when considering deep brain areas like thalamic relays.

Additionally functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI), has extensively contributed to understand the visual system through its ability to map the brain activity in 3D (Op de Beeck et al., 2008). Its non-invasiveness and ability to map the brain in 3D makes it a highly suited method for the study of vision in human (Denison et al., 2012; Reitsma et al., 2013; Warnking et al., 2002). However, its spatial and temporal resolution can become a struggle when scaling down the technique to rodents, since it requires always higher magnetic fields,

* Corresponding author.

E-mail address: marc.gesnik@espci.fr (M. Gesnik).

¹ These are co-first authors.

² These are co-last authors.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.01.071>

Received 5 October 2016; Accepted 30 January 2017

Available online 03 February 2017

1053-8119/© 2017 The Author(s). Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

averaging functional maps over several animals (Niranjan et al., 2016; Pawela et al., 2008a, 2008b; Zhou et al., 2012) or contrast agent (Chan et al., 2014) to resolve smaller structures, especially for the study of small sub-cortical structures such as the LGN (Lau et al., 2011a, 2011b) and SC (Chan et al., 2010) or for retinotopic map reconstruction in the rodent visual cortex (Bissig and Berkowitz, 2011, 2009). Moreover, the limited temporal resolution of fMRI makes it difficult to estimate response delays between different brain regions. To answer this drawback in rodents, optical intrinsic imaging becomes a competitive imaging modality and allows to realize accurate measurements at the surface of the cortex (Gias et al., 2005; Kalatsky and Stryker, 2003; Schuett et al., 2002). However, optical imaging is limited by the strong multiple scattering of the optical waves in biological tissues and is restricted to measurements at the superficial layers of the cortex, down to a few micro-meters (Gias et al., 2005). Neither the function of deep layers of the visual cortex nor of the thalamic relays can be imaged this way with a wide field of view.

In the present study, a new technique so-called functional ultrasound (fUS) imaging (Macé et al., 2011) is presented. fUS is a recently developed functional neuroimaging technique based on ultrafast ultrasound imaging (Tanter and Fink, 2014) which has already offered new insights in diagnostic imaging (Tanter et al., 2008) and blood flow imaging (Bercoff et al., 2011; Osmanski et al., 2012; Udesen et al., 2008). Ultrafast ultrasound imaging can capture more than 20,000 frames per second, compared to the usual 50 frames per second in conventional ultrasound scanners. This increase in temporal resolution allows to revisit Power Doppler imaging (Rubin et al., 1994) and results in a high boost (up to 50) of sensitivity to blood flow. Contrary to the Doppler frequency which is dependent on the angle between the ultrasonic beam and the vessel, the integral of the Doppler spectrum (known as Power Doppler) in a pixel is proportional to the number of moving red blood cells within the ultrasonic sample volume (Rubin et al., 1995, 1997; Shung et al., 1976). This proportionality is valid only if backscattering properties do not vary versus time. As long as the haematocrit and shear rate remain time-invariant during the acquisition time, this assumption was proven to be valid (Cloutier and Qin, 1997). Note that the CBV measurement from Power Doppler is independent of the direction of the flow except when the flow direction becomes almost perpendicular to the ultrasonic beam (between 80° and 90°) as shown in (Mace et al., 2013). Thus measuring CBV with ultrafast ultrasound allows a detection of subtle hemodynamic changes in much smaller vessels compared to conventional Doppler ultrasound.

Similar to other neuroimaging techniques based on the neurovascular coupling such as fMRI (Ogawa and Lee, 1990) with Blood-Oxygen-Level-Dependant (BOLD) and optical intrinsic imaging (Frostig et al., 1990; Grinvald et al., 1986), fUS relies on activity-dependant CBV changes in small blood vessels to detect active neuronal assemblies *in vivo* (Mace et al., 2013; Shung et al., 1976). Though CBV convey distinct information from BOLD, they both are a manifestation of the neurovas-

cular coupling (Martindale et al., 2003) and their measurements yield indirect information on brain neuronal activity. CBV gives access to the number of red blood cells within the pixel whereas BOLD signal depends on Blood Oxygenation. Similarly to BOLD fMRI fUS was shown to map the brain activity in response to sensory-motors stimuli (Macé et al., 2011) and to odor-evoked stimuli deep in the brain (Osmanski et al., 2014) with an excellent spatiotemporal resolution (100 μm in plane and 100ms for a single trial acquisition).

By using fUS imaging and a simple visual stimulation setup we investigated the feasibility of mapping the visual system in the rat brain. Using a motorized translation of the ultrasonic probe to overcome the two dimensional limitation of our field of view and extend it to 3D, we were able to map the activation of the visual cortex and of the SC and LGN along the visual pathway. We leveraged simple changes in the visual stimuli to assess changes in the response intensity or localization in these visual areas. We also measured CBV response delays between the different vision-involved areas.

Materials and methods

Animals, surgical procedures

Adult male Long-Evans rats (Janvier Labs; France) weighting 250 g to 350 g, and aged 7 to 9 weeks were included in this study. They were housed two by cage with free access to food and water and maintained under standard conditions (12/12 h light-darkness cycle, 22 °C). All experiments were conducted in accordance with the European Council Directive (2010/63/EU) and the study was approved by the institutional and regional committees for animal care (Committee Charles Darwin n°5, registration number 5486).

All rats underwent surgical craniotomy before the imaging session. Anaesthesia was induced with 5% isoflurane and followed by intraperitoneal (i.p.) injection of a mixture of ketamine (60 mg/kg, Imalgene 1000®, Merial; France) and medetomidine (0.4 mg/kg, Domitor®, Pfizer, Santé Animal; France). Anaesthesia was maintained by a periodic i.p. dosage using 1/3 of the initial dose every 45 minutes. Buprenorphine was injected subcutaneously (0.05 mg/kg, Buprecare®). Body Temperature was maintained at 37 °C using a heating blanket throughout the experiment. Animals were placed in a stereotaxic apparatus during surgery and imaging. A sagittal skin incision was performed across the posterior part of the head to expose the skull. Parietal bone were removed by drilling rectangular flaps and gently moving the bone away from the dura mater. Thus exposing the cortex over the visual cortex from Bregma -4 to Bregma -7 mm, with a maximal width of 14 mm. For 3D scans more of the bone was removed so that the cortex exposure spans from Bregma +2 to Bregma -8 mm. The animals were kept under dark conditions from the beginning of the surgery to the stimuli trials. The surgery lasting about an hour, animals can be considered to be dark-adapted.

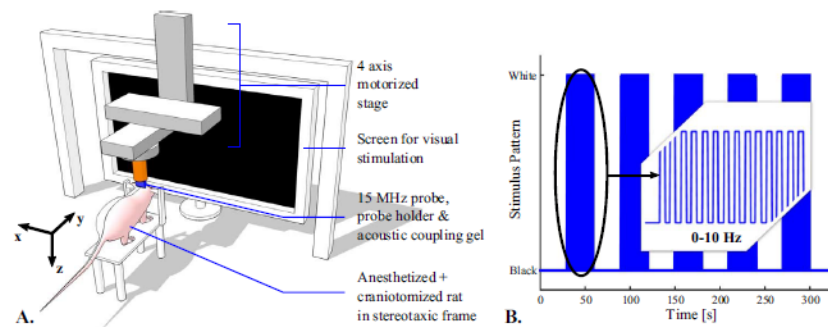


Fig. 1. A. Schematic view of the experimental setup. B. Stimulus pattern for episodic visual stimulation: 30 s of rest are followed with 30 s of flickering of the screen at a frequency in the [0; 10 Hz] range.

Stimuli delivery

Visual stimuli were delivered using a $51 \times 29 \text{ cm}^2$, 1920×1080 pixels screen (P2314H 23", Dell), in front of the rat at 8 cm, therefore covering 145° of the visual field in the horizontal dimension and about 122° in the vertical dimension. At 8 cm, we measured a maximum luminance of 8 cd/m^2 (full white screen) and a minimum luminance of 0.04 cd/m^2 (full black screen). Stimulation runs consist in episodic presentations of black and white flickering on the screen interleaved with black screen period for rest: A run consisted in 30 s of rest followed by 30 s of flicker repeated 5 times and ended with 30 s of rest for a total duration of 330 s (Fig. 1A and B). The stimuli were designed and displayed using Matlab (Psychtoolbox-3, Mathworks, Natick, Massachusetts, USA), which allows a great flexibility in the change of the stimuli parameters. Between stimuli presentation sessions, the rats were kept in a dark environment.

2D fUS acquisition sequence and data analysis

fUS imaging was performed using a linear ultrasound probe (128 elements, 15 MHz, $110 \mu\text{m}$ pitch and 8 mm elevation focus, Vermon; Tours, France) driven by an ultrafast ultrasound scanner (Aixplorer, Supersonic Imagine; Aix-en-Provence, France). The biophysics, technical procedure and statistical analysis for fUS were fully explained in our previous publications (Mace et al., 2013; Macé et al., 2011; Osmanski et al., 2014).

In summary, the ultrasound sequence works as follow: First, the brain isinsonified by using ultrasonic plane wave with a high Pulse Repetition Frequency (PRF) (25 kHz). Second, the backscattered echoes coming from a wide-field view on the transducer array are recorded. Finally, the raw data are beamformed to produce an image in few hundreds of milliseconds.

In order to ensure a high-quality ultrasound image while preserving an ultrafast framerate, we added several plane wave images coherently (with amplitude and phase) from successive transmissions of tilted plane waves (Montaldo et al., 2009). In this study, the plane wave

compounding consisted of coherently adding the images of the brain tissue from 11 different tilted plane waves, with angles varying from -10° to 10° and at 2° step in order to compute one high-quality ultrasound image. To sample blood flow changes, we repeated this sequence 200 times with a 500 Hz frame rate (corresponding to a 400 ms acquisition time). To discriminate the blood motion from tissue motion artefacts in these sets of data, we used a recently developed Singular Value Decomposition (SVD) based spatiotemporal clutter filter technique (Demene et al., 2015). Finally one image of Power Doppler intensity is obtained by the incoherent temporal averaging of the blood signal in each pixel. Our ultrafast scanner (6 CPU core unit, 24 GB RAM) requires 0.6 s to beamform the 200 echo-based images, resulting in a final temporal sampling rate of 1 s per power Doppler image. After 5 minutes and 30 seconds of a 5-trials session, we thus obtain 330 images with a dimension of 14.08 mm along the direction (x) and 8 mm in depth (z), with 128×78 pixels of $110 \times 100 \mu\text{m}^2$ resolution.

As well as in (Macé et al., 2011; Osmanski et al., 2014), for each session, a map of activated pixels was reconstructed by computing the normalized correlation coefficient (r) between the local power Doppler signal obtained from fUS and the temporal pattern of the visual stimulus. Activation was considered significant for a correlation $r > 3\sigma$, where σ is the spatial standard deviation of at least 400 correlation values from non-active areas of the correlation map, in agreement with the Paxinos rat brain atlas. The time course for a given region was calculated by averaging the Power Doppler signal over time for all responding pixels in the activated region ($r > 3\sigma$). The intensity of the Power Doppler was represented as the percentage of change relative to the baseline calculated during the 30 s of rest before each 5-trials session.

3D acquisition protocol

For 3D fUS acquisition sequences, we used a 4 axis motorized stage (three VT-80 Pollux and one DT-80 Pollux, PI Micos; Germany): 3 translations along x , y and z axis and one rotation around z (Fig. 1A)

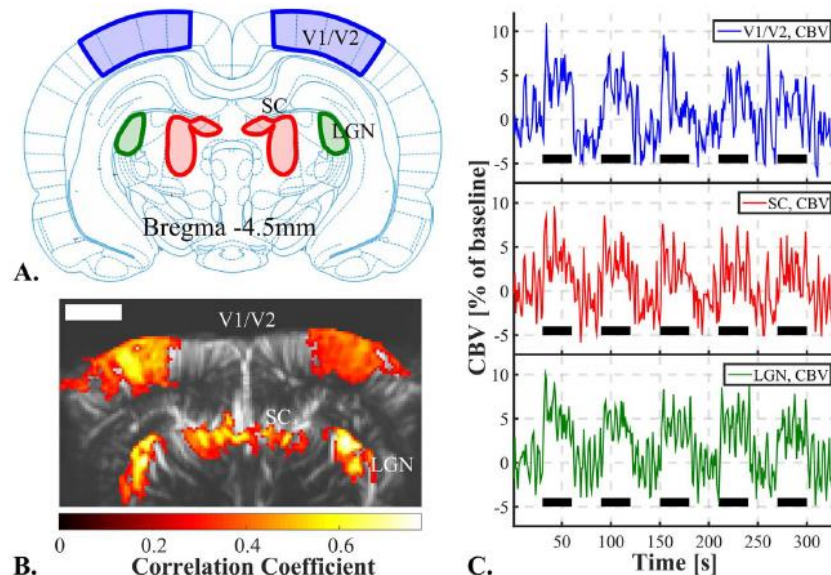


Fig. 2. Result of a single 5-trials 330 seconds fUS imaging session of the visual areas in the rat. A. Coronal schematic view of the rat brain at Bregma -4.5 mm with the delimitations of Visual Cortex (V1/V2), Lateral Geniculate Nucleus (LGN) and Superior Colliculus (SC). B. fUS imaging of the vision-induced activity at Bregma -4.5 mm , with superimposition of the correlated pixels (hot scale) over the brain vasculature (grey scale). The precision of the map allows to retrieve the shape of the 3 vision related structures present in that coronal slice. Scale bar = 2 mm . C. Mean CBV signal over responding pixels in the visual cortices (blue, up), SC (red, middle) and LGN (green, bottom) during that single imaging session composed of 5 flickering screen stimulation trials. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

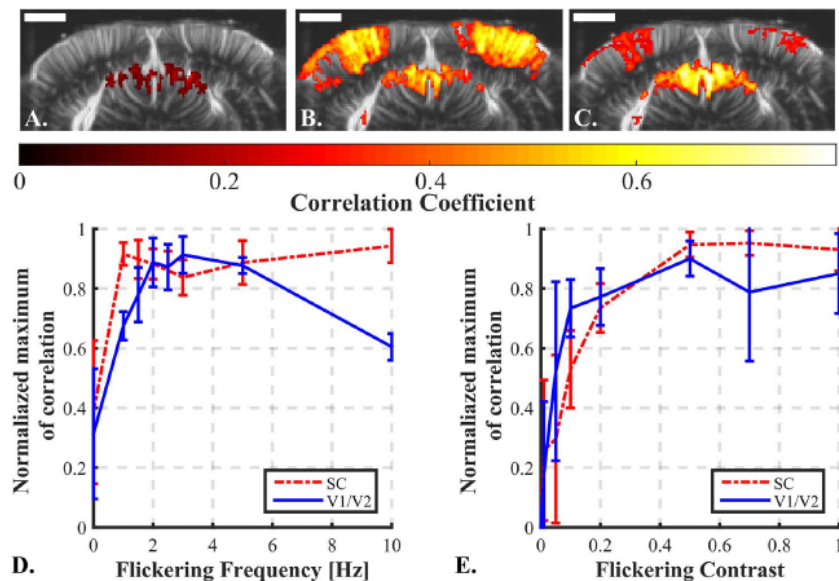


Fig. 3. Evolution of the rat brain response to variation of flickering parameters. A to C: fUS imaging of a rat during a 0 Hz (A), 3 Hz (B) and 10 Hz (C) flickering stimulus. Each activation map is the average of 5 imaging sessions. Scale bar=2 mm. E and D: Influence of flicker parameters for fUS imaging of vision. Influence of the flickering frequency on rat #1 (D.) and the flickering contrast on rat #2 (E.) on the response amplitude in the SC (dashed red line) and in the visual cortex (solid blue line). The quality of the response is measured via the maximum of correlation on the fUS data map. Each curve is normalized with the maximum value of correlation coefficient obtained in the corresponding brain area. Error bars: standard deviation of the normalized maximum of correlation in the considered area over the 5 trials of each parameter. See [Supplementary Fig. 1](#) for the influence of the flickering frequency on rat #3 and #4. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

that has been previously described in (Demené et al., 2015). The 3D fUS sequence consists in the repetition of the 2D stimulating (Fig. 1B) imaging sequence we previously described in each coronal plan spanning from Bregma -3 mm to Bregma -8 mm, with a 0.5 mm step. The thickness of the imaging plane, shaped by the elevation lens of our ultrasonic probe being approximately 500 μm , this is the biggest step we can achieve without missing a potentially activated structure in the brain. Our voxel size is therefore $110 \times 500 \times 100 \mu\text{m}^3$. Since we repeat 2D fUS acquisitions in different planes that last 330 s each, with no supplementary time for rest, the overall time of acquisition of a whole volume is about an hour (11 plans from B-3 to B-8 mm times 5 minutes and 30 s). We therefore spaced the i.p. injections of anaesthetic from 1 h instead of 45 min.

Delays measurement

For delay measurement between two signals, the parabolic interpolation of the maximum of correlation of those two signals has been used. This consists in the construction of the unique parabola that passes through the three points around the maximum of correlation to locate its summit. This constitutes an unbiased estimator of the delay between two correlated band-limited signals. Previous reports have shown a typical precision below 5% of the sampling time which is ultimately limited by the SNR of the signals (Carter, 1987; DEJONG et al., 1990; Sandrin et al., 1999; Walker and Trahey, 1994).

Results

2D fUS imaging of the CBV response to a simple visual stimulus

The ultrasonic probe was positioned over a coronal plane at Bregma -4.5 mm. That plane presents several known vision-involved structures (Paxinos and Watson, 2007). Those structures are, the visual cortex (V1/V2), the Lateral Geniculate Nucleus (LGN) and the Superior Colliculus (SC) (Fig. 2A). While imaging with fUS ultrasonic sequence,

we episodically stimulated the full visual receptive field by 3 Hz full screen flickering during stimulation periods. Fig. 2B-C present the results of that 330 s 5-trials single imaging session.

After correlation with the stimulus pattern and noise σ -thresholding, we obtained a functional activation map (Fig. 2B) that matches very nicely the expected areas. Making the assumption that each cluster of correlated pixels constitutes one of these areas, we extracted and plotted the mean CBV signal over the responding pixels in the visual cortex area (Fig. 2C). We can clearly see an increase in CBV correlated to the stimulation periods. A similar increase in CBV during stimulation periods can also be observed in the other vision-involved areas, the LGN and SC (Fig. 2C).

Influence of stimulus parameters

After demonstrating the feasibility of using fUS to image vision-involved structures, we tackled the task of finding optimal stimulation parameters in terms of frequency and contrast. The whole screen was used to stimulate the full receptive field and investigate two parameters. First the *Flickering frequency*: is simply defined by the frequency of the black/white alternation of the screen during the 30 s stimulation periods. A flickering frequency of 0 Hz corresponds to a steady white screen for 30 s. Second the *Flickering contrast*: is defined by the luminance ratio between the white screen and the black screen during the stimulation period. A flickering contrast of 1 corresponds to the most brilliant white and the darkest black we can get with our set-up. While a contrast of 0 correspond to a constant 50% grey screen. Only these two parameters of the protocol were modified during the experiment.

For the optimization part, we first evaluated the effect of these parameters on two rats (one for frequency, one for contrast) over the Bregma -5 mm coronal plane. The 5-trials imaging session protocol described above was used. Each session was dedicated to test one different value (e.g. 5 times 30 s of flickering at 5 Hz with a contrast of 1 interleaved with 30 s of black for rest) in a randomized order. Each

imaging session was repeated five times. In post-processing, for each session, fUS activation maps were computed and the maximum value of correlation was recovered. To get a good compromise for the whole brain, we choose to recover the maximum of correlation in two different vision-involved areas: the SC region and the visual cortex (both hemispheres). A contrast of 1 is expected to produce the best response. Therefore we first performed the frequency study with a contrast of 1. Fig. 3A to C illustrate the evolution of response in the rat brain to a flickering frequency of 0 Hz, 3 Hz and 10 Hz and Fig. 3D summarizes this evolution for the different tested frequencies. In the visual cortex, it appeared that the best response is obtained at a 3 Hz flickering frequency with a contrast of 1 while the higher 10 Hz frequency was eliciting a lower response. In SC, the maximum was reached earlier at a 1 Hz frequency and the responses remained stable for higher frequencies up to 10 Hz. The 3 Hz frequency, which represents the peak sensitivity for the cortex, was therefore selected to perform the contrast frequency analysis. In the contrast sensitivity, the maximum was reached at a contrast of 0.5 and remained stable for the subsequent contrast values up to 1 in the two structures, the SC and the cortex (Fig. 3E). The flickering frequency investigation protocol was repeated on two other rats and similar curves were obtained (see Supplementary Fig. 1). Thus, despite individual variations, the flickering frequency seems rather robust and was kept at the value eliciting the maximum responses in the following of the study (3 Hz). The contrast was also kept at 1.

Lateralization of the visual response to simple stimuli

The visual cortex treats information coming from the contralateral visual field, for instance, the left hemisphere treats visual information from the right visual field (Nolte, 2009). This lateralized response can thus serve as an additional confirmation that fUS imaging observations are not mere artefacts but true measurements of visual circuit activities. To address this question the ultrasonic probe was positioned over a coronal slice containing the visual cortex in both hemispheres. The stimulus parameters were fixed at 3 Hz flickering frequency and a contrast of 1. However, instead of stimulating the complete visual field using the whole screen, the screen was divided in 5 column sectors of identical width. In a first 5-trials imaging session, only the extreme-right sector was flickering, whereas in the second session, we shifted the illumination to the extreme-left sector.

Fig. 4 illustrates the results of those 2 imaging sessions. Each stimulation sector elicits a fUS signal only in the respective contralateral visual cortex. These observations demonstrate the ability of the fUS imaging set-up to discriminate the projection of spatially distinct stimuli in the brain consistent with the visual processing lateralization.

3D fUS imaging of the visual system

fUS imaging provides a 2D information coming from the imaging plane of the ultrasonic probe. However, the visual cortex and the subcortical visual areas are 3D structures that cannot be imaged entirely

using a single imaging session. To generate 3D fUS imaging of these structures, several linear scans were performed while moving the probe to successive planes to perform a fUS acquisition at each position.

Following this strategy, we scanned the rat brain from Bregma -8 mm to Bregma -3 mm by 0.5 mm steps. Fig. 5 and supplementary video 1 show the functional 3D volumes that can be reconstructed by this imaging strategy. The 3D structures of the visual function are well recovered and the shape of the visual cortex atop the LGN and the SC can easily be identified.

Supplementary material related to this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.01.071>.

Measuring CBV response delays

As three areas of the brain are mainly involved here, CBV response delays between those zones were investigated. First, plotting the mean CBV response to $N = 30$ stimuli in responding pixels in the SC and in the visual cortex (Fig. 6A) reveals a difference of shape of the CBV response curve for this two areas. We can, for instance, observe the “on” and “off” peaks in the SC response (Fukuda and Activity, 1978; Van Camp et al., 2006; Wang et al., 2010). Furthermore, the response in the visual cortex seems to be slower.

To go further, on $N=8$ rats, we performed the fUS imaging over a plane containing the visual cortex and the SC (Bregma -5.5 mm) and on $N=5$ rats we performed the imaging over a plane that contains also the LGN (Bregma -4.5 mm). Stimuli consisted in 3 Hz full field flickering. Then the temporal CBV response was recovered over responding pixels in the visual cortex, SC and LGN. Within cortices and LGNs the CBV response was averaged over both hemispheres. The CBV in the SC was taken as a reference. Delays between the SC and cortex and between the SC and LGN were measured using a parabolic interpolation of the maximum of cross-correlation between both signals (see example, Fig. 6B). However, the “off” peaks in the SC response might lengthen the CBV response with respect to the other areas and therefore distort the delay measurement. Thus the falling edge of all CBV responses were cut beforehand and replaced by the mean CBV value over the following period of rest. On Fig. 6C are presented CBV response delays for both couple of regions. It appears that the CBV response happens about 0.35 s earlier in the SC than in the visual cortex (two-tailed t-test, $p < 0.001$). It also seems that the CBV response happens earlier in the SC than in the LGN. The CBV response seems to happen significantly earlier in V1/V2 than in the LGN (two-tailed t-test, $p < 0.002$).

Discussion

In the present study, fUS imaging was used on anesthetized rats to perform several basic functional imaging studies related to vision. The high resolution mapping of visual patterns in the whole brain such as lateralized stimuli and flickering stimuli was presented. The best stimulation parameters for imaging of the visual cortex were investigated. A flickering frequency of 3 Hz was found to elicit the highest

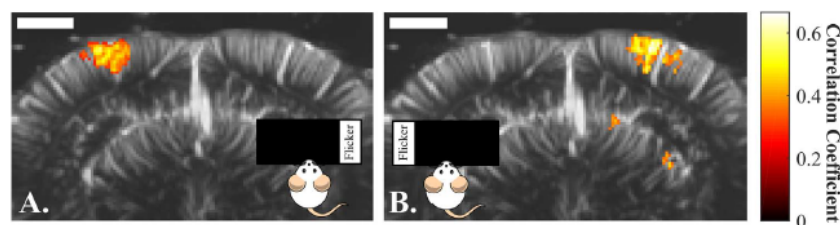


Fig. 4. Visualization by fUS of the lateralization of the visual response in the visual cortex: A. Activation map after a single 5-trial imaging session, while stimulating only with the extreme right sector of the screen. A CBV increase in the left visual cortex is observed. B Activation map after a single 5-trial imaging session, while stimulating only with the extreme left sector of the screen. A CBV increase in the right visual cortex is observed. Scale bar=2 mm.

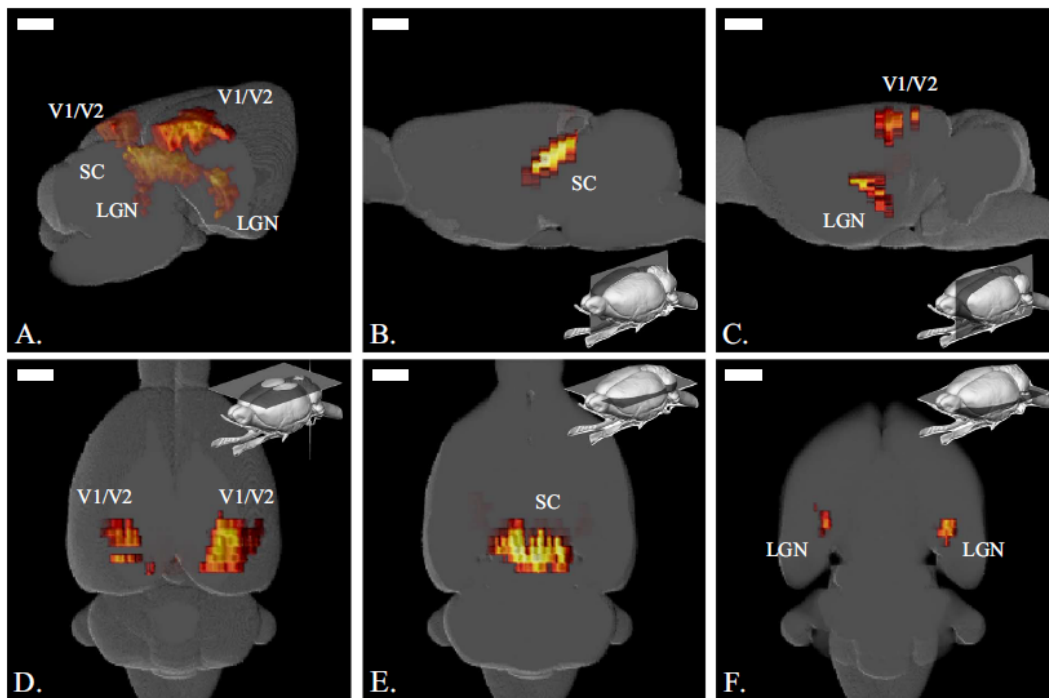


Fig. 5. 3D fUS imaging of brain structures responding to visual stimuli. A. General View of the activated areas, left and right visual cortices (V1/V2), Superior Colliculus (SC) and LGN, which were manually superimposed to a Calabrese rat brain model. B. Sagittal cut at Bregma showing the activated SC. C. Sagittal cut at Bregma +3.7 mm showing both LGN and V1/V2. D. Top view of the brain surface showing V1/V2 activation. E. Transversal cut at 3 mm depth showing the activated SC. F. Transversal cut at 5.4 mm depth showing the activated LGN. Scale bars=2 mm. Brain mini-maps made using (Bakker et al., 2015; Kjonigsen et al., 2015; Papp et al., 2014; Sergejeva et al., 2015) brain atlas.

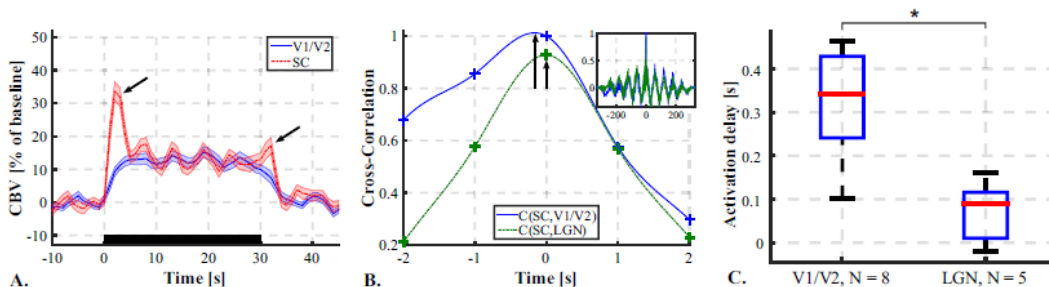


Fig. 6. CBV Response delays between visual areas. A. Average CBV response curves to the stimulus in the visual cortex (solid blue line) and in SC (dashed red line). Error: Standard Error of the Mean. Black rectangle=Stimulus. "On" and "Off" CBV peaks in SC (black arrows). B. Example of Cross-Correlation curves between CBV responses in SC and visual cortex (Solid blue line) and between SC and LGN (dashed green line), zoom around the maximum of cross-correlation. Crosses: experimental data points. Lines: interpolated curves between data points to visualize the delay at maximum of cross-correlation (black arrows) (not used for measurement). Mini-box in up-right corner: Full view of the cross-correlation curves. C. CBV response delays measured between SC and both visual cortices (V1/V2), N=8 rats, and between SC and both LGNs, N=5 rats. * $p < 0.002$. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

CBV response in accordance with previous BOLD studies (Bailey et al., 2013; Pawela et al., 2009). We also showed a contrast saturation effect after a 0.5 contrast value also in accordance with the literature (Albrecht and Hamilton, 1982; Lund et al., 1999).

A 3D protocol was developed and tested and has allowed the reconstruction of the main visual structures of the brain in 3D. The anaesthesia was performed in i.p. just before the beginning of the scan. It is then to be expected that the last planes to be acquired may have a different response than the first ones. Therefore an intravenous drip anaesthetic might benefit the measurement of the functional volume. Furthermore, the development of full 3D ultrafast scanners (Provost et al., 2014) will allow instantaneous acquisitions of the whole brain and remove the need for successive planes acquisitions.

Compared to BOLD fMRI, the fUS technique benefits from a high spatial and temporal resolution at low cost with a portable device. When fMRI needs to average over several animals or to inject contrast agents, fUS allowed us a quicker and simpler retrieval of the visual areas. The main inconvenience of fUS lays in the necessity of a craniotomy to overcome the distortion of the ultrasound waves through the skull and the limitation of the measure in a 2D plane. However it has been shown that fUS can be performed through the skull using microbubbles (Errico et al., 2016).

Compared to optical imaging techniques which provides high resolution functional imaging but are limited to the superficial cortical areas, fUS can be used to image the full depth of the brain, including the LGN or the SC in our case.

It has been widely demonstrated through different functional imaging methods (Engel et al., 1997; Espinoza et al., 1992) that the treatment of the visual information is spatialized in the rodent brain. By stimulating the left visual field and the right visual field, we showed that it is possible to study visual spatialization in the brain with fUS. As in (Gias et al., 2005; Schuett et al., 2002), the screen was divided in different sectors and successively used to stimulate the rat visual field by using those different sectors to infer the corresponding activated regions in the brain. Furthermore, the high in-plane resolution of fUS could be leveraged to more finely segregate areas of the brain according to their function. For instance reducing the width of the stimulation sectors on the screen, would yield the detection limit of fUS in term of spatial extend of the responding cerebral areas.

The ability of fUS to measure delays in the CBV response between regions consistent with previous BOLD measurement (Yen et al., 2011) was highlighted, therefore demonstrating its high temporal resolution. However those hemodynamic delays are far larger than the neural delays directly measured in electrophysiology, which are in the [10;100 ms] range (Saul and Feidler, 2002). Thus, the hemodynamic delays we measured here could as well be due to effective delays in the neural response than to different vascular, or neurovascular coupling dynamics (Li and Freeman, 2007; Wibrál et al., 2007). Nonetheless, this could be combined with continuously moving bars stimuli that has been shown to produce retinotopic measurements in a much shorter time than by stimulating selectively and successively sectors of the visual field (Kalatsky and Stryker, 2003; Vanni et al., 2010a, 2010b).

Finally, this study investigated rather simple stimuli and simple responses of the rat brain with simple analysis. However the functional imaging of vision is a very rich field of research. Many subtler stimuli have been designed to stimulate the visual field and investigate the richness of visual information processing in the brain. Furthermore, to date, no side by side comparison between the respective sensitivity of fUS imaging and fMRI was done, but previous fUS papers on whisker or olfactory stimuli have shown that fUS imaging is able to map functional activity for subtle stimuli difficult to assess in fMRI, such as single whisker stimulus. It gives hope that fUS will perform well for these other types of visual stimuli already investigated by fMRI.

The recent demonstration of fUS in awake and freely moving rodents (Sieu et al., 2015) also opens exciting possibilities to study the visual response of the brain in more complex and natural environments and without influence of the anaesthesia.

The association of state of the art visual stimulation techniques with high resolution and sensitivity whole brain functional imaging paves the way to novel original experiments to push our understanding of the vision in the brain.

Conclusion

The fUS imaging technique coupled with a 4 axis motorized stage and a visual stimulation device was shown to accurately detect and 3D map the activation of visual functions in the rat brain. Responses to simple visual flickering were presented. The high sensitivity of fUS imaging enables to record unbiased and repeatable CBV responses even with a small number of stimuli repetition. These experiments emphasize the capability of fUS imaging to become a particularly suitable neuroimaging tool for the fundamental understanding of the cerebral visual system.

Acknowledgements

This work was supported by the European Research Council SYNERGY Grant scheme (HELMHOLTZ, ERC Grant Agreement #610110), Europe and partly supported by the European Union's Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013)/ERC grand agreement no 339244-FUSIMAGINE.

Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.neuroimage.2017.01.071.

References

- Adams, A.D., Forrester, J.M., 1968. The projection of the rat's visual field on the cerebral cortex. *Q. J. Exp. Physiol. Cogn. Med. Sci.* 53, 327–336. <http://dx.doi.org/10.1113/expphysiol.1968.sp001974>.
- Albrecht, D.G., Hamilton, D.B., 1982. Striate cortex of monkey and cat: contrast response function. *J. Neurophysiol.* 48, 217–237.
- Bailey, C.J., Sanganahalli, B.G., Herman, P., Blumenfeld, H., Gjedde, A., Hyder, F., 2013. Analysis of time and space invariance of BOLD responses in the rat visual system. *Cereb. Cortex* 23, 210–222. <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/bhs008>.
- Bakker, R., Tiesinga, P., Köster, R., 2015. The scalable brain atlas: instant web-based access to public brain atlases and related content. *Neuroinformatics*, 353–366. <http://dx.doi.org/10.1007/s12021-014-9258-x>.
- Bercoff, J., Montaldo, G., Loupas, T., Savery, D., Mézière, F., Fink, M., Tanter, M., 2011. Ultrafast compound doppler imaging: providing full blood flow characterization. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 58, 134–147. <http://dx.doi.org/10.1109/TUFFC.2011.1780>.
- Bissig, D., Berkowitz, B.A., 2009. Manganese-enhanced MRI of layer-specific activity in the visual cortex from awake and free-moving rats. *NeuroImage* 44, 627–635. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.10.013>.
- Bissig, D., Berkowitz, B.A., 2011. Same-session functional assessment of rat retina and brain with manganese-enhanced MRI. *NeuroImage* 58, 749–760. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.06.062>.
- Carter, G.C., 1987. Coherence and time delay estimation. *Proc. IEEE* 75, 236–255. <http://dx.doi.org/10.1109/PROC.1987.13723>.
- Chan, K.C., Xing, K.K., Cheung, M.M., Zhou, I.Y., Wu, E.X., 2010. Functional MRI of postnatal visual development in normal and hypoxic-ischemic-injured superior colliculi. *NeuroImage* 49, 2013–2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.10.069>.
- Chan, K.C., Fan, S.J., Chan, R.W., Cheng, J.S., Zhou, I.Y., Wu, E.X., 2014. In vivo visuotopic brain mapping with manganese-enhanced MRI and resting-state functional connectivity MRI. *NeuroImage* 90, 235–245. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.12.056>.
- Cloutier, G., Qin, Z., 1997. Ultrasound backscattering from non-aggregating and aggregating erythrocytes – a review. *Biorheology* 34, 443–470. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-355X\(98\)00026-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-355X(98)00026-2).
- DEJONG, P., ARTS, T., HOEKS, A., RENEMAN, R., 1990. Determination of tissue motion velocity by correlation interpolation of pulsed ultrasonic echo signals. *Ultrason. Imaging* 12, 84–98. [http://dx.doi.org/10.1016/0161-7346\(90\)90152-N](http://dx.doi.org/10.1016/0161-7346(90)90152-N).
- Demene, C., Defieux, T., Pernot, M., Osmanski, B.-F., Biran, V., Franqui, S., Correas, J.-M., Cohen, I., Baud, O., Tanter, M., 2015. Spatiotemporal clutter filtering of ultrafast ultrasound data highly increases doppler and fullrasound sensitivity. *IEEE Trans. Med. Imaging*, 1. <http://dx.doi.org/10.1109/TMI.2015.2428634>.
- Demené, C., Tiran, E., Sieu, L.A., Bergel, A., Gennisson, J.L., Pernot, M., Defieux, T., Cohen, I., Tanter, M., 2015. 4D microvascular imaging based on ultrafast Doppler tomography. *NeuroImage* 127, 472–483. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.11.014>.
- Denison, R., Vu, a, Feinberg, D., Silver, M., 2012. fMRI of the magnocellular and parvocellular subdivisions of human LGN. *J. Vis.* 12. <http://dx.doi.org/10.1167/12.9.77>.
- Engel, S.A., Glover, G.H., Wandell, B.A., 1997. Retinotopic organization in human visual cortex and the spatial precision of functional MRI. *Cereb. Cortex* 7, 181–192. <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/7.2.181>.
- Erico, C., Osmanski, B.F., Pezet, S., Couture, O., Lenkei, Z., Tanter, M., 2016. Transcranial functional ultrasound imaging of the brain using microbubble-enhanced ultrasensitive Doppler. *NeuroImage* 124, 752–761. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.09.037>.
- Espinoza, S.G., Thomas, H.C., 1983. Retinotopic organization of striate and extrastriate visual cortex in the hooded rat. *Brain Res.* 160, 137–144. (doi:papers://47831562-1F78-4B52-B52E-78BF7F9A700/Paper/p352).
- Espinoza, S.G., Subiabre, J.E., Thomas, H.C., 1992. Retinotopic organization of striate and extrastriate visual cortex in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). 25, pp. 101–107.
- Frostig, R.D., Lieke, E.E., Ts'o, D.Y., Grinvald, a, 1990. Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by in vivo high-resolution optical imaging of intrinsic signals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 6082–6086. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.87.16.6082>.
- Fukuda, Y., Activity, H.N., 1978. *Jpn. J. Physiol.* 28, (385-400, 1978 385–400).
- Gias, C., Hewson-Stoate, N., Jones, M., Johnston, D., Mayhew, J.E., Coffey, P.J., 2005. Retinotopy within rat primary visual cortex using optical imaging. *NeuroImage* 24, 200–206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.08.015>.
- Grinvald, a, Lieke, E., Frostig, R.D., Gilbert, C.D., Wiesel, T.N., 1986. Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *Nature* 324, 361–364. <http://dx.doi.org/10.1038/324361a0>.
- Hubel, D.H., Wiesel, T.N., 1962. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J. Physiol.* 1962 (160), 106–154.
- Kalatsky, V.A., Stryker, M.P., 2003. New paradigm for optical imaging: temporally encoded maps of intrinsic signal. *Neuron* 38, 529–545. [http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00286-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00286-1).

- Kjonigsen, L.J., Lillehaug, S., Bjaalie, J.G., Witter, M.P., Leergaard, T.B., 2015. Waxholm Space atlas of the rat brain hippocampal region: three-dimensional delineations based on magnetic resonance and diffusion tensor imaging. *NeuroImage* 108, 441–449. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.12.080>.
- Lau, C., Zhou, I.Y., Cheung, M.M., Chan, K.C., Wu, E.X., 2011b. BOLD temporal dynamics of rat superior colliculus and lateral geniculate nucleus following short duration visual stimulation. *PLoS One* 6. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0018914>.
- Lau, C., Zhang, J.W., Xing, K.K., Zhou, I.Y., Cheung, M.M., Chan, K.C., Wu, E.X., 2011a. BOLD responses in the superior colliculus and lateral geniculate nucleus of the rat viewing an apparent motion stimulus. *NeuroImage* 58, 878–884. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.06.055>.
- Li, B., Freeman, R.D., 2007. High-resolution neurometabolic coupling in the lateral geniculate nucleus. *J. Neurosci.* 27, 10223–10229. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1505-07.2007>.
- Lund, R.D., Girman, S.V., Sauve, Y., Sergej, V., Receptive, R.D.L., Sauvé, Y., 1999. Receptive field properties of single neurons in rat primary visual cortex. *J. Neurophysiol.* 82, 301–311.
- Mace, E., Montaldo, G., Osmanski, B.-F., Cohen, I., Fink, M., Tanter, M., 2013. Functional ultrasound imaging of the brain: theory and basic principles. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 60, 492–506. <http://dx.doi.org/10.1109/TUFFC.2013.2592>.
- Macé, E., Montaldo, G., Cohen, I., Baulac, M., Fink, M., Tanter, M., 2011. Functional ultrasound imaging of the brain. *Nat. Methods* 8, 662–664. <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.1641>.
- Martindale, J., Mayhew, J., Berwick, J., Jones, M., Martin, C., Johnston, D., Redgrave, P., Zheng, Y., 2003. The hemodynamic impulse response to a single neural event. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 23, 546–555. <http://dx.doi.org/10.1097/01.WCB.0000058871.46954.2B>.
- Montaldo, G., Tanter, M., Bercoff, J., Bence, N., Fink, M., 2009. Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 56, 489–506.
- Niranjan, A., Christie, I.N., Solomon, S.G., Wells, J.A., Lythgoe, M.F., 2016. fMRI mapping of the visual system in the mouse brain with interleaved snapshot GE-EPI. *NeuroImage* 139, 337–345. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.06.015>.
- Nolte, J., 2009. *The Human Brain: An Introduction to Its Functional Anatomy*. Cambridge University Press.
- Ogawa, S., Lee, T., 1990. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 9868–9872. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.87.24.9868>.
- Op de Beeck, H.P., Tors, K., Wagemans, J., 2008. Perceived shape similarity among unfamiliar objects and the organization of the human object vision pathway. *J. Neurosci.* 28, 10111–10123. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2511-08.2008>.
- Osmanski, B.F., Martin, C., Montaldo, G., Lanièce, P., Pain, F., Tanter, M., Gurden, H., 2014. Functional ultrasound imaging reveals different odor-evoked patterns of vascular activity in the main olfactory bulb and the anterior piriform cortex. *NeuroImage* 95, 176–184. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.03.054>.
- Osmanski, B.-F., Pernot, M., Montaldo, G., Bel, A., Messas, E., Tanter, M., 2012. Ultrafast Doppler imaging of blood flow dynamics in the myocardium. *IEEE Trans. Med. Imaging* 31, 1661–1668. <http://dx.doi.org/10.1109/TMI.2012.2203316>.
- Papp, E.A., Leergaard, T.B., Calabrese, E., Johnson, G.A., Bjaalie, J.G., 2014. Waxholm Space atlas of the Sprague Dawley rat brain. *NeuroImage* 97, 374–386. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.04.001>.
- Pawela, C.P., Biswal, B.B., Hudetz, A.G., Schulte, M.L., Li, R., Jones, S.R., Cho, Y.R., Matloub, H.S., Hyde, J.S., 2009. A protocol for use of medetomidine anesthesia in rats for extended studies using task-induced BOLD contrast and resting-state functional connectivity. *NeuroImage* 46, 1137–1147. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.03.004>.
- Pawela, C.P., Biswal, B.B., Cho, Y.R., Kao, D.S., Li, R., Jones, S.R., Schulte, M.L., Matloub, H.S., Hudetz, A.G., Hyde, J.S., 2008a. Resting-state functional connectivity of the rat brain. *Magn. Reson. Med.* 59, 1021–1029. <http://dx.doi.org/10.1002/mrm.21524>.
- Pawela, C.P., Hudetz, A.G., Ward, B.D., Schulte, M.L., Li, R., Kao, D.S., Mauck, M.C., Cho, Y.R., Neitz, J., Hyde, J.S., 2008b. Modeling of region-specific fMRI BOLD neurovascular response functions in rat brain reveals residual differences that correlate with the differences in regional evoked potentials. *NeuroImage* 41, 525–534. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.02.022>.
- Paxinos, G., Watson, C., 2007. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* 6th edition. Elsevier.
- Provost, J., Papadacci, C., Arango, J.E., Imbault, M., Fink, M., Gennisson, J.-L., Tanter, M., Pernot, M., 2014. 3D ultrafast ultrasound imaging in vivo. *Phys. Med. Biol.* 59, L1–L13. <http://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/59/19/L1>.
- Reitsma, D.C., Mathis, J., Ulmer, J.L., Mueller, W., Maciejewski, M.J., DeYoe, E. a., 2013. Atypical retinotopic organization of visual cortex in patients with central brain damage: congenital and adult onset. *J. Neurosci.* 33, 13010–13024. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0240-13.2013>.
- Rubin, J., Adler, R., Fowlkes, J., Spratt, S., Pallister, J., Carson, P., 1995. Fractional moving blood volume: estimation with power Doppler US. *Radiology* 197, 183–190.
- Rubin, J.M., Bude, R.O., Carson, P.L., Bree, R.L., Adler, R.S., 1994. Power Doppler US: a potentially useful alternative to mean frequency-based color Doppler US. *Radiology* 190, 853–856. <http://dx.doi.org/10.1177/875647939601200315>.
- Rubin, J.M., Bude, R.O., Fowlkes, J.B., Spratt, R.S., Carson, P.L., Adler, R.S., 1997. Normalizing fractional moving blood volume estimates with power Doppler US: defining a stable intravascular point with the cumulative power distribution function. *Radiology* 205, 757–765. <http://dx.doi.org/10.1148/radiology.205.3.9393532>.
- Sandrin, L., Catheline, S., Tanter, M., Hennequin, X., Fink, M., 1999. Time-resolved pulsed elastography with ultrafast ultrasonic imaging. *Ultrason. Imaging* 21, 259–272. <http://dx.doi.org/10.1177/016173469902100402>.
- Saul, A.B., Feidler, J.C., 2002. Development of Response Timing and Direction Selectivity in Cat Visual Thalamus and Cortex 22, 2945–2955.
- Schuetz, S., Bonhoeffer, T., Hübener, M., 2002. Mapping retinotopic structure in mouse visual cortex with optical imaging. *J. Neurosci.* 22, 6549–6559. (doi:20026635).
- Sergejeva, M., Papp, E.A., Bakker, R., Gaudnek, M.A., Okamura-Oho, Y., Boline, J., Bjaalie, J.G., Hess, A., 2015. Anatomical landmarks for registration of experimental image data to volumetric rodent brain atlasing templates. *J. Neurosci. Methods* 240, 161–169. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2014.11.005>.
- Shung, K.K., Sigelmann, R. a, Reid, J.M., 1976. Scattering of ultrasound by blood. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* BME 23, 460–467.
- Sieu, L.-A., Bergel, A., Tiran, E., Defieux, T., Pernot, M., Gennisson, J.-L., Tanter, M., Cohen, I., 2015. EEG and functional ultrasound imaging in mobile rats. *Nat. Methods* 12, 831–834. <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.3506>.
- Tanter, M., Fink, M., 2014. Ultrafast imaging in biomedical ultrasound. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 61, 102–119. <http://dx.doi.org/10.1109/TUFFC.2014.6689779>.
- Tanter, M., Bercoff, J., Athanasiou, A., Defieux, T., Gennisson, J.L., Montaldo, G., Muller, M., Tardivon, A., Fink, M., 2008. Quantitative assessment of breast lesion viscoelasticity: initial clinical results using supersonic shear imaging. *Ultrasound Med. Biol.* 34, 1373–1386. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2008.02.002>.
- Udesen, J., Gran, F., Hansen, K.L., Jensen, J.A., Thomsen, C., Nielsen, M.B., 2008. High frame-rate blood vector velocity imaging using plane waves: simulations and preliminary experiments. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 55, 1729–1743. <http://dx.doi.org/10.1109/TUFFC.2008.858>.
- Van Camp, N., Verhoye, M., De Zeeuw, C.L., Van der Linden, A., 2006. Light stimulus frequency dependence of activity in the rat visual system as studied with high-resolution BOLD fMRI. *J. Neurophysiol.* 95, 3164–3170. <http://dx.doi.org/10.1152/jn.00400.2005>.
- Vanni, M.P., Provost, J., Casanova, C., Lesage, F., 2010a. Bimodal modulation and continuous stimulation in optical imaging to map direction selectivity. *NeuroImage* 49, 1416–1431. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.09.044>.
- Vanni, M.P., Provost, J., Lesage, F., Casanova, C., 2010b. Evaluation of receptive field size from higher harmonics in visuotopic mapping using continuous stimulation optical imaging. *J. Neurosci. Methods* 189, 138–150. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2010.03.013>.
- Walker, W.F., Trahey, G.E., 1994. A fundamental limit on the accuracy of speckle signal alignment. *IEEE Ultrason. Symp.*, 1787–1792.
- Wang, L., Sarnaik, R., Rangarajan, K., Liu, X., Cang, J., 2010. Visual receptive field properties of neurons in the superficial superior colliculus of the mouse. *J. Neurosci.* 30, 16573–16584. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3305-10.2010>.
- Warrking, J., Dojat, M., Guérin-Dugué, a, Delon-Martin, C., Olympieff, S., Richard, N., Chéhikian, a, Segebarth, C., 2002. fMRI retinotopic mapping-step by step. *NeuroImage* 17, 1665–1683. <http://dx.doi.org/10.1006/nimg.2002.1304>.
- Wibral, M., Muckli, L., Melnikovic, K., Scheller, B., Alink, A., Singer, W., Munk, M.H., 2007. Time-dependent effects of hyperoxia on the BOLD fMRI signal in primate visual cortex and LGN. *NeuroImage* 35, 1044–1063. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.12.039>.
- Yen, C.C.C., Fukuda, M., Kim, S.G., 2011. BOLD responses to different temporal frequency stimuli in the lateral geniculate nucleus and visual cortex: insights into the neural basis of fMRI. *NeuroImage* 58, 82–90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.06.022>.
- Zhou, I.Y., Cheung, M.M., Lau, C., Chan, K.C., Wu, E.X., 2012. Balanced steady-state free precession fMRI with intravascular susceptibility contrast agent. *Magn. Reson. Med.* 68, 65–73. <http://dx.doi.org/10.1002/mrm.23202>.

II. Travaux sur le primate vigile

A. Résumé

Une fois la technique d'imagerie fUS maîtrisée sur l'animal anesthésié, nous avons réalisé des premiers essais sur des rats éveillés. Les résultats montrent une amplitude de signal bien plus grande et la possibilité de répéter la mesure de manière longitudinale sur le même animal. L'établissement d'un protocole de stimulation visuelle du rat vigile nous permet actuellement de mesurer les réponses fonctionnelles du colliculus supérieur et le cortex visuel (Figure 40).

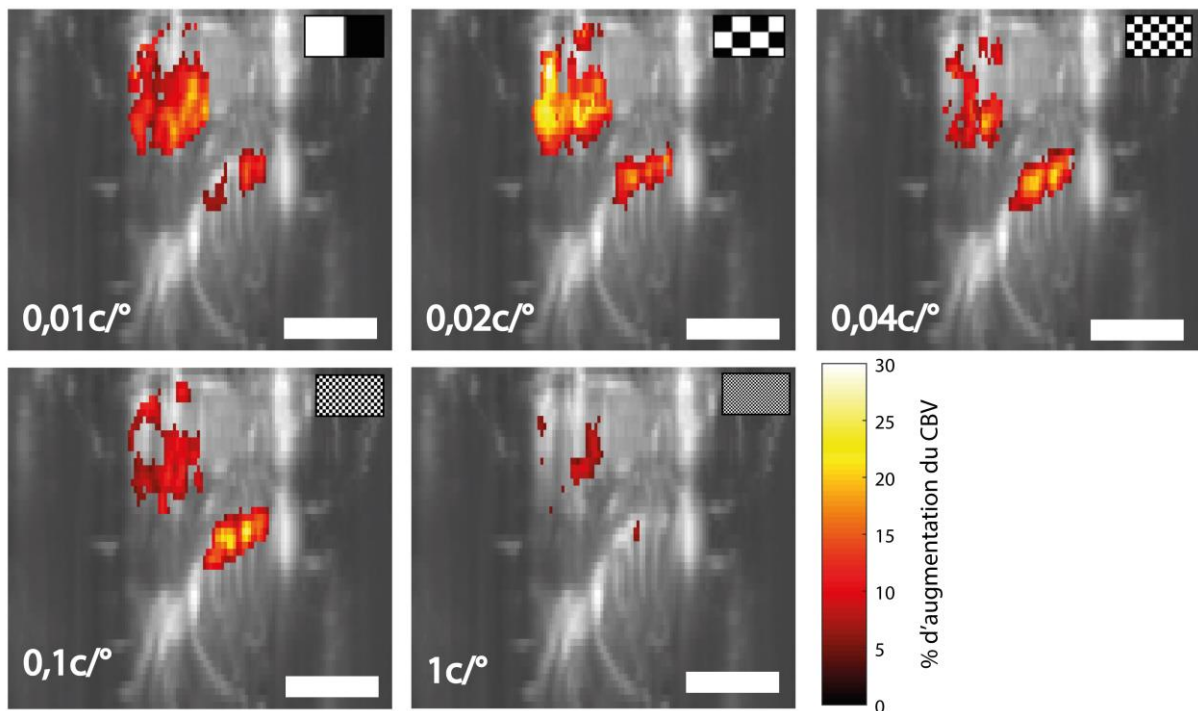


Figure 40 : Cartes d'activation du cortex visuel et du Colliculus supérieur chez le rat vigile selon la fréquence spatiale du damier. Seul l'hémisphère gauche est enregistré (stimulation du champ visuel droit uniquement). Barre d'échelle : 2mm.

Fort de ces résultats sur le rat éveillé, nous avons décidé d'exploiter la technologie en étudiant le cortex visuel chez le primate non-humain éveillé, et plus particulièrement, chez le macaque (Rhésus). Ce modèle a l'avantage d'avoir un système visuel proche de celui de l'homme, que ce soit au niveau de l'œil (avec la présence de fovéa) ou au niveau du cortex

(avec une organisation fonctionnelle similaire). De plus, cette espèce peut réaliser des tâches de comportement visuel ouvrant ainsi la voie pour une étude morpho-fonctionnelle précise.

Nous avons travaillé avec deux animaux sur lesquels les fenêtres de craniotomie étaient légèrement décalées pour donner accès à différentes structures du cortex visuel. Sur le premier (singe T), la chambre est placée au-dessus du sillon luné, accédant ainsi à une grande diversité des cortex visuels, que ce soit en superficie (V1 et V2) ou en profondeur (V2 et V3) [Fig. 1 A. et C.]. Sur le second (singe S), la chambre est au-dessus de la fissure calcarine permettant ainsi de cartographier la plus grande partie possible de V1 en superficie et en profondeur [Fig. 1. B. et D.]. Au préalable nous avons posé un plot de fixation pour maintenir la tête fixe durant les sessions.

Ces deux animaux ont été entraînés à réaliser une tâche de fixation visuelle qui consiste à fixer un point au centre d'un écran (la position de leur regard étant enregistrée à l'aide d'un système infrarouge). Lorsque l'animal fixe ce point durant 500ms (tolérance de 1,4° au maximum), une stimulation visuelle constituée de bandes sinusoïdales en nuances de gris se décalant horizontalement apparaît dans une zone périphérique (durant 500ms ou 2s). Si l'animal a continué sa fixation sur le point central jusqu'à la fin de l'essai, il reçoit une récompense hydrique [Fig. 2. A.].

Ainsi, en réalisant cette tâche visuelle sur plusieurs essais [Fig. 2. B.], les acquisitions fUS révèlent une activation locale du cortex visuel [Fig. 2. D.] dont le signal CBV peut être monitoré au cours du temps [Fig. 2. C.]. La mesure selon deux durées de stimulation (0,5s ou 2s) montre peu d'influence de ce paramètre ni sur le délai de réponse du CBV (environ 2,5s) ni sur son amplitude (16,3% et 18,6% respectivement). Seule la durée de l'augmentation sera allongée (3,3s et 4,5s respectivement). La plus courte durée de stimulation (0.5s) permettant à l'animal de réaliser un plus grand nombre d'essais corrects au cours d'une session de mesure, cette durée a été sélectionnée pour la suite des expériences. La moyenne d'un grand nombre d'essais indique que l'utilisation de 10 stimulations successives permet de distinguer sans ambiguïté pour 83% des pixels s'ils répondent à la stimulation [Fig. 2. E.]. Nous avons donc choisi de garder ce nombre de répétitions pour la suite de notre étude.

Les mesures ont été répétées avec des stimulations dans une partie du champ visuel pour révéler les cartes de rétinotopie du cortex visuel. Ces cartes ont été réalisées pour chaque animal (et dans deux plans différents pour le singe S) avec deux types de stimulation visuelle : soit la position angulaire variait (avec 15° de largeur, 12 conditions différentes) [Fig. 3.], soit

l'excentricité (1.5° de largeur, 9 conditions différentes) [Fig. 4.]. Ces cartes mettent en lumière la segmentation corticale dorso/ventrale des réponses au niveau de la fissure calcarine jusqu'à près plus d'un centimètre de profondeur. Ces zones profondes sont activées respectivement par des stimulations des champs visuels inférieurs/supérieurs ainsi que lors d'une stimulation périphérique ($>7^\circ$ et $<15^\circ$). Par conséquent, La technologie fUS nous a permis de produire des cartes rétinotopiques sur nos deux primates éveillés, et ce, dans la profondeur du cortex avec une résolution spatiale inaccessible jusqu'à présent.

Au-delà des rétinotopies, nous avons voulu définir le pouvoir de résolution de notre technologie en mesurant la carte de dominance oculaire sur V1. En effet, cette carte offre une alternance de bandes verticales qui apparaissent en coupe sous forme de colonnes corticales variant de $400\mu\text{m}$ à $500\mu\text{m}$ suivant les aires de V1. Ces bandes ou colonnes répondent soit à la stimulation de l'œil ipsilatéral, soit à celle de l'œil controlatéral en fonction de l'origine des projections reçues. Grâce à deux acquisitions consécutives en stimulant soit l'œil gauche, soit l'œil droit, et en soustrayant les deux cartes d'activation de CBV et en normalisant, nous avons réussi à cartographier ces bandes de dominances oculaires au niveau du cortex superficiel [Fig. 5. A.]. Cependant, ces colonnes sont aussi visibles dans une partie du cortex plus profond au niveau de fissure calcarine. Pour déterminer les couches du cortex dans lesquelles ces colonnes de dominance oculaire apparaissent, nous avons découpé le cortex en bandes selon l'épaisseur théorique de chaque couche [Fig. 5. B.]. L'analyse de la répartition des pixels met en évidence une répartition bimodale au niveau de la couche 4 pour les deux animaux mais aussi au niveau des couches 2/3 et 5 [Fig. 5. C-D.]. Si cette extension des colonnes de dominance oculaire dans les couches 2/3 peut correspondre à la répartition des CO-blobs, leur prolongation dans la couche 5 est plus inattendue.

Au cours de cette deuxième étude, nous avons donc pu montrer le grand avantage de l'imagerie fUS pour la cartographie des couches profondes à plus d'un centimètre de profondeur comme au niveau de la fissure calcarine ; ce qui est impossible aujourd'hui par imagerie optique. La résolution permet même de poser des questions sur le fonctionnement des différentes couches du cortex visuel, non encore déterminé, comme la prolongation des colonnes de dominance oculaire dans la couche 5. De plus, nous avons montré que cette résolution spatiale dans la profondeur du tissu peut même être obtenue sur primate éveillé réalisant une tâche visuelle.

B. Article Scientifique

Deep functional mapping of early visual areas in awake monkeys with ultrafast ultrasound imaging

BLAIZE Kévin*, GESNIK Marc*, ARCIZET Fabrice, AHNINE Harry, DEFFIEUX Thomas, POUGET Pierre, CHAVANE Frédéric, FINK Mathias, SAHEL José-Alain, TANTER Mickael*, PICAUD Serge*

Abstract

Functional Ultrasound imaging (fUSi) is a new functional imaging technique to uncover neurovascular coupling. Using fUSi, we have reconstructed the retinotopic maps even in the deep calcarine and lunate sulci on visual areas (V1, V2 and V3), with short visual stimulation (0.5s), in two awake non-human primates trained for a fixation task. We then revealed the Ocular Dominance (OD) columns in V1 for low and high eccentricities, meaning within superficial and deep visual cortex. These acquisitions show that OD selectivity is present from layer 2/3 to 5, with a maximal intensity in layer 4. These novel results on the functional organization of ocular dominance columns illustrate the high spatiotemporal resolution available with fUSi in awake and behaving primates within the whole depth of the cortex.

Introduction

The primary Visual Cortex (V1) is the first cortical integrator and processor of visual information directly coming from the Lateral Geniculate Nucleus (LGN) (Callaway, 1998; Felleman and Van Essen, 1991; Spatz, 1979; Wandell et al., 2007). The layout of the main visual areas (V1 to V5) has been massively studied at several scale levels (Balasubramanian et al., 2002; Holmes, 1918; Orban, 2008; Van Essen et al., 1984b; Wandell et al., 2007).

In fact, the functional organization of the visual cortex was first characterized following focal lesions in humans and neuronal tracing in animals on post-mortem tissues (Horton and Hocking, 1996a; Tootell et al., 1988a; Wiesel et al., 1974). The use of autoradiographic method revealed ocular dominance columns in the visual cortex (Wiesel et al., 1974). Functional mapping in living animals was initially achieved by electrophysiological recording at the single cell level (Albus, 1975a, 1975b; Daniel and Whitteridge, 1961; Dow et al., 1981; Guld and Bertulis, 1976; Hubel and Wiesel, 1974; Talbot and Marshall, 1941; Van Essen et al., 1984b). However, the difficulty to reconstruct large areas explains the success of imaging techniques to generate functional maps. The introduction of fMRI in visual cortex studies has given access to low resolution retinotopic maps but ocular dominance columns remain too small to be resolved (Benson et al., 2012; Engel et al., 1994; Henriksson et al., 2012). Optical imaging finally provided a microscopic resolution in non-human primates using either Intrinsic Optical imaging (Carandini et al., 2015; Grinvald et al., 1994; Heider et al., 2005; Seidemann et al., 2002), voltage sensitive dyes (Chemla and Chavane, 2010; Chemla et al., 2017; Muller et al., 2014; Reynaud et al., 2011; Slovín et al., 2002) or two-photon microscopy using calcium sensors (Murakami et al., 2015; Nauhaus et al., 2016; Zhuang et al., 2017). The main disadvantages of these approaches lie either of being restricted to the cortical surface (optical imaging, VSDI) or

otherwise limited in the imaging depth (two-photon microscopy, up to $\sim 600\mu\text{m}$) (Helmchen and Denk, 2005; Oheim et al., 2001), and the restricted field of view (FOV). As a consequence, these microscopic observations were not accessible to the deep cortical folds of the visual cortex within the Calcarine sulcus (Hinds et al., 2008; Stensaas et al., 1974).

Recently, the new functional ultrasound (fUS) imaging technique was found to provide a high spatiotemporal resolution ($100\mu\text{m}$, 1Hz) even in deep structures (up to 1,5cm) (Gesnik et al., 2017; Macé et al., 2011). It measures changes in the Cerebral Blood Volume (CBV) within the micro-vascularization by micro-Doppler and Singular Value Decomposition filtering. If the first reports were performed on anesthetized animals, more recent studies have involved awake rodents (Sieu et al., 2015; Tiran et al., 2017; Urban et al., 2015).

In a first study, we have applied the technology to the visual systems of the anesthetized rat measuring activation latencies between the LGN, the Superior Colliculus and the superficial layers of visual cortex (Gesnik et al., 2017). In the present study, our aim was to characterize the deep mesoscopic organization of the visual cortex in behaving primates, in particular by characterizing the retinotopic maps and ocular dominance in the superficial and deep cortical areas of V1 (within the Calcarine sulcus), V2 and V3 (Lunate Sulcus). Our results illustrate that fUS is a very relevant functional imaging technique to record activity in deep cortical layers with a high spatial and temporal frequency at the mesoscopic and microscopic scales in awake behaving non-human primates (NHP).

Materials & Methods

Experimental apparatus

Two Rhesus monkeys (*Macaca mulatta*, “S” male aged 13 years and “T” a female aged 11 years) participated in this study. The monkeys were individually housed and handled in strict accordance with the recommendations of the Weatherall Report about good animal practice. They had free access to croquettes, one fruit a day and they were under water controlled (with a minimum of 22mL/kg/day of water and no maximum). All experiments were conducted after validation of the European Council Directive (2010/63/EU) and the study was approved by the institutional and regional committees for animal care (Committee C. Darwin, registration number 9013). Vision of monkeys was tested by an ophthalmologist before being included in this project.

The animals were seated in a primate chair (Crist instruments, Inc., Hagerstown, MD) with their head fixed inside a darkened booth. Animals were positioned 53 cm in front of the computer screen (Liyama Prolite XB2783HSU; gamma corrected, resolution : 1920 x 1080, refresh rate : 60Hz). Mean screen luminance was controlled at 9 cd/m². Eye positions was monitored using an EyeLink 1000 infrared eye-tracking system (SR Research Ltd, Ottawa, Ontario, Canada). Experiments were controlled by EventIDE software (OkazoLab). A titanium headpost was implanted according to the surgical procedure described in reference (Valero-Cabre et al., 2012). Monkeys were deeply anesthetized with an IM injection of blend of Ketamine (0,3mg/Kg) and Dexmedetomidine (0,015mg/kg) for initial sedation and maintained with isoflurane gas (1-2%) during the surgery. Heart rate, temperature, respiration and SpO₂ are monitored. Pain medication was given prior the surgery with butorphanol (0.2mg/kg i.m.) using only when the animal was being mechanically ventilated (Hallowell EMC model 2000) and buprenorphine (0.015mg/kg i.m) routinely given at the end (and for reverse butorphanol effects) and after surgery, an antibiotic was also administrated (Clamoxyl LA 15mg/Kg or Diphacycline LA 20mg/Kg) to avoid infections. The head post was positioned on the medial

line and was rostral enough to allow the implantation of a recording chamber above primary visual area afterwards. After perforating the skull with milling cutter, the head post (Crist Instruments / Non-Dental Acrylic implants 6-FHP-X2F) was implanted in the skull with twelve transcranial titanium screws. Eight weeks of recovering are then needed before fixing the animal in the chair.

When animals were trained enough to fixation paradigm (see “Visual stimulations”), the recording chamber was implanted above the visual cortex (Fig.1). Monkeys were deeply anesthetized and monitored during the surgery (see the anesthesia and antibiotic protocols used for the headpost surgery). The recording chamber was positioned and centered above the right calcarine sulcus for monkey S (ML +7mm; AP -22mm) and above the Lunate sulcus for monkey T (ML +7mm; AP -10mm; DV +38mm). A craniotomy (19 mm of diameter) was done before fixing the chamber (Crist Instruments / CILUX chambers 6-IAM-J0) with screws and dental cement. Dura mater was kept safe.

Visual stimulations

Each behavioral session lasted two hours maximum. The monkey started the trial by fixating a central green square (0,2 DVA) for 500 ms within a tolerance window of 1 to 1.4 DVA. A visual stimulus on the peripheral location was then presented for 500 to 2000 ms. The visual stimuli were drifting sinusoidal gratings with a fixed temporal frequency (3 cycles/s) and a fixed spatial frequency (1 cycle/deg). The animals were rewarded with a small drop of liquid (water) at the end of each correctly performed trial. In all cases, there is 3 s of break before the beginning of a new trial (Fig. 2) (Hamed and Duhamel, 2002). We interleaved randomly control trials that consisted of trials with the same temporal organization but without any peripheral visual stimulus.

We obstructed the right eyes of both monkeys with an opaque visor for retinotopic mappings. Different sets of visual stimuli within the left visual field were then presented. We first tested different angular positions with a set of 12 visual stimuli (each stimulus 15° of angle width: 0° to 180° from 1,5 DVA to 15 DVA of eccentricity). We also used a different set of visual stimuli to test various eccentricities: 9 stimulations (1,5° eccentricity width; 180° of angle width) in the left visual field.

In order to establish ocular dominance maps, either the right or left eye of the monkey was hidden. For both situations, the visual stimulus is a “full field” stimulation (right and left visual field) with eccentricity 1,5° to 15°.

All stimuli were randomly displayed in each block.

MRI acquisitions

Anesthesia of the NHP was induced by an IM injection of Ketamine/Dexmedetomidine and maintained with isoflurane gaz (1-2%). The anatomical acquisition was done with a 3T MRI (T2* sequence; 0,5mm isotropic).

fUS acquisition sequences and data analyses

Ultrafast data blocks were acquired by repeated emissions of a set of 15 planar ultrasonic waves (Pulse Repetition Frequency: 7500 Hz) tilted with different angles ranging from -10 to 10 degrees using a custom miniaturized linear probe (128 elements, 15 MHz, 110µm pitch / Vermon, Tours, France) connected to an ultrafast ultrasound research scanner (256 electronic channels, 60 MHz sampling rate / Supersonic Imagine; Aix-en-Provence, France). Similarly to previous studies (Gesnik et al., 2017; Macé et al., 2011; Osmanski et al., 2014), after coherent

compounding of each plane waves set - resulting in a ultrafast movie of 200 frames at 500 frames per second - and clutter filtering based on the singular value decomposition of these ultrasonic images (Demené et al., 2015), one ultrasensitive Doppler image was formed for each ultrafast data block every second by averaging the 200 compounded and filtered ultrasonic images .

As a result, ultrasensitive Doppler images – proportional to CBV – were acquired with a sampling rate of one image per second. Field of view is 14 x 10 mm (pixel size 0.11 x 0.1 mm) and image depth range is from 5mm to 15mm.

Except for ocular dominance maps, only one acquisition was done per training session. In the last case, two acquisitions were needed: the first one when the right eye was hidden and the second acquisition for the other eye.

All the fUS acquisitions were then analyzed using Matlab (version R2017b; Mathworks). For each training session, a log is created by EventIDE which was used to synchronize CBV signal with the beginning of each trial. CBV signals were extrapolated, 3D smoothed (convolution kernel: [3 3 3]; gaussian filter, SD=0,65) and normalized with a baseline (10s before the beginning of the visual stimulation stimulation). The peak of CBV response was detected 2,5s after the beginning of the stimulation (Fig. 2) and the response of a voxel was thus quantified as the mean CBV level during 500ms centered after 2.5s of visual stimulation. A 5% CBV increasing threshold and a student test ($\alpha < 0.1$) are applied to consider a voxel as responding to the stimulation.

To reconstruct functional maps, a data matrix is extracted with the mean CBV increase for each value of parameter. This matrix is then extrapolated and 3D smoothed (convolution kernel: [3 3 3]; gaussian filter, SD=0,65). The mean index of the peaks of responses is extracted and is considered as the label.

Everything between the bottom of the US probe and the top of the images is ignored during the US computation.

Results

fUS Imaging plan located with MRI

fUS cannot be recorded through the skull but requires a cranial window. To precisely define the position of the chambers, we therefore initially performed MRI acquisitions on our two monkeys (Fig 1. C-D). For the first animal (monkey S), we implanted the chamber just above the calcarine sulcus to maximize the surface and depth of imaged V1 (Daniel and Whitteridge, 1961; Huff and Dulebohn, 2018; Wandell et al., 2007). For the second monkey (monkey P), the chamber was moved above the lunate sulcus to image other visual areas, V1, V2 and V3, in the same plan (Gattass et al., 1981; Wandell et al., 2007; Zeki, 1978b). The two fUS imaging plans were in fact contiguous (Fig1. C-D). Our first fUS acquisitions provided a sharp anatomical representation of the deep micro-vascularization as compared to the MRI images (Fig1. A-B). The well vascularized dura mater can be seen just above the superficial cortex. The cortical sulci are easily distinguishable thanks to the presence of big vessels appearing in white on the image.

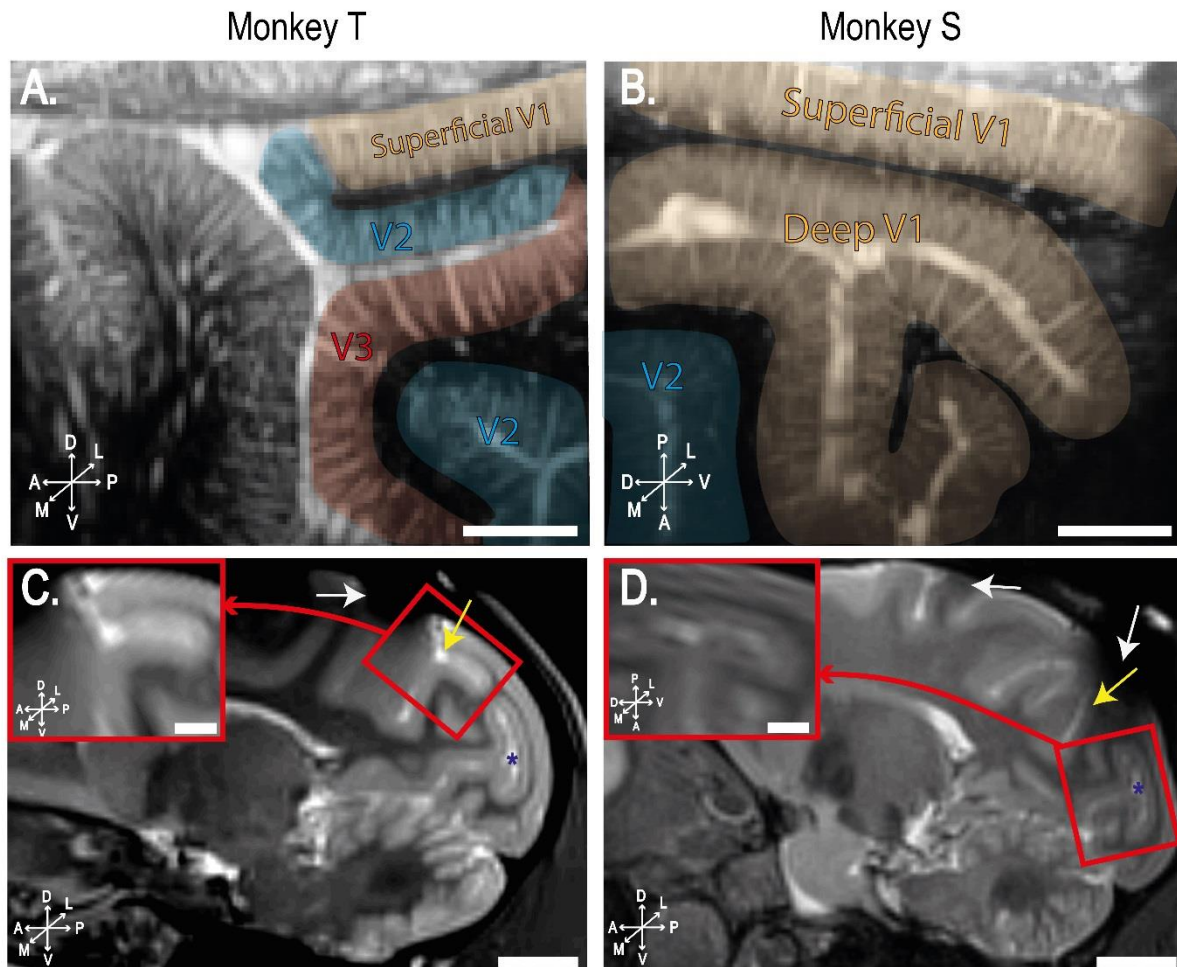


Figure 1: Comparative views of the cortex by MRI and fUS. fUS (A-B) and MRI acquisitions (C-D) in the sagittal plan (ML=+7mm) for monkey T (A-C) and monkey S (B-D). A-B) fUS acquisition in the sagittal plan. Black and White scale represents the mean CBV within the cortex. The different areas are represented by colors (V1: yellow; V2: Blue; V3: Red). This segmentation was done from the theoretical positions given by atlas (Saleem and Logothetis, 2012). Scale bar=2mm. C-D) Whole brain MRI acquisition in sagittal plan (ML=+7mm). white arrows point to artifacts due to the headpost and the screws. Yellow arrow: Lunate Sulcus. Blue star: Calcarine Sulcus. Red rectangle: Position of the fUS imaging plan. Scale bar=1cm. Top Left: Zooms of the MRI acquisition below the position of the recording chamber (corresponding to the red rectangles in C-D), Scale bar=2mm.

Stimulation duration and repetition

Monkeys were trained to fixate a green central square. After a 500 ms successful fixation a moving sinusoidal grating was presented (Fig. 2A). A reward was provided to the animal if gaze fixation was maintained on the central square for the whole duration of the stimulation. In a trial, we measured changes of the cerebral blood flow (CBV) in response to different visual stimulations (Fig2 A). The monkeys succeeded in completing trials with stimulus presentations for 0.5 s and 2 s (Fig2B). For these stimulus durations, the CBV responses were localized within the same area even if the acquisitions were done within two different sessions (Fig2C). The CBV responses peaked after a 2.5s delay from the stimulus onset. A similar latency was already reported for other imaging techniques based on CBV changes like intrinsic imaging (Uhlirva et al., 2016; Vanzetta and Grinvald, 2008). In the following experiments, we used 0.5s stimulus presentation, which enabled us to increase the number of successful trials for the following experiments.

We then determined the minimum number of repetitions required to obtain an accurate map (Fig2 D). For that purpose, we generated a functional map using 137 correct trials. Considering the averaged result as a template “ideal” functional map, and computing the maps with only 1 to 136 trials (mixing trials, see video Annex 1) and comparing the number of pixels correctly classified (activated vs non-activated) in comparison to the best map (with 137 trials). We measured that 10 averaged repetitions are enough to correctly classify around 82,76% ($\pm 2,11\%$, SEM) of pixels (student test, $\alpha < 0,1$).

Therefore, for the following determination of the retinotopic maps in the visual cortex, we used these experimental conditions: 500ms for the stimulation presentation and a minimum of ten trials repetitions.

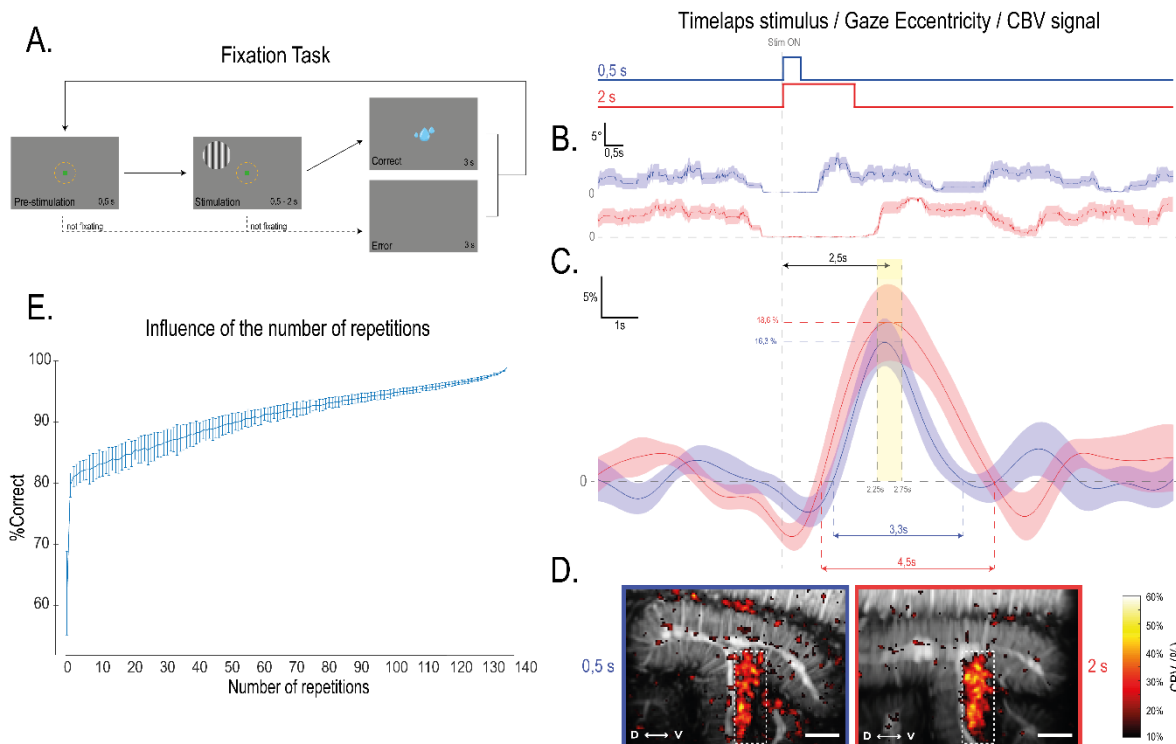


Figure 2: Analyses and optimization of the stimulation duration and the number of averaged repetitions. **A)** Schematic representation of the fixation paradigm. At the beginning of the trial, a green square appears at the center of the screen. The animal must fixate it during 0,5s (eccentricity tolerance is represented with orange dotted line), the visual stimulation (moving sinusoidal grating) appears as visual stimulation in the field of view. If the animal is still fixating (after 0,5s or 2s), he receives a water reward. A 3s break is awarded before the next trial. **B)** Mean gaze eccentricity (centered on the green square) for 10 correct trials according to the time of stimulation (blue: 0,5s, n=10; red: 2s, n=10). Fixations start before the visual stimulation because the monkey must fixate the green square 0,5s before (pre-stimulation). Error bars: SEM. **C)** Mean evolution of the CBV signal according to the time of stimulation (blue: 0,5s; red: 2s) for pixels contained in the ROI represented with white dotted line in **D)**. Note that the peaks of response are reached 2,5s after the beginning of the stimulation for 0;5s and 2s although the amplitude was greater with the longer duration. Error bars: SEM. **D)** fUS responding maps for both stimulation durations. Scale bar=2mm. **E)** Percentage representation of correct classification of pixels (responding or not) for the whole image according to the number of averaged repetitions for a 0,5s stimulation. Error bars: SEM.

Retinotopic maps

Retinotopic maps are the best characterized organization in the visual cortex (Blasdel and Campbell, 2001; Huff and Dulebohn, 2018; Purves et al., 2001; Tootell et al., 1982). In NHP, the projection of the visual field in the visual cortex can be mapped in eccentricity and polar angle values (Tootell et al., 1998). We first measured the CBV responses to visual stimulations restricted to polar wedges in the left visual field (Fig3). CBV increases were strong ($>10\%$, $\alpha < 0,1$) and very localized on the individual responding maps (Fig3 A.). The progression of activated regions within the calcarine sulcus is visible on these twelve different images. We

have reconstructed the corresponding retinotopic map (Fig3 C.). Responding but non-selective regions were represented in white. Stimulations in the upper visual field lead activation of V1 in the deep ventral side of the calcarine sulcus (represented in blue; polar angle=0°) versus stimulations in the lower visual field lead to activations in the deep dorsal side of the calcarine sulcus (represented in red; polar angle=180°). The intermediate polar angles between 45° and 135° are processed by the roof of the calcarine sulcus and in the superficial cortex as nicely indicated on the coronal plan (Fig. 3D). In monkey T, we mapped the lunate sulcus (Fig3 B.). Responses in the superficial cortex (V1) were low but showed a continuity with the previous retinotopic map (polar angle between 90° and 135°). Responses were higher within the depth of the cortex (V2 and V3d) corresponding to visual stimulations in the lower visual field (represented in orange and red: polar angle between 135° and 180°).

In a second step, we performed the retinotopic map of stimulation eccentricity (Fig4). The procedure was identical to that described for polar angles with 9 different eccentricities. In these individual responding maps (Fig4 A.) and in the corresponding crossing computation (Fig4 C.), it clearly appears that the superficial cortex of V1 processes visual information for central vision (represented in blue; eccentricities between 1,5° and 7,5°) compared to deep V1 cortex within the calcarine sulcus processing more peripheral vision (represented in orange and red; eccentricities between 7,5° and 15°). The transition of the preference eccentricity processing is well characterized in the V1 medial fold on Monkey S coronal plan (Fig4 D.). The continuity of the involvement of superficial V1 cortex in central vision processing was consistent on monkey T (Fig4 B.) while V2 and V3d were also processing higher eccentricities within the deep fold (blue to red; 7,5° to 15°). These results demonstrated the feasibility to map visual responses within the depth of the visual cortex providing thereby 3D retinotopic maps in deep cortical structure of the NHP.

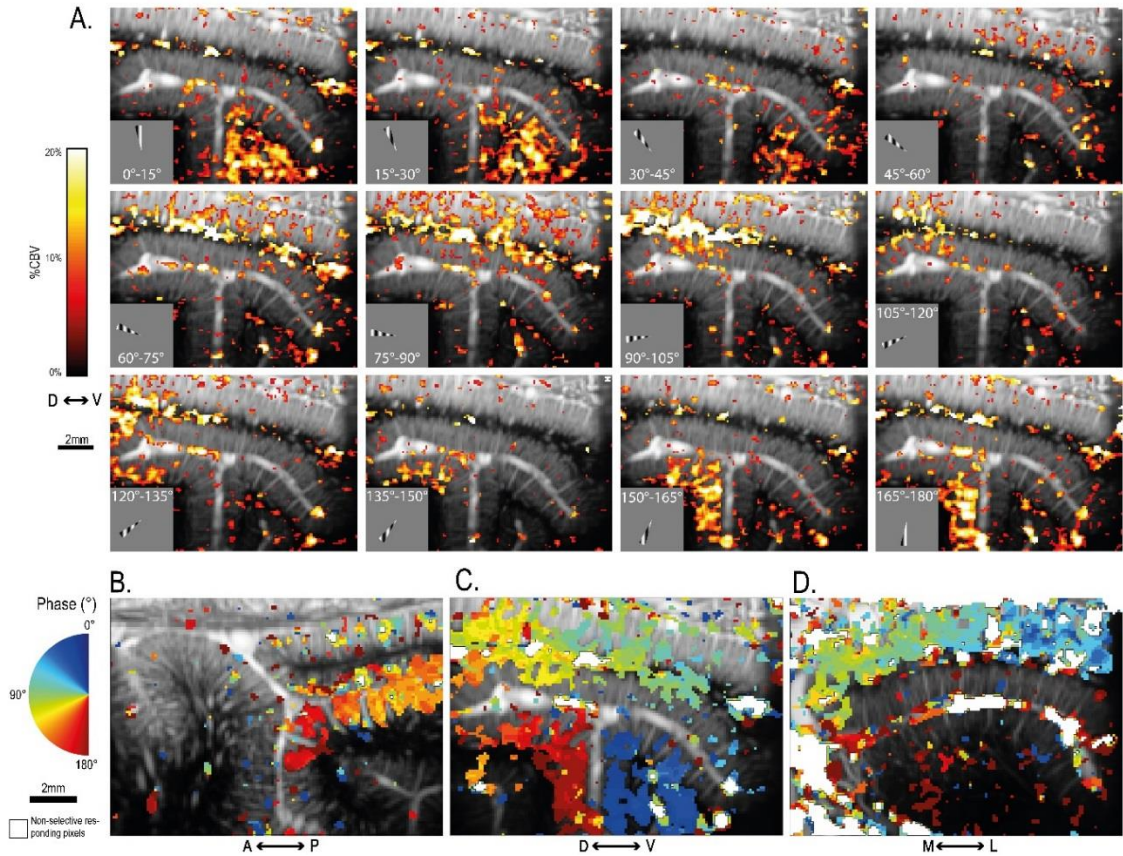


Figure 3: Polar angle retinotopic maps A) Increase of CBV in response to the polar angle stimulus for monkey S in the sagittal plan. Visual stimulation is represented at the bottom left for each averaged acquisition. B) Polar angle retinotopic map in VI, V2 and V3 for the monkey T. (21 averaged stimulations) C-D) polar angle retinotopic maps in VI (Sagittal plan for C. and coronal plan for D.) for monkey S. (13 averaged stimulations for C. and 10 averaged stimulations D.)

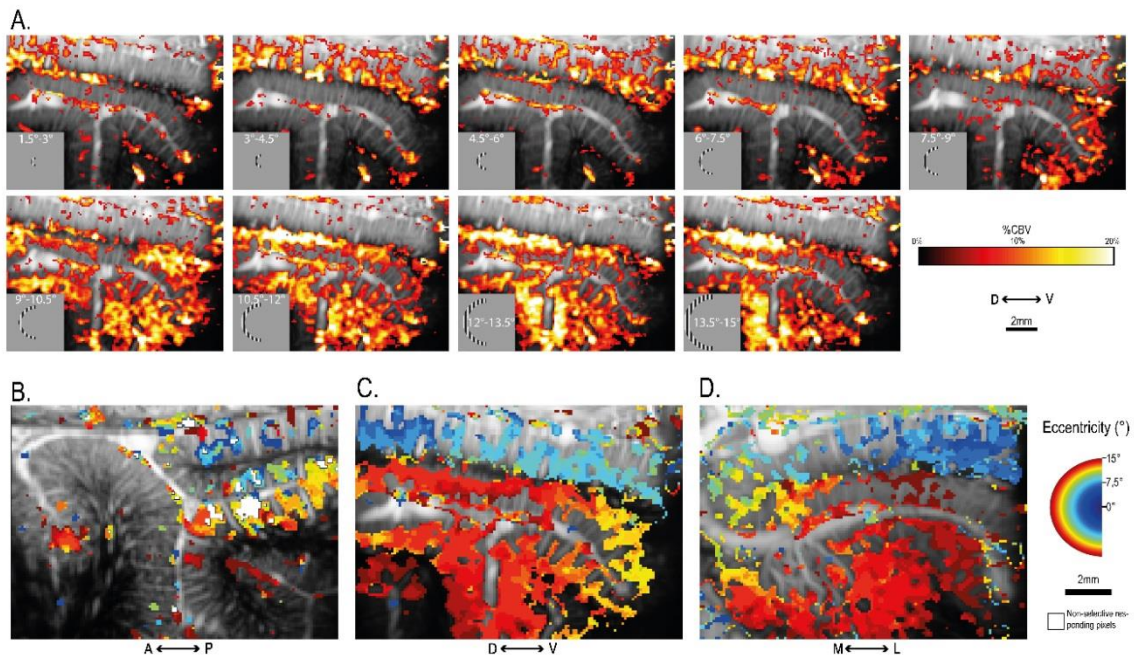


Figure 4: Eccentricity retinotopic maps A) Increase of CBV in response to the eccentricity stimulus for monkey S in the sagittal plan. Visual stimulation is represented at the bottom left for each averaged acquisition. B) Eccentricity retinotopic map in V1, V2 and V3 for the monkey T. (34 averaged stimulations) C-D). polar angle retinotopic map in V1 (Sagittal plan for C. and coronal plan for D.) for monkey S. (28 averaged stimulations for C. and 10 averaged stimulations for D.).

Ocular Dominance map in V1

Ocular dominance columns were first described by deoxyglucose imaging on fixed tissues on the visual cortex and on the superficial layers by optical imaging or VSDI. Because their thickness is just at the resolution power of the fUS imaging ($\sim 500\mu\text{m}$ (Horton and Hocking, 1996)), we investigated whether we can resolve them with this technique. Figure 5 illustrates that fUS spatial resolution allows mapping of these bands in most areas. First, CBV variations were measured under either an ipsilateral stimulation or a contralateral stimulation. In both cases, alternating bands already appear on the measurements all along the superficial cortex with response amplitudes at least twice bigger than in neighboring areas (Fig5 A. left). The ocular dominance index was computed by subtracting the contralateral activation map from the ipsilateral map (Fig3 A. right). This calculation and its normalization further highlighted the cortical columnar organization representing the ocular dominance representation. This map relied on 99 stimulus repetitions. However, computing maps using odd or even trials revealed the same structures fitting one another (Sup. Fig. 2), and confirming thereby the relevance of this map. The ocular dominance stripes are well highlighted for superficial V1 but there is only a sub-region of deep V1 where this pattern is present (region targeted by the white arrow).

We then performed an analysis on the tissue depth by cortical layers. Based on Hässler's scheme of the V1 layering (Balaram and Kaas, 2014), we attributed individual pixels to a cortical layer in the superficial cortex by indicating the top and the bottom borders of the cortex and computing the proportion of the layers between both (Fig. 5B). Doing this layer segmentation for each pixel, we are then able to plot the distributions and compute the normalized value repartitions by layer (Fig5 C-D). This quantitative analysis demonstrates that layer IV has the highest alternation of OD in agreement with previous studies (Hubel and Wiesel, 1968). However, bimodal distributions were also present in Layer III and Layer V suggesting their potential ocular dominance representation. One interpretation of this observation is a poorer vertical localization of activity due to vertical vascularization organization (crossing top-down vertically the cortex (Uhlirva et al., 2016; Vanzetta and Grinvald, 2008)) since fUS primarily measures blood variations. A local increase of the blood due to neuronal activation could yield a vascular increase below as well. The bimodal distribution for layer III and IV was present for both monkeys (T and S) (Fig5 D.). These observations provide further insight on the fUS resolution allowing observation of ocular dominance columns and the functional discrimination of cortical layers.

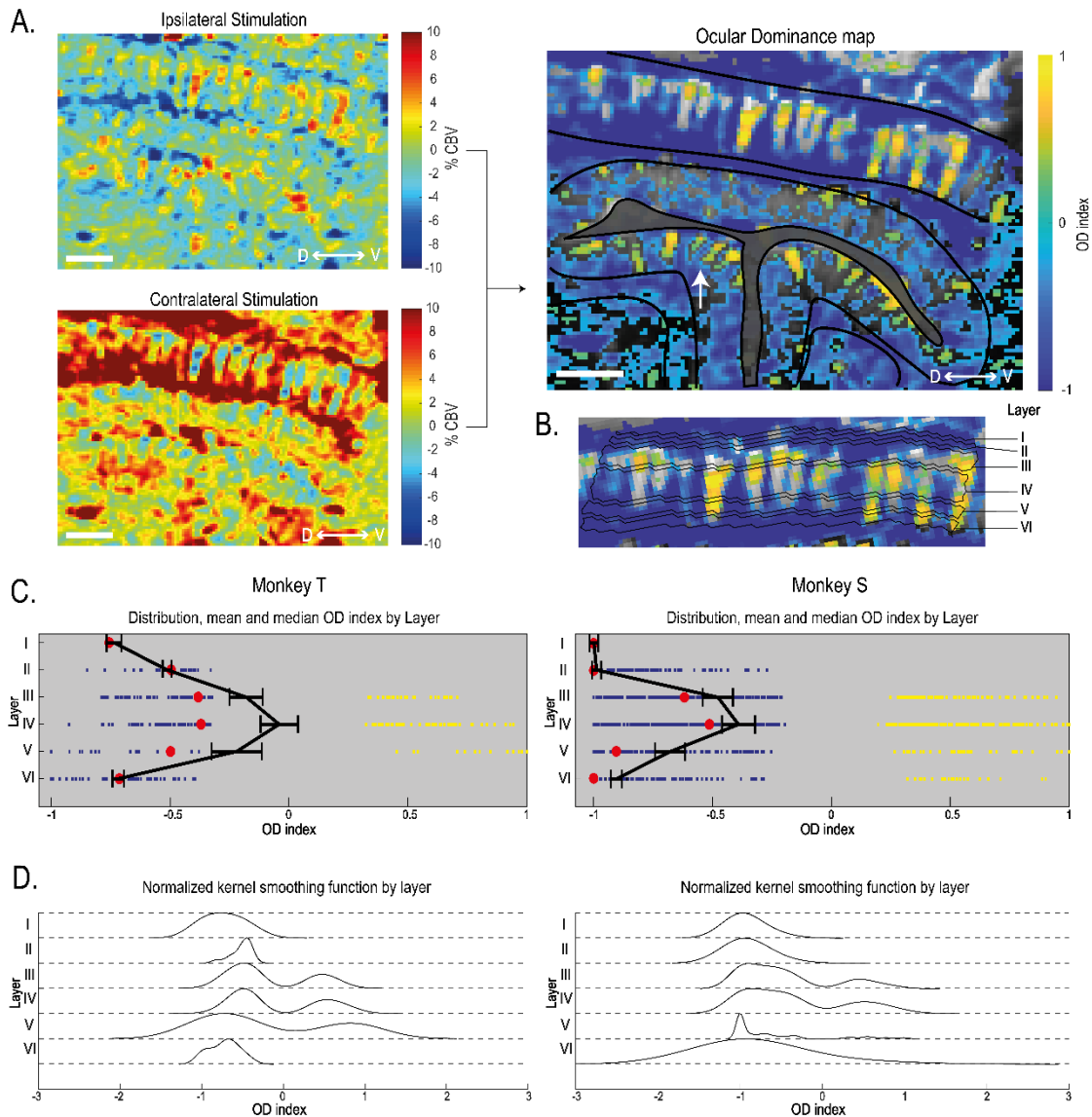


Figure 5: Imaging and analyses of OD map in V1. A) Left: CBV evolution representations according to the stimulated eye (ipsi/contra-lateral) for the monkey S. Right: OD map computed with the 2 previous maps. (99 averaged stimulations). Black lines represent the borders of the cortex. ROI targeted by the white arrow reveals a potential OD pattern in deep visual cortex. SB=2mm B) OD stripes representation in the different superficial cortical layers (yellow: ipsilateral / blue: contralateral). C) Representation of the mean (black line) and the median (red circle) of the OD_i within the different superficial cortical layers with the distribution by pixel. Error bars = SEM. D) Representation of the normalized kernel smoothing function obtained with the pixel distribution by layer.

Discussion

fUS imaging allows quick anatomical acquisition with a high spatial resolution

Mapping the anatomic micro-vascularization with this ultrasound system in the recording chamber is very fast: 1 second is enough to capture one imaging plane with a spatial resolution of $100 \times 100 \times 400 \mu\text{m}^3$ and a FOV of $1,4 \times 2 \text{ cm}^2$ compared with a 7T MRI which typically requires couple of minutes to provide 0.5mm isotropic acquisition of the brain (Zwanenburg et al., 2011). Moreover, an anesthesia is often needed for MRI acquisitions on monkey, whereas

it can be easily done on awake – head fixed – behaving monkey with ultrasound. Ultrasound imaging system could thus easily be exploited for anatomical acquisitions in recording chambers to guide injections or electrode implantations, especially in depth. This could be also used to daily control the width of dura or the good state of the cortex.

OD Columns are mapped in deep layers of the cortex in-vivo

Since Hubel & Wiesel have demonstrated the existence of OD cells in V1 with electrophysiology recordings (Hubel and Wiesel, 1968), most of the following studies have used autoradiographic methods needing the sacrifice of the animals (Tootell et al., 1988b; Wiesel et al., 1974). In functional imaging, OD bands were also detected by optical imaging methods like Intrinsic-signal Optical imaging (Kaskan et al., 2007), VSDi (Blasdel and Salama, 1986) or calcium imaging (Nauhaus et al., 2016) but this demonstration was always limited to the superficial cortical layers because optical method cannot reach deep layers. Here we showed that fUS imaging overpasses this limitation mapping the OD columns in-vivo, in the whole cortex depth. Ocular dominance columns were classically described in layer IV of V1 (Levay and Connoly, 1985) as confirmed by the recording of cells responding to the stimulation of one eye (Hubel and Wiesel, 1968). However, our study suggest that ocular dominance columns could expand from layer 3 to layer 5 in V1.

One may wonder whether a vertical alignment of large blood vessels in V1 could artificially extend the columns in layers 3 and 5. Indeed, the blood circulating in a closed system generates a peripheral influence on the measured signal (Carandini et al., 2015; Uhlirova et al., 2016; Vanzetta and Grinvald, 2008). However, the greater sensitivity of the ultrasound technology to horizontal vessel speaks against this hypothesis. Furthermore, our analysis of the ultrafast ultrasound technology filters the signal produced only by arterioles, capillaries and venules based on their blood velocity (between 4 and 25mm/s) (Macé et al., 2011). Finally, small blood vessels and capillaries are not organized with respect to cytochrome oxidase patches in layer 3 but instead as horizontal microvascular lobules, consisting of a central venule surrounded by arterioles (Adams et al., 2015). This clearly suggest that the presence of an ocular dominance column extending into layers 3 and 5 is a relevant functional signal. In fact, different anatomical studies have also suggested some continuities between ocular dominance columns in layer 4 and bands of cytochrome oxidase blobs in layer 3 as indicated by staining by autoradiographic markers or immediate-early genes methods (Takahata et al., 2009; Tootell et al., 1988b). Therefore, our observation of the ocular dominance columns from layer 3 to 5 provides the first functional evidence of this functional organization of V1 visual cortex.

Absence of the OD columns in deep cortex of V1 could be due to smaller column sizes below the resolution limit of the technology (see below). Indeed, OD bands are thinner for high eccentricities (Adams et al., 2007; Horton and Hocking, 1996a; Van Essen et al., 1984b). OD bands parallel to the ultrasound probe could also provide an alternative explanation. This could likely be the case for the OD columns at the roof of the calcarine sulcus (Fig5) as indicated by a previous study (Levay and Connoly, 1985).

The spatial resolution

The spatial resolution (~100µm in this study) of functional ultrasound imaging is directly depending on the frequency of the US probe we used (15 MHz). Therefore, to increase further this parameter, we need to increase the frequency of the US probe, which is a probe intrinsic feature (Macé et al., 2011). Improving this resolution could allow to identify new functional structures like orientation selectivity columns in V1, or CO-Blobs (Blasdel, 1992; Blasdel and Salama, 1986; Grinvald et al., 1986; Ikezoe et al., 2013; Nauhaus et al., 2016). However, the

drawback of increasing the probe frequency would reduce the ultrasound penetration in the tissues and thus a lower imaging depth. Inversely, reducing the frequency could enable us to penetrate deeper in the tissue at the expense of the resolution quality. A compromise is needed between the desired spatial resolution, the imaging depth and the width of the imaging plan.

Conventional optical imaging techniques have a better spatial resolution (neuron scale). However, there are several limitations compared to fUS imaging. For instance, in calcium bi-photon imaging, the non-human primate had to be anesthetized and the dura removed, dyes had to be injected into the tissue, the maximal imaging depth was 400 μ m below the cortical surface with a maximum field of view (FOV) 1x1mm² (Nauhaus et al., 2012, 2016). Therefore, the technique is limited to the superficial V1 coding for central vision. By contrast with fUS imaging, the animal is awake, dura intact, maximal imaging depth 2cm – allowing mapping V1 in the deep calcarine sulcus, with a FOV 1,4x1cm².

The field of view and 3D construction

As observed in OD map (Fig5), some functional structures are anatomically oriented but fUS only records one 400 μ m width imaging plan oriented in depth. That's why it could be tricky to image some functional structures if their orientation - or position - are parallel to the imaging plan. This spatial restriction could be compared to the deep axis limitation with optical imaging. A solution is, when possible, to perpendicularly rotate the probe within the recording chamber, to image the cortex with a different angle, allowing thereby to solve the spatial problem. A 3D reconstruction could thus be made like previously achieved with parallel imaging plans (Demené et al., 2016; Gesnik et al., 2017).

The temporal resolution

The temporal resolution (1Hz) is less than optical imaging which can reach 50Hz (Chen et al., 2013; Murakami et al., 2015; Yang et al., 2007). However, the real temporal limitation of this technique is the neurovascular coupling (Denfield et al., 2016). Compared to fMRI, which also measures blood flow evolutions, the temporal scale is similar (Benson et al., 2012; Henriksson et al., 2012). Our experiments indicated that a 1Hz frequency is sufficient to measure V1 responses with only 500ms of stimulation duration. The measurement is feasible because blood flows have very slow dynamics (Phillips et al., 2016; Scott, 2015; Welsh and Ledoux, 2015; Welsh and Segal, 1998) and the amplitude of the response is large in awake as compared to anesthetized animals (Pisauro et al., 2013).

The limitation of the CBV sampling frequency is only dependent on hardware US device because of the computational cost. Some strategies to perform this feature are creating a mask of the region of interest upstream or directly upgrading the computer components. Doing that, we could study interactions between different cerebral areas - given the large FOV – observing lag responses between them. Moreover, a temporal analysis could enable us to reveal the different cortical layers knowing the different feedforwards and feedbacks present within them.

fUS can be used to quickly map and study influence of parameters

Thanks' to all fUS imaging advantages (high spatial and temporal resolutions, mesoscopic FOV, good SNR, ease of use for awake experiments), this new innovative technique could be used to pursue mapping of the visual information processing in cortical visual areas testing other visual features (spatial and temporal frequencies, colors, position of the fixation point, shape of the stimulus...). This could also be used to functionally pre-map a region after having

done a craniotomy for further electrophysiological studies for example. Indeed, some studies are time-consuming to preliminary map with electrophysiological method (Daniel and Whitteridge, 1961; Dow et al., 1981; Hubel and Wiesel, 1974; Talbot and Marshall, 1941; Van Essen et al., 1984b) when it can be done with only one session with fUS (for a retinotopic map like presented in this study). Moreover, considering a perfect session with only correct fixations for all trials, only 420s of acquisition is needed to reconstruct the polar angle map with fUS imaging when it takes 3200s with fMRI for M.J. Arcaro. and M.S. Livingstone (Arcaro and Livingstone, 2017). Moreover, there is no study using fMRI which reveals some functional maps with such a high spatiotemporal resolution than presented with fUS imaging here (Buxton, 2013; Kangarlu, 2016).

Conclusion

This study demonstrates the capacity and the interests of using functional ultrasound imaging to map visual cortex in awake non-human primates with high spatial and temporal resolutions. This innovative technique is accurate enough to highly reconstruct retinotopic maps and OD maps at the microscopic level, but with a mesoscopic field of view. Our study shows that fUS could be used to study and distinguish the different cortical layers according to their different behavior in signal information processing. For the first time, we exploited fUS imaging to record the cortical activity in awake monkey. These results suggest that this technique will have a major impact in neurology and neurosciences given that this is the only imaging technique allowing mapping activity in depth with a such high spatiotemporal resolution.

Acknowledgements

This work was supported by the European Research Council SYNERGY Grant scheme (HELMHOLTZ, ERC Grant Agreement #610110), Europe and partly supported by the European Union's Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) / ERC grand agreement no 339244-FUSIMAGINE.

References

- Adams, D.L., Sincich, L.C., and Horton, J.C. (2007). Complete Pattern of Ocular Dominance Columns in Human Primary Visual Cortex. *J. Neurosci.* 27, 10391–10403.
- Ahmadrhou, M., and Heimel, J.A. (2015). Preference for concentric orientations in the mouse superior colliculus. *Nat. Commun.* 6, 6773.
- Aine, C.J., Supek, S., George, J.S., Ranken, D., Lewine, J., Sanders, J., Best, E., Ties, W., Flynn, E.R., and Wood, C.C. (1996). Retinotopic organization of human visual cortex: departures from the classical model. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 6, 354–361.

- Albus, K. (1975a). A quantitative study of the projection area of the central and the paracentral visual field in area 17 of the cat. I. The precision of the topography. *Exp. Brain Res.* *24*, 159–179.
- Albus, K. (1975b). Predominance of monocularly driven cells in the projection area of the central visual field in cat's striate cortex. *Brain Res.* *89*, 341–347.
- Alivisatos, A.P., Andrews, A.M., Boyden, E.S., Chun, M., Church, G.M., Deisseroth, K., Donoghue, J.P., Fraser, S.E., Lippincott-Schwartz, J., Looger, L.L., et al. (2013). Nanotools for Neuroscience and Brain Activity Mapping. *ACS Nano* *7*, 1850–1866.
- Arcaro, M.J., and Livingstone, M.S. (2017). Retinotopic Organization of Scene Areas in Macaque Inferior Temporal Cortex. *J. Neurosci.* *37*, 7373–7389.
- Assali, A., Gaspar, P., and Rebsam, A. (2014). Activity dependent mechanisms of visual map formation - From retinal waves to molecular regulators. *Semin. Cell Dev. Biol.* *35*, 136–146.
- Awatramani, G.B., and Slaughter, M.M. (2000). Origin of transient and sustained responses in ganglion cells of the retina. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *20*, 7087–7095.
- Ayoub, G.S., and Copenhagen, D.R. (1991). Application of a fluorometric method to measure glutamate release from single retinal photoreceptors. *J. Neurosci. Methods* *37*, 7–14.
- Baker, B.J., Kosmidis, E.K., Vucinic, D., Falk, C.X., Cohen, L.B., Djuricic, M., and Zecevic, D. (2005). Imaging Brain Activity With Voltage- and Calcium-Sensitive Dyes. *Cell. Mol. Neurobiol.* *25*, 245–282.
- Balaram, P., and Kaas, J.H. (2014). Towards a unified scheme of cortical lamination for primary visual cortex across primates: insights from NeuN and VGLUT2 immunoreactivity. *Front. Neuroanat.* *8*.
- Balasubramanian, M., Polimeni, J., and Schwartz, E.L. (2002). The V1 -V2-V3 complex: quasiconformal dipole maps in primate striate and extra-striate cortex. *Neural Netw. Off. J. Int. Neural Netw. Soc.* *15*, 1157–1163.
- Bandettini, P.A., Wong, E.C., Hinks, R.S., Tikofsky, R.S., and Hyde, J.S. (1992). Time course EPI of human brain function during task activation. *Magn. Reson. Med.* *25*, 390–397.
- Behrens, C., Schubert, T., Haverkamp, S., Euler, T., and Berens, P. Connectivity map of bipolar cells and photoreceptors in the mouse retina. *ELife* *5*.

- Benson, N.C., Butt, O.H., Datta, R., Radoeva, P.D., Brainard, D.H., and Aguirre, G.K. (2012). The retinotopic organization of striate cortex is well predicted by surface topology. *Curr. Biol.* CB 22, 2081–2085.
- Bercoff, J., Montaldo, G., Loupas, T., Savery, D., Meziere, F., Fink, M., and Tanter, M. (2011). Ultrafast compound doppler imaging: providing full blood flow characterization. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 58, 134–147.
- Berson, D.M., Dunn, F.A., and Takao, M. (2002). Phototransduction by Retinal Ganglion Cells That Set the Circadian Clock. *Science* 295, 1070–1073.
- Blasdel, G.G. (1992a). Differential imaging of ocular dominance and orientation selectivity in monkey striate cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 12, 3115–3138.
- Blasdel, G.G. (1992b). Orientation selectivity, preference, and continuity in monkey striate cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 12, 3139–3161.
- Blasdel, G., and Campbell, D. (2001). Functional Retinotopy of Monkey Visual Cortex. *J. Neurosci.* 21, 8286–8301.
- Blasdel, G.G., and Salama, G. (1986). Voltage-sensitive dyes reveal a modular organization in monkey striate cortex. *Nature* 321, 579–585.
- Bosking, W.H., Zhang, Y., Schofield, B., and Fitzpatrick, D. (1997). Orientation selectivity and the arrangement of horizontal connections in tree shrew striate cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 2112–2127.
- Boycott, B., and Wässle, H. (1999). Parallel processing in the mammalian retina: the Proctor Lecture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 40, 1313–1327.
- Boycott, B.B., S, F.R., Hopkins, J.M., and Sperling, H.G. (1987). Cone connections of the horizontal cells of the rhesus monkey's retina. *Proc R Soc Lond B* 229, 345–379.
- Boyden, E.S., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G., and Deisseroth, K. (2005). Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat. Neurosci.* 8, 1263–1268.
- Briggs, F. (2017). Mammalian Visual System Organization. *Oxf. Res. Encycl. Neurosci.*
- Burle, B., Spieser, L., Roger, C., Casini, L., Hasbroucq, T., and Vidal, F. (2015). Spatial and temporal resolutions of EEG: Is it really black and white? A scalp current density view. *Int. J. Psychophysiol.* 97, 210–220.

- Buxton, R.B. (2013). The physics of functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Rep. Prog. Phys. Phys. Soc. G. B.* 76, 096601.
- Buzsáki, G., Anastassiou, C.A., and Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents-EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 407–420.
- Bytautiene, J., and Baranauskas, G. (2017). Rat superior colliculus neurons respond to large visual stimuli flashed outside the classical receptive field. *PLOS ONE* 12, e0174409.
- Calixto, R., Salamat, B., Rode, T., Hartmann, T., Volckaerts, B., Ruther, P., Lenarz, T., and Lim, H.H. (2013). Investigation of a new electrode array technology for a central auditory prosthesis. *PloS One* 8, e82148.
- Callaway, E.M. (1998). Local Circuits in Primary Visual Cortex of the Macaque Monkey. *Annu. Rev. Neurosci.* 21, 47–74.
- Cang, J., Wang, L., Stryker, M.P., and Feldheim, D.A. (2008). Roles of Ephrin-As and Structured Activity in the Development of Functional Maps in the Superior Colliculus. *J. Neurosci.* 28, 11015–11023.
- Carandini, M., Shimaoka, D., Rossi, L.F., Sato, T.K., Benucci, A., and Knöpfel, T. (2015). Imaging the awake visual cortex with a genetically encoded voltage indicator. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 35, 53–63.
- Carlson, G.C., and Coulter, D.A. (2008). In vitro functional imaging in brain slices using fast voltage-sensitive dye imaging combined with whole-cell patch recording. *Nat. Protoc.* 3, 249–255.
- Cervenka, M.C., Corines, J., Boatman-Reich, D.F., Eloyan, A., Sheng, X., Franaszczuk, P.J., and Crone, N.E. (2013). Electrocorticographic functional mapping identifies human cortex critical for auditory and visual naming. *NeuroImage* 69, 267–276.
- Chemla, S. A biophysical cortical column model for optical signal analysis. 243.
- Chemla, S., and Chavane, F. (2010). Voltage-sensitive dye imaging: Technique review and models. *J. Physiol.-Paris* 104, 40–50.
- Chemla, S., Muller, L., Reynaud, A., Takerkart, S., Destexhe, A., and Chavane, F. (2017). Improving voltage-sensitive dye imaging: with a little help from computational approaches. *Neurophotonics* 4, 031215.
- Chen, G., Wang, F., Dillenburger, B.C., Friedman, R.M., Chen, L.M., Gore, J.C., Avison, M.J., and Roe, A.W. (2012a).

- Functional magnetic resonance imaging of awake monkeys: some approaches for improving imaging quality. *Magn. Reson. Imaging* 30, 36–47.
- Chen, T.-W., Wardill, T.J., Sun, Y., Pulver, S.R., Renninger, S.L., Baohan, A., Schreiter, E.R., Kerr, R.A., Orger, M.B., Jayaraman, V., et al. (2013). Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature* 499, 295–300.
- Chen, W., Zhu, X.H., Thulborn, K.R., and Ugurbil, K. (1999). Retinotopic mapping of lateral geniculate nucleus in humans using functional magnetic resonance imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 2430–2434.
- Chen, W., You, J., Gu, X., Du, C., and Pan, Y. (2016). High-speed swept source optical coherence Doppler tomography for deep brain microvascular imaging. *Sci. Rep.* 6, 38786.
- Chen, Y., Palmer, C.R., and Seidemann, E. (2012b). The relationship between voltage-sensitive dye imaging signals and spiking activity of neural populations in primate V1. *J. Neurophysiol.* 107, 3281–3295.
- Chen-Bee, C.H., Agoncillo, T., Lay, C.C., and Frostig, R.D. (2010). Intrinsic Signal Optical Imaging of Brain Function Using Short Stimulus Delivery Intervals. *J. Neurosci. Methods* 187, 171–182.
- Cléry, J., Guipponi, O., Odouard, S., Wardak, C., and Ben Hamed, S. (2018). Cortical networks for encoding near and far space in the non-human primate. *NeuroImage* 176, 164–178.
- Collins, C.E., Airey, D.C., Young, N.A., Leitch, D.B., and Kaas, J.H. (2010). Neuron densities vary across and within cortical areas in primates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 15927–15932.
- Condo, G.J., and Casagrande, V.A. (1990). Organization of cytochrome oxidase staining in the visual cortex of nocturnal primates (*Galago crassicaudatus* and *Galago senegalensis*): I. Adult patterns. *J. Comp. Neurol.* 293, 632–645.
- Connaughton, V.P., Graham, D., and Nelson, R. (2004). Identification and morphological classification of horizontal, bipolar, and amacrine cells within the zebrafish retina. *J. Comp. Neurol.* 477, 371–385.
- Coogan, T.A., and Burkhalter, A. (1993). Hierarchical organization of areas in rat visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 13, 3749–3772.
- Cowey, A., and Heywood, C.A. (1995). There's more to colour than meets the eye. *Behav. Brain Res.* 71, 89–100.

- Dacey, D.M., and Lee, B.B. (1994). The “blue-on” opponent pathway in primate retina originates from a distinct bistratified ganglion cell type. *Nature* 367, 731–735.
- Damadian, R., Minkoff, L., and Goldsmith, M. (1978). Whole-body nuclear magnetic resonance scanning: n.m.r. studies of tumour cells. *Ciba Found. Symp.* 131–141.
- Daniel, P.M., and Whitteridge, D. (1961). The representation of the visual field on the cerebral cortex in monkeys. *J. Physiol.* 159, 203–221.
- Davila, H.V., Salzberg, B.M., Cohen, L.B., and Waggoner, A.S. (1973). A Large Change in Axon Fluorescence that Provides a Promising Method for Measuring Membrane Potential. *Nature. New Biol.* 241, 159–160.
- Deffieux, T., Demene, C., Pernot, M., and Tanter, M. (2018). Functional ultrasound neuroimaging: a review of the preclinical and clinical state of the art. *Curr. Opin. Neurobiol.* 50, 128–135.
- Dekel, N., Sonn, J., Barbiro-Michaely, E., Ornstein, E., and Mayevsky, A. (2009). Effects of anesthesia on brain mitochondrial function, blood flow, ionic and electrical activity monitored in vivo. *Adv. Exp. Med. Biol.* 645, 49–54.
- Delannoy, B., Torguet, R., Bruneel, C., Bridoux, E., Rouvaen, J.M., and Lasota, H. (1979). Acoustical image reconstruction in parallel-processing analog electronic systems. *J. Appl. Phys.* 50, 3153–3159.
- Demené, C., Deffieux, T., Pernot, M., Osmanski, B.-F., Biran, V., Gennisson, J.-L., Sieu, L.-A., Bergel, A., Franqui, S., Correas, J.-M., et al. (2015). Spatiotemporal Clutter Filtering of Ultrafast Ultrasound Data Highly Increases Doppler and fUltrasound Sensitivity. *IEEE Trans. Med. Imaging* 34, 2271–2285.
- Demené, C., Tiran, E., Sieu, L.-A., Bergel, A., Gennisson, J.L., Pernot, M., Deffieux, T., Cohen, I., and Tanter, M. (2016). 4D microvascular imaging based on ultrafast Doppler tomography. *NeuroImage* 127, 472–483.
- Demene, C., Baranger, J., Bernal, M., Delanoe, C., Auvin, S., Biran, V., Alison, M., Mairesse, J., Harribaud, E., Pernot, M., et al. (2017). Functional ultrasound imaging of brain activity in human newborns. *Sci. Transl. Med.* 9, eaah6756.
- Demene, C., Mairesse, J., Baranger, J., Tanter, M., and Baud, O. (2018). Ultrafast Doppler for neonatal brain imaging. *NeuroImage*.
- Denfield, G.H., Fahey, P.G., Reimer, J., and Tolia, A.S. (2016). Investigating the

Limits of Neurovascular Coupling. *Neuron* 91, 954–956.

Denison, R.N., Vu, A.T., Yacoub, E., Feinberg, D.A., and Silver, M.A. (2014). Functional mapping of the magnocellular and parvocellular subdivisions of human LGN. *NeuroImage* 102, 358–369.

Denk, W., Strickler, J.H., and Webb, W.W. (1990). Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. *Science* 248, 73–76.

Derrington, A.M., and Lennie, P. (1984). Spatial and temporal contrast sensitivities of neurones in lateral geniculate nucleus of macaque. *J. Physiol.* 357, 219–240.

DeSimone, K., Viviano, J.D., and Schneider, K.A. (2015). Population Receptive Field Estimation Reveals New Retinotopic Maps in Human Subcortex. *J. Neurosci.* 35, 9836–9847.

Devonshire, I.M., Papadakis, N.G., Port, M., Berwick, J., Kennerley, A.J., Mayhew, J.E.W., and Overton, P.G. (2012). Neurovascular coupling is brain region-dependent. *NeuroImage* 59, 1997–2006.

Dow, B.M., Snyder, A.Z., Vautin, R.G., and Bauer, R. (1981). Magnification factor and receptive field size in foveal striate cortex of the monkey. *Exp. Brain Res.* 44, 213–228.

Dräger, U.C. (1974). Autoradiography of tritiated proline and fucose transported transneuronally from the eye to the visual cortex in pigmented and albino mice. *Brain Res.* 82, 284–292.

Dräger, U.C., and Hubel, D.H. (1975). Responses to visual stimulation and relationship between visual, auditory, and somatosensory inputs in mouse superior colliculus. *J. Neurophysiol.* 38, 690–713.

Ellis, E.M., Gauvain, G., Sivyer, B., and Murphy, G.J. (2016). Shared and distinct retinal input to the mouse superior colliculus and dorsal lateral geniculate nucleus. *J. Neurophysiol.* 116, 602–610.

Engel, S.A., Rumelhart, D.E., Wandell, B.A., Lee, A.T., Glover, G.H., Chichilnisky, E.J., and Shadlen, M.N. (1994). fMRI of human visual cortex. *Nature* 369, 525.

Enroth-Cugell, C., and Pinto, L.H. (1972). Properties of the surround response mechanism of cat retinal ganglion cells and centre-surround interaction. *J. Physiol.* 220, 403–439.

Errico, C., Osmanski, B.-F., Pezet, S., Couture, O., Lenkei, Z., and Tanter, M. (2016). Transcranial functional ultrasound imaging of the brain using microbubble-enhanced ultrasensitive Doppler. *NeuroImage* 124, 752–761.

- Espinoza, S.G., and Thomas, H.C. (1983). Retinotopic organization of striate and extrastriate visual cortex in the hooded rat. *Brain Res.* 272, 137–144.
- Euler, T., Schneider, H., and Wässle, H. (1996). Glutamate responses of bipolar cells in a slice preparation of the rat retina. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 16, 2934–2944.
- Everson, R.M., Prashanth, A.K., Gabbay, M., Knight, B.W., Sirovich, L., and Kaplan, E. (1998). Representation of spatial frequency and orientation in the visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 8334–8338.
- Feinberg, E.H., and Meister, M. (2015). Orientation columns in the mouse superior colliculus. *Nature* 519, 229–232.
- Felleman, D.J., and Van Essen, D.C. (1991). Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 1, 1–47.
- Fernández, E., Greger, B., House, P.A., Aranda, I., Botella, C., Albusua, J., Soto-Sánchez, C., Alfaro, A., and Normann, R.A. (2014). Acute human brain responses to intracortical microelectrode arrays: challenges and future prospects. *Front. Neuroengineering* 7.
- Frostig, R.D., Lieke, E.E., Ts'o, D.Y., and Grinvald, A. (1990). Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by in vivo high-resolution optical imaging of intrinsic signals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 6082–6086.
- Fukuda, Y., Sumitomo, I., Sugitani, M., and Iwama, K. (1979). Receptive-field properties of cells in the dorsal part of the albino rat's lateral geniculate nucleus. *Jpn. J. Physiol.* 29, 283–307.
- Gattass, R., Gross, C.G., and Sandell, J.H. (1981). Visual topography of V2 in the macaque. *J. Comp. Neurol.* 201, 519–539.
- Gauvain, G., and Murphy, G.J. (2015). Projection-Specific Characteristics of Retinal Input to the Brain. *J. Neurosci.* 35, 6575–6583.
- Gesnik, M. (2017). Imagerie fonctionnelle par ultrasons de la rétine et des fonctions visuelles cérébrales.
- Gesnik, M., Blaize, K., Deffieux, T., Gennisson, J.-L., Sahel, J.-A., Fink, M., Picaud, S., and Tanter, M. (2017). 3D functional ultrasound imaging of the cerebral visual system in rodents. *Neuroimage* 149, 267–274.
- Ghosh, K.K., Martin, P.R., and Grünert, U. (1997). Morphological analysis of the blue

cone pathway in the retina of a New World monkey, the marmoset *Callithrix jacchus*. *J. Comp. Neurol.* 379, 211–225.

Ghosh, K.K., Burns, L.D., Cocker, E.D., Nimmerjahn, A., Ziv, Y., Gamal, A.E., and Schnitzer, M.J. (2011). Miniaturized integration of a fluorescence microscope. *Nat. Methods* 8, 871–878.

Gierthmuehlen, M., Wang, X., Gkogkidis, A., Henle, C., Fischer, J., Fehrenbacher, T., Kohler, F., Raab, M., Mader, I., Kuehn, C., et al. (2014). Mapping of sheep sensory cortex with a novel microelectrocorticography grid. *J. Comp. Neurol.* 522, 3590–3608.

Giolli, R.A. (1963). AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE ACCESSORY OPTIC SYSTEM IN THE CYNOMOLGUS MONKEY. *J. Comp. Neurol.* 121, 89–107.

Godement, P., Salaün, J., and Imbert, M. (1984). Prenatal and postnatal development of retinogeniculate and retinocollicular projections in the mouse. *J. Comp. Neurol.* 230, 552–575.

Grienberger, C., and Konnerth, A. (2012). Imaging Calcium in Neurons. *Neuron* 73, 862–885.

Grinvald, A., Lieke, E., Frostig, R.D., Gilbert, C.D., and Wiesel, T.N. (1986). Functional architecture of cortex revealed

by optical imaging of intrinsic signals. *Nature* 324, 361–364.

Grinvald, A., Frostig, R.D., Siegel, R.M., and Bartfeld, E. (1991). High-resolution optical imaging of functional brain architecture in the awake monkey. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 11559–11563.

Grinvald, A., Lieke, E.E., Frostig, R.D., and Hildesheim, R. (1994). Cortical point-spread function and long-range lateral interactions revealed by real-time optical imaging of macaque monkey primary visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 14, 2545–2568.

Grinvald A., Manker A., and Segal M. (1982). Visualization of the spread of electrical activity in rat hippocampal slices by voltage-sensitive optical probes. *J. Physiol.* 333, 269–291.

Grünert, U., and Martin, P.R. (1991). Rod bipolar cells in the macaque monkey retina: immunoreactivity and connectivity. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 11, 2742–2758.

GULLERY, R.W. (2000). Brodmann's 'Localisation in the Cerebral Cortex.' *J. Anat.* 196, 493–496.

Guld, C., and Bertulis, A. (1976). Representation of fovea in the striate cortex

of vervet monkey, *Cercopithecus aethiops pygerythrus*. *Vision Res.* *16*, 629–631.

Hadjikhani, N., Liu, A.K., Dale, A.M., Cavanagh, P., and Tootell, R.B.H. (1998). Retinotopy and color sensitivity in human visual cortical area V8. *Nat. Neurosci.* *1*, 235–241.

Hajdu, F., Hassler, R., Somogyi, G., and Wagner, A. (1983). Neuronal and synaptic arrangements of the lateral geniculate nucleus in night-active primates. *Anat. Embryol. (Berl.)* *168*, 341–348.

Hall, C.N., Howarth, C., Kurth-Nelson, Z., and Mishra, A. (2016). Interpreting BOLD: towards a dialogue between cognitive and cellular neuroscience. *Phil Trans R Soc B* *371*, 20150348.

Hamed, S.B., and Duhamel, J.-R. (2002). Ocular fixation and visual activity in the monkey lateral intraparietal area. *Exp. Brain Res.* *142*, 512–528.

Hamel, E.J.O., Grewe, B.F., Parker, J.G., and Schnitzer, M.J. (2015). Cellular Level Brain Imaging in Behaving Mammals: An Engineering Approach. *Neuron* *86*, 140–159.

Harrington, D.O. (1964). *The Visual Fields*.

Hartline, H.K. (1969). Visual Receptors and Retinal Interaction. *Science* *164*, 270–278.

Hartline H. (1938). The discharge of impulses in the optic nerve of Pecten in response to illumination of the eye. *J. Cell. Comp. Physiol.* *11*, 465–478.

Hassler, C., Guy, J., Nietzsche, M., Staiger, J.F., and Stieglitz, T. (2011). Chronic intracortical implantation of saccharose-coated flexible shaft electrodes into the cortex of rats. *Conf. Proc. Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. Annu. Conf. 2011*, 644–647.

He, B., Dai, Y., Astolfi, L., Babiloni, F., Yuan, H., and Yang, L. (2011). eConnectome: A MATLAB Toolbox for Mapping and Imaging of Brain Functional Connectivity. *J. Neurosci. Methods* *195*, 261–269.

Heider, B., Jandó, G., and Siegel, R.M. (2005). Functional architecture of retinotopy in visual association cortex of behaving monkey. *Cereb. Cortex N. Y. N* *1991* *15*, 460–478.

Helmchen, F., and Denk, W. (2005). Deep tissue two-photon microscopy. *Nat. Methods* *2*, 932–940.

Hendrickson, A.E. (1994). Primate foveal development: a microcosm of current questions in neurobiology. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* *35*, 3129–3133.

- Henriksson, L., Nurminen, L., Hyvärinen, A., and Vanni, S. (2008). Spatial frequency tuning in human retinotopic visual areas. *J. Vis.* 8, 5–5.
- Henriksson, L., Karvonen, J., Salminen-Vaparanta, N., Railo, H., and Vanni, S. (2012). Retinotopic Maps, Spatial Tuning, and Locations of Human Visual Areas in Surface Coordinates Characterized with Multifocal and Blocked fMRI Designs. *PLoS ONE* 7.
- Heywood, C.A., and Cowey, A. (1987). On the role of cortical area V4 in the discrimination of hue and pattern in macaque monkeys. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 7, 2601–2617.
- Hicks, T.P., Lee, B.B., and Vidyasagar, T.R. (1983). The responses of cells in macaque lateral geniculate nucleus to sinusoidal gratings. *J. Physiol.* 337, 183–200.
- Hinds, O.P., Rajendran, N., Polimeni, J.R., Augustinack, J.C., Wiggins, G., Wald, L.L., Diana Rosas, H., Potthast, A., Schwartz, E.L., and Fischl, B. (2008). Accurate prediction of V1 location from cortical folds in a surface coordinate system. *NeuroImage* 39, 1585–1599.
- Hodgkin, A.L., and Huxley, A.F. (1939). Action Potentials Recorded from Inside a Nerve Fibre. *Nature* 144, 710–711.
- Hodgkin, A.L., and Huxley, A.F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* 117, 500–544.
- Holmes, G. (1918). DISTURBANCES OF VISION BY CEREBRAL LESIONS. *Br. J. Ophthalmol.* 2, 353–384.
- Hooser, S.D.V., and Nelson, S.B. (2005). Visual System. In *ELS*, (American Cancer Society), p.
- Horton, J.C., and Hocking, D.R. (1996a). Intrinsic Variability of Ocular Dominance Column Periodicity in Normal Macaque Monkeys. *J. Neurosci.* 16, 7228–7339.
- Horton, J.C., and Hocking, D.R. (1996b). Anatomical demonstration of ocular dominance columns in striate cortex of the squirrel monkey. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 16, 5510–5522.
- Horton, J.C., and Hubel, D.H. (1981). Regular patchy distribution of cytochrome oxidase staining in primary visual cortex of macaque monkey. *Nature* 292, 762–764.
- Huang, D., Swanson, E.A., Lin, C.P., Schuman, J.S., Stinson, W.G., Chang, W., Hee, M.R., Flotte, T., Gregory, K., and Puliafito, C.A. (1991). Optical coherence tomography. *Science* 254, 1178–1181.

- Hubel, D.H., and Livingstone, M.S. (1990). Color and contrast sensitivity in the lateral geniculate body and primary visual cortex of the macaque monkey. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *10*, 2223–2237.
- Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1959). Receptive fields of single neurones in the cat's striate cortex. *J. Physiol.* *148*, 574–591.
- Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1968). Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. *J. Physiol.* *195*, 215–243.
- Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1969). Anatomical demonstration of columns in the monkey striate cortex. *Nature* *221*, 747–750.
- Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1974). Sequence regularity and geometry of orientation columns in the monkey striate cortex. *J. Comp. Neurol.* *158*, 267–293.
- Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1977). Ferrier lecture - Functional architecture of macaque monkey visual cortex. *Proc R Soc Lond B* *198*, 1–59.
- Hubel, D.H., Wiesel, T.N., LeVay, S., Barlow, H.B., and Gaze, R.M. (1977). Plasticity of ocular dominance columns in monkey striate cortex. *Phil Trans R Soc Lond B* *278*, 377–409.
- Huff, T., and Dulebohn, S.C. (2018). Neuroanatomy, Visual Cortex. In *StatPearls*, (Treasure Island (FL): StatPearls Publishing), p.
- Hung, C.-C., Yen, C.C., Ciuchta, J.L., Papoti, D., Bock, N.A., Leopold, D.A., and Silva, A.C. (2015). Functional MRI of visual responses in the awake, behaving marmoset. *NeuroImage* *120*, 1–11.
- Ii, M.J.B., Brivanlou, I.H., Jordan, T.A., and Meister, M. (1999). Anticipation of moving stimuli by the retina. *Nature* *398*, 334–338.
- Ikezoe, K., Mori, Y., Kitamura, K., Tamura, H., and Fujita, I. (2013). Relationship between the Local Structure of Orientation Map and the Strength of Orientation Tuning of Neurons in Monkey V1: A 2-Photon Calcium Imaging Study. *J. Neurosci.* *33*, 16818–16827.
- Imbault, M., Chauvet, D., Gennisson, J.-L., Capelle, L., and Tanter, M. (2017). Intraoperative Functional Ultrasound Imaging of Human Brain Activity. *Sci. Rep.* *7*.
- Isoda, M., Tsutsui, K.-I., Katsuyama, N., Naganuma, T., Saito, N., Furusawa, Y., Mushiake, H., Taira, M., and Tanji, J. (2005). Design of a head fixation device for experiments in behaving monkeys. *J. Neurosci. Methods* *141*, 277–282.

- Issa, N.P., Trepel, C., and Stryker, M.P. (2000). Spatial Frequency Maps in Cat Visual Cortex. *J. Neurosci.* *20*, 8504–8514.
- Ito, S., and Feldheim, D.A. (2018). The Mouse Superior Colliculus: An Emerging Model for Studying Circuit Formation and Function. *Front. Neural Circuits* *12*.
- Izatt, J.A., Kulkarni, M.D., Kobayashi, K., Sivak, M.V., Barton, J.K., and Welch, A.J. (1997). OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY FOR BIODIAGNOSTICS. *Opt. Photonics News* *8*, 41.
- Jacobs, G.H. (1993). The distribution and nature of colour vision among the mammals. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* *68*, 413–471.
- Jacobs, G.H., Fenwick, J.A., and Williams, G.A. (2001). Cone-based vision of rats for ultraviolet and visible lights. *J. Exp. Biol.* *204*, 2439–2446.
- Jatoi, M.A., Kamel, N., Malik, A.S., and Faye, I. (2014). EEG based brain source localization comparison of sLORETA and eLORETA. *Australas. Phys. Eng. Sci. Med.* *37*, 713–721.
- Jin, W., Zhang, R.-J., and Wu, J. (2002). Voltage-sensitive dye imaging of population neuronal activity in cortical tissue. *J. Neurosci. Methods* *115*, 13–27.
- Johansson, G. (1964). PERCEPTION OF MOTION AND CHANGING FORM: A study of visual perception from continuous transformations of a solid angle of light at the eye. *Scand. J. Psychol.* *5*, 181–208.
- Kaas, J.H., Guillery, R.W., and Allman, J.M. (1972). Some principles of organization in the dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain. Behav. Evol.* *6*, 253–299.
- Kalatsky, V.A., and Stryker, M.P. (2003). New paradigm for optical imaging: temporally encoded maps of intrinsic signal. *Neuron* *38*, 529–545.
- Kangarlu, A. (2016). High-Field fMRI. In *FMRI Techniques and Protocols*, (Humana Press, New York, NY), pp. 113–136.
- Kaplan, E., and Shapley, R.M. (1982). X and Y cells in the lateral geniculate nucleus of macaque monkeys. *J. Physiol.* *330*, 125–143.
- Kaskan, P.M., Lu, H.D., Dillenburger, B.C., Roe, A.W., and Kaas, J.H. (2007). Intrinsic-Signal Optical Imaging Reveals Cryptic Ocular Dominance Columns in Primary Visual Cortex of New World Owl Monkeys. *Front. Neurosci.* *1*, 67–75.
- Kim, S.-G., and Ogawa, S. (2012). Biophysical and physiological origins of blood oxygenation level-dependent fMRI

- signals. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* *32*, 1188–1206.
- Kim, D.-S., Duong, T.Q., and Kim, S.-G. (2000). High-resolution mapping of iso-orientation columns by fMRI. *Nat. Neurosci.* *3*, 164–169.
- Kim, J., Brown, W., Maher, J.R., Levinson, H., and Wax, A. (2015). Functional optical coherence tomography: principles and progress. *Phys. Med. Biol.* *60*, R211.
- Klaes, C., Shi, Y., Kellis, S., Minxha, J., Revechkis, B., and Andersen, R.A. (2014). A cognitive neuroprosthetic that uses cortical stimulation for somatosensory feedback. *J. Neural Eng.* *11*, 056024.
- Koehler, C.L., Akimov, N.P., and Rentería, R.C. (2011). Receptive field center size decreases and firing properties mature in ON and OFF retinal ganglion cells after eye opening in the mouse. *J. Neurophysiol.* *106*, 895–904.
- Kolb, H. (1970). Organization of the outer plexiform layer of the primate retina: Electron microscopy of Golgi-impregnated Cells. *Phil Trans R Soc Lond B* *258*, 261–283.
- Kolb, H., Nelson, R., and Mariani, A. (1981). Amacrine cells, bipolar cells and ganglion cells of the cat retina: a Golgi study. *Vision Res.* *21*, 1081–1114.
- Kolster, H., Peeters, R., and Orban, G.A. (2010). The retinotopic organization of the human middle temporal area MT/V5 and its cortical neighbors. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *30*, 9801–9820.
- Kondo, S., Yoshida, T., and Ohki, K. (2016). Mixed functional microarchitectures for orientation selectivity in the mouse primary visual cortex. *Nat. Commun.* *7*, 13210.
- Kozai, T.D.Y., and Kipke, D.R. (2009). Insertion shuttle with carboxyl terminated self-assembled monolayer coatings for implanting flexible polymer neural probes in the brain. *J. Neurosci. Methods* *184*, 199–205.
- Krauzlis, R.J., Lovejoy, L.P., and Zénon, A. (2013). Superior colliculus and visual spatial attention. *Annu. Rev. Neurosci.* *36*, 165–182.
- Kuffler, S.W. (1953). Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *J. Neurophysiol.* *16*, 37–68.
- Kwong, K.K., Belliveau, J.W., Chesler, D.A., Goldberg, I.E., Weisskoff, R.M., Poncelet, B.P., Kennedy, D.N., Hoppel, B.E., Cohen, M.S., and Turner, R. (1992). Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *89*, 5675–5679.

- Landisman, C.E., and Ts'o, D.Y. (2002). Color processing in macaque striate cortex: electrophysiological properties. *J. Neurophysiol.* 87, 3138–3151.
- Lee, B.B., Creutzfeldt, O.D., and Elepfandt, A. (1979). The responses of magno- and parvocellular cells of the monkey's lateral geniculate body to moving stimuli. *Exp. Brain Res.* 35, 547–557.
- LeVay, S., and Connolly, M. (1985). The complete pattern of ocular dominance stripes in the striate cortex and visual field of the macaque monkey. *J. Neurosci.* 5, 16.
- LeVay, S., Connolly, M., Houde, J., and Essen, D.V. (1985). The complete pattern of ocular dominance stripes in the striate cortex and visual field of the macaque monkey. *J. Neurosci.* 5, 486–501.
- Leventhal, A.G., Thompson, K.G., Liu, D., Zhou, Y., and Ault, S.J. (1995). Concomitant sensitivity to orientation, direction, and color of cells in layers 2, 3, and 4 of monkey striate cortex. *J. Neurosci.* 15, 1808–1818.
- Liang, F., Xiong, X.R., Zingg, B., Ji, X., Zhang, L.I., and Tao, H.W. (2015). Sensory Cortical Control of a Visually Induced Arrest Behavior via Corticotectal Projections. *Neuron* 86, 755–767.
- Liotti, M., Ingham, J.C., Takai, O., Kothmann, D., Perez, R., and Ingham, R.J. (2010). Spatiotemporal dynamics of speech sound perception in chronic developmental stuttering. *Brain Lang.* 115, 141–147.
- Lippert, M.T., Takagaki, K., Xu, W., Huang, X., and Wu, J.-Y. (2007). Methods for Voltage-Sensitive Dye Imaging of Rat Cortical Activity With High Signal-to-Noise Ratio. *J. Neurophysiol.* 98, 502–512.
- Livingstone, M.S., and Hubel, D.H. (1984a). Anatomy and physiology of a color system in the primate visual cortex. *J. Neurosci.* 4, 309–356.
- Livingstone, M.S., and Hubel, D.H. (1984b). Anatomy and physiology of a color system in the primate visual cortex. *J. Neurosci.* 4, 309–356.
- Lu, H.D., and Roe, A.W. (2008). Functional Organization of Color Domains in V1 and V2 of Macaque Monkey Revealed by Optical Imaging. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 18, 516–533.
- Lu, H.D., Chen, G., Cai, J., and Roe, A.W. (2017). Intrinsic signal optical imaging of visual brain activity: Tracking of fast cortical dynamics. *NeuroImage* 148, 160–168.
- Lucas, R.J., Douglas, R.H., and Foster, R.G. (2001). Characterization of an ocular

photopigment capable of driving pupillary constriction in mice. *Nat. Neurosci.* *4*, 621–626.

Lueck, C.J., Zeki, S., Friston, K.J., Deiber, M.-P., Cope, P., Cunningham, V.J., Lammertsma, A.A., Kennard, C., and Frackowiak, R.S.J. (1989). The colour centre in the cerebral cortex of man. *Nature* *340*, 386–389.

Macé, E., Montaldo, G., Cohen, I., Baulac, M., Fink, M., and Tanter, M. (2011). Functional ultrasound imaging of the brain. *Nat. Methods* *8*, 662–664.

Malach, R. (1989). Patterns of connections in rat visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *9*, 3741–3752.

Mansfield, P. (1977). Multi-planar image formation using NMR spin echoes. *J. Phys. C Solid State Phys.* *10*, L55.

Marshel, J.H., Garrett, M.E., Nauhaus, I., and Callaway, E.M. (2011). Functional specialization of seven mouse visual cortical areas. *Neuron* *72*, 1040–1054.

Martin, C., Zheng, Y., Sibson, N.R., Mayhew, J.E.W., and Berwick, J. (2013). Complex spatiotemporal haemodynamic response following sensory stimulation in the awake rat. *NeuroImage* *66*, 1–8.

Masino, S.A., Kwon, M.C., Dory, Y., and Frostig, R.D. (1993). Characterization of

functional organization within rat barrel cortex using intrinsic signal optical imaging through a thinned skull. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *90*, 9998–10002.

Masland, R.H. (2001). The fundamental plan of the retina. *Nat. Neurosci.* *4*, 877–886.

May, P.J. (2006). The mammalian superior colliculus: laminar structure and connections. *Prog. Brain Res.* *151*, 321–378.

Mazurek, M., Kager, M., and Van Hooser, S.D. (2014). Robust quantification of orientation selectivity and direction selectivity. *Front. Neural Circuits* *8*.

McKeefry, D.J., Watson, J.D.G., Frackowiak, R.S.J., Fong, K., and Zeki, S. (1997). The Activity in Human Areas V1/V2, V3, and V5 during the Perception of Coherent and Incoherent Motion. *NeuroImage* *5*, 1–12.

Meadows, J.C. (1974). Disturbed perception of colours associated with localized cerebral lesions. *Brain J. Neurol.* *97*, 615–632.

Moeller, S., Yacoub, E., Olman, C.A., Auerbach, E., Strupp, J., Harel, N., and Uğurbil, K. (2010). Multiband multislice GE-EPI at 7 tesla, with 16-fold acceleration using partial parallel imaging with

application to high spatial and temporal whole-brain fMRI. *Magn. Reson. Med.* *63*, 1144–1153.

Montaldo, G., Tanter, M., Bercoff, J., Bence, N., and Fink, M. (2009). Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* *56*, 489–506.

Moore, R.Y. (1973). Retinohypothalamic projection in mammals: a comparative study. *Brain Res.* *49*, 403–409.

Mountcastle, V.B., Berman, A., and Davies, P.W. (1955). Topographic organization and modality representation in first somatic area of cat's cerebral cortex by method of single unit analysis. *Am. J. Physiol.* *464*.

Movshon, J.A., Thompson, I.D., and Tolhurst, D.J. (1978). Spatial and temporal contrast sensitivity of neurones in areas 17 and 18 of the cat's visual cortex. *J. Physiol.* *283*, 101–120.

Müller, C.P., Pum, M.E., Amato, D., Schüttler, J., Huston, J.P., and Silva, M.A.D.S. (2011). The in vivo neurochemistry of the brain during general anesthesia. *J. Neurochem.* *119*, 419–446.

Muller, L., Reynaud, A., Chavane, F., and Destexhe, A. (2014). The stimulus-evoked

population response in visual cortex of awake monkey is a propagating wave. *Nat. Commun.* *5*, 3675.

Munoz, D.P., and Wurtz, R.H. (1995). Saccade-related activity in monkey superior colliculus. I. Characteristics of burst and buildup cells. *J. Neurophysiol.* *73*, 2313–2333.

Murakami, T., Yoshida, T., Matsui, T., and Ohki, K. (2015). Wide-field Ca²⁺ imaging reveals visually evoked activity in the retrosplenial area. *Front. Mol. Neurosci.* *8*.

Murphy, K.M., Jones, D.G., and Van Sluyters, R.C. (1995). Cytochrome-oxidase blobs in cat primary visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *15*, 4196–4208.

Nakanishi, Y., Yanagisawa, T., Shin, D., Kambara, H., Yoshimura, N., Tanaka, M., Fukuma, R., Kishima, H., Hirata, M., and Koike, Y. (2017). Mapping ECoG channel contributions to trajectory and muscle activity prediction in human sensorimotor cortex. *Sci. Rep.* *7*.

Narayan, S.M., Santori, E.M., and Toga, A.W. (1994). Mapping functional activity in rodent cortex using optical intrinsic signals. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* *4*, 195–204.

- Nassi, J.J., and Callaway, E.M. (2009). Parallel processing strategies of the primate visual system. *Nat. Rev. Neurosci.* *10*, 360–372.
- Nauhaus, I., Nielsen, K.J., Disney, A.A., and Callaway, E.M. (2012). Orthogonal micro-organization of orientation and spatial frequency in primate primary visual cortex. *Nat. Neurosci.* *15*, 1683–1690.
- Nauhaus, I., Nielsen, K.J., and Callaway, E.M. (2016). Efficient Receptive Field Tiling in Primate V1. *Neuron* *91*, 893–904.
- Nawy, S., and Jahr, C.E. (1990). Suppression by glutamate of cGMP-activated conductance in retinal bipolar cells. *Nature* *346*, 269–271.
- Nawy, S., and Jahr, C.E. (1991). cGMP-gated conductance in retinal bipolar cells is suppressed by the photoreceptor transmitter. *Neuron* *7*, 677–683.
- Neher, E., and Sakaba, T. (2008). Multiple Roles of Calcium Ions in the Regulation of Neurotransmitter Release. *Neuron* *59*, 861–872.
- Neveu, M.M., and Jeffery, G. (2007). Chiasm formation in man is fundamentally different from that in the mouse. *Eye Lond. Engl.* *21*, 1264–1270.
- Normann, R.A. (2007). Technology insight: future neuroprosthetic therapies for disorders of the nervous system. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* *3*, 444–452.
- Normann, R.A., Maynard, E.M., Rousche, P.J., and Warren, D.J. (1999). A neural interface for a cortical vision prosthesis. *Vision Res.* *39*, 2577–2587.
- Ogawa, S., and Lee, T.M. (1990). Magnetic resonance imaging of blood vessels at high fields: in vivo and in vitro measurements and image simulation. *Magn. Reson. Med.* *16*, 9–18.
- Ogawa, S., Lee, T.M., Kay, A.R., and Tank, D.W. (1990). Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *87*, 9868–9872.
- Ogawa, S., Tank, D.W., Menon, R., Ellermann, J.M., Kim, S.G., Merkle, H., and Ugurbil, K. (1992). Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *89*, 5951–5955.
- Oheim, M., Beaurepaire, E., Chaigneau, E., Mertz, J., and Charpak, S. (2001). Two-photon microscopy in brain tissue: parameters influencing the imaging depth. *J. Neurosci. Methods* *111*, 29–37.
- Ohki, K., Chung, S., Ch'ng, Y.H., Kara, P., and Reid, R.C. (2005). Functional imaging

with cellular resolution reveals precise micro-architecture in visual cortex. *Nature* 433, 597–603.

Ohki, K., Chung, S., Kara, P., Hübener, M., Bonhoeffer, T., and Reid, R.C. (2006). Highly ordered arrangement of single neurons in orientation pinwheels. *Nature* 442, 925–928.

Orbach, H.S., and Cohen, L.B. (1983). Optical monitoring of activity from many areas of the in vitro and in vivo salamander olfactory bulb: a new method for studying functional organization in the vertebrate central nervous system. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 3, 2251–2262.

Orban, G.A. (2008). Higher Order Visual Processing in Macaque Extrastriate Cortex. *Physiol. Rev.* 88, 59–89.

Osmanski, B.F., Martin, C., Montaldo, G., Lanièce, P., Pain, F., Tanter, M., and Gurden, H. (2014a). Functional ultrasound imaging reveals different odor-evoked patterns of vascular activity in the main olfactory bulb and the anterior piriform cortex. *NeuroImage* 95, 176–184.

Osmanski, B.-F., Pezet, S., Ricobaraza, A., Lenkei, Z., and Tanter, M. (2014b). Functional ultrasound imaging of intrinsic connectivity in the living rat brain with high spatiotemporal resolution. *Nat. Commun.* 5.

Packer, O., Hendrickson, A.E., and Curcio, C.A. (1989). Photoreceptor topography of the retina in the adult pigtail macaque (*Macaca nemestrina*). *J. Comp. Neurol.* 288, 165–183.

Pallier, C., Devauchelle, A.-D., and Dehaene, S. (2011). Cortical representation of the constituent structure of sentences. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 2522–2527.

Pauling, L., and Coryell, C.D. (1936). The Magnetic Properties and Structure of Hemoglobin, Oxyhemoglobin and Carbonmonoxyhemoglobin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 22, 210–216.

Perry, V.H., and Cowey, A. (1984). Retinal ganglion cells that project to the superior colliculus and pretectum in the macaque monkey. *Neuroscience* 12, 1125–1137.

Perry, V.H., Oehler, R., and Cowey, A. (1984). Retinal ganglion cells that project to the dorsal lateral geniculate nucleus in the macaque monkey. *Neuroscience* 12, 1101–1123.

Petros, T.J., Rebsam, A., and Mason, C.A. (2008). Retinal axon growth at the optic chiasm: to cross or not to cross. *Annu. Rev. Neurosci.* 31, 295–315.

Petrino, S.K., Clark, R.E., and Reinagel, P. (2013). Evidence That Primary Visual Cortex Is Required for Image, Orientation,

and Motion Discrimination by Rats. *PLoS ONE* 8.

Pham, M., Helluy, X., Kleinschnitz, C., Kraft, P., Bartsch, A.J., Jakob, P., Nieswandt, B., Bendszus, M., and Stoll, G. (2011). Sustained Reperfusion after Blockade of Glycoprotein-Receptor-Ib in Focal Cerebral Ischemia: An MRI Study at 17.6 Tesla. *PLoS ONE* 6.

Phillips, A.A., Chan, F.H., Zheng, M.M.Z., Krassioukov, A.V., and Ainslie, P.N. (2016). Neurovascular coupling in humans: Physiology, methodological advances and clinical implications. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* 36, 647–664.

Pisauro, M.A., Dhruv, N.T., Carandini, M., and Benucci, A. (2013). Fast hemodynamic responses in the visual cortex of the awake mouse. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 18343–18351.

Piscopo, D.M., El-Danaf, R.N., Huberman, A.D., and Niell, C.M. (2013). Diverse visual features encoded in mouse lateral geniculate nucleus. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 4642–4656.

Polyak, S. (1953). Santiago Ramón y Cajal and his investigation of the nervous system. *J. Comp. Neurol.* 98, 3–8.

Polyak, S. (1957). *The Vertebrate Visual System* (University of Chicago Press).

Prévost, F., Lepore, F., and Guillemot, J.-P. (2007). Spatio-temporal receptive field properties of cells in the rat superior colliculus. *Brain Res.* 1142, 80–91.

Priebe, N.J., and McGee, A.W. (2014). Mouse vision as a gateway for understanding how experience shapes neural circuits. *Front. Neural Circuits* 8.

Provis, J.M., Dubis, A.M., Maddess, T., and Carroll, J. (2013). Adaptation of the Central Retina for High Acuity Vision: Cones, the Fovea and the Avascular Zone. *Prog. Retin. Eye Res.* 35, 63–81.

Provost, J., Papadacci, C., Arango, J.E., Imbault, M., Gennisson, J.-L., Tanter, M., and Pernot, M. (2014). 3D Ultrafast Ultrasound Imaging In Vivo. *Phys. Med. Biol.* 59, L1–L13.

Provost, J., Papadacci, C., Demene, C., Gennisson, J.-L., Tanter, M., and Pernot, M. (2015). 3-D Ultrafast Doppler Imaging Applied to the Noninvasive and Quantitative Imaging of Blood Vessels in Vivo. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 62, 1467–1472.

Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Katz, L.C., LaMantia, A.-S., McNamara, J.O., and Williams, S.M. (2001). *The*

Retinotopic Representation of the Visual Field.

Quibell, R., Fallon, M., Mihalyo, M., Twycross, R., and Wilcock, A. (2015). Ketamine*. *J. Pain Symptom Manage.* *50*, 268–278.

Reid, R.C., and Shapley, R.M. (2002). Space and time maps of cone photoreceptor signals in macaque lateral geniculate nucleus. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *22*, 6158–6175.

Reid, S.N., and Juraska, J.M. (1991). The cytoarchitectonic boundaries of the monocular and binocular areas of the rat primary visual cortex. *Brain Res.* *563*, 293–296.

Reynaud, A., Takerkart, S., Masson, G.S., and Chavane, F. (2011). Linear model decomposition for voltage-sensitive dye imaging signals: Application in awake behaving monkey. *NeuroImage* *54*, 1196–1210.

Ribot, J., Aushana, Y., Bui-Quoc, E., and Milleret, C. (2013). Organization and Origin of Spatial Frequency Maps in Cat Visual Cortex. *J. Neurosci.* *33*, 13326–13343.

Ridder, D.D., Manning, P., Leong, S.L., Ross, S., Sutherland, W., Horwath, C., and Vanneste, S. (2016). The brain, obesity and

addiction: an EEG neuroimaging study. *Sci. Rep.* *6*, 34122.

Robinson, D.A. (1972). Eye movements evoked by collicular stimulation in the alert monkey. *Vision Res.* *12*, 1795–1808.

Roemer, R.A., Cornwell, A., Dewart, D., Jackson, P., and Ercegovac, D.V. (1995). Quantitative electroencephalographic analyses in cocaine-preferring polysubstance abusers during abstinence. *Psychiatry Res.* *58*, 247–257.

Roland, P.E., Hanazawa, A., Undeman, C., Eriksson, D., Tompa, T., Nakamura, H., Valentiniene, S., and Ahmed, B. (2006). Cortical feedback depolarization waves: a mechanism of top-down influence on early visual areas. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *103*, 12586–12591.

Roome, C.J., and Kuhn, B. (2014). Chronic cranial window with access port for repeated cellular manipulations, drug application, and electrophysiology. *Front. Cell. Neurosci.* *8*.

Ross, W.N., and Werman, R. (1987). Mapping calcium transients in the dendrites of Purkinje cells from the guinea-pig cerebellum in vitro. *J. Physiol.* *389*, 319–336.

Rousche, P.J., and Normann, R.A. (1992). A method for pneumatically inserting an

array of penetrating electrodes into cortical tissue. *Ann. Biomed. Eng.* 20, 413–422.

Rousche, P.J., Pellinen, D.S., Pivin, D.P., Williams, J.C., Vetter, R.J., and Kipke, D.R. (2001). Flexible polyimide-based intracortical electrode arrays with bioactive capability. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 48, 361–371.

Rubin, J.M., Bude, R.O., Carson, P.L., Bree, R.L., and Adler, R.S. (1994). Power Doppler US: a potentially useful alternative to mean frequency-based color Doppler US. *Radiology* 190, 853–856.

Rungta, R.L., Osmanski, B.-F., Boido, D., Tanter, M., and Charpak, S. (2017). Light controls cerebral blood flow in naive animals. *Nat. Commun.* 8.

Saleem, K.S., and Logothetis, N.K. (2012). *A Combined MRI and Histology Atlas of the Rhesus Monkey Brain in Stereotaxic Coordinates* (Academic Press).

Salzmann, M.F.V., Bartels, A., Logothetis, N.K., and Schüz, A. (2012). Color Blobs in Cortical Areas V1 and V2 of the New World Monkey *Callithrix jacchus*, Revealed by Non-Differential Optical Imaging. *J. Neurosci.* 32, 7881–7894.

Sandrin, L., Catheline, S., Tanter, M., Hennequin, X., and Fink, M. (1999). Time-resolved pulsed elastography with ultrafast

ultrasonic imaging. *Ultrason. Imaging* 21, 259–272.

Schiller, P.H., and Malpeli, J.G. (1978). Functional specificity of lateral geniculate nucleus laminae of the rhesus monkey. *J. Neurophysiol.* 41, 788–797.

Schiller, P.H., Logothetis, N.K., and Charles, E.R. (1990). Functions of the colour-opponent and broad-band channels of the visual system. *Nature* 343, 68–70.

Schneider, K.A., Richter, M.C., and Kastner, S. (2004). Retinotopic Organization and Functional Subdivisions of the Human Lateral Geniculate Nucleus: A High-Resolution Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *J. Neurosci.* 24, 8975–8985.

Schuett, S., Bonhoeffer, T., and Hübener, M. (2002). Mapping retinotopic structure in mouse visual cortex with optical imaging. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 22, 6549–6559.

Scott, N.A. (2015). Cortical specificity in neurovascular coupling. *J. Neurophysiol.* 114, 3031–3032.

Scremin, O.U. (2012). Chapter 39 - Cerebral Vascular System. In *The Human Nervous System (Third Edition)*, J.K. Mai, and G. Paxinos, eds. (San Diego: Academic Press), pp. 1351–1374.

- Sefton, A.J., Dreher, B., and Lim, W.L. (1991). Interactions between callosal, thalamic and associational projections to the visual cortex of the developing rat. *Exp. Brain Res.* *84*, 142–158.
- Segal, S.S. (2000). Integration of blood flow control to skeletal muscle: key role of feed arteries. *Acta Physiol. Scand.* *168*, 511–518.
- Seidemann, E., Arieli, A., Grinvald, A., and Slovin, H. (2002). Dynamics of Depolarization and Hyperpolarization in the Frontal Cortex and Saccade Goal. *Science* *295*, 862–865.
- Seligman, A.M., Karnovsky, M.J., Wasserkrug, H.L., and Hanker, J.S. (1968). Nondroplet Ultrastructural Demonstration of Cytochrome Oxidase Activity with a Polymerizing Osmiophilic Reagent, Diaminobenzidine (dab). *J. Cell Biol.* *38*, 1–14.
- Seymour, J.P., and Kipke, D.R. (2007). Neural probe design for reduced tissue encapsulation in CNS. *Biomaterials* *28*, 3594–3607.
- Shang, C., Liu, Z., Chen, Z., Shi, Y., Wang, Q., Liu, S., Li, D., and Cao, P. (2015). BRAIN CIRCUITS. A parvalbumin-positive excitatory visual pathway to trigger fear responses in mice. *Science* *348*, 1472–1477.
- Shapley, R. (1990). Visual sensitivity and parallel retinocortical channels. *Annu. Rev. Psychol.* *41*, 635–658.
- Shen, K., Valero, J., Day, G.S., and Paré, M. (2011). Investigating the role of the superior colliculus in active vision with the visual search paradigm. *Eur. J. Neurosci.* *33*, 2003–2016.
- Sherrington, C.S. (1920). *The integrative action of the nervous system* (New Haven Yale University Press).
- Shmuel, A., Augath, M., Oeltermann, A., and Logothetis, N.K. (2006). Negative functional MRI response correlates with decreases in neuronal activity in monkey visual area V1. *Nat. Neurosci.* *9*, 569–577.
- Shmuel, A., Chaimow, D., Raddatz, G., Ugurbil, K., and Yacoub, E. (2010). Mechanisms underlying decoding at 7 T: Ocular dominance columns, broad structures, and macroscopic blood vessels in V1 convey information on the stimulated eye. *NeuroImage* *49*, 1957–1964.
- Shoham, D., Glaser, D.E., Arieli, A., Kenet, T., Wijnbergen, C., Toledo, Y., Hildesheim, R., and Grinvald, A. (1999). Imaging cortical dynamics at high spatial and temporal resolution with novel blue voltage-sensitive dyes. *Neuron* *24*, 791–802.

- Sieu, L.-A., Bergel, A., Tiran, E., Deffieux, T., Pernot, M., Gennisson, J.-L., Tanter, M., and Cohen, I. (2015). EEG and functional ultrasound imaging in mobile rats. *Nat. Methods* *12*, 831–834.
- Silasi, G., Xiao, D., Vanni, M.P., Chen, A.C.N., and Murphy, T.H. (2016). Intact skull chronic windows for mesoscopic wide-field imaging in awake mice. *J. Neurosci. Methods* *267*, 141–149.
- Sirovich, L., and Uglesich, R. (2004). The organization of orientation and spatial frequency in primary visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *101*, 16941–16946.
- Slovin, H., Arieli, A., Hildesheim, R., and Grinvald, A. (2002). Long-term voltage-sensitive dye imaging reveals cortical dynamics in behaving monkeys. *J. Neurophysiol.* *88*, 3421–3438.
- Smith, I.T., Townsend, L.B., Huh, R., Zhu, H., and Smith, S.L. (2017). Stream-dependent development of higher visual cortical areas. *Nat. Neurosci.* *20*, 200–208.
- Smith, R.G., Freed, M.A., and Sterling, P. (1986). Microcircuitry of the dark-adapted cat retina: functional architecture of the rod-cone network. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *6*, 3505–3517.
- Snowden, R.J., Treue, S., and Andersen, R.A. (1992). The response of neurons in areas V1 and MT of the alert rhesus monkey to moving random dot patterns. *Exp. Brain Res.* *88*, 389–400.
- Sohya, K., Kameyama, K., Yanagawa, Y., Obata, K., and Tsumoto, T. (2007). GABAergic neurons are less selective to stimulus orientation than excitatory neurons in layer II/III of visual cortex, as revealed by in vivo functional Ca²⁺ imaging in transgenic mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *27*, 2145–2149.
- Sparks, D.L., Lee, C., and Rohrer, W.H. (1990). Population coding of the direction, amplitude, and velocity of saccadic eye movements by neurons in the superior colliculus. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* *55*, 805–811.
- Spatz, W.B. (1979). The retino-geniculo-cortical pathway in *Callithrix*. II. The geniculo-cortical projection. *Exp. Brain Res.* *36*, 401–410.
- Srinivasan, V.J., Sakadžić, S., Gorczynska, I., Ruvinskaya, S., Wu, W., Fujimoto, J.G., and Boas, D.A. (2010). Quantitative cerebral blood flow with Optical Coherence Tomography. *Opt. Express* *18*, 2477–2494.
- Stensaas, S.S., Eddington, D.K., and Dobelle, W.H. (1974). The topography and variability of the primary visual cortex in man. *J. Neurosurg.* *40*, 747–755.

- Stosiek, C., Garaschuk, O., Holthoff, K., and Konnerth, A. (2003). In vivo two-photon calcium imaging of neuronal networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *100*, 7319–7324.
- Strettoi Enrica, Dacheux Ramon F., and Raviola Elio (2004). Synaptic connections of rod bipolar cells in the inner plexiform layer of the rabbit retina. *J. Comp. Neurol.* *295*, 449–466.
- Stryker, M.P., and Schiller, P.H. (1975). Eye and head movements evoked by electrical stimulation of monkey superior colliculus. *Exp. Brain Res.* *23*, 103–112.
- Svoboda, K., and Yasuda, R. (2006). Principles of two-photon excitation microscopy and its applications to neuroscience. *Neuron* *50*, 823–839.
- Szél, A., and Röhlich, P. (1992). Two cone types of rat retina detected by anti-visual pigment antibodies. *Exp. Eye Res.* *55*, 47–52.
- Taghon, T.A., Masunga, A.N., Small, R.H., and Kashou, N.H. (2015). A comparison of functional magnetic resonance imaging findings in children with and without a history of early exposure to general anesthesia. *Paediatr. Anaesth.* *25*, 239–246.
- Takahara, Y., Matsuki, N., and Ikegaya, Y. (2011). Nipkow confocal imaging from deep brain tissues. *J. Integr. Neurosci.* *10*, 121–129.
- Takahata, T., Higo, N., Kaas, J.H., and Yamamori, T. (2009). Expression of immediate-early genes reveals functional compartments within ocular dominance columns after brief monocular inactivation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *106*, 12151–12155.
- Talbot, S.A., and Marshall, W.H. (1941). Physiological Studies on Neural Mechanisms of Visual Localization and Discrimination*. *Am. J. Ophthalmol.* *24*, 1255–1264.
- Tanter, M., and Fink, M. (2014). Ultrafast imaging in biomedical ultrasound. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* *61*, 102–119.
- Tanter, M., Bercoff, J., Sandrin, L., and Fink, M. (2002). Ultrafast compound imaging for 2-D motion vector estimation: application to transient elastography. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* *49*, 1363–1374.
- Tasaki, I., Watanabe, A., Sandlin, R., and Carnay, L. (1968). Changes in fluorescence, turbidity, and birefringence associated with nerve excitation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *61*, 883–888.

- Taub, A.H., Katz, Y., and Lampl, I. (2013). Cortical balance of excitation and inhibition is regulated by the rate of synaptic activity. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 14359–14368.
- Tiran, E., Ferrier, J., Deffieux, T., Gennisson, J.-L., Pezet, S., Lenkei, Z., and Tanter, M. (2017). Transcranial Functional Ultrasound Imaging in Freely Moving Awake Mice and Anesthetized Young Rats without Contrast Agent. *Ultrasound Med. Biol.* 43, 1679–1689.
- Tootell, R.B., Silverman, M.S., Switkes, E., and Valois, R.D. (1982). Deoxyglucose analysis of retinotopic organization in primate striate cortex. *Science* 218, 902–904.
- Tootell, R.B., Switkes, E., Silverman, M.S., and Hamilton, S.L. (1988a). Functional anatomy of macaque striate cortex. II. Retinotopic organization. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 8, 1531–1568.
- Tootell, R.B., Mendola, J.D., Hadjikhani, N.K., Ledden, P.J., Liu, A.K., Reppas, J.B., Sereno, M.I., and Dale, A.M. (1997). Functional analysis of V3A and related areas in human visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 7060–7078.
- Tootell, R.B., Hadjikhani, N.K., Vanduffel, W., Liu, A.K., Mendola, J.D., Sereno, M.I., and Dale, A.M. (1998). Functional analysis of primary visual cortex (V1) in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 811–817.
- Tootell, R.B.H., Hamilton, S.L., Silverman, M.S., and Switkes, E. (1988b). Functional Anatomy of Macaque Striate Cortex. I. Ocular Dominance, Binocular Interactions, and Baseline Conditions. *J. Neurosci.* 31.
- Tran, T.A., Spencer, S.S., Javidan, M., Pacia, S., Marks, D., and Spencer, D.D. (1997). Significance of spikes recorded on intraoperative electrocorticography in patients with brain tumor and epilepsy. *Epilepsia* 38, 1132–1139.
- Triplett, J.W., Owens, M.T., Yamada, J., Lemke, G., Cang, J., Stryker, M.P., and Feldheim, D.A. (2009). Retinal input instructs alignment of visual topographic maps. *Cell* 139, 175–185.
- Triplett, J.W., Phan, A., Yamada, J., and Feldheim, D.A. (2012). Alignment of multimodal sensory input in the superior colliculus through a gradient-matching mechanism. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 32, 5264–5271.
- Tudor, M., Tudor, L., and Tudor, K.I. (2005). [Hans Berger (1873-1941)--the history of electroencephalography]. *Acta Medica Croat. Cas. Hrvatske Akad. Med. Znan.* 59, 307–313.

- Turner, R. (2016). Uses, misuses, new uses and fundamental limitations of magnetic resonance imaging in cognitive science. *Phil Trans R Soc B* 371, 20150349.
- Uhlirova, H., Kılıç, K., Tian, P., Sakadžić, S., Gagnon, L., Thunemann, M., Desjardins, M., Saisan, P.A., Nizar, K., Yaseen, M.A., et al. (2016). The roadmap for estimation of cell-type-specific neuronal activity from non-invasive measurements. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 371.
- Urban, A., Mace, E., Brunner, C., Heidmann, M., Rossier, J., and Montaldo, G. (2014). Chronic assessment of cerebral hemodynamics during rat forepaw electrical stimulation using functional ultrasound imaging. *NeuroImage* 101, 138–149.
- Urban, A., Dussaux, C., Martel, G., Brunner, C., Mace, E., and Montaldo, G. (2015). Real-time imaging of brain activity in freely moving rats using functional ultrasound. *Nat. Methods* 12, 873–878.
- Valero-Cabre, A., Wattiez, N., Monfort, M., François, C., Rivaud-Péchoux, S., Gaymard, B., and Pouget, P. (2012). Frontal Non-Invasive Neurostimulation Modulates Antisaccade Preparation in Non-Human Primates. *PLOS ONE* 7, e38674.
- Van Essen, D.C., Maunsell, J.H., and Bixby, J.L. (1981). The middle temporal visual area in the macaque: myeloarchitecture, connections, functional properties and topographic organization. *J. Comp. Neurol.* 199, 293–326.
- Van Essen, D.C., Newsome, W.T., and Maunsell, J.H. (1984a). The visual field representation in striate cortex of the macaque monkey: asymmetries, anisotropies, and individual variability. *Vision Res.* 24, 429–448.
- Van Essen, D.C., Newsome, W.T., and Maunsell, J.H. (1984b). The visual field representation in striate cortex of the macaque monkey: asymmetries, anisotropies, and individual variability. *Vision Res.* 24, 429–448.
- Van Essen, D.C., Lewis, J.W., Drury, H.A., Hadjikhani, N., Tootell, R.B.H., Bakircioglu, M., and Miller, M.I. (2001). Mapping visual cortex in monkeys and humans using surface-based atlases. *Vision Res.* 41, 1359–1378.
- Vanduffel, W., Fize, D., Mandeville, J.B., Nelissen, K., Van Hecke, P., Rosen, B.R., Tootell, R.B., and Orban, G.A. (2001). Visual motion processing investigated using contrast agent-enhanced fMRI in awake behaving monkeys. *Neuron* 32, 565–577.
- Vanzetta, I., and Grinvald, A. (2008). Coupling between neuronal activity and

microcirculation: implications for functional brain imaging. *HFSP J.* 2, 79–98.

Veleri, S., Lazar, C.H., Chang, B., Sieving, P.A., Banin, E., and Swaroop, A. (2015). Biology and therapy of inherited retinal degenerative disease: insights from mouse models. *Dis. Model. Mech.* 8, 109–129.

Vidyasagar, T.R., and Urbas, J.V. (1982). Orientation sensitivity of cat LGN neurones with and without inputs from visual cortical areas 17 and 18. *Exp. Brain Res.* 46, 157–169.

Viventi, J., Kim, D.-H., Vigeland, L., Frechette, E.S., Blanco, J.A., Kim, Y.-S., Avrin, A.E., Tiruvadi, V.R., Hwang, S.-W., Vanleer, A.C., et al. (2011). Flexible, Foldable, Actively Multiplexed, High-Density Electrode Array for Mapping Brain Activity in vivo. *Nat. Neurosci.* 14, 1599–1605.

Waite, R.L., Oscar-Berman, M., RBraverman, E., Barh, D., and Blum, K. (2014). Quantitative Electroencephalography Analysis (qEEG) of Neuro-Electro- Adaptive Therapy 12™ [NEAT12] Up-Regulates Cortical Potentials in an Alcoholic during Protracted Abstinence: Putative Anti-Craving Implications. *J. Addict. Res. Ther.* 5, 1–7.

Wakabayashi, M., Koketsu, D., Kondo, H., Sato, S., Ohara, K., Polyakova, Z., Chiken,

S., Hatanaka, N., and Nambu, A. (2018). Development of stereotaxic recording system for awake marmosets (*Callithrix jacchus*). *Neurosci. Res.*

Wandell, B.A., Dumoulin, S.O., and Brewer, A.A. (2007). Visual Field Maps in Human Cortex. *Neuron* 56, 366–383.

Wang, Q., and Burkhalter, A. (2007). Area map of mouse visual cortex. *J. Comp. Neurol.* 502, 339–357.

Warnking, J., Dojat, M., Guérin-Dugué, A., Delon-Martin, C., Olympieff, S., Richard, N., Chéhikian, A., and Segebarth, C. (2002). fMRI retinotopic mapping--step by step. *NeuroImage* 17, 1665–1683.

Wässle, H. (2004). Parallel processing in the mammalian retina. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 747–757.

Watson, J.D., Myers, R., Frackowiak, R.S., Hajnal, J.V., Woods, R.P., Mazziotta, J.C., Shipp, S., and Zeki, S. (1993). Area V5 of the human brain: evidence from a combined study using positron emission tomography and magnetic resonance imaging. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 3, 79–94.

Wattiez, N., Constans, C., Deffieux, T., Daye, P.M., Tanter, M., Aubry, J.-F., and Pouget, P. (2017). Transcranial ultrasonic stimulation modulates single-neuron discharge in macaques performing an

antisaccade task. *Brain Stimulat.* *10*, 1024–1031.

Wei, P., Liu, N., Zhang, Z., Liu, X., Tang, Y., He, X., Wu, B., Zhou, Z., Liu, Y., Li, J., et al. (2015). Processing of visually evoked innate fear by a non-canonical thalamic pathway. *Nat. Commun.* *6*, 6756.

Weiskrantz, L., and S, F.R. (1990). The Ferrier Lecture, 1989 - Outlooks for blindsight: explicit methodologies for implicit processes. *Proc R Soc Lond B* *239*, 247–278.

Welsh, D.G., and Ledoux, J. (2015). Feed the Brain: Insights into the Study of Neurovascular Coupling. *Microcirculation* *22*, 157–158.

Welsh, D.G., and Segal, S.S. (1998). Endothelial and smooth muscle cell conduction in arterioles controlling blood flow. *Am. J. Physiol.* *274*, H178-186.

Wertz, A., Trenholm, S., Yonehara, K., Hillier, D., Raics, Z., Leinweber, M., Szalay, G., Ghanem, A., Keller, G., Rózsa, B., et al. (2015). PRESYNAPTIC NETWORKS. Single-cell-initiated monosynaptic tracing reveals layer-specific cortical network modules. *Science* *349*, 70–74.

Wiesel, T.N., and Hubel, D.H. (1966). Spatial and chromatic interactions in the

lateral geniculate body of the rhesus monkey. *J. Neurophysiol.* *29*, 1115–1156.

Wiesel, T.N., Hubel, D.H., and Lam, D.M.K. (1974). Autoradiographic demonstration of ocular-dominance columns in the monkey striate cortex by means of transneuronal transport. *Brain Res.* *79*, 273–279.

Wong-Riley, M. (1979). Changes in the visual system of monocularly sutured or enucleated cats demonstrable with cytochrome oxidase histochemistry. *Brain Res.* *171*, 11–28.

Wu, S.M., Gao, F., and Maple, B.R. (2000). Functional architecture of synapses in the inner retina: segregation of visual signals by stratification of bipolar cell axon terminals. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *20*, 4462–4470.

Xu, X., Boyd, J., Gallucci, M., Thomas, A., Emeric, E., Barahimi, B., Stefansic, J., Shima, D., Melzer, P., Allison, J., et al. (2003). Spatial frequency preference maps of primate visual cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *J. Vis.* *3*, 107–107.

Yacoub, E., Shmuel, A., Logothetis, N., and Uğurbil, K. (2007). Robust detection of ocular dominance columns in humans using Hahn Spin Echo BOLD functional MRI at 7 Tesla. *NeuroImage* *37*, 1161–1177.

- Yacoub, E., Harel, N., and Ugurbil, K. (2008). High-field fMRI unveils orientation columns in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *105*, 10607–10612.
- Yaksi, E., von Saint Paul, F., Niessing, J., Bundschuh, S.T., and Friedrich, R.W. (2009). Transformation of odor representations in target areas of the olfactory bulb. *Nat. Neurosci.* *12*, 474–482.
- Yang, T., Hakimian, S., and Schwartz, T.H. (2014). Intraoperative ElectroCorticoGraphy (ECog): indications, techniques, and utility in epilepsy surgery. *Epileptic Disord. Int. Epilepsy J. Videotape* *16*, 271–279.
- Yang, Z., Heeger, D.J., and Seidemann, E. (2007). Rapid and precise retinotopic mapping of the visual cortex obtained by voltage-sensitive dye imaging in the behaving monkey. *J. Neurophysiol.* *98*, 1002–1014.
- Yokoyama, S., and Radlwimmer, F.B. (2001). The molecular genetics and evolution of red and green color vision in vertebrates. *Genetics* *158*, 1697–1710.
- You, J., Du, C., Volkow, N.D., and Pan, Y. (2014). Optical coherence Doppler tomography for quantitative cerebral blood flow imaging. *Biomed. Opt. Express* *5*, 3217–3230.
- Yue, X., Nasr, S., Devaney, K.J., Holt, D.J., and Tootell, R.B.H. (2013). FMRI analysis of contrast polarity processing in face-selective cortex in humans and monkeys. *NeuroImage* *76*, 57–69.
- Zeki, S. (2003). Improbable areas in the visual brain. *Trends Neurosci.* *26*, 23–26.
- Zeki, S.M. (1978a). Functional specialisation in the visual cortex of the rhesus monkey. *Nature* *274*, 423–428.
- Zeki, S.M. (1978b). Uniformity and diversity of structure and function in rhesus monkey prestriate visual cortex. *J. Physiol.* *277*, 273–290.
- Zhuang, J., Ng, L., Williams, D., Valley, M., Li, Y., Garrett, M., and Waters, J. (2017). An extended retinotopic map of mouse cortex. *ELife* *6*, e18372.
- Zilles, K., Wree, A., Schleicher, A., and Divac, I. (1984). The monocular and binocular subfields of the rat's primary visual cortex: A quantitative morphological approach. *J. Comp. Neurol.* *226*, 391–402.
- Zingg, B., Chou, X.-L., Zhang, Z.-G., Mesik, L., Liang, F., Tao, H.W., and Zhang, L.I. (2017). AAV-Mediated Anterograde Transsynaptic Tagging: Mapping Corticocollicular Input-Defined Neural Pathways for Defense Behaviors. *Neuron* *93*, 33–47.

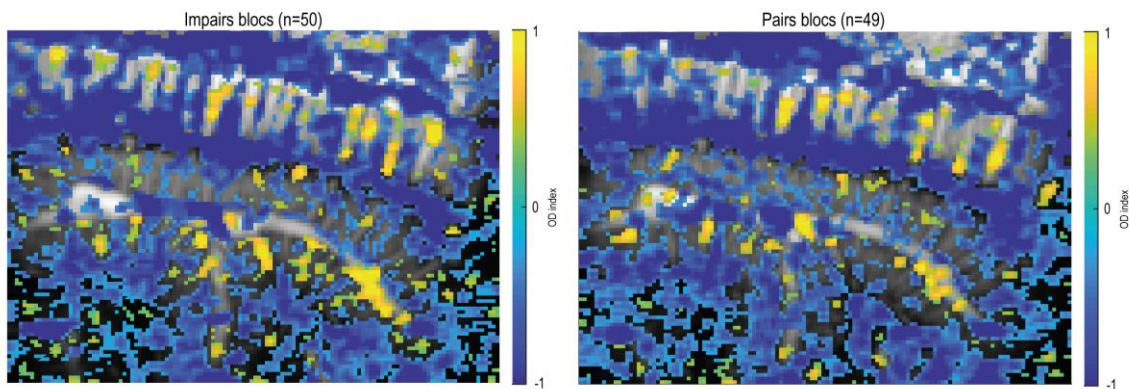
Zwanenburg, J.J.M., Versluis, M.J., Luijten, P.R., and Petridou, N. (2011). Fast high resolution whole brain T2* weighted imaging using echo planar imaging at 7T. *NeuroImage* 56, 1902–1907.

Annexes

Sup. Fig. 1: The influence of the CBV responding map according to the number of averaged repetitions.

→ <http://Kevin1000.quickconnect.to/d/f/421706819149242460>

Sup. Fig. 2: Ocular Dominance maps reconstructed with only impairs or pairs blocs shows the robustness of the method.



Conclusions

I. Les atouts et évolutions à venir de la fUSi

A. Analyse comparative des méthodes d'imagerie

Au sein de cette partie nous allons évoquer les différentes caractéristiques intrinsèques aux méthodes d'imagerie. Il n'existe pas de modalité « parfaite », ou du moins, au-dessus des autres. Cela dépend essentiellement de l'application souhaitée.

Le tableau suivant (Figure 41) tente de réunir toutes les caractéristiques principales des différentes méthodes d'imagerie fonctionnelles évoquées jusque-là. Les valeurs du tableau (et références) sont données en tant qu'ordres de grandeur utilisés couramment aujourd'hui.

A la vue de ce dernier, on perçoit rapidement que chaque technique a ses avantages et ses inconvénients selon l'échelle spatiotemporelle à laquelle on désire enregistrer l'activité neuronale mais également selon la localisation de la (des) structure(s) d'intérêt (en profondeur ou non). Il est important de noter que la fUSi, méthode d'imagerie fonctionnelle au cœur de cette thèse, ouvre de nouvelles perspectives dans la neuroimagerie de par ses propriétés nouvelles.


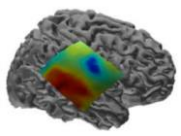
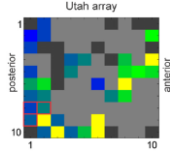
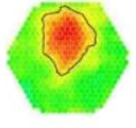
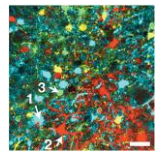
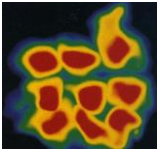
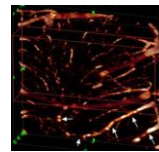
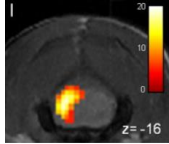
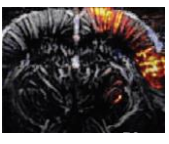
Origine du signal	Potentiels de membranes des neurones					Propriétés physiques de la vascularisation			
Nom	EEG	ECOG	MUA	VSDi	Ca2+i	IOS	dOCT	IRMf	fUSi
Type de signal capté	électrique	électrique	électrique	lumière	lumière	lumière	lumière	magnétique	ultrasons
Résolution temporelle	1kHz	10kHz	30kHz	1kHz	50Hz	10Hz	15Hz	2s	1s
Résolution spatiale	2cm	5mm	400 µm	20µm	50nm	30µm	10µm	700µm	100µm
largeur du plan d'imagerie	cerveau entier	cerveau entier	2mm	3mm	100µm	2,5mm	4mm	3cm	1,5cm
plan d'imagerie	surface	surface	surface (1,5mm)	surface (500µm)	surface (600µm)	surface (500µm)	Surface (3mm)	volume entier	volume entier (prof max 2cm)
invasivité	aucune	craniotomie duratomie	craniotomie duratomie	craniotomie duratomie Dye	craniotomie duratomie	craniotomie duratomie	craniotomie	aucune	craniotomie
Expérimentation en éveillé	++	++	++	+	+	+	-	-	++
Référence	Liotti & Al. 2010	He & Al. 2011	Klaes & Al. 2014	Lippert & Al. 2007	Chen & Al. 2013	Masino & Al. 1993	Chen & Al. 2016	Devonshire & Al. 2011	Macé & Al. 2011
Exemple									

Figure 41: Tableau comparatif des différentes méthodes d'imagerie fonctionnelles. L'échelle de couleur (vert/orange/rouge) tente de classifier relativement les modalités (colonnes) pour chacun des paramètres étudiés (lignes).

B. Une haute résolution spatiale liée à la profondeur d'imagerie

Considérée comme déterminante de la précision d'une image, la résolution spatiale correspond à la plus petite taille d'un pixel d'une image obtenue. Grâce à l'imagerie par microscopie biphotonique il est par exemple possible d'obtenir une résolution spatiale d'environ 60nm (Chen et al., 2013 sur le cortex visuel de la souris anesthésié), alors qu'en IRMf la résolution spatiale avoisine les 500 μm avec les meilleures séquences (Devonshire et al., 2012). Enfin, l'EEG aura, avec une analyse par estimation CSD (Current Source Density), une résolution spatiale maximale de 2 à 3 centimètres (Burle et al., 2015). Pour rappel, la résolution spatiale de la fUSi utilisé ici est environ de **100 μm** . Cela est suffisant pour réaliser des cartographies fonctionnelles précises du cerveau chez le rongeur et chez le primate. Cependant, cela semble insuffisant pour certaines applications comme révéler les cartes d'orientation chez le primate étant donné la finesse des colonnes corticales. En réalité, la résolution spatiale est propre à la fréquence des ultrasons (et donc de la sonde utilisée). Dans ces travaux, une sonde de **15MHz** a été utilisée. Il existe aujourd'hui des sondes de 30 MHz qui permettraient alors de doubler la résolution spatiale de l'imagerie par fUS. Cependant, plus la fréquence des US est grande, moins la pénétration dans les tissus sera bonne (Figure 42).

L'une des innovations majeures à l'utilisation de la fUSi en neuroscience est son large champ d'observation (**1,4x2cm²**) comparé aux méthodes à très haute résolution spatiale (400x400 μm^2 en microscopie biphotonique). Sa taille reste cependant inférieure en comparaison des méthodes d'imagerie plus macroscopiques (3x3cm² pour l'IRMf (Devonshire et al., 2012) et 20x20cm² pour l'EEG (Liotti et al., 2010)). En réalité, la fUSi se place en tant qu'intermédiaire à toutes les méthodes d'imagerie déjà existantes pour ce paramètre. Mais ce qui fait de la fUSi une technique d'imagerie fonctionnelle innovante est l'orientation du plan d'imagerie en profondeur. Prenons l'exemple du cortex visuel V1 (du primate) qui se replie en profondeur au niveau de la fissure calcarine : il est impossible d'étudier cette région corticale avec une technique d'imagerie optique du fait de l'atténuation du signal en profondeur (jusqu'à 600 μm maximum en imagerie biphotonique (Helmchen and Denk, 2005; Oheim et al., 2001)). Et cela reste identique chez le rongeur si l'on souhaite étudier des régions sous-corticales. L'imagerie fUS permet, quant à elle, d'imager **jusqu'à 2cm en profondeur**, offrant ainsi un

nouveau domaine d'étude accessible aux neurosciences. En effet, les seules techniques jusque-là exploitées pour étudier ces régions en profondeur ne possèdent pas une telle résolution spatiale (l'IRMf) ou sont trop chronophages pour réaliser de telles cartographies (l'électrophysiologie). Il est également possible d'augmenter cette profondeur maximale d'imagerie par fUS en diminuant la fréquence de la sonde utilisée (mais il en découle une diminution de la résolution spatiale de l'imagerie, comme mentionné dans le paragraphe ci-dessus) (Figure 42).

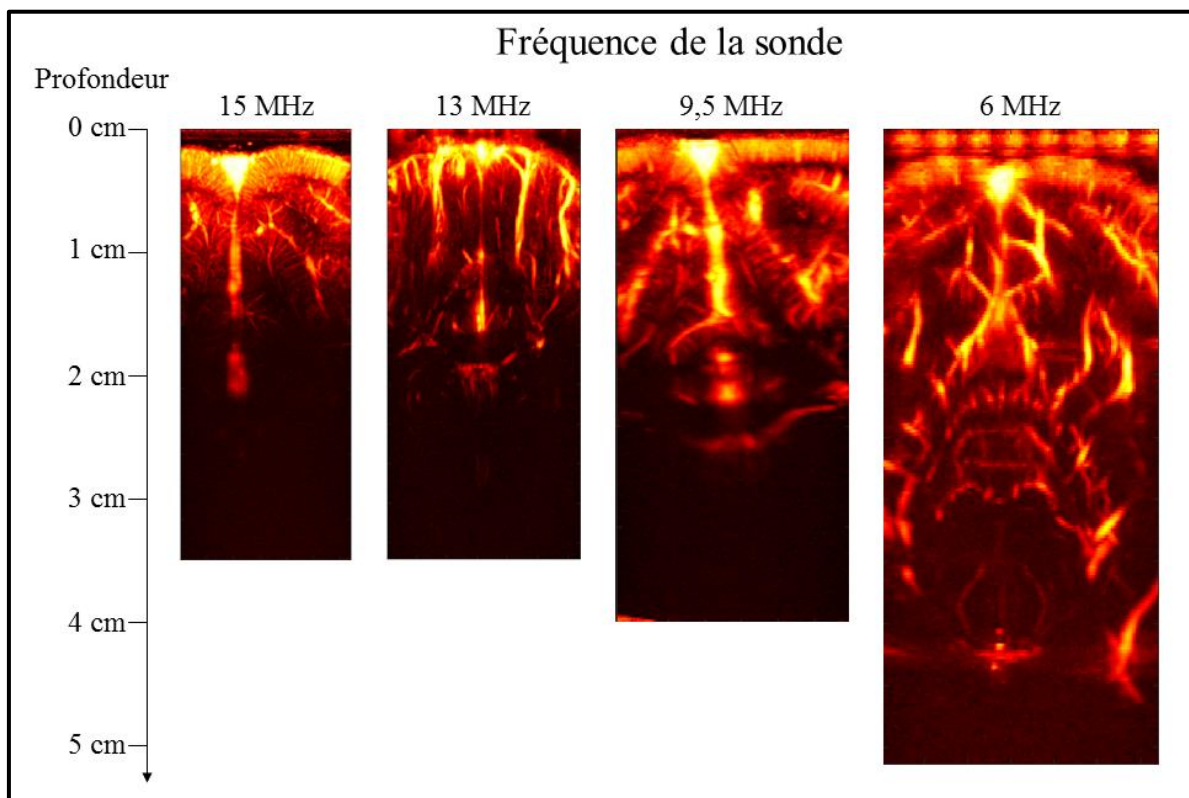


Figure 42: Acquisitions ultrasonores sur un cerveau de primate à différentes fréquences d'émission permettant d'appréhender son importance sur la profondeur maximale d'imagerie et la résolution spatiale.

De par ces deux caractéristiques liées (résolution spatiale et profondeur d'imagerie), il est évident que la fUSi vient s'insérer dans un nouveau domaine des neurosciences inaccessible jusque-là : à la frontière du microscopique et du mesoscopique.

Pour ce qui est de la largeur du plan d'imagerie, cette propriété pourrait être largement améliorée en conservant la même méthodologie mais « uniquement » en augmentant le nombre d'éléments piézoélectriques qui composent la sonde ultrasonore. Actuellement il y a 128 éléments mais on pourrait imaginer une sonde avec 256 éléments (ce qui existe déjà en

échographie obstétrique). Cela permettrait ainsi d'obtenir un champ d'observation de 2,8 cm. Par exemple, dans notre cas il deviendrait possible de réaliser une cartographie fonctionnelle sur toute la largeur du cortex visuel simultanément.

C. Une bonne résolution temporelle

Dans ces travaux, la résolution temporelle du fUS était de 1s (ou **1Hz en fréquence d'échantillonnage**), même s'il est déjà possible de l'augmenter jusqu'à 200ms (soit 5Hz). Cela peut sembler très peu en comparaison des grilles d'électrodes allant jusqu'à 30kHz (Klaes et al., 2014) ou même à l'imagerie calcique biphotonique pouvant échantillonner à 60 Hz (soit 1 image toutes 17ms) (Chen et al., 2013). Cependant, cet échantillonnage temporel est bien supérieur à celui l'IRMf : 0,5Hz (soit 1 image toutes les 2s) (Devonshire et al., 2012). Par ailleurs, dans la mesure où le signal mesuré est le CBV, cette résolution temporelle apparaît largement suffisante puisqu'elle permet de définir des délais d'activations entre plusieurs aires cérébrales comme le LGN, le colliculus supérieur et le cortex visuel (Gesnik et al., 2017).

Il est nécessaire de rester vigilant selon la question posée en termes de résolution spatiale, résolution temporelle et champ d'observation. En effet, B. Burle met par exemple en exergue l'importance de la résolution temporelle de l'EEG (malgré sa faible résolution spatiale) pour distinguer 3 zones réactives différentes et proches, l'IRMf ne procurait qu'une seule zone floue du fait de la dynamique lente du couplage neurovasculaire (Burle et al., 2015). Cette étude rappelle l'importance de considérer la dynamique du signal observé avant d'augmenter la résolution temporelle des mesures.

Cependant, une récente étude menée sur le SEF (pour « Supplementary Eye Field ») du primate non-humain (non publiée pour le moment ; Dizeux A. & Al.) en fUSi tente d'aller au-delà de l'enregistrement du CBV à 1Hz en étudiant les variations du signal Doppler à 2ms près (voir partie [Introduction I. B.]). Les résultats sont encourageants, notamment pour les études temporelles d'activations entre les aires, au sein d'une même aire et à travers les couches corticales.

D. Un bon signal sur bruit

Le rapport signal sur bruit est essentiel comme caractéristique car il permet de déterminer la sensibilité et la spécificité d'une méthode d'imagerie et impliquera des contraintes expérimentales non négligeables pour le personnel scientifique. C'est un indicateur de la qualité de l'acquisition qui se mesure en divisant l'amplitude d'une réponse par le bruit moyen. Le bruit peut être dû à des facteurs internes (sensibilité du capteur utilisée, activité spontanée de neurones, battements cardiaques...) ou à des facteurs externes (variations de la température ambiante, mouvement du sujet ou du système d'acquisition...). En général il est possible de réduire ces bruits en post-traitement à l'aide de filtres diverses mais il reste primordial de les limiter (dans la mesure du possible) ou de les contrôler lors des enregistrements.

L'une des techniques les plus utilisées pour réduire un bruit dépendant de facteurs internes et ainsi prouver qu'une réponse est significative (qualitativement) ou que la valeur mesurée est comparable (quantitativement) est de répéter cette mesure au cours du temps ou d'augmenter la durée de la stimulation. Ainsi, il est possible d'atténuer un bruit dit « blanc » par moyennage. Cependant, plus il sera nécessaire d'augmenter les temps d'acquisition, plus l'expérimentation sera contraignante et soumise à des variabilités. Par exemple, Devonshire & Al. doivent réaliser 6 stimulations de 40s, espacées de 140s de pause pour obtenir des réponses fonctionnelles par IRMf correctes (Devonshire et al., 2012) alors qu'ils préfèrent utiliser 30 stimulations de 1s (espacées de 25s) pour leur étude en imagerie optique intrinsèque. En imagerie calcique biphotonique Chen & Al. utilisent uniquement 5 stimulations de 4s, espacées de 4s (Chen et al., 2016). Nous avons montré ici que pour la fUSi, seules 10 stimulations de 500ms (espacées de 3s) permettent d'obtenir une bonne cartographie fonctionnelle. Ces résultats démontrent la qualité du signal puisque les caractéristiques d'acquisitions en fUS sont très proches de celles en imagerie calcique.

La fUSi a l'avantage d'avoir un très bon signal sur bruit comparé à d'autres méthodes. En effet, il est possible d'observer une augmentation du CBV significative sur un seul essai avec des stimulations visuelles « longues » (minimum 5s, avec 10s de pause ; résultats non encore publiés sur le rongeur éveillé). Pour des stimulations visuelles plus courtes (500ms, avec 3s de pause, durées utilisées chez le primate éveillé dans ces travaux), le moyennage d'uniquement une dizaine d'essais est suffisant pour pouvoir cartographier une aire cérébrale comme le cortex visuel.

De plus, les ondes ultrasonores étant « peu » exploités dans notre quotidien, cette technique a l'avantage de ne pas être soumise aux bruits couramment rencontrés dus à des dispositifs extérieurs : électriques (comme souvent c'est le cas en électrophysiologie) ou même électromagnétiques. Ainsi le couplage avec d'autres modalités comme l'électrophysiologie est largement envisageable.

E. La fUSi, facile à mettre en place pour des expérimentations (notamment en éveillé)

L'anesthésie est un réel inconvénient en neurosciences car les répercussions sur certains réseaux neuronaux sont encore méconnues (Dekel et al., 2009; Müller et al., 2011; Taghon et al., 2015; Taub et al., 2013). En effet, les anesthésiques ont généralement des effets sur les récepteurs aux neuromédiateurs et donc à l'activité neuronale. Par exemple, la Kétamine est un inhibiteur du glutamate au niveau des récepteurs NMDA (pour « N-méthyl-D-aspartate »). En plus de provoquer des hallucinations, et/ou ses effets antalgique et narcotique, elle stimule le système nerveux sympathique et peut provoquer une hypertension intracrânienne (ce qui peut influencer sur les valeurs de CBV par exemple) (Quibell et al., 2015).

Même si théoriquement il est possible d'utiliser n'importe quelle technique d'imagerie fonctionnelle pour étudier le système visuel cérébral chez l'animal éveillé, dans la pratique cela peut être très complexe pour différentes raisons. Par exemple, en IRMf il est nécessaire d'habituer l'animal à un milieu clos et bruyant (donc stressant), mais il est également nécessaire de développer des systèmes plus complexes de plots de fixation magnétiques, d'écran de stimulation, de système de suivi du regard etc. Cela a par exemple été réalisé chez le macaque (Vanduffel et al., 2001; Yue et al., 2013) et chez le marmoset depuis peu (Hung et al., 2015). Cela reste très long et compliqué à mettre en place. Pour toutes les autres techniques d'imagerie (optiques), le point le plus délicat est le mouvement entre l'objectif et la zone du cerveau enregistrée. En effet, lorsque l'animal bouge légèrement durant une session cela peut rapidement et facilement perturber le signal acquis. Il est alors nécessaire de mettre en place un système complexe pour la fixation de la tête de l'animal, notamment avec le macaque comme l'a réalisé A. Grinvald en imagerie intrinsèque (Grinvald et al., 1991). Il a dû utiliser plusieurs barres de fixation entre la (lourde) table antivibratoire, la chaise de l'animal, la tête de l'animal,

et le système optique pour éviter tout mouvement relatif entre tous ces éléments. C'est donc possible mais cela reste complexe.

La fUSi est réellement une technique rapide à mettre en place en laboratoire de recherche. En effet, la machine est facilement déménageable, elle n'est soumise à quasi aucun bruit environnant, mais elle est surtout **adaptée pour l'imagerie cérébrale sur animal éveillé** étant donné son bon SNR et la sonde qui peut être déportée aisément (seul un câble sépare la sonde de la machine d'acquisition). Cela signifie que la sonde est directement fixée à la chambre d'enregistrement (et donc au crâne). Il serait par exemple possible d'enregistrer en fUSi l'activité du cerveau du singe en tête libre lorsqu'il est en chaise. Nous avons préféré conserver un système en tête fixé pour une meilleure qualité du suivi du regard.

Ainsi, une bonne méthode d'imagerie fonctionnelle est également jugée sur la possibilité, la facilité et la robustesse d'enregistrer l'activité du cerveau sur un animal éveillé. Plusieurs stratégies existent ou se développent aujourd'hui (Hamel et al., 2015) comme fixer la tête grâce à un implant crânien (Isoda et al., 2005; Martin et al., 2013; Wakabayashi et al., 2018) ou de façon non invasif à l'aide d'un masque (Hung et al., 2015), mais également en déportant le capteur et laissant ainsi l'animal libre de tout mouvement (Ghosh et al., 2011; Sieu et al., 2015; Urban et al., 2015).

F. Une technique d'imagerie « peu » invasive

Malgré la craniotomie encore nécessaire, la fUSi peut être qualifié de peu invasive pour plusieurs raisons en comparaison aux autres méthodes d'exploration. En effet, même si l'IRMf est non invasive, il est très chronophage d'habituer un singe à réaliser une tâche durant une acquisition longue (Chen et al., 2012a; Cléry et al., 2018; Hung et al., 2015). Ainsi, cela nécessite une anesthésie à chaque acquisition, ce qui n'est pas optimal pour la bonne santé de l'animal à long terme si elles sont régulières et il existe toujours un risque non négligeable sur de longues anesthésies.

De plus, à l'inverse des méthodes d'imagerie optiques traditionnelles (VSDi, imagerie calcique, intrinsèque...), **le fUS ne nécessite pas de retirer la dure-mère** au-dessus du plan d'imagerie car les ultrasons la traversent très bien. Cependant, pour certaines expériences chroniques et/ou vigiles des méthodes chirurgicales se développent afin de substituer ces

structures protectrices du cerveau (Gierthmuehlen et al., 2014; Roome and Kuhn, 2014; Silasi et al., 2016). La dure-mère est en effet une structure de protection du cerveau pour l'isoler et le prémunir de toute infection. De ce fait, son ouverture enclenche des phénomènes de repousse pour reconstituer cette barrière. Par conséquent, la maintenir intacte est un point important pour la fUS.

Enfin, les enregistrements électrophysiologiques à l'aide d'électrodes insérées quotidiennement dans le cortex endommagent forcément le tissu malgré toutes les précautions qui peuvent être prises. Cependant, c'est surtout la difficulté de produire une cartographie point par point avec une stratégie aussi consommatrice en temps qui la rend sans comparaison avec la fUSi. Dans le cadre du fUS, la sonde reste positionnée au-dessus de la dure-mère, aucune pression n'est appliquée, il n'y a pas d'échauffement qui pourraient entraîner de quelconques lésions. La cartographie est réalisée en une seule séance.

G. Une imagerie 3D en continue

L'une des limitations de la fUSi comparée à l'IRMf reste l'obtention de volume fonctionnel et non une simple coupe. En effet, si l'acquisition de résultats en trois dimensions reste envisageable (voir [Travaux de recherches I.]), cette approche est très chronophage et peu robuste. En effet, la reconstruction 3D de la structure du cerveau suppose que le stimulus fonctionnel induit des variations de CBV très reproductibles pour l'acquisition des différentes coupes. Cependant, cette reproductibilité, notamment sur animal anesthésié, est difficile à obtenir car le degré d'anesthésie peut changer avec le temps notamment avec les anesthésiques injectables.

Plusieurs idées peuvent être proposées pour améliorer ce point dans le futur :

- Développer une sonde où les éléments piézoélectriques sont motorisés. Cela permettrait un balayage automatisé synchronisé et ainsi de pouvoir reconstruire les signaux CBV en trois dimensions. C'est d'ailleurs l'idée principale exploitée pour les échographies obstétriques anatomiques 3D qui sont couramment réalisées aujourd'hui.
- Développer une sonde composée d'une matrice d'éléments piézoélectriques (128 x 128 par exemple). Le problème majeur qui sera rencontré rapidement est la quantité de données générée qui ne sera pas exploitable par l'équipement du fait d'un manque de

puissance de calcul (limitation purement matérielle). Cependant, une telle sonde pourrait remplacer le déplacement moteur par une acquisition séquentielle ligne par ligne de 128 éléments. Le gain serait sur la rapidité d'exécution par rapport à un déplacement mécanique et sur la précision du pas. Cependant, cette approche reste limitée par la taille de la craniotomie et il est aujourd'hui impossible d'envisager une imagerie fUS en trois dimensions pour la totalité du cerveau chez le primate non-humain.

H. Le développement de sondes sans fils chroniques

Certains fournisseurs d'échographes utilisés en clinique, et notamment en obstétrique, commencent à développer des sondes ultrasonores sans fils. Même si les modèles actuels sont trop encombrants pour imaginer une quelconque application en expérimentation animale, il serait envisageable à long terme que ces dernières soient suffisamment miniaturisées pour être implantées chez l'animal de façon chronique. Cela serait une avancée majeure puisque cela permettrait d'enregistrer en continue l'activité du cortex visuel (ou d'une autre aire cérébrale), dans un contexte plus naturel pour l'animal. Des expériences de comportement plus complexes pourraient également être menées. Cela nécessitera cependant de pouvoir contrôler d'autres paramètres comme la position du regard dans notre cas.

II. La future place de la fUSi dans les neurosciences

A. Pour l'étude du système visuel

Il est évident que ces travaux de thèse méritent d'être poursuivis. En effet, maintenant que la technique est maîtrisée chez le rongeur et primate non-humain, il est possible de d'acquérir de nouvelles connaissances fondamentales sur le système visuel et ce, à grande vitesse et avec un point de vue et une échelle qui n'étaient pas accessibles jusqu'à maintenant.

Il serait dès lors intéressant de révéler d'autres cartes fonctionnelles comme celles de sélection à l'orientation, de fréquences spatiales ou la répartition des CO-Blobs dans V1 et ainsi étudier les interactions structurelles et fonctionnelles entre celles-ci (Nauhaus et al., 2012). Le grand atout de cette méthode d'imagerie est qu'il est possible d'étudier en profondeur les structures. Ainsi, il serait possible de révéler d'autres cartes fonctionnelles dans V3, ce qu'il est actuellement impossible de réaliser en imagerie optique ou VSDi.

Etant donnée l'organisation hiérarchique des cortex visuels (V1 à V5) (Felleman and Van Essen, 1991), et en imaginant pouvoir augmenter encore plus la fréquence d'acquisition de l'imagerie fUS (voir partie [I. B.]) ou l'analyse temporelle du signal, il serait intéressant d'étudier les interactions entre ces aires. En effet, il existe des connexions entre celles-ci permettant la parallélisation du traitement de l'information visuelle cérébrale mais il est évident que la fUSi pourra permettre des études plus complètes de ce réseau. Enfin, l'enregistrement de l'activité cérébrale durant la diffusion de « vidéos naturelles » pourrait apporter de nouvelles connaissances car il est certain que combiner des informations visuelles au sein du stimulus (position, fréquences spatiotemporelles, couleurs, orientation...) provoquera des réponses plus complexes mais plus intéressantes pour la recherche fondamentale.

B. L'implémentation à d'autres outils et/ou stratégies

Cette méthode d'imagerie est évidemment transposable à toutes les aires cérébrales souhaitées. La méthodologie sera similaire Seuls les paradigmes de stimulations devront être réadaptés. Il sera préférable de se baser sur des protocoles déjà utilisés en IRMf car les

dynamiques observées du CBV se rapprochent plus de celles observés avec cette technique (BOLD et/ou CBF).

De plus, il est assez aisé de coupler cette nouvelle technologie d'imagerie avec des modalités bien connues comme par exemple l'électrophysiologie. En effet, il n'y a aucun bruit et/ou limitations liés à l'électromagnétisme comme cela peut se rencontrer avec l'IRMf (Shmuel et al., 2006). De plus, il pourrait être envisageable d'utiliser la fUSi pour visualiser des injections intracorticales afin de contrôler la bonne localisation et libération de l'agent utilisé via l'utilisation d'un agent de contraste (Errico et al., 2016).

Enfin, cette technique pourrait être exploitée afin d'observer des réponses cérébrales à certaines stimulations artificielles comme par exemple par optogénétique (Boyden et al., 2005) ou même, par ultrasons (Wattiez et al., 2017). Dans le second cas, il faudrait cependant alterner temporellement la stimulation et l'acquisition de l'activité pour ne pas bruite la réponse avec les ondes ultrasonores utilisées pour la stimulation. Cela ne serait pas nécessairement dommageable pour la qualité des résultats étant donné que les pics de réponses observés en CBV ont lieu près de 2,5 secondes après le début de la stimulation.

C. Une rapidité d'utilisation pour des contrôles quotidiens

A l'exemple des échographes dans les services hospitaliers, le fUS pourrait permettre aux laboratoires de neurosciences nécessitant la pose de chambres d'enregistrements (notamment pour l'électrophysiologie) de contrôler plusieurs points rapidement et facilement :

- Le bon positionnement de la chambre pendant ou après la chirurgie d'après les replis corticaux ou autres marqueurs anatomiques connus.
- Le positionnement optimal des électrodes sur une grille d'enregistrement/ la profondeur de pénétration nécessaire etc.
- La taille et l'intégrité de la dure-mère si une lésion est suspectée.
- L'épaisseur de tissus qui peuvent se développer au-dessus de la dure-mère. Ainsi il devient plus évident de les retirer sans risquer d'endommager la dure-mère.
- Une inflammation quelconque des tissus corticaux.

Ainsi, la fUSi serait une aide quotidienne permettant de visualiser ce qui n'est pas visible pour l'expérimentateur (ou le vétérinaire) avec une facilité et une rapidité déconcertante comparé à l'IRM.

D. Le passage chez l'homme

Est-il envisageable d'exploiter cette technologie chez l'homme ? Voilà une question récurrente et compliquée. En effet, l'obstacle principal à la transposition de tous ces travaux au passage à l'homme est le crâne. Seuls deux situations permettent aujourd'hui d'utiliser la fUSi chez l'homme :

- Lors d'actes chirurgicaux nécessitant une craniotomie (Imbault et al., 2017). Cela est couramment réalisé aujourd'hui pour des enregistrements ECoG (Yang et al., 2014).
- Chez les nourrissons, à travers la fontanelle bregmatique. En effet, lorsque les os du crâne ne sont pas encore soudés entre eux, la membrane les reliant est suffisamment transparente aux ultrasons pour permettre des enregistrements. Cela a notamment permis de déterminer le lieu d'origines de crises de convulsions (Demene et al., 2017).

Cependant, il pourrait être envisageable d'utiliser le fUS chez l'homme en contournant le problème du crâne avec différentes approches :

- En développant un protocole médicamenteux permettant de rendre le crâne mou de façon réversible, et donc, transparent aux ultrasons. En effet, nous savons que c'est essentiellement la calcification des os qui induit leur opacité ultrasonique. Ainsi, à l'image de l'os de poulet laissé 1 semaine dans du vinaigre qui devient mou (par la dégradation du calcium), on pourrait imaginer qu'une injection (ou des injections régulières) d'un produit spécifique pourrait entraîner une décalcification localisée et contrôlée permettant alors de construire une fenêtre transparente aux ultrasons. Celle-ci devra, bien évidemment, être réversible mais étant donné les connaissances sur la croissance et le développement osseux basé sur les ostéoblastes cela ne devrait pas être le point critique.
- Une autre approche moins invasive serait d'être capable d'augmenter la puissance des ultrasons tout en contrôlant que cela n'engendre pas de séquelles sur les tissus en profondeur (peau, muscles, os, dure-mère, cerveau...). En effet, si une légère partie des

ultrasons peuvent passer à travers le crâne, que certains échos peuvent être perçus par la sonde (après avoir retraversé le crâne), et qu'une modélisation des différents obstacles (notamment osseux) peut être faite, il serait alors théoriquement possible de pouvoir réaliser des enregistrements fonctionnels cérébraux par ultrasons.

L'un des principaux attraits à pouvoir utiliser l'imagerie fonctionnelle par ultrasons chez l'homme serait, par exemple, de distinguer le type d'accident vasculaire cérébrale rapidement (hémorragique ou ischémique). En effet, c'est un point très critique lors du diagnostic d'un patient et qui détermine le traitement qui en découle. Aujourd'hui cela est réalisé par IRM ou scanner en urgence et nécessite ainsi une forte logistique et est très chronophage. De plus, dans le cas d'AVC ischémique lié à un caillot au niveau de la vascularisation cérébrale, il pourrait être possible localiser la position de celui-ci, contrôler l'effet du traitement médicamenteux etc.

Des AVC ont déjà été observés chez certains rats au cours de ces travaux (Figure 43). On observe bien ici que certaines zones du cortex ne sont plus vascularisées. En effet, l'absence de signal Doppler (zones noires) indique qu'il n'y a aucun flux sanguin dans cette zone, ce qui doit correspondre à un AVC ischémiques. A l'inverse, des AVC hémorragiques auraient sûrement été visibles par des flux avec une orientation transversale ou aléatoire par rapport aux colonnes verticales visibles dans le cortex.

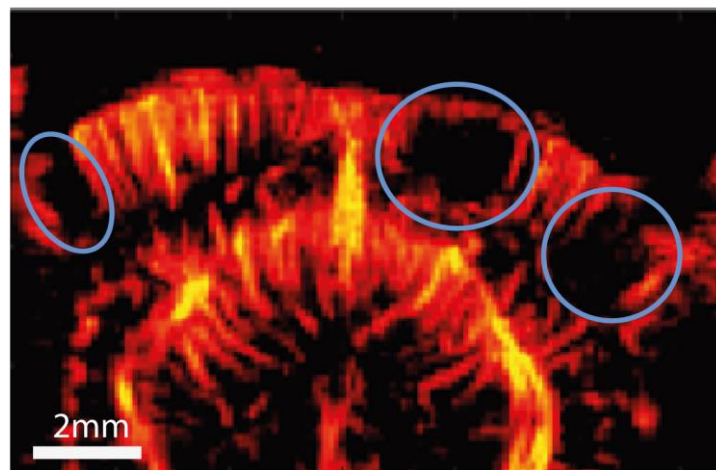


Figure 43: Exemple d'une acquisition fUS sur rat anesthésié révélant des AVC au niveau du cortex (absence de flux sanguins, indiqués par les zones bleues).

III. Conclusion générale

Ces travaux de thèse menés sur le système visuel cérébral du rat et du primate par imagerie fonctionnelle par ultrasons ultrarapides montrent que cette nouvelle technique est prometteuse dans l'avenir des neurosciences. En effet, grâce à celle-ci nous avons par exemple pu quantifier l'influence de certains paramètres de stimulation visuelle sur les réponses de différentes aires cérébrales : le LGN, le colliculus supérieur et le cortex visuel. Cela est en effet possible car cette nouvelle technologie a un plan d'imagerie en profondeur à l'opposé des techniques d'imagerie optiques usuelles (imagerie de surface). L'acquisition de données physiologiques est donc rapide et peut se faire sur plusieurs structures simultanément.

De plus, nous avons montré le grand intérêt de cette technique, et notamment sa bonne résolution spatiale et temporelle en cartographiant le cortex visuel chez le primate non-humain éveillé. En effet, nous avons pu réaliser des rétino-topies d'une bonne précision, grâce à des stimulations brèves, et ce, en un minimum de temps et avec un plan d'imagerie en profondeur. Le grand intérêt de cela est de pouvoir étudier le cortex visuel profond (au niveau de la fissure calcarine ou du sillon luné), région impliquée dans le traitement de l'information visuelle périphérique. Celle-là n'était, jusqu'à maintenant, pas accessible avec les méthodes d'imagerie optiques usuelles (du fait de la profondeur) ou à une telle résolution spatiotemporelle en IRMf. En révélant également les bandes de dominance oculaire dans le cortex visuel, nous avons montré qu'elle permettait une étude à haute résolution spatiotemporelle, et ce, sur toute la profondeur du cortex, et donc, au sein de toutes les couches corticales. Cette étude procure la première image fonctionnelle des colonnes de dominance oculaire sur toute la profondeur du cortex.

L'imagerie fonctionnelle par ultrasons a donc beaucoup d'avantages théoriques et se place ainsi à une frontière entre l'imagerie optique et l'IRMf, dévoilant alors de nouvelles perspectives d'études en neurologie et dans les neurosciences. En plus de cela, elle a de grands atouts pratiques non négligeables dans la vie d'un service clinique ou d'un laboratoire (encombrement, déménagement, modularité, rapport signal sur bruit, coût, ...), laissant à penser un avenir prometteur à l'imagerie fonctionnelle par ultrasons.

Bibliographie

Adams, D.L., Sincich, L.C., and Horton, J.C. (2007). Complete Pattern of Ocular Dominance Columns in Human Primary Visual Cortex. *J. Neurosci.* 27, 10391–10403.

Ahmadlou, M., and Heimel, J.A. (2015). Preference for concentric orientations in the mouse superior colliculus. *Nat. Commun.* 6, 6773.

Aine, C.J., Suppek, S., George, J.S., Ranken, D., Lewine, J., Sanders, J., Best, E., Tsee, W., Flynn, E.R., and Wood, C.C. (1996). Retinotopic organization of human visual cortex: departures from the classical model. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 6, 354–361.

Albus, K. (1975a). A quantitative study of the projection area of the central and the paracentral visual field in area 17 of the cat. I. The precision of the topography. *Exp. Brain Res.* 24, 159–179.

Albus, K. (1975b). Predominance of monocularly driven cells in the projection area of the central visual field in cat's striate cortex. *Brain Res.* 89, 341–347.

Alivisatos, A.P., Andrews, A.M., Boyden, E.S., Chun, M., Church, G.M., Deisseroth, K., Donoghue, J.P., Fraser, S.E., Lippincott-Schwartz, J., Looger, L.L., et al. (2013). Nanotools for Neuroscience and Brain Activity Mapping. *ACS Nano* 7, 1850–1866.

Arcaro, M.J., and Livingstone, M.S. (2017). Retinotopic Organization of Scene Areas in Macaque Inferior Temporal Cortex. *J. Neurosci.* 37, 7373–7389.

Assali, A., Gaspar, P., and Rebsam, A. (2014). Activity dependent mechanisms of visual map formation - From retinal waves to molecular regulators. *Semin. Cell Dev. Biol.* 35, 136–146.

Awatramani, G.B., and Slaughter, M.M. (2000). Origin of transient and sustained responses in ganglion cells of the retina. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 7087–7095.

Ayoub, G.S., and Copenhagen, D.R. (1991). Application of a fluorometric method to measure glutamate release from single retinal photoreceptors. *J. Neurosci. Methods* 37, 7–14.

Baker, B.J., Kosmidis, E.K., Vucinic, D., Falk, C.X., Cohen, L.B., Djurasic, M., and Zecevic, D. (2005). Imaging Brain Activity With Voltage- and Calcium-Sensitive Dyes. *Cell. Mol. Neurobiol.* 25, 245–282.

Balaram, P., and Kaas, J.H. (2014). Towards a unified scheme of cortical lamination for primary visual cortex across primates: insights from NeuN and VGLUT2 immunoreactivity. *Front. Neuroanat.* 8.

Balasubramanian, M., Polimeni, J., and Schwartz, E.L. (2002). The V1 -V2-V3 complex: quasiconformal dipole maps in primate striate and extra-striate cortex. *Neural Netw. Off. J. Int. Neural Netw. Soc.* 15, 1157–1163.

Bandettini, P.A., Wong, E.C., Hinks, R.S., Tikofsky, R.S., and Hyde, J.S. (1992). Time course EPI of human brain function during task activation. *Magn. Reson. Med.* 25, 390–397.

Behrens, C., Schubert, T., Haverkamp, S., Euler, T., and Berens, P. Connectivity map of bipolar cells and photoreceptors in the mouse retina. *ELife* 5.

Benson, N.C., Butt, O.H., Datta, R., Radoeva, P.D., Brainard, D.H., and Aguirre, G.K. (2012). The retinotopic organization of striate cortex is well predicted by surface topology. *Curr. Biol.* CB 22, 2081–2085.

Bercoff, J., Montaldo, G., Loupas, T., Savery, D., Meziere, F., Fink, M., and Tanter, M. (2011). Ultrafast compound doppler imaging: providing full blood flow characterization. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 58, 134–147.

Berson, D.M., Dunn, F.A., and Takao, M. (2002). Phototransduction by Retinal Ganglion Cells That Set the Circadian Clock. *Science* 295, 1070–1073.

Blasdel, G.G. (1992a). Differential imaging of ocular dominance and orientation selectivity in monkey striate cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 12, 3115–3138.

Blasdel, G.G. (1992b). Orientation selectivity, preference, and continuity in monkey striate cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 12, 3139–3161.

Blasdel, G., and Campbell, D. (2001). Functional Retinotopy of Monkey Visual Cortex. *J. Neurosci.* 21, 8286–8301.

- Blasdel, G.G., and Salama, G. (1986). Voltage-sensitive dyes reveal a modular organization in monkey striate cortex. *Nature* 321, 579–585.
- Bosking, W.H., Zhang, Y., Schofield, B., and Fitzpatrick, D. (1997). Orientation selectivity and the arrangement of horizontal connections in tree shrew striate cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 2112–2127.
- Boycott, B., and Wässle, H. (1999). Parallel processing in the mammalian retina: the Proctor Lecture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 40, 1313–1327.
- Boycott, B.B., S, F.R., Hopkins, J.M., and Sperling, H.G. (1987). Cone connections of the horizontal cells of the rhesus monkey's retina. *Proc R Soc Lond B* 229, 345–379.
- Boyden, E.S., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G., and Deisseroth, K. (2005). Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat. Neurosci.* 8, 1263–1268.
- Briggs, F. (2017). *Mammalian Visual System Organization*. *Oxf. Res. Encycl. Neurosci.*
- Burle, B., Spieser, L., Roger, C., Casini, L., Hasbroucq, T., and Vidal, F. (2015). Spatial and temporal resolutions of EEG: Is it really black and white? A scalp current density view. *Int. J. Psychophysiol.* 97, 210–220.
- Buxton, R.B. (2013). The physics of functional magnetic resonance imaging (fMRI). *Rep. Prog. Phys. Phys. Soc. G. B.* 76, 096601.
- Buzsáki, G., Anastassiou, C.A., and Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents-EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nat. Rev. Neurosci.* 13, 407–420.
- Bytautiene, J., and Baranauskas, G. (2017). Rat superior colliculus neurons respond to large visual stimuli flashed outside the classical receptive field. *PLOS ONE* 12, e0174409.
- Calixto, R., Salamat, B., Rode, T., Hartmann, T., Volckaerts, B., Ruther, P., Lenarz, T., and Lim, H.H. (2013). Investigation of a new electrode array technology for a central auditory prosthesis. *PloS One* 8, e82148.
- Callaway, E.M. (1998). Local Circuits in Primary Visual Cortex of the Macaque Monkey. *Annu. Rev. Neurosci.* 21, 47–74.

- Cang, J., Wang, L., Stryker, M.P., and Feldheim, D.A. (2008). Roles of Ephrin-As and Structured Activity in the Development of Functional Maps in the Superior Colliculus. *J. Neurosci.* 28, 11015–11023.
- Carandini, M., Shimaoka, D., Rossi, L.F., Sato, T.K., Benucci, A., and Knöpfel, T. (2015). Imaging the awake visual cortex with a genetically encoded voltage indicator. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 35, 53–63.
- Carlson, G.C., and Coulter, D.A. (2008). In vitro functional imaging in brain slices using fast voltage-sensitive dye imaging combined with whole-cell patch recording. *Nat. Protoc.* 3, 249–255.
- Cervenka, M.C., Corines, J., Boatman-Reich, D.F., Eloyan, A., Sheng, X., Franaszczuk, P.J., and Crone, N.E. (2013). Electrocorticographic functional mapping identifies human cortex critical for auditory and visual naming. *NeuroImage* 69, 267–276.
- Chemla, S. A biophysical cortical column model for optical signal analysis. 243.
- Chemla, S., and Chavane, F. (2010). Voltage-sensitive dye imaging: Technique review and models. *J. Physiol.-Paris* 104, 40–50.
- Chemla, S., Muller, L., Reynaud, A., Takerkart, S., Destexhe, A., and Chavane, F. (2017). Improving voltage-sensitive dye imaging: with a little help from computational approaches. *Neurophotonics* 4, 031215.
- Chen, G., Wang, F., Dillenburg, B.C., Friedman, R.M., Chen, L.M., Gore, J.C., Avison, M.J., and Roe, A.W. (2012a). Functional magnetic resonance imaging of awake monkeys: some approaches for improving imaging quality. *Magn. Reson. Imaging* 30, 36–47.
- Chen, T.-W., Wardill, T.J., Sun, Y., Pulver, S.R., Renninger, S.L., Baohan, A., Schreiter, E.R., Kerr, R.A., Orger, M.B., Jayaraman, V., et al. (2013). Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature* 499, 295–300.
- Chen, W., Zhu, X.H., Thulborn, K.R., and Ugurbil, K. (1999). Retinotopic mapping of lateral geniculate nucleus in humans using functional magnetic resonance imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 2430–2434.

- Chen, W., You, J., Gu, X., Du, C., and Pan, Y. (2016). High-speed swept source optical coherence Doppler tomography for deep brain microvascular imaging. *Sci. Rep.* *6*, 38786.
- Chen, Y., Palmer, C.R., and Seidemann, E. (2012b). The relationship between voltage-sensitive dye imaging signals and spiking activity of neural populations in primate V1. *J. Neurophysiol.* *107*, 3281–3295.
- Chen-Bee, C.H., Agoncillo, T., Lay, C.C., and Frostig, R.D. (2010). Intrinsic Signal Optical Imaging of Brain Function Using Short Stimulus Delivery Intervals. *J. Neurosci. Methods* *187*, 171–182.
- Cléry, J., Guipponi, O., Odouard, S., Wardak, C., and Ben Hamed, S. (2018). Cortical networks for encoding near and far space in the non-human primate. *NeuroImage* *176*, 164–178.
- Collins, C.E., Airey, D.C., Young, N.A., Leitch, D.B., and Kaas, J.H. (2010). Neuron densities vary across and within cortical areas in primates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *107*, 15927–15932.
- Condo, G.J., and Casagrande, V.A. (1990). Organization of cytochrome oxidase staining in the visual cortex of nocturnal primates (*Galago crassicaudatus* and *Galago senegalensis*): I. Adult patterns. *J. Comp. Neurol.* *293*, 632–645.
- Connaughton, V.P., Graham, D., and Nelson, R. (2004). Identification and morphological classification of horizontal, bipolar, and amacrine cells within the zebrafish retina. *J. Comp. Neurol.* *477*, 371–385.
- Coogan, T.A., and Burkhalter, A. (1993). Hierarchical organization of areas in rat visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *13*, 3749–3772.
- Cowey, A., and Heywood, C.A. (1995). There's more to colour than meets the eye. *Behav. Brain Res.* *71*, 89–100.
- Dacey, D.M., and Lee, B.B. (1994). The “blue-on” opponent pathway in primate retina originates from a distinct bistratified ganglion cell type. *Nature* *367*, 731–735.
- Damadian, R., Minkoff, L., and Goldsmith, M. (1978). Whole-body nuclear magnetic resonance scanning: n.m.r. studies of tumour cells. *Ciba Found. Symp.* 131–141.

Daniel, P.M., and Whitteridge, D. (1961). The representation of the visual field on the cerebral cortex in monkeys. *J. Physiol.* *159*, 203–221.

Davila, H.V., Salzberg, B.M., Cohen, L.B., and Waggoner, A.S. (1973). A Large Change in Axon Fluorescence that Provides a Promising Method for Measuring Membrane Potential. *Nature. New Biol.* *241*, 159–160.

Deffieux, T., Demene, C., Pernot, M., and Tanter, M. (2018). Functional ultrasound neuroimaging: a review of the preclinical and clinical state of the art. *Curr. Opin. Neurobiol.* *50*, 128–135.

Dekel, N., Sonn, J., Barbiro-Michaely, E., Ornstein, E., and Mayevsky, A. (2009). Effects of anesthesia on brain mitochondrial function, blood flow, ionic and electrical activity monitored in vivo. *Adv. Exp. Med. Biol.* *645*, 49–54.

Delannoy, B., Torguet, R., Bruneel, C., Bridoux, E., Rouvaen, J.M., and Lasota, H. (1979). Acoustical image reconstruction in parallel-processing analog electronic systems. *J. Appl. Phys.* *50*, 3153–3159.

Demené, C., Deffieux, T., Pernot, M., Osmanski, B.-F., Biran, V., Gennisson, J.-L., Sieu, L.-A., Bergel, A., Franqui, S., Correas, J.-M., et al. (2015). Spatiotemporal Clutter Filtering of Ultrafast Ultrasound Data Highly Increases Doppler and fUltrasound Sensitivity. *IEEE Trans. Med. Imaging* *34*, 2271–2285.

Demené, C., Tiran, E., Sieu, L.-A., Bergel, A., Gennisson, J.L., Pernot, M., Deffieux, T., Cohen, I., and Tanter, M. (2016). 4D microvascular imaging based on ultrafast Doppler tomography. *NeuroImage* *127*, 472–483.

Demene, C., Baranger, J., Bernal, M., Delanoe, C., Auvin, S., Biran, V., Alison, M., Mairesse, J., Harribaud, E., Pernot, M., et al. (2017). Functional ultrasound imaging of brain activity in human newborns. *Sci. Transl. Med.* *9*, eaah6756.

Demene, C., Mairesse, J., Baranger, J., Tanter, M., and Baud, O. (2018). Ultrafast Doppler for neonatal brain imaging. *NeuroImage*.

Denfield, G.H., Fahey, P.G., Reimer, J., and Tolia, A.S. (2016). Investigating the Limits of Neurovascular Coupling. *Neuron* *91*, 954–956.

- Denison, R.N., Vu, A.T., Yacoub, E., Feinberg, D.A., and Silver, M.A. (2014). Functional mapping of the magnocellular and parvocellular subdivisions of human LGN. *NeuroImage* 102, 358–369.
- Denk, W., Strickler, J.H., and Webb, W.W. (1990). Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. *Science* 248, 73–76.
- Derrington, A.M., and Lennie, P. (1984). Spatial and temporal contrast sensitivities of neurones in lateral geniculate nucleus of macaque. *J. Physiol.* 357, 219–240.
- DeSimone, K., Viviano, J.D., and Schneider, K.A. (2015). Population Receptive Field Estimation Reveals New Retinotopic Maps in Human Subcortex. *J. Neurosci.* 35, 9836–9847.
- Devonshire, I.M., Papadakis, N.G., Port, M., Berwick, J., Kennerley, A.J., Mayhew, J.E.W., and Overton, P.G. (2012). Neurovascular coupling is brain region-dependent. *NeuroImage* 59, 1997–2006.
- Dow, B.M., Snyder, A.Z., Vautin, R.G., and Bauer, R. (1981). Magnification factor and receptive field size in foveal striate cortex of the monkey. *Exp. Brain Res.* 44, 213–228.
- Dräger, U.C. (1974). Autoradiography of tritiated proline and fucose transported transneuronally from the eye to the visual cortex in pigmented and albino mice. *Brain Res.* 82, 284–292.
- Dräger, U.C., and Hubel, D.H. (1975). Responses to visual stimulation and relationship between visual, auditory, and somatosensory inputs in mouse superior colliculus. *J. Neurophysiol.* 38, 690–713.
- Ellis, E.M., Gauthier, G., Sivyer, B., and Murphy, G.J. (2016). Shared and distinct retinal input to the mouse superior colliculus and dorsal lateral geniculate nucleus. *J. Neurophysiol.* 116, 602–610.
- Engel, S.A., Rumelhart, D.E., Wandell, B.A., Lee, A.T., Glover, G.H., Chichilnisky, E.J., and Shadlen, M.N. (1994). fMRI of human visual cortex. *Nature* 369, 525.
- Enroth-Cugell, C., and Pinto, L.H. (1972). Properties of the surround response mechanism of cat retinal ganglion cells and centre-surround interaction. *J. Physiol.* 220, 403–439.

- Errico, C., Osmanski, B.-F., Pezet, S., Couture, O., Lenkei, Z., and Tanter, M. (2016). Transcranial functional ultrasound imaging of the brain using microbubble-enhanced ultrasensitive Doppler. *NeuroImage* 124, 752–761.
- Espinoza, S.G., and Thomas, H.C. (1983). Retinotopic organization of striate and extrastriate visual cortex in the hooded rat. *Brain Res.* 272, 137–144.
- Euler, T., Schneider, H., and Wässle, H. (1996). Glutamate responses of bipolar cells in a slice preparation of the rat retina. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 16, 2934–2944.
- Everson, R.M., Prashanth, A.K., Gabbay, M., Knight, B.W., Sirovich, L., and Kaplan, E. (1998). Representation of spatial frequency and orientation in the visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 8334–8338.
- Feinberg, E.H., and Meister, M. (2015). Orientation columns in the mouse superior colliculus. *Nature* 519, 229–232.
- Felleman, D.J., and Van Essen, D.C. (1991). Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 1, 1–47.
- Fernández, E., Greger, B., House, P.A., Aranda, I., Botella, C., Albisua, J., Soto-Sánchez, C., Alfaro, A., and Normann, R.A. (2014). Acute human brain responses to intracortical microelectrode arrays: challenges and future prospects. *Front. Neuroengineering* 7.
- Frostig, R.D., Lieke, E.E., Ts'o, D.Y., and Grinvald, A. (1990). Cortical functional architecture and local coupling between neuronal activity and the microcirculation revealed by in vivo high-resolution optical imaging of intrinsic signals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 6082–6086.
- Fukuda, Y., Sumitomo, I., Sugitani, M., and Iwama, K. (1979). Receptive-field properties of cells in the dorsal part of the albino rat's lateral geniculate nucleus. *Jpn. J. Physiol.* 29, 283–307.
- Gattass, R., Gross, C.G., and Sandell, J.H. (1981). Visual topography of V2 in the macaque. *J. Comp. Neurol.* 201, 519–539.
- Gauvain, G., and Murphy, G.J. (2015). Projection-Specific Characteristics of Retinal Input to the Brain. *J. Neurosci.* 35, 6575–6583.

Gesnik, M. (2017). Imagerie fonctionnelle par ultrasons de la rétine et des fonctions visuelles cérébrales.

Gesnik, M., Blaize, K., Deffieux, T., Gennisson, J.-L., Sahel, J.-A., Fink, M., Picaud, S., and Tanter, M. (2017). 3D functional ultrasound imaging of the cerebral visual system in rodents. *Neuroimage* 149, 267–274.

Ghosh, K.K., Martin, P.R., and Grünert, U. (1997). Morphological analysis of the blue cone pathway in the retina of a New World monkey, the marmoset *Callithrix jacchus*. *J. Comp. Neurol.* 379, 211–225.

Ghosh, K.K., Burns, L.D., Cocker, E.D., Nimmerjahn, A., Ziv, Y., Gamal, A.E., and Schnitzer, M.J. (2011). Miniaturized integration of a fluorescence microscope. *Nat. Methods* 8, 871–878.

Gierthmuehlen, M., Wang, X., Gkogkidis, A., Henle, C., Fischer, J., Fehrenbacher, T., Kohler, F., Raab, M., Mader, I., Kuehn, C., et al. (2014). Mapping of sheep sensory cortex with a novel microelectrocorticography grid. *J. Comp. Neurol.* 522, 3590–3608.

Giolli, R.A. (1963). AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE ACCESSORY OPTIC SYSTEM IN THE CYNOMOLGUS MONKEY. *J. Comp. Neurol.* 121, 89–107.

Godement, P., Salaün, J., and Imbert, M. (1984). Prenatal and postnatal development of retinogeniculate and retinocollicular projections in the mouse. *J. Comp. Neurol.* 230, 552–575.

Grienberger, C., and Konnerth, A. (2012). Imaging Calcium in Neurons. *Neuron* 73, 862–885.

Grinvald, A., Lieke, E., Frostig, R.D., Gilbert, C.D., and Wiesel, T.N. (1986). Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *Nature* 324, 361–364.

Grinvald, A., Frostig, R.D., Siegel, R.M., and Bartfeld, E. (1991). High-resolution optical imaging of functional brain architecture in the awake monkey. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 11559–11563.

Grinvald, A., Lieke, E.E., Frostig, R.D., and Hildesheim, R. (1994). Cortical point-spread function and long-range lateral interactions revealed by real-time optical imaging of macaque monkey primary visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 14, 2545–2568.

- Grinvald A., Manker A., and Segal M. (1982). Visualization of the spread of electrical activity in rat hippocampal slices by voltage-sensitive optical probes. *J. Physiol.* *333*, 269–291.
- Grünert, U., and Martin, P.R. (1991). Rod bipolar cells in the macaque monkey retina: immunoreactivity and connectivity. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *11*, 2742–2758.
- GUILLERY, R.W. (2000). Brodmann's 'Localisation in the Cerebral Cortex.' *J. Anat.* *196*, 493–496.
- Guld, C., and Bertulis, A. (1976). Representation of fovea in the striate cortex of vervet monkey, *Cercopithecus aethiops pygerythrus*. *Vision Res.* *16*, 629–631.
- Hadjikhani, N., Liu, A.K., Dale, A.M., Cavanagh, P., and Tootell, R.B.H. (1998). Retinotopy and color sensitivity in human visual cortical area V8. *Nat. Neurosci.* *1*, 235–241.
- Hajdu, F., Hassler, R., Somogyi, G., and Wagner, A. (1983). Neuronal and synaptic arrangements of the lateral geniculate nucleus in night-active primates. *Anat. Embryol. (Berl.)* *168*, 341–348.
- Hall, C.N., Howarth, C., Kurth-Nelson, Z., and Mishra, A. (2016). Interpreting BOLD: towards a dialogue between cognitive and cellular neuroscience. *Phil Trans R Soc B* *371*, 20150348.
- Hamed, S.B., and Duhamel, J.-R. (2002). Ocular fixation and visual activity in the monkey lateral intraparietal area. *Exp. Brain Res.* *142*, 512–528.
- Hamel, E.J.O., Grewe, B.F., Parker, J.G., and Schnitzer, M.J. (2015). Cellular Level Brain Imaging in Behaving Mammals: An Engineering Approach. *Neuron* *86*, 140–159.
- Harrington, D.O. (1964). *The Visual Fields*.
- Hartline, H.K. (1969). Visual Receptors and Retinal Interaction. *Science* *164*, 270–278.
- Hartline H. (1938). The discharge of impulses in the optic nerve of Pecten in response to illumination of the eye. *J. Cell. Comp. Physiol.* *11*, 465–478.
- Hassler, C., Guy, J., Nietzsche, M., Staiger, J.F., and Stieglitz, T. (2011). Chronic intracortical implantation of saccharose-coated flexible shaft electrodes into the cortex of rats. *Conf. Proc. Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. Annu. Conf. 2011*, 644–647.

- He, B., Dai, Y., Astolfi, L., Babiloni, F., Yuan, H., and Yang, L. (2011). eConnectome: A MATLAB Toolbox for Mapping and Imaging of Brain Functional Connectivity. *J. Neurosci. Methods* 195, 261–269.
- Heider, B., Jandó, G., and Siegel, R.M. (2005). Functional architecture of retinotopy in visual association cortex of behaving monkey. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* 15, 460–478.
- Helmchen, F., and Denk, W. (2005). Deep tissue two-photon microscopy. *Nat. Methods* 2, 932–940.
- Hendrickson, A.E. (1994). Primate foveal development: a microcosm of current questions in neurobiology. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 35, 3129–3133.
- Henriksson, L., Nurminen, L., Hyvärinen, A., and Vanni, S. (2008). Spatial frequency tuning in human retinotopic visual areas. *J. Vis.* 8, 5–5.
- Henriksson, L., Karvonen, J., Salminen-Vaparanta, N., Railo, H., and Vanni, S. (2012). Retinotopic Maps, Spatial Tuning, and Locations of Human Visual Areas in Surface Coordinates Characterized with Multifocal and Blocked fMRI Designs. *PLoS ONE* 7.
- Heywood, C.A., and Cowey, A. (1987). On the role of cortical area V4 in the discrimination of hue and pattern in macaque monkeys. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 7, 2601–2617.
- Hicks, T.P., Lee, B.B., and Vidyasagar, T.R. (1983). The responses of cells in macaque lateral geniculate nucleus to sinusoidal gratings. *J. Physiol.* 337, 183–200.
- Hinds, O.P., Rajendran, N., Polimeni, J.R., Augustinack, J.C., Wiggins, G., Wald, L.L., Diana Rosas, H., Potthast, A., Schwartz, E.L., and Fischl, B. (2008). Accurate prediction of V1 location from cortical folds in a surface coordinate system. *NeuroImage* 39, 1585–1599.
- Hodgkin, A.L., and Huxley, A.F. (1939). Action Potentials Recorded from Inside a Nerve Fibre. *Nature* 144, 710–711.
- Hodgkin, A.L., and Huxley, A.F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* 117, 500–544.
- Holmes, G. (1918). DISTURBANCES OF VISION BY CEREBRAL LESIONS. *Br. J. Ophthalmol.* 2, 353–384.

Hooser, S.D.V., and Nelson, S.B. (2005). Visual System. In ELS, (American Cancer Society), p.

Horton, J.C., and Hocking, D.R. (1996a). Intrinsic Variability of Ocular Dominance Column Periodicity in Normal Macaque Monkeys. *J. Neurosci.* *16*, 7228–7339.

Horton, J.C., and Hocking, D.R. (1996b). Anatomical demonstration of ocular dominance columns in striate cortex of the squirrel monkey. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *16*, 5510–5522.

Horton, J.C., and Hubel, D.H. (1981). Regular patchy distribution of cytochrome oxidase staining in primary visual cortex of macaque monkey. *Nature* *292*, 762–764.

Huang, D., Swanson, E.A., Lin, C.P., Schuman, J.S., Stinson, W.G., Chang, W., Hee, M.R., Flotte, T., Gregory, K., and Puliafito, C.A. (1991). Optical coherence tomography. *Science* *254*, 1178–1181.

Hubel, D.H., and Livingstone, M.S. (1990). Color and contrast sensitivity in the lateral geniculate body and primary visual cortex of the macaque monkey. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *10*, 2223–2237.

Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1959). Receptive fields of single neurones in the cat's striate cortex. *J. Physiol.* *148*, 574–591.

Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1968). Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. *J. Physiol.* *195*, 215–243.

Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1969). Anatomical demonstration of columns in the monkey striate cortex. *Nature* *221*, 747–750.

Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1974). Sequence regularity and geometry of orientation columns in the monkey striate cortex. *J. Comp. Neurol.* *158*, 267–293.

Hubel, D.H., and Wiesel, T.N. (1977). Ferrier lecture - Functional architecture of macaque monkey visual cortex. *Proc R Soc Lond B* *198*, 1–59.

Hubel, D.H., Wiesel, T.N., LeVay, S., Barlow, H.B., and Gaze, R.M. (1977). Plasticity of ocular dominance columns in monkey striate cortex. *Phil Trans R Soc Lond B* *278*, 377–409.

- Huff, T., and Dulebohn, S.C. (2018). Neuroanatomy, Visual Cortex. In StatPearls, (Treasure Island (FL): StatPearls Publishing), p.
- Hung, C.-C., Yen, C.C., Ciuchta, J.L., Papoti, D., Bock, N.A., Leopold, D.A., and Silva, A.C. (2015). Functional MRI of visual responses in the awake, behaving marmoset. *NeuroImage* *120*, 1–11.
- Ii, M.J.B., Brivanlou, I.H., Jordan, T.A., and Meister, M. (1999). Anticipation of moving stimuli by the retina. *Nature* *398*, 334–338.
- Ikezoe, K., Mori, Y., Kitamura, K., Tamura, H., and Fujita, I. (2013). Relationship between the Local Structure of Orientation Map and the Strength of Orientation Tuning of Neurons in Monkey V1: A 2-Photon Calcium Imaging Study. *J. Neurosci.* *33*, 16818–16827.
- Imbault, M., Chauvet, D., Gennisson, J.-L., Capelle, L., and Tanter, M. (2017). Intraoperative Functional Ultrasound Imaging of Human Brain Activity. *Sci. Rep.* *7*.
- Isoda, M., Tsutsui, K.-I., Katsuyama, N., Naganuma, T., Saito, N., Furusawa, Y., Mushiake, H., Taira, M., and Tanji, J. (2005). Design of a head fixation device for experiments in behaving monkeys. *J. Neurosci. Methods* *141*, 277–282.
- Issa, N.P., Trepel, C., and Stryker, M.P. (2000). Spatial Frequency Maps in Cat Visual Cortex. *J. Neurosci.* *20*, 8504–8514.
- Ito, S., and Feldheim, D.A. (2018). The Mouse Superior Colliculus: An Emerging Model for Studying Circuit Formation and Function. *Front. Neural Circuits* *12*.
- Izatt, J.A., Kulkarni, M.D., Kobayashi, K., Sivak, M.V., Barton, J.K., and Welch, A.J. (1997). OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY FOR BIODIAGNOSTICS. *Opt. Photonics News* *8*, 41.
- Jacobs, G.H. (1993). The distribution and nature of colour vision among the mammals. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* *68*, 413–471.
- Jacobs, G.H., Fenwick, J.A., and Williams, G.A. (2001). Cone-based vision of rats for ultraviolet and visible lights. *J. Exp. Biol.* *204*, 2439–2446.

Jatoi, M.A., Kamel, N., Malik, A.S., and Faye, I. (2014). EEG based brain source localization comparison of sLORETA and eLORETA. *Australas. Phys. Eng. Sci. Med.* 37, 713–721.

Jin, W., Zhang, R.-J., and Wu, J. (2002). Voltage-sensitive dye imaging of population neuronal activity in cortical tissue. *J. Neurosci. Methods* 115, 13–27.

Johansson, G. (1964). PERCEPTION OF MOTION AND CHANGING FORM: A study of visual perception from continuous transformations of a solid angle of light at the eye. *Scand. J. Psychol.* 5, 181–208.

Kaas, J.H., Guillery, R.W., and Allman, J.M. (1972). Some principles of organization in the dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain. Behav. Evol.* 6, 253–299.

Kalatsky, V.A., and Stryker, M.P. (2003). New paradigm for optical imaging: temporally encoded maps of intrinsic signal. *Neuron* 38, 529–545.

Kangarlu, A. (2016). High-Field fMRI. In *FMRI Techniques and Protocols*, (Humana Press, New York, NY), pp. 113–136.

Kaplan, E., and Shapley, R.M. (1982). X and Y cells in the lateral geniculate nucleus of macaque monkeys. *J. Physiol.* 330, 125–143.

Kaskan, P.M., Lu, H.D., Dillenburger, B.C., Roe, A.W., and Kaas, J.H. (2007). Intrinsic-Signal Optical Imaging Reveals Cryptic Ocular Dominance Columns in Primary Visual Cortex of New World Owl Monkeys. *Front. Neurosci.* 1, 67–75.

Kim, S.-G., and Ogawa, S. (2012). Biophysical and physiological origins of blood oxygenation level-dependent fMRI signals. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32, 1188–1206.

Kim, D.-S., Duong, T.Q., and Kim, S.-G. (2000). High-resolution mapping of iso-orientation columns by fMRI. *Nat. Neurosci.* 3, 164–169.

Kim, J., Brown, W., Maher, J.R., Levinson, H., and Wax, A. (2015). Functional optical coherence tomography: principles and progress. *Phys. Med. Biol.* 60, R211.

Klaes, C., Shi, Y., Kellis, S., Minxha, J., Revechkis, B., and Andersen, R.A. (2014). A cognitive neuroprosthetic that uses cortical stimulation for somatosensory feedback. *J. Neural Eng.* 11, 056024.

Koehler, C.L., Akimov, N.P., and Rentería, R.C. (2011). Receptive field center size decreases and firing properties mature in ON and OFF retinal ganglion cells after eye opening in the mouse. *J. Neurophysiol.* *106*, 895–904.

Kolb, H. (1970). Organization of the outer plexiform layer of the primate retina: Electron microscopy of Golgi-impregnated Cells. *Phil Trans R Soc Lond B* *258*, 261–283.

Kolb, H., Nelson, R., and Mariani, A. (1981). Amacrine cells, bipolar cells and ganglion cells of the cat retina: a Golgi study. *Vision Res.* *21*, 1081–1114.

Kolster, H., Peeters, R., and Orban, G.A. (2010). The retinotopic organization of the human middle temporal area MT/V5 and its cortical neighbors. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *30*, 9801–9820.

Kondo, S., Yoshida, T., and Ohki, K. (2016). Mixed functional microarchitectures for orientation selectivity in the mouse primary visual cortex. *Nat. Commun.* *7*, 13210.

Kozai, T.D.Y., and Kipke, D.R. (2009). Insertion shuttle with carboxyl terminated self-assembled monolayer coatings for implanting flexible polymer neural probes in the brain. *J. Neurosci. Methods* *184*, 199–205.

Krauzlis, R.J., Lovejoy, L.P., and Zénon, A. (2013). Superior colliculus and visual spatial attention. *Annu. Rev. Neurosci.* *36*, 165–182.

Kuffler, S.W. (1953). Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *J. Neurophysiol.* *16*, 37–68.

Kwong, K.K., Belliveau, J.W., Chesler, D.A., Goldberg, I.E., Weisskoff, R.M., Poncelet, B.P., Kennedy, D.N., Hoppel, B.E., Cohen, M.S., and Turner, R. (1992). Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *89*, 5675–5679.

Landisman, C.E., and Ts'o, D.Y. (2002). Color processing in macaque striate cortex: electrophysiological properties. *J. Neurophysiol.* *87*, 3138–3151.

Lee, B.B., Creutzfeldt, O.D., and Elepfandt, A. (1979). The responses of magno- and parvocellular cells of the monkey's lateral geniculate body to moving stimuli. *Exp. Brain Res.* *35*, 547–557.

- LeVay, S., and Connolly, M. (1985). The complete pattern of ocular dominance stripes in the striate cortex and visual field of the macaque monkey. *J. Neurosci.* 5, 16.
- LeVay, S., Connolly, M., Houde, J., and Essen, D.V. (1985). The complete pattern of ocular dominance stripes in the striate cortex and visual field of the macaque monkey. *J. Neurosci.* 5, 486–501.
- Leventhal, A.G., Thompson, K.G., Liu, D., Zhou, Y., and Ault, S.J. (1995). Concomitant sensitivity to orientation, direction, and color of cells in layers 2, 3, and 4 of monkey striate cortex. *J. Neurosci.* 15, 1808–1818.
- Liang, F., Xiong, X.R., Zingg, B., Ji, X., Zhang, L.I., and Tao, H.W. (2015). Sensory Cortical Control of a Visually Induced Arrest Behavior via Corticotectal Projections. *Neuron* 86, 755–767.
- Liotti, M., Ingham, J.C., Takai, O., Kothmann, D., Perez, R., and Ingham, R.J. (2010). Spatiotemporal dynamics of speech sound perception in chronic developmental stuttering. *Brain Lang.* 115, 141–147.
- Lippert, M.T., Takagaki, K., Xu, W., Huang, X., and Wu, J.-Y. (2007). Methods for Voltage-Sensitive Dye Imaging of Rat Cortical Activity With High Signal-to-Noise Ratio. *J. Neurophysiol.* 98, 502–512.
- Livingstone, M.S., and Hubel, D.H. (1984a). Anatomy and physiology of a color system in the primate visual cortex. *J. Neurosci.* 4, 309–356.
- Livingstone, M.S., and Hubel, D.H. (1984b). Anatomy and physiology of a color system in the primate visual cortex. *J. Neurosci.* 4, 309–356.
- Lu, H.D., and Roe, A.W. (2008). Functional Organization of Color Domains in V1 and V2 of Macaque Monkey Revealed by Optical Imaging. *Cereb. Cortex N. Y. N 1991* 18, 516–533.
- Lu, H.D., Chen, G., Cai, J., and Roe, A.W. (2017). Intrinsic signal optical imaging of visual brain activity: Tracking of fast cortical dynamics. *NeuroImage* 148, 160–168.
- Lucas, R.J., Douglas, R.H., and Foster, R.G. (2001). Characterization of an ocular photopigment capable of driving pupillary constriction in mice. *Nat. Neurosci.* 4, 621–626.

- Lueck, C.J., Zeki, S., Friston, K.J., Deiber, M.-P., Cope, P., Cunningham, V.J., Lammertsma, A.A., Kennard, C., and Frackowiak, R.S.J. (1989). The colour centre in the cerebral cortex of man. *Nature* 340, 386–389.
- Macé, E., Montaldo, G., Cohen, I., Baulac, M., Fink, M., and Tanter, M. (2011). Functional ultrasound imaging of the brain. *Nat. Methods* 8, 662–664.
- Malach, R. (1989). Patterns of connections in rat visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 9, 3741–3752.
- Mansfield, P. (1977). Multi-planar image formation using NMR spin echoes. *J. Phys. C Solid State Phys.* 10, L55.
- Marshel, J.H., Garrett, M.E., Nauhaus, I., and Callaway, E.M. (2011). Functional specialization of seven mouse visual cortical areas. *Neuron* 72, 1040–1054.
- Martin, C., Zheng, Y., Sibson, N.R., Mayhew, J.E.W., and Berwick, J. (2013). Complex spatiotemporal haemodynamic response following sensory stimulation in the awake rat. *NeuroImage* 66, 1–8.
- Masino, S.A., Kwon, M.C., Dory, Y., and Frostig, R.D. (1993). Characterization of functional organization within rat barrel cortex using intrinsic signal optical imaging through a thinned skull. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 9998–10002.
- Masland, R.H. (2001). The fundamental plan of the retina. *Nat. Neurosci.* 4, 877–886.
- May, P.J. (2006). The mammalian superior colliculus: laminar structure and connections. *Prog. Brain Res.* 151, 321–378.
- Mazurek, M., Kager, M., and Van Hooser, S.D. (2014). Robust quantification of orientation selectivity and direction selectivity. *Front. Neural Circuits* 8.
- McKeefry, D.J., Watson, J.D.G., Frackowiak, R.S.J., Fong, K., and Zeki, S. (1997). The Activity in Human Areas V1/V2, V3, and V5 during the Perception of Coherent and Incoherent Motion. *NeuroImage* 5, 1–12.
- Meadows, J.C. (1974). Disturbed perception of colours associated with localized cerebral lesions. *Brain J. Neurol.* 97, 615–632.

- Moeller, S., Yacoub, E., Olman, C.A., Auerbach, E., Strupp, J., Harel, N., and Uğurbil, K. (2010). Multiband multislice GE-EPI at 7 tesla, with 16-fold acceleration using partial parallel imaging with application to high spatial and temporal whole-brain fMRI. *Magn. Reson. Med.* *63*, 1144–1153.
- Montaldo, G., Tanter, M., Bercoff, J., Benech, N., and Fink, M. (2009). Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* *56*, 489–506.
- Moore, R.Y. (1973). Retinohypothalamic projection in mammals: a comparative study. *Brain Res.* *49*, 403–409.
- Mountcastle, V.B., Berman, A., and Davies, P.W. (1955). Topographic organization and modality representation in first somatic area of cat's cerebral cortex by method of single unit analysis. *Am. J. Physiol.* *464*.
- Movshon, J.A., Thompson, I.D., and Tolhurst, D.J. (1978). Spatial and temporal contrast sensitivity of neurones in areas 17 and 18 of the cat's visual cortex. *J. Physiol.* *283*, 101–120.
- Müller, C.P., Pum, M.E., Amato, D., Schüttler, J., Huston, J.P., and Silva, M.A.D.S. (2011). The in vivo neurochemistry of the brain during general anesthesia. *J. Neurochem.* *119*, 419–446.
- Muller, L., Reynaud, A., Chavane, F., and Destexhe, A. (2014). The stimulus-evoked population response in visual cortex of awake monkey is a propagating wave. *Nat. Commun.* *5*, 3675.
- Munoz, D.P., and Wurtz, R.H. (1995). Saccade-related activity in monkey superior colliculus. I. Characteristics of burst and buildup cells. *J. Neurophysiol.* *73*, 2313–2333.
- Murakami, T., Yoshida, T., Matsui, T., and Ohki, K. (2015). Wide-field Ca²⁺ imaging reveals visually evoked activity in the retrosplenial area. *Front. Mol. Neurosci.* *8*.
- Murphy, K.M., Jones, D.G., and Van Sluyters, R.C. (1995). Cytochrome-oxidase blobs in cat primary visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *15*, 4196–4208.

- Nakanishi, Y., Yanagisawa, T., Shin, D., Kambara, H., Yoshimura, N., Tanaka, M., Fukuma, R., Kishima, H., Hirata, M., and Koike, Y. (2017). Mapping ECoG channel contributions to trajectory and muscle activity prediction in human sensorimotor cortex. *Sci. Rep.* 7.
- Narayan, S.M., Santori, E.M., and Toga, A.W. (1994). Mapping functional activity in rodent cortex using optical intrinsic signals. *Cereb. Cortex N. Y. N* 1991 4, 195–204.
- Nassi, J.J., and Callaway, E.M. (2009). Parallel processing strategies of the primate visual system. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 360–372.
- Nauhaus, I., Nielsen, K.J., Disney, A.A., and Callaway, E.M. (2012). Orthogonal micro-organization of orientation and spatial frequency in primate primary visual cortex. *Nat. Neurosci.* 15, 1683–1690.
- Nauhaus, I., Nielsen, K.J., and Callaway, E.M. (2016). Efficient Receptive Field Tiling in Primate V1. *Neuron* 91, 893–904.
- Nawy, S., and Jahr, C.E. (1990). Suppression by glutamate of cGMP-activated conductance in retinal bipolar cells. *Nature* 346, 269–271.
- Nawy, S., and Jahr, C.E. (1991). cGMP-gated conductance in retinal bipolar cells is suppressed by the photoreceptor transmitter. *Neuron* 7, 677–683.
- Neher, E., and Sakaba, T. (2008). Multiple Roles of Calcium Ions in the Regulation of Neurotransmitter Release. *Neuron* 59, 861–872.
- Neveu, M.M., and Jeffery, G. (2007). Chiasm formation in man is fundamentally different from that in the mouse. *Eye Lond. Engl.* 21, 1264–1270.
- Normann, R.A. (2007). Technology insight: future neuroprosthetic therapies for disorders of the nervous system. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* 3, 444–452.
- Normann, R.A., Maynard, E.M., Rousche, P.J., and Warren, D.J. (1999). A neural interface for a cortical vision prosthesis. *Vision Res.* 39, 2577–2587.
- Ogawa, S., and Lee, T.M. (1990). Magnetic resonance imaging of blood vessels at high fields: in vivo and in vitro measurements and image simulation. *Magn. Reson. Med.* 16, 9–18.

Ogawa, S., Lee, T.M., Kay, A.R., and Tank, D.W. (1990). Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87, 9868–9872.

Ogawa, S., Tank, D.W., Menon, R., Ellermann, J.M., Kim, S.G., Merkle, H., and Ugurbil, K. (1992). Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89, 5951–5955.

Oheim, M., Beaurepaire, E., Chaigneau, E., Mertz, J., and Charpak, S. (2001). Two-photon microscopy in brain tissue: parameters influencing the imaging depth. *J. Neurosci. Methods* 111, 29–37.

Ohki, K., Chung, S., Ch'ng, Y.H., Kara, P., and Reid, R.C. (2005). Functional imaging with cellular resolution reveals precise micro-architecture in visual cortex. *Nature* 433, 597–603.

Ohki, K., Chung, S., Kara, P., Hübener, M., Bonhoeffer, T., and Reid, R.C. (2006). Highly ordered arrangement of single neurons in orientation pinwheels. *Nature* 442, 925–928.

Orbach, H.S., and Cohen, L.B. (1983). Optical monitoring of activity from many areas of the in vitro and in vivo salamander olfactory bulb: a new method for studying functional organization in the vertebrate central nervous system. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 3, 2251–2262.

Orban, G.A. (2008). Higher Order Visual Processing in Macaque Extrastriate Cortex. *Physiol. Rev.* 88, 59–89.

Osmanski, B.F., Martin, C., Montaldo, G., Lanièce, P., Pain, F., Tanter, M., and Gurden, H. (2014a). Functional ultrasound imaging reveals different odor-evoked patterns of vascular activity in the main olfactory bulb and the anterior piriform cortex. *NeuroImage* 95, 176–184.

Osmanski, B.-F., Pezet, S., Ricobaraza, A., Lenkei, Z., and Tanter, M. (2014b). Functional ultrasound imaging of intrinsic connectivity in the living rat brain with high spatiotemporal resolution. *Nat. Commun.* 5.

Packer, O., Hendrickson, A.E., and Curcio, C.A. (1989). Photoreceptor topography of the retina in the adult pigtail macaque (*Macaca nemestrina*). *J. Comp. Neurol.* 288, 165–183.

Pallier, C., Devauchelle, A.-D., and Dehaene, S. (2011). Cortical representation of the constituent structure of sentences. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 2522–2527.

- Pauling, L., and Coryell, C.D. (1936). The Magnetic Properties and Structure of Hemoglobin, Oxyhemoglobin and Carbonmonoxyhemoglobin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 22, 210–216.
- Perry, V.H., and Cowey, A. (1984). Retinal ganglion cells that project to the superior colliculus and pretectum in the macaque monkey. *Neuroscience* 12, 1125–1137.
- Perry, V.H., Oehler, R., and Cowey, A. (1984). Retinal ganglion cells that project to the dorsal lateral geniculate nucleus in the macaque monkey. *Neuroscience* 12, 1101–1123.
- Petros, T.J., Rebsam, A., and Mason, C.A. (2008). Retinal axon growth at the optic chiasm: to cross or not to cross. *Annu. Rev. Neurosci.* 31, 295–315.
- Petruno, S.K., Clark, R.E., and Reinagel, P. (2013). Evidence That Primary Visual Cortex Is Required for Image, Orientation, and Motion Discrimination by Rats. *PLoS ONE* 8.
- Pham, M., Helluy, X., Kleinschnitz, C., Kraft, P., Bartsch, A.J., Jakob, P., Nieswandt, B., Bendszus, M., and Stoll, G. (2011). Sustained Reperfusion after Blockade of Glycoprotein-Receptor-Ib in Focal Cerebral Ischemia: An MRI Study at 17.6 Tesla. *PLoS ONE* 6.
- Phillips, A.A., Chan, F.H., Zheng, M.M.Z., Krassioukov, A.V., and Ainslie, P.N. (2016). Neurovascular coupling in humans: Physiology, methodological advances and clinical implications. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* 36, 647–664.
- Pisauro, M.A., Dhruv, N.T., Carandini, M., and Benucci, A. (2013). Fast hemodynamic responses in the visual cortex of the awake mouse. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 18343–18351.
- Piscopo, D.M., El-Danaf, R.N., Huberman, A.D., and Niell, C.M. (2013). Diverse visual features encoded in mouse lateral geniculate nucleus. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 4642–4656.
- Polyak, S. (1953). Santiago Ramón y Cajal and his investigation of the nervous system. *J. Comp. Neurol.* 98, 3–8.
- Polyak, S. (1957). *The Vertebrate Visual System* (University of Chicago Press).

- Prévoost, F., Lepore, F., and Guillemot, J.-P. (2007). Spatio-temporal receptive field properties of cells in the rat superior colliculus. *Brain Res.* *1142*, 80–91.
- Priebe, N.J., and McGee, A.W. (2014). Mouse vision as a gateway for understanding how experience shapes neural circuits. *Front. Neural Circuits* *8*.
- Provis, J.M., Dubis, A.M., Maddess, T., and Carroll, J. (2013). Adaptation of the Central Retina for High Acuity Vision: Cones, the Fovea and the Avascular Zone. *Prog. Retin. Eye Res.* *35*, 63–81.
- Provost, J., Papadacci, C., Arango, J.E., Imbault, M., Gennisson, J.-L., Tanter, M., and Pernot, M. (2014). 3D Ultrafast Ultrasound Imaging In Vivo. *Phys. Med. Biol.* *59*, L1–L13.
- Provost, J., Papadacci, C., Demene, C., Gennisson, J.-L., Tanter, M., and Pernot, M. (2015). 3-D Ultrafast Doppler Imaging Applied to the Noninvasive and Quantitative Imaging of Blood Vessels in Vivo. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* *62*, 1467–1472.
- Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Katz, L.C., LaMantia, A.-S., McNamara, J.O., and Williams, S.M. (2001). The Retinotopic Representation of the Visual Field.
- Quibell, R., Fallon, M., Mihalyo, M., Twycross, R., and Wilcock, A. (2015). Ketamine*. *J. Pain Symptom Manage.* *50*, 268–278.
- Reid, R.C., and Shapley, R.M. (2002). Space and time maps of cone photoreceptor signals in macaque lateral geniculate nucleus. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *22*, 6158–6175.
- Reid, S.N., and Juraska, J.M. (1991). The cytoarchitectonic boundaries of the monocular and binocular areas of the rat primary visual cortex. *Brain Res.* *563*, 293–296.
- Reynaud, A., Takerkart, S., Masson, G.S., and Chavane, F. (2011). Linear model decomposition for voltage-sensitive dye imaging signals: Application in awake behaving monkey. *NeuroImage* *54*, 1196–1210.
- Ribot, J., Aushana, Y., Bui-Quoc, E., and Milleret, C. (2013). Organization and Origin of Spatial Frequency Maps in Cat Visual Cortex. *J. Neurosci.* *33*, 13326–13343.
- Ridder, D.D., Manning, P., Leong, S.L., Ross, S., Sutherland, W., Horwath, C., and Vanneste, S. (2016). The brain, obesity and addiction: an EEG neuroimaging study. *Sci. Rep.* *6*, 34122.

- Robinson, D.A. (1972). Eye movements evoked by collicular stimulation in the alert monkey. *Vision Res.* *12*, 1795–1808.
- Roemer, R.A., Cornwell, A., Dewart, D., Jackson, P., and Ercegovac, D.V. (1995). Quantitative electroencephalographic analyses in cocaine-preferring polysubstance abusers during abstinence. *Psychiatry Res.* *58*, 247–257.
- Roland, P.E., Hanazawa, A., Undeman, C., Eriksson, D., Tompa, T., Nakamura, H., Valentiniene, S., and Ahmed, B. (2006). Cortical feedback depolarization waves: a mechanism of top-down influence on early visual areas. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *103*, 12586–12591.
- Roome, C.J., and Kuhn, B. (2014). Chronic cranial window with access port for repeated cellular manipulations, drug application, and electrophysiology. *Front. Cell. Neurosci.* *8*.
- Ross, W.N., and Werman, R. (1987). Mapping calcium transients in the dendrites of Purkinje cells from the guinea-pig cerebellum in vitro. *J. Physiol.* *389*, 319–336.
- Rousche, P.J., and Normann, R.A. (1992). A method for pneumatically inserting an array of penetrating electrodes into cortical tissue. *Ann. Biomed. Eng.* *20*, 413–422.
- Rousche, P.J., Pellinen, D.S., Pivin, D.P., Williams, J.C., Vetter, R.J., and Kipke, D.R. (2001). Flexible polyimide-based intracortical electrode arrays with bioactive capability. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* *48*, 361–371.
- Rubin, J.M., Bude, R.O., Carson, P.L., Bree, R.L., and Adler, R.S. (1994). Power Doppler US: a potentially useful alternative to mean frequency-based color Doppler US. *Radiology* *190*, 853–856.
- Rungta, R.L., Osmanski, B.-F., Boido, D., Tanter, M., and Charpak, S. (2017). Light controls cerebral blood flow in naive animals. *Nat. Commun.* *8*.
- Saleem, K.S., and Logothetis, N.K. (2012). *A Combined MRI and Histology Atlas of the Rhesus Monkey Brain in Stereotaxic Coordinates* (Academic Press).
- Salzmann, M.F.V., Bartels, A., Logothetis, N.K., and Schüz, A. (2012). Color Blobs in Cortical Areas V1 and V2 of the New World Monkey *Callithrix jacchus*, Revealed by Non-Differential Optical Imaging. *J. Neurosci.* *32*, 7881–7894.

- Sandrin, L., Catheline, S., Tanter, M., Hennequin, X., and Fink, M. (1999). Time-resolved pulsed elastography with ultrafast ultrasonic imaging. *Ultrason. Imaging* 21, 259–272.
- Schiller, P.H., and Malpeli, J.G. (1978). Functional specificity of lateral geniculate nucleus laminae of the rhesus monkey. *J. Neurophysiol.* 41, 788–797.
- Schiller, P.H., Logothetis, N.K., and Charles, E.R. (1990). Functions of the colour-opponent and broad-band channels of the visual system. *Nature* 343, 68–70.
- Schneider, K.A., Richter, M.C., and Kastner, S. (2004). Retinotopic Organization and Functional Subdivisions of the Human Lateral Geniculate Nucleus: A High-Resolution Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *J. Neurosci.* 24, 8975–8985.
- Schuett, S., Bonhoeffer, T., and Hübener, M. (2002). Mapping retinotopic structure in mouse visual cortex with optical imaging. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 22, 6549–6559.
- Scott, N.A. (2015). Cortical specificity in neurovascular coupling. *J. Neurophysiol.* 114, 3031–3032.
- Scremin, O.U. (2012). Chapter 39 - Cerebral Vascular System. In *The Human Nervous System (Third Edition)*, J.K. Mai, and G. Paxinos, eds. (San Diego: Academic Press), pp. 1351–1374.
- Sefton, A.J., Dreher, B., and Lim, W.L. (1991). Interactions between callosal, thalamic and associational projections to the visual cortex of the developing rat. *Exp. Brain Res.* 84, 142–158.
- Segal, S.S. (2000). Integration of blood flow control to skeletal muscle: key role of feed arteries. *Acta Physiol. Scand.* 168, 511–518.
- Seidemann, E., Arieli, A., Grinvald, A., and Slovin, H. (2002). Dynamics of Depolarization and Hyperpolarization in the Frontal Cortex and Saccade Goal. *Science* 295, 862–865.
- Seligman, A.M., Karnovsky, M.J., Wasserkrug, H.L., and Hanker, J.S. (1968). Nondroplet Ultrastructural Demonstration of Cytochrome Oxidase Activity with a Polymerizing Osmiophilic Reagent, Diaminobenzidine (dab). *J. Cell Biol.* 38, 1–14.
- Seymour, J.P., and Kipke, D.R. (2007). Neural probe design for reduced tissue encapsulation in CNS. *Biomaterials* 28, 3594–3607.

Shang, C., Liu, Z., Chen, Z., Shi, Y., Wang, Q., Liu, S., Li, D., and Cao, P. (2015). BRAIN CIRCUITS. A parvalbumin-positive excitatory visual pathway to trigger fear responses in mice. *Science* 348, 1472–1477.

Shapley, R. (1990). Visual sensitivity and parallel retinocortical channels. *Annu. Rev. Psychol.* 41, 635–658.

Shen, K., Valero, J., Day, G.S., and Paré, M. (2011). Investigating the role of the superior colliculus in active vision with the visual search paradigm. *Eur. J. Neurosci.* 33, 2003–2016.

Sherrington, C.S. (1920). *The integrative action of the nervous system* (New Haven Yale University Press).

Shmuel, A., Augath, M., Oeltermann, A., and Logothetis, N.K. (2006). Negative functional MRI response correlates with decreases in neuronal activity in monkey visual area V1. *Nat. Neurosci.* 9, 569–577.

Shmuel, A., Chaimow, D., Raddatz, G., Ugurbil, K., and Yacoub, E. (2010). Mechanisms underlying decoding at 7 T: Ocular dominance columns, broad structures, and macroscopic blood vessels in V1 convey information on the stimulated eye. *NeuroImage* 49, 1957–1964.

Shoham, D., Glaser, D.E., Arieli, A., Kenet, T., Wijnbergen, C., Toledo, Y., Hildesheim, R., and Grinvald, A. (1999). Imaging cortical dynamics at high spatial and temporal resolution with novel blue voltage-sensitive dyes. *Neuron* 24, 791–802.

Sieu, L.-A., Bergel, A., Tiran, E., Deffieux, T., Pernot, M., Gennisson, J.-L., Tanter, M., and Cohen, I. (2015). EEG and functional ultrasound imaging in mobile rats. *Nat. Methods* 12, 831–834.

Silasi, G., Xiao, D., Vanni, M.P., Chen, A.C.N., and Murphy, T.H. (2016). Intact skull chronic windows for mesoscopic wide-field imaging in awake mice. *J. Neurosci. Methods* 267, 141–149.

Sirovich, L., and Uglesich, R. (2004). The organization of orientation and spatial frequency in primary visual cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 16941–16946.

Slovin, H., Arieli, A., Hildesheim, R., and Grinvald, A. (2002). Long-term voltage-sensitive dye imaging reveals cortical dynamics in behaving monkeys. *J. Neurophysiol.* 88, 3421–3438.

- Smith, I.T., Townsend, L.B., Huh, R., Zhu, H., and Smith, S.L. (2017). Stream-dependent development of higher visual cortical areas. *Nat. Neurosci.* *20*, 200–208.
- Smith, R.G., Freed, M.A., and Sterling, P. (1986). Microcircuitry of the dark-adapted cat retina: functional architecture of the rod-cone network. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *6*, 3505–3517.
- Snowden, R.J., Treue, S., and Andersen, R.A. (1992). The response of neurons in areas V1 and MT of the alert rhesus monkey to moving random dot patterns. *Exp. Brain Res.* *88*, 389–400.
- Sohya, K., Kameyama, K., Yanagawa, Y., Obata, K., and Tsumoto, T. (2007). GABAergic neurons are less selective to stimulus orientation than excitatory neurons in layer II/III of visual cortex, as revealed by in vivo functional Ca²⁺ imaging in transgenic mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *27*, 2145–2149.
- Sparks, D.L., Lee, C., and Rohrer, W.H. (1990). Population coding of the direction, amplitude, and velocity of saccadic eye movements by neurons in the superior colliculus. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* *55*, 805–811.
- Spatz, W.B. (1979). The retino-geniculo-cortical pathway in *Callithrix*. II. The geniculo-cortical projection. *Exp. Brain Res.* *36*, 401–410.
- Srinivasan, V.J., Sakadžić, S., Gorczynska, I., Ruvinskaya, S., Wu, W., Fujimoto, J.G., and Boas, D.A. (2010). Quantitative cerebral blood flow with Optical Coherence Tomography. *Opt. Express* *18*, 2477–2494.
- Stensaas, S.S., Eddington, D.K., and Dobelle, W.H. (1974). The topography and variability of the primary visual cortex in man. *J. Neurosurg.* *40*, 747–755.
- Stosiek, C., Garaschuk, O., Holthoff, K., and Konnerth, A. (2003). In vivo two-photon calcium imaging of neuronal networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *100*, 7319–7324.
- Strettoi Enrica, Dacheux Ramon F., and Raviola Elio (2004). Synaptic connections of rod bipolar cells in the inner plexiform layer of the rabbit retina. *J. Comp. Neurol.* *295*, 449–466.
- Stryker, M.P., and Schiller, P.H. (1975). Eye and head movements evoked by electrical stimulation of monkey superior colliculus. *Exp. Brain Res.* *23*, 103–112.

- Svoboda, K., and Yasuda, R. (2006). Principles of two-photon excitation microscopy and its applications to neuroscience. *Neuron* *50*, 823–839.
- Szél, A., and Röhlich, P. (1992). Two cone types of rat retina detected by anti-visual pigment antibodies. *Exp. Eye Res.* *55*, 47–52.
- Taghon, T.A., Masunga, A.N., Small, R.H., and Kashou, N.H. (2015). A comparison of functional magnetic resonance imaging findings in children with and without a history of early exposure to general anesthesia. *Paediatr. Anaesth.* *25*, 239–246.
- Takahara, Y., Matsuki, N., and Ikegaya, Y. (2011). Nipkow confocal imaging from deep brain tissues. *J. Integr. Neurosci.* *10*, 121–129.
- Takahata, T., Higo, N., Kaas, J.H., and Yamamori, T. (2009). Expression of immediate-early genes reveals functional compartments within ocular dominance columns after brief monocular inactivation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *106*, 12151–12155.
- Talbot, S.A., and Marshall, W.H. (1941). Physiological Studies on Neural Mechanisms of Visual Localization and Discrimination*. *Am. J. Ophthalmol.* *24*, 1255–1264.
- Tanter, M., and Fink, M. (2014). Ultrafast imaging in biomedical ultrasound. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* *61*, 102–119.
- Tanter, M., Bercoff, J., Sandrin, L., and Fink, M. (2002). Ultrafast compound imaging for 2-D motion vector estimation: application to transient elastography. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* *49*, 1363–1374.
- Tasaki, I., Watanabe, A., Sandlin, R., and Carnay, L. (1968). Changes in fluorescence, turbidity, and birefringence associated with nerve excitation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* *61*, 883–888.
- Taub, A.H., Katz, Y., and Lampl, I. (2013). Cortical balance of excitation and inhibition is regulated by the rate of synaptic activity. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *33*, 14359–14368.
- Tiran, E., Ferrier, J., Deffieux, T., Gennisson, J.-L., Pezet, S., Lenkei, Z., and Tanter, M. (2017). Transcranial Functional Ultrasound Imaging in Freely Moving Awake Mice and Anesthetized Young Rats without Contrast Agent. *Ultrasound Med. Biol.* *43*, 1679–1689.

- Tootell, R.B., Silverman, M.S., Switkes, E., and Valois, R.D. (1982). Deoxyglucose analysis of retinotopic organization in primate striate cortex. *Science* 218, 902–904.
- Tootell, R.B., Switkes, E., Silverman, M.S., and Hamilton, S.L. (1988a). Functional anatomy of macaque striate cortex. II. Retinotopic organization. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 8, 1531–1568.
- Tootell, R.B., Mendola, J.D., Hadjikhani, N.K., Ledden, P.J., Liu, A.K., Reppas, J.B., Sereno, M.I., and Dale, A.M. (1997). Functional analysis of V3A and related areas in human visual cortex. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 17, 7060–7078.
- Tootell, R.B., Hadjikhani, N.K., Vanduffel, W., Liu, A.K., Mendola, J.D., Sereno, M.I., and Dale, A.M. (1998). Functional analysis of primary visual cortex (V1) in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 811–817.
- Tootell, R.B.H., Hamilton, S.L., Silverman, M.S., and Switkes, E. (1988b). Functional Anatomy of Macaque Striate Cortex. I. Ocular Dominance, Binocular Interactions, and Baseline Conditions. *J. Neurosci.* 31.
- Tran, T.A., Spencer, S.S., Javidan, M., Pacia, S., Marks, D., and Spencer, D.D. (1997). Significance of spikes recorded on intraoperative electrocorticography in patients with brain tumor and epilepsy. *Epilepsia* 38, 1132–1139.
- Triplett, J.W., Owens, M.T., Yamada, J., Lemke, G., Cang, J., Stryker, M.P., and Feldheim, D.A. (2009). Retinal input instructs alignment of visual topographic maps. *Cell* 139, 175–185.
- Triplett, J.W., Phan, A., Yamada, J., and Feldheim, D.A. (2012). Alignment of multimodal sensory input in the superior colliculus through a gradient-matching mechanism. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 32, 5264–5271.
- Tudor, M., Tudor, L., and Tudor, K.I. (2005). [Hans Berger (1873-1941)--the history of electroencephalography]. *Acta Medica Croat. Cas. Hrvatske Akad. Med. Znan.* 59, 307–313.
- Turner, R. (2016). Uses, misuses, new uses and fundamental limitations of magnetic resonance imaging in cognitive science. *Phil Trans R Soc B* 371, 20150349.
- Uhlirova, H., Kılıç, K., Tian, P., Sakadžić, S., Gagnon, L., Thunemann, M., Desjardins, M., Saisan, P.A., Nizar, K., Yaseen, M.A., et al. (2016). The roadmap for estimation of cell-type-

specific neuronal activity from non-invasive measurements. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* *371*.

Urban, A., Mace, E., Brunner, C., Heidmann, M., Rossier, J., and Montaldo, G. (2014). Chronic assessment of cerebral hemodynamics during rat forepaw electrical stimulation using functional ultrasound imaging. *NeuroImage* *101*, 138–149.

Urban, A., Dussaux, C., Martel, G., Brunner, C., Mace, E., and Montaldo, G. (2015). Real-time imaging of brain activity in freely moving rats using functional ultrasound. *Nat. Methods* *12*, 873–878.

Valero-Cabre, A., Wattiez, N., Monfort, M., François, C., Rivaud-Péchoix, S., Gaymard, B., and Pouget, P. (2012). Frontal Non-Invasive Neurostimulation Modulates Antisaccade Preparation in Non-Human Primates. *PLOS ONE* *7*, e38674.

Van Essen, D.C., Maunsell, J.H., and Bixby, J.L. (1981). The middle temporal visual area in the macaque: myeloarchitecture, connections, functional properties and topographic organization. *J. Comp. Neurol.* *199*, 293–326.

Van Essen, D.C., Newsome, W.T., and Maunsell, J.H. (1984a). The visual field representation in striate cortex of the macaque monkey: asymmetries, anisotropies, and individual variability. *Vision Res.* *24*, 429–448.

Van Essen, D.C., Newsome, W.T., and Maunsell, J.H. (1984b). The visual field representation in striate cortex of the macaque monkey: asymmetries, anisotropies, and individual variability. *Vision Res.* *24*, 429–448.

Van Essen, D.C., Lewis, J.W., Drury, H.A., Hadjikhani, N., Tootell, R.B.H., Bakircioglu, M., and Miller, M.I. (2001). Mapping visual cortex in monkeys and humans using surface-based atlases. *Vision Res.* *41*, 1359–1378.

Vanduffel, W., Fize, D., Mandeville, J.B., Nelissen, K., Van Hecke, P., Rosen, B.R., Tootell, R.B., and Orban, G.A. (2001). Visual motion processing investigated using contrast agent-enhanced fMRI in awake behaving monkeys. *Neuron* *32*, 565–577.

Vanzetta, I., and Grinvald, A. (2008). Coupling between neuronal activity and microcirculation: implications for functional brain imaging. *HFSP J.* *2*, 79–98.

- Veleri, S., Lazar, C.H., Chang, B., Sieving, P.A., Banin, E., and Swaroop, A. (2015). Biology and therapy of inherited retinal degenerative disease: insights from mouse models. *Dis. Model. Mech.* 8, 109–129.
- Vidyasagar, T.R., and Urbas, J.V. (1982). Orientation sensitivity of cat LGN neurones with and without inputs from visual cortical areas 17 and 18. *Exp. Brain Res.* 46, 157–169.
- Viventi, J., Kim, D.-H., Vigeland, L., Frechette, E.S., Blanco, J.A., Kim, Y.-S., Avrin, A.E., Tiruvadi, V.R., Hwang, S.-W., Vanleer, A.C., et al. (2011). Flexible, Foldable, Actively Multiplexed, High-Density Electrode Array for Mapping Brain Activity in vivo. *Nat. Neurosci.* 14, 1599–1605.
- Waite, R.L., Oscar-Berman, M., RBraverman, E., Barh, D., and Blum, K. (2014). Quantitative Electroencephalography Analysis (qEEG) of Neuro-Electro- Adaptive Therapy 12™ [NEAT12] Up-Regulates Cortical Potentials in an Alcoholic during Protracted Abstinence: Putative Anti-Craving Implications. *J. Addict. Res. Ther.* 5, 1–7.
- Wakabayashi, M., Koketsu, D., Kondo, H., Sato, S., Ohara, K., Polyakova, Z., Chiken, S., Hatanaka, N., and Nambu, A. (2018). Development of stereotaxic recording system for awake marmosets (*Callithrix jacchus*). *Neurosci. Res.*
- Wandell, B.A., Dumoulin, S.O., and Brewer, A.A. (2007). Visual Field Maps in Human Cortex. *Neuron* 56, 366–383.
- Wang, Q., and Burkhalter, A. (2007). Area map of mouse visual cortex. *J. Comp. Neurol.* 502, 339–357.
- Warnking, J., Dojat, M., Guérin-Dugué, A., Delon-Martin, C., Olympieff, S., Richard, N., Chéhikian, A., and Segebarth, C. (2002). fMRI retinotopic mapping--step by step. *NeuroImage* 17, 1665–1683.
- Wässle, H. (2004). Parallel processing in the mammalian retina. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 747–757.
- Watson, J.D., Myers, R., Frackowiak, R.S., Hajnal, J.V., Woods, R.P., Mazziotta, J.C., Shipp, S., and Zeki, S. (1993). Area V5 of the human brain: evidence from a combined study using

positron emission tomography and magnetic resonance imaging. *Cereb. Cortex* N. Y. N 1991 *3*, 79–94.

Wattiez, N., Constans, C., Deffieux, T., Daye, P.M., Tanter, M., Aubry, J.-F., and Pouget, P. (2017). Transcranial ultrasonic stimulation modulates single-neuron discharge in macaques performing an antisaccade task. *Brain Stimulat.* *10*, 1024–1031.

Wei, P., Liu, N., Zhang, Z., Liu, X., Tang, Y., He, X., Wu, B., Zhou, Z., Liu, Y., Li, J., et al. (2015). Processing of visually evoked innate fear by a non-canonical thalamic pathway. *Nat. Commun.* *6*, 6756.

Weiskrantz, L., and S, F.R. (1990). The Ferrier Lecture, 1989 - Outlooks for blindsight: explicit methodologies for implicit processes. *Proc R Soc Lond B* *239*, 247–278.

Welsh, D.G., and Ledoux, J. (2015). Feed the Brain: Insights into the Study of Neurovascular Coupling. *Microcirculation* *22*, 157–158.

Welsh, D.G., and Segal, S.S. (1998). Endothelial and smooth muscle cell conduction in arterioles controlling blood flow. *Am. J. Physiol.* *274*, H178-186.

Wertz, A., Trenholm, S., Yonehara, K., Hillier, D., Raics, Z., Leinweber, M., Szalay, G., Ghanem, A., Keller, G., Rózsa, B., et al. (2015). PRESYNAPTIC NETWORKS. Single-cell-initiated monosynaptic tracing reveals layer-specific cortical network modules. *Science* *349*, 70–74.

Wiesel, T.N., and Hubel, D.H. (1966). Spatial and chromatic interactions in the lateral geniculate body of the rhesus monkey. *J. Neurophysiol.* *29*, 1115–1156.

Wiesel, T.N., Hubel, D.H., and Lam, D.M.K. (1974). Autoradiographic demonstration of ocular-dominance columns in the monkey striate cortex by means of transneuronal transport. *Brain Res.* *79*, 273–279.

Wong-Riley, M. (1979). Changes in the visual system of monocularly sutured or enucleated cats demonstrable with cytochrome oxidase histochemistry. *Brain Res.* *171*, 11–28.

Wu, S.M., Gao, F., and Maple, B.R. (2000). Functional architecture of synapses in the inner retina: segregation of visual signals by stratification of bipolar cell axon terminals. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* *20*, 4462–4470.

- Xu, X., Boyd, J., Gallucci, M., Thomas, A., Emeric, E., Barahimi, B., Stefansic, J., Shima, D., Melzer, P., Allison, J., et al. (2003). Spatial frequency preference maps of primate visual cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *J. Vis.* 3, 107–107.
- Yacoub, E., Shmuel, A., Logothetis, N., and Uğurbil, K. (2007). Robust detection of ocular dominance columns in humans using Hahn Spin Echo BOLD functional MRI at 7 Tesla. *NeuroImage* 37, 1161–1177.
- Yacoub, E., Harel, N., and Ugurbil, K. (2008). High-field fMRI unveils orientation columns in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 10607–10612.
- Yaksi, E., von Saint Paul, F., Niessing, J., Bundschuh, S.T., and Friedrich, R.W. (2009). Transformation of odor representations in target areas of the olfactory bulb. *Nat. Neurosci.* 12, 474–482.
- Yang, T., Hakimian, S., and Schwartz, T.H. (2014). Intraoperative ElectroCorticoGraphy (ECog): indications, techniques, and utility in epilepsy surgery. *Epileptic Disord. Int. Epilepsy J. Videotape* 16, 271–279.
- Yang, Z., Heeger, D.J., and Seidemann, E. (2007). Rapid and precise retinotopic mapping of the visual cortex obtained by voltage-sensitive dye imaging in the behaving monkey. *J. Neurophysiol.* 98, 1002–1014.
- Yokoyama, S., and Radlwimmer, F.B. (2001). The molecular genetics and evolution of red and green color vision in vertebrates. *Genetics* 158, 1697–1710.
- You, J., Du, C., Volkow, N.D., and Pan, Y. (2014). Optical coherence Doppler tomography for quantitative cerebral blood flow imaging. *Biomed. Opt. Express* 5, 3217–3230.
- Yue, X., Nasr, S., Devaney, K.J., Holt, D.J., and Tootell, R.B.H. (2013). FMRI analysis of contrast polarity processing in face-selective cortex in humans and monkeys. *NeuroImage* 76, 57–69.
- Zeki, S. (2003). Improbable areas in the visual brain. *Trends Neurosci.* 26, 23–26.
- Zeki, S.M. (1978a). Functional specialisation in the visual cortex of the rhesus monkey. *Nature* 274, 423–428.

- Zeki, S.M. (1978b). Uniformity and diversity of structure and function in rhesus monkey prestriate visual cortex. *J. Physiol.* 277, 273–290.
- Zhuang, J., Ng, L., Williams, D., Valley, M., Li, Y., Garrett, M., and Waters, J. (2017). An extended retinotopic map of mouse cortex. *ELife* 6, e18372.
- Zilles, K., Wree, A., Schleicher, A., and Divac, I. (1984). The monocular and binocular subfields of the rat's primary visual cortex: A quantitative morphological approach. *J. Comp. Neurol.* 226, 391–402.
- Zingg, B., Chou, X.-L., Zhang, Z.-G., Mesik, L., Liang, F., Tao, H.W., and Zhang, L.I. (2017). AAV-Mediated Anterograde Transsynaptic Tagging: Mapping Corticocollicular Input-Defined Neural Pathways for Defense Behaviors. *Neuron* 93, 33–47.
- Zwanenburg, J.J.M., Versluis, M.J., Luijten, P.R., and Petridou, N. (2011). Fast high resolution whole brain T2* weighted imaging using echo planar imaging at 7T. *NeuroImage* 56, 1902–1907.

Table des figures

<i>Figure 1 : Représentation de l'activité électrique enregistrée par EEG lors d'une stimulation auditive, selon deux groupes différents (Contrôle ou Bègues). Chaque point noir représente la position d'une électrode d'enregistrement.</i>	<i>8</i>
<i>Figure 2 : Cartographie par ECoG du potentiel cortical de surface en amont d'une crise d'épilepsie permettant de localiser la source des crises.</i>	<i>9</i>
<i>Figure 3: Microscopie électronique d'une grille Utah comprenant 100 électrodes.</i>	<i>10</i>
<i>Figure 4: La grille d'électrodes (10x10) est représentée à gauche. La couleur attribuée à chaque électrode détermine si celle-ci enregistre l'activité d'un neurone spécifique au toucher d'un doigt ou de la paume de la main (représentation de la main à droite) ou non (en gris).</i>	<i>11</i>
<i>Figure 5: L'évolution de l'activité du cortex sensoriel mesurée par VSDi chez le rat lors de la stimulation d'une vibrisse. 10 répétitions sont présentées (lignes), puis la moyenne de ces dix signaux (Total). Des régions d'activations au cours du temps peuvent ensuite être définies par seuillage (en bas).</i>	<i>13</i>
<i>Figure 6: L'imagerie calcique dans le cortex visuel de souris avec GCaMP6S permet de distinguer des réponses préférentielles selon l'orientation de la stimulation visuelle au niveau cellulaire.</i>	<i>14</i>
<i>Figure 7: Cartographie fonctionnelle de 9 vibrisses B1/B2/B3/C1/C2/C3/D1/D2/D3 stimulées par imagerie optique intrinsèque. La barre d'échelle représente l'intensité normalisé du signal optique. ...</i>	<i>17</i>
<i>Figure 8: (a) Reconstruction 3D des changements hémodynamiques dans le cortex somatosensorielle avant et après l'injection de cocaïne. (b) Représentation de la surface et en coupe de la vitesse des flux sanguins après injection de cocaïne. (c) Evolution temporelle des flux sanguins cérébraux (ou CBF pour « Cerebral Blood Flow ») au sein des veinules et artérioles en réponse à la cocaïne.</i>	<i>18</i>
<i>Figure 9: Carte d'activation BOLD enregistrée par IRMf lors d'une stimulation électrique au niveau des vibrisses du rat en plan transversal Bregma -16mm. Barre d'échelle : % augmentation BOLD.</i>	<i>20</i>
<i>Figure 10: Principe général de formation d'une image B-mode par faisceau focalisé. A. Une onde ultrasonore focalisée est émise en profondeur grâce à la stimulation électrique de différents éléments piézoélectriques de la sonde. B. Les échos sont captés par l'ensemble des éléments piézoélectriques de la sonde. C. L'étape de parallélisations des signaux et de calculs sont réalisées (Beamforming). On peut ainsi recomposer une image des réflecteurs présentes dans la profondeur du faisceau émis. On reproduit cette étape 128 fois en décalant le faisceau d'un élément piézoélectrique à chaque itération. Cela permet alors d'obtenir une image B-mode des tissus présents sous la sonde.</i>	<i>23</i>
<i>Figure 11: illustration de l'effet Doppler. Le point rouge (émetteur d'ondes à fréquence fixe) est en mouvement vers la gauche. La fréquence des ondes perçues va être plus élevée si le capteur se situe à gauche, ou plus basse s'il se situe à droite.</i>	<i>25</i>
<i>Figure 12: Exemple d'une acquisition Doppler en échographie cardiaque. La vitesse des flux sanguins dans le cœur est ainsi mesurée et représentée par une échelle de couleurs (gauche). Des vitesses négatives indiquent que le sang s'éloigne de la sonde d'enregistrement.</i>	<i>26</i>

Figure 13: Comparaison des techniques utilisées pour l'imagerie ultrasonore : Focalisée ou par ondes planes.	27
Figure 14: Comparaison de fréquences d'échantillonnage et d'images obtenues selon le nombre d'angles utilisés pour une imagerie par ondes planes.	28
Figure 15: Schémas d'œil humain et de souris (Veleri et al., 2015)	33
Figure 16: Composition cellulaire de la rétine (Briggs, 2017)	33
Figure 17: Représentation schématique des Chemins visuels chez le rongeur et chez le primate.....	37
Figure 18: Les deux types de champs récepteurs de cellules ganglionnaires et leur réponse selon la taille et la position des stimulations.	38
Figure 19: Organisation des projections de la rétine au sein des structures sous-corticales chez le rongeur. V :Ventral ; D :Dorsal ; N :nasal ; T :Temporal ; ON : Nerf Optique (« Optic Nerve ») ; OC : chiasma optique (« Optic Chiasm ») ; OT : tractus optique (« Optic Tract ») ;	40
Figure 20: Schéma du LGN et de V1 (primate) en coupe mettant en évidence les 6 couches du LGN et de V1 et les trois voies Magno, Parvo et Koniocellulaire. Les CO-Blobs (couche 2/3) et les bandes de dominance oculaire (couches 4C) sont également indiqués sur V1.	41
Figure 21: Représentation rétinotopique du LGN chez l'homme en IRMf. Les pixels verts indiquent les zones actives par une stimulation du champ visuel supérieur, le jaune par une stimulation du champ visuel inférieur et le rouge pour les deux.....	43
Figure 22: Représentation rétinotopique du colliculus supérieur grâce à l'étude de saccades lors d'enregistrements électrophysiologiques chez le macaque.	45
Figure 23: Représentation rétinotopique du colliculus supérieur obtenue chez la souris par imagerie calcique.....	45
Figure 24: Extrait de Marshel & Al. 2011. Segmentations théorique des aires visuelles striées et extrastriées chez la souris.....	48
Figure 25: (Gauche) Organisation des différentes aires visuelles chez le primate en représentation cerveau aplati. (Droite) Représentation fonctionnelle des différentes connexions existantes entre les aires visuelles chez le primate.	50
Figure 26: Détail des repliements de V1 au sein de la fissure Calcarine chez le primate (Macaca Fascicularis).	51
Figure 27: Représentation rétinotopique de V1 chez le primate. (Gauche) représentation du champ visuel en coordonnées polaires. (Droite) Représentation de la projection théorique du champ visuel sur V1.	52
Figure 28: Représentation des bandes de dominances oculaires observées sur V1 chez le macaque en marquage radioactif.....	53
Figure 29: Mise en évidence des CO-Blobs dans l'aire 17 chez le singe écureuil par marquage histologique.	54
Figure 30: Projection entre les positions d'enregistrements en électrophysiologie dans V1 et le champ visuel.....	55
Figure 31: Premiers enregistrement révélant les colonnes d'orientation dans V1.....	56

<i>Figure 32: Exemples de cartes rétinotopique, d'orientation, de fréquences spatiales, de dominance oculaire et de CO-Blobs (en réalité, « carte de couleur » mais corrélation avec les CO-Blobs prouvée) révélées par imagerie intrinsèque (chez le chat ou chez le primate).</i>	57
<i>Figure 33: Rétinotopie réalisée chez le singe par VSDi.</i>	58
<i>Figure 34: Différentes cartes fonctionnelles obtenues par VSDi.</i>	59
<i>Figure 35: Rétinotopie des aires visuelles chez le rat.</i>	59
<i>Figure 36: Preuve de l'existence des micro-colonnes d'orientation dans V1 chez le rongeur obtenue par imagerie calcique.</i>	60
<i>Figure 37: Cartes fonctionnelles d'orientation, de fréquences spatiales et de dominance oculaire acquises par imagerie calcique chez le primate.</i>	60
<i>Figure 38: Cartes rétinotopiques, de dominance oculaire, d'orientation et de fréquence spatiale révélées chez le primate et l'homme par IRMf.</i>	61
<i>Figure 39: (Gauche) Machine d'échographie utilisée lors de cette thèse : l'Aixplorer® de Supersonic Imagine (Aix-En-Provence, France). (Droite) Sonde utilisée (15Mhz, 128 éléments) fabriquée par Vermon (Tour, France).</i>	65
<i>Figure 40 : Cartes d'activation du cortex visuel et du Colliculus supérieur chez le rat vigile selon la fréquence spatiale du damier. Seul l'hémisphère gauche est enregistré (stimulation du champ visuel droit uniquement). Barre d'échelle : 2mm.</i>	76
<i>Figure 41: Tableau comparatif des différentes méthodes d'imagerie fonctionnelles. L'échelle de couleur (vert/orange/rouge) tente de classier relativement les modalités (colonnes) pour chacun des paramètres étudiés (lignes).</i>	125
<i>Figure 42: Acquisitions ultrasonores sur un cerveau de primate à différentes fréquences d'émission permettant d'appréhender son importance sur la profondeur maximale d'imagerie et la résolution spatiale.</i>	127
<i>Figure 43: Exemple d'une acquisition fUS sur rat anesthésié révélant des AVC au niveau du cortex (absence de flux sanguins, indiqués par les zones bleus).</i>	137

Liste des abréviations

fUSi : functional UltraSound imaging (imagerie ultrasonore fonctionnelle)

US : Ultrasons

CBV : Cerebral Blood Volume (Volume Sanguin Cérébral)

fMRI : functional Magnetic Resonance imaging

BOLD : Blood Oxygen Level Dependent (signal dépendant du niveau d'oxygène sanguin)

EEG : Electro-EncéphaloGramme

ECoG : Electro-CorticoGramme

MEA : Multi Electrode Array (grille d'électrodes multiples)

MUA : Multi-Unit Activity (Activité multi-unité)

VSDi : Voltage Sensitive Dye imaging (Imagerie par colorants sensibles au potentiel)

IOSi : Intrinsic Optical Signal imaging (imagerie optique intrinsèque)

dOCT : doppler Optical Coherence Tomography (La Tomographie par Cohérence Optique Doppler)

LGN : Lateral Geniculate Nucleus (corps genouillé latéral)

CS : Colliculus supérieur

CV (ou V1 à V5) : Cortex visuel

OD : Ocular Dominance (dominance oculaire)

Résumé - Abstract

CARTOGRAPHIER LE TRAITEMENT DE L'INFORMATION VISUELLE CEREBRALE GRACE AUX ULTRASONNS FONCTIONNELS

Le système visuel cérébral inclut le corps genouillé latéral, le colliculus supérieur et le cortex visuel. Ces structures ont été étudiées depuis les années 50 pour comprendre notre vision et comme un système modèle du fonctionnement du cerveau chez les mammifères. Cette étude a été possible par l'apparition de l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle ainsi que par différentes techniques optiques (calcique, intrinsèque ou par colorants sensibles au potentiel), particulièrement applicables au cortex visuel. La thèse présente l'état de l'art de ces techniques et leur application au système visuel pour en révéler son organisation complexe chez les rongeurs et les primates non-humains. L'introduction présente ensuite les différentes techniques d'imagerie ultrasonore pour expliquer le potentiel de la technique d'imagerie ultrasonore ultrarapide qui est appliquée dans cette thèse sur le système visuel du rat et du primate non-humain.

Pour évaluer la résolution spatiotemporelle de la technique d'imagerie ultrasonore, nous avons mesuré les réponses visuelles du corps genouillé latéral, du colliculus supérieur et du cortex visuel sur le rat anesthésié en étudiant leur dynamique respective soit sur un seul plan soit par reconstruction tridimensionnelle après mise en place de plusieurs acquisitions grâce à un système motorisé. Nous avons ensuite testé cette technique d'imagerie par ultrasons sur l'animal éveillé et nous avons obtenu une meilleure activation et avec plus de répétabilité par rapport aux images obtenues chez l'animal anesthésié. Après avoir validé cette approche technologique sur le petit animal, nous avons appliqué cette technique sur le cortex visuel du primate non-humain éveillé. Les primates ont été entraînés à des tâches de fixation relativement courtes (1s à 2,5s) pendant que nous présentions différents stimuli visuels en périphérie de leur champ visuel. Ainsi, nous avons pu reconstruire les cartes rétiniotopiques du cortex visuel en surface mais aussi en profondeur (le long de la fissure calcarine, ainsi que celles des autres aires corticales visuelles (V2, V3 et V4). Nous avons mis en évidence, les bandes de dominance oculaire dans V1, propriété fonctionnelle bien caractérisée du cortex visuel primaire du primate non-humain. En accord avec certaines données anatomiques, cette mesure fonctionnelle suggère la présence d'une dominance oculaire au-delà de la couche 4, dans les couches 3 et 5 de V1.

En conclusion, ces travaux de thèse ont permis de montrer l'intérêt spécifique de l'imagerie fonctionnelle par ultrasons par rapport aux méthodes précédentes pour l'étude des aires visuelles sur le rongeur et le primate non-humain, anesthésiés et vigiles. Cette nouvelle technique d'imagerie permet la visualisation fonctionnelle à haute résolution spatiotemporelle en profondeur des aires visuelles. Cette illustration sur le système visuel met en lumière l'intérêt prometteur du déploiement de cette technique pour l'exploration fonctionnelle de structures inaccessibles en imagerie optique de surface et en dessous de la résolution de l'IRMf. Des études complémentaires devraient être conduites pour définir si cette technique a toujours une meilleure résolution que l'IRMf pour l'explorations de structures plus profondes qu'un centimètre.

Mots clés : Système visuel ; Imagerie fonctionnelle ; Ultrasons ; Cortex visuel ; Cartographie ; Rongeur ; Primate

MAPPING THE CEREBRAL VISUAL INFORMATION PROCESSING WITH FUNCTIONAL ULTRASOUNDS

In the brain, the visual system includes the Lateral Geniculate Nucleus, the Superior Colliculus and the visual cortex. These structures have been studied since the 50's for the understanding of vision and when taking the visual system as a model too. These studies have relied on functional MRI but also on the development of functional surface microscopic imaging techniques (calcium, intrinsic or voltage sensitive dye imaging), especially applicable to the visual cortex. The thesis describes the state of the art of this analysis of the visual system with advantages and drawbacks for the different techniques in unraveling the functional organization of the visual system in rodents and non-human primates. The introduction then presents the different ultrasound imaging techniques to explain the potential for the functional ultrafast ultrasound imaging technique applied here on the visual system in rat and non-human primate visual system.

To examine the spatiotemporal resolution of the ultrafast ultrasound imaging technique, we measured visual responses in the LGN, the superior colliculus and the visual cortex on anesthetized rats. These measurements enabled us to analyze the respective dynamics in one imaging plan or in consecutive plans allowing the production of 3D reconstruction thanks to a motorized probe. We then develop protocols to work on awake animals because anesthesia deteriorates the quality of the signal. After having validated our technology on rodents, we have applied the technique to awake non-human primate visual cortex. Monkeys were trained to perform a central fixation task (1s to 2,5s) during a more peripheral visual stimulation (0.5s, 2s). Following this approach, we reconstructed the retinotopic maps of visual cortex, at the surface and in depth (along the calcarine sulcus) and of V2, V3 and V4. In addition, we could resolve the ocular dominance columns within V1, which represent a major functional structuration in the primary visual cortex. This functional observation suggests the presence of ocular dominance beyond layer 4 in layers 3 and 5 of V1.

In conclusion, this thesis work has demonstrated that the functional ultrafast ultrasound imaging can measure activity in the visual system for both rats and non-human primates, anesthetized and awake. This new imaging technique can provide functional measures with a high spatiotemporal resolution in the deep tissue. This illustration on the visual system highlights the potential of the technique to measure functional units not accessible to optical surface analysis and below the resolution of fMRI. Future studies will have to define if this technique can still provide a better resolution than fMRI in deeper structures than 1cm.

Key words: Visual system; Functional imaging; Ultrasounds; Visual cortex; Mapping; Rodent; Primate