THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

Présentée et soutenue par

Elodie DESPOUY

Le 23 avril 2019

Validation d'une nouvelle électrode hybride intracérébrale comportant des tétrodes dans l'épilepsie pharmaco-résistante

---

Ecole doctorale : **CLESCO - Comportement, Langage, Education, Socialisation, Cognition**

Spécialité : **Neurosciences**

Unité de recherche :
CERCO - Centre de Recherche Cerveau et Cognition

Thèse dirigée par
Emmanuel BARBEAU

Jury

M. Vincent NAVARRO, Rapporteur
M. Christian BENAR, Rapporteur
Mme Marcela PERRONE-BERTOLOTTI, Examinatrice
M. Jean-Christophe SOL, Examinateur
M. Emmanuel BARBEAU, Directeur de thèse

CURRICULUM VITAE

Élodie DESPOUY

Née le 10/03/1992 à Toulouse, France

elodie.despouy@cnrs.fr

Étudiante en 4ème année de thèse de Neurosciences

Sous la direction d'Emmanuel Barbeau, au Centre de Recherche Cerveau et Cognition (CerCo) – CNRS UMR 5549, Toulouse, France

CURSUS

- *Depuis janvier 2016* : **Doctorante en thèse de Neurosciences** (financement CIFRE), école doctorale CLESCO – Soutenance prévue le 25 mars 2019.
- *2013-2015* : **Master Neuropsychologie et Neurosciences cliniques**, Université Paul Sabatier, Toulouse.
- *2010-2013* : **Licence Biologie Cellulaire et Physiologie**, Université Paul Sabatier, Toulouse.
- *2010* : **Baccalauréat scientifique spécialité physique-chimie**.

EXPÉRIENCE PROFESSIONNELLE

- *Depuis janvier 2019* : **Ingénieure en biologie**, CerCo, CNRS, UMR 5549, Toulouse.
- *Janvier 2016 – Janvier 2019* : **Salariée – doctorant**, DIXI medical, Chaudefontaine.
- *Décembre 2015 – Mai 2016* : **Technicienne de recherche clinique**, CHU Purpan, Toulouse.
- *Novembre 2015 – Décembre 2015* : **Assistante**, DIXI medical, Chaudefontaine.

EXPÉRIENCE EN RECHERCHE SCIENTIFIQUE

- *2016 – aujourd'hui* : **Doctorat de Neurosciences**. Directeur de thèse : Dr. Emmanuel BARBEAU (CerCo, CNRS, UMR 5549). Intitulé de la thèse : « Validation d'une nouvelle électrode hybride intracérébrale comportant des tétrodes chez les patients épileptiques pharmaco-résistants ».
- *2015 (6 mois)* : **Stage de recherche de master 2**. Directeur : Dr. Emmanuel Barbeau (CerCo, CNRS, UMR 5549). Travail de recherche : « Dynamique spatio-temporelle de la mémoire de reconnaissance ».
- *2014 (5 mois)* : **Stage volontaire**. Directeur : Dr. Emmanuel Barbeau (CerCo, CNRS, UMR 5549). Travail de recherche : « Fast recognition memory ».
- *2014 (2 mois)* : **Stage volontaire**. Directeur : Dr. Martin Giurfa (CRCA, CNRS, UMR 5169). Travail de recherche : « Effect of dopamine on the honeybee brain ».

- *2013 (2 mois)* : **Stage de recherche de master 1**. Directrice : Dr. Maria Gabriela de Brito Sanchez (CRCA, CNRS, UMR 5169). Travail de recherche : « Post-ingestive malaise and long-term associative specific memory in honeybees ».
- *2013 (1 mois)* : **Stage volontaire.** Directrice : Dr. Alexandra Séverac (CerCo, CNRS, UMR 5549). Travail de recherche : « Prerefential treatment of near objects ».

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

- **Despouy E**[§], Curot J[§], Denuelle M, Deudon M, Sol J-C, Lotterie J-A, Reddy L, Nowak LG, Pariente J, Thorpe SJ, Valton L, Barbeau EJ (2019) Neuronal spiking activity highlights a gradient of epileptogenicity in human tuberous sclerosis lesions. *Clin Neurophysiol 130:537–547.*
- **Despouy, E**., Curot, J., Gardy, L., Deudon, M., Valton, L., Sol, JC., Lotterie, JA., Denuelle, M., Barbeau, J. E. The perirhinal cortex mediates a fast visual recognition memory system. *En revision dans Cerebral Cortex.*
- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Reddy, L., Nowak, G. L., Sol, JC., Lotterie, JA., Denuelle, M., Maziz, A., Bergaud, C., Valton, L., Barbeau, J. E. Tetrode recordings to improve signal quality in patients with drug refractory epilepsy. *En cours de soumission.*
- Curot, J., **Despouy, E**., M., Deudon, Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. Are fast-ripples good biomarkers of the seizure onset zone? Insights from tetrodes recordings in human. *En préparation.*
- **Despouy, E**., Curot, J., Nowak, G. L., M., Deudon, Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. Multiscale analyses to understand the physiopathology of fast-ripples. *En préparation.*

COMMUNICATIONS ORALES

(Conférences nationales et internationales)

- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2018). A fast recognition memory system bypassing the hippocampus. International conference on learning and memory. Irvine, USA.
- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Valton, L., Sol, JC., Lotterie, JA., Denuelle, M., Barbeau, J. E. (2017). Dynamique spatio-temporelle du cortex rhinal et de l'hippocampe dans la mémoire de reconnaissance visuelle. Cinquième réunion scientifique de la Société Francophone des Troubles des Apprentissages et du langage. Toulouse, France.
- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2017). From local field potentials to single units recordings in human epileptic patients. *8th annual meeting of the GDR Neuralnet. Strasbourg, France.*
- **Despouy E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2017). Mic-mac dans les enregistrements micro-macro. *Vingtièmes Journées Françaises d'Epileptologie. Marseille, France.*

- Valton, L., Curot, J., **Despouy, E**., Barbeau, J. E. (2017). Focus on new electrodes. *Workshop on Intracranial Recordings in humans: Epilepsy, DBS. Paris, France.*
- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, l., Barbeau, J. E. (2017). New hybrid micro-macroelectrodes to record fast-ripples in patients with drug-refractory epilepsy. *32nd International Epilepsy Congress. Barcelona, Spain.*
- Curot, J. **Despouy, E**., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Barbeau, J. E., Valton, L. (2016). New hybrid micro-macroelectrodes to record fast ripples in patients with drug refractory epilepsy. *Second international workshop on High Frequency Oscillations. Freiburg, Germany.*

POSTERS

(Conférences nationales et internationales)

- **Despouy, E.,** Curot, J., Deudon, M., Valton, L., Sol, JC., Lotterie, JA., Denuelle, M., Barbeau, J. E. (2017). A fast recognition memory system: The temporal dynamics of perirhinal and hippocampal structures in visual recognition memory. Society for Neuroscience. Washington, USA.
- Curot, J., **Despouy, E**., Garguier, G., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Barbeau, J. E., Valton, L. (2017). Reniflement ictal : identification du réseau à l'aide d'enregistements intracrâniens chez un patient épileptique. *Vingtièmes Journées Françaises d'Epileptologie. Marseille, France.*
- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton L., Barbeau, J. E. (2017). A study of tuberous sclerosis with new hybrid intracranial micro-macroelectrodes. *Workshop on Intracranial Recordings in humans: Epilepsy, DBS. Paris, France.*
- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton L., Barbeau, J. E. (2017). A study of tuberous sclerosis with new hybrid intracranial micro-macroelectrodes. *32nd International Epilepsy Congress. Barcelona, Spain.*
- Curot, J., **Despouy, E**., Garguier, G., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Barbeau, J. E., Valton, L. (2017). Ictal sniffing: identifying its network using intracranial recordings in an epileptic patient. *32nd International Epilepsy Congress. Barcelona, Spain.*
- Curot, J., **Despouy, E**., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Barbeau, J. E., Valton, L. (2016). Vers une nomenclature multi-échelle des activités épileptiques intercritiques grâce à une nouvelle micro-macroélectrode in vivo chez l'Homme ». *Dix-neuvièmes Journées Françaises d'Epileptologie. Toulouse. France.*
- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2016). Une nouvelle électrode hybride pour l'enregistrement de fast-ripples chez des patients épileptiques pharmaco-résistants. *Dix-neuvièmes Journées Françaises d'Epileptologie. Toulouse. France. Best poster award.*
- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2016). Study of tuberous sclerosis lesions with a hybrid intracranial

micro-macroelectrode. *Second international workshop on High Frequency Oscillations. Freiburg, Germany.*

- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2016). Hybrid micro-macroelectrodes to record fast-ripples in patients with drug-refractory epilepsy. *GDR Multielectrodes systems for Neuroscience. Autrans-Grenoble. France.*
- **Despouy, E**., Deudon, M., Kopal, J., Alloyer, M., Valton, L., Sol, JC., Lotterie, JA., Denuelle, M., Barbeau, J. E. (2016). The temporal dynamics of rhinal and hippocampus involvement in visual recognition memory. 6th International Conference on Memory. Budapest, Hungary.
- Curot, J. **Despouy, E**., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Barbeau, J. E., Valton, L. (2015). Intérêt de l'enregistrement des fast-ripples par électrode hybride micro-macro chez le sujet épileptique pharmacorésistant. *Dix-huitièmes Journées Françaises d'Epileptologie. Montpellier, France.*
- **Despouy, E**., Valton, L., Sol, JC., Denuelle, M., Barbeau, J. E. (2015). The spatio-temporal dynamics of recognition memory. M4 conference: Memory Mechanisms on Man and Machine. Albi, France.

ABSTRACT PUBLIÉ

Despouy, E., Curot, J., Deudon, M., Valton, L., Sol, JC., Lotterie, JA., Denuelle, M., Barbeau, J. E. (2017). Dynamique spatio-temporelle du cortex rhinal et de l'hippocampe dans la mémoire de reconnaissance visuelle. *A.N.A.E. N°149 – Décembre 2017*

VULGARISATION SCIENTIFIQUE

- **Despouy, E**., Garguier,G., Durosoir, E. (2017). Cerveau et émotions. *Conférences scolaires, 19ème Semaine du cerveau. Toulouse, France.*
- **Despouy, E**. & Curot, J. (2016). Exploration de la mémoire et des activités épileptiques par des nouvelles électrodes intra-cérébrales. *Soirée « Espoir en tête » Rotary club. Gaillac, France.*
- **Despouy, E**. (2016). Nouvelles électrodes hybrides intracérébrales : au plus près de l'activité neuronale pour étudier l'épilepsie. *Ma thèse en 5 minutes, 18ème Semaine du cerveau. Toulouse, France.*

FORMATIONS SUIVIES

- International, langues : 100 heures
- Méthodologie de la thèse recherche documentaire et publication : 30 heures
- Poursuite de carrière : 25 h
- Pratiques pédagogiques pour l'Université : 50 h
- Scientifique : 55 heures

Total : 260 heures / 12 modules

''What might seem to be a series of unfortunate events

may in fact be the first steps off a journey''

– Lemony Snicket

''Sucking at something is the first step

to becoming sorta good at something''

– Jake the Dog

À Marie-Noëlle Despouy

et à Thomas Garcia

REMERCIEMENTS

Je remercie **Vincent Navarro** et **Christian Bénar** pour avoir bien voulu évaluer mon travail, ainsi que **Marcela Perrone-Bertolotti** et **Jean-Christophe Sol** pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je remercie **Simon Thorpe** de m'avoir accueillie au sein du laboratoire du CerCo, à la fois pour la réalisation de mon master et de ma thèse.

Je remercie tout particulièrement **Emmanuel Barbeau**, mon directeur de thèse, de m'avoir fait confiance, de m'avoir aidée à trouver des financements pour que je puisse poursuivre mes travaux de recherche en thèse et de m'avoir accompagnée avec bienveillance tout au long de cette thèse. Une thèse réussie dépend en partie d'un bon encadrement.

Je remercie **Luc Valton** pour m'avoir donné accès à l'unité d'épilepsie et pour m'avoir fait confiance pendant mon master et pendant ma thèse ; **Marie Denuelle** ; **Jean-Albert Lotterie** ; **Jean-Christophe Sol** pour m'avoir permis d'assister aux interventions chirurgicales ; l'**ensemble des infirmières** pour leur aide avec les patients et la bonne humeur qui régnait dans le service.

Je remercie **les patients** qui ont participé au protocole EPIFAR pour leur patience et pour leurs personnalités. Les échanges ont toujours été appréciables et très intéressants.

Je remercie la société **DIXI medical**, et plus particulièrement : **Jean-Pierre Darnis** pour avoir accepté de financer cette thèse CIFRE en collaboration avec le CerCo et le CHU de Toulouse ; **Lucie Petegnief** pour m'avoir guidée au travers des rouages de l'entreprise et pour m'avoir accompagnée pendant ces 3 ans ; **Cécile Mascaro** pour sa présence et son soutien lors des communications en congrès ; **Lauriane Sauge**, **Sandra Olivier**, **Jérémy Fumey** et le Dr **Cédric Quinard** pour la bonne ambiance qui régnait au BE.

Je remercie **Leila Reddy** et **Lionel Nowak** pour tous les échanges passionnés autour de la détection d'activité neuronale. Merci de m'avoir aidé à trouver des moyens pour optimiser mes analyses et merci pour les retours sur les articles.

Je remercie le bureau 220 et l'ensemble de ses occupants (passés et présents), et plus particulièrement **Jonathan Curot** et **Martin Deudon**. C'était vraiment top de bosser avec vous et on s'est plutôt bien marré tout en étant efficaces.

Je remercie les membres du CerCo, et plus particulièrement : **Anne Lasfargues-Delannoy** pour le soutien et pour nous avoir gavé de sucreries à quasiment chaque passage au labo ; **Danaé Rémon** pour toutes ses histoires passionnantes (les repas du midi sans toi ce n'est vraiment pas la même chose !) ; **Ludovic Gardy** pour sa bonne humeur permanente et la mise en place des sessions de sport avec les élastiques ; **Fanny Roumier** pour le challenge avec les élastiques rouges ; **Linda Hammoud** pour ses magnifiques œuvres d'art en clémentine et pour la découverte de The Panda ; **Jimmy Debladis** et **Chadlia Karoui** pour toutes les galères qu'on a traversé ensemble depuis le M2 (courage c'est bientôt fini pour vous aussi !) ; **Florence Rulquin** (courage pour ta thèse) ; **Thomas Buffet** (la relève est assurée) ; **Caroline Fonta** et

Pascal Girard parce que c'est assez rare de pouvoir avoir de vraies discussions avec des permanents ; **Claire Thoueilles** et **Karine Bouyer** pour la réactivité à toutes les demandes que l'on peut avoir ; **l'équipe du SITH** ; **Nathalie Vayssiere** et **Simona Celebrini** pour leur aide avec l'acquisition et la récupération des données des patients.

Je remercie les anciens du CerCo qui sont partis explorer de nouveaux horizons : **Christelle Larzabal**, **Lola Danet**, **Jaya Viswanathan**, **Felipe Rolando**, **Emma Delhaye** et **Gabriel Besson**.

Je remercie **Thomas Busigny** et **Johanne Le Men** de m'avoir initié à la méditation de pleine conscience. Cela m'a permis d'apprendre à lâcher prise et à me focaliser sur ce qui est vraiment important.

Je remercie ma famille et plus particulièrement ma cousine, ma tante et mes cousins.

Je remercie **Lucie Lacroux** et **David Negro** pour m'avoir initié à l'éducation canine positive. J'ai appris énormément et on s'éclate bien pendant les cours d'agility.

Je remercie le **club de savate JSSO** pour m'avoir permis de me dépasser et d'apprendre les rudiments de la boxe française. Merci à **Bidou**, **Pascal**, et aussi à **Anthony** et **Camille** pour tous ces assauts dignes de professionnels.

Je remercie tout particulièrement mes amis de longue date, même s'ils n'ont jamais vraiment compris le sujet de ma thèse (non je ne torture pas des patients dans le sous-sol de l'hôpital !), ils m'ont toujours soutenue et je les remercie énormément pour ça. Des bisous à **Alix**, **Andy**, **Christel**, **Édouard**, **Fanny**, **Florian**, **Guillaume**, **Laura** et **Stéphane**.

Enfin, merci infiniment à **Thomas Garcia** pour son soutien inconditionnel depuis plus de dix ans maintenant. Si je peux rendre ma thèse aujourd'hui, c'est en grande partie grâce à toi.

Validation d’une nouvelle électrode hybride intracérébrale comportant des tétrodes dans l’épilepsie pharmaco-résistante

---

Validation of a new hybrid electrode with tetrodes in patients with drug-refractory epilepsy

Table des matières

CURRICULUM VITAE **3**

REMERCIEMENTS **10**

TABLE DES FIGURES **17**

LISTE DES TABLEAUX **19**

ABRÉVIATIONS **20**

INTRODUCTION GÉNÉRALE **21**

I. REVUE DE LA LITTÉRATURE **25**

1 CADRE CLINIQUE NECESSITANT L'IMPLANTATION D'ELECTRODES INTRACEREBRALES 25

1.1 Explorations intracérébrales pour les épilepsies pharmaco-résistante *26*

1.1.1 Les mécanismes de l'épilepsie 28

1.1.2 Définition de la zone épileptogène 33

1.1.3 Caractérisation de la zone épileptogène en pratique clinique 36

1.1.4 Détermination des régions à explorer 38

1.1.5 Les explorations invasives 40

1.1.6 Enregistrement d'activités non pathologiques : un modèle d'étude des fonctions cognitives 43

1.1.7 Risques associés aux explorations invasives 45

1.1.8 Efficacité des explorations invasives 45

1.1.9 SEEG ou ECOG ? 48

1.2 Autres pathologies nécessitant l'implantation d'électrodes *49*

1.2.1 SCP dans la maladie de Parkinson 51

1.2.2 SCP dans les troubles hyperkinétiques (exemple du syndrome de la Tourette) 54

1.2.3 SCP dans la douleur 54

1.2.4 SCP dans les troubles neuropsychiatriques 56

1.2.5 Retour à l'épilepsie 59

2 LES PRINCIPAUX TYPES D'ELECTRODES INVASIVES UTILISES 63

2.1 Électrodes sous durales *63*

2.1.1 Implantation des électrodes sous durales 64

2.1.2 Associations de microélectrodes aux électrodes sous durales 64

2.2 Électrodes profondes *69*

2.2.1 Implantation des électrodes profondes 70

2.2.2 Les différents modèles de microélectrodes profondes 71

2.2.3 Microélectrodes seules 73

3 APPORT DES MICROELECTRODES 76

3.1 L'activité neuronale dans l'épilepsie *76*

3.2 Les biomarqueurs de la zone épileptogène : les fast-ripples *79*

3.3 Enregistrements intracérébraux dans la maladie de Parkinson *81*

3.4 Implantation de prothèses neurales *82*

4 À LA RECHERCHE D'UNE MICROELECTRODE OPTIMALE 85

4.1 Le choix du matériau *86*

4.2 Rigidité du dispositif implantable *87*

4.3 Intérêt de la tétrode *88*

4.4 Importance de l'impédance *91*

4.5 Intérêt d'un dispositif mobile *93*

II. OBJECTIFS ET HYPOTHESES **97**

1 CADRE CLINIQUE PERMETTANT L'UTILISATION DES ELECTRODES HYBRIDES : PROJET EPIFAR 97

2 OBJECTIFS DU PROJET 98

3 REALISATION DE LA RECHERCHE 100

III. LA NOUVELLE ELECTRODE HYBRIDE DE DIXI MEDICAL **103**

1 CARACTERISTIQUES TECHNIQUES 103
1.1 Description de la nouvelle électrode hybride de DIXI medical 103
1.2 Choix des modèles les plus adaptés 106
1.3 Mise en place du support pour gaine et déploiement des microélectrodes 106
1.4 Visualisation des microélectrodes 108
1.5 Contrôle post-explantation 109
2 OPTIMISATION DES CONDITIONS D'ENREGISTREMENT 111
2.1 Recommandations pour le bloc opératoire et la mise en place du pansement 111
2.2 Description du contexte expérimental 113
2.3 Recommandations lors de l'acquisition du signal 113
2.3.1 Bruit à 50 Hz 113
2.3.2 Bruit à 2048 Hz 114
2.3.3 Artefacts de mouvement 115
2.3.4 Référence utilisée pour les microélectrodes 116
2.4 Importance du choix du système d'acquisition 118
2.5 Découpe des microélectrodes 120
3 **ÉTUDE 1 : RECORDING EEG SIGNALS AND NEURONAL ACTIVITY USING TETRODES IN EPILEPTIC PATIENTS** 123

IV. DETECTION DE FAST-RIPPLES ET D'ACTIVITES NEURONALES 159

1 CARACTERISATION DES FAST-RIPPLES 159
1.1 Critères à prendre en compte 159
1.2 Méthode utilisée 160
2 OPTIMISATION DE L'ANALYSE DES ACTIVITES NEURONALES 163
2.1 Principe du spike sorting 163
2.2 Les différents logiciels utilisés 164
2.3 Les points importants à prendre en compte 167
3 **ÉTUDE 2 : NEURONAL SPIKING ACTIVITY HIGHLIGHTS A GRADIENT OF EPILEPTOGENICITY IN HUMAN TUBEROUS SCLEROSIS LESIONS** 169
4 **ÉTUDE 3 : RIDING OR ISOLATED, INSIDE OR OUTSIDE SEIZURE-ONSET ZONE… ARE FAST RIPPLES RECORDED BY INTRACRANIAL MACRO- AND MICROELECTRODES OF THE SAME TYPE AND OF THE SAME MEANING?** 193
5 **ÉTUDE 4 : PATHOPHYSIOLOGY OF FAST-RIPPLES REVEALED BY TETRODE RECORDINGS IN EPILEPTIC PATIENTS** 213

V. INVESTIGATION DE PROCESSUS COGNITIFS 225

1 DETECTION D'ACTIVITE NEURONALE DANS LE LOBE TEMPORAL MEDIAN 225
1.1 Les neurones invariants 225
1.2 Une découverte majeure : les cellules de lieu 226
2 ANALYSES D'AUTRES REGIONS CEREBRALES 227
2.1 Prédiction de l'acte volitionnel dans le cortex frontal médian 228
2.2 Activité neuronale dans le cortex visuel précoce 229
1 **ÉTUDE 5 : THE PERIRHINAL CORTEX MEDIATES A FAST VISUAL RECOGNITION MEMORY SYSTEM** 231
2 ANALYSES NEURONALES PENDANT LES TACHES COGNITIVES 267

VI. DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES 273

1 UTILITE DES FAST-RIPPLES EN CLINIQUE 275
2 UNE DETECTION ENTIEREMENT AUTOMATIQUE DES FR EST-ELLE POSSIBLE EN CLINIQUE ? 279
3 VISIBILITE DES FAST-RIPPLES AVEC DES METHODES NON-INVASIVES, QUEL EST L'AVENIR DES MICROELECTRODES ? 280
4 RECOMMANDATIONS POUR OPTIMISER LA DETECTION DE FAST-RIPPLES 282
5 OPTIMISATION DES TACHES COGNITIVES 284
6 FUTUR DES MICROELECTRODES 285
7 PROCHAINES EVOLUTIONS DE L'ELECTRODE HYBRIDE 287

VII. RÉFÉRENCES 291

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1 – RESOLUTION TEMPORELLE DE L'EPILEPSIE ACQUISE APRES DES LESIONS CEREBRALES CHEZ LE RAT 30
FIGURE 2 – MODELE D'EPILEPTOGENESE PROGRESSIVE 31
FIGURE 3 – MODIFICATIONS HYPOTHETIQUES DANS LES CIRCUITS SYNAPTIQUES LOCAUX PENDANT L'EPILEPTOGENESE 32
FIGURE 4– MODELE DE L'ORGANISATION SPATIO-TEMPORELLE DES CRISES PARTIELLES 36
FIGURE 5 - DEUX METHODES D'ENREGISTREMENT DE L'EEG INTRACEREBRAL 41
FIGURE 6 – PATIENT PARTICIPANT A UN PROTOCOLE DE RECHERCHE LORS DE L'EXPLORATION EN SEEG 43
FIGURE 7 – ILLUSTRATION D'UN SYSTEME DE NEUROMODULATION. 50
FIGURE 8 - DYNAMIQUE TEMPORELLE DES EFFETS DE LA STIMULATION CEREBRALE PROFONDES 51
FIGURE 9 - LOCALISATION DES 3 SITES CIBLES PAR LA SCP DANS LA MALADIE DE PARKINSON 52
FIGURE 10 – LOCALISATION DES SITES CIBLES PAR LA SCP DANS LES TROUBLES NEUROPSYCHOLOGIQUES 56
FIGURE 11 - SITES DU SYSTEME NERVEUX DANS LESQUELS DES SCP ONT ETE REALISEES POUR TENTER DE CONTROLER LES CRISES 60
FIGURE 12 - ILLUSTRATION D'UN NEUROSTIMULATEUR. 61
FIGURE 13 – LES ELECTRODES LAMINAIRES 66
FIGURE 14 – MULTIELECTRODES ARRAY. 68
FIGURE 15 – ÉLECTRODE HYBRIDE PROFONDE 72
FIGURE 16 – MICROELECTRODES AFFLEURANT LES BORDS DE LA MACROELECTRODE. 73
FIGURE 17 – MICROELECTRODES UTILISEES DANS LES TROUBLES MOTEURS 74
FIGURE 18 – CLASSIFICATION DES REPONSES NEURONALES DURANT DES POINTES INTERCRITIQUES 77
FIGURE 19 – DECHARGES NEURONALES HETEROGENES DURANT UNE CRISE D'EPILEPSIE. 78
FIGURE 20 – HFOS. 80
FIGURE 21 – CARTOGRAPHIE DU NOYAU SOUS-THALAMIQUE A L'AIDE DE MICROELECTRODES.. 82
FIGURE 22 – PROTHESES NEURALES APPROUVEES ET EFFICACES CLINIQUEMENT 83
FIGURE 23 – DESCRIPTION SCHEMATIQUE D'UNE APPLICATION DE PN COGNITIVE 84
FIGURE 24 – SCHEMA ILLUSTRANT LES MODIFICATIONS HISTOPATHOLOGIQUES AUTOUR DES IMPLANTS NON-REACTIFS, REACTIFS ET TOXIQUES 87
FIGURE 25 – RIGIDITE DE DIFFERENTS MATERIAUX. 88
FIGURE 26 – EXEMPLES DE TETRODES ET DE LEUR INTERET POUR L'ISOLATION DE NEURONES.). 90
FIGURE 27 – IMPORTANCE DE L'IMPEDANCE.. 92
FIGURE 28 – INTERET D'UN DISPOSITIF MOBILE.. 94
FIGURE 29 – NOUVELLE ELECTRODE HYBRIDE DEVELOPPEE PAR DIXI MEDICAL.. 104
FIGURE 30 – ILLUSTRATION DE LA GAMME DES ELECTRODES HYBRIDES 105
FIGURE 31 – POURCENTAGE D'UTILISATION DES DIFFERENTS MODELES D'ELECTRODES HYBRIDE 106
FIGURE 32 – MISE EN PLACE DU SUPPORT POUR GAINE.. 107
FIGURE 33 – MECANISME DE SORTIE/ENTREE DES MICROELECTRODES 107
FIGURE 34 – VISUALISATION D'ELECTRODES HYBRIDES AUX RAYONS X. 109
FIGURE 35 – EXTREMITE D'ELECTRODES HYBRIDES VISUALISEES A L'AIDE D'UN MICROSCOPE PHOTONIQUE 110
FIGURE 36 – ILLUSTRATION DES DIFFERENTES ETAPES LORS DE LA MISE EN PLACE DU PANSEMENT. 112
FIGURE 37 – SCHEMA DES BRANCHEMENTS A EFFECTUER LORS DES ENREGISTREMENTS AVEC LES MICROELECTRODES. 115
FIGURE 38 – PHOTOGRAPHIE DE LA CONNEXION ACTUELLE ENTRE LES MICROELECTRODES ET LE HEADSTAGE.. 116
FIGURE 39 – REPRESENTATIONS DE DIFFERENTS TYPES DE MONTAGES UTILISANT UNE MICROELECTRODE EN REFERENCE. 118
FIGURE 40 – SIGNAL FILTRE (300-3000 HZ) CORRESPONDANT A L'ENREGISTREMENT DE LA MEME TACHE COMPORTEMENTALE 120
FIGURE 41 – VISUALISATION D'UNE ELECTRODE HYBRIDE (A) ET D'UNE TETRODE (B) AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE. 121
FIGURE 42 – FILTRAGE DE DIFFERENTS EVENEMENTS ENREGISTRES EN INTRACEREBRAL. 160
FIGURE 43 – EXEMPLE DE SIGNAL VISUALISE AVEC LE LOGICIEL MICMAC.. 161
FIGURE 44 – EXEMPLE DE L'UTILITE DU BLANCHIMENT SUR DES HFOS SIMULEES.. 162
FIGURE 45 – LES ETAPES DU SPIKE SORTING.. 164
FIGURE 46 – ANALYSES COMPLEMENTAIRES SUITE AU SPIKE SORTING. 168
FIGURE 47 – EXEMPLE DE DECHARGES NEURONALES MULTIUNITAIRES PENDANT DES HFOS. 215
FIGURE 48 – CELLULES PRINCIPALES ET HFOS PATHOLOGIQUES. 216
FIGURE 49 – EXEMPLE D'UN FR ENREGISTRE PAR UNE ELECTRODE HYBRIDE LOCALISEE DANS L'HIPPOCAMPE DU PATIENT 20 218

FIGURE 50 – FORME DES NEURONES UNITAIRES ENREGISTRES CHEZ LE PATIENT 20. 218
FIGURE 51 – ACTIVITE NEURONALE UNITAIRE PENDANT LES FR CHEZ LE PATIENT 20. 219
FIGURE 52 – ACTIVITE MULTI-UNITAIRE PENDANT LES FR CHEZ LE PATIENT 20. 220
FIGURE 53 – ACTIVITE MULTI-UNITAIRE PENDANT LES POINTES INTERCRITIQUES CHEZ LE PATIENT 20. 221
FIGURE 54 – EXEMPLE D'UN FR ENREGISTRE PAR UNE ELECTRODE HYBRIDE LOCALISEE DANS L'AMYGDALE DU PATIENT 14. 222
FIGURE 55 - FORME DES NEURONES UNITAIRES ENREGISTRES CHEZ LE PATIENT 14. 222
FIGURE 56 - EXEMPLE D'UN FR ENREGISTRE PAR UNE ELECTRODE HYBRIDE LOCALISEE DANS L'INSULA DE LA PATIENTE 2. 223
FIGURE 57 – IDENTIFICATION DU NEURONE HALLE BERRY. 226
FIGURE 58 – CELLULES DE LIEU CHEZ L'HOMME.. 227
FIGURE 59 – LOCALISATION DES ELECTRODES DANS LE LOBE FRONTAL MEDIAN.. 228
FIGURE 60 – LOCALISATION DE L'ELECTRODE DANS LE CORTEX VISUEL PRECOCE. 229
FIGURE 61 – LOCALISATION DES DEUX ELECTRODES HYBRIDES D'INTERET IMPLANTEES DANS LE GYRUS AMBIENS DROIT ET DANS L'AMYGDALE GAUCHE DE LA PATIENTE 13. 267
FIGURE 62 – NEURONES SPECIFIQUES DETECTES CHEZ LA PATIENTE 13.. 268
FIGURE 63 – LOCALISATION DE L'ELECTRODE HYBRIDE IMPLANTEE DANS LA PARTIE POSTERIEURE DU GYRUS FUSIFORME ET/OU DU GYRUS LINGUAL GAUCHE DE LA PATIENTE 30. 269
FIGURE 64 – REPONSES NEURONALES ENREGISTREE DANS LE GYRUS FUSIFORME DE LA PATIENTE 30 LORS D'UNE SESSION DE SCREENING.. 270
FIGURE 65 – FAST-RIPPLES ENREGISTRES DANS L'HIPPOCAMPE D'UN RAT SUITE A DES LESIONS.. 278
FIGURE 66 – FAST-RIPPLE ENREGISTRES A L'AIDE D'UNE ELECTRODE DE SURFACE CHEZ UN ENFANT EPILEPTIQUE ATTEINT DE SCLEROSE TUBEREUSE DE BOURNEVILLE.. 281
FIGURE 67 – MICROELECTRODES EN FORME D'ARETE DE POISSON. 286
FIGURE 68 – FUTURES AMELIORATIONS DES ELECTRODES HYBRIDES.. 288
FIGURE 69 – EXEMPLE DE DECOUPE DE MICROELECTRODES. 289

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 - DESCRIPTION DES DIFFERENTES REGIONS PATHOLOGIQUES. ADAPTE DE ENGEL, 2013. 34
TABLEAU 2 - COMPARAISON DES AVANTAGES ET DES INCONVENIENTS ENTRE LA SEEG ET L'ECOG. 48
TABLEAU 3 – GAMME DES ELECTRODES HYBRIDES.. 105
TABLEAU 4 - COMPARAISON DE DIFFERENTS LOGICIELS DE SPIKE SORTING. 166

ABRÉVIATIONS

ECOG = Electrocorticographie intraopérative

EEG = Electroencéphalographie

FR = Fast-ripples

IRM = Imagerie par résonnance magnétique

HFO = Oscillation à haute fréquence

MEA = Multielectrodes array

MEG = Magnétoencéphalographie

PN = Prothèse neurale

SPECT = Tomographie à émission monophotonique

TEP = Tomographie par émission de positrons

TOC = Troubles obsessionnels compulsifs

SEEG = Stéréo-électroencéphalographie

SCP = Stimulation cérébrale profonde

STB = Sclérose Tubéreuse de Bourneville

ZE = Zone épileptogène

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Cette thèse a été réalisée dans le cadre d'une Convention Industrielle de Formation par la Recherche (CIFRE) qui a rassemblé trois partenaires : la société ***DIXI medical*** *localisée à Chaudefontaine (fabriquant d'un nouveau dispositif médical implantable à destination des patients épileptiques pharmaco-résistants), le* ***CHU de Toulouse*** *(dans lequel les investigations cliniques ont pu être réalisées) et le* ***Centre de Recherche Cerveau et Cognition*** *de Toulouse (dans lequel les analyses des résultats ont été effectuées).*

L'épilepsie touche près d'1% de la population mondiale et environ 1/3 des patients souffrent d'une **épilepsie pharmaco-résistante** (Kwan et al., 2011). Ces patients sont victimes d'une persistance des crises d'épilepsie alors même qu'ils sont sous traitement antiépileptique. Une possibilité d'éviter cette situation très handicapante est d'arriver à localiser avec précision la zone cérébrale à l'origine des crises épileptiques (la **zone épileptogène**) et de procéder à une **résection chirurgicale** de cette zone (Engel Jr, 1996).

Chez 25 à 50% des patients, l'identification de la zone épileptogène nécessite une exploration invasive à l'aide d'**électrodes intracérébrales** (stéréo-électroencéphalographie). Jusqu'à 15 électrodes intracérébrales peuvent être implantées chez chaque patient (diamètre = 800 µm). Suite à l'implantation, l'activité cérébrale des patients est enregistrée 24h/24 jusqu'à la survenue de crises, ce qui permet en général d'identifier la zone épileptogène.

Ces explorations intracérébrales sont très contraignantes pour les patients et il arrive qu'aucune crise n'apparaisse pendant l'hospitalisation, ce qui entraine une nouvelle exploration ultérieure. Il est donc nécessaire d'arriver à trouver de nouveaux moyens pour caractériser la zone épileptogène.

Ces dernières années, de nouveaux **biomarqueurs potentiels de la zone épileptogène** ont fait leur apparition. Il s'agit d'oscillations rapides à très haute fréquence (200-600 Hz) appelé **fast-ripples** (Jacobs et al., 2008; Zijlmans et al., 2012). Ces oscillations seraient plus facilement détectées à l'aide de **microélectrodes** (diamètre < 80 µm ; (Worrell et al., 2008)). Notre équipe s'est donc lancée dans l'utilisation de microélectrodes.

Un seul dispositif combinant des électrodes cliniques et des microélectrodes (**électrode hybride**) était disponible sur le marché au moment de la mise en place de l'étude (électrodes

Ad-Tech) mais il ne convenait pas pour plusieurs raisons, notamment le diamètre trop important (1300 µm). C'est pour cette raison qu'est née la collaboration avec la société DIXI medical qui a conçu une nouvelle électrode hybride très prometteuse : (1) le diamètre est égal à celui de l'électrode clinique ; (2) les microélectrodes sont organisées en tétrode **pour la première fois chez l'Homme** ; (3) il est possible grâce à une vis micrométrique de moduler la longueur de sortie des microélectrodes pendant l'implantation pour chercher des neurones.

Ces électrodes sont en cours d'investigation au CHU de Toulouse, préalablement à leur marquage CE, depuis mars 2015 et au CHU de Lyon depuis juillet 2018 au travers du projet EPIFAR (EPIlepsie et Fast-Ripples). L'objectif principal de ce projet est d'**évaluer la faisabilité de l'enregistrement de fast-ripples grâce à ces nouvelles électrodes hybrides**. Nous sommes le premier centre au monde à les utiliser. Chez chacun des patients, 4 électrodes cliniques sont remplacées par des électrodes hybrides. Dans le cadre du protocole EPIFAR, il est prévu de réaliser une heure d'enregistrement par jour pendant 5 jours, pendant que les patients regardent une série télévisée.

OBJECTIF

Le but de ma thèse est de **valider l'utilisation de la nouvelle électrode hybride** à la fois sur un **plan clinique** (sécurité et qualité du signal) et sur un **plan fondamental** (contribution à la clinique et à la recherche en neuroscience). Cela passe par l'analyse des résultats obtenus avec le protocole EPIFAR mais également par l'analyse de signaux enregistrés avec des microélectrodes lors de tâches cognitives.

Lors de ma thèse, j'ai eu l'occasion de participer directement à l'ensemble des étapes en lien avec les nouvelles électrodes hybrides : (1) J'ai assisté au processus de fabrication et suggéré des modifications ; (2) J'ai assuré le suivi et la traçabilité des électrodes hybrides ; (3) J'ai assisté à un bon nombre d'implantations pour veiller à ce que tout se passe bien ; (4) J'étais présente durant une grande partie de l'hospitalisation des patients pour réaliser les branchements des dispositifs, pour faire passer les tâches et pour acquérir les données ; (5) J'ai traité et comparé les données enregistrées avec les électrodes cliniques et les microélectrodes ; (6) Je me suis déplacée au LAAS (laboratoire d'analyse et d'architecture des systèmes, CNRS) plusieurs fois pour effectuer des tests sur les électrodes récupérées après

l'explantation des patients ; (7) J'ai participé à l'ensemble des tests pour essayer de résoudre le problème d'interférence entre les systèmes d'acquisition des électrodes cliniques et des microélectrodes et également aux tests des nouveaux systèmes d'acquisition ; (8) J'ai contribué, en collaboration avec Martin Deudon (ingénieur dans notre équipe), au développement de l'ensemble des procédures d'analyse du signal ainsi qu'à la visualisation simultanée du signal des micro et des macroélectrodes ; (9) La microélectrode ayant une configuration particulière par rapport à sa concurrente disponible sur le marché, j'ai testé et évalué plusieurs méthodes et logiciels de spike sorting pour en trouver un qui soit optimisé à sa configuration. J'ai finalement opté pour le logiciel SpyKING Circus. J'ai également développé un pipeline pour analyser l'activité neuronale unitaire.

ORGANISATION DU MANUSCRIT

Ma thèse est organisée de la manière suivante :

- Un premier chapitre comprenant une revue de la littérature. Ce chapitre introduit le cadre clinique relatif aux enregistrements intracérébraux, les différents types d'électrodes utilisés, l'apport des microélectrodes dans la recherche clinique ainsi que les caractéristiques à prendre en compte pour obtenir une électrode optimale.
- Un second chapitre présentant les objectifs et les hypothèses de la thèse.
- Un troisième chapitre décrivant la nouvelle électrode hybride de DIXI medical suivi de l'**étude 1** « Recording EEG signals and neuronal activity using tetrodes in epileptic patients » *en cours de soumission*.
- Un quatrième chapitre portant sur la détection de fast-ripples et d'activités neuronales, suivi de trois études : l'**étude 2** « Neuronal spyking activity highlights a gradient of epileptogenicity in human tuberous sclerosis lesions » *publiée dans Clinical Neurophysiology* ; l'**étude 3** «Riding or isolated, inside or outside seizure-onset zone… Are fast ripples recorded by intracranial macro- and microelectrodes of the same type and of the same meaning? » *avec des résultats préliminaires* ; l'**étude 4** « Pathophysiology of fast-ripples revealed by tetrode recordings in epileptic patients » *avec des résultats préliminaires.*
- Un cinquième chapitre portant sur l'investigation de processus cognitifs à l'aide d'enregistrements intracérébraux, suivi de l'**étude 5** « The perirhinal cortex mediates

a fast visual recognition memory system » *en révision dans Cerebral Cortex*, puis des résultats préliminaires obtenus lors de tâches de screening.

- Un sixième chapitre de discussion.

I. REVUE DE LA LITTÉRATURE

Les enregistrements intracérébraux sont un moyen unique permettant d'avoir accès à l'activité intracérébrale dans différentes structures du cerveau humain. De plus, l'utilisation de microélectrodes permet également d'enregistrer directement l'activité neuronale. Grâce à la combinaison d'électrodes cliniques et de microélectrodes, l'investigation à multi-échelle de différents processus pathologiques et cognitifs est rendue possible. Cependant, les enregistrements intracérébraux ne peuvent être réalisés que dans des cadres cliniques très contrôlés.

Ce premier chapitre a pour but d'introduire les différents cadres cliniques permettant la réalisation d'enregistrements intracérébraux.

1 Cadre clinique nécessitant l'implantation d'électrodes intracérébrales

Malgré le succès de l'imagerie fonctionnelle pour l'avancée de la compréhension du cerveau humain, les connaissances des processus physiologiques au niveau cellulaire sont largement inférées et basées sur des données comparatives provenant des modèles animaux. Ces modèles (kaïnate, pilocarpine, kindling) restent des modèles lésionnels bien différents des épilepsies humaines, il faut donc rester prudent dans les extrapolations. Certaines approches permettent cependant d'avoir accès à des **enregistrements invasifs** chez l'Homme. Les enregistrements invasifs ont avant tout été développés dans deux contextes cliniques : (1) chez des **patients épileptiques pharmaco-résistants**, où l'activité cérébrale pathologique a besoin d'être précisément localisée avant que la zone épileptogène ne soit réséquée (Bancaud et al., 1965) ; (2) chez des **patients atteints de troubles moteur** (maladie de Parkinson, dyskinésies), résultants de modifications pathologiques dans les structures cérébrales profondes telles que les ganglions de la base ou le thalamus (Benabid, 2003). Les enregistrements invasifs peuvent donc se révéler indispensables pour le diagnostic de certaines pathologies et pour définir un traitement adapté.

Les enregistrements invasifs permettent d'avoir accès à des enregistrements de l'activité électrique extracellulaire du cerveau, à **deux niveaux de résolution** : (1) au niveau des **potentiels d'actions** émis par des cellules isolées (ou par un petit groupe, activité neuronale

unitaire/multi-unitaire) ; (2) au niveau des **potentiels de champ locaux** qui correspondent au signal électrique résultant de l'activité d'une large population de cellules. Alors que les potentiels d'actions reflètent le traitement local des cellules, les potentiels de champ locaux reflètent principalement l'activité synaptique localisée au niveau des dendrites, ce qui correspond plus généralement à l'information que les cellules reçoivent.

En fonction du matériel implanté, les **sessions d'enregistrement** peuvent se dérouler au bloc opératoire (**aigu**), dans une chambre d'hôpital (**semi-chronique**, entre quelques jours et quelques semaines, maximum trois) ou de façon **chronique** (interface Homme-machine). Les enregistrements aigus sont effectués pendant la chirurgie et sont par conséquent de courte durée (~15 minutes), alors que les enregistrements obtenus avec des électrodes implantées en semi-chronique peuvent être plus longs (plusieurs sessions de 30min/1h).

1.1 Explorations intracérébrales pour les épilepsies pharmaco-résistante

L'épilepsie touche environ 600 000 personnes en France dont près de la moitié sont âgées de moins de 20 ans. A l'échelle internationale, cette pathologie touche près d'1% de la population. La **gravité** des épilepsies tient : (1) aux **types de crises** (les crises avec altération de la conscience ou généralisation tonico-clonique sont à plus haut risque de traumatismes par exemple), à leur **fréquence** (qui peut être pluriquotidienne dans formes les plus sévères), à leurs conséquences directes (confusion, troubles de la conscience occasionnant accidents, chutes, traumatismes, troubles respiratoires, risque de mort subite (SUDEP)) ; (2) à leur **retentissement cognitif, social et psychologique** qui sont interdépendants et multifactoriels avec une stigmatisation qui reste importante ; (3) à leur **pharmaco-résistance éventuelle**. La pharmaco-résistance est établie dès lors que deux tentatives de monothérapie antiépileptique bien conduites, appropriées au type d'épilepsie et prescrites à des doses adéquates, n'ont pas permis de rendre le patient libre de crises. Ces patients souffrent d'un handicap social et professionnel important. Par ailleurs, la prise en charge chronique (le plus souvent à vie) médicale et sociale de ces patients est lourde, représentant un coût important pour la société (Picot et al., 2008). Environ **1/3 des patients souffrent d'une épilepsie pharmaco-résistante** (Kwan et al., 2011). Ces patients ne sont pas libres de crises malgré une polythérapie antiépileptique la plupart du temps. Un seul traitement peut permettre la guérison dans ce type d'épilepsie (là où le traitement médicamenteux ne peut que prévenir

au mieux la récurrence des crises) : la chirurgie. Les patients souffrant d'une épilepsie partielle peuvent être libres de crises si la zone épileptogène est identifiée avec précision et qu'elle fait l'objet d'une exérèse chirurgicale (Engel Jr, 1996). Des explorations intracérébrales avec l'implantation d'électrodes invasives sont souvent nécessaires pour identifier précisément la ZE.

L'épilepsie est définie de façon conceptuelle comme un trouble cérébral caractérisé par une prédisposition durable à générer des crises épileptiques et par les conséquences neurobiologiques, cognitives, psychologiques et sociales de cette affection (Falco-Walter et al., 2018). La définition de l'épilepsie requiert la survenue d'au moins une crise épileptique. La crise épileptique est définie comme la présence transitoire de signes et/ou symptômes dus à une activité neuronale excessive ou synchrone anormale du cerveau (Fisher et al., 2005). Afin de faciliter le diagnostic clinique, ces définitions ont été traduites en définitions opérationnelles (pratiques) : « L'épilepsie est une maladie cérébrale définie par l'une des manifestations suivantes : (1) Au moins deux crises non provoquées espacés de plus de 24 heures ; (2) Une crise non provoquée et une probabilité de survenue de crises au cours des 10 années suivantes similaire au risque général de récurrence observé après deux crises non provoqués (au moins 60 %) ; (3) Diagnostic d'un syndrome épileptique » (Fisher et al., 2014). Dans l'imaginaire collectif, l'épilepsie est associée à des crises avec convulsions, absences ou encore rigidité musculaire. Cependant, une grande **variété de symptômes** peut être observée en fonction de l'étiologie de l'épilepsie et de la zone cérébrale concernée. Ces symptômes peuvent être intriqués avec des troubles de l'humeur, de la cognition ou du sommeil. On distingue deux grands types d'épilepsie : les **épilepsies généralisées** (au cours desquelles chaque crise résulte d'un dysfonctionnement cérébral global d'emblée, concernant simultanément les deux hémisphères et l'ensemble du cortex cérébral) et les **épilepsies focales ou partielles** (où la zone épileptogène se limite à une zone cérébrale plus ou moins étendue). Ces dernières sont les plus fréquentes et les patients peuvent présenter des crises partielles avec ou sans généralisation secondaire. Ces deux types d'épilepsie peuvent avoir des étiologies diverses : génétiques ou lésionnelles.

L'épilepsie est considérée comme étant résolue, guérie, chez les patients qui présentaient un syndrome épileptique âge-dépendant et ont désormais dépassé l'âge correspondant (comme par exemple l'épilepsie à pointes centro-temporales de l'enfant) et

chez ceux qui n'ont pas eu de crises au cours des 10 derniers années sans avoir pris d'antiépileptiques depuis au moins 5 ans.

1.1.1 Les mécanismes de l'épilepsie

Dans l'épilepsie, le dysfonctionnement de neurones et de réseaux neuronaux peut entrainer la génération de crises. Une **crise d'épilepsie** a longtemps été définie comme « la manifestation **clinique** d'une **hyperactivité paroxystique hypersynchrone d'un groupe plus ou moins étendu de neurones**, et de son éventuelle propagation sur le cortex cérébral ». Le dysfonctionnement de neurones est dû à un déséquilibre de la balance excitation/inhibition au niveau du cortex. Les neurones libèrent des neurotransmetteurs pour communiquer entre eux et les plus utilisés sont le **GABA** (neurotransmetteur inhibiteur) et le **glutamate** (neurotransmetteur excitateur).

En exposition aigüe, une activité épileptique peut être induite par blocage synaptique (Matsumoto and Marsan, 1964; Prince, 1967) et par conductance inhibitrice voltage-dépendant (Walther et al., 1986). Les crises sont stoppées par la manipulation inverse, en augmentant l'inhibition (Wiechert and Herbst, 1966) ou en diminuant l'excitation (Croucher et al., 1982). Plusieurs décennies d'expériences pharmacologiques de ce type ont démontré qu'un **déséquilibre entre excitation et inhibition** entrainait la génération de crises dans un tissus cérébral sain (Scharfman, 2007). Bien que ce déséquilibre soit validé en tant que mécanisme de genèse de crises, il est difficile de le considérer comme un mécanisme créant une augmentation de la probabilité de générer des crises spontanées.

Mais ce déséquilibre entre excitation et inhibition est probablement trop simpliste. Il semble nécessaire de revoir cette théorie. La grande majorité des crises chez l'Homme sont dues à une **épilepsie chronique** et non pas à une exposition à un composé toxique. Contrairement à l'exposition aigüe, il n'est pas possible de prévoir le moment du déclenchement des crises qui restent assez rares (elles représentent environ 1% de l'activité cérébrale totale, excepté dans les plus sévères encéphalopathies épileptiques (Moran et al., 2004)). De plus, l'étiologie de certaines épilepsies ne suggère pas toujours qu'il puisse exister un déséquilibre entre excitation et inhibition. Dans les épilepsies ayant une cause génétique, les analyses de l'étiologie ont montré qu'il existait des pertes de fonctions de gènes qui n'altéraient pas directement la balance entre excitation et inhibition (Ran et al., 2015).

Dans les **épilepsies partielles acquises** d'origine lésionnelle (structurelle), les crises spontanées peuvent être la conséquence de séquelles d'un traumatisme crânien, d'un AVC, d'infections, d'un état de mal épileptique ou de la présence d'une lésion tumorale. Il est difficile de démontrer un état de déséquilibre permanent entre excitation et inhibition dans les modèles animaux d'épilepsie acquise. Dans le modèle pilocarpine (modèle d'épilepsie du lobe temporal, l'injection de pilocarpine déclenche un état de mal épileptique qui engendre l'épileptogenèse) par exemple, les dommages des neurones inhibiteurs sont compensés par une augmentation de synaptogenèse GABAergique **avant** l'apparition des crises (Zhang et al., 2009). Des mécanismes compensatoires de synaptogenèse glutamatergique ont également lieu, mais l'état de déséquilibre permanent entre excitation et inhibition n'apparait ni dans les recherches expérimentales sur l'épilepsie, ni chez l'Homme (Sutula and Dudek, 2007).

1.1.1.1 L'apparition des réseaux épileptiques

La récurrence des crises épileptiques spontanées dans l'épilepsie acquise apparait en général après une **période de latence** (généralement définie comme le temps entre le dommage cérébral et la première crise clinique) et chez un grand nombre de patients. De plus, l'épilepsie parait progressive d'après les données cliniques (Engel Jr, 1996, 2008) et les données d'imagerie (Fuerst et al., 2003; Bernhardt et al., 2009; Cascino, 2009). Comme beaucoup de patients recoivent un traitement antiépileptique après l'apparition d'une ou de quelques crises (Hoppe et al., 2007), il est impossible d'effectuer chez l'Homme des analyses de la résolution temporelle de l'épilepsie acquise, indépendamment des effets des antiépileptiques. Les modèles animaux de l'épilepsie acquise permettent de pallier à ce problème. Il est possible de détecter chez des rats ayant développé une épilepsie suite à une injection de kaïnate (qui a les mêmes effets que le glutamate) à l'âge adulte ou après des lésions hypoxie-ischémiques 7 jours après leurs naissances, une **augmentation progressive de la fréquence des crises** lorsque leur activité cérébrale peut être enregistrée pendant plusieurs mois (Williams et al., 2009; Kadam et al., 2010) (Figure 1).

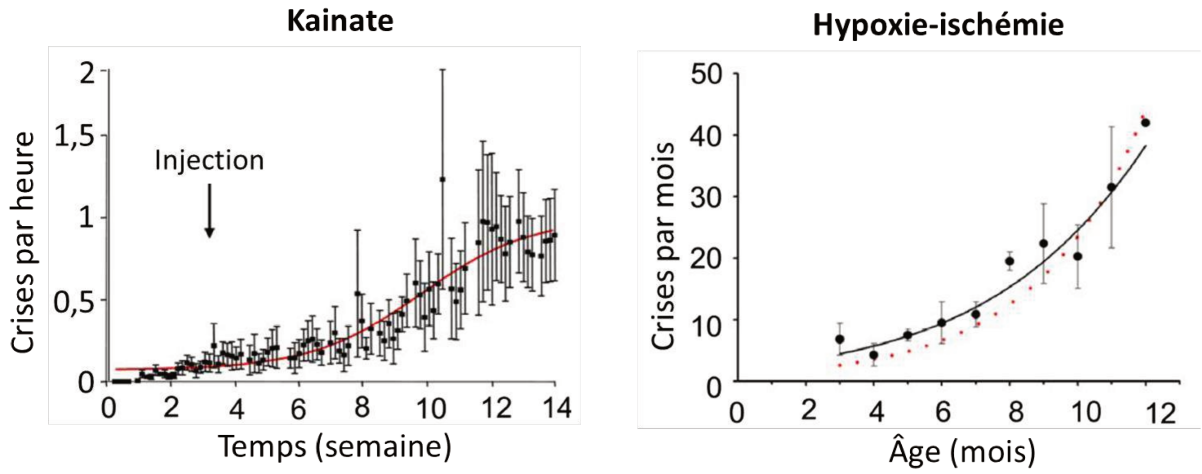


Figure 1 – Résolution temporelle de l'épilepsie acquise après des lésions cérébrales chez le rat. A gauche, la fréquence de crises suite à l'injection de kaïnate chez 9 rats adultes (adapté de Williams et al., 2009). A droite, la fréquence des crises après des lésions hypoxie-ischémique chez 10 rats, sept jours après leur naissance (adapté de Kadam et al., 2010). Dans les deux cas, l'épilepsie est progressive avec une fréquence des crises augmentant au cours du temps.

1.1.1.2 La période de latence et la durée de l'épileptogenèse

Chez l'Homme, la période de latence peut s'étendre de **quelques semaines à plusieurs années** (Annegers et al., 1998). Il a été rapporté dans la littérature que des crises non-convulsives précédaient souvent la première crise convulsive (Bertram and Cornett, 1993; Bertram et al., 1998; Williams et al., 2009). De plus, un certain nombre de patients ayant une épilepsie temporale associée à une sclérose hippocampique ont développé des crises fébriles dans la petite enfance et ne développeront l'épilepsie temporale que plusieurs années après. Ces études soulèvent l'idée que la période de latence de plusieurs années des patients pourrait être précédée de crises non-convulsives non reconnues.

La définition de la période de latence a cependant été remise en cause et nécessite d'être réévaluée car de nombreuses **modifications cellulaires et moléculaires** apparaissent pendant cette période (Rakhade and Jensen, 2009), ce qui illustre son importance dans la transition d'un état libre de crise à la génération de crises épileptiques spontanées récurrentes (Figure 2). Il s'agirait plutôt d'une période active avec déroulement d'une **épileptogenèse progressive**. Elle serait composée de trois étapes : (1) le **dommage initial** incluant les lésions cérébrales, les AVC, les infections ainsi que les crises prolongées ; (2) la **période de latence**

durant laquelle il n'y a aucune crise et qui peut durer des semaines voire des mois. Pendant cette période des changements moléculaires et cellulaires s'opèrent et vont altérer l'excitabilité des réseaux neuronaux ; (3) la **phase d'épilepsie chronique** durant laquelle des crises spontanées récurrentes sont observées.

Le processus d'épileptogenèse commencerait donc pendant cette période de latence et continuerait lors de la phase d'épilepsie chronique avec des changements dynamiques des réseaux neuronaux, contribuant ainsi à la progression de l'épilepsie.

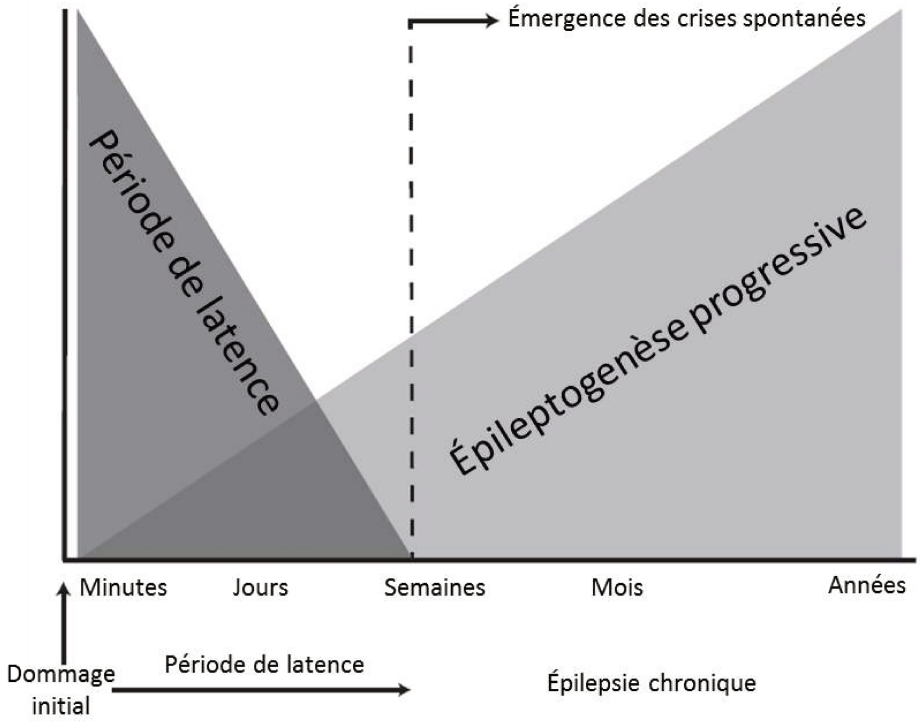


Figure 2 – Modèle d'épileptogenèse progressive. Il est supposé que l'épileptogenèse est composé de trois étapes : (1) le dommage ; (2) la période de latence ; (3) la phase d'épilepsie chronique. La période de latence a été définie comme la période entre le dommage cérébral et la première crise épileptique. Cette définition est remise en cause et il est suggéré que l'épileptogenèse peut être progressive avec des changements continus dans les réseaux neuronaux dès la période de latence ainsi que dans la période d'épilepsie chronique. Cette figure est adaptée de Rakhade and Jensen, 2009.

1.1.1.3 Épileptogenèse : mécanismes et réorganisation synaptique

La nature progressive de l'épileptogenèse suggère que des **altérations de circuits locaux** pourraient être suffisants pour induire l'épilepsie (McBain et al., 1989; Dyhrfjeld-

Johnsen et al., 2010). Deux mécanismes hypothétiques ont été très étudiés : (1) la **perte des interneurones GABAergiques** qui entraine une diminution dans l'inhibition médiée par le GABA (Figure 3.A) ; (2) le **bourgeonnement d'axones** qui a pour conséquence d'augmenter l'excitation de façon récurrente (Figure 3.B). Le premier mécanisme implique une perte rapide des neurones GABAergiques après un état de mal épileptique ou d'autres dommages cérébraux. Cependant, la perte des interneurones peut aussi se poursuivre pendant l'épileptogenèse. Le second mécanisme en revanche requiert davantage de temps pour former le bourgeonnement des axones et des nouveaux circuits synaptiques excitateurs. Ce temps pourrait expliquer ou du moins contribuer à la période de latence initiale ainsi qu'à la progression de l'épilepsie subséquente.

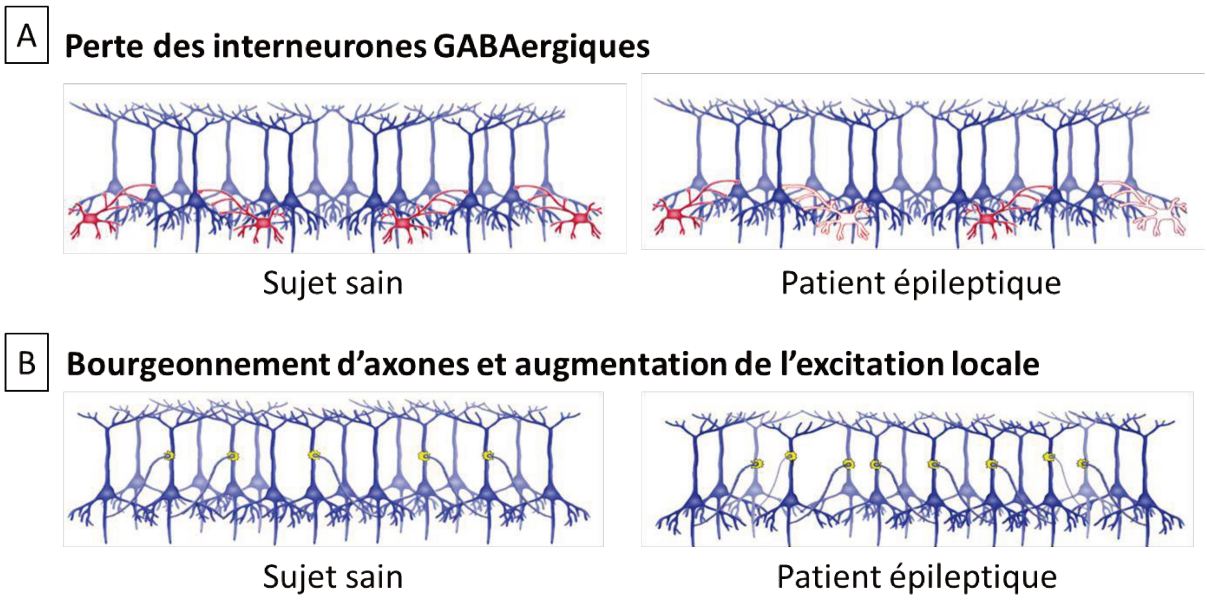


Figure 3 – Modifications hypothétiques dans les circuits synaptiques locaux pendant l'épileptogenèse. (A) Perte d'interneurones spécifiques et diminution de l'inhibition GABAergique durant l'épileptogenèse. Le schéma illustre des cellules pyramidales de l'hippocampe et des interneurones en condition saine (à gauche) ou pathologique (à droite). (B) Bourgeonnement des axones et augmentation de l'excitation dans l'hippocampe durant l'épileptogenèse. Le schéma illustre des cellules pyramidales en condition saine (à gauche) et après le bourgeonnement d'axones associés à l'épileptogenèse (à droite). Cette figure est adaptée de Ben-Ari and Dudek, 2010.

RÉSUMÉ

Des personnes non épileptiques peuvent faire l'expérience de crises symptomatiques si elles sont exposées à des médicaments convulsivants ou à certaines conditions particulières. Il s'agit de crises symptomatiques aigües, non pas d'une maladie chronique avec un état permanent prédisposant aux crises. Dans le cadre de l'épilepsie, il n'y a pas besoin de tels déclencheurs pour qu'une crise épileptique survienne.

Des décennies de travaux expérimentaux ont suggéré qu'un **déséquilibre entre excitation et inhibition** serait le principal mécanisme responsable de la transition entre un fonctionnement cérébral normal et une **crise**. Ces mécanismes expliquent très bien les crises symptomatiques aigües survenues suite à une **exposition à un composé toxique** mais ne sont pas forcément adaptés pour la maladie épileptique.

Les **épilepsies acquises** apparaissent après des **dommages cérébraux** (inexistants à la naissance et survenant au cours de la vie). Elles sont **progressives**, la fréquence des crises évolue au cours du temps. De plus, il y a **une période de latence** entre le dommage cérébral et l'apparition de la première crise.

La **période de latence** correspond au temps entre le dommage cérébral et la première crise épileptique. Durant cette période, une cascade d'altérations structurelles, moléculaires et fonctionnelles ont lieu graduellement, médiant les processus d'épileptogenèse.

Des analyses histopathologiques et électrophysiologiques suggèrent qu'il y aurait deux mécanismes importants dans l'**épilepsie acquise** : (1) **la perte sélective des interneurones GABAergiques** ; (2) **le bourgeonnement des axones** et la formation progressive de **nouveaux circuits excitateurs récurrents**. Ces mécanismes semblent être impliqués durant la période de latence et durant l'augmentation progressive de la fréquence et de la sévérité des crises spontanées.

1.1.2 Définition de la zone épileptogène

Une grande partie des épilepsies sont très bien contrôlées par les médicaments. Cependant, pour les patients pharmaco-résistants, un traitement chirurgical avec résection de

la zone responsable des crises (ZE) peut être proposé. Cette alternative thérapeutique est la seule pouvant prétendre à la guérison du patient. Elle n'est proposée que lorsque la ZE est unique, parfaitement localisée et dont on peut envisager l'exérèse sans produire un retentissement sur les fonctions cérébrales majeures (motricité, langage, mémoire…) et sans produire un handicap plus sévère que l'épilepsie elle-même. Il est donc nécessaire d'évaluer précisément la balance bénéfice/risque. Cette décision chirurgicale n'est envisagée qu'à l'issue d'un bilan préchirurgical complet réalisé dans un centre expert.

Il est nécessaire d'arriver à comprendre l'**organisation anatomo-fonctionnelle de la ZE** et d'arriver à identifier les régions cérébrales impliquées dans les décharges épileptiques. La ZE a été définie suite à des enregistrements intracérébraux comme étant le site primaire à l'origine des décharges critiques (Bancaud et al., 1965). Cette notion très française venait compléter les notions de zone lésionnelle et de zone irritative (Penfield and Jasper, 1954) (voir Tableau 1 pour le détails des différentes zones). Ces concepts sont très largement utilisés pour définir les différentes régions pathologiques chez un patient, ainsi que les limites de la résection chirurgicale.

Zone	Définition	Mesure
Zone épileptogène	La zone cérébrale qui est nécessaire et suffisante pour initier les crises et dont la résection ou la déconnexion est nécessaire pour l'abolition des crises	Concept théorique
Zone irritative	Zone du cortex qui génère des pointes intercritiques	Techniques d'électrophysiologie (invasives et non invasives)
Zone de départ des crises	Zone du cortex où les crises sont générées (incluant les zones précoces de propagations sous certaines circonstances)	Techniques d'électrophysiologie (invasives et non invasives)
Lésion épileptogène	Anormalité structurelle du cerveau qui est la cause directe des crises épileptiques	Imagerie structurelle et analyse des tissus
Zone symptomatogène	Portion du cerveau qui produit les symptômes cliniques initiaux	Observations comportementales et retours du patient
Zone de déficit fonctionnel	Zone corticale sans dysfonction épileptique	Examens neurologiques, test neuropsychologique, EEG, PET, SPECT

Tableau 1 - Description des différentes régions pathologiques. Adapté de Engel, 2013.

Il a été proposé que ces régions soient organisées de façon dynamique et en réseaux distincts. De façon schématique, l'**organisation cérébrale lors des crises partielles** peuvent être divisées en plusieurs systèmes (Bartolomei et al., 2008, 2017) (Figure 4) :

- Un premier système appelé **réseau de la ZE**, composé de structures très épileptogènes et qui tendent à se coupler/synchroniser rapidement pour générer une activité épileptique en général faite de « décharges rapides de bas voltage ». Les structures impliquées peuvent être en partie le site de lésions visibles en imagerie cérébrale. L'élément le plus marquant est une synchronisation des activités des structures cérébrales quelques secondes avant l'apparition de la décharge rapide suivie d'une forte désynchronisation (Bartolomei et al., 2001, 2004). Il existe probablement une certaine hiérarchie dans les structures impliquées puisque l'analyse du degré et de la direction de couplage entre les signaux issus des structures montre que l'activité de certaines structures semble conduire l'activité d'autres structures.
- Un deuxième système appelé le **réseau de propagation** est mis en jeu avec un délai variable, souvent de plusieurs secondes, sur un mode plus lent que le précédent. Il correspond à des structures où l'activité critique s'est propagée et qui en règle générale se synchronisent sur des rythmes lents (bande thêta notamment) (Wendling et al., 2001). Une grande partie de la sémiologie des crises dépend probablement de ce système. Sur un plan électrophysiologique, il existe des différences entre les activités enregistrées dans le réseau de propagation et dans le réseau de la ZE, notamment par rapport aux oscillations rapides. Des structures sous-corticales, en particulier thalamiques ou striatales, peuvent être impliquées en cours de crises temporales.
- Un troisième groupe de structures reste complètement épargné au cours des crises : les réseaux non impliqués.

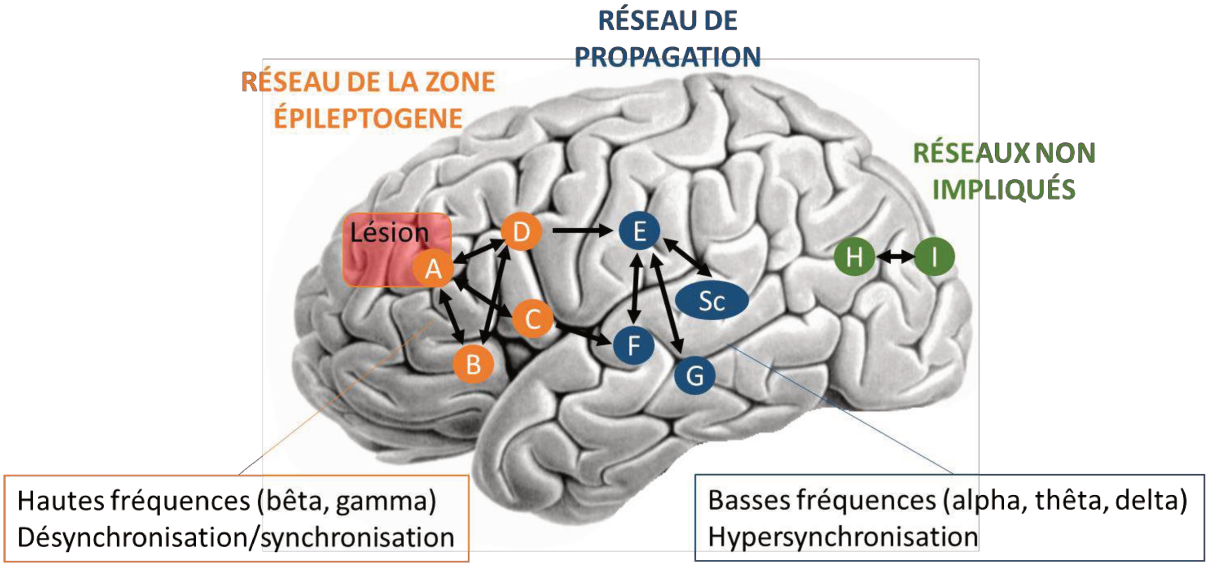


Figure 4– Modèle de l'organisation spatio-temporelle des crises partielles, adapté de Bartolomei et al., 2013. Les structures cérébrales sont désignées par des lettres (A,B,C …). Le schéma propose l'existence de deux groupes de structures dans le cerveau épileptique. Les structures constituant le réseau de la zone épileptogène (A, B, C, D) sont capables de générer des crises et en particulier des décharges rapides en début de crise. La structure A représente la lésion putative. Le réseau de la zone épileptogène produit des décharges rapides et est caractérisé par un motif de synchronisation-désynchronisation. Le réseau de propagation (structures E, F, G et Sc, Sc correspondant à des régions subcorticales) est un réseau moins épileptogène, activé par le réseau de la zone épileptogène. Des activités à basse fréquence sont enregistrées dans ce réseau et les structures sont en général davantage synchronisées que dans le réseau de la zone épileptogène. Le réseau de propagation peut se synchroniser à son tour avec le réseau de la zone épileptogène au cours des crises.

1.1.3 Caractérisation de la zone épileptogène en pratique clinique

Les cliniciens proposent en premier lieu une **exploration non invasive multimodale** (bilan préchirurgical de phase 1), permettant d'émettre une hypothèse sur la localisation de la ZE par la confrontation des résultats de différents examens cliniques et paracliniques : (1) Des **enregistrements électroencéphalographiques de surface** (montage international 10/20, + 6 électrodes temporales basses avec monitoring vidéo et ECG, généralement sur plusieurs jours) de plusieurs crises spontanées et des activités épileptiques intercritiques sont utilisés pour déterminer la latéralisation hémisphérique et la localisation, avec une résolution surtout lobaire, des crises ; (2) Une **IRM cérébrale morphologique** est utilisée pour détecter les anomalies anatomiques qui sont souvent associées avec les crises ; (3) **Une tomographie par émission de positron (TEP) avec du fluoro-deoxyglucose intercritique** est utilisée pour déterminer les hypométabolismes focaux cérébraux témoignant des régions cérébrales

dysfonctionnelles en période intercritique avec une forte corrélation avec la ZE; (4) **un bilan neuropsychologique**, qui peut entre autre aider à préciser une latéralisation hémisphérique préférentielle des troubles cognitifs (par exemple, des déficits de mémoire verbale sont associés avec des crises impliquant le lobe temporal gauche) ; (5) **une tomographie à émission monophotonique (SPECT) percritique** (lorsqu'elle a pu être obtenue) pour la mise en évidence d'une hyperfusion cérébrale percritique.

Il existe plusieurs cas de figures : (1) dans 30 à 40 % des cas, il est possible de proposer une **chirurgie de l'épilepsie** d'emblée ou après un complément d'explorations non invasives ; (2) dans 50 % des cas, le **processus d'exploration s'arrête** à ce niveau parce qu'aucune prise en charge chirurgicale n'est envisageable (atteinte multifocale, foyer situé dans une zone fonctionnelle) ou parce qu'aucune hypothèse sur la ZE ne peut se dégager précisément ; (3) dans 10 à 20 % des cas, la définition de la ZE nécessite une **exploration invasive** : l'enregistrement intracérébral de l'EEG (bilan de phase 2). Cette technique consiste à implanter des électrodes dans les zones cérébrales suspectées d'appartenir au réseau épileptogène.

Résumé

L'évaluation pré chirurgicale permet : (1) de localiser et de **délimiter anatomiquement** la zone épileptogène ; (2) de faire une **cartographie fonctionnelle** de la ZE et des régions corticales avoisinantes.

Le bilan pré chirurgical comprend toujours une phase 1, non invasive. Au terme de cette phase 1, il y a trois possibilités : soit le patient est opérable d'emblée, soit il n'est pas opérable, soit il est opérable sous réserve de pouvoir confirmer la localisation de la zone épileptogène, et de la délimiter par une exploration en stéréo-électroencéphalographie (phase 2).

L'existence de deux systèmes a été proposé pour rendre compte de l'organisation spatio-temporelle des crises partielles : (1) le **réseau de la zone épileptogène** (pouvant générer des crises et des décharges rapides en début de crise) ; (2) le **réseau de propagation** (activé par le réseau de la zone épileptogène et générant des décharges à basse fréquences).

1.1.4 Détermination des régions à explorer

Une **exploration invasive** est envisagée lorsque les explorations non invasives n'ont pas permis de déterminer avec précision la ZE. L'**incohérence** ou les incertitudes qui peuvent découler de l'analyse des données du bilan non invasif de phase I varient d'un patient à l'autre. Différentes situations, regroupables en sous-groupes relativement homogènes, conduisent à la réalisation d'une exploration invasive (Cossu et al., 2008) :

- Aucune lésion anatomique visible sur les examens neuroradiologiques et discordance entre les données de l'EEG ictal (durant la crise) ou interictal (entre les crises) et la sémiologie clinique percritique (pendant la crise).
- Existence d'une anomalie bien définie par les explorations neuroradiologiques avec un EEG ictal ou interictal et/ou une sémiologie percritique suggérant une implication de régions cérébrales au-delà des zones d'anomalies radiologiques.
- En dehors de toute considération neuroradiologique, discordance entre la sémiologie clinique percritique et la valeur apparemment localisatrice des données issues de l'EEG de scalp percritique.
- Les données radiologiques, l'EEG ou la sémiologie percritique suggèrent une implication précoce de régions hautement fonctionnelles. Il s'agit alors d'établir le rapport entre ces régions et la ZE, ainsi que d'élaborer une cartographie fonctionnelle dans le but de définir à la fois les chances de succès de l'intervention d'exérèse et les risques qui y sont associés.
- Anomalie neuroradiologique unique mais étendue, multifocale, voire bilatérale, associée à des données de l'EEG pericital suggérant un début multifocal, voire bilatéral.

La **stéréo-électroencéphalographie** (SEEG) consiste à **enregistrer l'activité électrique cérébrale** et à réaliser des **stimulations électriques corticales focales** à l'aide d'électrodes intracérébrales implantées sous anesthésie générale (Talairach and Bancaud, 1966; Trébuchon and Chauvel, 2016; Isnard et al., 2018). Les cibles et les trajectoires sont déterminées à partir des hypothèses électrocliniques de la phase 1, en prenant en compte les contraintes vasculaires. Cette technique consiste à enregistrer l'activité électrique cérébrale directement dans les régions d'intérêt. En effet, de nombreuses sources épileptiques corticales sont difficilement visibles sur l'EEG de surface, notamment les structures

temporales internes, l'insula, la région orbito-frontale et les fonds de certains sillons corticaux. La SEEG permet également de réaliser une cartographie fonctionnelle des régions explorées (zone épileptogène, zone de propagation ; voies d'abord chirurgicales potentielles) par l'enregistrement de potentiels évoqués intracorticaux et de réponses cliniques aux stimulations corticales focales (Jonas et al., 2014; Trébuchon and Chauvel, 2016; Bédos Ulvin et al., 2017). Dans certaines régions fonctionnelles, les stimulations corticales focales inhiberaient transitoirement la fonction testée. Elles ont donc l'avantage sur l'IRM fonctionnelle, outre une résolution temporelle plus importante, d'établir le caractère indispensable d'une région corticale donnée au sein d'un réseau cognitif. Ces stimulations corticales sont particulièrement utilisées pour cartographier les zones du langage, de la motricité, de la mémoire et de la vision (Jonas et al., 2014; Bédos Ulvin et al., 2017; Curot et al., 2017).

Quel que soit le degré de précision obtenu quant à la localisation de la ZE au cours de l'évaluation précédant la SEEG, le nombre et l'emplacement des électrodes intracérébrales doivent s'adapter à la nécessité de vérifier, voire de rejeter, les hypothèses préalablement formulées. En dehors de cet impératif, il est à considérer que la décharge ictale se propage souvent de façon multidirectionnelle sans respecter les limites anatomiques des différents lobes. Des régions fonctionnelles peuvent aussi être concernées par la propagation de la décharge. Ces différentes considérations impliquent que :

- La majorité des explorations sont multilobaires à l'exception des épilepsies frontales pour lesquelles l'objectif est de réduire l'étendue de l'exérèse.
- L'exploration des zones fonctionnelles doit être prévue quand elles semblent impliquées dans le déroulement de la crise ou si des données de cartographie sont nécessaires à la discussion de l'étendue de la résection chirurgicale qu'il convient de réaliser.

L'implantation doit comprendre la **région présumée du début de la crise**, les **zones de propagations** suggérées par les données cliniques, les **voies anatomiques connues du voisinage**, éventuellement des électrodes « sentinelles » dans l'hémisphère controlatéral au moindre doute sur la latéralisation éventuelle de la ZE, ainsi que **les régions corticales fonctionnelles concernées par la crise** ou dont l'étude pourrait avoir des implications sur la

prise de décision chirurgicale. Cette procédure d'implantation est donc adaptée sur mesure à chaque patient.

1.1.5 Les explorations invasives

La réalisation d'une SEEG fait désormais l'objet de recommandations précises (Isnard et al., 2018). Dans le cas où il existe des discordances ou des incertitudes à l'issue du bilan de phase I, comme par exemple une latéralisation des crises inconnue, l'étendue précise de la zone épileptogène est incertaine (en particulier en cas d'absence de lésion visible à l'IRM) ou si la zone à l'origine des crises est supposée être dans les structures cérébrales profondes (comme l'hippocampe ou l'insula), l'approche en SEEG est privilégiée. Dans ce cas, chaque patient est la plupart du temps implanté avec 5 à 15 électrodes profondes (macroélectrodes), unilatéralement ou bilatéralement. Chaque électrode est composée de 5 à 18 plots d'enregistrement (Figure 5.A). Elles ciblent à leur extrémité les structures internes (lobes temporaux médians, régions cingulaires, orbitofrontales et insulaires), elles enregistrent aussi l'activité des sites latéraux correspondant aux structures néocorticales.

Certains centres privilégient une autre méthode d'enregistrement intracrânien, l'électrocorticographie intraopérative (ECOG). Des électrodes sous-durales sous forme de grilles ou de bandes de macrocontacts sont apposées sur le cortex pour confirmer l'étendue précise du tissu cérébral pathologique et mieux délimiter la résection corticale (Figure 5.B).

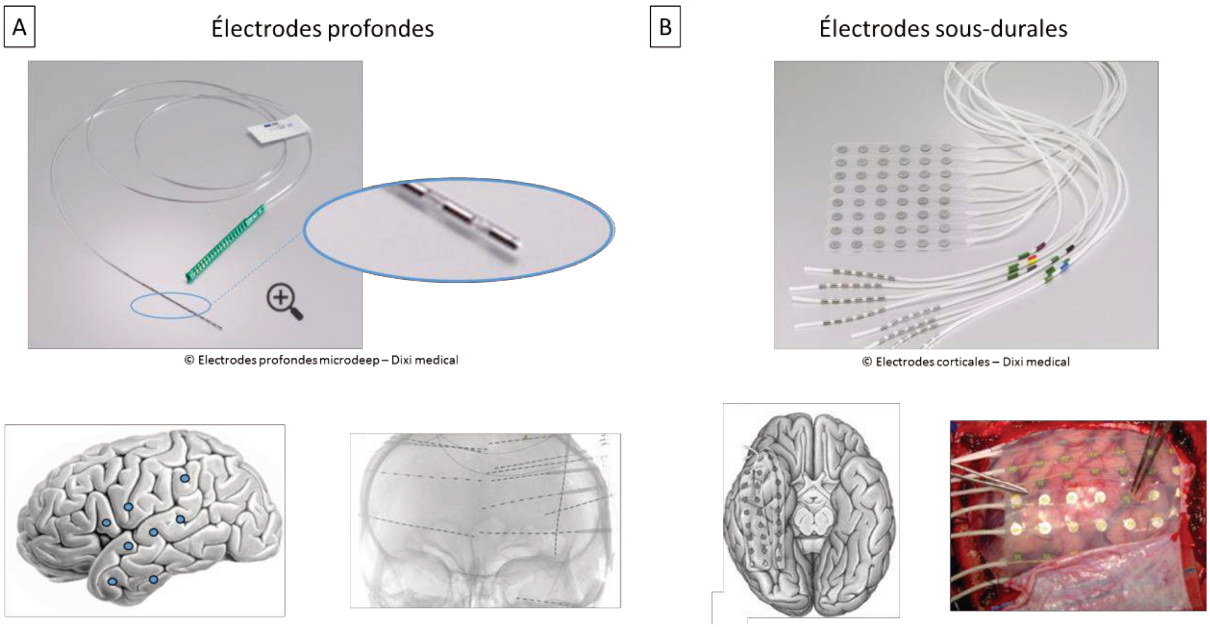


Figure 5 - Deux méthodes d'enregistrement de l'EEG intracérébral : la SEEG et l'ECOG. (A) Les électrodes profondes permettent de réaliser un suivi bilatéral des structures corticales superficielles et profondes. Une quinzaine d'électrode peuvent être implantées par patient. (B) Les électrodes sous-durales permettent un large recouvrement de la surface du cortex cérébral et sont souvent implantées dans un seul hémisphère. Elles n'atteignent toutefois pas les structures cérébrales les plus profondes.

Suite à l'implantation, le patient est transféré dans une chambre d'hospitalisation traditionnelle en unité d'exploration neurophysiologique pour un monitoring vidéo-EEG prolongé. Les enregistrements sont réalisés 24h/24 sur une période d'une à trois semaines. Un enregistrement simultané de plusieurs canaux est possible (environ 128 canaux dans notre centre de chirurgie de l'épilepsie de Toulouse).

En fonction de la productivité habituelle de l'épilepsie propre à chaque patient, les traitements antiépileptiques sont diminués de façon progressive afin de favoriser l'enregistrement de crises épileptiques spontanées. Les patients sont sous surveillance clinique constante afin d'obtenir un examen clinique percritique permettant une évaluation précise des signes et une description des sensations subjectives pouvant s'installer en début de crise. Il est également possible d'évaluer l'état de conscience du patient, le langage, le tonus musculaire et les manifestations motrices ou sensitives per- et postcritiques. L'enregistrement d'au moins une crise épileptique spontanée est nécessaire pour l'interprétation des données.

Dans le cadre de la SEEG, des **stimulations électriques intracérébrales** sont systématiquement réalisées au cours de la phase d'enregistrement, si possible après l'obtention de la ou des premières cries épileptiques spontanées. Cette procédure permet d'obtenir des informations importantes concernant la ZE, mais rend aussi possible la réalisation d'une cartographie électrophysiologique et fonctionnelle des régions cérébrales impliquées pendant la crise et qui feront potentiellement l'objet d'une résection chirurgicale (Trébuchon and Chauvel, 2016; Isnard et al., 2018). Ces stimulations sont indolores, de faible intensité, délivrées en bipolaire sur deux contacts électriques adjacents, à basse fréquence (1 Hz, 2-3 msec de largeur d'impulsion et une intensité généralement de 0,1 à 3 mA, entre 10 et 30 secondes) ou à haute fréquence (50 Hz, 1 msec de largeur de pulses et 2-3 mA, la plupart du temps par trains de 5 secondes) en fonction de l'excitabilité supposée d'une structure donnée et du type de réponse clinique ou électrique attendue. L'utilisation de tels paramètres de stimulation n'induit aucune lésion des tissus stimulés (Gordon et al., 1990).

Les informations recueillies par la stimulation de régions corticales sont intégrées aux données des activités électriques intericales et ictales spontanées afin de permettre d'élaborer des hypothèses sur l'organisation des réseaux épileptogènes. Les stimulations ont un double objectif :

- Déterminer la sensibilité épileptogène locale en provoquant des départs de crises, ou d'autres modifications électrophysiologiques (potentiels évoqués cortico-corticaux, post-décharges visibles sur l'EEG). Elles contribuent à délimiter la localisation, la connectivité et donc l'organisation spatiale de la ZE. Elles permettent de vérifier que la ZE présumée est excitable. En effet, l'un des intérêts majeurs des stimulations est de **reproduire partiellement, voire totalement les évènements électrocliniques de la crise spontanée** du patient. En fonction du territoire stimulé, les post-décharges et/ou les crises seront plus facilement obtenues par des stimulations de 50 Hz ou 1 Hz. En parallèle, les stimulations aident à vérifier que les régions correspondant aux hypothèses alternatives de localisation de la ZE ne sont pas excitables.
- Déterminer le rôle fonctionnel de l'aire cérébrale stimulée afin de guider la résection chirurgicale (cartographie fonctionnelle).

1.1.6 Enregistrement d'activités non pathologiques : un modèle d'étude des fonctions cognitives

Pendant la période de surveillance en vidéo-EEG et en dehors de tout examen clinique, il est possible de proposer aux patients de participer à des **protocoles de recherche** (Figure 6). Les découvertes réalisées chez les patients épileptiques ont largement contribué à la compréhension du fonctionnement cérébral dans l'histoire des neurosciences. Ces découvertes couvrent un large panel de méthodes d'exploration des patients épileptiques. Par exemple, les stimulations électriques en chirurgie éveillée chez des patients épileptiques pharmacorésistants ont permis de découvrir l'organisation somatotopique des cortex moteur et sensitif des gyrus pré et post central (Penfield and Boldrey, 1937). Les cas cliniques et modèles lésionnels consécutifs à certaines lésions ou chirurgies de l'épilepsie ont mis en évidence l'importance du lobe temporal médian dans la consolidation en mémoire déclarative à long terme par l'étude du patient HM ayant subi une lobectomie temporal médiale bilatérale (Milner et al., 1998), ou encore la latéralisation des fonctions au travers des hémisphères par l'étude des « split brains » » (ces patients atteint d'une épilepsie si sévère qu'une callosotomie leur a été proposée pour diminuer l'intensité des crises) (Gazzaniga, 1975). Enfin, c'est par des tâches cognitives proposées à des sujets explorés en SEEG qu'à pu être mise à jour l'existence des neurones invariants (Quiroga et al., 2005).



Figure 6 – Patient participant à un protocole de recherche lors de l'exploration en SEEG. La sortie des électrodes est sécurisée à l'aide de plusieurs bandages et les câbles sont reliés au système d'acquisition.

Une préoccupation majeure dans les enregistrements intracérébraux est qu'ils sont obtenus chez des patients épileptiques de longue date, ce qui peut soulever plusieurs questions et limites. Est-ce que les cerveaux des patients épileptiques sont trop pathologiques pour permettre d'étudier le fonctionnement normal du cerveau ? Est-ce que les enregistrements intracérébraux reflètent les substrats neuraux normaux des fonctions cérébrales humaines ?

Les réponses à ces questions dépendent de deux facteurs importants : (1) la population de patients recrutée pour l'étude intracérébrale ; (2) la « santé » relative des aires cérébrales enregistrées. Pendant les enregistrements intracérébraux, plusieurs électrodes (entre 100 et 200 plots d'enregistrement par patient) sont implantées au travers d'un ou plusieurs lobes de l'un ou des deux hémisphères pour s'assurer un bon échantillonnage de la zone épileptogène. Les électrodes intracérébrales couvrent donc souvent une large étendue du cerveau. Un ratio des électrodes présentes dans du tissu épileptique ou non épileptique a été établi au centre médical de Stanford pour 100 patients (Parvizi and Kastner, 2018). **18% des électrodes ont été labélisées pathologiques** car ayant enregistré des anomalies épileptiques et **82% ont été labelisées non pathologiques**. Il apparait donc que chaque SEEG va inclure un certain nombre de contacts qui s'avéreront localisées en zone électrophysiologiquement dénuée d'activité pathologique et en apparence saine sur l'IRM. Le ratio d'électrodes épileptiques et non épileptiques va dépendre naturellement du nombre total d'électrodes implantées et de leur localisation dans le cerveau.

Si on ne peut exclure des réorganisations et une plasticité au sein des cerveaux épileptiques, ces résultats suggèrent malgré tout que des données peuvent être extrapolées au sujet sain.

Pour limiter les biais et par prudence, des mesures rigoureuses sont à prendre : (1) Acquérir du signal à partir de tissu non épileptique (un tissu dans lequel aucune anomalie épileptique n'est présente) et si possible dans une région en apparence saine sur l'IRM encéphalique ; (2) Obtenir les données à plusieurs heures d'intervalle de toute crise épileptique ; (3) Exclure les essais dans lesquels des décharges épileptiques apparaissent ; (4) Montrer que les observations obtenues chez un patient donné sont reproductibles chez d'autres patients souffrant de types d'épilepsie différent (notamment une zone épileptogène différente).

1.1.7 Risques associés aux explorations invasives

En 2016, deux méta-analyses portant sur un nombre important de patients (121 et 177) ont été effectuées sur les complications faisant suite à l'implantation d'électrodes profondes (SEEG) (Mullin et al., 2016b) et celles faisant suite à l'implantation d'électrodes sous-durales (ECOG) (Rolston et al., 2016). Trois points peuvent être pris en compte pour comparer ces deux études :

(1) Le pourcentage de risques de complication, 1,3% pour la SEEG contre 11,9 % pour l'ECOG (avec 3,4% de complications majeures et 9,6% de complications mineures).
(2) Le pourcentage d'hémorragies, 1% en SEEG contre 3,4% en ECOG.
(3) Le pourcentage d'infections, 0,8% en SEEG contre 2,3% en ECOG.

Ces observations vont dans le même sens qu'une étude monocentrique parue la même année (Schmidt et al., 2016), portant sur 159 électrodes profondes et 316 électrodes sous-durales, dans laquelle on retrouve :

(1) Un pourcentage de risques de complication de 6,9% pour la SEEG et de 19,6% pour l'ECOG.
(2) Un pourcentage d'hémorragies de 7,5% pour la SEEG et de 16,4% pour l'ECOG.
(3) Un pourcentage d'infections de 3,8% pour la SEEG et de 5,7% pour l'ECOG.

Les **explorations invasives**, en particulier la SEEG, sont donc des méthodes relativement **sécurisées** avec un faible taux de complications, et dont de très rares cas de déficits permanents. De plus, l'utilisation d'électrodes profondes semble être plus avantageuse que les électrodes sous-durales, avec un taux moins important d'anomalies post-opératoires, en particulier en ce qui concerne les hémorragies. Le retrait des électrodes profondes est également plus simple que celui des électrodes sous-durales et permet d'avoir accès à une période de temps suffisante pour l'analyse des données, la discussion et l'établissement d'un consensus à la fois pour les patients et pour les cliniciens.

1.1.8 Efficacité des explorations invasives

La SEEG est proposée à environ 10 à 20 % des patients explorés par un bilan non invasif de phase I pour qui il existait encore des incertitudes ou des incohérences dans la localisation

de la zone épileptogène. Au terme d'une SEEG, une chirurgie pourra être proposée à 50% des patients explorés. Ces explorations invasives élargissent donc le nombre de patients qui peuvent bénéficier d'une chirurgie dans l'objectif de les guérir de leur épilepsie, tout en contre-indiquant dans d'autres situations clairement une prise en charge chirurgicale.

Parmi ces prises en charge chirurgicale, peuvent être proposées par exemples une lobectomie temporale antérieure pour une épilepsie du lobe temporal ou une cortectomie plus spécifique. La lobectomie temporale antérieure permet d'obtenir une liberté complète de crises chez environ 66% des patients (Téllez-Zenteno et al., 2005). La **cortectomie** consiste en la résection de la zone corticale générant les crises lorsque celle-ci est unique, bien délimitée, et lorsque le risque fonctionnel estimé est faible et acceptable au regard de la probabilité de rendre le patient libre de crises

Les résultats de la chirurgie de l'épilepsie à l'issue des explorations non invasives et invasives peuvent être évalués à l'aide de la **classification d'Engel** qui comporte plusieurs niveaux de pronostic post-opératoire, mais aussi par une classification fonctionnelle mise au point plus récemment par un consensus d'experts de l'ILAE (Wieser, 2001) :

- Classe 1 : Patients libres de crises, absence d'auras
- Classe 2 : Présence d'auras, pas de crises
- Classe 3 : 1 à 3 jours de crises par an ± des auras
- Classe 4 : 4 jours de crises par an et au moins 50% de diminution de la fréquence des crises ± des auras
- Classe 5 : Moins de 50% de diminution de la fréquence des crises ± des auras
- Classe 6 : Plus de 100% d'augmentation de la fréquence des crises ± des auras

Une méta-analyse a répertorié les résultats à long terme de la chirurgie de l'épilepsie (≥ 5 ans) chez plus de 7000 patients, indépendamment de la méthode invasive qui avait été utilisée pour localiser la zone épileptogène (Téllez-Zenteno et al., 2005). Les résultats sont légèrement différents en fonction de la localisation de la zone épileptogène. Au total, 66% des patients apparaissent libres de crises après une chirurgie du lobe temporal, mais seulement 46% pour le lobe pariétal et le lobe occipital et 27% pour le lobe frontal. Les résultats à long terme faisant suite à une chirurgie du lobe temporal sont similaires à ceux observés à court terme, avec 64% de patients libres de crises (Wiebe, 2001; Engel et al., 2003). Ce n'est cependant pas le cas

pour les résultats à long terme faisant suite à des chirurgies en dehors du lobe temporal. Les résultats à moyen et long terme dépendent de la localisation de la zone épileptogène et de l'étiologie. Dans le cas de malformations corticales, qui constituent la principale cause actuelle d'épilepsies pharmacorésistantes opérées, la probabilité pour le patient d'être libre de crises varie de 44 % dans les hétérotopies à 72 % dans les polymicrogyries et jusqu'à 86 % dans les dysplasies corticales focales (Chang et al., 2011; Maillard et al., 2017).

Bien que la SEEG soit classiquement admise comment étant une technique d'exploration à visée diagnostique, une fonction thérapeutique a également été proposée (Cossu et al., 2008). Lors d'une exploration, il est possible dans certaines situations de découvrir une ZE de taille réduite et bien explorée par les électrodes implantées. Dans ces cas, sont réalisées par l'intermédiaire des électrodes en place, des **thermocoagulations** multiples qui créeront des **lésions focales** de 5 à 7 mm de diamètre chacune dans le but de détruire complétement ou au moins partiellement le réseau de la ZE (Guenot et al., 2004; Bourdillon et al., 2018). Un générateur de radiofréquence est alors connecté à l'électrode et un courant lésionnel est appliqué au niveau des contacts situés dans la région cérébrale identifiée comme étant à l'origine des crises. Ces lésions sont effectuées sous contrôle électroclinique chez un patient éveillé. L'enregistrement des constantes d'impédance permet de guider la taille de la lésion effectuée. Une ou plusieurs lésions peuvent ainsi être réalisées en fonction des hypothèses formulées quant à l'étendue de la ZE. Cette technique semble très bien tolérée, sans morbidité ajoutée, et les résultats cliniques paraissent encourageants avec 25% de patients libres de crises et 50% présentant une amélioration significative de la fréquence et de l'intensité des crises. Une chirurgie complémentaire est ensuite proposée. Une bonne réponse aux thermocoagulations est un facteur prédictif positif d'une très bonne réponse ultérieure à la cortectomie (Bourdillon et al., 2018).

Les **buts** de la chirurgie de l'épilepsie sont :

- Supprimer l'ensemble des crises épileptiques, car il s'agit du seul traitement curatif à ce jour de l'épilepsie
- Ne pas aggraver, voire améliorer le fonctionnement cognitif des patients

- Diminuer voire arrêter les traitements antiépileptiques
- Améliorer la qualité de vie globale des patients

1.1.9 SEEG ou ECOG ?

Il n'y a vraisemblablement pas de raison de privilégier une méthode particulière d'exploration intracérébrale par rapport à l'autre, chacune ayant ses atouts et ses limites. Les avantages et les inconvénients de chacune (voir Tableau 2) ont même amené plusieurs centres à utiliser les deux méthodes de manière complémentaire en fonction des patients. En effet, cette combinaison des techniques pourrait s'avérer plus efficiente : une étude rapporte que l'utilisation combinée des électrodes profondes et des électrodes sous-durales chez 102 patients a permis de localiser la ZE dans 97% des cas. Suite à cela, 84 patients ont pu être opéré et 70% d'entre eux étaient totalement libres de crises (Engel classe 1) presque deux ans après l'intervention (Mullin et al., 2016a).

	SEEG	ECOG
+	1. Accès à des ZE profondes 2. Exploration étendue incluant les hémisphères bilatéraux 3. Localisation précise des électrodes 4. Chirurgie moins invasive 5. Application thérapeutique (thermocoagulation) 6. Temps suffisant pour l'interprétation avant la chirurgie	1. Jeunes enfants (<2-3 ans) 2. Cartographie fonctionnelle 3. Etendue des bordures de la chirurgie 4. Etendue du cortex éloquent
-	1. Peu de cartographie fonctionnelle 2. Peu de décharges corticales 3. Difficilement réalisable chez les jeunes enfants 4. Flux de travail complexe	1. Pas d'accès aux ZE profondes 2. Faiblesse pour les lésions ou épilepsies bilatérales 3. Enregistrements et interprétation simultané avant la chirurgie

Tableau 2 - Comparaison des avantages et des inconvénients entre la SEEG et l'ECOG. Adapté de Iida and Otsubo, 2017.

Résumé

- Des électrodes intracérébrales sont utilisées afin de **caractériser la zone épileptogène présumée** dans les cas d'épilepsies pharmaco-résistantes avant de procéder à sa résection.
- Si l'origine des crises a pu être déterminée à l'aide d'éléments préopératoire mais que son étendue est méconnue, des **électrodes sous-durales** sous forme de bandes sont utilisées.
- S'il reste des doutes sur la latéralité de la zone épileptogène ou si elle est supposée se trouver dans des structures cérébrales profondes, des **électrodes profondes** peuvent être utilisées.
- L'implantation de plusieurs macroélectrodes profondes vont permettre d'enregistrer l'EEG avec une grande résolution spatiale (de l'ordre du millimètre) là où l'EEG de surface n'atteint qu'une résolution de l'ordre du centimètre.
- Ces électrodes permettent donc d'acquérir des données précieuses concernant les mécanismes de l'épilepsie mais également d'approcher le fonctionnement cérébral au contact direct des populations neuronales dans différents processus cognitifs (mémoire, langage, attention…).

1.2 Autres pathologies nécessitant l'implantation d'électrodes

L'implantation d'électrodes cérébrales profondes n'est pas limitée à l'exploration préchirurgicale de la pathologie épileptique. Ce type d'électrode s'avère utile dans toute une variété de pathologies neurologiques, cette fois-ci non pas dans une stratégie diagnostique mais à des fins thérapeutiques via la stimulation ou neuromodulation électrique. La **stimulation cérébrale profonde** (SCP), est une technique neurochirurgicale utilisée pour traiter une variété de troubles neurologiques. Elle consiste à délivrer des stimulations électriques cérébrales directes chroniques à l'aide d'une électrode implantée dans des régions spécifiques, de façon à **modifier l'activité cérébrale à une échelle locale et à l'échelle de réseaux distribués** (Greenberg, 2002). Le système le plus répandu de SCP est composé d'un

stimulateur implanté, connecté à une ou plusieurs bandes d'électrodes sous durales ou à des électrodes profondes comprenant 4 plots d'enregistrement (Figure 7).

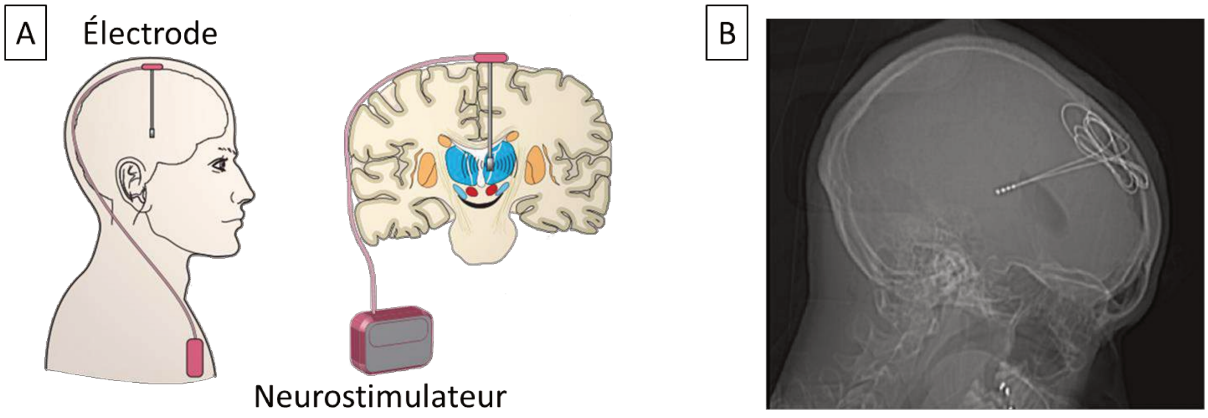


Figure 7 – Illustration d'un système de neuromodulation. (A) Schéma du stimulateur relié à une électrode profonde de stimulation. Le générateur implantable d'impulsions est placé dans la poitrine. (B) Visualisation aux rayons X d'une électrode de stimulation implantée dans le noyau antérieur du thalamus d'un patient (image issue de Hartshorn and Jobst, 2018).

En 1987, l'équipe de Alim Louis Benabid a démontré chez des patients atteints de la maladie de Parkinson que la SCP permettait non seulement de mimer les effets bénéfiques de la chirurgie ablative mais offrait également la possibilité d'ajuster ou de supprimer les possibles effets négatifs liés à la stimulation (Benabid et al., 1987). Depuis, cette technique a été étendue dans les traitements de troubles hyperkinétiques, de la douleur, de l'épilepsie et de certaines conditions neuropsychiatriques (voir Figure 8 pour la dynamique temporelle des effets de la SCP).

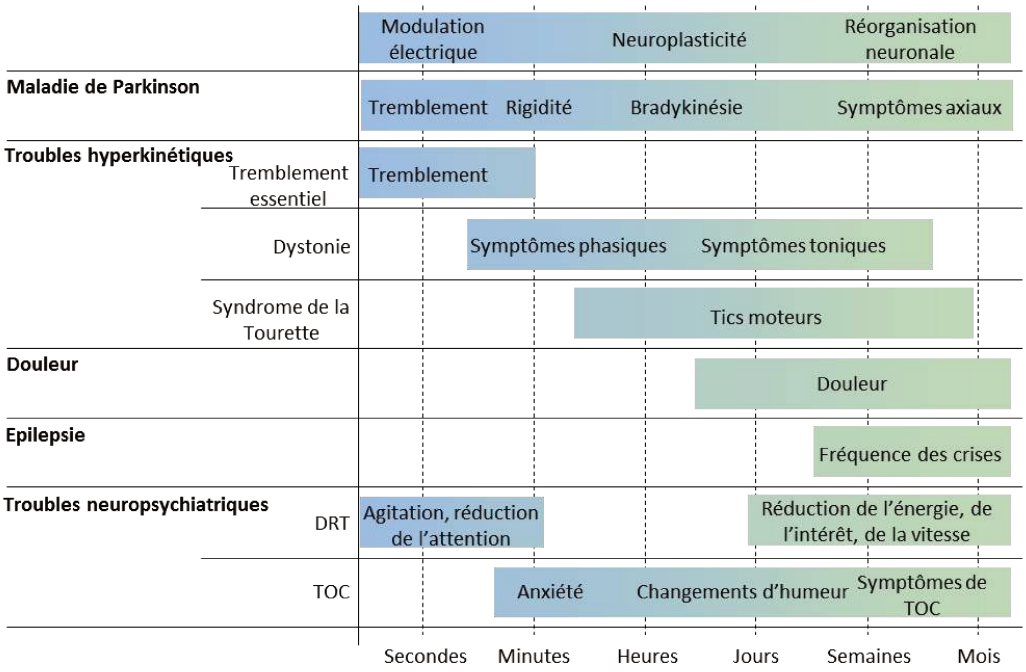


Figure 8 - Dynamique temporelle des effets de la stimulation cérébrale profonde (adapté d'Herrington et al., 2016; Ashkan et al., 2017. Une échelle logarithmique présente l'amélioration des symptômes faisant suite à l'activation de la stimulation cérébrale profonde chez des patients. DRT = dépression résistante au traitement ; TOC = troubles obsessionnels compulsifs.

Les patients étant de **potentiels candidats à la SCP** ont des maladies à des stades avancés qui se sont avérées être **réfractaires aux thérapies médicamenteuses** conventionnelles. Pour ces patients, l'intervention neurochirurgicale devient alors une option thérapeutique. Il est important de noter qu'avant la création de la SCP, les neurochirurgiens pouvaient seulement détruire certaines cibles cérébrales.

1.2.1 SCP dans la maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est une **pathologie neurodégénérative** (caractérisée cliniquement pas une akinésie, des tremblements, une rigidité et une posture instable) causée principalement par une **dégénérescence des neurones dopaminergiques** de la substance noire (Hughues et al., 1992). Cette maladie est initialement bien contrôlée chez la majorité des patients grâce aux traitements médicamenteux. Cependant, une petite proportion des patients présente des symptômes réfractaires à ces traitements. Actuellement, il y a trois

types de patients qui peuvent bénéficier de la SCP pour la maladie de Parkinson. Chacun des trois types comprend un site de stimulation différent : le **thalamus**, le **pallidum** et le **noyau subthalamique** (Honey et al., 2012) (voir Figure 9).

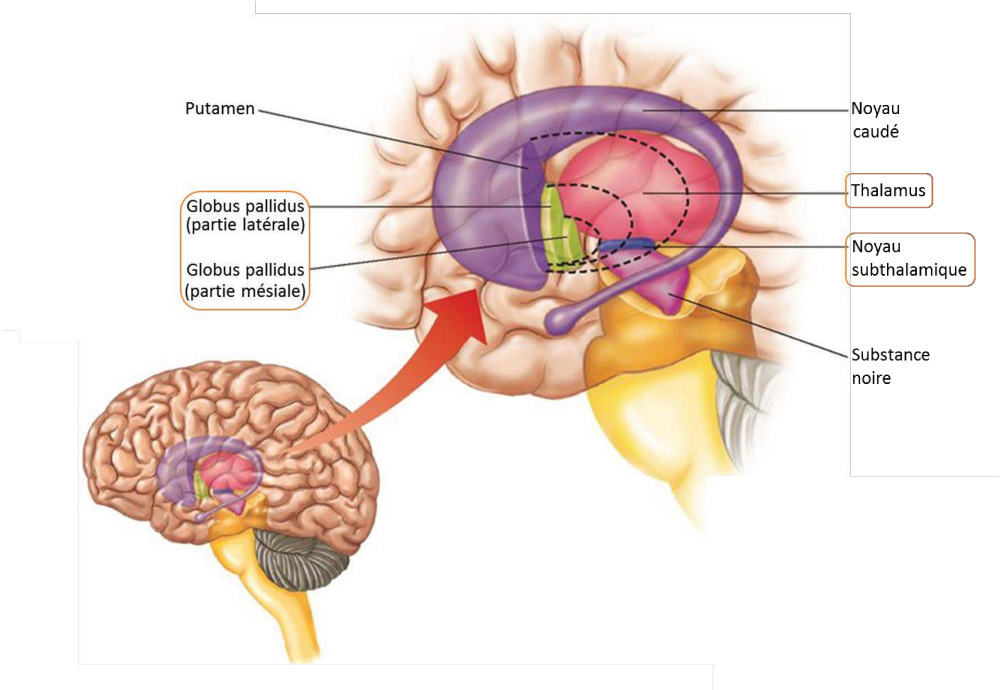


Figure 9 - Localisation des 3 sites ciblés par la SCP dans la maladie de parkinson (encadrés en orange).

1.2.1.1 Stimulation du globus pallidum pour les dyskinésies

Les traitements médicamenteux peuvent produire d'excellents résultant les premières années dans la maladie de Parkinson. Les patients se sentent mieux et ne sont pas gênés. Mais au fur et à mesure que la maladie progresse, de nouvelles complications apparaissent : les **dyskinésies et les fluctuations motrices** (Colosimo and De Michele, 1999; Ahlskog and Muenter, 2001). La dyskinésie est un effet secondaire de la stimulation dopaminergique.

La SCP du globus pallidum peut être considérée pour les patients avec une dyskinésie handicapante, surimposé à un mauvais contrôle de leurs symptômes moteurs. Ce traitement nécessite cependant de maintenir le traitement médicamenteux (voire même de l'augmenter si nécessaire) pour mieux contrôler la mobilité pendant que la stimulation du globus pallidum permet de contrôler la dyskinésie.

La stimulation du globus pallidum a permis d'améliorer le score moteur de 31 à 58% et les dyskinésies de 64 à 76% (Volkmann et al., 2004). Ces effets perdurent dans le temps et facilitent la réalisation des tâches quotidiennes des patients (Rodrigues et al., 2007). Quelques complications spécifiques peuvent apparaitre comme des perturbations du sommeil ou de la dysarthrie mais cela reste très rare (Hariz et al., 2008).

1.2.1.2 Stimulation du noyau subthalamique pour les fluctuations motrices

Les effets bénéfiques d'une dose précise de médicament ont tendance à ne durer que pendant une courte période avec l'avancement de la maladie (Schrag and Quinn, 2000). Cela peut être compensé en diminuant l'intervalle entre deux prises de médicaments. Les patients fluctuent plus rapidement dans leurs symptômes : mouvements bradycinétiques rigides, mouvements fluides, dyskinésie, mouvements fluides, mouvements bradycinétiques rigides, passées plusieurs années d'évolution de la pathologie, nécessitant un rapprochement des prises médicamenteuses et des augmentations de dose. Le cycle est répété à chaque dose. Cet enchainement est appelé **fluctuations motrices** et peut être traité à l'aide de SCP dans le **noyau subthalamique**.

La SCP dans le noyau subthalamique mime les effets du traitement dopaminergique. La différence est qu'elle peut être appliqué de façon plus régulière tout au long de la journée. Les patients doivent cependant présenter une bonne réponse au traitement dopaminergique avant de pouvoir procéder à la SCP. Les patients ne présenteront donc pas une amélioration des fonctions motrices suite à la chirurgie mais ils passeront davantage de temps à leur meilleur niveau de fonctionnement. Cependant, l'ajustement des paramètres de SCP du noyau subthalamique est le plus difficile à réaliser car il peut conduire à des effets secondaires.

1.2.1.3 Stimulation du thalamus pour les tremblements essentiels

La SCP du **thalamus** peut être considérée pour les patients présentant des **tremblements essentiels** (Honey et al., 2012). La stimulation du thalamus a permis d'obtenir une bonne, voire une excellente, réduction des tremblements chez 80% des patients et les effets semblent perdurer pendant au moins 5 ans (Benabid et al., 1993; Koller et al., 1997;

Limousin et al., 1999; Rehncrona et al., 2003; Pahwa et al., 2006). Les patients en ayant bénéficié ont gagné en autonomie puisqu'ils sont redevenus capable de manger seul, de s'habiller et de se laver.

1.2.2 SCP dans les troubles hyperkinétiques (exemple du syndrome de la Tourette)

Le **syndrome de la Tourette** est un trouble principalement caractérisé pas des **tics moteurs et/ou vocaux** apparaissant dans l'enfance.

Il est courant d'utiliser des neuroleptiques pour traiter le syndrome de la Tourette. Cependant il existe aussi des alternatives non pharmacologiques visant à entrainer les patients à changer leurs habitudes (Carr and Chong, 2005). L'efficacité de cette technique est limitée pour les patients atteints sévèrement par la maladie. La SCP est envisagée pour les patients résistants aux traitements. La SCP s'effectue principalement dans **trois cibles** : le complexe centro-median-parafasciculaire du thalamus (Houeto, 2005; Ackermans et al., 2006), le segment interne du globus pallidum (Diederich et al., 2005; Ackermans et al., 2006) et la partie antérieure de la capsule interne (voir Figure 9 et Figure 10 pour la localisation des sites de SCP).

Une étude menée sur une cohorte de 185 patients a montré qu'un an après le début de la SCP, le nombre de tics moteurs était diminué de 90% (Martinez-Ramirez et al., 2018) et que des effets secondaires tels qu'une dysarthrie ou une paresthésie, n'apparaissaient que dans moins de 6% des cas.

1.2.3 SCP dans la douleur

La **douleur neuropathique** est un type de douleur chronique dans lequel la sévérité et la durée des symptômes sont les plus intenses (Torrance et al., 2006). Elle a été redéfinie comme étant une douleur induite par une lésion ou une pathologie du système somatosensoriel (Jensen et al., 2011). La prévalence de la douleur chronique est de **8%** (Rosenberger et al., 2006).

La neurochirurgie propose plusieurs types de traitements pour les patients souffrant de douleurs chroniques. Différentes structures cérébrales ont été ciblées pour réaliser des

lésions, être perfusées avec des analgésiques ou des anesthésiques ou encore pour être stimulées électriquement (Boccard et al., 2015). La douleur implique plusieurs composantes mais les voies de transmission sont complexes. Il est admis que la SCP peut moduler l'activité à la fois dans les **systèmes latéraux et mésiaux de la douleur** (Moore et al., 2014). Le système latéral est composé des voies spinothalamiques qui connectent la corne dorsale de la corde spinale au noyau ventral du thalamus. Ces voies font ensuite des projections jusqu'au cortex somatosensoriel (primaire et secondaire). Le système mésial de la douleur est également composé de voies reliant la colonne vertébrale au thalamus (noyau médian), mais au travers du tronc cérébral et relié au système limbique. Cette seconde voie est plus lente et est supposée moduler les composantes affectives de la douleur (Ossipov et al., 2010).

Ces dernières années, l'intérêt de la SCP pour les douleurs chroniques a augmenté. Plusieurs études ont rapporté son efficacité pour traiter différentes étiologies : douleurs des membres fantômes (Rasche et al., 2006; Yamamoto et al., 2006; Pereira et al., 2013), lésion du plexus brachial (Marchand et al., 2003; Pereira et al., 2013; Boccard et al., 2015), douleur faisant suite à un accident vasculaire cérébral (Marchand et al., 2003; Rasche et al., 2006; Mallory et al., 2012; Boccard et al., 2015), douleur faciale (Gordon et al., 1990; Broggi et al., 2007; Boccard et al., 2015), lésions médullaires ou encore des migraines (Broggi et al., 2007; Messina et al., 2013). Il existe plusieurs cibles de la SCP en fonction du type de douleur :

- Le noyau sensoriel du thalamus (partie mésiale et latérale), principalement ciblé pour les douleurs faciales (Gordon et al., 1990)
- La substance grise périventriculaire et la substance grise périaqueducale, dont la stimulation remplace la douleur par une sensation de chaleur ou analgésique (Reynolds, 1969)
- Le cortex cingulaire antérieur, ciblé dans le cas de douleurs faisant suite à un accident vasculaire cérébral (Albe-Fessar et al., 1985)

La SCP s'avère bénéfique dans le cadre de douleurs chroniques chez 47 à 60% des patients et ce jusqu'à au moins 80 mois suite à l'implantation (Levy et al., 2010). Concernant les migraines, le taux d'efficacité est de 65% (Jenkins and Tepper, 2011).

1.2.4 SCP dans les troubles neuropsychiatriques

Plusieurs arguments ont amené à considérer l'utilisation de la SCP pour les troubles neuropsychiatriques : (1) des approches chirurgicales ont montré des **effets bénéfiques après des lésions**, entre autres, de la capsule interne (Fins, 2003); (2) des SCP effectuées dans le cadre de la maladie de Parkinson ont montré des **effets positifs sur l'humeur** des patients (Kulisevsky et al., 2002; Okun et al., 2009); (3) il a été découvert que les troubles neuropsychiatriques impliquaient des perturbations de réseaux neuraux complexes impliquant de multiple régions cérébrales dysfonctionnelles (Drevets et al., 2008; Pauls et al., 2014). Les SCP peuvent **agir sur les troubles neuropsychiatriques** en agissant également sur des régions **à distance du site de stimulation**. Les principales cibles anatomiques de la SCP dans les troubles neuropsychiatriques sont présentées en Figure 10.

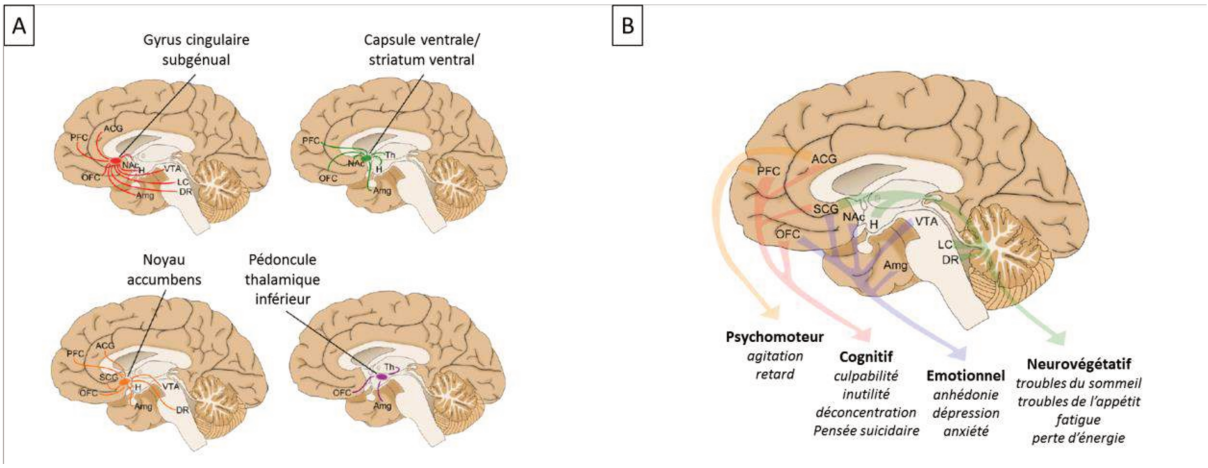


Figure 10 – Localisation des sites ciblés par la SCP dans les troubles neuropsychologiques. (A) Représentation schématique simplifiée des cibles de la SCP et de leurs connectivités avec les régions impliquées dans les troubles neuropsychologiques. (B) Implication des différentes régions dans les différents symptômes des troubles neuropsychologiques, adapté de Anderson et al., 2012. Abréviations : ACG = gyrus cingulaire antérieur ; DR = raphé dorsal ; H = hypothalamus ; LC = locus coeruleus ; NAc = noyau accumbens ; OFC = cortex orbitofrontal ; PFC = cortex préfrontal ; SCG = gyrus cingulaire subgénual ; VTA = aire tegmentale ventrale.

1.2.4.1 SCP dans la dépression

La dépression représente la 4ème maladie la plus handicapante au monde (Kessler et al., 2005; Lopez et al., 2006). Les symptômes peuvent comprendre un état dépressif, une anhédonie, une faible énergie, une sous ou une suralimentation, des troubles du sommeil, un sentiment de culpabilité, des idées suicidaires et des troubles cognitifs. La qualité de vie peut

être compromise et le suicide peut émerger comme étant un risque majeur pour les patients atteints de dépression sévère ou de dépression résistante au traitement (Weissman et al., 1999). En plus de la souffrance inhérente au trouble en lui-même, la morbidité et la mortalité sont augmentées quand la dépression est couplée à des problèmes médicaux comme des maladies cardiovasculaires ou du diabète (Schulz et al., 2000; Ruo et al., 2003; van Melle et al., 2004).

L'**hétérogénéité des symptômes cliniques** associés à la dépression peut être expliqué par des dysfonctions de réseaux neuraux entre les structures limbiques et corticales (Mayberg, 1997, 2003). Plusieurs structures sont impliquées dans la circuiterie de la dépression (Greenberg et al., 2003) : (1) la partie antérieure de la capsule interne qui permet de connecter le lobe frontal, le thalamus et les ganglions de la base ; (2) le noyau accumbens qui fait partie du réseau du système limbique étendu et qui est localisé dans la région ventrale du striatum. Ce noyau reçoit à la fois des projections du cortex orbitofrontal, de l'amygdale et du cortex préfrontal ; (3) l'aire 25 de Brodmann (cortex cingulaire subgénual) qui a des connexions avec le cortex cingulaire antérieur et qui a également des projections vers le noyau caudé, l'amygdale et le thalamus.

A l'heure actuelle, les circuits exacts impliqués dans la dépression ainsi que l'implication spécifiques de différentes structures restent mal compris. Une vingtaine d'anti-dépresseurs différents sont utilisés pour traiter la dépression et le taux de rémission est autour de 67% (Rush et al., 2006). Cependant, 90% des patients souffrant de dépression résistante aux traitements médicamenteux continuent à présenter des épisodes dépressifs après deux ans de thérapie agressive. Il est donc important de développer de nouvelles thérapies.

C'est dans ce contexte que les SCP ont commencé à être utilisées pour les dépressions, avec des premiers résultats prometteurs (Mayberg et al., 2005; Lozano et al., 2008; Malone et al., 2009). En effet les SCP ont été utilisées pour moduler la neurotransmission dans différentes régions du circuit cortico-striatal-thalamique-cortical, chez 36 patients atteint de dépression sévère, résistant aux traitements médicamenteux. Plusieurs régions ont été ciblées et ont permis d'améliorer les symptômes dépressifs : le pédoncule thalamique inférieur, la substance blanche adjacente au gyrus cingulaire subgénual (Lozano et al., 2008),

la capsule ventrale/ le striatum ventral (Malone et al., 2009) et le noyau accumbens (Schlaepfer et al., 2008).

1.2.4.2 SCP pour les troubles obsessionnels compulsifs

Les troubles obsessionnels compulsifs (TOC) sont considérés comme un trouble neuropsychiatrique commun, affectant 2 à 3 % de la population mondiale (Karno, 1988). Ce trouble est caractérisé par des pensées intrusives récurrentes, des images ou des impulsions (obsessions). L'anxiété produite par ces obsessions peut être atténuée par la réalisation d'un comportement rituel (compulsif). Le temps passé à réaliser ces comportements pour diminuer l'anxiété peut prendre l'entièreté de la journée de celui qui en souffre (Stein et al., 1997; Ahmed et al., 2017). Les traitements actuels sont inadéquats dans la majorité des cas.

La thérapie cognitivo-comportementale est très utilisée dans le traitement des TOC. Elle consiste à guider le patient à travers une hiérarchie d'expositions du stimulus provoquant l'anxiété et à décourager les réponses compulsives qui y sont associés. Cette thérapie est efficace pour la majorité des patients mais n'est pas du tout tolérée dans 25 % des cas (Keijsers et al., 1994). Il existe plusieurs cibles pour le traitement des TOC par lésions : le gyrus cingulaire antérieur (Cosgrove and Rauch, 2003), la partie antérieure de la capsule interne (Oliver et al., 2003), et les fibres qui connectent le cortex au noyau thalamique (Woerdeman et al., 2005). Les procédures d'ablation sont efficaces dans 30 à 60% des cas (Jenike, 1991; Greenberg et al., 2006). Au total, 5 à 10% des patients sont considérés comme étant résistant au traitement médicamenteux, après avoir tenté plusieurs traitements, combinés avec la thérapie cognitivo-comportementale. Ces patients sont donc de potentiels candidats pour la SCP.

En moyenne, le taux de patients présentant un bénéfice suite à la SCP dans le cadre des TOC est de 60% (Alonso et al., 2015). La SCP s'avère plus efficace pour les patients ayant développé des TOC plus tardivement. La SCP est au moins aussi efficace que les techniques d'ablation et n'engendre que très peu d'effets secondaires en comparaison.

1.2.5 Retour à l'épilepsie

Les chirurgies de l'épilepsie permettent de libérer 60 % des patients de leur crises (Jobst and Cascino, 2015; West et al., 2015). Cependant, si la zone épileptogène ne peut pas être déterminée avec précision ou s'il en existe plusieurs, ou encore si elle se situe dans une zone fonctionnelle, la **résection n'est pas envisageable**. Les patients deviennent alors de **potentiels candidats pour la SCP** (Engel et al., 2003).

La première utilisation de la SCP pour traiter l'épilepsie date des années 1950 (Heath, 1963). A l'origine, les sites de stimulation étaient le cervelet et le thalamus antérieur (Cooper and Upton, 1985). Les bénéfices pouvaient se traduire par une diminution de la fréquence des crises et un taux de morbidité moins important. Aujourd'hui, la cible la plus stimulée dans le cadre de la SCP pour l'épilepsie est le **noyau antérieur du thalamus** (pour traiter les patients ayant une épilepsie fronto-temporale, Figure 11) (Fisher et al., 2010), suivi du **noyau centromédian du thalamus** (pour traiter les patients ayant une épilepsie généralisée), du **cervelet** et de l'**hippocampe** (pour traiter les patients ayant une épilepsie du lobe temporal) (Lockman and Fisher, 2009; Cukiert and Lehtimäki, 2017). Les paramètres de stimulation et en particulier la fréquence, ont un impact important concernant les effets de stimulation (Durand, 2009; Yu et al., 2018). Les stimulations thalamiques sont réalisées à haute intensité (autour de 5 V), contre seulement 2 V dans l'hippocampe. De plus, la plupart des centres réalisent des stimulations à haute fréquence (>100 Hz). Les pulses peuvent varier de 90 à 300 µs (Cukiert and Lehtimäki, 2017).

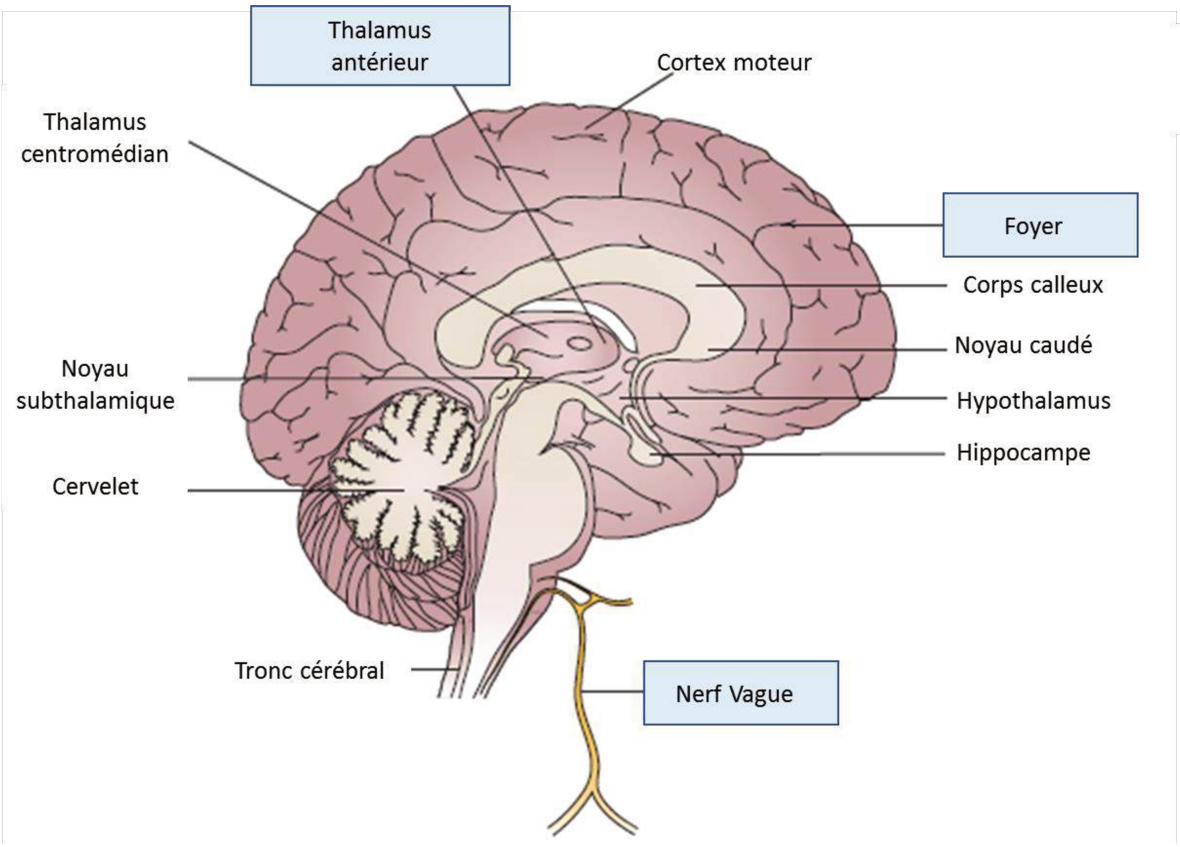


Figure 11 - Sites du système nerveux dans lesquels des SCP ont été réalisées pour tenter de contrôler les crises. L'efficacité a été prouvée pour les sites encadrés suite à des essais randomisés sur une large population.

Dans le cadre de l'épilepsie, il est également possible d'implanter des électrodes profondes dans le foyer épileptique (Figure 12) et de délivrer une stimulation en boucle fermée dès qu'un motif de début de crise est détecté par une autre électrode intracrânienne (cette fois-ci une électrode sous-durale (Morrell, 2011; Hartshorn and Jobst, 2018). Ce système – la responsive cortical stimulation - est basé sur le fait que des stimulations électriques peuvent interrompre les post décharges durant des tâches de cartographies fonctionnelles intracérébrales (Lesser et al., 1984). La durée de vie médiane d'un implant est d'approximativement 4 ans (Bin-Mahfoodh et al., 2003; Anheim et al., 2007).

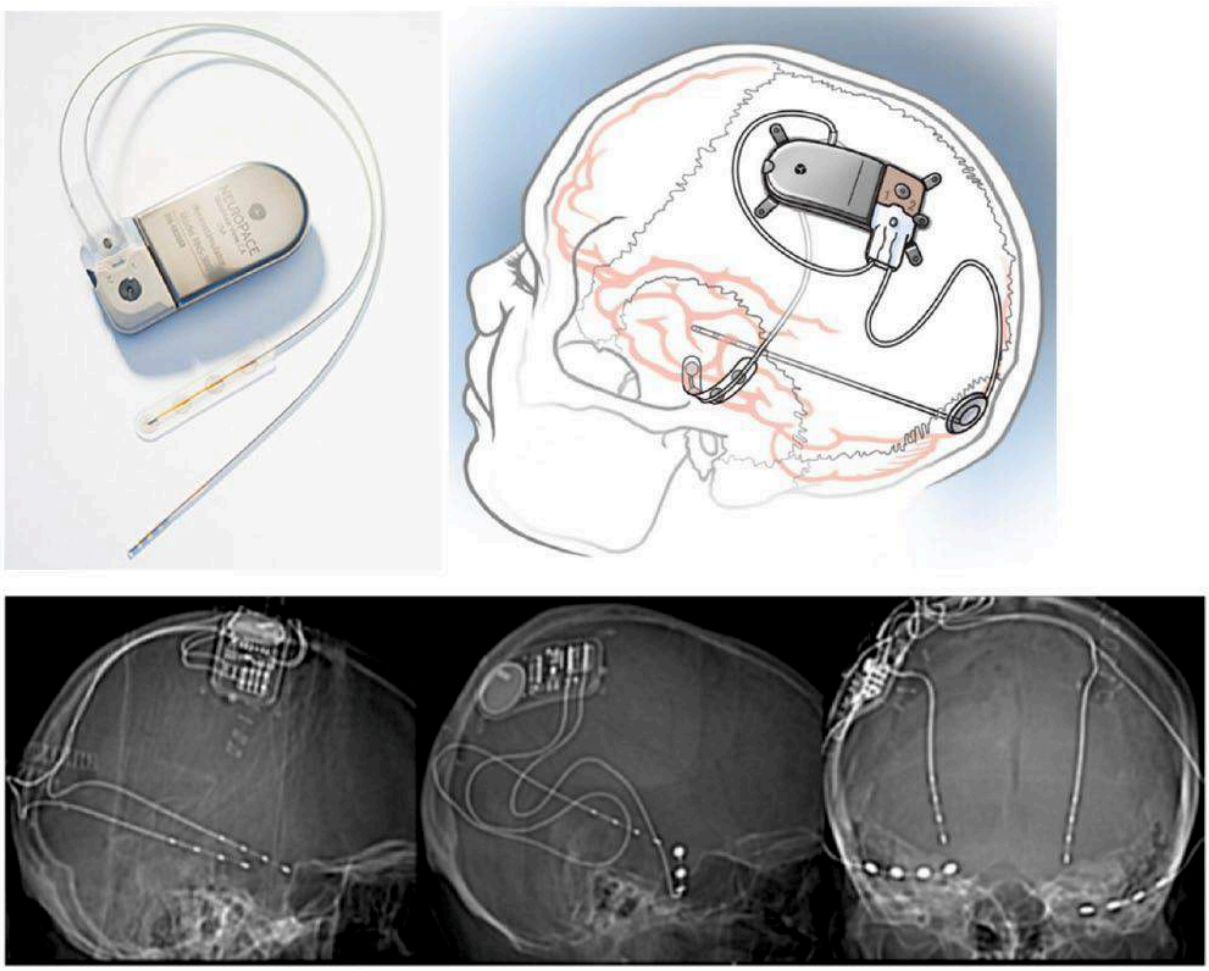


Figure 12 - Illustration d'un neurostimulateur. En haut à gauche, le stimulateur relié à une électrode sous durale et à l'électrode profonde de stimulation. En haut à droite, illustration de la position du stimulateur sur le crâne. En bas, trois images radiographiques montrant le positionnement du stimulateur et des électrodes (issu de Hartshorn and Jobst, 2018).

Lors d'une étude prospective, 102 patients ont été suivi sur le long terme 13 mois après l'implantation d'un système de responsive cortical stimulation (Salanova et al., 2015). 68% d'entre eux étaient considérés comme bon répondeurs (diminution de la fréquence des crises d'au moins 50%) et 16% étaient devenu libre de crises.

Ce manuscrit porte essentiellement sur l'épilepsie – plus précisément sur la phase diagnostique (détermination de la ZE) des épilepsies pharmacorésistantes en cours de bilan préchirurgical - mais il est important de garder à l'esprit que les **électrodes intracérébrales ont un intérêt et une utilité,** comme nous venons de le voir, **dans un large spectre de pathologies, à des fins thérapeutiques** (Lozano and Lipsman, 2013)**.** Les systèmes de neuromodulation sont notamment reconnus pour leur efficacité clinique sur les symptômes observés dans les tremblements essentiels, la maladie de Parkinson et la dystonie, et sont très prometteurs dans le traitement des troubles obsessionnels compulsifs, de la dépression (Grill and Wei, 2009), mais aussi de l'épilepsie (Fisher and Velasco, 2014). Ils sont même en cours d'étude pour tenter d'améliorer les troubles cognitifs de la maladie d'Alzheimer (Laxton et al., 2010; Senova et al., 2018).

2 Les principaux types d'électrodes invasives utilisés

Bien que des méthodes non-invasives comme l'imagerie par résonnance magnétique, l'EEG et la MEG donnent accès à de nombreuses données sur le cerveau humain, leur résolution n'est pas suffisante pour étudier les processus physiologiques au niveau cellulaire. Les approches cliniques permettent parfois d'utiliser des techniques d'enregistrement invasives dans le cerveau humain, principalement chez les patients souffrant d'épilepsie ou de troubles moteurs, qui permettent d'échantillonner l'activité neurale à des échelles spatiales allant des assemblées neuronales aux cellules unitaires. En plus de leur importance clinique, ces enregistrements permettent d'accéder à une vision unique des fonctions cérébrales comme le contrôle du mouvement, la perception, la mémoire, le langage et même la conscience.

Plusieurs pathologies nécessitent l'implantation d'électrodes pour les traiter ou affiner le diagnostic. Cependant, les électrodes utilisées en pratique clinique courante n'offrent qu'une résolution spatiale limitée. Des électrodes hybrides combinant macro et microélectrodes peuvent aider à **augmenter la résolution spatiale** et donc amener de nouvelles perspectives pour explorer par exemple l'épilepsie focale ou son traitement.

2.1 Électrodes sous durales

Des électrodes sous durales sont utilisées dans les épilepsies pharmaco résistantes dans le cadre de la méthode d'ECOG. Cette méthode est privilégiée dans le cas où les éléments préopératoires sont suffisamment importants pour suggérer la latéralité et l'origine lobaire des crises, mais que l'**étendue du tissu épileptique est méconnue**. Des grilles ou des bandes d'électrodes sont alors placées sur le lobe suspecté pour confirmer l'étendue précise du tissu cérébral pathologique et pour délimiter de façon précise les limites de la résection corticale. Ces électrodes sont composées de disques en argent, en platinium ou en acier inoxydable. Elles sont commercialisées dans de multiples configurations.

2.1.1 Implantation des électrodes sous durales

L'implantation d'électrodes sous-durales nécessite la réalisation d'une **craniotomie** (Voorhies and Cohen-Gadol, 2013). La tête du patient est entièrement rasée, même si pour des questions pratiques et de sécurité, les électrodes ne couvriront pas toute la surface du cerveau. En général, un large volet crânien en forme de « C » est surélevé pour permettre de déposer les électrodes en sous-cutané, à distance de l'incision. Il est nécessaire de protéger les artères temporales superficielles pour préserver la vascularité du volet crânien. Des techniques de neuronavigation peuvent également être utilisées si des électrodes profondes sont implantées en plus des électrodes sous-durales. Une grande surface des convexités frontales, temporales, pariétales et occipitales peuvent être couvertes à l'aide de bandes d'électrodes de taille appropriée. Un liquide d'irrigation est injecté sous les bandes et sur la surface du cerveau pour permettre aux bandes de glisser jusqu'à leur destination.

Les cliniciens neurophysiologistes doivent être capable de lire et d'interpréter le tracé pendant qu'il est effectué. L'ensemble des modifications de placement des électrodes et de montage doivent être effectués à ce moment-là. Il est donc primordial que le système d'enregistrement soit accessible directement dans le bloc opératoire. La période d'enregistrement dure environ 30 minutes (une durée plus importante est rarement nécessaire).

Les enregistrements à l'aide d'électrodes sous durales chez l'adulte sont généralement réalisés en condition d'éveil. Les agents anesthésiques utilisés pour ces procédures peuvent avoir un effet significatif sur les enregistrements. Certaines substances comme le Methohexital (un dérivé des barbituriques) et le l'Alfentanil (analgésique synthétique dérivé de la morphine) peuvent entrainer des modifications épileptiques, et d'autres peuvent supprimer l'activité épileptique (Keene et al., 2000).

2.1.2 Associations de microélectrodes aux électrodes sous durales

2.1.2.1 Les électrodes laminaires

Les électrodes laminaires permettent d'enregistrer l'activité cérébrale au travers de la profondeur du cortex et permettent d'étudier les activations spécifiques des différentes

couches (Prohaska et al., 1979; Barna et al., 1981; Ulbert et al., 2001). Elles sont utilisées uniquement en recherche. Le principal avantage de ces électrodes est qu'elles permettent d'obtenir simultanément des **mesures de l'ensemble des couches d'une colonne corticale**, permettant donc l'enregistrement d'activité multi-unitaire couche-spécifique (Figure 13.A,B). En revanche, le principal inconvénient de ces électrodes est qu'elles ne permettent d'enregistrer qu'un volume sphérique de 180° au lieu des 360° habituels.

Ces électrodes ont la capacité d'enregistrer des potentiels de champ locaux, des activités neuronales multi unitaires et des activités neuronales unitaires, à la fois chez des sujets anesthésiés ou éveillés (Ulbert et al., 2001). Généralement, les électrodes laminaires ont un diamètre de 350 µm et comprennent 24 contacts en platinium/iridium (40 µm de diamètre). Les électrodes sont implantées de façon perpendiculaire à la surface corticale. Elles sont utilisées en plus des électrodes sous-durales (Keller et al., 2009) (Figure 13.C) ou dans de rare cas, en plus des électrodes profondes (Halgren et al., 2015).

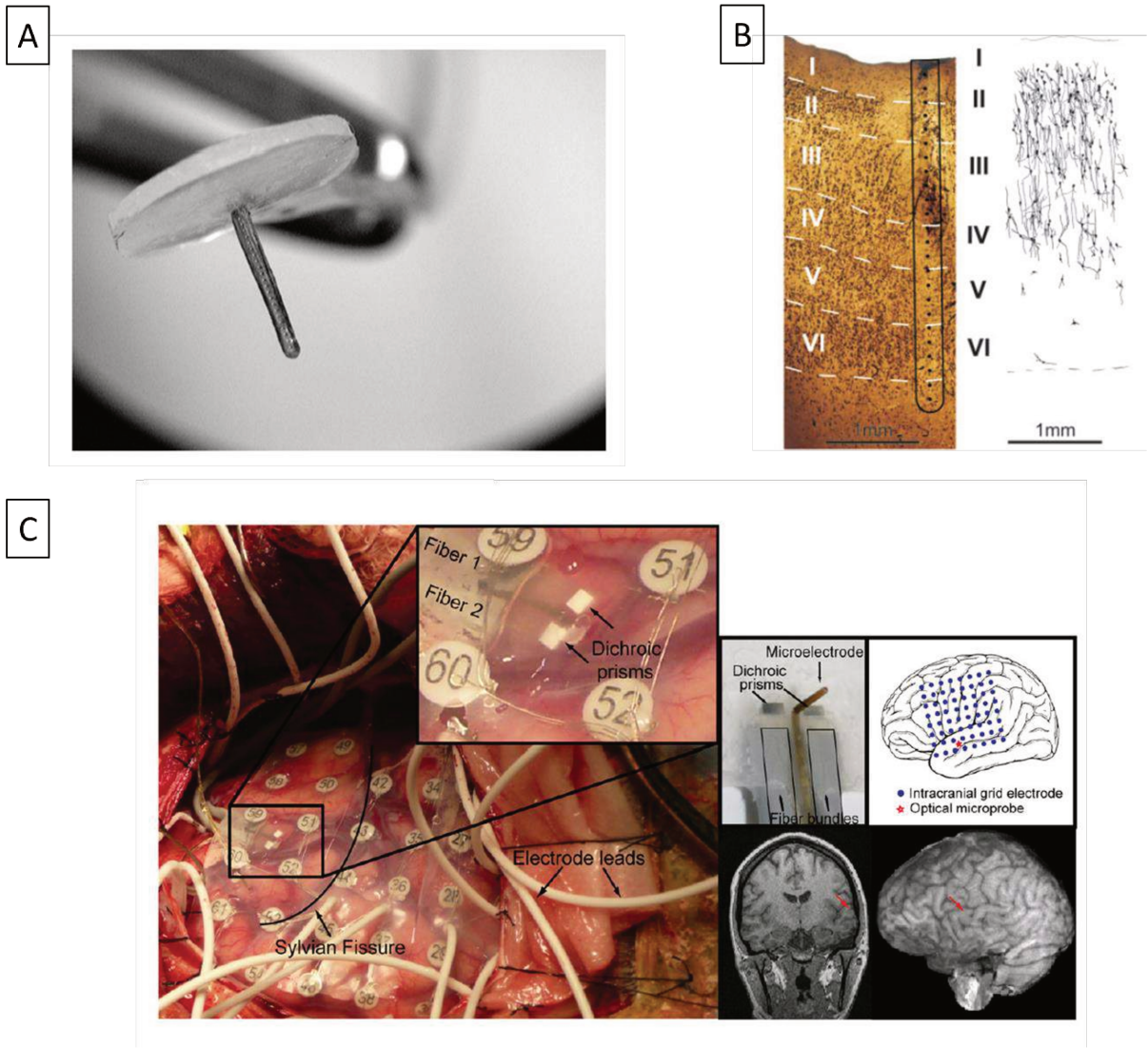


Figure 13 – Les électrodes laminaires. (A) Photographie d'une électrode laminaire issue de Ulbert et al., 2001. Le diamètre global est de 350 µm et 24 microcontacts de 40 µm de diamètre sont disposés tout le long de l'électrode. (B) Représentation des différentes couches dans lesquelles les différents microcontacts peuvent enregistrer l'activité de manière simultanée. Image issue de Csercsa et al., 2010. (C) Photographie d'une électrode laminaire associé à des électrodes sous-durales. L'électrode laminaire est insérée de façon perpendiculaire au cortex cérébral. Image issue de Keller et al., 2009.

Différents types d'électrodes laminaires ont été conçu pour réaliser des enregistrements chronique ou aigu chez l'Homme :

- Des **électrodes laminaires corticales**

Des enregistrements néocorticaux en chronique peuvent être obtenus à l'aide d'une électrode laminaire d'environ 4 mm de longueur, implantée en plus d'électrodes sous durales (Ulbert et al., 2001; Keller et al., 2009; Csercsa et al., 2010) (Figure 13).

- Des **électrodes laminaires profondes**

Ces électrodes ont été conçues pour réaliser des enregistrements dans les structures cérébrales profondes. Elles sont insérées à l'intérieur d'une macroélectrode clinique et sortent à son extrémité. Elles permettent de réaliser des enregistrements dans les structures hippocampiques, parahippocampiques, fronto basales et cingulaires (Halgren et al., 2015).

- Des **électrodes laminaires hippocampiques**

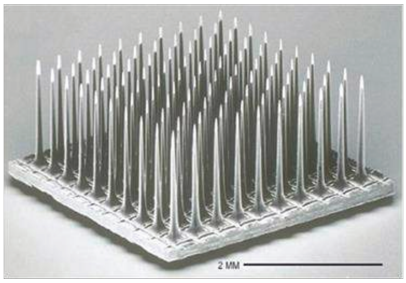
Ces électrodes ont été conçues pour réaliser des enregistrements en aigus de l'hippocampe juste avant la résection de celui-ci (cas où l'hippocampe est considéré comme étant la zone épileptogène). Cette microélectrode ne nécessite pas l'utilisation d'une macroélectrode. Les enregistrements obtenus avec cette microélectrode peuvent être associés aux différentes couches de l'hippocampe grâce à une analyse histologique suivant la résection de l'hippocampe (Ulbert et al., 2004; Fabo et al., 2008).

2.1.2.2 Les multielectrodes array

Les multielectrodes arrays (MEA) sont utilisées pour enregistrer l'activité cérébrale avec une résolution très fine. Elles permettent d'enregistrer simultanément des activités neuronales unitaires, des activités neuronales multi unitaires et des potentiels de champ locaux très localisés spatialement (Schevon et al., 2008, 2010; Truccolo et al., 2011, 2014; Wagner et al., 2015). Chez les patients épileptiques, elles sont utilisées en complément des électrodes sous durales, après les évaluations pré chirurgicales, pour affiner la localisation de

la zone à réséquer. Les MEA mesurent 4 mm x 4 mm et contiennent 96 microélectrodes en platine (Figure 14.A).

A



B

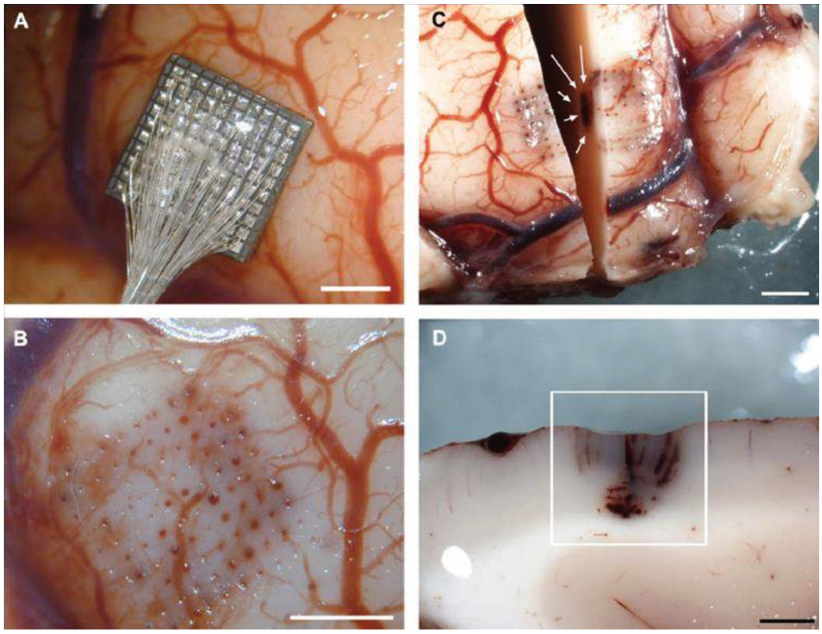


Figure 14 – Multiélectrodes array. (A) Visualisation d'une MEA au microscope électronique à balayage. (B) Visualisation de l'impact d'une MEA suite à la résection d'une partie du lobe temporal d'un patient. Des signes de microhémorragies sont visibles une fois que la MEA a été enlevée. Une coupe horizontale permet d'observer que l'hémorragie est étendue et n'est pas limitée à l'endroit où les microélectrodes étaient positionnées. Chaque barre en bas à droite des images mesure 2 mm. Images issues de Fernandez et al., 2014.

Ces microélectrodes sont également utilisées dans le cadre de **nouvelles stratégies thérapeutiques** pour rétablir des fonctions neuronales perdues, en réalisant des stimulations électriques spécifiques ou en exploitant les activités d'une large population neuronale. (Fernandez et al., 2014). L'utilité des microélectrodes array a été démontré pour interpréter les signaux cérébraux et les transformer en signaux moteurs, avant de pouvoir les utiliser pour

contrôler divers dispositifs (Hochberg et al., 2006; Andersen et al., 2010; Rao and Donoghue, 2014). Le problème est que ces microélectrodes ont une durée de vie limitée, de quelques mois à quelques années (Suner et al., 2005; Prasad et al., 2012; Barrese et al., 2013).

L'implantation d'une électrode intracérébrale est une procédure traumatique qui peut abimer les neurones alentours ainsi qu'impacter la vascularisation. Quand une électrode est insérée dans le cerveau, des neurones et/ou des cellules gliales sont tués ou détériorés et des microhémorragies peuvent apparaitre. Dans le cas des MEA, les microhémorragies sont assez importantes du fait de la densité des microélectrodes (Figure 14.B). Les dégâts observés sont très probablement la résultante de la rencontre d'un grand nombre de vaisseaux sanguins lors de l'insertion. Des microhémorragies n'ont pas forcément de conséquence clinique mais elles peuvent s'étendre au-delà de l'extrémité des électrodes (Fernandez et al., 2014). Ces microhémorragies ne sont pas acceptables pour des implants supposés rester implantés pendant plusieurs années. Il est nécessaire d'arriver à mieux comprendre ce phénomène pour trouver des stratégies permettant de l'éviter. Cela permettrait d'avoir des implants beaucoup plus performants à l'avenir.

2.2 Électrodes profondes

Des électrodes profondes sont utilisées en épilepsie dans le cadre de la SEEG. En général, chaque patient est implanté avec 5 à 15 électrodes profondes, unilatéralement ou bilatéralement (chaque électrode étant composée de 5 à 18 plots d'enregistrements). Ces électrodes sont en platinium/iridium et ont un diamètre de 0,8 ou de 1,3 mm en fonction du fabricant. Elles permettent de cibler principalement les **structures limbiques** (lobe temporal médian, région cingulaire, orbitofrontale et insulaire) mais permettent aussi d'enregistrer l'activité cérébrale à partir de sites latéraux.

Des électrodes profondes sont également utilisées dans d'autres pathologies comme dans la maladie de Parkinson. Chaque électrode comporte quatre plots d'enregistrements de 1,5 mm, espacés de 0,5 ou de 1,5 mm. L'électrode est en platinium/iridium et son diamètre est de 1,3 mm. Ces électrodes permettent de délivrer des stimulations électriques.

2.2.1 Implantation des électrodes profondes

L'implantation d'électrodes profondes est généralement réalisée en deux étapes, toutes deux sous anesthésie générales (Cossu et al., 2008) :

(1) Repérage

L'objectif de cette première étape est de recueillir les différents éléments neuroradiologiques stéréotaxiques nécessaires à l'implantation. Le crâne du patient est positionné dans le cadre de stéréotaxie avec des pointes transosseuses permettant un repositionnement ultérieur. Une angiographie stéréotaxique et stéréoscopique en conditions de téléradiographie (Szikla et al., 1975), numérisée à l'heure actuelle, est alors réalisée. Elle permet d'élaborer un plan d'implantation des électrodes en choisissant des trajectoires avasculaires. Le patient est alors réveillé et une IRM en acquisition tridimensionnelle stéréotaxique est réalisée avant la procédure chirurgicale suivante. A l'aide de logiciels informatiques de neuronavigation, une coregistration des différents examens neuroradiologiques pré ou postopératoire sera réalisée et intégrée dans un référentiel de stéréotaxie construit sur la base de la position des commissures blanches antérieurs et postérieures. Sur la base de ces données et en fonction des nécessités imposées par les données anatomo-électrocliniques, un véritable plan d'implantation des électrodes pourra être établi.

(2) Implantation des électrodes

Le crâne du patient est repositionné dans le cadre de stéréotaxie, dans la même position que lors de l'exploration angiographique. La trajectoire de chaque électrode est déterminée en tenant compte des régions anatomiques à explorer et des contraintes vasculaires existantes. L'orifice d'entrée de l'électrode est réalisé à l'aide d'une mèche et la dure mère est coagulée. Une vis de guidage est alors mise en place. De façon générale, avant l'introduction de l'électrode, la trajectoire est testée par l'introduction d'un stylet rigide permettant à la fois de mettre en évidence une éventuelle résistance et de faire une « prétrace » pour l'électrode. Cette dernière est solidarisée à la vis par un joint torique permettant d'obtenir l'étanchéité de la vis et éviter ainsi une fuite de liquide céphalo-rachidien. Une IRM ou un scanner avec les électrodes en place est réalisé systématiquement en postopératoire afin de déterminer avec précision la position anatomique de tous les contacts électriques intracérébraux et de vérifier s'il n'y a pas de complication vasculaire. Dans le cadre de la SEEG, la phase d'enregistrement

en vidéo-SEEG débute dès le soir ou le lendemain de l'implantation. Cette phase peut durer de quelques jours à trois semaines et se termine par l'ablation sous anesthésie locale de l'ensemble des électrodes.

2.2.2 Les différents modèles de microélectrodes profondes

2.2.2.1 Microélectrodes en faisceau à distance de la macroélectrode

Des microélectrodes sont associées aux macroélectrodes cliniques depuis une vingtaine d'années. Ces électrodes hybrides, développées par la société Ad-Tech Medical, comportent **deux composantes** (Figure 15.A), (Babb et al., 1973; Fried et al., 1999) :

- Une **composante clinique**, une macroélectrode comprenant 8 plots d'enregistrements en platinium/iridium d'un diamètre de 1,3 mm et d'une longueur de 0,8 mm
- Une **composante de recherche**, 8 microfilaments en platinium/iridium d'un diamètre de 40 µm chacun, isolés dans du téflon et 1 microfilament dénudé utilisé comme référence

Avant d'être implantées, les microélectrodes sont **manipulées** au niveau de leur extrémité jusqu'à l'obtention d'une configuration évasée optimale (voir Figure 15.B). Cette configuration permet d'obtenir un signal de meilleure qualité ainsi qu'une meilleure moisson neuronale (en moyenne 1,4 ± 0,5 neurones unitaires par électrode en configuration sub-optimale et 2,7 ± 0,8 neurones unitaires par électrode en configuration optimale, (Misra et al., 2014)). Suite à cette manipulation, chaque microélectrode est **coupée** individuellement à l'aide d'une lame. La longueur des microélectrodes à partir de l'extrémité de la macroélectrode sera comprise entre 1 et 5 mm. **La composante de recherche est insérée à l'intérieur de la composante clinique**, une fois que celle-ci a été implantée.

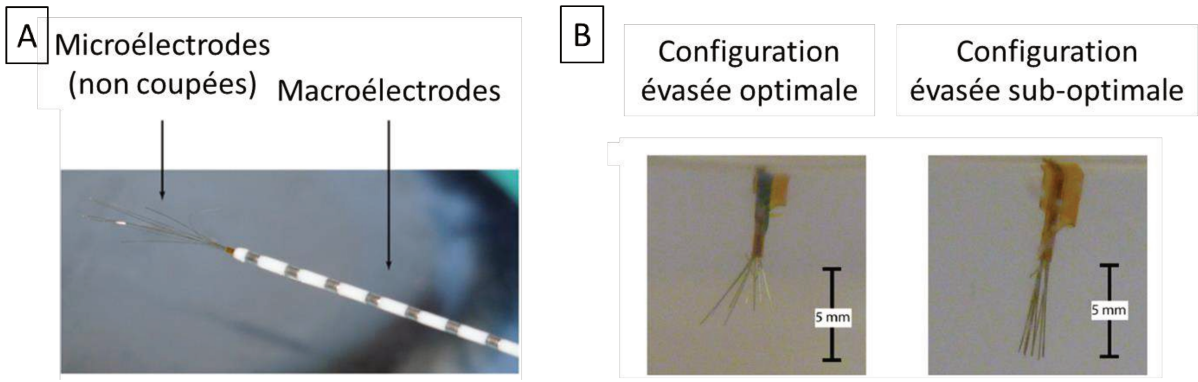


Figure 15 – Électrode hybride profonde. (A) Cette électrode hybride est constituée d'une composante recherche avec 9 microfilaments, insérée à l'intérieur d'une composante clinique comprenant 8 plots d'enregistrements. Le diamètre de cette électrode est de 1,3 mm. (B) Avant l'implantation, les microfilaments sont manipulés et pliés jusqu'à l'obtention d'une configuration évasée optimale. Images issues de Misra et al., 2014.

Ce type d'électrode est idéal pour étudier l'activité provenant des **structures profondes** comme le lobe temporal médian (Kreiman et al., 2002; Quiroga et al., 2005; Jacobs et al., 2007; Ogren et al., 2009). Cependant, du fait de la sortie des microélectrodes à l'extrémité de la macroélectrode, les régions néocorticales ne peuvent pas être étudiées par cette technique. De plus, les macroélectrodes et les microélectrodes ne pourront pas toujours être en mesure d'enregistrer dans les mêmes régions cérébrales, en particulier si la structure d'intérêt est de petite taille.

Ces électrodes hybrides ne présentent **aucun risque additionnel**. En effet, il n'y a pas de différence avec une macroélectrode clinique concernant la précision de la localisation des électrodes, les hémorragies et les complications cliniques (Cardinale et al., 2013; Hefft et al., 2013; Carlson et al., 2018).

2.2.2.2 Microélectrodes affleurant la macroélectrode

Dans un article récent, une électrode hybride avec des **microélectrodes affleurant** une macroélectrode a été utilisée (Self et al., 2016). Cette électrode hybride a un diamètre de 1,1 mm et comporte au moins 6 macrocontacts espacés de 5 mm chacun. 8 microcontacts sont également présents sur cette électrode. Ils sont constitués de platinium/iridium (40 µm de

diamètre) et sont disposés par deux (un de chaque côté de l'électrode) à l'extrémité de l'électrode, entre les macroplots 1 et 2, entre les macroplots 2 et 3 et entre les macroplots 3 et 4 (Figure 16).

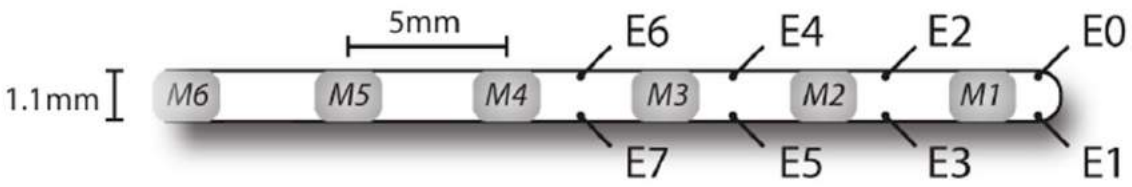


Figure 16 – Microélectrodes affleurant les bords de la macroélectrode. Cette électrode hybride comporte 8 microcontacts insérés à différents niveaux de l'électrode (de l'extrémité jusqu'au 4ème macrocontact). Image issue de Self et al., 2016.

Les performances de cette électrode hybride semblent modérées. D'après l'étude de (Self et al., 2016), pour une électrode hybride comportant un total de 8 microcontacts, 5 microcontacts n'ont pas permis d'enregistrer des potentiels d'action et 1 microcontact a dû être exclu à cause d'un niveau de bruit trop important, ce qui laisse seulement deux microcontacts fonctionnels. De plus, ces deux microcontacts ont seulement enregistrés des activités multi-unitaires.

2.2.3 Microélectrodes seules

L'utilisation de microélectrodes permet également d'aider à localiser des cibles spécifiques durant la chirurgie d'implantation des électrodes chez les patients atteints de troubles moteurs. Des enregistrements de neurones unitaires permettent un **placement final plus précis de l'électrode** en comparaison à des méthodes de recalage entre IRM et scanner (Hutchison et al., 1998; Gross et al., 2006; Seifried et al., 2012). De plus, les hôpitaux ne sont pas dotés d'IRM permettant de visualiser les différentes couches du thalamus alors que les enregistrements électrophysiologiques permettent de faire la distinction entre les différentes couches.

Au moment de la chirurgie, un stylet est guidé et inséré au travers d'une canule jusqu'à 15 à 20 mm de la cible. Le stylet est ensuite enlevé et une ou plusieurs microélectrodes (maximum 5, en platinium/iridium ou en tungstène) sont insérées dans la canule. Un microdescendeur est ensuite utilisé pour descendre les microélectrodes petit à petit jusqu'à obtenir la **signature électrophysiologique de la cible** (Figure 17). Les microélectrodes sont alors retirées et la macroélectrode profonde est implantée. Les signaux électrophysiologiques obtenus par cette électrode sont détaillés dans la partie « Enregistrements intracérébraux dans la maladie de Parkinson » à la page 81.

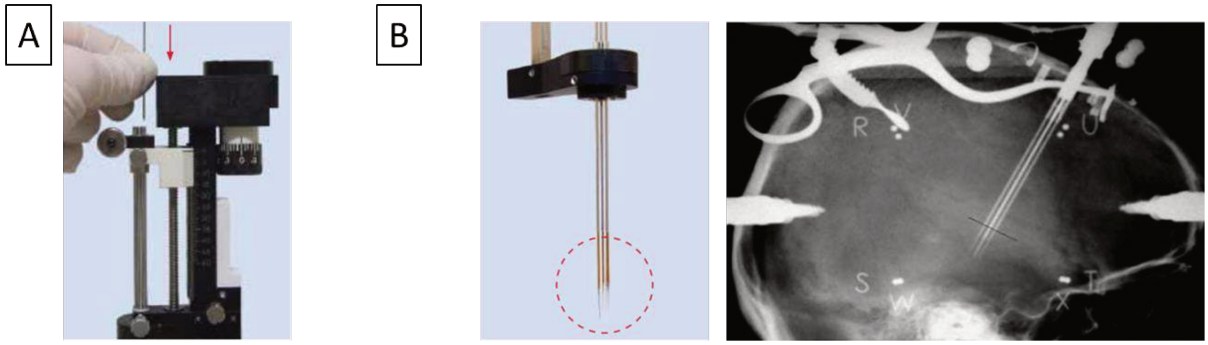


Figure 17 – Microélectrodes utilisées dans les troubles moteurs. (A) Insertion d'une ou plusieurs microélectrodes dans le microdescendeur. (B) Jusqu'à 5 microélectrodes peuvent être utilisées. Elles sont descendues progressivement dans le cerveau jusqu'à atteindre la cible souhaitée. Images issues de https://www.fh-co.com.

Résumé

Dans certaines pathologies, l'implantation d'électrodes peut être nécessaire dans le but de traiter ou d'affiner le diagnostic. Ces électrodes peuvent servir à enregistrer de l'activité électrophysiologique ou à réaliser des stimulations électriques intracérébrales.

Il existe deux principaux types d'électrodes intracérébrales :

(1) **Les électrodes profondes**

Leur diamètre est compris entre 0,8 et 1,3 mm et elles peuvent comporter jusqu'à 18 plots d'enregistrements.

Dans le cadre de l'épilepsie, elles sont combinées avec des microélectrodes pour augmenter la résolution spatiale sous la forme de :

- microélectrodes à distance de la macroélectrode (3 à 5 mm)
- microélectrodes affleurant la macroélectrode

Dans le cadre de la maladie de Parkinson, des microélectrodes sont utilisées pour affiner le placement des macroélectrodes. En effet, les signatures électrophysiologiques enregistrées avec les microélectrodes permettent d'obtenir une meilleure appréciation des différentes couches du thalamus que les méthodes d'imagerie classiques (IRM, scanner).

(2) **Les électrodes sous-durales**

Elles consistent en des bandes ajustables en fonction de la taille de la zone à explorer. Des microélectrodes peuvent être ajoutés :

- des microélectrodes laminaires, permettant d'effectuer des mesures au travers de l'ensemble des couches d'une colonne corticale
- des multiélectrodes array, permettant d'enregistrer une quantité importante d'activités neuronales de façon simultané. Ces multiélectrodes array comportent 96 microélectrodes sur une surface de 4 x 4 mm.

3 Apport des microélectrodes

Dans le cadre de l'épilepsie, les explorations invasives permettent d'apporter de l'information sur l'épilepsie du patient, sur l'épilepsie de façon générale, mais également sur des processus cognitifs en fonction des tâches qui sont proposées. Il est important de rappeler que ces données sont très rares et très précieuses. En effet, les épilepsies pharmaco résistantes sont le seul cas aujourd'hui permettant d'accéder à des enregistrements intracérébraux (et donc à de l'activité neuronale) dans diverses structures cérébrales chez l'Homme.

De façon plus générale, l'utilisation de microélectrodes a permis de réaliser également des avancées dans différents domaines : que ce soit dans l'épilepsie, dans la compréhension de processus cognitifs, dans la maladie de Parkinson ou encore chez des patients cérébrolésés. Les principales avancées sont détaillées dans ce chapitre.

3.1 L'activité neuronale dans l'épilepsie

La synchronisation d'activités neuronales est supposée être à la base des processus fondamentaux cérébraux tels que la perception, l'apprentissage et la cognition (Varela et al., 2001). Dans les maladies neurologiques, la synchronisation des neurones peut être altérée. Plus spécifiquement, dans l'épilepsie, cette synchronisation joue un rôle important en augmentant l'excitabilité cellulaire (Penfield and Jasper, 1954).

Les pointe intercritiques, en plus des crises, sont un indicateur important de l'épileptogénicité et reflètent une **synchronisation neuronale anormale**. Elles sont utilisées en routine clinique pour le diagnostic de l'épilepsie et jouent un rôle majeur dans la localisation du foyer épileptogène (Penfield and Jasper, 1954; Baumgartner et al., 1995; Holmes et al., 2000; Blume et al., 2001; de Curtis and Avanzini, 2001). Les pointes intercritiques apparaissent de façon spontanée entre les périodes de crise. Elles sont de grande amplitude et comportent une composante rapide (50 à 100 ms) suivie généralement d'une onde lente d'une durée de 200 à 500 ms (Gotman and Gloor, 1976; de Curtis and Avanzini, 2001). Elles peuvent être retrouvées dans la zone à l'origine des crises mais également dans la zone irritative (Talairach and Bancaud, 1966).

D'après des études chez l'animal, ces pointes reflètent des **décharges neuronales synchrones et excessives** provenant d'une large population de neurones (Goldensohn and Purpura, 1963; Matsumoto and Marsan, 1964). Cependant, bien que ce phénomène ait été observé dans de nombreux modèles d'épilepsie focale chez l'animal, il semble être plus complexe chez l'Homme. L'utilisation de microélectrodes chez les patients épileptiques a permis de revoir la conception historique de décharges neuronales synchrones et excessives durant les pointes intercritiques (Keller et al., 2010; Alvarado-Rojas et al., 2013). En effet, cela a permis de mettre en évidence la **grande diversité d'activités neuronales** autour de ces évènements (à la fois des augmentations et des diminutions du taux de décharges à différents moments de la pointe intercritique, Figure 18). Une telle variété d'activités neuronale conforte l'hypothèse que les pointes intercritiques proviennent d'un réseau ayant de complexes interactions et met en avant l'importance de l'activité inhibitrice dans des évènements paroxystiques en apparence excitateurs.

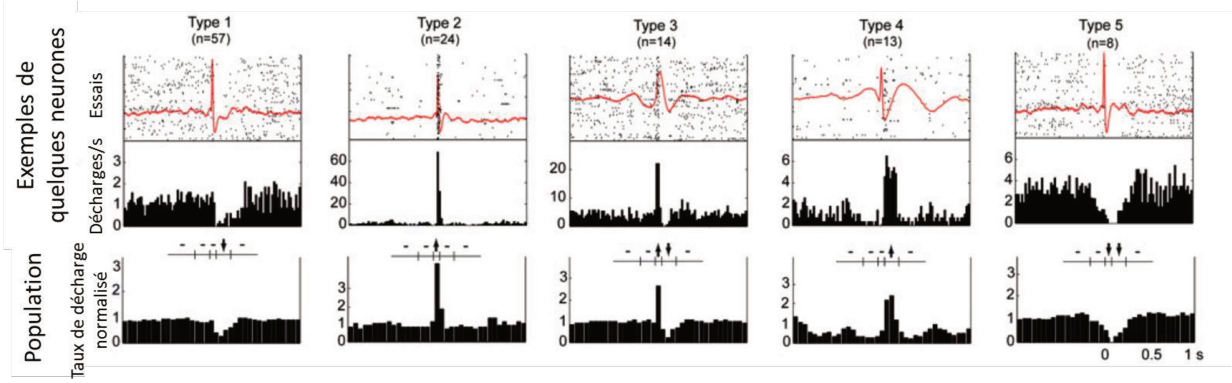


Figure 18 – Classification des réponses neuronales durant des pointes intercritiques. Nous pouvons observer des potentiels de champ locaux moyennés, les raster plot et les histogrammes correspondant pour chaque neurone ou population neuronale. Les flèches indiquent des modifications significatives du taux de décharge par rapport à la ligne de base (- 500 à -200 ms avant la pointe intercritique). Image issue de Keller et al., 2010.

De la même façon que les pointes intercritiques, les crises épileptiques ont d'abord été caractérisées comme étant des activations hypersynchronisées d'une grande population neuronale (Fisher et al., 2005). Des études ultérieures ont cependant montré que les interactions étaient beaucoup plus complexes qu'une simple synchronisation et qu'il existait des décharges neuronales hétérogènes durant les crises (Netoff and Schiff, 2002; Mormann et al., 2003; Cymerblit-Sabba and Schiller, 2010; Truccolo et al., 2011; Jiruska et al., 2013, voir Figure 19).

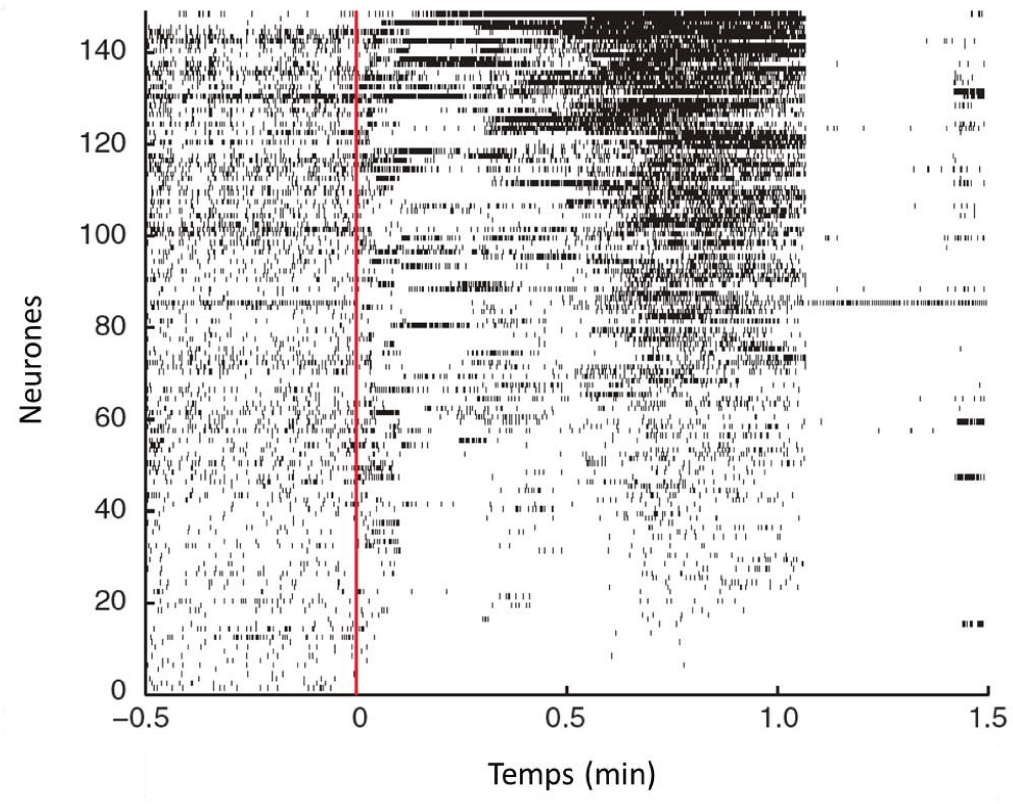


Figure 19 – Décharges neuronales hétérogènes durant une crise d'épilepsie. Raster plot de l'ensemble des neurones enregistrés avec une microelectrode array pendant une crise. Chaque trait représente l'apparition d'un potentiel d'action. Les neurones ont été triés dans l'ordre croissant en fonction de leurs taux de décharge pendant la crise. L'activité devient de plus en plus hétérogène au cours du temps jusqu'à l'arrêt brutal de la crise. Image issue de Truccolo et al., 2011.

Plus récemment, une étude (toujours avec des microélectrodes) a permis de mettre en évidence que l'activité d'un groupe de neurones variait plusieurs minutes avant l'apparition d'une crise (Lambrecq et al., 2017). Cela suggère qu'un sous-ensemble de neurones est suffisant pour initier un départ de crise et que les mécanismes à l'origine des crises peuvent s'opérer dans des microdomaines d'une échelle inférieure au millimètre.

Durant cette thèse, nous nous sommes intéressés aux activités neuronales enregistrées pendant divers évènements épileptiques. Les méthodes que nous avons choisi d'utiliser sont détaillées dans la partie « Optimisation de l'analyse des activités neuronales » à la page 163.

3.2 Les biomarqueurs de la zone épileptogène : les fast-ripples

Ces dernières années, l'attention dans la recherche sur l'épilepsie s'est portée sur les **oscillations à haute fréquence** (HFOs) apparaissant en **période intercritique** (entre les crises). Ces HFOs sont définies comme étant des évènements spontanés, composés d'au moins 4 oscillations distinctes de l'activité de fond (Jacobs et al., 2012). Les HFOs comprises entre 80 et 600 Hz indiquent une **synchronisation à court terme d'assemblées neuronales** (Buzsaki et al., 1992; Curio, 2000; Jones et al., 2000; Grenier et al., 2001). Ces oscillations ont été décrites à la fois chez l'animal et chez l'Homme et sont plus facilement enregistrées à l'aide de **microélectrodes** (Engel Jr et al., 2009; Demont-Guignard et al., 2012; Zijlmans et al., 2017).

Les HFOs sont divisées en deux catégories :

(1) Les HFOs comprises entre 80 et 200 Hz, appelées **ripples** (Figure 20). Ils sont **physiologiques**. Ils peuvent être enregistrés dans l'hippocampe et dans les structures parahippocampiques saines, à la fois chez l'Homme et chez l'animal. Ils sont supposés refléter les potentiels de champ inhibiteurs qui facilitent le transfert d'information longue distance en synchronisant l'activité neuronale.

(2) Les HFOs comprises entre 200 et 600 Hz, appelées **fast-ripples** (FR, Figure 20). Ils sont **pathologiques**. Ils sont supposés refléter l'hypersynchronisation des potentiels d'actions. Ils sont retrouvés chez l'Homme et chez l'animal dans les structures cérébrales associées à l'épilepsie. Ils permettent l'identification des régions cérébrales capable de générer des crises spontanées et sont supposés refléter le **substrat de l'épileptogenèse et de l'épileptogénicité**.

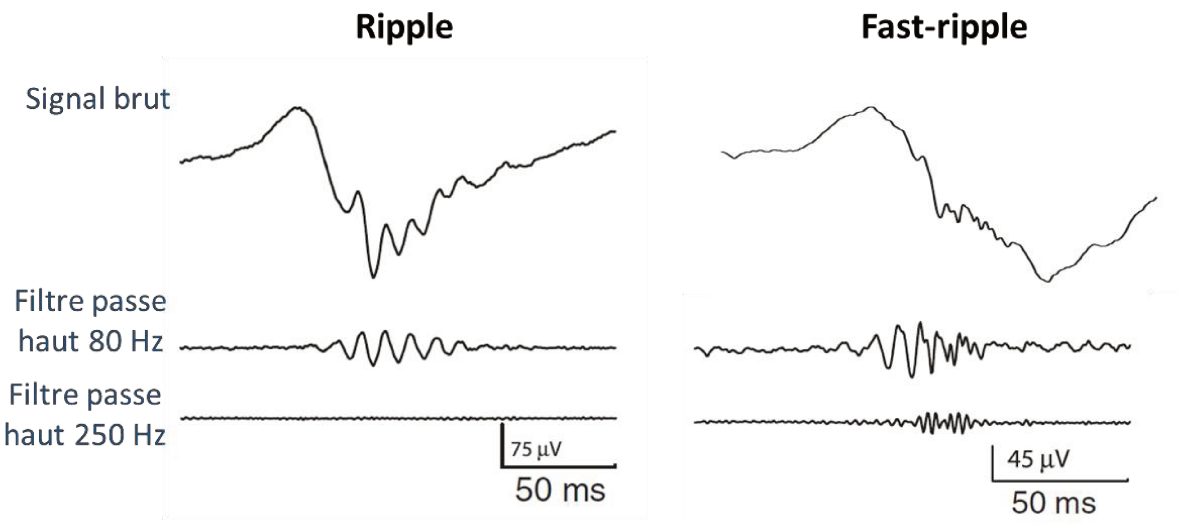


Figure 20 – HFOs. Illustrations d'un ripple (à gauche) et d'un fast-ripple (à droite) apparaissant pendant des pointes intercritiques. Adapté d'Urrestarazu et al., 2007.

Des études rétrospectives chez l'Homme ont montré que la résection des régions cérébrales associées à un fort taux de HFOs donnait de meilleurs résultats que la résection de régions cérébrales associées à un faible taux de HFOs (van 't Klooster et al., 2011; Jacobs et al., 2012; Haegelen et al., 2013; Okanishi et al., 2014; Usui et al., 2015; Fujiwara et al., 2016). D'autres études suggèrent qu'il est plus important de déconnecter les réseaux générant les HFOs plutôt que de tous les réséquer. En effet, le taux de HFOs enregistrés suite à la résection serait un meilleur prédicteur du résultat de la chirurgie que le taux d'HFOs enregistrés avant la résection (van 't Klooster et al., 2015; Zijlmans et al., 2017).

Les HFOs, et en particulier les FR, sont également capable de **refléter l'activité de la pathologie**. Chez l'Homme, contrairement aux pointes intercritiques, le nombre d'HFOs n'augmente pas après les crises mais augmente après la diminution du traitement antiépileptique (de façon similaire aux crises) (Zijlmans et al., 2009). Cela veut dire que les pointes intercritiques et les HFOs ont des mécanismes physiopathologiques différents et que les HFOs sont plus intimement liés aux crises que les pointes intercritiques. De plus, des études ont montré que le taux d'HFOs était corrélé avec la sévérité de la pathologie (Qian et al., 2016; van Klink et al., 2016b).

Les HFOs, et en particulier les FR (200-600 Hz), semblent être de bons biomarqueurs de la zone épileptogène. A l'origine, les HFOs étaient utilisées dans le contexte de la chirurgie de l'épilepsie pour délimiter l'étendue de la zone à réséquer. Il existe maintenant d'autres applications comme l'évaluation de la sévérité de l'épilepsie ou le suivi de la réponse à un traitement antiépileptique.

Durant cette thèse, nous nous sommes intéressés plus en détail à ces oscillations, le but étant de valider leur utilité et d'essayer d'optimiser leur détection pour qu'elles puissent être utilisées un jour en pratique clinique courante. Les caractéristiques que nous avons pris en compte et les méthodes de détection utilisées sont détaillés dans la partie «Caractérisation des fast-ripples» à la page 159.

3.3 Enregistrements intracérébraux dans la maladie de Parkinson

La SCP du noyau sous-thalamique est un traitement très efficace pour les patients atteints de la maladie de Parkinson à un stade avancé. Cette méthode permet d'améliorer la qualité de vie des patients de façon beaucoup plus importante que toutes les thérapies médicales (Weaver et al., 2009; Williams et al., 2010).

Le noyau sous-thalamique est divisé en plusieurs zones : dorsolatérale (sensorimoteur), ventrale (limbique) et médioventrale (associative) (Parent and Hazrati, 1994; Temel et al., 2005). L'implantation des macroélectrodes dans le cadre de la SCP est jugée optimale si l'électrode se trouve dans la **région sensorimotrice**. En effet, des stimulations de cette région permettent d'avoir un bénéfice moteur optimal et d'éviter aux patients d'avoir des effets cognitifs et comportementaux indésirables (Herzog et al., 2004; Godinho et al., 2006).

Des enregistrements peropératoires à l'aide de microélectrodes permettent d'enregistrer l'activité neuronale unitaire est de se repérer dans les différentes régions du noyau sous-thalamique (Hutchison et al., 1998). En effet, chaque région va présenter une signature électrophysiologique qui lui est propre (Figure 21), le paramètre le plus important étant le motif de décharge neuronale (Seifried et al., 2012). L'identification des différentes régions du noyau sous-thalamique à l'aide de microélectrodes permet de positionner

beaucoup plus efficacement la macroélectrode de stimulation, et ce du premier coup (Gross et al., 2006).

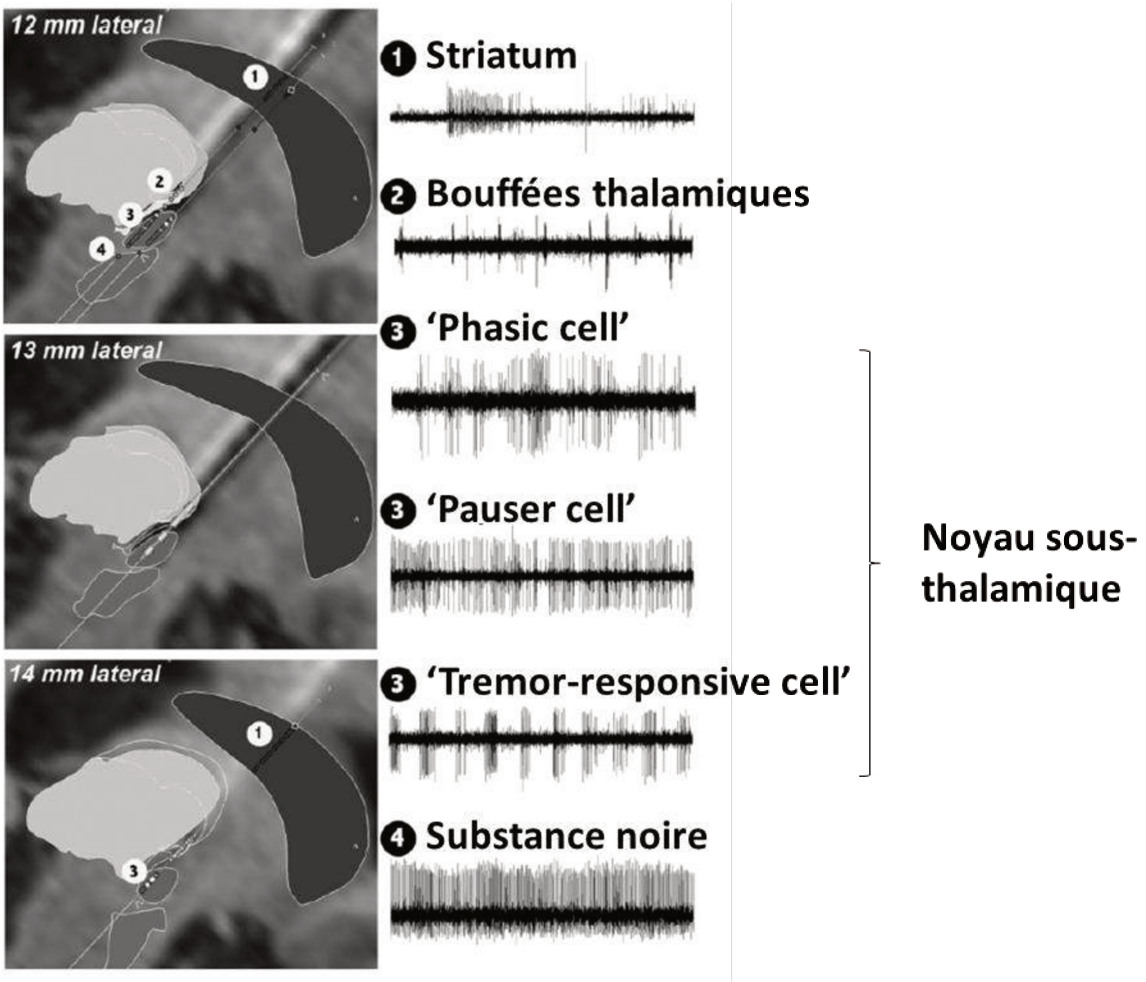


Figure 21 – Cartographie du noyau sous-thalamique à l'aide de microélectrodes. Les activités neuronales caractéristiques du striatum, du thalamus, du noyau sous thalamique (avec les phasic cell, pauser cell et tremor-responsive cell) et de la substance noire (délimitant la partie ventrale) sont représentées. Image adaptée de Gross et al., 2006.

3.4 Implantation de prothèses neurales

Les prothèses neurales (**PN**) sont une application clinique de la neurophysiologie et de l'électrophysiologie (Loeb, 2018). Presque toutes les fonctions physiologiques sont coordonnées et contrôlées par des signaux électriques partageant des principes biophysiques et des mécanismes cellulaire similaire : la perception sensorielle, le mouvement, la cognition, les émotions, la digestion, etc. La technologie permettant d'enregistrer et de manipuler ces signaux a été utilisée dans un premier temps pour essayer de les identifier et de les comprendre et par la suite, pour tenter de de moduler des dysfonctionnements cliniques. La

plupart des PN approuvées et cliniquement efficaces aujourd'hui utilisent une technologie dérivée de celle des pacemakers cardiaques des années 1970 (Figure 22).



Figure 22 – Prothèses neurales approuvées et efficaces cliniquement. Ces prothèses sont composées d'une boite hermétique en titane et sont reliés à des électrodes (en platine la plupart du temps). Image adaptée de Loeb, 2018.

Des microélectrodes implantées de façon chronique dans le cortex cérébral sont très prometteuses pour arriver à **utiliser l'activité neuronale pour contrôler des dispositifs**, avec suffisamment de vitesse et d'agilité pour remplacer les mouvements chez des personnes paralysées (Schwartz, 2004). Les PN corticales, une sous-catégorie des PN, permettent à la fois de réaliser des enregistrements et des stimulations.

Le contrôle des prothèses à l'aide de signaux corticaux nécessite que des multielectrodes arrays soient implantées de façon permanente dans le cortex cérébral. Ces microélectrodes doivent être capable d'enregistrer des populations neuronales unitaires et multi-unitaire indéfiniment. L'information contenue dans les enregistrements neuronaux doit ensuite être extraite de façon continue et en temps réel. Les prothèses utilisées doivent se

rapprocher le plus possible de la configuration et de l'agilité de ce pourquoi elles ont été faites (par exemple un bras, Figure 23).

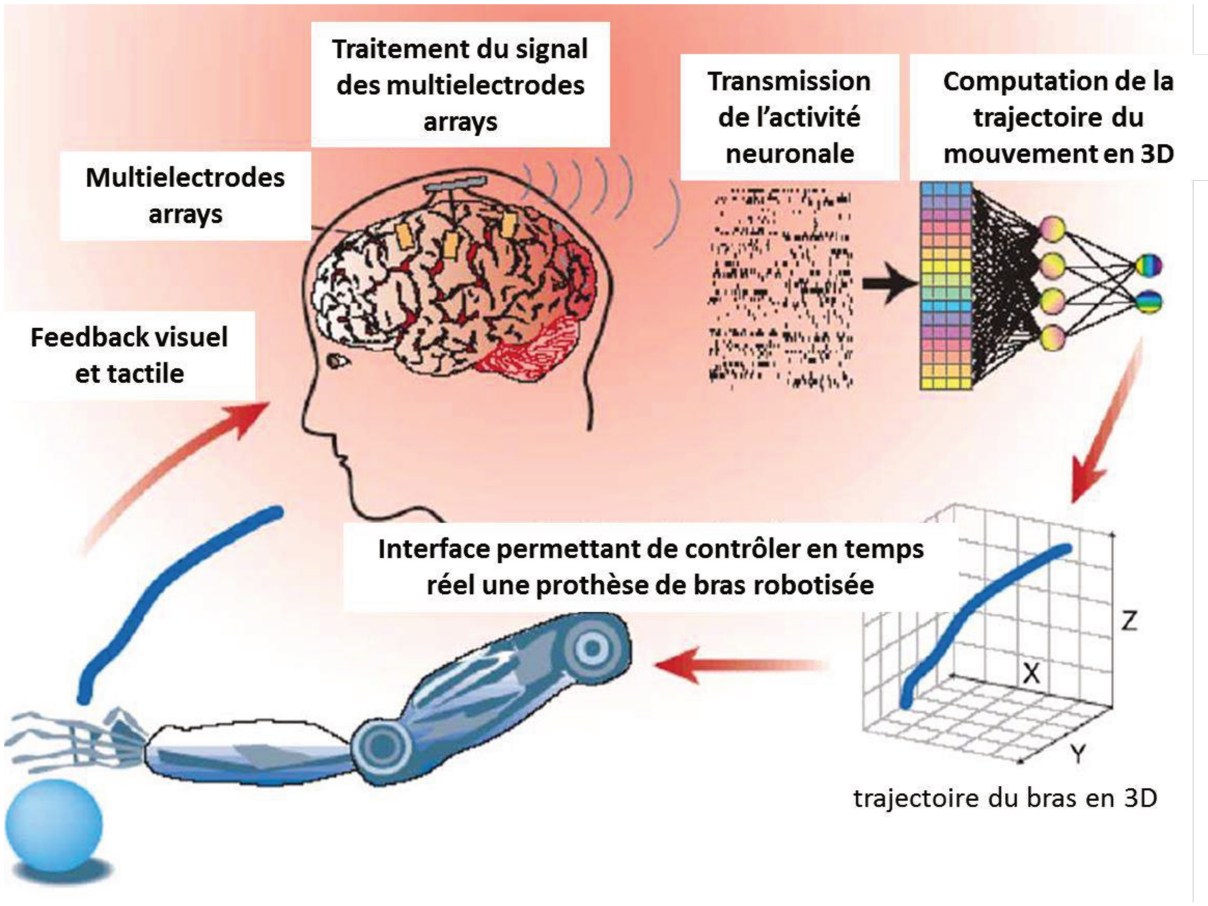


Figure 23 – Description schématique d'une application de PN cognitive. Les multielectrodes arrays permettent d'échantillonner l'activité d'une large population neuronale pour ensuite contrôler les mouvements d'une prothèse de bras. Image issue de (Nicolelis, 2001).

Il existe encore une autre méthode dérivée des PN : les prothèses neurales cognitives (Andersen et al., 2010). C'est une méthode modulable, permettant d'assister les patients paralysés et les patients amputés. Les prothèses neurales cognitives enregistrent l'état cognitif du sujet plutôt que simplement le signal en lien avec l'exécution motrice. Ces prothèses sont définies par les fonctions cognitives qu'elles extraient et non pas par la région corticale d'où provient le signal enregistré. Cette approche est basée sur la compréhension scientifique des processus neuraux, impliqués dans la cognition (Andersen et al., 2010).

Le futur challenge des PN corticales et cognitives est d'arriver à étendre les enregistrements à plusieurs aire cérébrales simultanément. Cela permettrait de mesurer la cohérence entre les potentiels de champ locaux mais également entre ces potentiels et les

activités neuronales enregistrées (Pesaran et al., 2008). Ces mesures pourraient en effet apporter des renseignements sur des changements de communication entre les aires et pourrait permettre d'obtenir des décodages plus précis des fonctions cognitives

RÉSUMÉ

L'utilisation de microélectrodes permet d'avoir un accès unique aux activités neuronales chez l'Homme. Ces dernières années, elles ont permis de faire avancer la recherche et la compréhension de différentes pathologies :

- En épilepsie, les microélectrodes ont permis de revoir la conception historique des pointes intercritiques et des crises selon laquelle ces évènements seraient générés par des décharges neuronales synchrones et excessives. Les microélectrodes ont révélé une grande diversité d'activité neuronale au moment de ces évènements (augmentation, diminution du taux de décharge…). De plus, les microélectrodes permettent une meilleure détection des fast-ripples, des oscillations à haute fréquence qui semblent spécifiques de la zone épileptogène.
- Dans la maladie de Parkinson, les microélectrodes permettent de cartographier les différentes couches du thalamus grâce aux enregistrements électrophysiologiques. Cela permet de faciliter le placement de la macroélectrode pour que les stimulations puissent être les plus efficaces possible.
- Les prothèses neurales sont des microélectrodes implantées dans le cortex cérébral de façon chronique et qui permettent d'utiliser l'activité neuronale pour contrôler divers dispositifs. Ces prothèses apportent une solution et une perspective d'autonomie aux patients amputés et paralysés.

4 À la recherche d'une microélectrode optimale

Les microélectrodes peuvent être utilisées de façon très différente, en chronique ou en aigue, combinées ou non à des macroélectrodes, pour enregistrer ou pour stimuler. Il est

néanmoins possible d'arriver à identifier certains points cruciaux dans le fonctionnement et l'optimisation, pouvant s'appliquer à l'ensemble de ces microélectrodes.

Les exigences vont être sensiblement différentes en fonction de l'utilisation qui sera faite de l'électrode :

Un dispositif dédié à l'**enregistrement** doit être :

- **Sensible**, défini par sa capacité à détecter du signal de faible amplitude
- **Spécifique,** défini par sa capacité à rejeter ce qui n'est pas du signal d'intérêt
- **De faible impédance**, en évitant le bruit excessif

Et un dispositif dédié à la **stimulation** doit être :

- **Efficace** : le dispositif entier doit pouvoir injecter une charge suffisante avec le matériel choisi pour obtenir la réponse physiologique désirée
- **Sécurisé** : le dispositif doit pouvoir délivrer une charge totale suffisamment petite pour que l'électrode ne supporte pas des réactions Faradique excessive irréversible.
- **De faible impédance**

4.1 Le choix du matériau

Quelques exigences sont à prendre en compte dans le choix des matériaux lors de la fabrication d'un dispositif implantable (Merrill, 2014) :

(1) Le matériau doit être **biocompatible**, ce qui est défini bi-directionnellement. Le matériel implanté ne doit pas abimer le tissu. Aucune réponse toxique ou nécrotique ne doit être observée ni une réaction excessive du système immunitaire. De même, le tissu ne doit pas abimer le matériel. La Figure 24 donne un aperçu des modifications histopathologiques ayant lieu autour d'implants non-réactifs, réactifs et toxiques. Les matériaux les plus utilisés pour faire des électrodes sont : le platine, le platinium-iridium, l'oxyde d'iridium, l'or, l'acier inoxydable, le tungstène et les alliages de titane (Stensaas and Stensaas, 1978; Merrill et al., 2005).

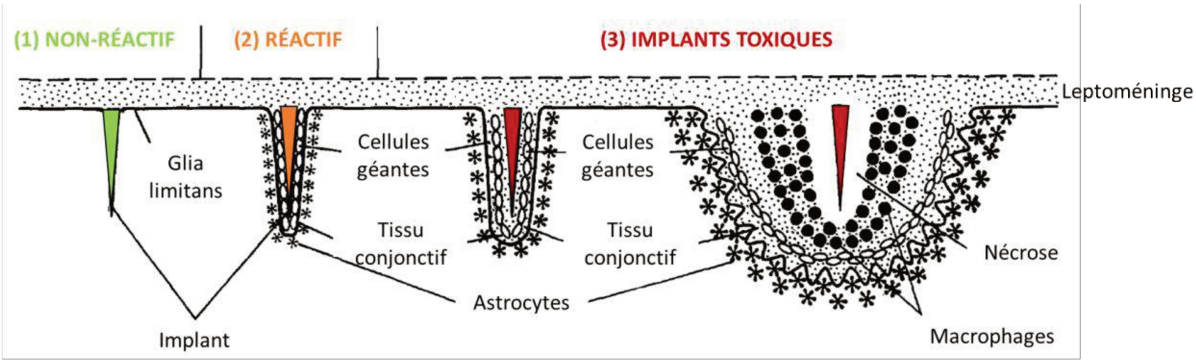


Figure 24 – Schéma illustrant les modifications histopathologiques autour des implants non-réactifs, réactifs et toxiques. Le nombre d'astrocytes augmente en fonction de la réactivité de l'implant. Les cellules géantes et les macrophages ne sont trouvés que dans le tissu conjonctif. Schéma adapté de Stensaas and Stensaas, 1978.

(2) Le matériau doit être **mécaniquement acceptable** pour ce pourquoi il a été conçu, incluant la procédure d'implantation. Les modulations mécaniques doivent être compatible avec le tissu. Le matériau doit être suffisamment solide et rigide pour pouvoir être inséré dans le tissu cérébral sans être dévié de sa trajectoire.

(3) Le matériau doit être **résistant à la corrosion**.

(4) Les **propriétés mécaniques**, l'impédance électrique et les propriétés de conductance et d'isolation du matériau doivent être **stables** tout le long de la durée de vie du dispositif.

Le matériel implanté doit éviter d'endommager les tissus, rester intact, et être résistant à la corrosion pendant l'implantation et les enregistrements pour assurer un bon ratio signal sur bruit

4.2 Rigidité du dispositif implantable

Les **micromouvements cérébraux** peuvent être d'origine **physiologique** (Britt and Rossi, 1982), **comportementale** (Fee, 2000) ou **mécanique** (Goldstein and Salcman, 1973). Les micromouvements physiologiques comprennent le rythme cardiaque et les fluctuations liées à la respiration. Ils peuvent être de l'ordre de 10 à 30 µm (Gilletti and Muthuswamy, 2006). Les micromouvements d'origine mécanique incluent les perturbations des dispositifs implantables, comme des vibrations externes transmises à l'électrode ou des déplacements

du système de positionnement des microélectrodes. Lorsqu'un dispositif implanté est en mouvement par rapport au tissu environnant, des **lésions tissulaires** peuvent apparaitre (Lee et al., 2005).

L'utilisation d'un dispositif implantable avec une rigidité proche de celle du tissu cérébral est supposée engendrer moins de lésions (Figure 25). Cependant, l'insertion d'un tel matériel est compliquée. En effet, cela revient à essayer d'insérer un spaghetti cuit dans de la gelée, pour prendre une image.

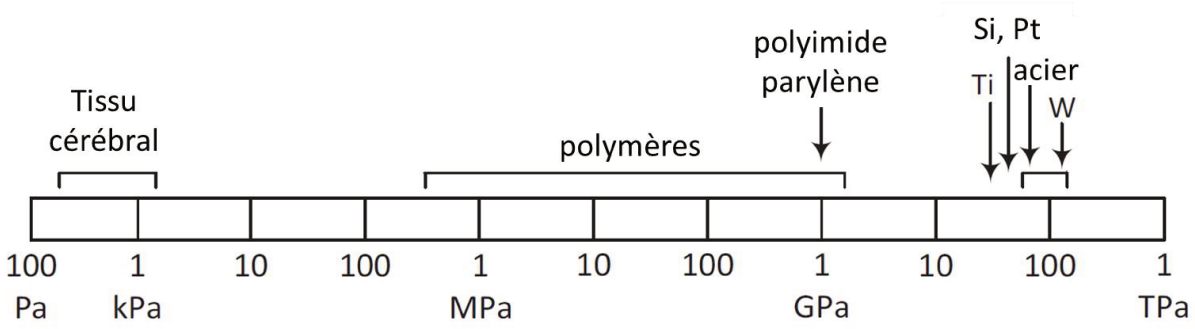


Figure 25 – Rigidité de différents matériaux. Alors que la rigidité du cerveau est de l'ordre de 1 kPa, celle du platinum et du tungstène sont respectivement de 60 et 160 GPa. Schéma adapté de Merrill, 2014.

Pour le moment, des isolants comme le polyimide sont couramment utilisés puisqu'ils sont biocompatibles (Lago et al., 2005) et que leur rigidité est plus proche de celle du tissu cérébral. De plus, il a été montré que le polyimide permettait de diminuer la différence de rigidité entre les dispositifs implantables et le tissu cérébral (Rousche et al., 2001).

Dans les futurs dispositifs implantables il est très probable que des microélectrodes soient enveloppées dans un matériau rigide devenant plus flexible ou se dissolvant à la température du corps humain (Wu et al., 2011; Felix et al., 2013).

4.3 Intérêt de la tétrode

L'utilisation de microélectrodes de type monobrin rend complexe la détection d'activité de neurones unitaires. La majorité des techniques permettant de séparer des activités unitaires à partir d'activités multi unitaires font l'hypothèse que chaque neurone a des potentiels d'action avec une forme et une amplitude spécifique. Plusieurs cas invalident cette hypothèse

et ces méthodes conduisent alors à des erreurs de classification : (1) Si les corps cellulaires de neurones sont très proches, leur forme aura tendance à être similaire, c'est le cas par exemple dans les différentes couches de l'hippocampe ; (2) Pendant les bouffées de potentiels d'action, l'amplitude de ces potentiels peut varier jusqu'à 50% (Figure 26.A) (Kandel and Spencer, 1961; Ranck, 1973).

Une solution à ce problème est de multiplier les sources d'enregistrement. L'utilisation de deux électrodes enroulées ensemble (appelées stéréotrodes, Figure 26.B) a permis d'améliorer la détection de neurones unitaires (McNaughton et al., 1983). Par la suite, la configuration en tétrode (4 brins, Figure 26.C,D) a commencé à être utilisée pour les enregistrements chez l'animal (O'Keefe and Recce, 1993; Wilson and McNaughton, 1993). En théorie, une électrode peut détecter des cellules pyramidales de l'hippocampe jusqu'à 140 µm du corps cellulaire, bien que l'amplitude extracellulaire du potentiel d'action diminue rapidement en fonction de la distance (Henze et al., 2000). Sachant qu'un cylindre de 140 µm dans le cortex du rat contient environ 1000 neurones, il devrait être possible d'arriver à détecter tous ces neurones à l'aide d'une seule électrode (Holmgren et al., 2003). Or, en pratique, seulement une faible fraction de ces neurones est correctement identifiée (Buzsáki, 2004). Les autres neurones peuvent avoir été abimé par l'insertion de la microélectrode, peuvent être silencieux ou encore peuvent avoir une amplitude trop faible. A notre connaissance, le nombre maximum de neurones ayant été détectés à l'aide d'une tétrode est de 9 (Gray et al., 1995).

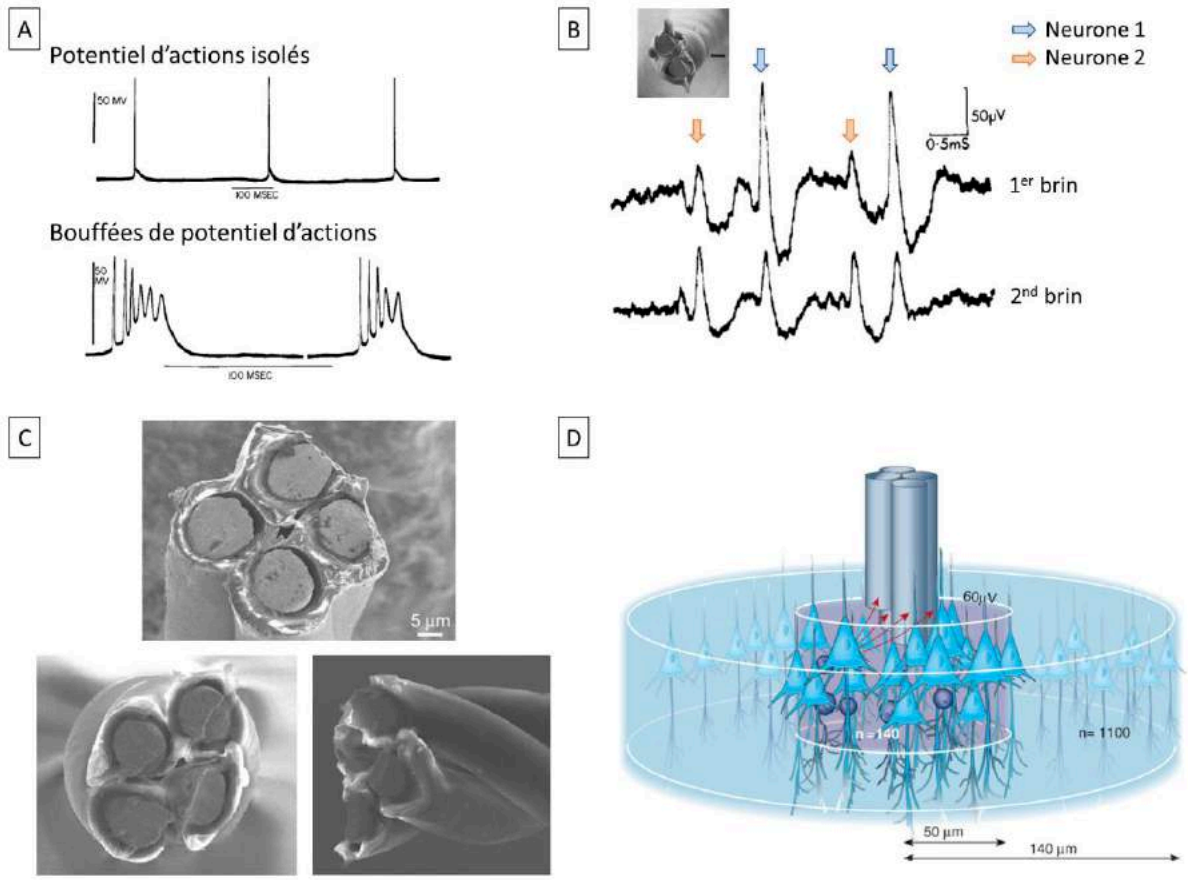


Figure 26 – Exemples de tétrodes et de leur intérêt pour l'isolation de neurones. (A) Exemples de potentiels d'actions montrant des décharges isolées ou en bouffées, enregistrés dans l'hippocampe d'un chat. Durant les bouffées, l'amplitude des potentiels d'action peut varier de 50%. Adapté de Kandel and Spencer, 1961. (B) Exemple d'enregistrements obtenus à l'aide d'une stéréotrode chez le rat. L'ajout d'un second brin permet de faire la distinction entre deux neurones (orange et bleu). Si seulement la seconde trace avait été accessible, les 4 potentiels d'action auraient été classés comme provenant d'un même neurone. Adapté de McNaughton et al., 1983. (C) Exemple d'une tétrode composée de 4 microfilaments collés ensemble (image issue de Ferguson et al., 2009) et de deux tétrodes composées de 4 microfilaments enroulés ensemble (image issue de Liao et al., 2011). (D) Illustration du potentiel des tétrodes. La qualité de l'isolation va varier en fonction de la distance de l'électrode mais les tétrodes permettent d'estimer la position des neurones enregistrés par triangulation (image issue de Buzsáki, 2004).

Une tétrode permet de réaliser des enregistrements extracellulaires grâce à 4 sites d'enregistrements très proches dans l'espace. Chaque potentiel d'action est enregistré simultanément par les 4 sites, ce qui permet d'obtenir une meilleure identification des sources neuronales en comparaison avec ce qui peut être obtenu à l'aide d'une électrode monobrin extracellulaire (Gray et al., 1995; Harris et al., 2000; Jog et al., 2002; Blanche et al., 2005; Liao

et al., 2011). L'utilisation de tétrodes permet d'identifier davantage de neurones unitaires et donc d'étudier en détail les interactions entre les neurones. Les données acquises en 4 dimensions par les tétrodes permettent également de localiser les générateurs de signaux cérébraux autour des tétrodes (Harris et al., 2000; Henze et al., 2000). De plus, les enregistrements obtenus à l'aide de tétrode sont moins sensibles aux micromouvements cérébraux.

Les enregistrements extracellulaires de plusieurs neurones unitaires sont intéressants si les potentiels d'action générés par les différents neurones peuvent être correctement discriminés. Il existe de nombreuses méthodes pour analyser les potentiels d'action obtenus à l'aide d'une seule microélectrode mais les performances de ces méthodes sont remises en cause par plusieurs problèmes techniques : les potentiels d'action peuvent varier en amplitude pendant une bouffée de potentiels d'action ; les formes de neurones à égale distance de l'électrode peuvent être identiques.

➔ La multiplication des sources d'enregistrement (stéréotrode, tétrode) permet de palier à ce problème.

4.4 Importance de l'impédance

L'impédance des tétrodes peut grandement affecter la qualité des enregistrements intracérébraux (Robinson, 1968; Geddes and Roeder, 2003). La relation entre la surface de l'électrode et l'impédance est inversement proportionnel, des électrodes ayant une surface d'enregistrement importante auront une faible impédance (Butson et al., 2006; Ludwig et al., 2006). Si l'impédance est trop élevée, la zone d'enregistrement sera très petite et la tétrode ne pourra détecter qu'un faible nombre de neurones.

Chez l'animal, les tétrodes sont souvent électroplaquées pour réduire leur impédance de 2-3 MΩ à **200 – 300 voire 500 kΩ** (mesurée à 1 kHz, voir Figure 27), ce qui permet d'augmenter le ratio signal/bruit et d'enregistrer des signaux de faible amplitude (de Solages et al., 2008; Ferguson et al., 2009). L'électrodéposition consiste à déposer des cristallites sur l'extrémité de tétrodes pour augmenter leur surface et diminuer leur impédance. Cependant,

si une trop grande quantité de cristallites est déposée sur un microfilament et qu'elle entre en contact avec les cristallites du microfilament à côté, cela crée un court-circuit. De façon générale, les tétrodes ne sont pas électroplaquées en dessous de 100 kΩ pour éviter les courts-circuits.

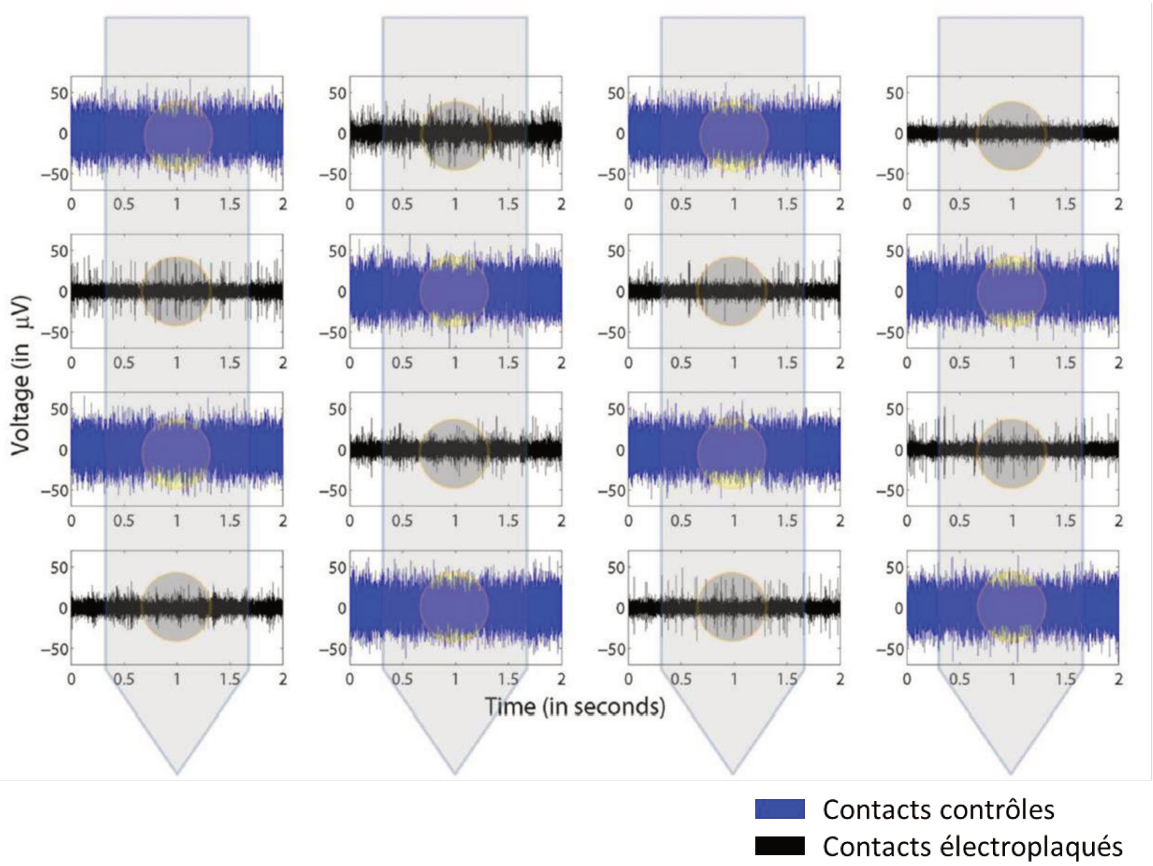


Figure 27 – Importance de l'impédance. En noir, des contacts d'une électrode électroplaqués avec du PEDOT (impédance moyenne : 470±10 kΩ). En bleu, contacts contrôles (impédance moyenne : 9,2±1,7 MΩ). Le niveau de bruit sur les contacts contrôles est largement supérieur à celui des contacts électroplaqués et empêche la détection d'activités neuronale. Figure issue de Ludwig et al., 2011.

En plus d'arriver à obtenir une valeur optimale d'impédance, il est important de réaliser un suivi pour s'assurer de la garder stable tout au long de l'utilisation de l'électrode. Par exemple, l'instabilité d'impédance d'un seul contact a entrainé un dysfonctionnement dans la stimulation cérébrale profonde d'un patient atteint de la maladie de Parkinson (Allert et al., 2018). Après 9 ans de stimulations, le patient a développé des symptômes moteurs unilatéraux et une dysesthésie intermittente.

4.5 Intérêt d'un dispositif mobile

Les enregistrements neuronaux obtenus à partir de microélectrodes fixes sont **irréguliers** et **peu fiables** pour réaliser des enregistrements de **longue durée** (Engel et al., 2005; Polikov et al., 2005; Grill et al., 2009). Des technologies permettant de déplacer les microélectrodes après l'implantation peuvent augmenter drastiquement leur capacité à :

- Isoler des activités neuronales unitaires et maintenir des enregistrements stables sur une longue durée
- Améliorer et maintenir le ratio signal/bruit des enregistrements
- Chercher des neurones d'intérêt après l'implantation
- Chercher des neurones qui étaient potentiellement silencieux pendant l'implantation
- Augmenter potentiellement la stabilité de prothèses nécessitant des enregistrements sur le long terme

Le déplacement des microélectrodes après l'implantation a pour le moment été permis grâce à des moteurs piézoélectriques (Park et al., 2008; Wolf et al., 2009), des moteurs « pas-à-pas » (Gray et al., 2007), des positionnements hydrauliques (deCharms et al., 1999; Sato et al., 2007) et par des vis micrométriques (Swadlow et al., 2005; Dobbins et al., 2007; Haiss et al., 2010). Ces technologies ont été testées chez l'oiseau, les souris, les rats et les primates non humains et ont permis de montrer qu'un dispositif mobile :

(1) Augmente de façon significative la qualité du signal (Fee, 2000; Jackson and Fetz, 2007; Yamamoto and Wilson, 2008; Wolf et al., 2009; Jackson et al., 2010) (Figure 28.A,B)

(2) Permet d'obtenir des enregistrements plus stables pendant plusieurs semaines et permet une meilleure isolation d'activités neuronales unitaires (Fee, 2000; Jackson and Fetz, 2007; Yamamoto and Wilson, 2008) (Figure 28.C)

(3) Augmente de façon significative la quantité de neurones enregistrés (Fee, 2000; Wolf et al., 2009; Jackson et al., 2010)

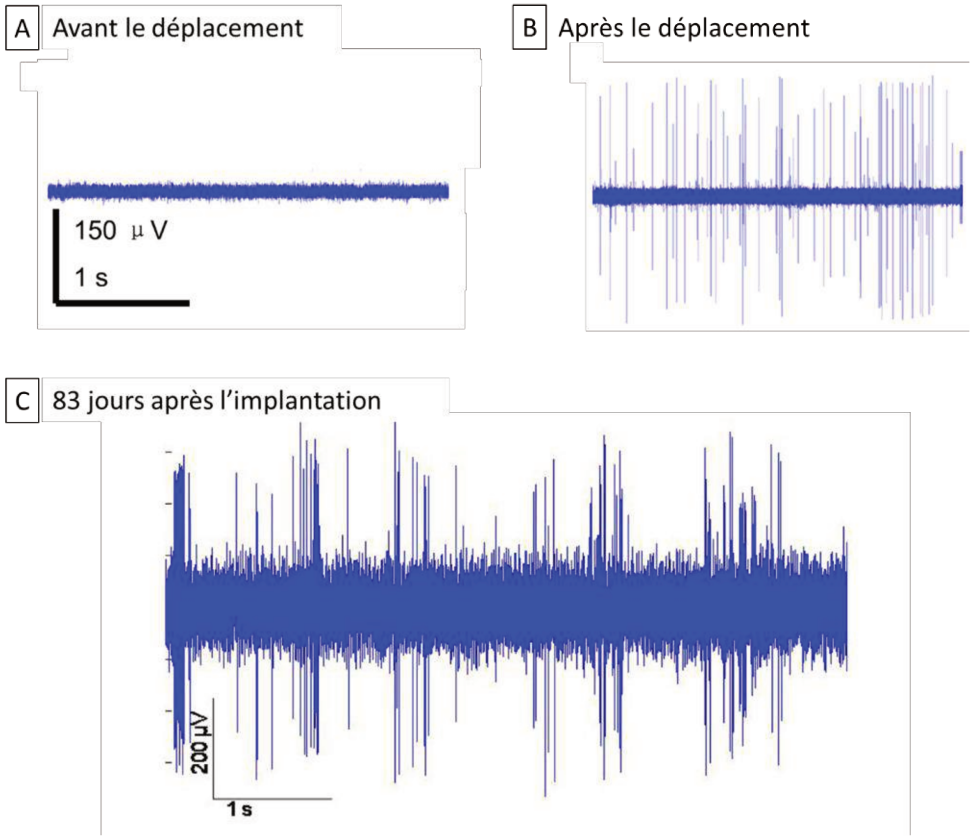


Figure 28 – Intérêt d'un dispositif mobile. Segment de 3 s enregistré avant (A) et après (B) le déplacement des microélectrodes de 100 µm. Le niveau de bruit est resté constant et le déplacement a permis de trouver plusieurs neurones. (C) Il est possible d'effectuer des enregistrements sur le long terme avec des dispositifs mobiles puisque des neurones sont toujours visibles 83 jours après l'implantation. Images issues de Jackson et al., 2010.

Résumé

Les microélectrodes peuvent être utilisées dans différents contextes cliniques, sur une durée plus ou moins longue et pour réaliser des enregistrements ou des stimulations. Bien que la finalité puisse être très différente, il est possible de définir des critères pour obtenir une électrode optimale :

- Le **matériau** doit être biocompatible et résistant à la corrosion
- La **rigidité** des microélectrodes doit se rapprocher le plus possible de celle du cerveau mais être suffisamment importante pour que les microélectrodes puissent être facilement insérées dans le cerveau

- Les **sources d'enregistrements multiples** (de type stéréotrodes ou tétrodes) doivent être privilégiées pour augmenter le nombre d'activités neuronales unitaires détectés
- L'**impédance** doit être maitrisée (idéalement entre 200 et 500 kΩ à 1 kHz) pour permettre d'enregistrer des signaux de faible amplitude sans pour autant créer de courts-circuits
- Un **dispositif mobile** permet d'obtenir des enregistrements de bonne qualité sur le long terme

II. Objectifs et hypothèses

Durant ma thèse, j'ai pris part au projet **EpiFaR :** étude de la **faisabilité** et de l'**intérêt** de l'enregistrement des « **fast-ripples** » dans l'exploration des **épilepsies partielles pharmaco-résistantes**. Ce projet s'est déroulé en collaboration avec la société DIXI medical qui a mis au point les nouvelles électrodes hybrides, le centre hospitalier de Toulouse dans lequel les investigations cliniques ont été réalisées, et le centre de recherche cerveau et cognition de Toulouse dans lequel les données acquises ont pu être analysées. L'objectif de ce projet est d'évaluer un nouveau dispositif médical consistant à adjoindre aux électrodes cliniques utilisées dans les SEEG des microélectrodes pour l'enregistrement des FR.

1 Cadre clinique permettant l'utilisation des électrodes hybrides : projet EPIFAR

Comme nous l'avons vu précédemment, les épilepsies pharmaco-résistantes sont réfractaires au traitement médical dans environ 30 % des cas. Les patients souffrent alors d'un handicap socio-professionnel, d'un surrisque lié aux crises mais également d'un risque de décès brutal inexpliqué. De plus, ces patients ont besoin d'une prise en charge chronique médicale et sociale qui est lourde et qui représente un coût important pour la société.

Lorsque le bilan préchirurgical de phase 1 est insuffisant pour déterminer la localisation précise de la ZE, une exploration invasive peut être envisagée avec l'implantation d'électrodes intracérébrale. Ces explorations intracérébrales sont très contraignantes pour les patients et il arrive qu'aucune crise n'apparaisse pendant l'hospitalisation, ce qui entraine une nouvelle exploration ultérieure. Il est donc nécessaire d'arriver à trouver de nouveaux moyens pour caractériser la zone épileptogène.

Ces dernières années, une série d'études chez l'animal et chez l'Homme a suggéré que certaines oscillations très courtes mais à très haute fréquence (> 250 Hz) appelées fast-ripples (FR) pourraient être des biomarqueurs particulièrement bons de la ZE. Les FR sont enregistrés à partir de micro-électrodes.

Jusqu'à présent, les électrodes hybrides utilisées dans les différents centres de recherche étaient soit construites spécifiquement pour le projet (de façon marginale), soit commercialisées par la société Ad-Tech Medical Instrument (dans la plupart des études). Cette société propose des électrodes hybrides avec un diamètre de macroélectrodes de 1300 microns. Or, les macroélectrodes utilisées actuellement dans notre unité d'épilepsie sont fournies par la société DIXI medical et ont un diamètre de 800 µm. Compte-tenu de l'intérêt de nombreux centres experts pour les électrodes hybrides (en France, en Europe et aux États-Unis), la société DIXI medical a souhaité développer une gamme commerciale d'électrodes hybrides. L'équipe de Toulouse a alors collaboré à la définition des besoins en parallèles à d'autres centres français experts (Paris, Lyon et Grenoble notamment). La première contrainte était d'avoir un diamètre d'électrode similaire (800 µm), ne nécessitant pas de modification des procédures neurochirurgicales. La seconde contrainte était d'améliorer la qualité du signal enregistrée par les électrodes, la qualité du signal des électrodes hybrides d'AD-Tech s'amenuisant de matière notoire au bout de quelques jours. La société DIXI medical a ainsi développé des électrodes hybrides tout en conservant un diamètre de 800 µm, la pose de ces électrodes ne nécessitant aucune modification des gestes ou des instruments chirurgicaux. De plus, les microélectrodes ont une configuration en tétrode, ce qui n'avait jamais été fait jusque-là chez l'Homme.

Comme il s'agit de nouvelles électrodes, l'objectif principal de ce projet est d'**évaluer la faisabilité de l'enregistrement de FR par les nouvelles électrodes hybrides de DIXI medical.** Les objectifs secondaires quant à eux portent sur l'intérêt des FR en tant que biomarqueurs de la ZE.

1.1 Objectifs du projet EpiFaR

Je vais présenter les objectifs formels du projet EpiFaR qui sont validés par le CHU de Toulouse. Dans le cadre de ma thèse, je vais cependant me concentrer plus spécifiquement sur certains de ces objectifs.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer la faisabilité de l'enregistrement de FR par les nouvelles électrodes hybrides de DIXI medical. Les enregistrements des FR ont lieu à raison d'une heure pendant la période de veille en condition standardisée (Toulouse et Lyon) et de

deux heures pendant la période de sommeil (un cycle) pendant 5 jours de la SEEG (Toulouse uniquement).

Quatre objectifs secondaires ont été également identifiés :

1 – **Évaluer prospectivement l'intérêt des FR enregistrés par les microélectrodes comme biomarqueur de la ZE**. Les FR sont comptés dans la ZE présumée et dans la même aire cérébrale située dans l'hémisphère controlatéral. L'hypothèse est que la comparaison des quantités de FR enregistrés dans chacune de ces deux régions devrait révéler une augmentation significative de ces FR dans la ZE.

2 – **Évaluer l'évolution du nombre horaire des FR enregistrés par les microélectrodes en fonction des jours d'enregistrement**. La stabilité du nombre de FR enregistrés au fil des jours doit être évaluée pour plusieurs raisons : d'une part les traitements anti-comitiaux sont réduits progressivement à partir du jour 2 ou 3 et d'autres part la stabilité intrinsèque des microélectrodes est encore inconnue. Nous faisons l'hypothèse que le nombre de FR enregistrés chaque jour augmentera à partir du moment où le traitement anti-comitial sera diminué.

3 – **Comparer l'efficacité des micro et des macro-électrodes pour l'enregistrement des FR**. Le critère de jugement est le nombre de FR enregistrés sur les macroélectrodes immédiatement adjacents aux microélectrodes situées dans la ZE présumée. L'hypothèse est que la taille d'effet sera supérieure pour les microélectrodes que pour les macroélectrodes.

4 – **Évaluer la sécurité d'emploi des électrodes hybrides**. L'évaluation de la sécurité d'emploi des électrodes hybrides est effectuée par une description quantitative et qualitative des effets indésirables liés à la procédure.

L'ensemble des analyses sur les FR sont réalisées au laboratoire du CerCo, après la SEEG, en aveugle des résultats de l'analyse de la SEEG et donc de la ZE identifiée lors de celle-ci. L'analyse de la SEEG est réalisée comme habituellement dans les unités d'épileptologie, en aveugle de l'analyse des FR.

Le but de ma thèse est de **valider l'utilisation de la nouvelle électrode hybride** à la fois sur un **plan clinique** (sécurité et qualité du signal) et sur un **plan fondamental** (contribution à

la clinique et à la recherche en neurosciences). Cela passe par l'analyse des résultats obtenus avec le protocole EpiFaR mais également par l'analyse de signaux enregistrés avec des microélectrodes lors de tâches cognitives.

1.2 Réalisation de la recherche dans le cadre du projet EpiFaR

Jusqu'à quatre macroélectrodes cliniques peuvent être remplacées par des électrodes hybrides :

- La première est située dans la zone épileptogène présumée, basé sur les hypothèses proposées à l'issu du bilan de phase 1.
- La seconde est placée dans la même aire cérébrale dans l'hémisphère controlatéral. Cette procédure consistant à implanter une électrode « sentinelle » est standard et permet de vérifier la propagation éventuellement controlatérale des crises.
- La troisième est implantée dans l'hémisphère homolatéral à la ZE présumée, à sa limite antérieure présumée, de manière à déterminer l'étendue des aires cérébrales à l'origine des FR.
- La quatrième est implantée dans l'hémisphère homolatéral à la ZE présumée, à sa limite postérieure présumée, de manière à déterminer l'étendue des aires cérébrales à l'origine des FR.

Il est prévu d'inclure au total 54 patients sur une période de 48 mois (dont 36 patients au CHU de Toulouse et 18 aux Hospices Civils de Lyon). Les critères d'inclusion sont les suivants :

- Patient bénéficiant d'une SEEG dont les examens ne permettent pas de localiser précisément le foyer épileptogène
- Patients ayant plus de 12 ans et moins de 65 ans
- Patients affiliés à un régime de sécurité sociale
- Obtention du consentement éclairé

2 Objectifs de ma thèse

Ma thèse se déroule dans le cadre du projet EpiFaR et l'objectif principal est de **démontrer le fonctionnement et l'utilité des nouvelles électrodes hybrides de DIXI medical**. Cet objectif a donné lieu à 5 études qui sont détaillées dans les chapitres suivants :

(1) Une étude méthodologique, démontrant l'innocuité et le fonctionnement des nouvelles électrodes hybrides
(2) Trois études en épilepsie, focalisées sur les analyses à multi-échelle et la détection d'activité neuronale pendant les évènements épileptiques (pointes intercritiques, fast-ripples).
(3) Une étude préliminaire en cognition avec des macroélectrodes (la suite de cette étude avec les résultats obtenus avec les microélectrodes est en cours d'analyse)

III. La nouvelle électrode hybride de DIXI medical

Ce chapitre vise à décrire les caractéristiques techniques de la nouvelle électrode hybride de DIXI medical mais également les conditions d'enregistrement permettant d'obtenir un signal optimal. Suite à cela, une première étude (en préparation) est présentée. Elle permet de démontrer l'innocuité et le bon fonctionnement de la nouvelle électrode chez les 28 patients épileptiques pharmaco-résistants explorés à Toulouse entre mars 2015 et novembre 2018.

1 Caractéristiques techniques

1.1 Description de la nouvelle électrode hybride de DIXI medical

Le design de la nouvelle électrode hybride de DIXI medical est très prometteur. En effet, le diamètre de l'électrode correspond à celui d'une macroélectrode clinique (**800 µm** contre 1300 µm chez le concurrent), les microélectrodes sont organisées en **tétrode** pour la première fois chez l'Homme et il est possible grâce à une vis micrométrique de **moduler la longueur** de sortie des microélectrodes jusqu'à 2 mm (entre les deux contacts les plus mésiaux de la macroélectrode) pendant l'implantation pour chercher des neurones (Figure 29). Les macroélectrodes comportent entre 5 et 18 plots d'enregistrement (platinium/iridium) de 2 mm de long et espacés de 1,5mm. Chaque tétrode est composée de 4 microfilaments en tungstène (d'un diamètre de 20 µm chacun), isolés dans du polyuréthane. Le diamètre total de la tétrode oscille entre 70 et 80 µm.

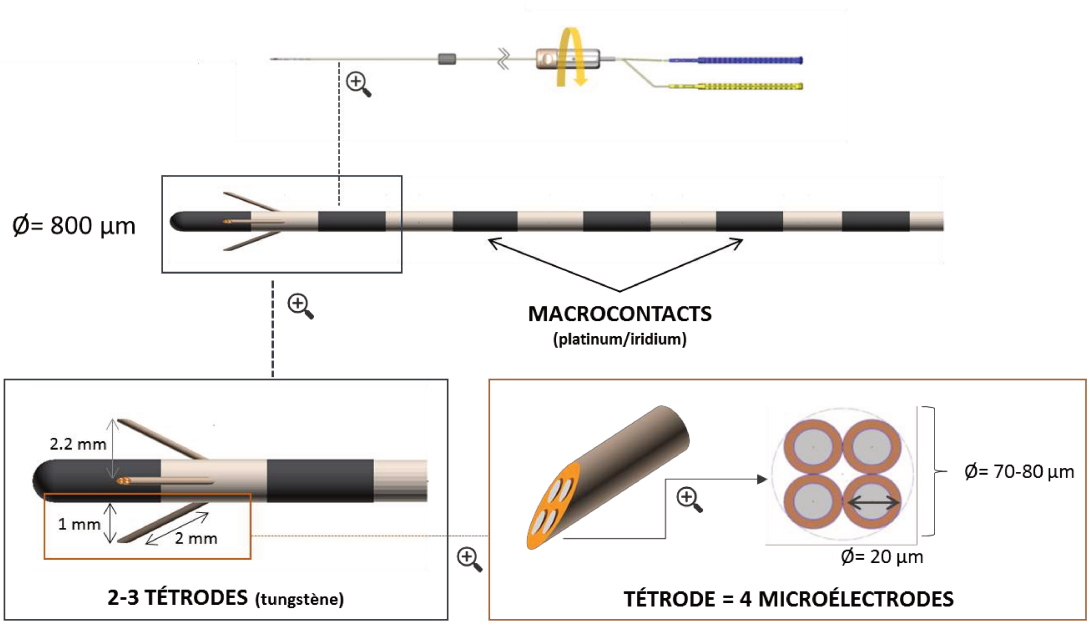


Figure 29 – Nouvelle électrode hybride développée par DIXI medical. La seule différence avec une macroélectrode clinique est l'inclusion de deux à trois tétrodes qui peuvent être déployées jusqu'à 2 mm entre les deux macrocontacts les plus mésiaux. Chaque tétrode est composée de 4 microfilaments en tungstène avec un diamètre de 20 µm chacun (le diamètre de la tétrode étant de 70-80 µm).

Dans la gamme des électrodes hybrides, il existe **deux modèles** (électrode hybride composée de deux ou de trois tétrodes) et **trois tailles d'électrodes** par modèle. La gamme est détaillée dans le Tableau 3 et la Figure 30. Lorsque qu'il est prévu que l'électrode traverse un sillon, il est intéressant de pouvoir enregistrer l'activité cérébrale tout le long de l'électrode et le modèle comprenant deux tétrodes est préféré (Figure 30.A). En revanche, quand les zones de gris ne se situent que dans les parties les plus internes et les plus latérales de l'électrode, il n'est pas nécessaire d'enregistrer tout le long de l'électrode et il est possible d'utiliser le modèle comprenant trois tétrodes qui n'a que les trois premiers et les trois derniers macrocontacts d'actifs (Figure 30.B). Dans le modèle comprenant 2 tétrodes, les tétrodes se trouvent à 180° l'une de l'autre. Dans le modèle comprenant 3 tétrodes, les tétrodes se trouvent à 120° les unes des autres. Les différentes longueurs des électrodes permettent de s'adapter à la profondeur des différentes structures à explorer.

	Macroélectrodes cliniques						Hybride avec 2 tétrodes			Hybride avec 3 tétrodes		
Longueur de l'électrode	16 mm	26,5 mm	33,5 mm	40,5 mm	51 mm	61,5 mm	34 mm	42 mm	50 mm	33,2 mm	40,4 mm	50,8 mm
Nombre de plots d'enregistrement	5	8	10	12	15	18	9	9	9	6 (9)	6 (11)	6 (13)
Longueur plot d'enregistrement	2 mm	2 mm	2 mm	2 mm	2 mm	2 mm	2 mm	2 mm	2 mm	2 mm	2 mm	2 mm
Espacement entre les plots	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	1,5 mm	2 mm	2 mm	2 mm	1,9 mm	2,8 mm	4,1 mm

Tableau 3 – Gamme des électrodes hybrides. Caractéristiques des macroélectrodes cliniques et des électrodes hybrides. Les modèles ayant des longueurs similaires sont surlignés en jaune. Dans la partie « Nombre de plots d'enregistrement » : le chiffre avant la parenthèse correspond au nombre de plots actifs ; le nombre entre parenthèse correspond au nombre total de plots présents sur l'électrodes (actif + inactifs).

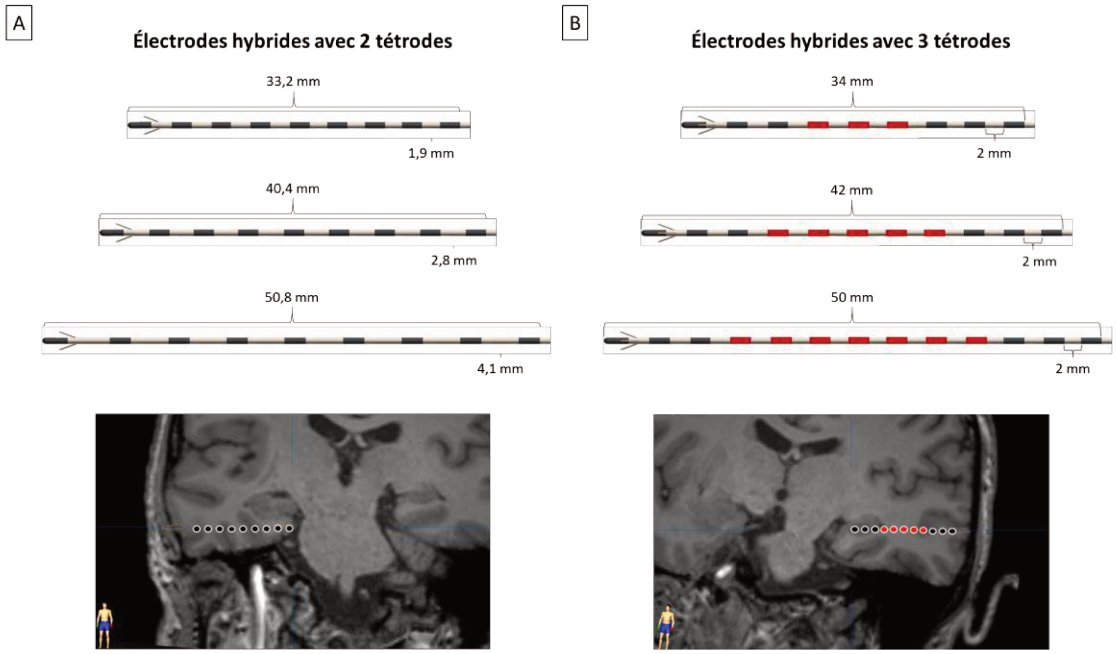


Figure 30 – Illustration de la gamme des électrodes hybrides. Trois longueurs sont disponibles pour les électrodes comportant deux et trois tétrodes. (A) Visualisation d'une électrode hybride comportant deux tétrodes, par fusion de l'IRM pré-opératoire et du scanner post-opératoire. Dans ce cas précis, la cible était le cortex rhinal et l'électrode devait traverser plusieurs zones de gris avant de pouvoir l'atteindre. L'ensemble des macroplots étaient donc actifs. (B) Visualisation d'une électrode hybride comportant trois tétrodes. La cible de l'électrode était l'hippocampe. Comme les zones de gris se situaient dans la partie mésiale et dans la partie latérale, il était possible d'utiliser une électrode avec seulement les trois premiers et les trois derniers macrocontacts actifs. Les plots en rouge sont des plots inactifs, le diamètre fin de l'électrode (800 µm) ne permettant pas de connecter davantage de plots pour les électrodes comprenant trois tétrodes.

1.2 Choix des modèles les plus adaptés

La première inclusion dans le protocole EPIFAR a eu lieu en mars 2015. Actuellement, **30 patients** ont accepté de participer à ce protocole et **110 électrodes hybrides** ont été implantées. Le modèle avec deux tétrodes est préféré au modèle avec trois tétrodes, il est utilisé dans 70 % des cas. De plus, les électrodes ayant une longueur d'environ 40 mm sont davantage utilisées, quelque soit le modèle (Figure 31).

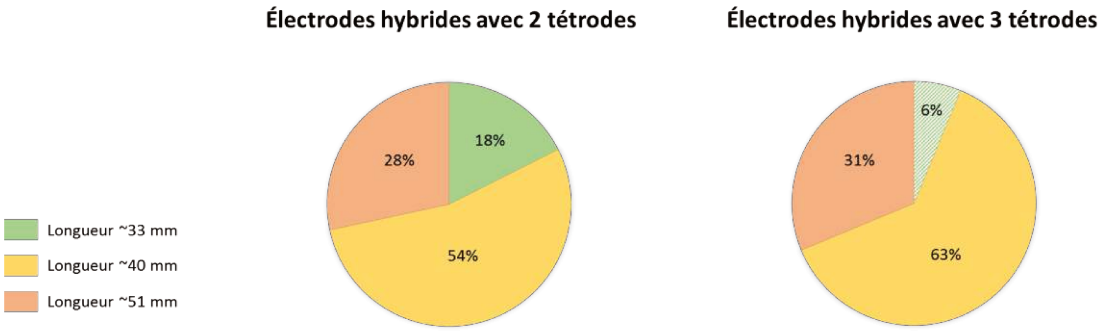


Figure 31 – Pourcentage d'utilisation des différents modèles d'électrodes hybride. L'électrode de 33 mm de longs comportant trois tétrodes n'est plus utilisée dans notre centre.

1.3 Mise en place du support pour gaine et déploiement des microélectrodes

La nouvelle électrode hybride est très similaire à une macroélectrode clinique et de ce fait, la procédure neurochirurgicale reste inchangée et les mêmes outils peuvent être utilisés. Une seule étape très rapide est ajoutée suite à l'implantation de chaque électrode hybride : la mise en place du support pour gaine (Figure 32). Ce support est positionné au niveau de la vis de guidage et permet de garantir **un rayon de courbure optimal** à la gaine de l'électrode en sortie de vis pour éviter que les microfilaments ne cassent. Ce rayon de courbure est nécessaire au fonctionnement correct du mécanisme de sortie/entrée des microélectrodes. Par précaution, le point d'entrée de chaque électrode hybride est espacé d'au moins 5 mm avec celui d'une autre électrode (contre 3 mm habituellement).

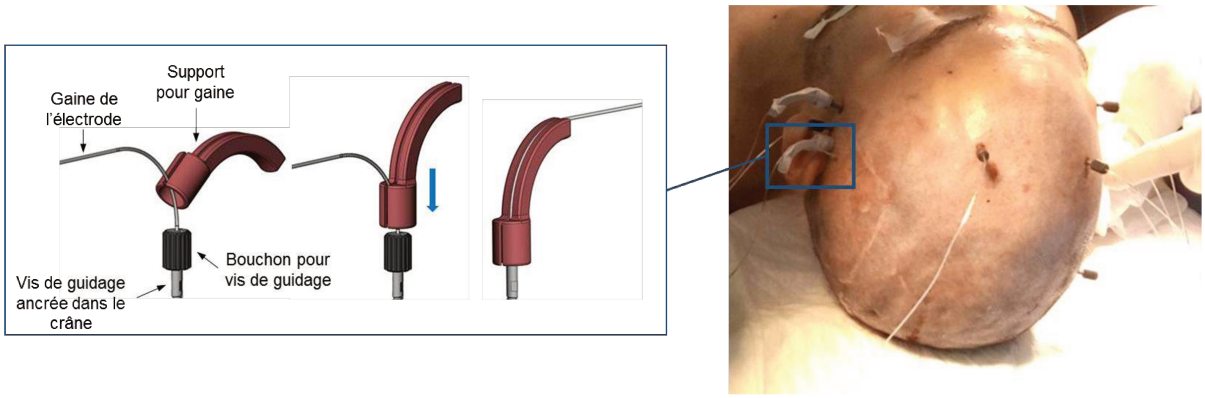


Figure 32 – Mise en place du support pour gaine. Suite à l'implantation de chaque électrode hybride, il est nécessaire de positionner un support pour gaine au niveau de la vis de guidage de façon à garantir un rayon de courbure optimal.

Une fois que l'électrode hybride est implantée et que le support pour gaine est positionné, les microélectrodes peuvent être **déployées de manière progressive** dans le cerveau du patient sur une distance variant entre 0 (microélectrodes affleurant le diamètre extérieur de l'électrode) et 2 mm. Pour cela, il suffit de faire tourner délicatement la molette du mécanisme de sortie/entrée des microélectrodes dans le sens horaire (Figure 33.A). Le positionnement approximatif des microélectrodes est indiqué par le repère de positionnement des microélectrodes. Pour rentrer les microélectrodes, il suffit de tourner délicatement la molette du mécanisme dans le sens anti-horaire (Figure 33.B). Au moment de l'explantation, les microélectrodes doivent impérativement être rétractées.

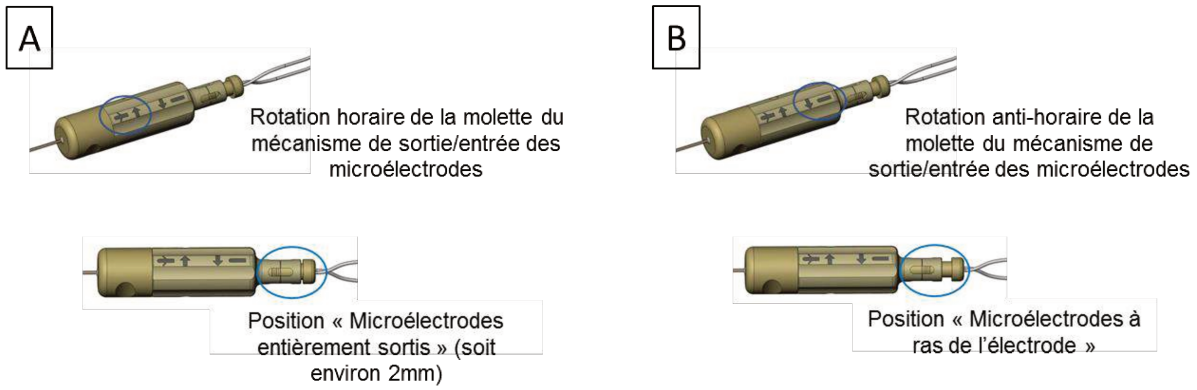


Figure 33 – Mécanisme de sortie/entrée des microélectrodes. (A) Déploiement des microélectrodes. (B) Rétraction des microélectrodes.

1.4 Visualisation des microélectrodes

Les microélectrodes sont en théorie déployées avec un angle de 30° (Figure 29). Nous avons tenté à plusieurs reprises de visualiser les microélectrodes in vivo à l'aide de divers outils de neuroimagerie pour nous assurer du bon positionnement de celles-ci. Cependant, bien qu'il soit très facile d'observer des microélectrodes déployées dans de l'eau (Figure 34.A) et qu'il soit encore possible de les distinguer une fois implantées dans une tête de cochon (Figure 34.B), il est beaucoup plus compliqué de réussir à les observer chez un patient (Figure 34.C).

D'autres équipes, notamment celle de la Pitié-Salpétrière à Paris, ont été capable de visualiser les microélectrodes concurrentes à l'aide d'une scopie. Pour l'instant il est difficile de savoir si notre difficulté à les visualiser est due au matériau utilisé (tungstène pour les électrodes hybrides de DIXI medical et platinium-iridium pour les concurrentes) ou au diamètre des électrodes (4 microfilaments de 20 µm de diamètre chacun pour les électrodes hybrides de DIXI medical et 9 microfilaments de 50 µm de diamètre chacun pour les concurrents). Il est à noter que pour les électrodes concurrentes, on ne distingue pas les microfilaments de façon individuelle mais seulement le début du faisceau (quand les microfilaments sont regroupés).

Chez une patiente nous avons également réalisé un Cone Beam pour essayer d'améliorer la résolution (examen radiologique utilisé pour faire des panoramiques dentaires). Cependant, même avec cet examen, nous n'avons pas réussi à mettre clairement en évidence les microélectrodes.

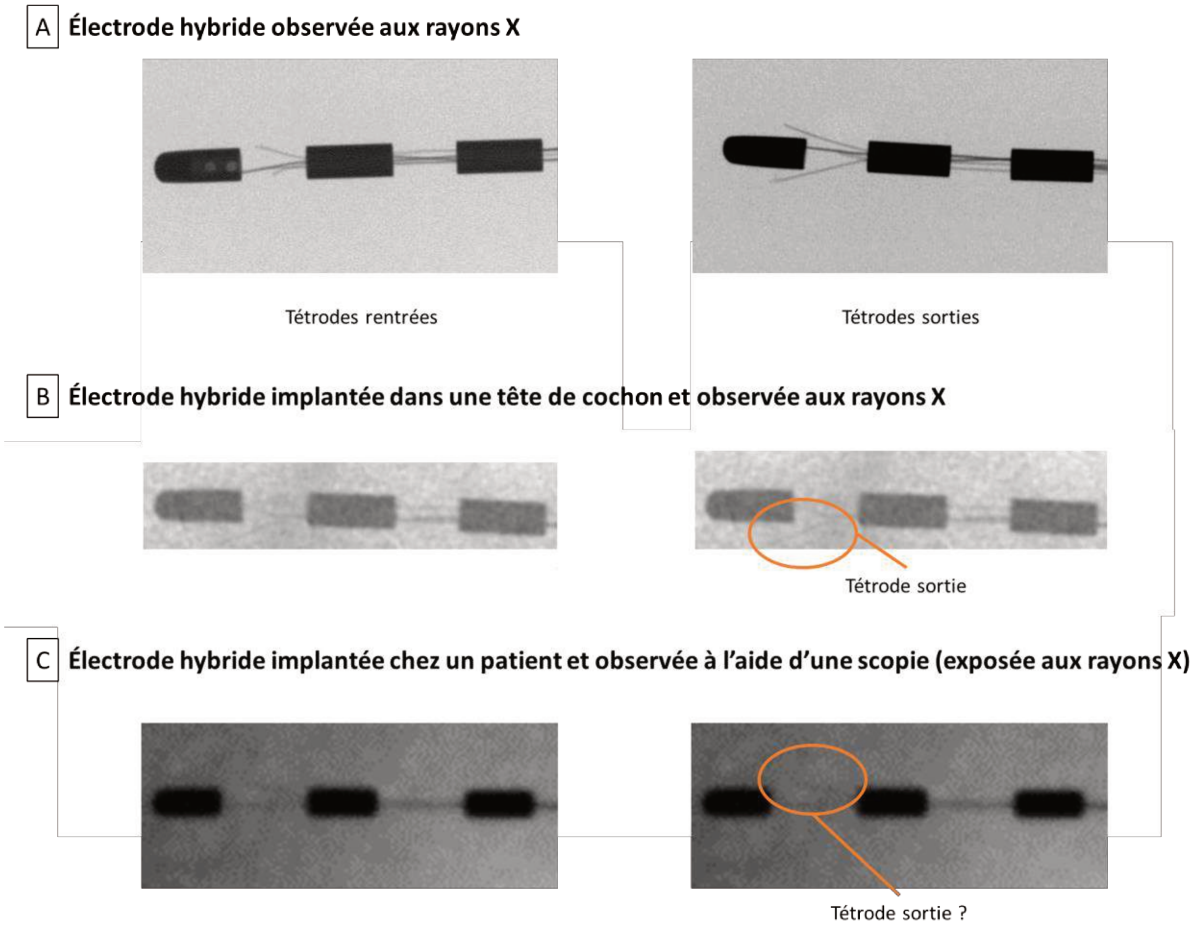


Figure 34 – Visualisation d'électrodes hybrides aux rayons X (dans de l'eau (A) ou implantée dans une tête de cochon (B)) ou à l'aide d'une scopie (implantée chez un patient épileptique (C)).

1.5 Contrôle post-explantation

Suite à l'explantation, nous récupérons les électrodes pour effectuer un contrôle de la configuration des microélectrodes (rétractées ou déployées, Figure 35) et du fonctionnement de la vis micrométrique. Ce contrôle n'a pas été mis en place lors des premières interventions mais il a pu pour le moment être effectué chez 21 patients (69 électrodes hybrides).

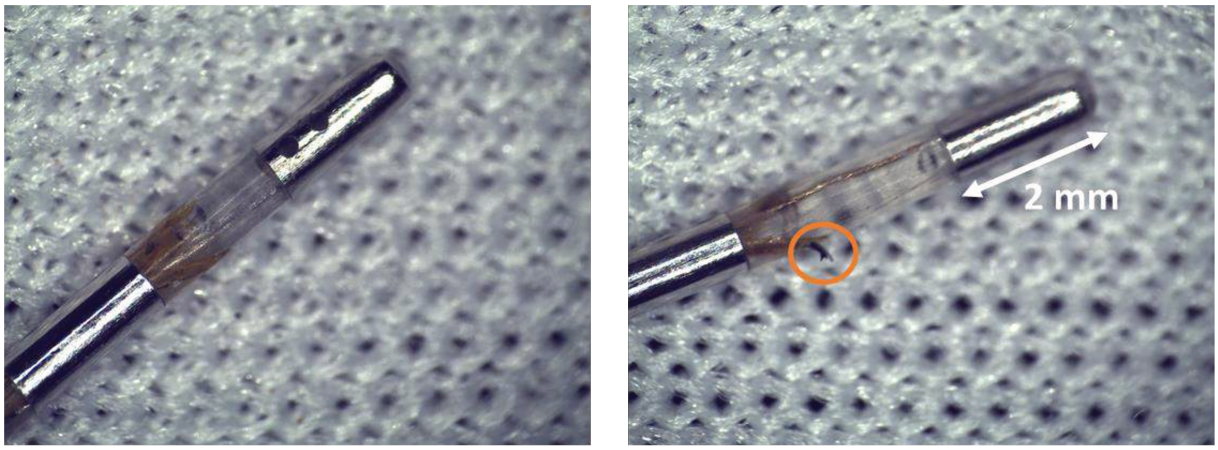


Figure 35 – Extrémité d'électrodes hybrides visualisées à l'aide d'un microscope photonique (grossissement x 10). (A) Exemple de microélectrode correctement rétractées. (B) Exemple de microélectrodes toujours en partie déployées suite à l'explantation.

Au total, les microélectrodes de 44 électrodes hybrides (soit **63,7%**) étaient **entièrement rétractées**. 80% des microélectrodes encore déployées suite à l'explantation l'étaient de moins de 1 mm (moyenne 0,7mm ± 0,5mm). Il est important de noter qu'**il n'y a pas eu de complications cliniques** suite à l'utilisation des électrodes hybrides chez nos patients et qu'elles n'entrainent pas plus de saignements ou d'hématomes que les macroélectrodes clinique. Ces analyses sont détaillées dans l'**étude méthodologique** à la fin de ce chapitre.

Nous n'avons jamais été capable de ressortir les microélectrodes en utilisant la vis micrométrique suite à l'explantation, excepté pour une patiente chez qui les microélectrodes n'avaient pas été déployées (suite à un problème de logistique).

La nouvelle électrode hybride de DIXI medical :

- Même diamètre qu'une électrode clinique (800 µm)
- Deux modèles (2 ou 3 tétrodes) et trois longueurs (33, 40 et 51 cm)
- Possibilité de déployer les microélectrodes jusqu'à 2 mm
- Difficulté pour visualiser les microélectrodes pendant l'implantation

- Les microélectrodes sont correctement rétractées au moment de l'explantation dans 63,7% des cas
- Aucune complication clinique n'a été rapporté suite à l'utilisation des électrodes hybrides
- La vis micrométrique ne semble plus fonctionnelle suite à la 1ère utilisation

2 Optimisation des conditions d'enregistrement

L'utilisation de microélectrodes permet d'avoir accès à des enregistrements de plus en plus précis mais elles sont davantage sensibles au bruit. Il est donc nécessaire de prendre des précautions non seulement au moment où les enregistrements sont réalisés mais également au moment de la mise en place du pansement pour obtenir le signal le plus propre possible.

2.1 Recommandations pour le bloc opératoire et la mise en place du pansement

Les électrodes hybrides, du fait du mécanisme permettant de sortir les microélectrodes, sont plus fragiles que les électrodes cliniques. La méthode d'implantation reste la même que pour une électrode clinique, la seule différence est la mise en place du support pour gaine et le déploiement des microélectrodes à la fin de l'implantation et avant la réalisation du pansement. Nous avons choisi de déployer les électrodes au bloc opératoire par précaution, pour éviter que les réactions tissulaires faisant suite à l'insertion de l'électrode n'empêchent le déploiement des microélectrodes au bout d'un certain temps.

Chez les premiers patients, nous avions tenté une sortie progressive des microélectrodes (1 mm le lendemain de l'implantation et 1 mm en plus le surlendemain). Cependant nous nous sommes rapidement aperçus que la qualité du signal était meilleure lorsque les électrodes étaient déployées à 2 mm. Lorsque les microélectrodes sont déployées à 1 mm de l'électrode clinique, elles sont probablement encore dans la zone lésionnelle (créée au moment de l'insertion de l'électrode). La sortie de 2 mm permet de sortir de cette zone et d'être plus proche de neurones fonctionnels.

Une des étapes les plus critiques est la mise en place du pansement. Il est nécessaire d'avoir accès aux vis micrométriques des microélectrodes durant l'hospitalisation du patient pour pouvoir les rétracter et/ou les déployer davantage. Nous avons mis en place une nouvelle procédure adaptée aux électrodes hybrides :

- Sécuriser le support pour gaine avec un scotch pour s'assurer que la gaine ne puisse en ressortir (Figure 36.A)
- Enrouler chaque support pour gaine individuellement dans une compresse (Figure 36.B)
- Consolider l'ensemble du pansement avec des bandes de nylex en mettant de côté les vis micrométriques et les connecteurs des électrodes hybrides (Figure 36.C)
- Grouper les vis micrométriques sur les régions temporales hautes pour moins gêner le patient et faciliter leur manipulation (Figure 36.D)

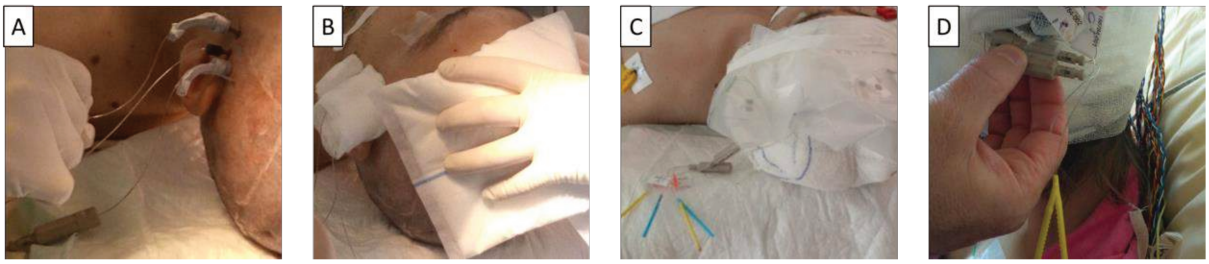


Figure 36 – Illustration des différentes étapes lors de la mise en place du pansement. Chaque vignette est détaillée dans le texte.

Recommandations pour le bloc opératoire et la mise en place du pansement :

- Déployer les microélectrodes au bloc opératoire
- Déployer les microélectrodes directement à 2 mm
- Suivre la procédure établie pour la mise en place du pansement

2.2 Description du contexte expérimental

Les enregistrements sont effectués dans la chambre du patient (il y a actuellement deux chambres permettant de réaliser ces enregistrements au CHU de Toulouse). Chaque chambre est équipée d'un système d'acquisition Micromed (2x 64 canaux) permettant d'acquérir le signal des macroélectrodes cliniques. Lors de nos protocoles expérimentaux, nous amenons à l'aide de chariots dans la chambre du patient :

- Un ordinateur de stimulation, permettant de diffuser la vidéo utilisée dans le protocole EPIFAR et d'afficher les tâches cognitives étant proposées au patient
- Un ordinateur comportant le système d'acquisition des microélectrodes (Blackrock 64 canaux)

Une fois que les ordinateurs sont installés dans la chambre, nous connectons les microélectrodes à leur système d'enregistrement. Cela nécessite l'utilisation intermédiaire d'un headstage pour amplifier le signal (voir Figure 37 pour un schéma global de l'installation).

2.3 Recommandations lors de l'acquisition du signal

Les microélectrodes sont très sensibles au bruit environnant. Lorsque nous avons débuté les enregistrements au CHU de Toulouse en mars 2015, le niveau de bruit était d'environ 60-70 µV. Il était crucial de le faire diminuer puisque la majorité des potentiels d'actions habituellement enregistrés dans d'autres centres ont une amplitude comprise entre 20 et 50 µV. Le bruit qui contaminait les enregistrements provenait de plusieurs origines.

2.3.1 Bruit à 50 Hz

Dans les hôpitaux récents, les chambres des patients sont normalement bien isolées. Parfois, les enregistrements peuvent même s'effectuer dans une cage de Faraday. Dans notre cas, l'hôpital était assez récent (2015) mais nous n'avions pas accès à une cage de Faraday. Les premiers enregistrements étaient contaminés par beaucoup de 50 Hz mais une grande amélioration a pu être constatée avec l'utilisation de câbles blindés (tous les câbles de la

chambre du patient ont été remplacés par des câbles blindés y compris les câbles du système d'acquisition Micromed) et d'un « power conditioner » permettant de réguler le voltage.

2.3.2 Bruit à 2048 Hz

Le projet EPIFAR repose sur la détection de fast-ripples, des oscillations à haute fréquence comprises entre 200 et 600 Hz. Leur détection nécessite donc un taux d'échantillonnage élevé. Dans notre cas, les enregistrements des microélectrodes ont été effectués avec un Blackrock à 30 kHz et les enregistrements des macroélectrodes ont été effectués avec le système Micromed à 2048 Hz. Nous nous sommes aperçus que nos enregistrements (à la fois ceux des microélectrodes et des macroélectrodes) étaient contaminés par un bruit correspondant à la fréquence d'échantillonnage utilisée avec l'amplificateur Micromed (soit 2048 Hz). Ce bruit était très gênant pour nous étant donné que nous souhaitions étudier l'activité neuronale pendant nos différentes tâches.

Pendant plus d'un an, nous avons dû trouver et utiliser une solution alternative, à savoir acquérir le signal des macroélectrodes sur batterie et le renvoyer à la fin de la tâche sur les ordinateurs de l'hôpital. Le principal inconvénient de cette approche est que durant la période d'enregistrement et la période de rattrapage, les infirmières n'avaient pas accès au signal. A noter que le temps de rattrapage d'une tâche enregistrée à 2048 Hz est équivalent au temps de la tâche en question. Ce qui veut dire que pour EPIFAR, par exemple, les infirmières devaient atteindre au minimum une heure après la fin de la tâche pour avoir accès au signal en direct. Cette solution n'était donc clairement pas envisageable sur le long terme.

Après plusieurs interventions, une solution a été proposée par Blackrock. Elle consiste à utiliser deux références pour les microélectrodes au lieu d'une (détails dans la Figure 37) en plus d'une terre. Cette solution semble satisfaisante et nous avons pu la mettre en place à partir du patient 25. Il est important d'utiliser des câbles directs (sans ponts) pour les références et la terre afin d'éviter un effet « antenne » contaminant le signal.

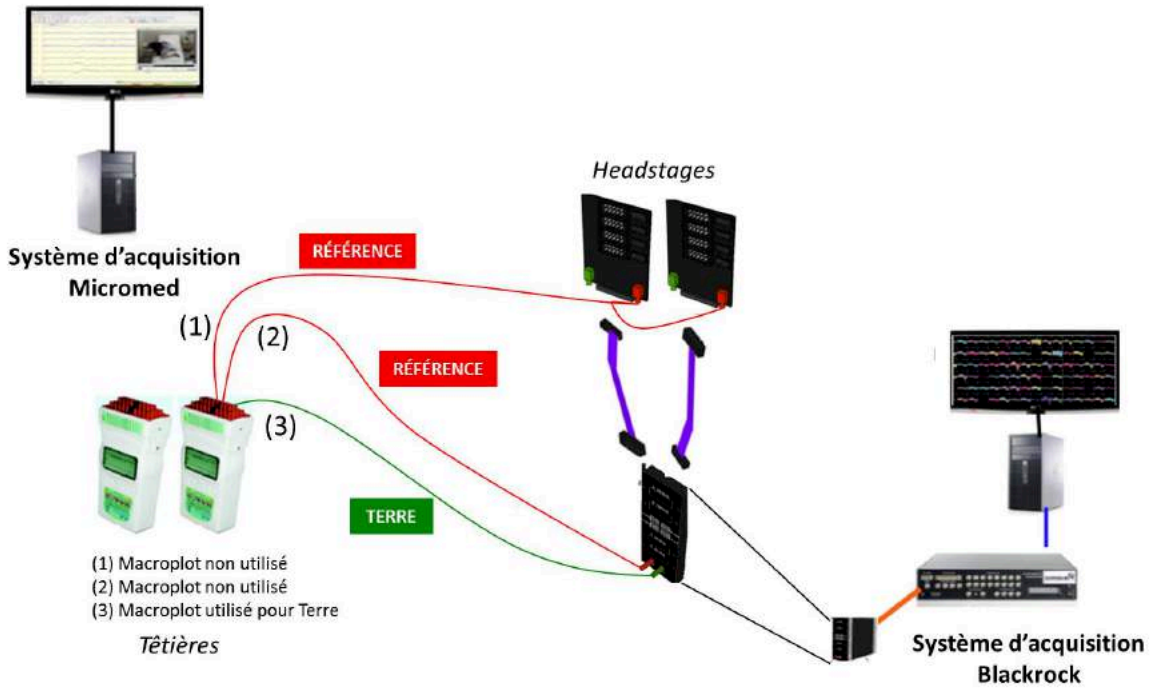


Figure 37 – Schéma des branchements à effectuer lors des enregistrements avec les microélectrodes.

Afin d'éviter tout problème d'interférences entre des systèmes d'acquisition, le plus simple (mais pas le moins onéreux) est d'utiliser un seul système d'acquisition de 256 canaux permettant de connecter à la fois les macroélectrodes et les microélectrodes. Cela permet également d'avoir des enregistrements directement synchronisés dans le temps.

2.3.3 Artefacts de mouvement

L'utilisation de microélectrodes nécessite beaucoup de connectiques. Chaque microélectrode est reliée à un ''headstage'' (un pré-amplificateur) à l'aide d'un connecteur spécifique (Figure 38.A). Il faut deux headstages pour utiliser 4 électrodes hybrides. Chaque headstage est ensuite relié à l'amplificateur Blackrock. Les headstages ainsi que les connecteurs les reliant aux électrodes sont disposés sur la tête du patient. Ce matériel peut s'avérer rapidement gênant pour le patient : cela rajoute du poids sur la tête ; les headstages et les connecteurs bougent créant des artefacts de mouvement, voir Figure 38.B (il convient de les fixer temporairement à l'aide d'une bande nylex) ; nous n'utilisons pour l'instant que 2 headstages mais si l'ensemble des électrodes étaient des hybrides il en faudrait au moins 6.

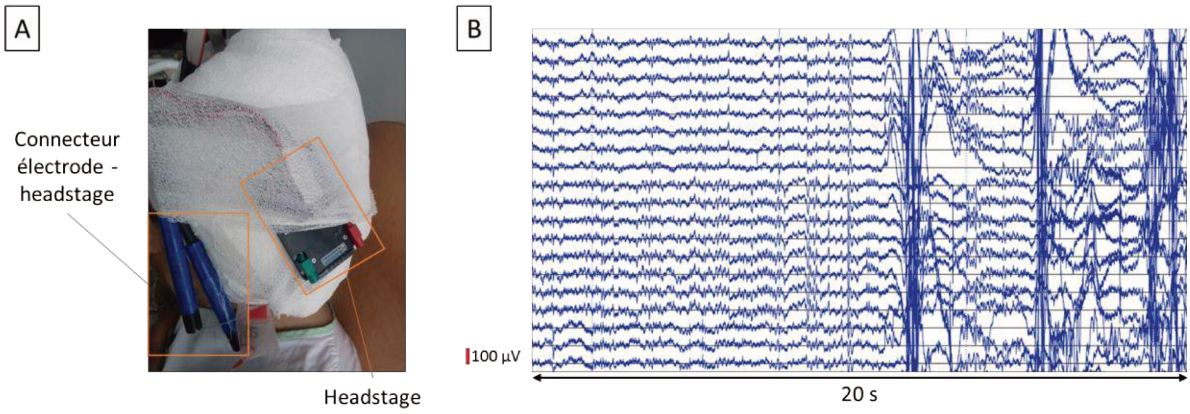


Figure 38 – (A) Photographie de la connexion actuelle entre les microélectrodes et le headstage. (B) Exemple de 20 secondes d'enregistrements obtenues chez le patient 18 avec un artefact lié au mouvement.

Nous avons effectué des tests avec différents fabricants de système d'acquisition pour tenter de trouver une meilleure solution de connexion. En théorie, de nouveaux prototypes adaptés à nos électrodes devraient être produits et devraient permettre de connecter directement les électrodes aux headstages.

2.3.4 Référence utilisée pour les microélectrodes

De façon générale pour les macroélectrodes, la référence utilisée est un plot d'une macroélectrodes localisé dans la substance blanche ou dans l'os. Pour les microélectrodes, il n'existe pas de réelle recommandation. Les électrodes hybrides concurrentes sont composées de 9 microfilaments parmi lesquels l'un d'entre eux a une impédance plus faible, se rapprochant de celle des macroélectrodes. Cependant cette référence n'est pas systématiquement utilisée dans les différents centres, parfois c'est plutôt une autre microélectrode avec une impédance équivalente est choisie. Nous avons testé plusieurs configurations :

- **Référence macro commune**

L'impédance de l'ensemble des microélectrodes de DIXI medical est équivalente. Nous avons donc essayé de trouver un plot avec une plus faible impédance pour qu'il puisse faire office de référence. Notre choix s'est porté sur un plot d'une macroélectrode localisé dans la substance blanche ou dans l'os, tout comme pour la référence des macroélectrodes. Cette référence nous permet d'observer les activités intercritiques ainsi que les activités neuronales sur l'ensemble des microélectrodes.

- **Référence micro commune**

Nous avons également essayé de prendre comme référence une microélectrode pour essayer de diminuer davantage le niveau de bruit. A noter qu'avec notre système d'acquisition (Blackrock), il n'est possible de choisir qu'une seule microélectrode en référence pour chaque headstage et aucun signal ne peut être enregistré avec cette microélectrode.

- Inter-tétrode

Le signal enregistré chez les premiers patients était très bruité, nous avons réalisé un nouveau montage offline en soustrayant à chaque tétrode le signal enregistré par une autre tétrode (Figure 39.A). Cela a permis de réduire significativement le bruit mais le problème de cette approche est que certains évènements (comme les activités intercritiques entre autres) peuvent avoir un aspect similaire sur les différentes tétrodes d'une même électrode et donc disparaitre avec ce type de montage. Cependant ce montage peut être intéressant pour étudier l'activité neuronale.

- Intra-tétrode

Nous avons également essayé de prendre une référence à l'intérieur même de chaque tétrode (Figure 39.B) mais la plupart du temps nous n'avions plus de signal car l'information enregistrée par les différents filaments d'une même tétrode était très similaire.

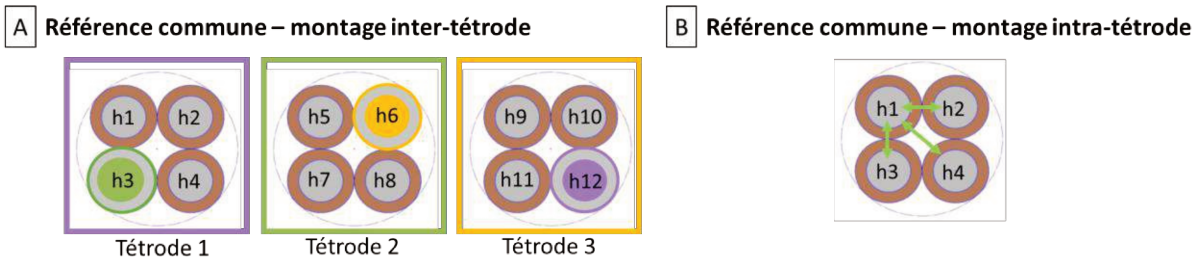


Figure 39 – Représentations de différents types de montages utilisant une microélectrode en référence. (A) Montage inter-tétrode dans lequel la microélectrode h3 est la référence de la seconde tétrode, h6 est la référence de la troisième tétrode et h12 est la référence de la première tétrode. (B) Montage intra-tétrode dans lequel la microélectrode h1 devient la référence des autres microélectrodes de la même tétrode.

Recommandations pour améliorer la qualité du signal lors de l'acquisition :

- Utiliser des câbles blindés
- Utiliser un « power conditioner »
- Préférer un seul système d'acquisition pour les microélectrodes et les macroélectrodes afin d'éviter de potentielles interférences
- Utiliser des câbles directs (sans ''ponts'') pour la référence et la terre
- Avoir une connexion la plus courte possible entre l'électrode et le headstage
- Préférer un macrocontact en substance blanche ou dans l'os comme référence pour pouvoir enregistrer les activités intercritiques et neuronales en même temps

En plus de ces recommandations, lors de chaque enregistrement, nous évitons de croiser les différents câbles entre eux, nous débranchons tout ce qui est connectés sur les prises électriques, nous enlevons la climatisation et nous coupons les téléphones portables.

2.4 Importance du choix du système d'acquisition

Actuellement, deux systèmes d'acquisition sont disponibles pour acquérir du signal à l'aide de microélectrodes chez l'Homme : un proposé par Blackrock et un par Neuralynx.

Nous avons débuté les enregistrements en microélectrodes avec le système d'acquisition Blackrock (64 canaux). Cependant, comme les électrodes hybrides de DIXI medical étaient

nouvelles et que les connecteurs n'étaient pas (et ne sont toujours pas) correctement adaptés, nous avons aussi eu l'occasion de tester un système d'acquisition Neuralynx.

Les enregistrements du patient 22 ont été acquis avec le système Neuralynx. Le dernier jour, nous avons proposé une tâche d'oddball au patient que nous avons enregistré une première fois avec le Neuralynx, puis une seconde fois avec le Blackrock. L'objectif était de comparer les niveaux de bruit obtenus par les deux systèmes. Dans les deux cas nous avons référencé les microélectrodes de la même façon en prenant le même macrocontact en substance blanche comme référence. Pour comparer les résultats, nous avons filtré le signal entre 300 et 3000 Hz (comme nous le faisons pour faire les analyses de spike sorting). Chez ce patient, nous avons obtenu un niveau de bruit aux alentours de 20 µV avec le Blackrock (Figure 40.A), ce qui correspond à ce que nous retrouvons habituellement chez les autres patients. En revanche avec le Neuralynx, nous avons obtenu un niveau de bruit aux alentours de 5 µV (Figure 40.B).

A Lyon, l'activité cérébrale des patients participants au protocole EPIFAR est enregistrée dans une cage de Faraday, à l'aide de deux systèmes d'acquisition Blackrock de 128 canaux chacun. De façon générale, le niveau de bruit obtenu dans ces conditions est autour de 10 µV (Figure 40.C).

Il semblerait que les deux systèmes d'acquisition ne soient pas équivalent et que le Neuralynx permette d'avoir des enregistrements moins bruités, même quand les enregistrements ne se font pas dans des conditions idéales (cage de Faraday). De plus, les différents centres que nous avons pris en tant que référence en termes de niveau de bruit (Bonn, Los Angeles) utilisent le système Neuralynx.

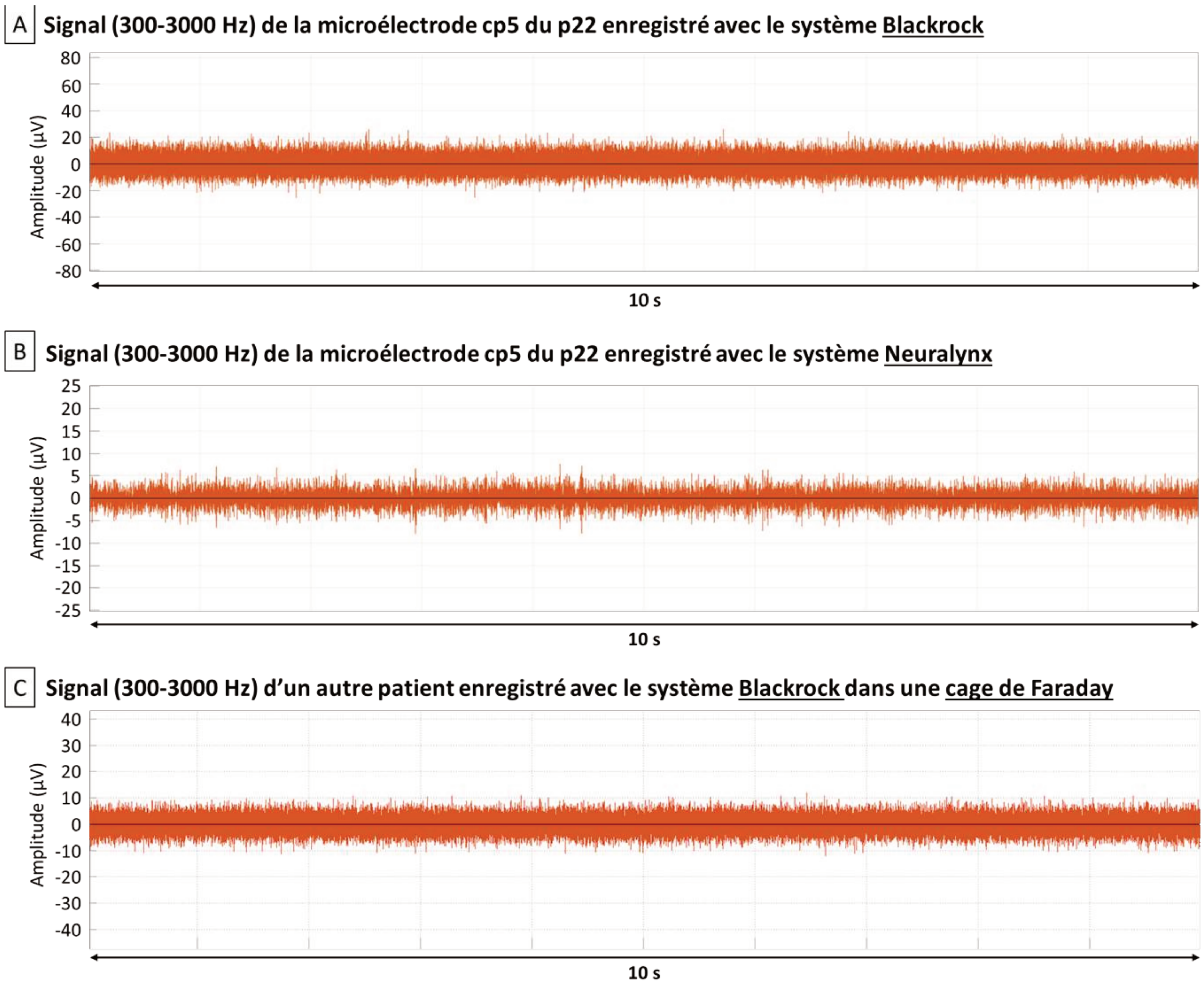


Figure 40 – Signal filtré (300-3000 Hz) correspondant à l'enregistrement de la même tâche comportementale, avec le même contact de référence, par le système d'acquisition Blackrock (A) et par le système d'acquisition Neuralynx (B). (C) Signal enregistré chez un autre patient à l'aide du système Blackrock, dans une cage de Faraday.

2.5 Découpe des microélectrodes

Nous avons eu l'occasion d'examiner une électrode hybride au microscope électronique à balayage en collaboration avec le laboratoire du LAAS à Toulouse. Cette électrode avait été endommagée au bloc opératoire et n'avait donc pas pu être implantée. Nous avons également profité de l'occasion pour examiner des tétrodes isolées. Cette visualisation nous a permis de nous rendre compte que la découpe des microélectrode (effectuée à l'aide d'une pince coupante) n'était pas franche. En effet, les microélectrodes apparaissent écrasées et dénudées, de même des morceaux de gaine sont retrouvés sur les parties actives des microélectrodes (Figure 41). Tout cela est susceptible d'entrainer des modifications

d’impédance et par extension du rapport signal/bruit. De nouvelles solutions de découpe sont en cours d’étude.

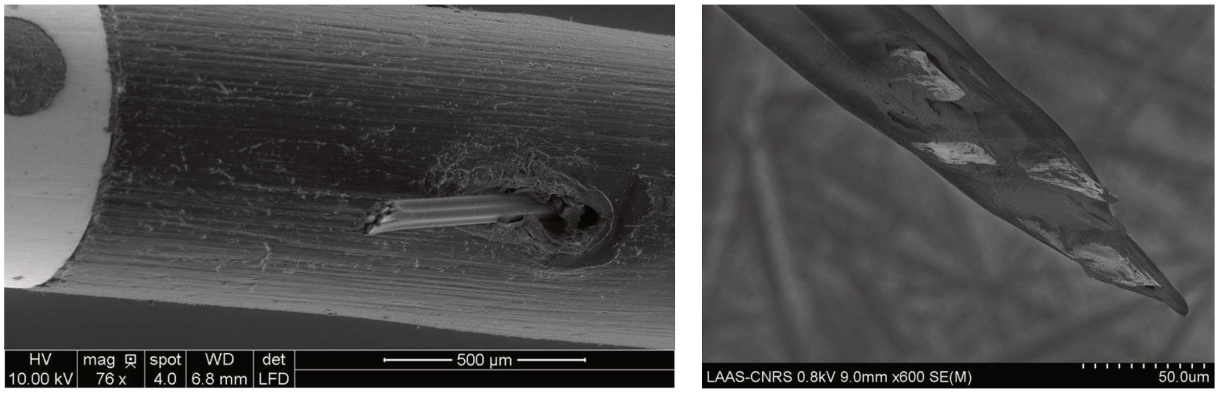


Figure 41 – Visualisation d’une électrode hybride (A) et d’une tétrode (B) au microscope électronique à balayage.

3 Étude 1 : Recording EEG signals and neuronal activity using tetrodes in epileptic patients

ARTICLE EN COURS DE SOUMISSION

Communication orale lors de congrès nationaux et internationaux :

- **Despouy E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2017). Mic-mac dans les enregistrements micro-macro. *Vingtièmes Journées Françaises d'Epileptologie. Marseille, France.*
- Valton, L., Curot, J., **Despouy, E**., Barbeau, J. E. (2017). Focus on new electrodes. *Workshop on Intracranial Recordings in humans: Epilepsy, DBS. Paris, France.*

POINTS CLÉS

- Premiers enregistrements à l'aide de tétrodes chez l'Homme
- Absence de complications cliniques et d'évènements indésirables
- En moyenne 2,20 ± 6,5 neurones unitaires par tétrode (max 13)
- Stabilité de l'impédance et du niveau de bruit
- Dispositif mobile : extension des microélectrodes jusqu'à 2 mm

INTRODUCTION

Dans le cadre des épilepsies pharmaco-résistantes, l'implantation d'électrodes profondes est parfois nécessaire pour arriver à déterminer de façon plus précise la zone épileptogène (Yang et al., 2014; Podkorytova et al., 2016). Des électrodes hybrides combinant macro et microélectrodes sont utilisées dans ce but depuis plus de 40 ans (Babb et al., 1973; Fried et al., 1999). Elles sont l'unique moyen d'étudier l'activité neuronale du cerveau humain et de mieux comprendre les mécanismes de l'épileptogenèse (Alvarado-Rojas et al., 2013; Lambrecq et al., 2017).

Un seul modèle d'électrode hybride intracérébrale est disponible et utilisé depuis des dizaines d'années mais certaines de ses caractéristiques s'avèrent problématiques. Le diamètre de cette électrode est important (1300 µm), les macro et les microélectrodes ne se trouvent pas dans le même espace (ce qui limite les comparaisons possibles) et il est difficile d'isoler des activités neuronales unitaires puisque la localisation et l'espace entre chaque microfilament n'est pas connu.

La recherche sur l'animal a permis de faire des progrès dans l'isolation d'activités neuronales unitaires en multipliant les sources d'enregistrement et en utilisant notamment des tétrodes (4 microfilaments liés ensemble). Dans cette étude, nous décrivons une nouvelle électrode hybride comportant des tétrodes, en investigation clinique au CHU de Toulouse depuis 2015.

Le but de cette étude est de rapporter les caractéristiques, l'innocuité et les performances de la nouvelle électrode hybride équipée de tétrodes.

MÉTHODES

La nouvelle électrode hybride de DIXI medical consiste en une macroélectrode clinique (d'un diamètre de 800 µm) à laquelle deux ou trois tétrodes (d'un diamètre de 70-80 µm) sont ajoutées. Ces tétrodes peuvent être étendues jusqu'à 2 mm entre les deux macrocontacts les plus mésiaux. Ces électrodes hybrides sont en investigation clinique au CHU de Toulouse depuis mars 2015. Au total, 28 patients ont accepté de participer à cette étude et 240 macroélectrodes cliniques et 102 électrodes hybrides ont été implantées.

RÉSULTATS

- Aucun évènement indésirable n'a été rapporté suite à l'utilisation des électrodes hybrides. Leur utilisation n'entraine pas plus d'hématomes ou de saignements que les macroélectrodes cliniques.
- L'impédance électrochimique des microélectrodes in vitro est d'environ 103 kOhm (mesurée à 1 kHz) pendant les dix premiers jours. Elle augmente ensuite légèrement jusqu'à atteindre 220 kOhm au bout de 3 semaines.
- Le niveau de bruit moyen obtenu lors des enregistrements est d'environ 22,25 µV.
- Le choix du système d'acquisition peut affecter le niveau de bruit obtenu (20 µV avec le système d'acquisition Blackrock et en dessous de 10 µV avec le système d'acquisition Neuralynx, sur la même électrode chez un même patient).
- Le nombre moyen de neurones unitaires enregistrés par tétrode est de 2,20 ± 6,5 (max 13).
- Cette nouvelle électrode permet de réaliser des analyses à multi-échelle en comparant le signal enregistré par les macro et les microélectrodes.

DISCUSSION

Nos résultats sont en accord avec la littérature, les électrodes hybrides apparaissent aussi sécurisées que les macroélectrodes cliniques (Hefft et al., 2013; Carlson et al., 2018). La valeur d'impédance est également en accord avec les standards (Ferguson et al., 2009; Hill et al., 2011). Le niveau de bruit moyen que nous obtenons dans nos enregistrements est de 22,25 µV. Ce niveau peut paraitre satisfaisant comme nous enregistrons des activités d'intérêt et des activités neuronales unitaires mais nous savons que ce niveau peut être moins important. En effet certaines équipes sont capables de détecter des activités neuronales de seulement 15 µV d'amplitude (Rutishauser et al., 2015). De plus, ce niveau peut être influencé par le système d'acquisition utilisé. L'utilisation de tétrodes plutôt que de microélectrodes isolées parait prometteur, en effet nous sommes capable d'enregistrer en moyenne 2,20 ± 6,5 neurones (max 13) par tétrode contre 2.1 ± 0.9 neurones par groupes de 8 microélectrodes chez les concurrents (Misra et al., 2014) et il est important de rappeler que nous avons au minimum deux tétrodes par électrode hybride. Cette nouvelle électrode permet également de réaliser des analyses à multi-échelle et de détecter des évènements visibles seulement sur les microélectrodes.

La nouvelle électrode hybride de DIXI medical offre la possibilité d'apporter de nouvelles informations pour étudier les aspects neurophysiopathologiques de l'épilepsie ainsi que les substrats physiologiques de la cognition. Cette électrode est très prometteuse pour la réalisation d'analyses à multi-échelle, sans nécessiter de modifications de la procédure d'implantation des macroélectrodes cliniques. De plus, cette électrode est sans danger et fonctionne très bien. Deux modifications importantes sont prévues sur cette électrode : (1) la possibilité d'étendre les tétrodes jusqu'à 3 mm (possibilité de les étendre plus ou moins au cours de l'implantation pour chercher des neurones) ; (2) la possibilité d'étendre les tétrodes à différents niveaux de l'électrode pour investiguer les épilepsies latérales.

Recording EEG signals and neuronal activity using tetrodes in epileptic patients

Elodie Despouy[a,b,c], Jonathan Curot[a,b,d], Leila Reddy[a,b], Lionel G. Nowak[a,b], Martin Deudon[a,b], Jean-Christophe-Sol[e,f], Jean-Albert Lotterie[e,g], Marie Denuelle[d], Ali Maziz[h], Christian Bergaud[h], Luc Valton[a,b,d], Emmanuel J. Barbeau[a,b]

a- Centre de Recherche Cerveau et Cognition, Université de Toulouse, Université Paul Sabatier Toulouse, Toulouse, F-31330, France

b- Centre National de la Recherche Scientifique CerCo, Toulouse, F-31052, France

c- DIXI Medical, Chaudefontaine, F-25640 France

d- Explorations neurophysiologiques, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse, F-31300, France

e- INSERM, U1214, TONIC, Toulouse Mind and Brain Institute, Toulouse, F-31052, France

f- Neurochirurgie, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse, F-31300, France

g- Radiochirurgie stéréotaxique, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse, F-31300, France

h- LAAS-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, F-31400, France.

Corresponding author: Elodie Despouy, elodie.despouy@cnrs.fr

ABSTRACT

Background: Recording using tetrodes (four microwires bundled together) has proved to be more efficient to isolate single neuron spiking activity than recording using single wires. However, tetrodes have never been systematically used in humans. The purpose of this study is to report the characteristics, safety, and performance, of new hybrid electrodes equipped with tetrodes, which remain fully compatible with the regular clinical ones used for intracranial recordings in epileptic patients.

New Method: We present the characteristics of a new type of hybrid intracranial electrodes (diameter 800 µm) made of 6 or 9 macro-contacts and 2 or 3 tetrodes (diameter 70-80 µm).

Results: A total of 240 clinical macroelectrodes and 102 hybrid electrodes were implanted in 28 patients. No clinical complications or undesirable event was associated with the new hybrid electrode. Recordings were stable across days in terms of impedance and noise. The design enabled multiscale analyses, revealing physiopathological events that could be recorded on the tetrodes but not on the macro-contacts, or that could be specific to one tetrode. The neuronal yield was comparable to other hybrid electrodes and regularly reached > 10 neurons per tetrodes.

Comparison with Existing Methods: The new hybrid electrode has a smaller diameter than other available hybrid electrodes. It provides novel spatial information due to the configuration of the tetrodes. The neuronal yield appears promising.

Conclusions: This new hybrid electrode is safe, easy to use and working well.

HIGHLIGHTS (max 85 characters including space, in a different file)

- First tetrode recordings in vivo in humans
- No clinical complications or undesirable events
- Stability of the impedance and of the level of noise
- on average 2.20 ± 6.5 single units per tetrode (regularly >10)
- Moving device: extension of microwires up to 2mm

KEYWORDS (max 6, American spelling)

Hybrid; depth electrode; tetrode; intracranial EEG; single unit; epilepsy

ABBREVIATIONS (footnote title page):

ACSF: artificial cerebrospinal fluid; MRI: magnetic resonance imaging; RMS: root mean square; SEEG: stereo-electroencephalography

1. INTRODUCTION

About 30% to 40% of epileptic patients suffer from drug refractory epilepsy (Kwan et al., 2011; Laxer et al., 2014; Dalic and Cook, 2016). Neurosurgery in these patients offers a good rate of seizure control, with 58-73% of patients seizure free two years after surgery (Yıldırım Capraz et al., 2015). Implantation of subdural and/or depth electrodes is often necessary prior to neurosurgery to delineate the seizure onset zone (Behrens et al., 1994; Yang et al., 2014; Podkorytova et al., 2016).

Hybrid depth electrodes, combining both macro-contacts and micro-wires, have been used during investigation of drug-refractory epilepsy for about 45 years (Babb et al., 1973; Fried et al., 1999). They provide the unique opportunity to study neuronal activity in the human brain for a better understanding of the mechanisms of epileptogenesis (Keller et al., 2010; Alvarado-Rojas et al., 2013; Lambrecq et al., 2017) and of the neurobiological basis of cognition (Fried et al., 1997; Kreiman et al., 2002; Quiroga et al., 2005; Mormann et al., 2008; Rutishauser et al., 2010; Reddy et al., 2015). They are also more efficient to detect pathological activities such as high frequency oscillations (Zijlmans et al., 2017; Despouy et al., 2019). They are as safe and effective as clinical macroelectrodes for intracranial monitoring (Hefft et al., 2013; Carlson et al., 2018).

Since the end of the 90s, the most commonly used hybrid electrode is a typical bundle of microelectrodes (up to 9, each with a diameter of 40 µm) inserted inside the shaft of the electrode and exiting from the tip of the clinical macroelectrode (Babb et al., 1973; Fried et al., 1999). Despite its success, such hybrid electrodes suffer from several drawbacks: 1- the diameter of the clinical macroelectrode (1300 µm) is rather large compared to other clinical macroelectrodes used for intracranial monitoring (800 µm). 2- there is an imperfect spatial

matching between the macrocontacts and the microelectrodes recordings due to the extension of the microwires of about 5 mm after the tip of the clinical macroelectrode, i.e. macro – and microelectrodes do not record from the same neuronal populations; 3- the length of this extension limits the brain areas in which these hybrid electrodes can be implanted; 4- there is less certainty about the isolation of single units as the bundle of microwires spread out into the brain tissue and the distance between each microwire is unknown.

Animal research provided a major step towards the isolation of single units and highlighted the major contribution of tetrodes (Buzsáki, 2004). The challenge is that in some areas, cell bodies are closely packed together and cells can fire in a complex spike pattern where the height of the action potential within a burst can vary in amplitude by as much as 50% (Kandel and Spencer, 1961; Ranck, 1973). The use of a stereotrode (two microwires twisted together) improved the detection of single units: cells with different ratios of distances from two electrode tips will have different spike amplitude ratios when recorded on two channels (McNaughton et al., 1983). Following the same logic, a tetrode configuration (four microwires bundled together) has been used and has been shown to improve clustering methods (O'Keefe and Recce, 1993; Wilson and McNaughton, 1993; Gray et al., 1995; Buzsáki, 2004). Using tetrodes, up to a dozen neurons can be recorded at a time (Harris et al., 2016).

In this study, we describe a new hybrid electrode, which is under clinical investigation in our epilepsy center since 2015. This electrode contains two or three tetrodes inserted in a macroelectrode of the same diameter than the clinical ones (800 µm). Once the hybrid electrode is inserted into the brain, a micrometer screw provides the possibility to extend the tetrodes up to 2 mm. Because the tetrodes extend between two macrocontacts, they allow a true multiscale recording of the same brain area. It is to our knowledge the first time that

tetrodes are used in a clinical trial in the humans. It is unknown whether tetrodes can be as useful in the human than in the animal, both from a clinical or an electrophysiological perspective. The purpose of this study is to report the characteristics of this new hybrid electrode, its safety and its ability to record EEG signals and neuronal activity at several scales simultaneously.

2. METHODS

2.1 Patients

All patients suffered from partial epilepsy and anticonvulsant drugs failed to control their seizures. As noninvasive assessments failed to localize the epileptogenic zone with certainty, patients underwent stereo-electroencephalography (SEEG) in the Toulouse epilepsy unit, between 2015 and 2018, to better delineate the epileptogenic zone. Each patient received detailed information about the objectives of the SEEG technique before intracerebral electrode implantation. They also received information about the details and the use of these new hybrid electrodes, and agreed to participate to this study (ClinicalTrials Identifier: NCT02491476). Intracranial EEG electrodes were implanted stereotaxically according to Talairach's method (Talairach et al., 1992). Implantation of the hybrid electrodes and the use of the data were approved by the local ethics committee and the French Drug and Health Product Safety Agency (CPP Sud-Ouest et Outre-Mer I, no.1-14-23 and ANSM 2014-A00747-40).

2.2 Electrodes

Up to 12 semi-rigid multicontact clinical depth macroelectrodes and up to 4 new hybrid electrodes were implanted per patient. The macroelectrodes (Microdeep, DIXI Medical,

France) had a diameter of 0.8 mm and contained 5-18 contacts (platinum/iridium) 2 mm long and regularly spaced 1.5 mm apart.

The hybrid electrodes (DIXI Medical, France) each consisted of a clinical macroelectrode (diameter: 0.8 mm) equipped with two or three tetrodes that protruded up to 2 mm from the shaft between the first and second most medial macrocontacts (Fig. 1A). Tetrodes were extended from the electrode shaft after neurosurgery, using a micrometer screw. They protruded from the shaft with an angle of 30°. Each was made of 4 tungsten wires of a diameter of 20 microns. The microwires were isolated with polyurethane for a total tungsten + polyurethane diameter of 30 microns. The theoretical surface of each microcontact was 6.28x10-4 mm^2. Altogether, each tetrode had a diameter of 70-80 microns. The hybrid electrodes equipped with two tetrodes had their tetrodes at 180° one from the other. They also had nine 2 mm long macro-contacts regularly spaced along the shaft at intervals depending on the overall length of the electrode. Three models with 2 tetrodes are available with total exploration length / space between contacts in mm: 33.2/1.9; 40.4/2.8; 50.8/4.1. The length of the electrodes is chosen depending on the depth of the cerebral target. The hybrid electrodes equipped with three tetrodes had their tetrodes at 120° one from the other. They had six 2 mm long macro-contacts, three medial and three laterals, all spaced 2 mm apart (3 models are available with exploration length: 34; 42 and 50 mm long). These three tetrodes cover a theoretical triangular surface of 2.095 mm^2. The three tetrodes configuration is generally chosen when the electrode is running through white matter between the lateral and medial cerebral targets where it is usually not useful to record EEG signal.

These new hybrid electrodes have been under clinical investigation in our epilepsy center since 2015, with an agreement to implant up to four hybrid electrodes per patient.

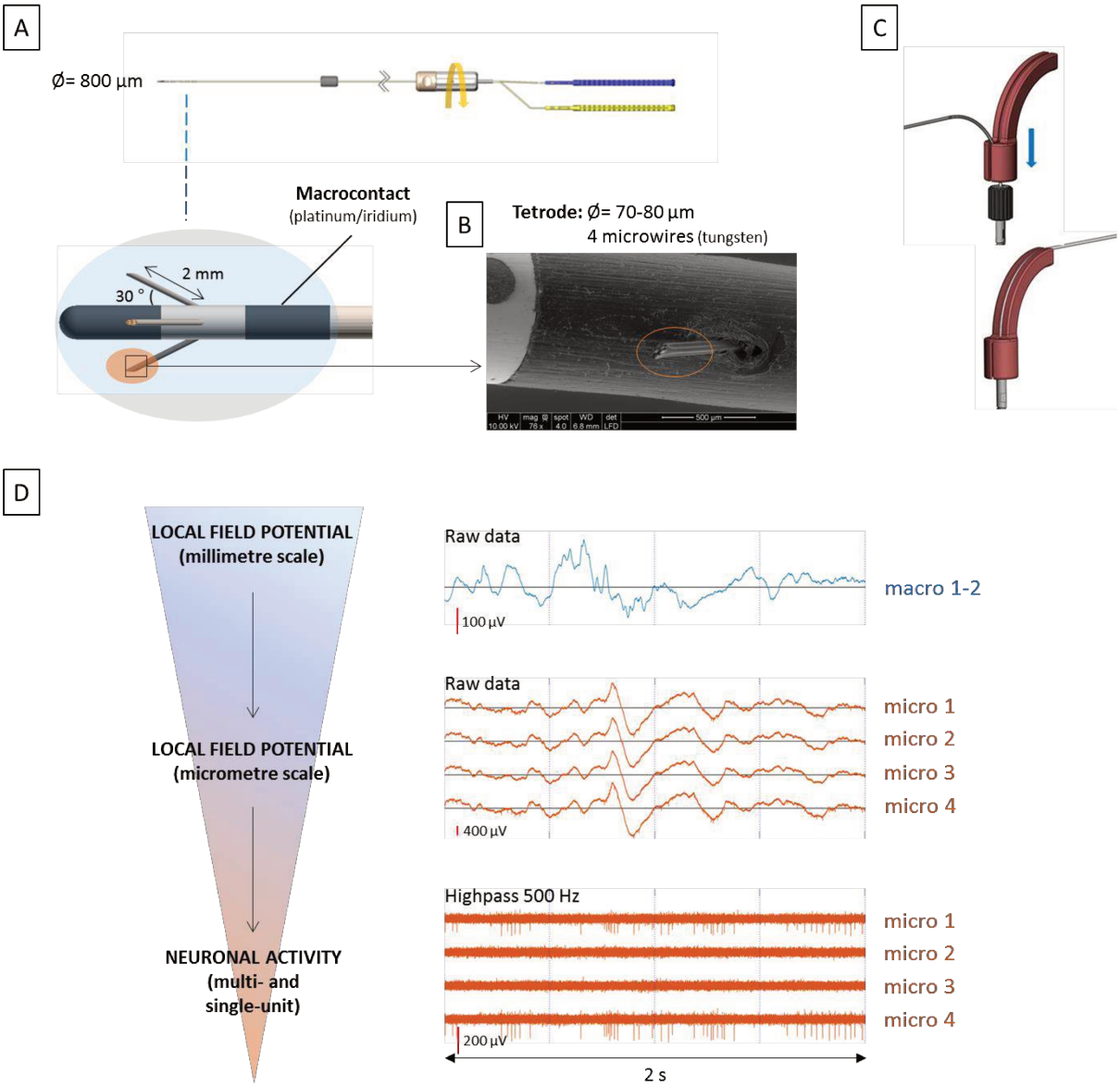


Figure 1 *- The new hybrid electrode. (A) The electrode contains two connectors, one for the macroelectrodes (in blue) and one for the microelectrodes (in yellow). A microscrew (yellow arrow) enables to extend the tetrodes from the shaft between the most medial macrocontacts (macrocontacts 1-2) by up to 2 mm. Depending on the model, two or three tetrodes can be extended. (B) Scanning Electron Microscopy of a tetrode partly extending from the shaft of a macroelectrode. (C) A sheath support is needed on the guide screw to ensure an optimal radius of curvature of the cables and thus the correct functioning of the input/output mechanism. (D) The design of these electrodes enables the recording of*

multiscale EEG. In blue, an interictal epileptiform discharge recorded by a macrocontact (raw signal). In orange, the same interictal epileptiform discharge recorded by the four microwires of a tetrode (raw signal) and the corresponding neuronal activity (highpass 500 Hz).

2.3 Neurosurgery

As the hybrid electrodes had the same diameter as the clinical electrodes, they don't necessitate any change of the neurosurgical practice. In particular, the rigidity of the clinical and hybrid electrodes remains the same. After the implantation of each hybrid electrode, a sheath support is placed on the guide screw to ensure an optimal radius of curvature of the cables and thus the correct functioning of the extension or retraction of the tetrodes (Fig. 1C). The sheath support slightly increases the safety distance to 5 mm instead of 3 between the entry point of each hybrid electrode and other electrodes. In our center, the tetrodes are generally extended of 2 mm right after the implantation and in the neurosurgery room although it can also be done in the patient room provided the micrometer screw is not buried in the dressing.

2.4 Electrode location

The choice of electrode location was based solely on pre-SEEG clinical observations and on hypotheses about the location of the epileptogenic zone based on non-invasive assessment, i.e. tailored implantation. The electrodes were implanted in brain areas chosen only for clinical purpose.

2.5 Recordings

Macrocontacts signals were recorded using two SystemPLUS EVOLUTION 64-channel acquisition units (Micromed, France) at a sampling rate of 2048 Hz (anti-aliasing filter: 926.7 Hz; high-pass filter: 0.15 Hz; low-pass filter: 1000 Hz). Microelectrode signals were recorded

using a 64-channel Cerebus System (Blackrock Microsystems, Salt Lake City, UT, USA) at a sampling rate of 30 kHz (0.3-7.5 kHz bandwidth). Line noise cancellation at 50 Hz was applied. A macrocontact located in the white matter was used as a reference for both systems. Macrocontacts were recorded 24/24 hr. Microelectrodes were recorded for 1 hour in five morning sessions while patients all watched the same TV show episodes.

2.6 Neuroimagery control

The location of each electrode contact was based on a pre-operative 3D T1-weighted MRI/post-operative CT-scan data fusion. The resolution of this fusion allows visual control of the anatomical location of each contact and whether it is located in the gray or white matter. This visual inspection was completed by normalization in MNI's anatomical space (Fig. 2).

In order to investigate potential subclinical complications of electrode implantation, such as tissue damages on the trajectory of electrodes or bleeding, a post-operative MRI was performed between 3 to 6 months after the end of SEEG and the explantation of electrodes (Siemens/Philipps 3 Tesla, T2, FLAIR, and T2 gradient-echo based sequences). A neurologist (JC) checked each post-operative MRI to investigate potential injuries caused by the electrode's trajectories (easily visible as a linear hypersignal on T2 and FLAIR sequences and bleeding as a hyposignal on T2 gradient echo-based sequences). The magnetic inhomogeneity from iron and deoxyhemoglobin causes faster T2* relaxation, leading to signal intensity loss on T2* MRI (Chavhan et al., 2009; Ko et al., 2018). Hence, T2*MRI is highly sensitive for the detection of recent or old cerebral hemorrhage. On the other hand, T2 hyperintense foci highlights lesions involving most frequently white matter (Bekiesińska-Figatowska, 2004).

2.7 Impedance

In vitro electrochemical impedance was measured by immersing tetrodes in artificial cerebrospinal fluid (ACSF) at 37°C during 24 days. Impedance was measured at 1000 Hz using a potentiostat.

2.8 Noise level

We also measured the noise level and its evolution across days of recordings. The noise level in an electronic system can be measured as the voltage root mean square (RMS), which provides an overall measure of the magnitude of the signal being recorded. We computed voltage RMS on filtered signals (300-3000 Hz) with a frame duration of 60 s. For each electrode, we considered the mean voltage RMS obtained during a 10 min period. We analyzed EEG signals at different scales using a toolbox (MicMac) developed in our lab and allowing simultaneous and synchronized macro and microEEG signal visualization.

2.9 Neuronal yield

Each microwire signal was bandpass filtered using a Butterworth filter (300-3000 Hz) and whitened. We detected action potentials offline on each separate tetrode. Spike sorting was performed using SpyKING CIRCUS (with a template matching-based algorithm) (Yger et al., 2018). We took into account different quality metrics (interspike interval, scatterplots of the different clusters, amplitude over time, autocorrelogram, crosscorrelogram, refractory period violations, density plots) to optimize spike sorting (Hill et al., 2011). An action potential was detected if the amplitude was above a threshold set at six times the median of the absolute deviation of the voltage. The resulting data were inspected manually and refined using the MATLAB graphical interface.

Spike sorting was done on one hour of recordings per day (maximum five days per patients). We considered only the electrodes located in the gray matter.

3. RESULTS

A total of 240 clinical macroelectrodes (mean per patients: 8.57 ± 1.85, range [5-12]) and 102 hybrid electrodes (mean per patient: 3.6 ± 0.62, range [2-4]) were implanted in 28 patients (median age= 33.5 years old; range [14-63]). Among the 102 hybrid electrodes, 69 consisted of two tetrodes and 33 of three tetrodes. The tetrodes were mainly located in the medial temporal lobes but also in various other brain structures (Fig. 2).

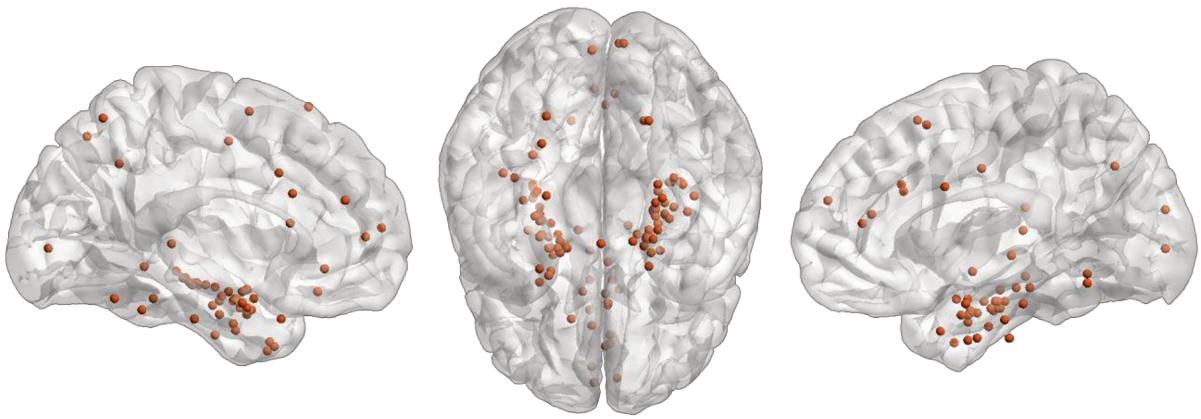


Figure 2 *- Tetrode locations across patients. A total of 102 hybrid electrodes were implanted in 28 patients. All the tetrodes are depicted in a normalized glass brain after normalization in the MNI's anatomical space (Xia et al., 2013).*

3.1 Safety of the new hybrid electrode

No undesirable events or clinical complication such as hemorrhage, infection or clinical deficit associated with the use of the hybrid electrode was reported during the course of this clinical trial across the 28 patients.

In order to investigate infraclinical complication caused by the electrodes on T2* and T2 MRI Fig. 3A), fourteen patients (50 %) had a T2 and a T2*-weighted MRI scan after the

removal of the hybrid electrodes. This corresponds to 116 clinical macroelectrodes and 47 hybrid electrodes. The remaining patients did not have a control MRI yet. The percentage of hematomas, linear hypersignal on ancient trajectory of electrodes and linear bleeding (Hefft et al., 2013), was assessed by a neurologist (JC) blind to the type of electrode (hybrid or clinical). Infraclinical complication rates were similar between clinical and hybrid electrodes (Fig. 3B, Fisher's Exact Test for Count Data, hematomas, $P = 1$, 95% confidence interval = 0.07 – 4.78; hypersignal, $P = 1$, 95% confidence interval =0.25 – 2.47; bleeding, $P = 0.49$, 95% confidence interval = 0.61 – 2.67).

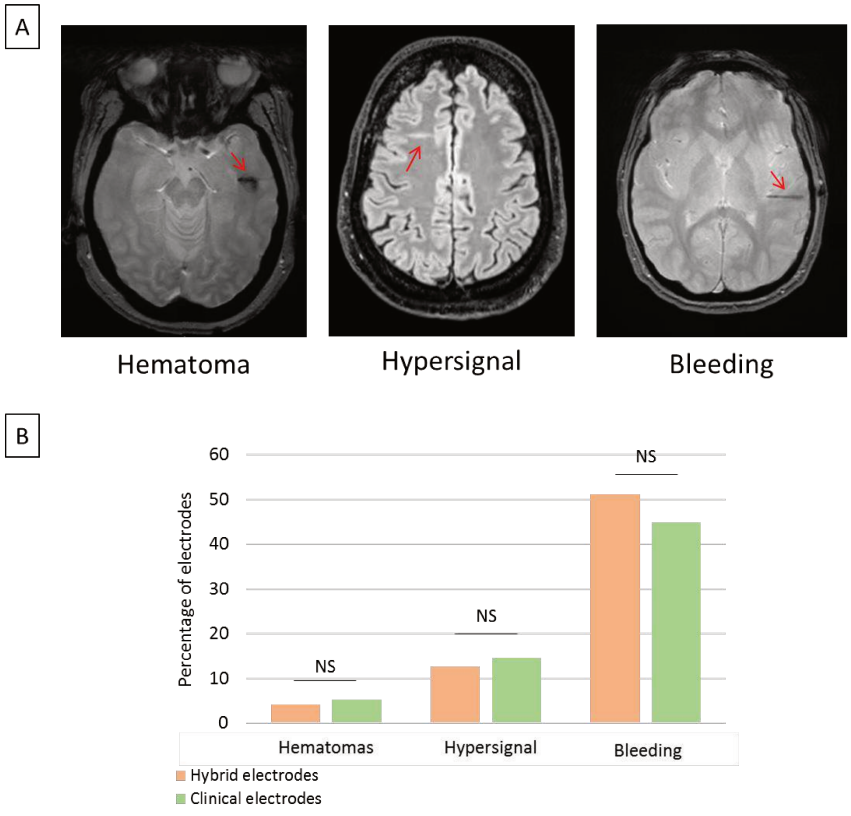


Figure 3 *– Investigation of infraclinical complication of the new hybrid electrode. (A) T2 and T2* MRI sequences showing typical examples of infra-clinical injuries caused by clinical and hybrid electrodes. (B) Percentage of hematomas, hypersignal and bleeding associated with the use of clinical macroelectrodes (n=116) and hybrid electrodes (n=47). No significant difference was observed between both types of electrodes.*

3.2 Impedances

Impedance was measured for four tetrodes (12 microelectrodes) immersed in ACSF during 24 days (Fig. 4). Due to recording failures, the impedance of 7, 5 and 1 microelectrodes were not collected respectively on day 0, 1 and 2. The median impedance was 103 kOhm (range: 67-179) during the first ten days and then started to increase slightly until the twentieth day, with a median impedance of 224 kOhm (range: 129-285), (Friedman rank sum test, df = 14, $P = 8.91^{-16}$).

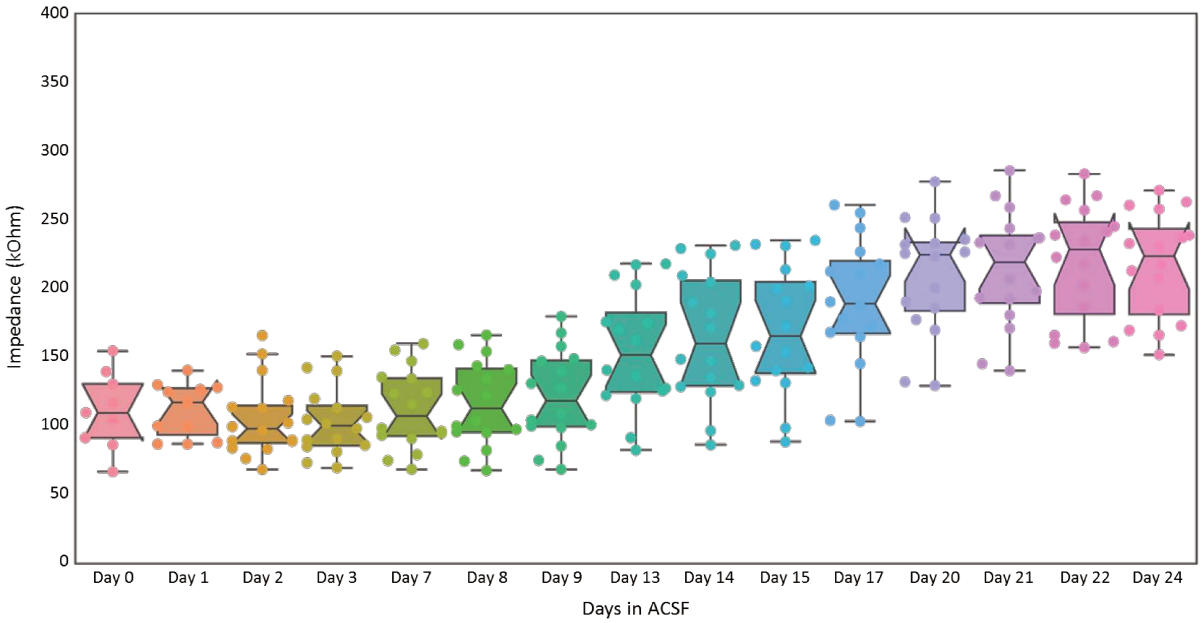


Figure 4 *- Electrochemical impedances. Notched boxplot representing the evolution of electrochemical impedances at 1kHz on four tetrodes immersed in artificial cerebrospinal fluid (ACSF) during 24 days. Each point represents a single wire.*

3.3 Noise levels

The noise level was measured on all hybrid electrodes from patient 10 to 28 during the different days of recordings (Fig. 5). No difference was observed between the days after

implantation (median level = 22.25 µV; range: 14.87-52.19 µV; Friedman rank sum test, df = 7, *P* = 0.1386).

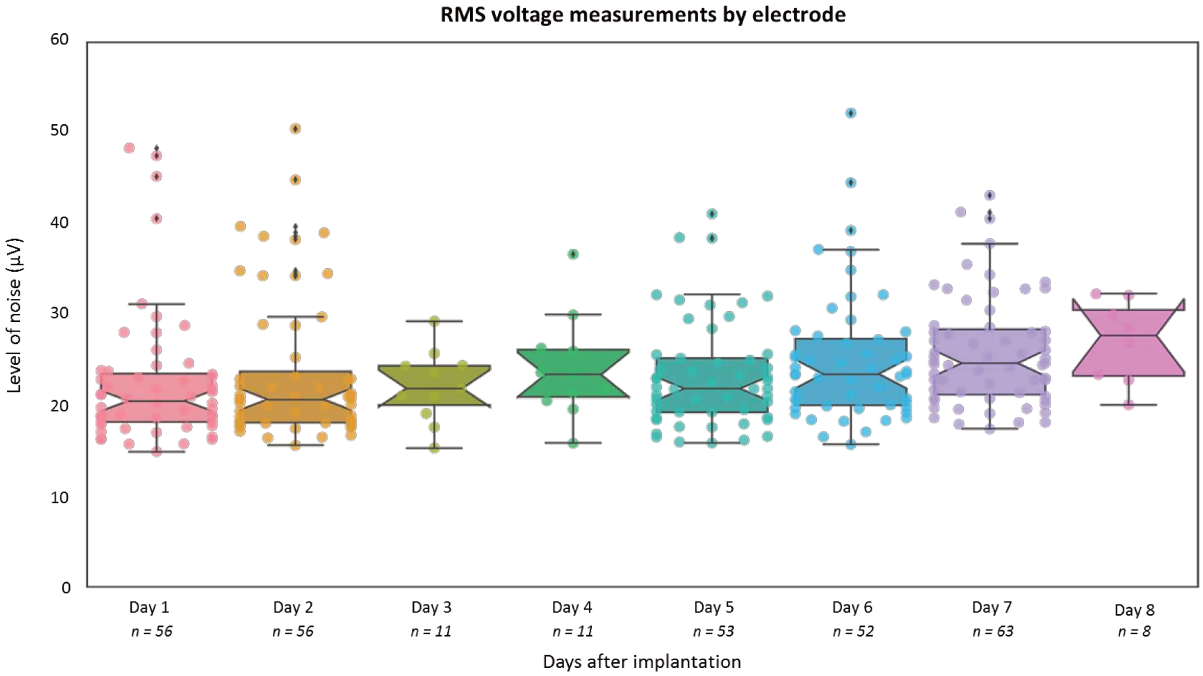


Figure 5 *- Level of noise. Evolution of noise amplitude (voltage RMS) during the days of recordings following the implantation. Each point represents an electrode and the total number of electrodes is indicated below each day.*

It is important to note that the choice of the recording system or the clinical conditions in which the recordings take place can have a significant impact regarding the level of noise as shown in Fig. 6.

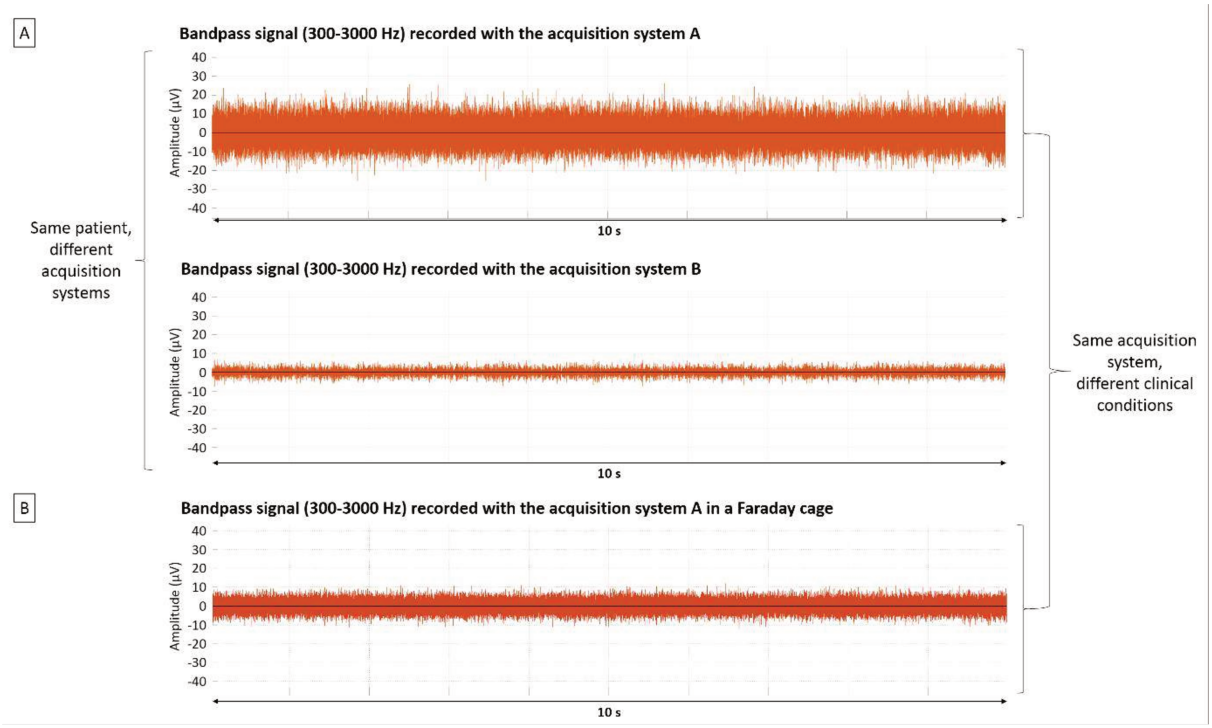


Figure 6 *– Comparison of different acquisition systems and clinical conditions.* ***A)*** *Filtered signal of a microwire located in the hippocampus of patient 22 and recorded within a few minutes by two different acquisition system A or B.* ***B)*** *Filtered signal recorded with the same acquisition system A in two different patients and settings: in a room of our Epilepsy unit (top) or in a Faraday cage (bottom).*

3.4 Multiscale events

The configuration of the tetrodes extending between two macrocontacts allowed simultaneous multiscale recordings of the same brain area (Fig. 1C). Signals can be recorded at different scales such as between the adjacent macrocontacts and tetrodes, but also between the tetrodes themselves, and show different information. As an example, interictal epileptiform discharges may only be detected by microelectrodes (Fig. 7A). Microelectrodes also enable to detect additional, focal, events such as fast-ripples that are considered new biomarkers of the epileptogenic zone (Zijlmans et al., 2017; Roehri et al., 2018) (Fig. 7B). Interestingly, even if the three tetrodes of an electrode are localized in a confined space, they

may not detect the same event, or not at the same latency. For example, a fast-ripple can only be seen on one or two tetrodes or sometimes can be delayed on one tetrode compared to the others (Fig. 8).

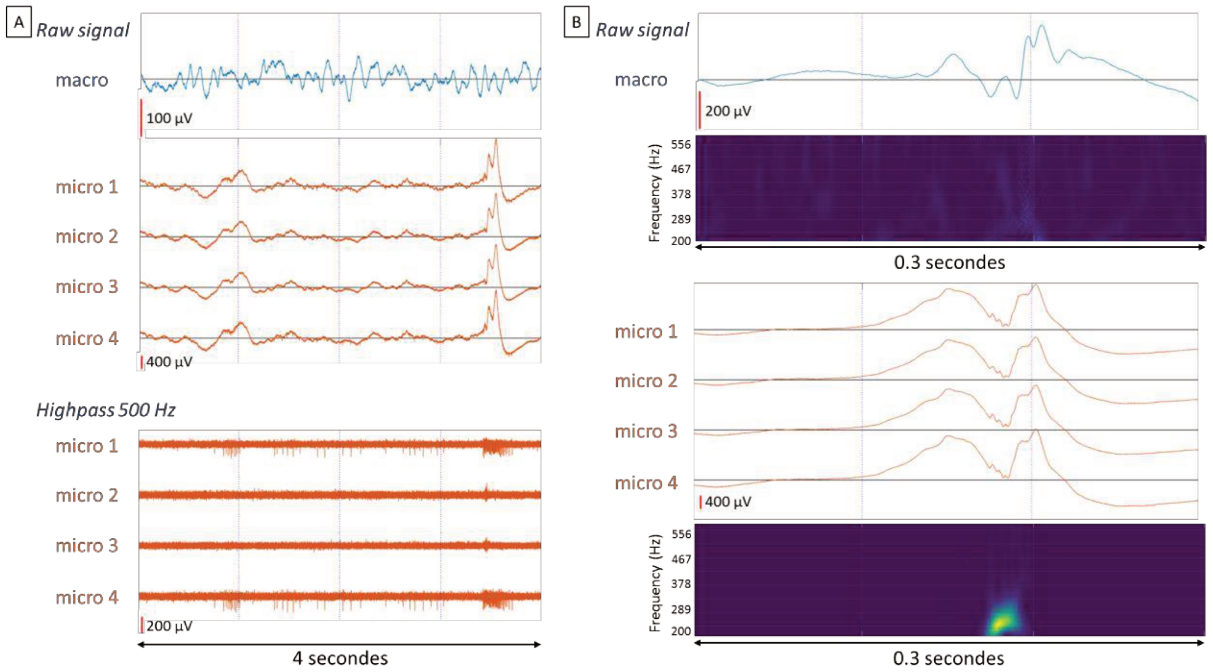


Figure 7 *- Contribution of the microelectrodes. (A) While no interictal epileptic discharge (IED) could be detected with the macroelectrodes, an IED associated with increased neuronal activity could be observed with microelectrodes. The electrode was located in the hippocampus of patient 6. (B) Example of an IED recorded both on the macro and microelectrodes. However, fast-ripples (200-600 Hz) were visible only on the microelectrodes. The electrode was located in the hippocampus of patient 6.*

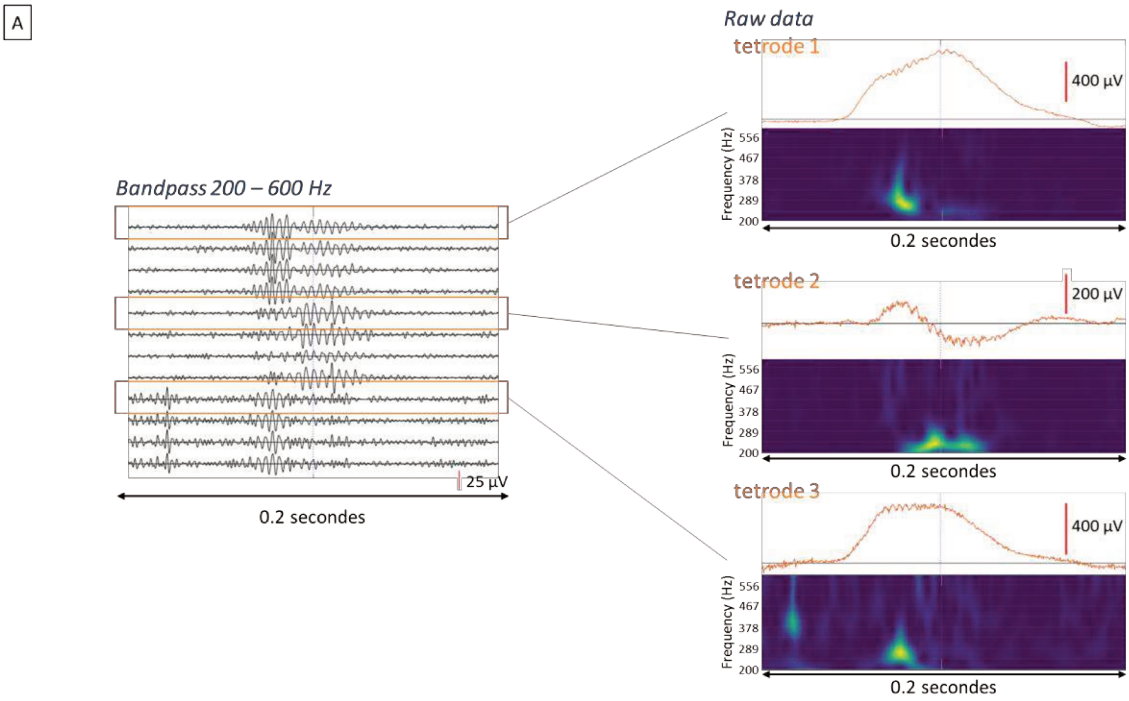


Figure 8 *– Fast-ripples are localized in a confined space. Examples of raw and filtered signals (bandpass 200 – 600 Hz) recorded on each tetrode of an electrode located in the hippocampus (patient 20). The fast-ripples were sometimes delayed on the second tetrode compared to the others.*

3.5 Electrical brain stimulation (EBS)

EBS is a standard clinical procedure and consists in stimulating the brain areas sampled with the intracerebral electrodes in order to assess the local propensity of these brain areas to induce seizures as well as to assess functional mapping before neurosurgery. In our centre high frequency EBS at 50 Hz or low frequency EBS at 1 Hz (pulse duration 1 msec) are applied in a bipolar fashion to each contact in the grey matter, with current gradually increased from 0.5 to 3 mA following French SEEG guidelines (Isnard et al., 2018). A question might be whether hybrid electrodes are compatible with this standard clinical procedure. The implantation of the hybrid electrodes did not impact EBS as they were performed as usual,

either on the two macrocontacts surrounding tetrodes or on remote contacts. The EBS also did not prevent recording neuronal activity right after the stimulations (Fig. 9).

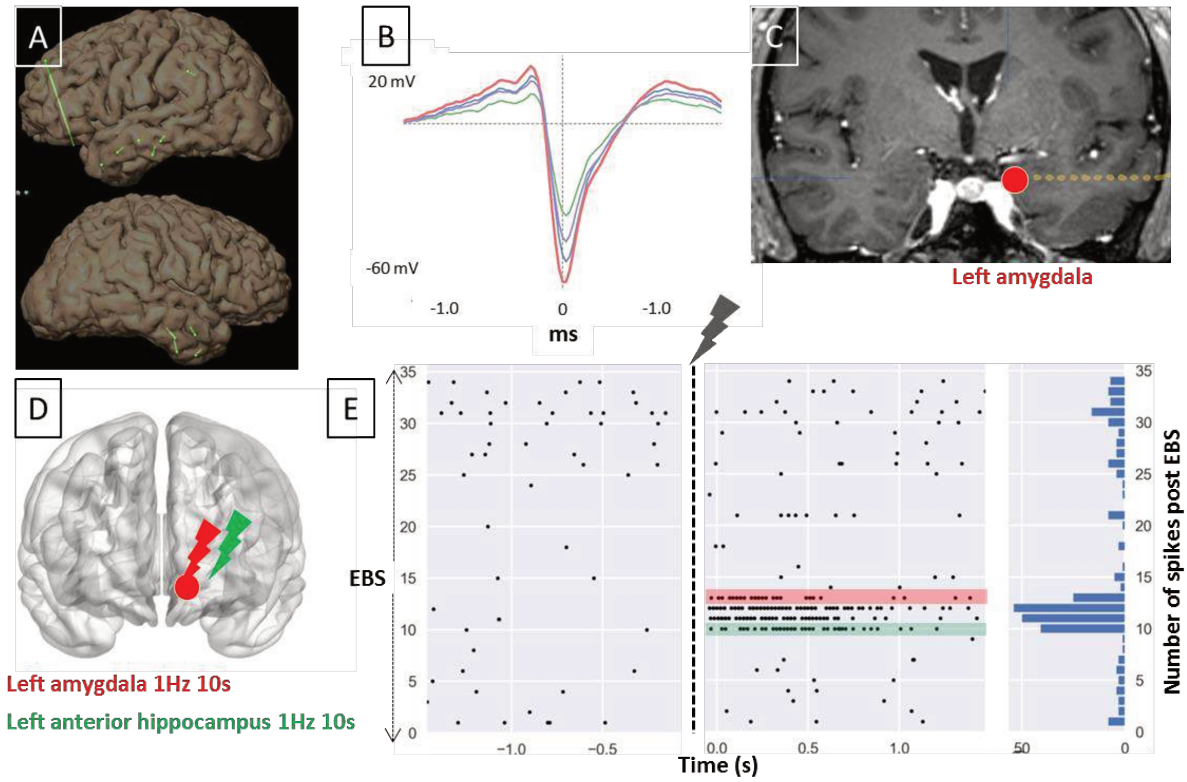


Figure 9 *– Example of neuronal activity recorded after EBS. (A) Schema of the electrodes implanted in the brain of patient 18. (B) A neuron was recorded in the amygdala. Each shape corresponds to the template of this neuron on each microwire of a tetrode. (C) Reconstruction of the electrode running in its medial part in the amygdala. The tetrode is located in the red circle. (D) Schematic representation of two stimulations (at 1Hz during 10 s), one in the amygdala (red lightning) were the neuron is located, one in the hippocampus (green lightning), distant from the neuron. (E) representation of the spiking activity of the neuron across 34 different EBS. The EBS in the amygdala (red - local) and in the hippocampus (green - distant) increased activity of this neuron. The activity during the stimulation is not shown, due to the saturation artefacts induced by the amplifier.*

3.6 Neuronal yield

Patients 1-11 were excluded from the analysis because of an interference between the two acquisitions system, creating an artefact at 2048 Hz. Patient 17 was also excluded because the SEEG ended prematurely and patient 22 because the signal was acquired with another acquisition system.

We analyzed the signal recorded by 30 electrodes (68 tetrodes) during five days. On average we were able to record 2.20 ± 6.5 single neuron per tetrode per day for the tetrodes recording neuronal activity. Single neurons were recorded on 60% of the tetrodes. Also taking into account multiple unit activity, 71% of the tetrodes showed neuronal activity. We were able to detect a maximum of 13 single neurons with a tetrode located in the amygdala of patient 14 and the number of neurons per tetrodes regularly reached > 10 neurons, most notably in the amygdala (Fig. 10). From our experience, the neuronal yield remained fairly constant across days of recording (up to 8 post implantation).

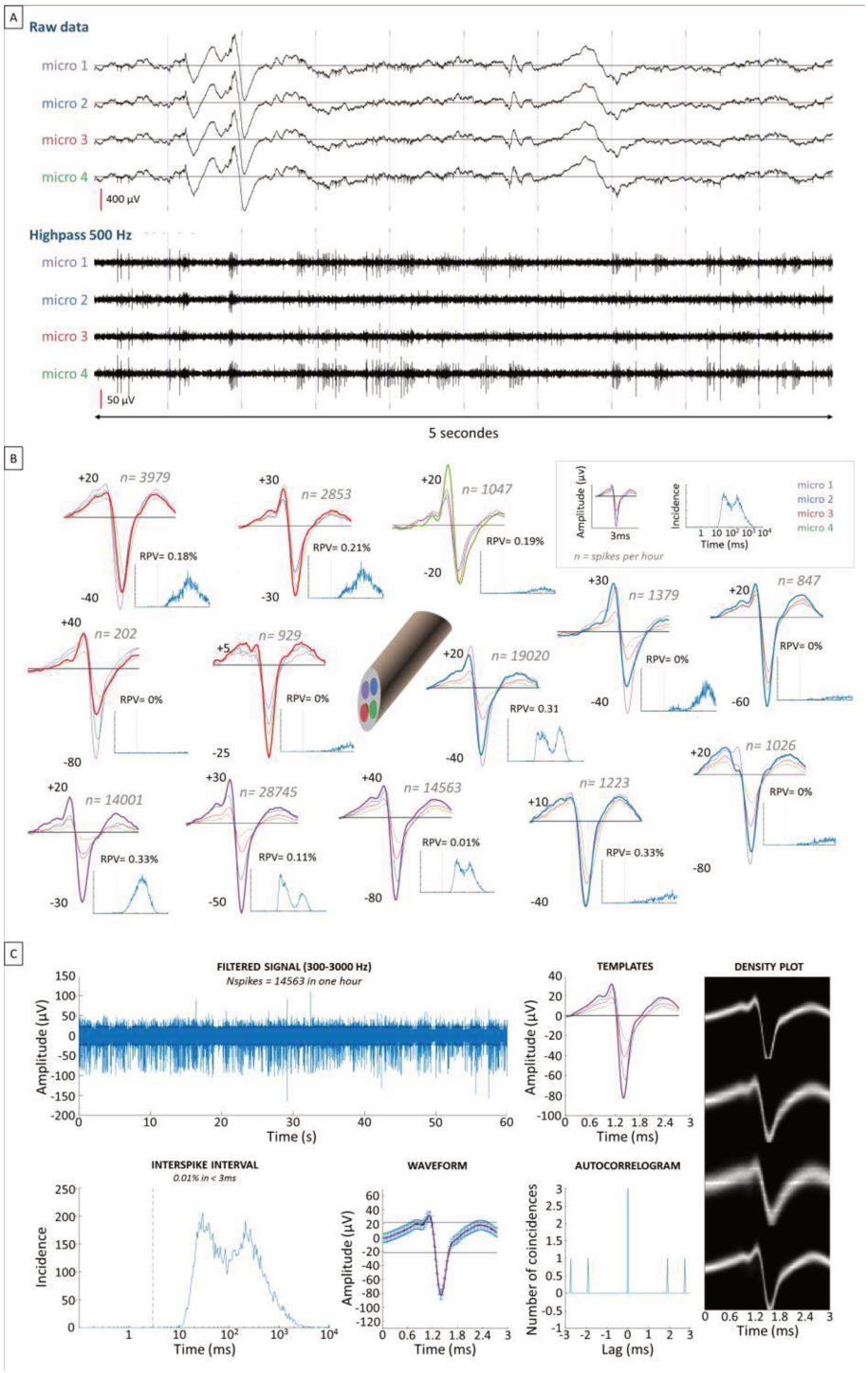


Figure 10 *- Neuronal activity. (A) Raw and filtered signal (highpass 500 Hz) recorded from a tetrode located in the amygdala of patient 14. (B) Thirteen neurons were isolated from one hour of this patient. The number of spikes on the tetrode's four microwires is shown next to the average waveform for each microwire. The interspike interval was computed for each neuron. RPV: refractory period violation. (C) Example of neuronal quality metrics that we*

take into accounts: spikes visibility on filtered signal (300-3000 Hz); template's appearance on the four microwires of the same tetrode; density plot, interspike interval; mean ± SEM for all waveforms on the preferred microwire; autocorrelogram.

4. DISCUSSION

In the present study, we introduced a new hybrid electrode equipped with tetrodes allowing to simultaneously analyze the intracerebral activity of epileptic patients at macro- and microscales.

The use of the new hybrid electrode did not lead to any specific or additive clinical complications or undesirable events. They also did not cause more subclinical brain damage (i.e. hematomas, linear bleeding or larger tissue damages on trajectories) that the clinical macroelectrodes. The same observations were made with another type of hybrid electrodes with bundle of wires, which was not associated with clinically relevant morbidity and appeared to be as safe as standard depth electrodes (Fried et al., 1999; Hefft et al., 2013; Carlson et al., 2018). Overall thus, hybrid electrodes, including the new present one, appear as safe as the clinical ones. From our clinical experience, they also minimally impact the daily routine of the SEEG exploration. Some care has to be taken about the dressing so as to not unnecessarily bend the cable running from the electrode to the connector. Care must be taken of the electromagnetic environment of the room and of how the different cables are arranged so that they don't interfere one with the other. The most significant change for us was to choose which among all planned electrodes would be hybrid as the spacing between the macrocontacts of the hybrids is different from the clinical electrodes (see Methods section).

Overall, these hybrid electrodes were adopted easily by our team of epileptologists and neurosurgeons.

The impedance can greatly affect the quality of neuronal recordings as the ability to record action potentials from individual neurons is dependent on a tradeoff between the geometric area of the recording site and the site's impedance (Ludwig et al., 2006). A small geometric area enables to isolate action potentials from distant neural sources (Drake et al., 1988; Humphrey and Schmidt, 1990; Paik et al., 2003). Lowering the impedance could improve neuronal recordings by increasing the signal to noise ratio (Ferguson et al., 2009). Usually, the decrease of the geometric area causes an increase of the impedance (Humphrey and Schmidt, 1990; Paik et al., 2003). The required impedance for the microwires of a tetrode between 10 and 30 µm of diameter is between 100-500 kOhm (at 1 kHz) (Ferguson et al., 2009). In the same logic, the impedance of multiwires electrodes with a diameter of 12 to 25 µm is usually in the order of 100 kOhm (Hill et al., 2011). In our case, the diameter of each microwire was 20 µm and the impedance was around 100 kOhm during the first ten days. The impedance slightly increased until 220 kOhm after 3 weeks. Overall, the impedances we got remain within the standards.

It is crucial to obtain a minimal level of noise of the recordings in order to detect more units. If this level is too high, only the units with amplitude above this threshold may be detected. Our median level of noise was 22.25 µV. This level of noise appears to be satisfactory as we recorded single units but the quality of the signal could be better and our results were acquired in suboptimal recording conditions. The level of noise observed in other centers can indeed be lower. For example Rutishauser et al., (2015) were able to detect units of 15 µV of amplitude whereas we have difficulties detecting units with amplitude below 30 µV. Several

reasons may explain the difference between centers: the quality of the electromagnetic environment, the quality of the cables between the tetrodes and the headstage and the quality of the amplifier. We led preliminary analyses in one patient with the comparison of two acquisitions systems. The level of noise was 20 µV with the first system and below 10 µV with the second one, suggesting that the choice of the amplifier and of the connection scheme can make an important difference on the quality of the signal.

In already commercialized model of hybrid electrodes, single neurons were observed on 40% of microwires and a bundle of 8 microwires recorded an average of 2.1 ± 0.9 single neurons (Misra et al., 2014). With increased experience, up to 70-80% of the bundles of microwires can record neurons (Carlson et al., 2018). Carlson et al. also reported that the number of neurons per bundle varies greatly, from 0 to 16, possibly depending on the brain region explored. For example, the amygdala appears as a brain area where it is relatively easy to record quite a large quantity of neurons.

The tetrode configuration has widely been used in animal research since decades (O'Keefe and Recce, 1993; Wilson and McNaughton, 1993; Gray et al., 1995). The main reason is that such configuration facilitates the isolation of single units. To our knowledge, the maximum number of single neurons that have been isolated with one tetrode in the animal was 9 (Gray et al., 1995), although tetrodes have the potential to record many more neurons simultaneously (Buzsáki, 2004).

The number of neurons recorded on each tetrode could vary greatly, from 0 to >10 similarly to previous reports (Carlson et al, 2018). We observed single neurons on 60% of the tetrodes and we were able to record 2.20 ± 6.5 single neurons per tetrode per day on these tetrodes. Taking into account multiple unit activity, up to 70% of the tetrodes showed some

level of activity. No obvious difference was perceived across the days after the implantation (from day+1 to day+8). With the new hybrid electrode, we were able to isolate up to 13 neurons with one tetrode, which seems promising and demonstrates the potential of this new hybrid electrode. Given our suboptimal recording conditions mentioned above, we think it is possible to record even more neurons if the signal to noise ratio of the recordings can be improved. The reason why we observe such increase from the animal to the human is note entirely clear but may be related to the use of state-of-the art spike sorting software (here Spiking Circus, Yger et al., 2018), which use the configuration of the tetrode to improve neuronal individuation. There is still work to do to validate and compare different softwares, especially regarding tetrode configuration (Chaure et al., 2018). Spike sorting remains a field where some level of subjectivity takes place despite the use of guidelines (Hill et al., 2011).

What is really unique with this 2 or 3 tetrodes per electrode configuration is that the tetrodes can be extended from the shaft between the most medial macrocontacts by up to 2 mm and that the distance between each is known quite precisely. This is particularly suitable for multiscale analysis, as both the macro and the microelectrodes are located in the same target brain area. It thus possible to record different signals within the same area such as the local field potential between the two macrocontacts adjacent to the tetrodes, the local field potential of each tetrode referenced either to a distant contact (monopolar recording for "larger" events that are recorded on each tetrode, i.e. reference to another tetrode signal would cancel out the events of interest) or referenced to another tetrode for "smaller", more local, events. As the surface covered by or the distance between the tetrodes can be theoretically known (for example 2 mm2 for a configuration with three tetrodes), it can be used to approximate the size of the patch of cortex from which the electrophysiological events of interest originate. Of course, multi- and single unit activity is recorded at the same time.

Using such scheme, it is possible to uncover neurophysiopathological events that are recorded on the tetrodes but not on the macrocontacts, such as local interictal epileptic discharge (Figure 7A) and fast ripples (Figure 7B). It is also possible to record events at a smaller scale, such as fast ripples occurring on two tetrodes but not on the third one (Despouy et al., 2019) or not having the same dynamics on each tetrode (Figure 8).

In conclusion, this new hybrid electrode has a design quite different from other clinical hybrid electrodes. It is not necessarily better or worse but appears to offer the possibility to bring different information regarding neurophysiopathological aspects of epilepsy or the physiological substrate of cognition. It also looks very promising for conducting multiscale analyses, without changing the implantation routine. Here we show that it is safe and works satisfactorily. Currently, two or three tetrodes can be extended from the shaft between the most medial macrocontacts by up to 2mm. Further improvements are planned, such as the extension of the tetrodes up to 3 mm instead of 2. This will allow exploiting the capacity of the micrometer screw by moving the tetrodes to search for neurons. This may lead to a considerable improvement in the neuronal yield. The extension of the tetrodes at different levels of the macroelectrode is also a possibility, which will allow recordings from lateral parts of the cortex and explore brain areas yet poorly explored.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Pierre Yger for his help in the understanding of technical characteristics in spike sorting and Sophie Muratot and Simona Celebrini for their help in the acquisition of the data.

FUNDINGS

This work received funding from the European Research Council, under the European Union's Seventh Framework Programme (FP/2007-2013) / ERC Grant Agreement no. 323711 (M4 project), the Fondation Française pour la Recherche sur l'Epilepsie (Prix Marion Clignet), the Fédération Française sur le Cerveau, and a call for technological and organization innovation research projects (Toulouse University Hospital).

DISCLOSURE OF CONFLICTS OF INTEREST

ED is funded through a CIFRE industrial research agreement (no. 2015/1135) signed between Dixi Medical and the Centre de recherche Cerveau et cognition (CerCo). The remaining authors have no conflicts of interest.

REFERENCES

Alvarado-Rojas C, Lehongre K, Bagdasaryan J, Bragin A, Staba R, Engel J, Navarro V, Le Van Quyen M (2013) Single-unit activities during epileptic discharges in the human hippocampal formation. Front Comput Neurosci 7.

Babb TL, Carr E, Crandall PH (1973) Analysis of extracellular firing patterns of deep temporal lobe structures in man. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 34:247–257.

Behrens E, Zentner J, van Roost D, Hufnagel A, Elger CE, Schramm J (1994) Subdural and depth electrodes in the presurgical evaluation of epilepsy. Acta Neurochir (Wien) 128:84–87.

Bekiesińska-Figatowska M (2004) T2-hyperintense foci on brain MR imaging. Med Sci Monit 10:80–97.

Buzsáki G (2004) Large-scale recording of neuronal ensembles. Nat Neurosci 7:446–451.

Carlson AA, Rutishauser U, Mamelak AN (2018) Safety and Utility of Hybrid Depth Electrodes for Seizure Localization and Single-Unit Neuronal Recording. Stereotact Funct Neurosurg:1–9.

Chaure FJ, Rey HG, Quian Quiroga R (2018) A novel and fully automatic spike-sorting implementation with variable number of features. J Neurophysiol 120:1859–1871.

Chavhan GB, Babyn PS, Thomas B, Shroff MM, Haacke EM (2009) Principles, Techniques, and Applications of T2*-based MR Imaging and Its Special Applications. RadioGraphics 29:1433–1449.

Dalic L, Cook M (2016) Managing drug-resistant epilepsy: challenges and solutions. Neuropsychiatr Dis Treat Volume 12:2605–2616.

Despouy E, Curot J, Denuelle M, Deudon M, Sol J-C, Lotterie J-A, Reddy L, Nowak LG, Pariente J, Thorpe SJ, Valton L, Barbeau EJ (2019) Neuronal spiking activity highlights a gradient of epileptogenicity in human tuberous sclerosis lesions. Clin Neurophysiol 130:537–547.

Drake KL, Wise KD, Farraye J, Anderson DJ, BeMent SL (1988) Performance of planar multisite microprobes in recording extracellular single-unit intracortical activity. IEEE Trans Biomed Eng 35:719–732.

Ferguson JE, Boldt C, Redish AD (2009) Creating low-impedance tetrodes by electroplating with additives. Sens Actuators Phys 156:388–393.

Fried I, MacDonald KA, Wilson CL (1997) Single Neuron Activity in Human Hippocampus and Amygdala during Recognition of Faces and Objects. Neuron 18:753–765.

Fried I, Wilson CL, Maidment NT, Engel J, Behnke E, Fields TA, Macdonald KA, Morrow JW, Ackerson L (1999) Cerebral microdialysis combined with single-neuron and electroencephalographic recording in neurosurgical patients: Technical note. J Neurosurg 91:697–705.

Gray CM, Maldonado PE, Wilson M, McNaughton B (1995) Tetrodes markedly improve the reliability and yield of multiple single-unit isolation from multi-unit recordings in cat striate cortex. J Neurosci Methods 63:43–54.

Harris KD, Quiroga RQ, Freeman J, Smith SL (2016) Improving data quality in neuronal population recordings. Nat Neurosci 19:1165–1174.

Hefft S, Brandt A, Zwick S, von Elverfeldt D, Mader I, Cordeiro J, Trippel M, Blumberg J, Schulze-Bonhage A (2013) Safety of Hybrid Electrodes for Single-Neuron Recordings in Humans: Neurosurgery 73:78–85.

Hill DN, Mehta SB, Kleinfeld D (2011) Quality Metrics to Accompany Spike Sorting of Extracellular Signals. J Neurosci 31:8699–8705.

Humphrey DR, Schmidt EM (1990) Extracellular Single-Unit Recording Methods. In: Neurophysiological Techniques, II, pp 1–64. New Jersey: Humana Press. Available at: http://link.springer.com/10.1385/0-89603-185-3:1 [Accessed December 5, 2018].

Isnard J et al. (2018) French guidelines on stereoelectroencephalography (SEEG). Neurophysiol Clin 48:5–13.

Kandel ER, Spencer WA (1961) ELECTROPHYSIOLOGY OF HIPPOCAMPAL NEURONS: II. AFTER-POTENTIALS AND REPETITIVE FIRING. J Neurophysiol 24:243–259.

Keller CJ, Truccolo W, Gale JT, Eskandar E, Thesen T, Carlson C, Devinsky O, Kuzniecky R, Doyle WK, Madsen JR, Schomer DL, Mehta AD, Brown EN, Hochberg LR, Ulbert I, Halgren E, Cash SS (2010) Heterogeneous neuronal firing patterns during interictal epileptiform discharges in the human cortex. Brain 133:1668–1681.

Ko HC, Ryu C-W, Yun SJ, Koh JS, Shin HS, Kim EJ (2018) Characteristic Signs on T2*-Based Imaging and Their Relationship with Results of Reperfusion Therapy for Acute Ischemic Stroke: A Systematic Review and Evidence to Date. Neurointervention 13:90–99.

Kreiman G, Fried I, Koch C (2002) Single-neuron correlates of subjective vision in the human medial temporal lobe. Proc Natl Acad Sci 99:8378–8383.

Kwan P, Schachter SC, Brodie MJ (2011) Drug-Resistant Epilepsy. N Engl J Med:8.

Lambrecq V, Lehongre K, Adam C, Frazzini V, Mathon B, Clemenceau S, Hasboun D, Charpier S, Baulac M, Navarro V, Le Van Quyen M (2017) Single-unit activities during the transition to seizures in deep mesial structures: Seizures and Single-Unit Activities. Ann Neurol 82:1022–1028.

Laxer KD, Trinka E, Hirsch LJ, Cendes F, Langfitt J, Delanty N, Resnick T, Benbadis SR (2014) The consequences of refractory epilepsy and its treatment. Epilepsy Behav 37:59–70.

Ludwig KA, Uram JD, Yang J, Martin DC, Kipke DR (2006) Chronic neural recordings using silicon microelectrode arrays electrochemically deposited with a poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) film. J Neural Eng 3:59–70.

McNaughton BL, O'Keefe J, Barnes CA (1983) The stereotrode: A new technique for simultaneous isolation of several single units in the central nervous system from multiple unit records. J Neurosci Methods 8:391–397.

Misra A, Burke JF, Ramayya AG, Jacobs J, Sperling MR, Moxon KA, Kahana MJ, Evans JJ, Sharan AD (2014) Methods for implantation of micro-wire bundles and optimization of single/multi-unit recordings from human mesial temporal lobe. J Neural Eng 11:026013.

Mormann F, Kornblith S, Quiroga RQ, Kraskov A, Cerf M, Fried I, Koch C (2008) Latency and Selectivity of Single Neurons Indicate Hierarchical Processing in the Human Medial Temporal Lobe. J Neurosci 28:8865–8872.

O'Keefe J, Recce ML (1993) Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. Hippocampus 3:317–330.

Paik S-J, Park Y, Cho DD (2003) Roughened polysilicon for low impedance microelectrodes in neural probes. J Micromechanics Microengineering 13:373–379.

Podkorytova I, Hoes K, Lega B (2016) Stereo-Encephalography Versus Subdural Electrodes for Seizure Localization. Neurosurg Clin N Am 27:97–109.

Quiroga RQ, Reddy L, Kreiman G, Koch C, Fried I (2005) Invariant visual representation by single neurons in the human brain. Nature 435:1102–1107.

Ranck JB (1973) Studies on Single Neurons in Dorsal Hippocampal Formation and Septum in Unrestrained Rats. Exp Neurol 14:461–555.

Reddy L, Poncet M, Self MW, Peters JC, Douw L, van Dellen E, Claus S, Reijneveld JC, Baayen JC, Roelfsema PR (2015) Learning of anticipatory responses in single neurons of the human medial temporal lobe. Nat Commun 6 Available at: http://www.nature.com/articles/ncomms9556 [Accessed February 22, 2019].

Roehri N, Pizzo F, Lagarde S, Lambert I, Nica A, McGonigal A, Giusiano B, Bartolomei F, Bénar C-G (2018) High-frequency oscillations are not better biomarkers of epileptogenic tissues than spikes: HFOs Are Not Better Than Spikes. Ann Neurol 83:84–97.

Rutishauser U, Ross IB, Mamelak AN, Schuman EM (2010) Human memory strength is predicted by theta-frequency phase-locking of single neurons. Nature 464:903–907.

Rutishauser U, Ye S, Koroma M, Tudusciuc O, Ross IB, Chung JM, Mamelak AN (2015) Representation of retrieval confidence by single neurons in the human medial temporal lobe. Nat Neurosci 18:1041–1050.

Talairach J, Tournoux P, Musolino A, Missir O (1992) Stereotaxic exploration in frontal epilepsy. Adv Neurol 57:651–688.

Truccolo W, Donoghue JA, Hochberg LR, Eskandar EN, Madsen JR, Anderson WS, Brown EN, Halgren E, Cash SS (2011) Single-neuron dynamics in human focal epilepsy. Nat Neurosci 14:635–641.

Wilson M, McNaughton B (1993) Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. Science 261:1055–1058.

Xia M, Wang J, He Y (2013) BrainNet Viewer: a network visualization tool for human brain connectomics. PloS One 8:e68910.

Yang P-F, Zhang H-J, Pei J-S, Tian J, Lin Q, Mei Z, Zhong Z-H, Jia Y-Z, Chen Z-Q, Zheng Z-Y (2014) Intracranial electroencephalography with subdural and/or depth electrodes in children with epilepsy: Techniques, complications, and outcomes. Epilepsy Res 108:1662–1670.

Yger P, Spampinato GL, Esposito E, Lefebvre B, Deny S, Gardella C, Stimberg M, Jetter F, Zeck G, Picaud S, Duebel J, Marre O (2018) A spike sorting toolbox for up to thousands of electrodes validated with ground truth recordings in vitro and in vivo. eLife 7 Available at: https://elifesciences.org/articles/34518 [Accessed April 14, 2018].

Yıldırım Capraz I, Kurt G, Akdemir Ö, Hirfanoglu T, Oner Y, Sengezer T, Atay Kapucu LO, Serdaroglu A, Bilir E (2015) Surgical outcome in patients with MRI-negative, PET-positive temporal lobe epilepsy. Seizure 29:63–68.

Zijlmans M, Worrell GA, Dümpelmann M, Stieglitz T, Barborica A, Heers M, Ikeda A, Usui N, Le Van Quyen M (2017) How to record high-frequency oscillations in epilepsy: A practical guideline. Epilepsia 58:1305–1315.

IV. Détection de fast-ripples et d'activités neuronales

Ce chapitre vise à expliquer comment nous avons caractérisé les fast-ripples et les activités neuronales dans nos enregistrements. Cela est suivi par trois études démontrant l'intérêt des nouvelles électrodes hybrides dans la détection de ces évènements, et leur apport dans la compréhension de l'épilepsie.

1 Caractérisation des fast-ripples

1.1 Critères à prendre en compte

Les oscillations à haute fréquence sont divisées en deux groupes : les ripples (oscillations physiologiques) et les **fast-ripples** (oscillations pathologiques). A l'heure actuelle, il n'existe **pas de consensus** sur les caractéristiques précises de ces HFOs. Même les limites fréquentielles les caractérisant varient (légèrement) d'un centre à un autre. Nous avons considéré les oscillations entre 80 et 200 Hz comme étant des ripples et celles entre 200 et 600 Hz comme étant des fast-ripples. Généralement, un minimum de 4 oscillations est requis.

L'étude des FR nécessite d'être très précautionneux au moment de l'analyse des données. En effet, les méthodes de filtrage classiques peuvent amener à faire de **fausses détections** (Bénar et al., 2010). La technique classique pour visualiser les FR consiste à filtrer le signal brut entre les bandes de fréquence d'intérêt (en utilisant un filtre passe-bande et/ou des analyses en temps/fréquence). Cependant, certains évènements trouvés dans les enregistrements cérébraux ne sont pas limités par des bandes fréquentielles particulières, leur énergie peut se propager sur l'ensemble des fréquences spectrales. C'est le cas par exemple des pointes intercritiques, d'artefacts pointus ou encore d'évènements oscillatoires contenant des harmoniques. Pour les pointes intercritiques, les oscillations présentes sur le signal filtré ressemblent à de vraies oscillations mais aucun blob n'apparait sur le temps/fréquence (Figure 42.A). En revanche les vraies oscillations sont visibles sur le signal brut, apparaissent nettement sur le signal filtré et sont retrouvées sous forme de blob sur le temps/fréquence (Figure 42.B). Sur cette figure, le blob représentant le ripple est détecté entre 140 et 190 Hz, celui du FR à environ 400 Hz et ceux des pointes combinées aux ripple et au FR sont détectés respectivement à 200 Hz et à 450-600 Hz.

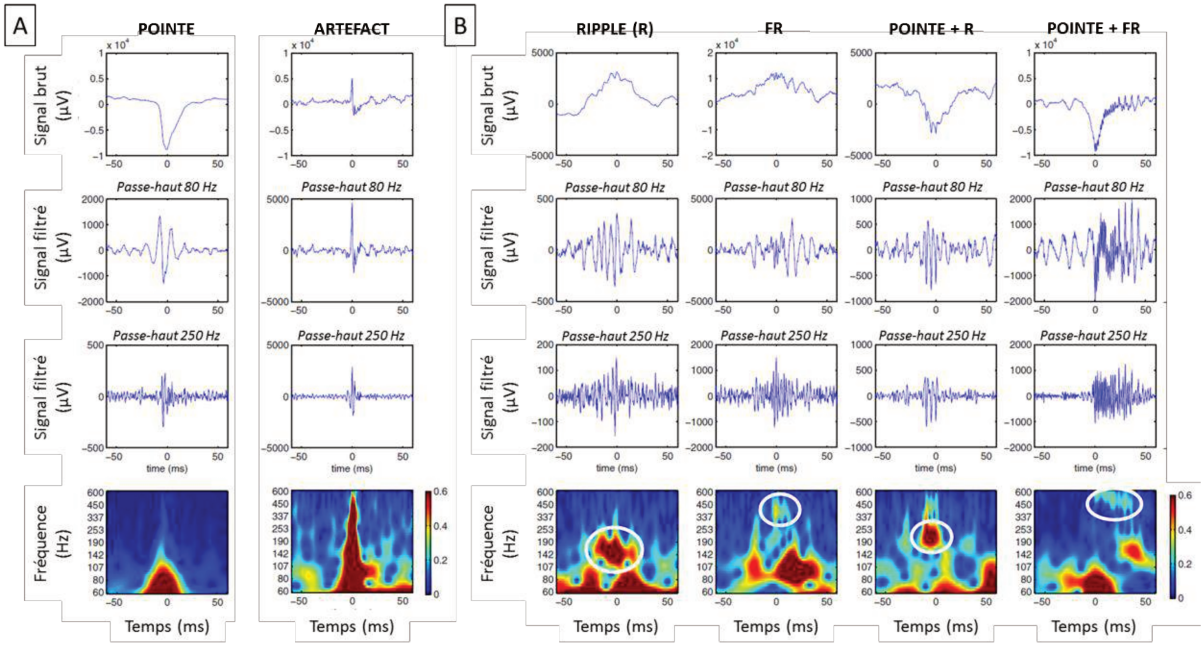


Figure 42 – Filtrage de différents évènements enregistrés en intracérébral. (A) Exemple d'une pointe intercritique et d'un artefact. Le signal filtré peut faire penser à la présence d'oscillations à haute fréquence mais aucun blob n'est présent sur le temps/fréquence. (B) Exemples de ripples et FR, isolés ou combinés à des pointes intercritiques. Ces oscillations apparaissent sur le signal brut, le signal filtré et également sur le temps/fréquence (elles sont entourées en blanc). Image adaptée de (Bénar et al., 2010).

1.2 Méthode utilisée

Lors de nos analyses, nous avons défini trois critères pour l'identification des FR (Bénar et al., 2010; Zijlmans et al., 2012):

- Une oscillation visible à la fois sur les données brutes et sur le signal filtré (filtre passe-bande 200-600 Hz)
- Au moins quatre oscillations
- Une analyse en temps/fréquence présentant des blobs (pour éviter de prendre en compte les artefacts et les « false ripples » créé par le filtrage)

La détection de FR est assez fastidieuse, il est nécessaire de prendre en compte de nombreuses caractéristiques pour éviter de réaliser de fausses détections. De plus, ces oscillations sont rapides. Nous avons donc analysé les FR sur des fenêtres de 0,6 s, en affichant simultanément le signal brut, le signal filtré et le temps/fréquence tétrode par tétrode. Cela a

été possible grâce au logiciel Micmac développé dans notre laboratoire par Martin Deudon (Figure 43).

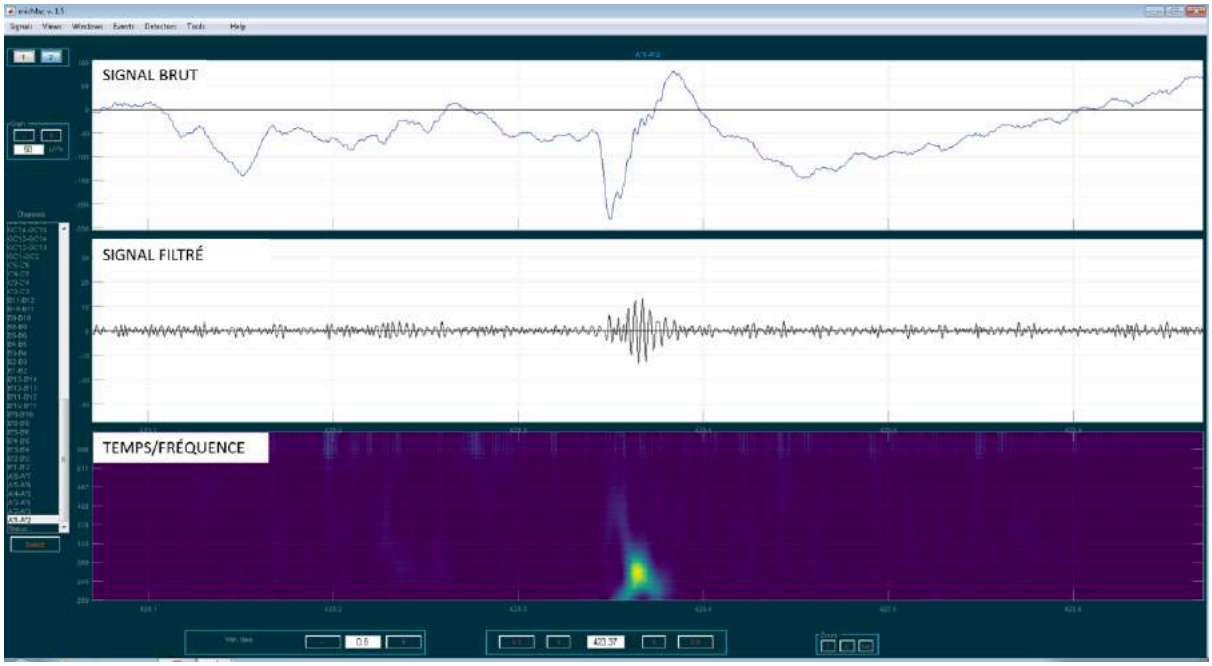


Figure 43 – Exemple de signal visualisé avec le logiciel Micmac. Il est possible d'afficher simultanément le signal brut, le signal filtré et le temps/fréquence.

Néanmoins, la détection des fast-ripples demande beaucoup de temps. Nous nous sommes alors tournés vers des logiciels proposant des détections automatiques de ces évènements (Navarrete et al., 2016). Le problème avec ces logiciels est qu'il y a beaucoup de fausses détections, et que les FR que nous avons visuellement marqués au préalable ne sont pas toujours détectés. Nous avons donc décidé d'utiliser un autre logiciel qui semblait prometteur : **Delphos** (Roehri et al., 2016). Ce logiciel peut s'adapter à des signaux ayant des niveaux de bruit différents, les HFOs étant définis dans le temps/fréquence comme des blobs assez larges mais avec une étendue limitée dans la gamme des fréquences. Une technique de blanchiment du signal est également intégrée dans ce logiciel, elle consiste à aplatir les fréquences spectrales dans le but de mettre en évidence les oscillations à haute fréquence, tout en préservant un ratio signal/bruit optimal. Cela permet de détecter des oscillations difficiles à distinguer sur le signal brut (Figure 44).

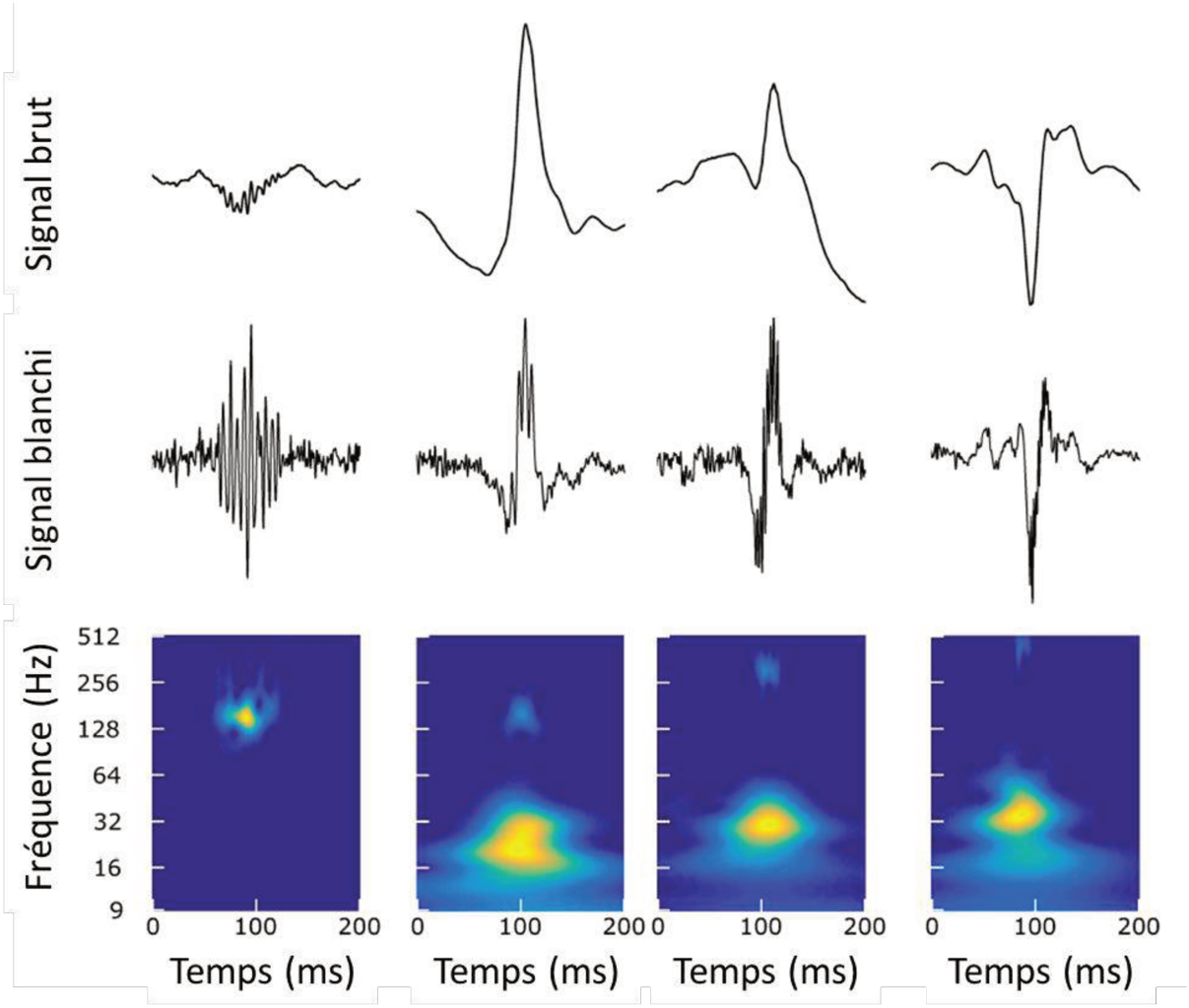


Figure 44 – Exemple de l'utilité du blanchiment sur des HFOs simulées. Dans chaque cas, des HFOs sont présents (ils ont été ajoutés manuellement) mais ils sont parfois cachés dans les pointes intercritiques. La technique de blanchiment permet de révéler la présence de ces oscillations. Image issue de (Roehri et al., 2017).

Même si de fausses détections persistent, le logiciel Delphos détecte l'ensemble des FR que nous avons marqué visuellement sur plusieurs signaux. Nous avons donc opté pour une analyse des FR en deux temps :

(1) Une première détection par le logiciel Delphos

(2) Une vérification manuelle des évènements détectés par le logiciel pour éliminer les artefacts

2 Optimisation de l'analyse des activités neuronales

Le projet EPIFAR a permis pour la première fois l'implantation de microélectrodes configurées en tétrodes chez des patients épileptiques pharmaco-résistants. Cette configuration particulière, avec 4 microélectrodes collées ensembles, apporte un avantage considérable dans la détection d'activités neuronales unitaires. En effet, cela permet de multiplier les sources d'enregistrement et d'isoler des neurones par triangulation (Buzsáki, 2004). Cependant, pour bien exploiter cet avantage, il convient d'analyser correctement les données en utilisant une méthode de spike sorting adaptée.

2.1 Principe du spike sorting

Dans les enregistrements intracérébraux chez l'Homme, les microélectrodes sont placées au milieu des neurones (par opposition avec des techniques comme le « patch clamp » ou les enregistrements intracellulaires dans lesquelles l'électrode adhère à une cellule). Le traitement des données se déroule de la façon suivante (Rey et al., 2015, voir Figure 45) :

(1) Le signal enregistré par les microélectrodes est filtré avec un filtre passe-bande (en général entre 300 et 3000 Hz). Il permet de garder la partie du spectre la plus intéressante pour le spike sorting.

(2) Les décharges neuronales sont ensuite détectées, généralement à l'aide d'un seuil d'amplitude appliqué sur les données filtrées.

(3) Les caractéristiques pertinentes de chaque forme sont extraites et une diminution des dimensions est réalisée.

(4) Ces caractéristiques sont ensuite données en entrée à un algorithme de regroupement qui va réaliser la classification des différentes formes et associer chaque groupe à une unité (un neurone). Certains groupes ne pourront pas être associés à un neurone à cause d'un rapport signal/bruit trop faible. Ils seront alors considérés comme étant de l'activité multi-unitaire. Ces activités sont constitués de la superposition de plusieurs décharges neuronales ayant une amplitude relativement faible et qui violent la période réfractaire des neurones unitaires (soit plusieurs décharges apparaissant en moins de 2,5 ms d'intervalle) (Quiroga, 2012).

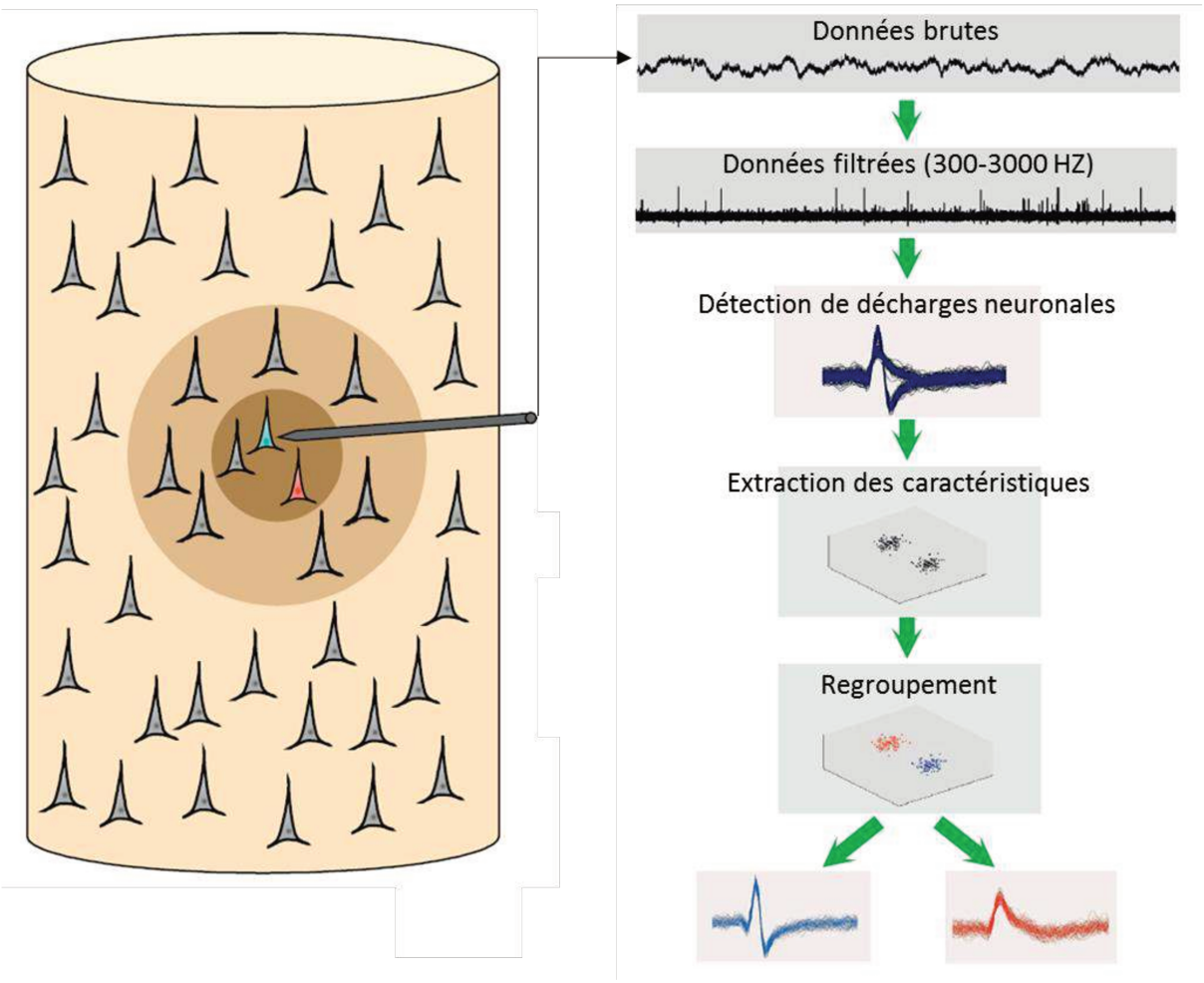


Figure 45 – Les étapes du spike sorting. Un filtre passe-bande (généralement entre 300 et 3000 Hz) est appliqué sur les données brutes. Les décharges neuronales sont ensuite détectées. Les caractéristiques pertinentes de chaque forme sont extraites et une diminution des dimensions est réalisée. Ces caractéristiques sont ensuite données en entrée à un algorithme de regroupement qui va réaliser la classification des différentes formes et associer chaque groupe à une unité (un neurone). Schéma adapté de Quiroga, 2012.

2.2 Les différents logiciels utilisés

Lorsque j'ai voulu réaliser mes premières analyses neuronales avec les électrodes hybrides de DIXI medical, je me suis retrouvée confrontée à un problème : *quel logiciel de spike sorting devais-je utiliser ?* En effet, le seul autre modèle d'électrode hybride disponible ne nécessitait pas l'analyse de plusieurs microélectrodes à la fois. Or, avec une tétrode, il aurait été dommage et illogique d'analyser chaque microélectrode séparément.

Il existe une grande variété de logiciels de spike sorting, utilisés à la fois sur des données enregistrées chez l'Homme et chez l'animal (une liste non exhaustive est présentée dans le

Tableau 4). J'ai eu l'occasion d'en tester trois d'entre eux : Wave_clus, trisdesclous et SpyKING Circus.

(1) J'ai tout d'abord commencé par tester le logiciel de spike sorting classiquement utilisé sur des enregistrements obtenus chez l'Homme avec l'autre modèle d'électrode hybride : **Wave_clus** (Quiroga et al., 2004). Ce logiciel est programmé dans le langage MATLAB. Il est automatique, c'est-à-dire que l'ensemble des étapes de spike sorting peuvent se faire sans intervention humaine. Le problème de ce logiciel est que l'option pour analyser les microélectrodes en configuration tétrode ne fonctionnait pas très bien.

(2) J'ai par la suite utilisé le logiciel **trisdesclous** créé par Samuel Garcia de l'équipe de Lyon (https://tridesclous.readthedocs.io/en/latest/overview.html). Ce logiciel comporte plusieurs points positifs : il permet de réaliser les analyses en considérant la conformation en tétrode des microélectrodes ; il est programmé dans le langage Python (tout est donc gratuit) ; il est très simple d'utilisation. Ce logiciel est semi-automatique. Le gros avantage est qu'il permet de bien comprendre les différentes étapes du spike sorting. Il est possible d'interagir lors de chacune des étapes. Le seul point négatif est qu'il n'était pas encore totalement terminé au moment où je devais lancer la majorité de mes analyses.

(3) J'ai finalement opté pour le logiciel **SpyKING Circus** (Yger et al., 2018). Ce logiciel est également programmé dans le langage Python. Il est semi-automatique et très simple d'utilisation. Les analyses peuvent être effectuées sur différentes configurations de microélectrodes. De plus ce logiciel a été validé sur un grand nombre de fichiers différents.

Software	Language	Detection	Feature Extraction	Clustering	Drift	Overlap	Large-scale MEA
BinaryPursuitSpikeSorting	MATLAB	binary pursuit	N/A	binary pursuit	No	Yes	No
bpsort	MATLAB	binary pursuit, raw signal threshold with alignment (initialization)	PCA (initialization)	t-distribution MM (initialization)	Yes	Yes	Yes
CBPSpikesortDemo	MATLAB	continuous basis pursuit	continuous basis pursuit	continuous basis pursuit	No	Yes	Yes?
Clusterlizard	C++	raw signal threshold	wavelets + Lilliefors test	Euclidean distance	Yes	No	No
Combinato	Python	raw signal threshold with alignment	wavelets	superparamagnetic clustering + template matching	Yes	No	No
ETOS	C++	raw signal threshold	multimodality-weighted PCA, multimodality pick-up algorithm, Graph Laplacian features, PCA	Variational Bayes and EM t-distribution and Gaussian mixture model	No	No	No
FMMSpikeSorter	MATLAB	raw signal threshold	focused mixture model	focused mixture model	Yes?	No	Yes?
gpu_python	Python	N/A	N/A	Generalized Polya urn dependent Dirichlet process MM	Yes	No	No
KFMM	MATLAB	N/A	N/A	Kalman filter EM GMM	Yes	No	No
KiloSort	MATLAB, CUDA C	N/A	Spatiotemporal SVD	Template matching via stochastic batch optimization	No	Yes	Yes
MoDT	MATLAB, CUDA C	N/A	PCA	Mixture of drifting t-distributions	Yes	No	No
moksm	MATLAB	N/A	N/A	Mixture of drifting t-distributions	Yes	No	No
opass	MATLAB	gamma process model	PCA	gamma process model	Yes	Yes	Yes?
OpenElectrophy	Python	raw signal threshold, MTEO	PCA, ICA, wavelets	EM GMM, K-means, mean-shift	No	No	No
OSort	MATLAB	local energy threshold with alignment	N/A	template matching	Yes	No	No
pebble	C++, MATLAB	?	PCA	ISO-SPLIT	No	No	No
phy (previously klustakwik)	Python	raw signal threshold with alignment	PCA	EM GMM, masked EM GMM	No	No	Yes
spikesort	MATLAB	raw signal threshold (height + width)	PCA, factor analysis, sparse PCA, t-SNE	1D GMM, 1D k-means	No	No	No
SpikeSorter.jl	Julia	hidden markov model	spike width, trough to valley ratio	hidden markov model	No	No	No
SpikeSorting.jl	Julia	raw signal threshold, power, nonlinear energy, alignment	PCA	OSort-style template matching	Yes?	No	No
spyke	Python	raw signal threshold with alignment	PCA, ICA	gradient ascent (mean-shift variant)	No	No	Yes
SpyKING Circus	Python	raw signal threshold + iterative template matching	PCA	local density clustering (Rodriguez & Laio) + template matching	No	Yes	Yes
trisdesdous	Python	raw signal threshold with alignment	PCA	EM GMM, k-means	No	No	No
Wave_clus	MATLAB	raw signal threshold with alignment	wavelets + Lilliefors test	superparamagnetic	No	No	No

Tableau 4 - Comparaison de différents logiciels de spike sorting. En jaune, les logiciels que j'ai utilisé pendant ma thèse. Source : https://simonster.github.io/SpikeSortingSoftware/

J'ai également passé du temps à comparer mes résultats avec ceux obtenus par deux chercheurs expérimentés dans le spike sorting (Leila Reddy qui a utilisé les électrodes hybrides concurrentes et Lionel Nowak qui est spécialisé dans les enregistrements neuronaux chez l'animal). Ce qui ressort de nos différents entretiens c'est que la comparaison de logiciels de spike sorting est assez compliquée à réaliser. En effet, les résultats obtenus sont relativement chercheur-dépendant. Chacun utilise sa routine, son logiciel (automatique, semi-automatique, manuel) et a sa propre expertise. Nous avons néanmoins réussi à nous mettre d'accord en identifiant plusieurs points importants à prendre en compte pour vérifier que le spike sorting est correctement effectué. Ces points sont détaillés dans la partie suivante. Nous avons également attaché beaucoup d'importance à faire la distinction entre des activités neuronales unitaires et multi unitaires.

2.3 Les points importants à prendre en compte

Une inspection visuelle des résultats des logiciels de spike sorting est nécessaire pour vérifier que toutes les caractéristiques définissant des activités neuronales unitaires sont bien présentes (Hill et al., 2011). D'après les recommandations, il faut :

- **Examiner la forme des neurones**. Cela permet de vérifier que la forme est bien physiologique et qu'une seule et unique forme est bien détectée (sinon c'est qu'il y a une contamination par plusieurs neurones). Cela peut se faire en superposant l'ensemble des formes détectées.
- **Vérifier la stationnarité**. La stabilité temporelle des neurones peut être vérifiée en affichant à la fois le taux de décharge instantané et l'amplitude de chaque forme. Cette fonction est disponible en sortie dans le logiciel SpyKING Circus.
- **Identifier les violations de la période réfractaire**. Un histogramme de l'intervalle entre chaque décharge neuronale est supposé démontrer l'absence de décharges durant les premières ms (en général 2,5 ms, correspondant à la période réfractaire des neurones). Cela peut également être visualisé à l'aide d'un autocorrélogramme (autocorrélation des temps de décharge des neurones).

- **Vérifier le seuil de détection**. Il est important que le pic de chaque neurone ressorte bien du niveau de bruit.
- **Réaliser des cross-corrélations**. La corrélation entre les temps de décharge des neurones de deux groupes permet de savoir s'ils sont indépendants ou non. Cette fonction est disponible en sortie dans le logiciel de SpyKING Circus.

A la suite de chaque spike sorting, nous réalisons des figures complémentaires pour vérifier les points ci-dessus (Figure 46). Les activités neuronales unitaires sont très importantes et sont considérés comme la référence dans les études chez l'animal. Chez l'Homme il est en général plus compliqué de trouver un grand nombre de neurones unitaires. Les neurones multi-unitaires sont donc également intégrés dans la plupart des analyses. Cependant, cela n'empêche pas de faire la distinction entre une activité unitaire et une activité multi-unitaire.

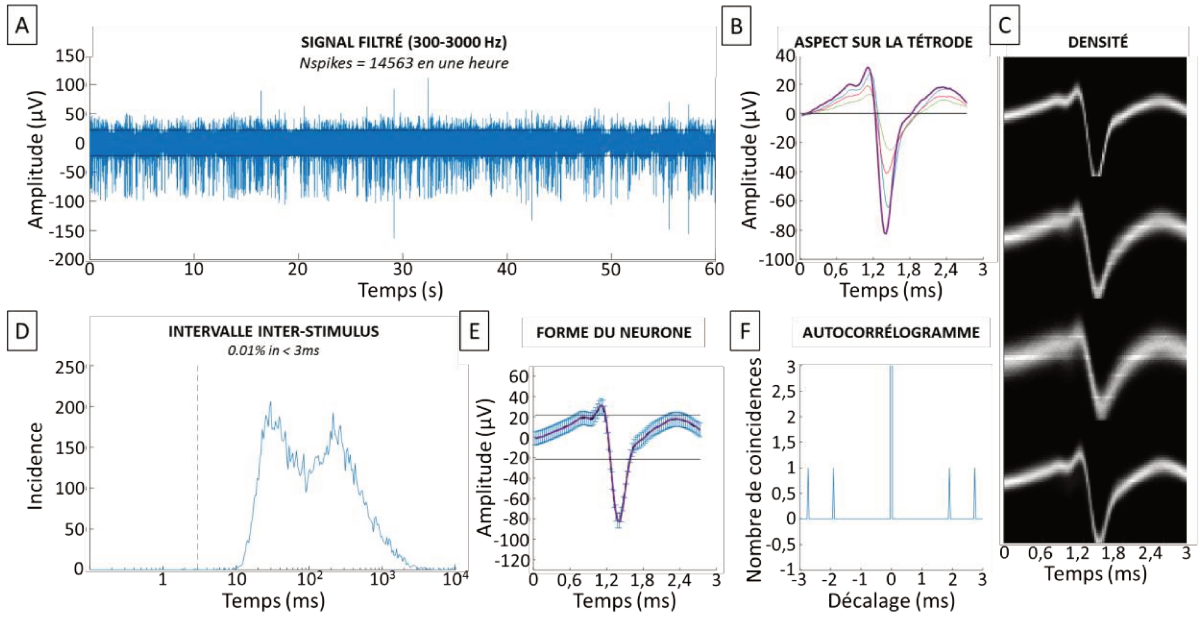


Figure 46 – Analyses complémentaires suite au spike sorting. (A) Représentation du signal filtré, les décharges neuronales sont bien visibles. (B) Aspect du neurone sur les 4 filaments de la tétrode. (C) Figure représentant l'ensemble des décharges neuronales (on parle également de représentation de la densité). Une seule forme est détectée. (D) Intervalle inter-stimulus. La période réfractaire est bien respectée. Les deux pics sur la figure illustrent le comportement d'un neurone créant des décharges neuronales en bouffées. (E) Forme du neurone sur le filament sur lequel il a la plus grande amplitude (moyenne ± écart-type). Le pic du neurone dépasse largement du niveau de bruit. (F) Autocorrélogramme permettant de confirmer les observations faites avec l'intervalle inter-stimulus.

3 Étude 2 : Neuronal spiking activity highlights a gradient of epileptogenicity in human tuberous sclerosis lesions

ARTICLE PUBLIÉ

Communications sous forme de posters lors de congrès nationaux et internationaux :

- Despouy, E., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton L., Barbeau, J. E. (2017). A study of tuberous sclerosis with new hybrid intracranial micro-macroelectrodes. *Workshop on Intracranial Recordings in humans: Epilpsy, DBS. Paris, France.*

- Despouy, E., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton L., Barbeau, J. E. (2017). A study of tuberous sclerosis with new hybrid intracranial micro-macroelectrodes. *32nd International Epilepsy Congress. Barcelona, Spain.*

- Despouy, E., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2016). Study of tuberous sclerosis lesions with a hybrid intracranial micro-macroelectrode. *Second international workshop on High Frequency Oscillations. Freiburg, Germany.*

POINTS CLÉS

- Premiers enregistrements d'activités neuronales dans le tuber et le péritubér à l'aide d'électrodes hybrides équipées de tétrodes
- Un gradient d'épileptogénicité allant du tuber vers le péritubér a été révélé à l'aide d'analyses à multi-échelle
- Des interactions à la fois au travers et entre le tuber et le péritubér ont été observées

INTRODUCTION

La sclérose tubéreuse de Bourneville (STB) est une maladie génétique rare associée à des mutations de l'un des deux gènes suppresseurs de tumeur (TSC1/TSC2). La STB conduit à des hamartomes multi systémiques, incluant de nombreuses lésions cérébrales neuropathologiques comme les tubers (tumeurs bénignes). Près de 90% des patients souffrent également d'une épilepsie partielle, souvent pharmaco-résistante (Chu-Shore et al., 2009). La localisation exacte de la zone épileptogène dans la STB reste controversée. Certaines études suggèrent que les tubers jouent un plus grand rôle dans la genèse des crises que le cortex péritubéral, mais il existe de plus en plus d'évidences sur l'épileptogénicité du cortex péritubéral même s'il apparait normal à l'IRM (Madhavan et al., 2007; Sosunov et al., 2008;

Major et al., 2009; Marcotte et al., 2012; Chalifoux et al., 2013; Ruppe et al., 2014). De plus, les fast-ripples, supposés être de nouveaux biomarqueurs de la zone épileptogène, n'ont jamais été détecté chez des patients ayant une STB avec des macroélectrodes (Ferrari-Marinho et al., 2015). Nous rapportons ici le cas d'une patiente souffrant d'une STB compliquée d'une épilepsie pharmaco-résistante. Plusieurs tubers sont localisés dans son cerveau mais un en particulier est suspecté d'être à l'origine des crises épileptiques.

Le but de cette étude est d'analyser les activités intercritiques (pointes intercritiques, fast-ripples) trouvées dans le tuber et le pérituber à différentes échelles, pour mieux comprendre leurs rôles respectifs dans la genèse de l'épilepsie dans la STB chez l'Homme.

MÉTHODES

Une patiente atteinte d'une STB compliquée d'une épilepsie a été admise au CHU de Toulouse pour une SEEG visant à localiser la zone épileptogène. Il y avait plusieurs tubers dans le cerveau de cette patiente mais un en particulier était suspecté d'être à l'origine de l'épilepsie. En plus des 11 macroélectrodes, 4 électrodes hybride ont été implantées chez cette patiente : (1) une dans le tuber suspecté comme étant à l'origine de l'épilepsie ; (2) une dans le pérituber ; (3) une en zone saine homolatérale (amygdale) ; (4) une en zone saine controlatérale (cortex orbitofrontal).

Quatre crises spontanées ont pu être enregistrées à l'aide des macroélectrodes. Néanmoins, aucune crise n'est survenue durant les périodes d'enregistrements avec les microélectrodes. Nous avons donc analysé les potentiels de champ locaux (micro et macro) et l'activité neuronale (micro) détectés pendant les pointes intercritiques sur ces 4 électrodes hybrides. Nous avons également analysé l'ensemble du signal (micro et macro) à la recherche de fast-ripples.

RÉSULTATS

Les pointes intercritiques

- Des pointes intercritiques sont détectées à la fois par les micro et les macroélectrodes, de façon simultanée dans le tuber et le pérituber.

- Les pointes enregistrées dans le tuber ont une amplitude plus importante.
- Les microélectrodes permettent de mettre en évidence quelques pointes dans le périruber qui ne sont pas visible avec les macroélectrodes.

L'activité neuronale

- 84 neurones ont été détectés (21 dans le tuber, 24 dans le périruber, 8 dans l'amygdale et 31 dans le cortex orbitofrontal).
- Le taux de décharge de 12 neurones dans le tuber (57%) et de 4 neurones dans le périruber (17%) est modulé par les pointes intercritiques.
- L'activité neuronale au moment des pointes intercritiques est hétérogène. On constate chez certains neurones une augmentation du taux de décharge pendant la pointe, pendant la pointe et l'onde lente ou au contraire une diminution du taux de décharges au moment de la pointe.

Les fast-ripples

- Les FR sont enregistrés uniquement par les microélectrodes et uniquement dans le tuber.

DISCUSSION

Une analyse à multi-échelle de l'activité neuronale, des fast-ripples et des pointes intercritiques a permis de mettre en évidence un gradient d'épileptogénicité allant du tuber vers le périruber.

Les FR ont été détectés seulement avec les microélectrodes ce qui est en accord avec d'autres études montrant qu'ils sont produits par de tout petits générateurs et qu'ils ne peuvent donc pas être systématiquement perçus par les macroélectrodes (Bragin et al., 1999a; Demont-Guignard et al., 2012; Zijlmans et al., 2017). De plus, dans 78% des cas, les FR n'étaient pas visibles sur l'ensemble des tétrodes de l'électrode hybride.

Nous avons montré l'existence d'une modulation neuronale hétérogène au moment des pointes intercritiques, majoritairement dans le tuber mais aussi dans le perituber. Historiquement, les pointes intercritiques et les crises étaient supposées être générées par une hypersynchronisation des neurones. Ces dernières années, plusieurs études ont montré,

grâce à l'utilisation de microélectrodes, que les activités neuronales au moment de ces deux évènements étaient hétérogènes (Keller et al., 2010; Truccolo et al., 2011; Lambrecq et al., 2017). De plus, alors que les neurones du tuber sont fortement synchronisés en dehors des pointes intercritiques, leur synchronisation diminue au moment de la génération des pointes, allant une fois de plus dans l'idée que ces évènements ne peuvent pas être simplement expliqués par une hypersynchronisation neuronale.

Plusieurs études sur la STB suggèrent l'existence d'une discontinuité entre le tuber et le périturber (Mohamed et al., 2012; Feliciano et al., 2013). Alors que nous avons enregistré un nombre similaire de neurones dans les deux structures, une plus grande proportion de ces neurones était modulée lors des pointes intercritiques dans le tuber. Le fait que nous ayons trouvé des neurones modulés dans le périturber suggère l'existence d'un gradient d'épileptogénicité entre les deux structures. Cela est en accord avec des études récentes, montrant un gradient d'anomalies histologiques entre ces deux tissus, ce qui favorise l'idée que les lésions dans la STB sont plus étendues que ce que l'on pourrait croire initialement (Peters et al., 2015; Sosunov et al., 2015).

Notre étude a plusieurs limites, (1) nous n'avons pas pu enregistrer de crises avec les microélectrodes ; (2) il s'agit de données obtenues chez seulement une patiente ; (3) nous n'avons pas pu enregistrer un grand nombre d'activités neuronales ; (4) la patiente n'a pas été opérée pour le moment. Néanmoins, c'est la première fois que des enregistrements sont effectués avec des microélectrodes dans la STB, qui plus est dans le tuber et le périturber simultanément.

Les résultats de cette étude suggèrent l'existence d'un gradient d'épileptogénicité entre le tuber et le périturber. L'analyse de l'activité neuronale de ces deux structures devrait permettre petit à petit d'obtenir une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacent à l'épilepsie dans la STB. Ces résultats questionnent également sur l'étendue de la résection neurochirurgicale et en particulier sur la résection du périturber (Fallah et al., 2015).

Clinical Neurophysiology 130 (2019) 537–547

Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Neurophysiology

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

Neuronal spiking activity highlights a gradient of epileptogenicity in human tuberous sclerosis lesions

Elodie Despouy [a,b,c,*,1], Jonathan Curot [a,b,d,1], Marie Denuelle [d], Martin Deudon [a,b], Jean-Christophe Sol [e,f], Jean-Albert Lotterie [e,g], Leila Reddy [a,b], Lionel G. Nowak [a,b], Jérémie Pariente [e,h], Simon J. Thorpe [a,b], Luc Valton [a,b,d], Emmanuel J. Barbeau [a,b]

[a] Centre de Recherche Cerveau et Cognition, Université de Toulouse, Université Paul Sabatier Toulouse, Toulouse F-31330, France
[b] Centre National de la Recherche Scientifique, CerCo, UMR 5549, Toulouse F-31052, France
[c] DIXI Medical, Chaudefontaine F-25640, France
[d] Explorations Neurophysiologiques, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse F-31300, France
[e] INSERM, U1214, TONIC, Toulouse Mind and Brain Institute, Toulouse F-31052, France
[f] Neurochirurgie, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse F-31300, France
[g] Radiochirurgie stéréotaxique, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse F-31300, France
[h] Neurologie, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse F-31300, France

ARTICLE INFO

Article history:
Accepted 25 December 2018
Available online 30 January 2019

Keywords:
Stereoelectroencephalography (SEEG)
Microelectrode
Tuberous sclerosis complex
Epilepsy
Action potentials

HIGHLIGHTS

- First recordings of spiking neuronal activity in the tuber and perituberal tissue using new hybrid electrodes equipped with tetrodes.
- Gradient of epileptogenicity running from the tuber to perituberal tissue revealed by multi-scale analyses.
- Observation of interactions both within and between the tuber and peritubers.

ABSTRACT

Objective: The mechanisms underlying epileptogenicity in tuberous sclerosis complex (TSC) are poorly understood.
Methods: We analysed neuronal spiking activity (84 neurons), fast ripples (FRs), local field potentials and intracranial electroencephalogram during interictal epileptiform discharges (IEDs) in the tuber and perituber of a patient using novel hybrid electrodes equipped with tetrodes.
Results: IEDs were recorded in the tuber and perituber. FRs were recorded only in the tuber and only with the microelectrodes. A larger proportion of neurons in the tuber (57%) than in the perituber (17%) had firing-rates modulated around IEDs.
Conclusions: A multi-scale analysis of neuronal activity, FRs and IEDs indicates a gradient of epileptogenicity running from the tuber to the perituber.
Significance: We demonstrate, for the first time *in vivo*, a gradient of epileptogenicity from the tuber to the perituber, which paves the way for future models of epilepsy in TSC. Our results also question the extent of the neurosurgical resection, including or not the perituber, that needs to be made in these patients.
© 2019 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

1. Introduction

About 90% of patients with tuberous sclerosis complex (TSC) develop epilepsy (Chu-Shore et al., 2009). Around 50–80% of these are pharmacoresistant, such that resection of the tuber from which the seizures originate must be considered in some patients (Kahane and Landré, 2008; Bartolomei et al., 2017). Tuber

Abbreviations: ADC, apparent diffusion coefficient; EEG, electroencephalography; EI, epileptogenicity index; FLAIR, fluid-attenuated inversion recovery; FRs, fast ripples; HFOs, high-frequency oscillations; IED, interictal epileptiform discharge; iEEG, intracranial electroencephalography; LFP, local field potential; SEEG, stereoelectroencephalography; SOZ, seizure onset zone; TSC, tuberous sclerosis complex.

* Corresponding author at: CerCo CNRS, UMR 5549, Université Toulouse III, CHU Purpan, Pavillon Baudot, BP 25202, 31052 Toulouse Cedex, France.
E-mail address: elodie.despouy@cnrs.fr (E. Despouy).
[1] These authors contributed equally to this work.

https://doi.org/10.1016/j.clinph.2018.12.013
1388-2457/© 2019 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier B.V.
This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

delineation and surgical decision are, however, complex processes. Most patients have multiple tubers, but not all are associated with electroencephalography (EEG) abnormalities. Multiple independent epileptic foci can sometimes be found. In other instances, some tubers are associated with interictal pathological activities, but do not belong to the seizure onset zone (SOZ). Progress must therefore be made about our understanding of the SOZ in TSC to inform neurosurgery.

Even if an isolated tuber is suspected of being related to the SOZ, delineating the exact borders of the epileptogenic tissue is often difficult. In addition, the tuber is surrounded by perituberal tissue that can also be pathological. The exact role of the tuber and perituberal tissue in seizures remains unclear. For example, the high-frequency oscillations (HFOs), and more particularly the fast ripples (FRs) between 200 and 600 Hz, that are regarded as biomarkers of SOZs, are not always found in TSC (Mohamed et al., 2012; Okanishi et al., 2014; Ferrari-Marinho et al., 2015; Kannan et al., 2016). Furthermore, although several studies have reported that seizures arise from tubers, or even from tuber centres, before propagating to a *tuber rim*, resection of tubers fails to control seizures in more than 40% of patients (Jansen et al., 2007; Jacobs et al., 2008; Ma et al., 2012; Mohamed et al., 2012; Kannan et al., 2016). Resection beyond the tuber's apparent limits is associated with a greater probability of seizure relief (Fallah et al., 2015). It has therefore been suggested that although perituberal tissue appears normal on conventional MRI, it may also be epileptogenic, and seizures may also originate from there (Madhavan et al., 2007; Sosunov et al., 2008; Major et al., 2009; Marcotte et al., 2012; Chalifoux et al., 2013; Ruppe et al., 2014). In support of this proposal, 7 T MRI has revealed previously undetected lesions, including microtubers, which are tuber-like spherical microscopic collection of giant cells, dysplastic neurons and astrocytes, with a diameter of about 285 microns (Sosunov et al., 2008, 2015; Chalifoux et al., 2013; Peters et al., 2015). Overall, these recent results suggest a gradient of abnormality running from the tuber to the perituberal tissue (Marcotte et al., 2012; Peters et al., 2015), departing from previous conceptions of TSC that report a discontinuity between the tuber and perituber (Feliciano et al., 2013).

Intracranial EEG (iEEG) studies in TSC have relied thus far on electrocorticography, depth macroelectrode recording, or a combination of the two. This scale is too large, however, to analyse activity at the neuronal level or within microtubers. Only microelectrodes (20–50 μm diameter) can simultaneously record local field potentials (LFPs) on a submillimeter scale along with neuronal activity. These more localised signals could help us understand the dynamics of the epileptogenic interactions between the tuber and perituberal tissue in TSC. Only rare multi-scale analyses, which did not include any patient with TSC, could demonstrate that interictal epileptiform discharges or seizure initiation relied on heterogeneous neuronal firing patterns. This lead to the revision of the historical conception of a paroxysm of hypersynchronous excitatory activity (Truccolo et al., 2011; Lambrecq et al., 2017) but much remains to be clarified in this field. To our knowledge, furthermore, no study has so far used intracranial microelectrodes to explore in vivo the electrophysiological features of tubers and perituberal tissue in humans. Whether epileptic activity during TSC is also related to heterogeneous neuronal firing pattern thus remains to be investigated.

As a consequence, the specific mechanisms behind epileptogenicity in TSC are not fully understood. The purpose of our study was therefore to analyse the interictal activity of the tuber and perituberal tissue on different spatial scales, in order to better understand their respective roles in the genesis of epileptic activity in human TSC. We hypothesised that both are involved in the genesis of epileptic activities, as there is independent evidence in the literature. The roles of the tuber and perituberal tissue may differ, given that they are histologically distinct, but they may also be interdependent. To study this possible interdependence and to overcome spatial limits, we analysed neuronal activity, FRs, iEEG and LFPs during interictal epileptiform discharges (IEDs), using simultaneous macro- and microelectrode recordings with a newly designed electrode equipped with tetrodes.

2. Methods

2.1. Patient

The patient was a 39-year-old woman with TSC. She had developed partial epilepsy at the age of 3 years, which became pharmacoresistant in her childhood. Seizure semiology was stereotyped: vegetative symptoms, smothering sensation, fear, unpleasant taste, and hypersalivation followed by hyperkinetic symptoms (pedalling, trunk swaying, agitation), without any language disorder or memory impairment.

2.2. Procedure

Non-invasive assessments failed to localise the SOZ with certainty. Two scalp video-EEG sessions recorded mostly right temporal IEDs and several clinically stereotyped seizures with rapid or rhythmic theta discharge on bilateral anterior regions, or else a spike-and-wave complex in the right hemisphere before the discharge or bilateral rhythmic theta activity. MRI revealed multiple tubers, but no subependymal giant cell astrocytomas or periventricular nodules. A right insular tuber seemed to differ from the others, as it had greater cortical thickness, more pronounced white and gray matter dedifferentiation and a higher apparent diffusion coefficient (ADC). Interictal FDG-PET revealed focal hypometabolism of all tubers.

Our main hypothesis was that a SOZ was located in the right insula, related to the large insular tuber, with propagation in the anterior cingulate cortex. We could not exclude the possibility of either early involvement of the frontal lobe or a purely frontal SOZ involving the anterior cingulate cortex. Furthermore, we could not precisely delineate the insular extension of the SOZ.

In clinical practice, the SOZ is an electroclinical definition corresponding to the "site of beginning and of the primary organisation of the seizures" among the cerebral regions involved in the seizures (Munari and Bancaud, 1987; Kahane et al., 2006; Bartolomei et al., 2017). To better delineate the SOZ, the patient underwent stereoelectroencephalography (SEEG) (Fig. 1). The antiepileptic treatment (lacosamide and oxcarbazepine) was gradually reduced from the 5th day post-implantation, to facilitate seizure occurrence.

The patient received detailed information about the objectives of the SEEG and the use of hybrid electrodes. She signed an informed consent form for the implantation and for the use of the EEG data for research purposes. Implantation of the hybrid electrodes was approved by the local ethics committee and French Drug and Health Products Safety Agency (CPP Sud-Ouest et Outre-Mer I, no.1-14-23 and ANSM 2014-A00747-40).

2.3. MRI

Preoperative imaging was performed on a 3 T MAGNETOM Skyra MRI scanner (Siemens, Erlangen, Germany). Delimitation of the tuber and perituberal tissue was done visually by a neuroradiologist blind to the electrode implantation and to the purpose of the study. Tuber delimitation criteria were higher ADC, T1-WI hypointensity, T2-WI hyperintensity, fluid-attenuated inversion

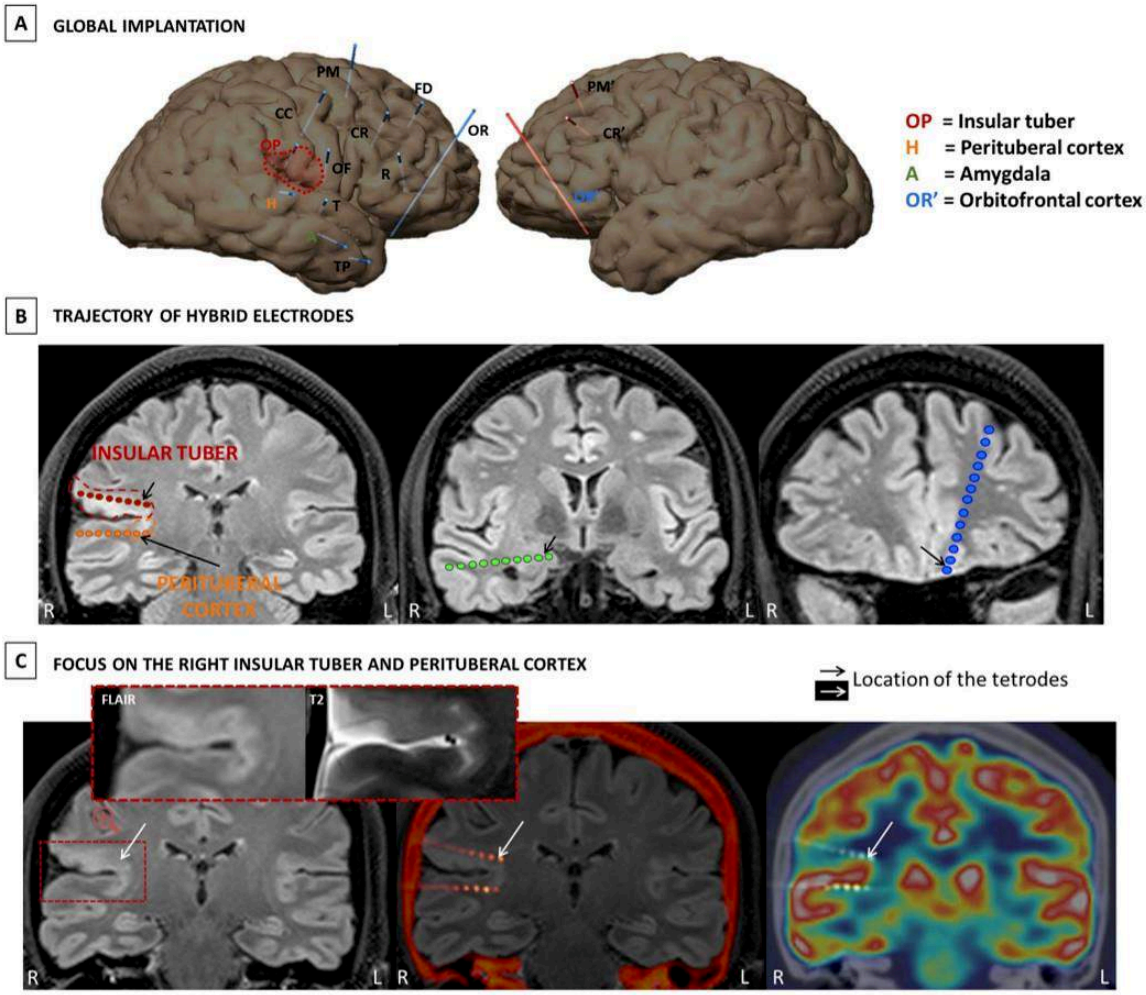


Fig. 1. Tuber and perituber delimitation were based on MRI criteria (see Section 2.3 MRI, (Grajkowska et al., 2010; Kannan et al., 2016)). (A) Complete implantation with location of the four hybrid electrodes (coloured circles) and the 11 clinical macroelectrodes. Each macroelectrode is named by a black letter. Hybrid electrodes are names with a colored letter (H, OP, A and OR'). One hybrid electrode targeted the insular tuber, and one the insular perituberal tissue. The two others targeted cortex that appeared normal on MRI (right amygdala, left orbitofrontal cortex (see B)). Clinical macroelectrode OF was located adjacent to the insular perituber. Clinical macroelectrode PM spanned another tuber located in the medial superior frontal gyrus. (B) T2-FLAIR imaging with a reconstruction showing the location of the hybrid electrodes. One hybrid electrode (red) targeted the right insular tuber suspected of being associated with the SOZ, one (orange) targeted the perituberal tissue, and the two others targeted apparently healthy cortex: (amygdala (green) and orbitofrontal cortex (blue). The coloured circles are the macrocontacts. The location of the microelectrodes is indicated by the black arrows. (C) Aspect of the right insular tuber and perituberal tissue on MRI. The middle picture is the fusion of CT-scan post-implantation and MRI FLAIR pre-implantation. The picture on the right corresponds to FDG-PET imaging revealing hypometabolism in the tuber.

recovery (FLAIR) areas distinct from the surrounding cortex, loss of gray and white matter differentiation, enlargement of the cortical layer, and no contrast enhancement with gadolinium (Grajkowska et al., 2010). Perituberal tissue was deemed to be the area adjacent to the tuber, but which did not meet the previous criteria and appeared normal on MRI (Kannan et al., 2016).

2.4. Electrodes and recordings

The choice of electrode location was based solely on pre-SEEG clinical observations and on hypotheses about the location of the SOZ based on non-invasive assessment. Eleven semi-rigid multi-lead clinical depth macroelectrodes (nine in the right hemisphere, two in the left; Microdeep, DIXI Medical, France) and four new hybrid electrodes (three right, one left; designed by DIXI Medical) were implanted (Fig. 1). The detail of each electrode placement and type is available in Table 1. Each electrode is identified by letters (e.g. H). An uppercase letter refers to a macroelectrode and the corresponding lowercase letter refers to the tetrodes of that same macroelectrode (e.g. h). Three electrodes (2 hybrids – OP-op and H-h – and 1 macroelectrode – OF) targeted the right insular cortex. One macroelectrode – PM – targeted another small tuber located in the medial prefrontal cortex and can be considered as a potential control electrode.

The macroelectrodes had a diameter of 0.8 mm and contained 5–18 contacts (platinum/iridium) 2 mm long and 1.5 mm apart. The hybrid electrodes each consisted of a clinical macroelectrode (diameter: 0.8 mm) equipped with three tetrodes (four microelec-

Table 1
Details of electrode placement.

Electrode	Hemisphere	Type	Nb of contacts macro/micro	Lateral contact	Medial contact	Additional information
A*	Right	hybrid	6/12	Medial temporal gyrus (BA21)	Amygdala	/
CC	Right	clinical	15	Central gyrus (BA4)	Anterior cingulate (BA24)	/
CR	Right	clinical	15	Medium frontal gyrus (BA9)	Anterior cingulate (BA24)	/
FD	Right	clinical	8	Superior frontal gyrus (BA9)	Superior frontal gyrus (BA9)	/
H*	Right	hybrid	6/12	Superior temporal gyrus (BA42)	Posterior inferior insula	Medial contacts in the insular perituberal cortex
OF	Right	clinical	10	Central operculum (BA4)	Medium superior insula	Medial contacts close to the insular tuber
OP*	Right	hybrid	6/12	Parietal operculum (BA1/2/3/43)	Posterior superior insula	Medial contacts in the insular tuber
OR	Right	clinical	18	Superior frontal gyrus (BA10)	Straight gyrus (BA12)	/
PM	Right	clinical	8	Superior frontal gyrus (BA8)	Superior frontal gyrus (BA8)	Medial contacts span a frontal tuber
R	Right	clinical	15	Inferior temporal gyrus (BA45)	Anterior cingulate (BA24/32)	/
T	Right	clinical	8	Superior temporal gyrus (BA22)	Anterior inferior insula	/
TP	Right	clinical	10	Medial temporal gyrus (BA38)	Superior temporal gyrus (BA 38)	/
CR'	Left	clinical	12	Medium frontal gyrus (BA9/46)	Anterior cingulate (BA24)	/
OR'*	Left	hybrid	6/12	Superior frontal gyrus (BA10)	Straight gyrus (BA12)	/
PM'	Left	clinical	8	Superior frontal gyrus (BA8)	Superior frontal gyrus (BA8)	/

trodes each, details in Fig. 2) that protruded 2 mm from the shaft between the first and second most medial macrocontacts. Tetrodes were extended from the electrode shaft after implantation, using a micrometer screw. These new hybrid electrodes have been under clinical investigation in our epilepsy centre since 2015, with an agreement to implant up to four hybrid electrodes per patient. Computer-assisted matching between post-implantation CT-scan and preimplantation 3D-MRI data allowed us to localize the electrodes' contacts.

Macrocontact signals were recorded using two SystemPLUS EVOLUTION 64-channel acquisition units (Micromed, France) at a sampling rate of 2048 Hz (anti-aliasing filter: 926.7 Hz; high-pass filter: 0.15 Hz; low-pass filter: 1000 Hz). Microelectrode signals were recorded using a 64-channel Cerebus System (Blackrock Microsystems, Salt Lake City, UT, USA) at a sampling rate of 30 kHz (0.3–7.5 kHz bandwidth). Line noise cancellation at 50 Hz was applied. A macrocontact located in the white matter was used as a reference for both systems. Macrocontacts were recorded 24/24 h. Microelectrodes were recorded for 1 hour in five morning sessions on Days 2, 5, 6, 7 and 8, while the patient watched TV show episodes.

We voluntarily focused our analyses on the recordings from the four hybrid electrodes to allow multi-scale comparisons between different areas, of the neuronal activity and the fast ripples notably. The location of the four hybrids covers different types of tissues (tuber, perituber, apparently normal homolateral and contralateral tissue) which was sufficient to test our hypotheses.

2.5. Epileptic event identification

Monopolar montages and reformatted bipolar montages were used for micro- and macroelectrode recordings, respectively. Simultaneous EEG recordings on micro- and macroelectrodes were analysed with a toolbox developed in our laboratory (Micmac). The microsignal was reviewed manually. Noisy periods or channels were excluded.

IEDs were mostly brief (<1 s) or sporadic bursts of intermittent spike-and-wave activity, sometimes followed by gamma or ripple activity (Fig. 3A). IEDs that occurred during the 5 × 1 hours of simultaneous recordings on macro- and microelectrodes were visually identified by two independent experts in EEG analyses (ED, JC) according to traditional morphological characteristics used in clinical practice: sharpness and duration, clearly distinguishable from background activity (Gotman and Gloor, 1976). IEDs were marked independently of FRs.

FRs were analysed during the same 5 × 1 hours of recordings. FRs were sought in the iEEG and LFPs recorded on both the hybrid and clinical macroelectrodes. There were three criteria for identifying FRs: an oscillation visible in both the raw data and the filtered signal (200–600-Hz bandpass finite impulse response filter to reduce ringing); at least four oscillations; and time-frequency analysis resulting in circumscribed areas in the time–frequency plane in the FR band to avoid artefacts and *false ripples* created by filtering (Bénar et al., 2010; Zijlmans et al., 2012). As microelectrode recordings can contain movement artefacts and have higher electromagnetic sensitivity, FRs on the microelectrodes were visually reviewed by two of the authors (ED, JC) during the first 10 min of each hour of recording. The raw and filtered signal (200–600 Hz) of four microwires (i.e. corresponding to a single tetrode) were visualised simultaneously using a 0.6 s time window. Cohen's kappa coefficient (κ) was computed for each channel (Ferrari-Marinho et al., 2015). If $\kappa < 0.6$, both examiners reanalysed the channel. Otherwise, the remaining 50 min were then analysed by one examiner. On the macroelectrodes, FRs were first visually sought by one examiner. To confirm the results, we subsequently used Delphos (an automatic detector which improves the detectability of HFOs by applying a linear whitening (i.e. flattening) transformation to enhance the fast oscillations while preserving an optimal signal to noise ratio) (Roehri et al., 2016).

2.6. Spike sorting

Each microwire signal was bandpass filtered using a Butterworth filter (300–3000 Hz) and whitened. We detected action potentials offline on each separate tetrode. Spike sorting was performed using SpyKING CIRCUS (with a template matching-based algorithm) (Yger et al., 2018). We took into account different quality metrics (interspike interval, scatterplots of the different clus-

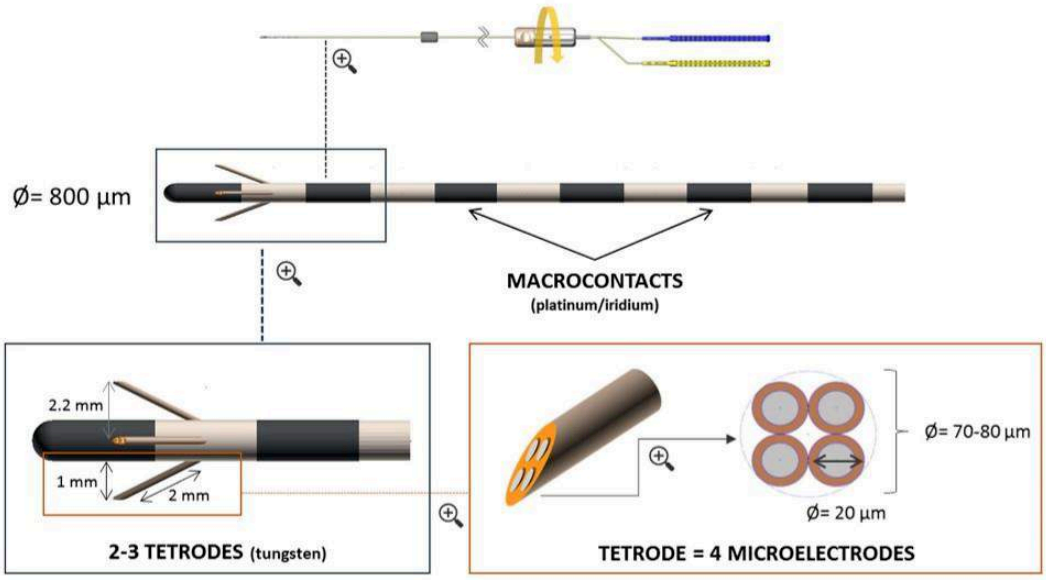


Fig. 2. New hybrid micro-macroelectrode used in this study. The difference with a clinical macroelectrode is the inclusion of three tetrodes that can be extended from the shaft between the most medial macrocontacts by up to 2 mm. Each tetrode is composed of four tungsten microwires with a diameter of 20 µm (overall diameter: 70–80 µm).

ters, amplitude over time, autocorrelogram, crosscorrelogram, refractory period violations; Supplementary Fig. S1) to optimize spike sorting (Hill et al., 2011). An action potential was detected if the amplitude was above a threshold set at six times the median of the absolute deviation of the voltage. The resulting data were inspected manually and refined using the MATLAB graphical interface.

To visualise the patterns of neuronal activity around the IEDs, we constructed peristimulus raster plots and time histograms (bin duration = 10 ms) for a period extending from 1 s before and to 1 s after each event. After visual inspection of the mean LFP of all IEDs, we defined five distinct time periods around the IED peaks (Fig. 4A). We considered that a neuron was modulated around an IED if there was a significant difference in the firing rate in at least one of the four periods of interest we had defined, compared with the baseline. To account for the nonparametric distribution of the action potential firing rate, we calculated a Kruskal-Wallis one-way analysis of variance (ANOVA) to test the equality of medians ($p < 0.05$) for the firing rate in the baseline period and each period of interest (Keller et al., 2010). We then ran Dunn's post hoc test with the Holm-Sidak correction to account for the number of time periods being compared.

Finally, we performed cross-correlation analyses to evaluate the functional interactions between all pairs of neurons that were modulated by IEDs (bin duration: 1 ms, period of analysis: [−80, 80] ms around IEDs) (Amarasingham et al., 2012). We also excluded portions of 2 s of signal around IEDs to investigate basal interactions. These analyses were performed with the Python packages Neo and Elephant (Garcia et al., 2014). To estimate the significance level of the crosscorrelograms for basal interactions, each target spike train was jittered by a random amount (zero-mean Gaussian distribution, $SD = 30$ ms) and the corresponding crosscorrelogram recalculated (Alvarado-Rojas et al., 2013). This procedure was repeated 1000 times and the 99% confidence interval was estimated. For crosscorrelograms computed around the IEDs, we used the shift predictor to correct for the stimulus-induced relationship (Narayanan and Laubach, 2009).

2.7. Connectivity during seizures and IEDs

Direct electrical brain stimulation is a standard clinical procedure for assessing the local propensity of the stimulated brain areas to induce seizures and allow for functional mapping. Bipolar electrical brain stimulation (1 or 50 Hz, 1-ms pulses) was applied between adjacent macrocontacts.

We calculated the epileptogenicity index (EI) using the Any-Wave toolbox (Colombet et al., 2015). EI is a mathematical index which characterizes the involvement of a given brain structure in the generation of high-frequency (beta or gamma) iEEG fluctuations, as observed during the transitions between ictal and interictal activity (Bartolomei et al., 2008). The normalised value of EI ranges from 0 (no involvement of brain structure) to 1 (brain structure generates a rapid discharge, time to seizure onset is minimal).

3. Results

Four spontaneous seizures were recorded with the macroelectrodes. None of them occurred during the 5 × 1 hour microelectrode recording periods. We focused our analyses on neuronal activity during IEDs.

3.1. IEDs

IED patterns were highly similar to those recorded at the start of the seizures (Supplementary Fig. S2). IEDs were recorded with both micro- and macroelectrodes (on the macrocontacts immediately adjacent to the microelectrodes) and synchronously involved the insular tuber (OP-op) and perituberal tissue (H-h). They had a higher amplitude in the tuber and some were recorded solely in the tuber (Supplementary Fig. S3). The microelectrodes enabled us to detect additional IEDs in perituberal tissue that were not picked up by the macroelectrodes (Fig. 3A). IEDs that were only recorded on the microelectrodes had lower amplitudes (Supplementary Fig. S3). IEDs were not recorded in any other brain region or tuber (excepted on electrode OF, which was not a hybrid

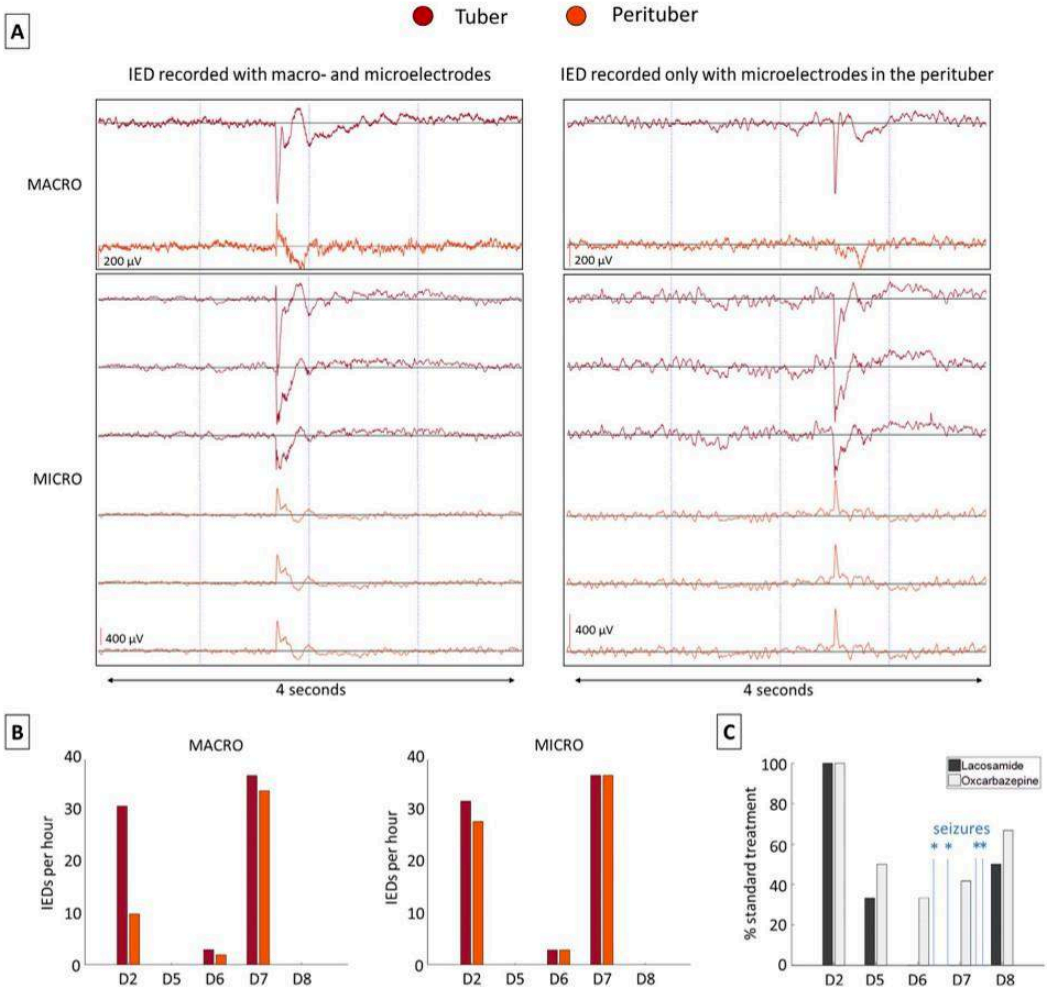


Fig. 3. (A) Example of an IED recorded simultaneously in the tuber (red) and perituberal tissue (yellow) with macro- and microelectrodes, and an example of another IED recorded in the perituberal tissue solely with microelectrodes. The signal of only one microwire per tetrode is shown. (B) Quantification of the IEDs during the 5 days of recordings in the tuber and perituberal tissue. (C) Change in the antiepileptic treatment associating lacosamide (300 mg per day) and oxcarbazepine (900 mg per day) during the same 5 days. Blue asterisks indicate the occurrence of spontaneous seizures. D n = recording during the nth day after electrode implantation.

electrode, located adjacent to the peritumber). IED occurrence varied throughout the SEEG. They clearly predominated on the second day and close to the spontaneous seizure occurrences after the antiepileptic treatment had been decreased (e.g. on Day 7, see Fig. 3B and C for details).

3.2. Neuronal activity

We focused our analyses on neuronal activity on Days 2 and 7, during which most of the IEDs were recorded (Fig. 3B). We recorded 84 neurons (21 in the tuber, 24 in the perituberal tissue, 8 in the amygdala, and 31 in the orbitofrontal cortex; see Supplementary Fig. S4 for details. The firing rates of 12 neurons (57%) in the tuber and four neurons (17%) in the perituberal tissue were modulated around the IEDs (chi2 test: $p = 0.01$; Fig. 4D). Action potential amplitudes and firing rates did not differ between modulated and nonmodulated neurons (Supplementary Figs. S5 and S6). In most cases, the firing of modulated neurons increased around the IEDs: 13 neurons (81%) had an increased firing rate during and/or after IEDs, whereas three (19%) had a decreased firing rate during and/or after IEDs (Fig. 4B and C). The firing rate of neurons recorded by tetrodes located in the amygdala and orbitofrontal cortex did not change during or around the IEDs recorded in the tuber and perituberal tissue.

Crosscorrelograms between all the pairs of neurons that were modulated during or outside the IEDs revealed three different functional interactions: synchronisation (simultaneous firing), inhibition, and delay (Fig. 4D and E). Outside the IEDs, tuberal neurons were highly synchronised, whereas one third of perituberal neurons tended to inhibit each other. Synchronisation between the tuber and perituberal tissue was only observed for one fifth of the pairs. During the IEDs, by contrast, we observed an overall decrease in synchronisation in both types of tissue, and perituberal neurons firing about 8 ms before tuberal neurons (one perituberal neuron fired 10 and 8 ms respectively before two different tuberal neurons. The other perituberal neuron fired 6 ms before another tuberal neuron).

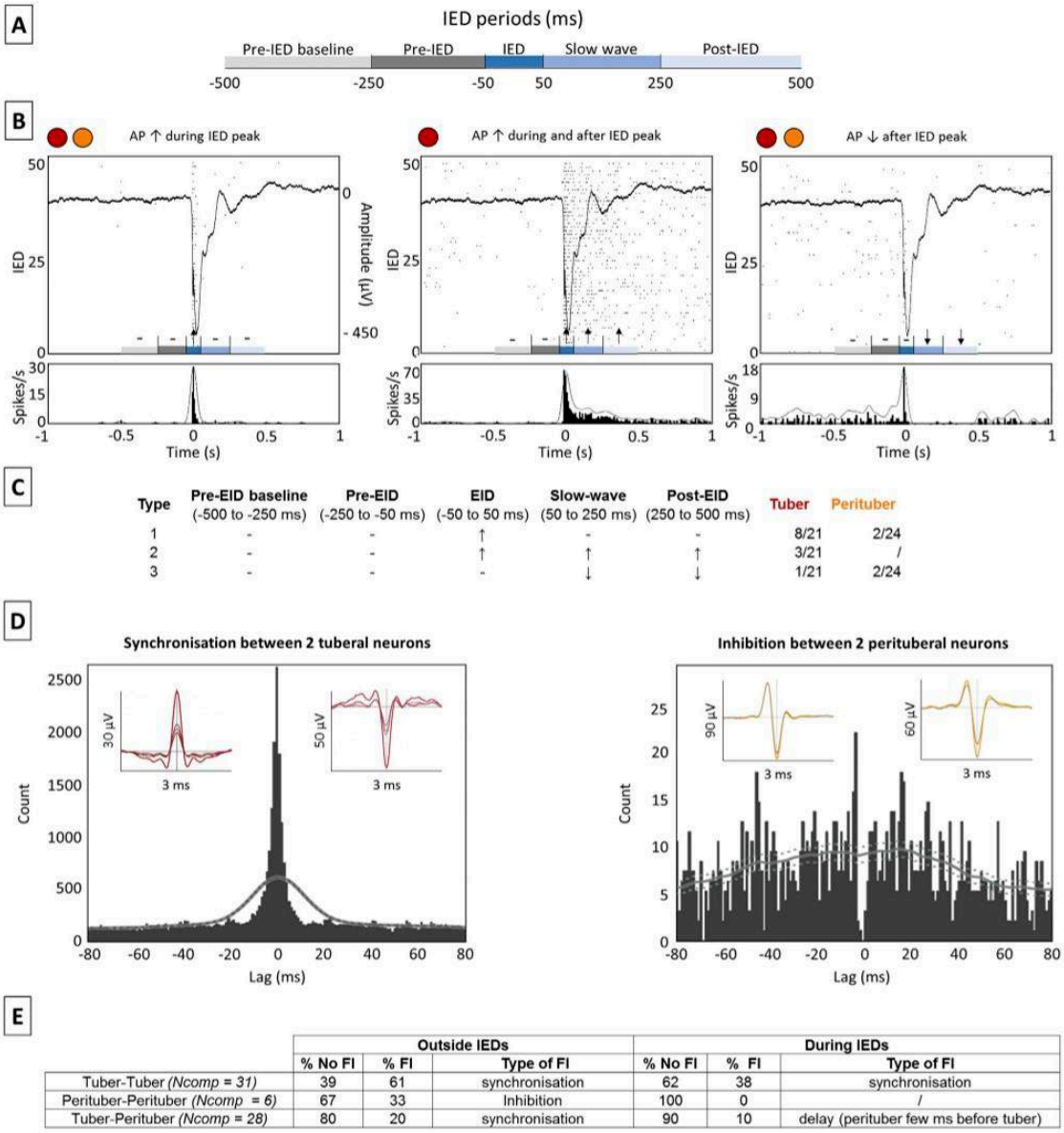


Fig. 4. (A) Timing of the five periods around each IED. We defined five distinct time periods around each IED peak (Time 0): pre-interictal discharge baseline period (−500 to −250 ms), pre-interictal discharge period (−250 to −50 ms), interictal discharge period (−50 to 50 ms), slow-wave period (50–250 ms), and post-interictal discharge period (250–500 ms). (B) Representative examples of the activity of three neurons recorded during 50 consecutives aligned IEDs in the tuber (red) and perituberal tissue (yellow). These were recorded on Day 7, when macro- and microelectrode signals were recorded for 90 min. The continuous line in the top part of the figure represents the mean of the 50 IEDs and the dots the raster plots of the neuronal activity. The bottom part of the figure represents the peristimulus time histograms. Time 0 and IED alignment were based on the IED peak. Three different patterns of activity could be distinguished: increased activity during the peak (left panel), increased activity both during and after the peak (middle panel), and decreased activity after the peak (right panel). Lack of significant change compared with the baseline period is indicated by dashes, and significant increases or decreases by up or down arrows ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis one-way ANOVA with Dunn's post hoc test and Holm-Sidak correction). (C) Number of neurons of each type in the tuber and perituberal tissue. (D) Example of crosscorrelograms showing synchronisation and inhibition in the tuber and perituberal tissue. Dashed grey lines show the 99% confidence interval for the jittered spike trains. The averaged AP waveform for each neuron is shown above each crosscorrelogram. (E) Details of the functional interactions (FIs) found between all the modulated neuron pairs in the tuber and perituberal tissue. *Ncomp* = number of comparisons in each condition; AP: action potential.

3.3. FRs

We only recorded FRs with microelectrodes, and only in the insular tuber (op) (Fig. 5A). FRs were not recorded in the other tuber located in the medial superior frontal gyrus (macroelectrode PM). FRs had a mean duration of 14 ms (range: 9–20) and a mean frequency of 513 Hz (range: 431–562). However, their amplitudes varied (mean: 46 µV, range: 25–82). The five FRs with the highest amplitude were simultaneously recorded on two adjacent tetrodes, while the others were recorded on only one (Fig. 5B). FRs never

occurred during IEDs. FR occurrence varied throughout the SEEG: they clearly predominated on Day 7 (like the IEDs, when the spontaneous seizures occurred and when medication was reduced).

3.4. Seizures and clinical results

Semiology corresponded to the patient's usual seizures. The onset of three of the seizures was clearly identifiable and had exactly the same initial pattern (Fig. 6A): high-amplitude spike-and-wave activity simultaneously recorded in the insular tuber (medial contacts of macroelectrodes OP) and perituberal tissue (macroelectrodes H, medial contact of macroelectrode OF), followed by a low-voltage, high-frequency discharge. The fourth seizure began with a rhythmic slow-wave discharge in the tuber and perituberal tissue (macroelectrodes OF, OP, H), followed by the same pattern as the previous ones (Supplementary Fig. S2). The seizures did not involve the other tuber recorded by electrode PM. The mean normalised EI (calculated and averaged for the three seizures with a sharp and similar onset) was clearly higher in the tuber than in any other brain area explored by the macroelectrodes, including the perituberal tissue (Fig. 6B).

The insular tuber where the electrodes (OP-op) were located appeared hypometabolic, as the FDG-PET scan showed a clear asymmetry between right and left homologous regions (Fig. 1C). The microelectrodes in the perituberal tissue (h) were located in an area with normal or subnormal metabolism (Fig. 1C). Details of stimulation parameters and the induced effects are available in the Supplementary Material.

Based on the SEEG results, and before current analyses, the clinical decision was taken to carry out a cortectomy involving the right insular tuber. The limits of the cortectomy were determined according to MRI abnormalities, as well as the location of the electrodes. However, the patient has not yet undergone the operation, owing to a significant decrease in seizure frequency following the SEEG. Two and a half years after the SEEG, she was still seizure-free with an anti-epileptic medication.

4. Discussion

In the present study, we used new hybrid electrodes equipped with tetrodes to simultaneously analyse the interictal activity of tuberal and perituberal tissues on the macro- and microscales, in order to better understand their respective roles in epilepsy.

IEDs were recorded in the same proportions and simultaneously in the tuber and perituberal tissue but had higher amplitude in the tuber. Furthermore, analysis of the EI suggested that the tuber was closer to the SOZ. Finally, FRs were recorded solely in the tuber. FRs clearly predominated on Day 7, when the antiepileptic treatment was as its lowest and spontaneous seizures were most numerous. As FRs are potential biomarkers of the SOZ, this further supports the notion that the tuber played a leading role in the generation of ictal EEG activity.

Interestingly, FRs were only detected with microelectrodes, in agreement with previous studies of other types of epilepsy, demonstrating that they are more easily recorded with microelectrodes (Zijlmans et al., 2017). An explanation is that FRs are produced by very small generators, which cannot be systematically recorded by macroelectrodes. Only in a minority of cases (22%), FRs were recorded simultaneously on two out of three tetrodes, and then only when their amplitudes were large (approximately >60 μV). In the other cases (78%) they were only detected by one of them. FRs were never simultaneously recorded on all three tetrodes, which supports the idea that they are generated within and confined to a small cortical region (Bragin et al., 1999; Demont-Guignard et al., 2012). It has been suggested that a small cluster of weakly synchronised hyperexcitable neurons (mainly

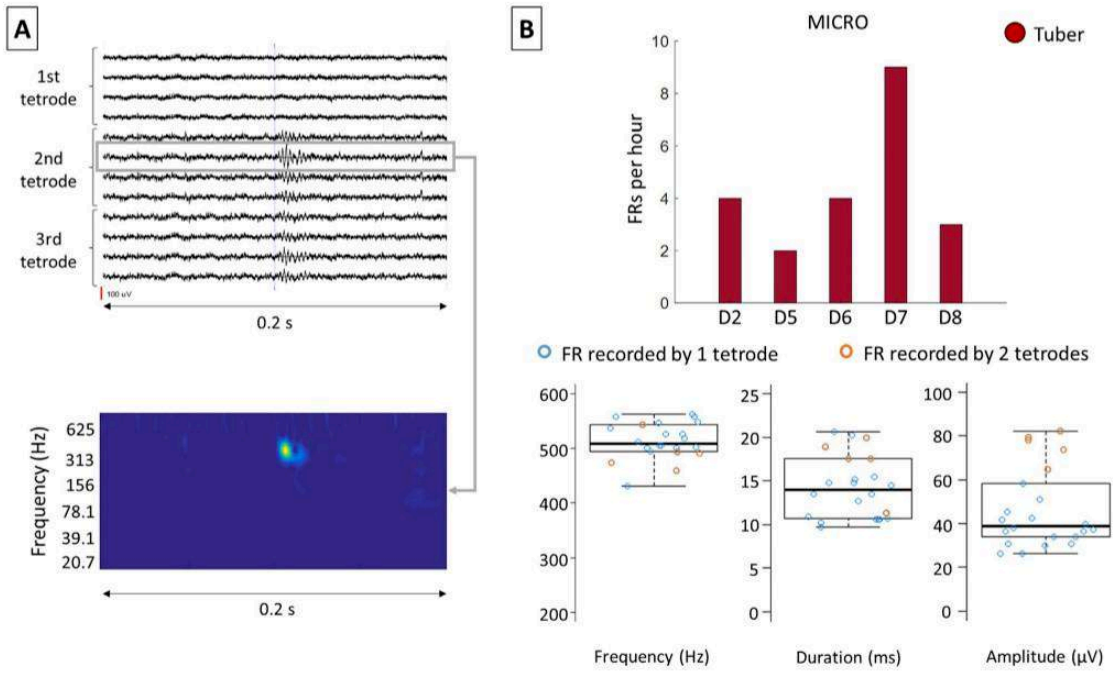


Fig. 5. (A) Example of a FR simultaneously recorded by two tetrodes on the same electrode. (B) FRs were only recorded in the tuber, and only with microelectrodes. Each circle corresponds to a FR. The orange circles correspond to the FRs that were recorded on two adjacent tetrodes, while the blue ones were all recorded on a single tetrode.

pyramidal cells) is responsible for generating FRs, whereas a larger number of hyperexcitable neurons generating a quasi-synchronous burst of action potentials is needed to generate IEDs (Demont-Guignard et al., 2012). Our tetrodes recorded a majority of tuberal (but not perituberal) neuron pairs with basal synchronisation, consistent with the tuber's propensity to generate FRs. Moreover, we showed that the dynamics of the relation between IEDs and FRs are not simple. We recorded FRs and IEDs on the same microelectrode contacts in the tuber, suggesting that the same epileptic tissue can generate both types of events, but we did not detect IEDs and FRs at the same time.

We recorded 21 neurons in the tuber and 24 in the perituberal tissue. For the first time, we found heterogeneous modulation of neuronal activity during IEDs in both structures, suggesting that they are both involved in IED generation. We found that 57% of tuberal neurons exhibited changes in firing rate during IEDs, compared with only 17% of perituberal neurons. The majority of the modulated neurons showed increased firing rates around the fast component of the IED. Recent years have seen a revision of the historical conception of a paroxysm of hypersynchronous excitatory activity during IEDs and seizures (Truccolo et al., 2011; Lambrecq et al., 2017). Our results are in line with these findings as they also reveal heterogeneous neuronal activity during IEDs. Studies of other lesions, such as cortical dysplasia and hippocampal sclerosis, have found that about 50% of neurons inside and outside the SOZ are correlated with surface IEDs, and approximately 40% increase their firing rates near the fast components of the IEDs (Wyler et al., 1982; Keller et al., 2010; Truccolo et al., 2011; Alvarado-Rojas et al., 2013). Our results thus appear convergent with these reports and suggest that they are general and independent of the brain area and its histological type. However, the higher proportion of changes in firing rates in the tuberal versus perituberal neurons around the IEDs strongly suggests that these changes vary according to the vicinity of the SOZ. We furthermore showed that neuronal spiking patterns can be heterogeneous in a very small region, as has already been demonstrated in other epileptic lesions during seizure onset and spread, or during IEDs (Wyler et al., 1982; Keller et al., 2010; Truccolo et al., 2011).

Previous conceptions of TSC epileptogenicity suggested a discontinuity between the tuber and perituber (Mohamed et al., 2012; Feliciano et al., 2013). Although we recorded similar numbers of neurons in the tuber and perituberal tissue, a smaller population of perituberal neurons than tuberal neurons was modulated around the IEDs. The fact that we observed neuronal

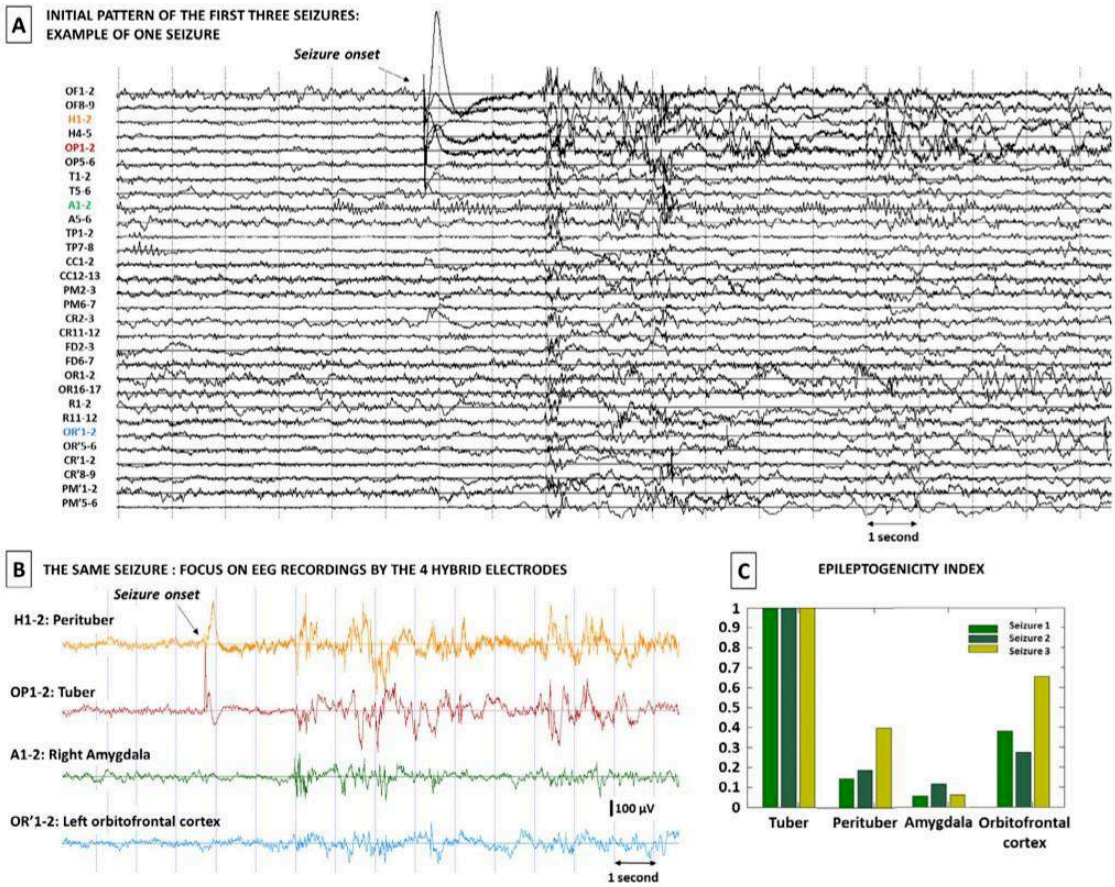


Fig. 6. (A) Example of a typical seizure recorded with the macroelectrodes. A view with all macroelectrodes (with a medial and lateral contact on each macroelectrode) is displayed. (B) The same seizure with a focus on the four hybrid electrodes (medial macrocontacts around the tetrodes). Visual analysis localised the seizure onset simultaneously in the tuber and perituberal tissue. This figure was obtained using the AnyWave toolbox (Colombet et al. 2015). (C) EI takes into account the delay in the appearance of this discharge with respect to the seizure onset. An EI between 0 and 1 reflects the secondary involvement of the brain structure in the seizure. The EI was computed for all seizures. The mean EI was higher in the tuber than in any other brain area.

activity in the perituber modulated during IEDs, rather than no relation at all, suggests that there is a *gradient of epileptogenicity* between these two structures. It has already been suggested that IEDs and seizures result from multiple synchronised clusters of pathological, interconnected neurons, and that the epileptogenic cortex may consist of a network of epileptogenic domains distributed among a majority of more normally functioning domains as small as 200 μm^2 (Bragin et al., 1999; Schevon et al., 2008; Truccolo et al., 2011). We can therefore hypothesize that these pathological clusters are widespread in both the tuber and perituberal tissue in TSC lesions, but are more concentrated in the tuber. This hypothesis is congruent with recent studies showing a gradient of histological abnormalities between these two tissue types, from tuber centre to perituberal tissue, favouring the notion that the brain lesions in TSC are more widespread than usually thought, and include sparse microtubers in an apparent healthy cortex (Peters et al., 2015; Sosunov et al., 2015).

Crosscorrelation analyses between each pair of modulated neurons highlighted a high level of synchronisation between tuberal neurons, which may be characteristic of neuronal interaction in brain areas that are isolated, or deafferented, from the rest of the cortex (Burns and Webb, 1979). Surprisingly, functional interactions between neurons during IEDs in both the tuber and perituber did not increase, but instead decreased slightly. This appears plausible with the idea that the pattern of neuronal activity was heterogeneous during IEDs. This suggests that the pattern of firing activity underlying IEDs might be more complex than previously thought and not limited to a hypersynchronous activity resulting from an imbalance between excitation and inhibition (Engel, 1996; De Curtis and Avanzini, 2001; Fisher et al., 2005), matching similar ideas about complex firing patterns during seizures (Keller et al., 2010). Although this high degree of synchronisation was not observed in perituberal neuron pairs, 20% of tuberal and perituberal neurons fired synchronously outside the IEDs and exhibited delayed firing activity during these IEDs, with perituberal neurons firing around 8 ms before tuberal neurons. These results do no corroborate the hypothesis that an *isolated* tuber is the only structure involved in IED or seizure generation. Instead, it clearly points to interactions between the tuber and perituberal tissue. This result is very interesting as it suggests that the gradient of epileptogenicity that was developed before is not unidirectional but probably more complex than this. This also questions the extent of the neurosurgery that has to be planned in TSC (Fallah et al., 2015).

Our study has several limitations. First, microelectrode recordings were limited to one hour per day and we did not record any seizure during that time. We are also aware that generalisation of our results is limited since they were obtained in only one patient and one tuber. In addition, the action potentials we recorded derived from only a few, indeterminate, elements of the neural circuitry such as pyramidal and inhibitory cells, a very small sample of the cortical neural circuitry that may involve thousands of neurons. This could lead to an overestimation of the complexity of the interactions (such as the 8 ms difference we report between the perituber and tuber) if too few cells of different types were recorded and require cautious interpretations of our results. However, this is the first time, to our knowledge, that microelectrode recordings have been performed in vivo in TSC, and have involved simultaneous recordings of tuberal and perituberal tissues. Despite the previous limitations, such technically difficult recordings are a first and necessary step before getting large enough sampling of spike trains as this very specific implantation is rare and unlikely to occur often. It allowed us to perform analyses of the activity of neurons recorded in the tuber and perituber. Second, a surgical resection was not performed because of an unexpected decrease of seizure frequency after the SEEG in this patient. The exact histopathological type of tissue around our electrodes and the exact relations between electrode positions, giant cells and neurons cannot be analysed. However, delineation of tuber and perituber was rarely based on histological block of tissues in previous publications, and was done mostly on MRI variations, as in the current study (Ma et al., 2012; Kannan et al., 2016). It may also be argued that we cannot confirm our conclusions about the delineation of the SOZ given that it was not removed. However, we used a combination of markers of epileptogenicity already validated and reproduced across numerous studies, for instance fast ripples count and the epileptogenicity index, to support our reasoning.

5. Conclusion

Taken together, these results suggest that the tuber is critically involved in seizure onset, but that the interactions between the tuber and perituberal tissue need to be taken into account. They support the idea of a gradient of epileptogenicity running from the tuber to the perituberal tissue. Analysis of neuronal activity in both structures may gradually provide a better understanding of the mechanisms behind epileptogenicity in human TSC. There may be a variety of neuronal activities and interactions within and between these regions that needs to be taken into account in models of epilepsy in TSC. These results also question whether the neurosurgical resection needs to be extended to the perituber region (Fallah et al., 2015). As our results have been obtained in one patient and one tuber, they however need to be replicated in future studies.

Acknowledgments

This work received funding from the European Research Council, under the European Union's Seventh Framework Programme (FP/2007-2013) / ERC Grant Agreement no. 323711 (M4 project), the Fondation Française pour la Recherche sur l'Epilepsie (Prix Marion Clignet), the Fédération Française sur le Cerveau, and a call for technological and organisation innovation research projects (Toulouse University Hospital).

We would like to thank Dr Muriel Kany for the tuber and perituberal tissue delimitation, and Felipe Rolando for his contribution to the identification of fast ripples.

Disclosure of conflicts of interest

ED is funded through a CIFRE industrial research agreement (no. 2015/1135) signed between Dixi Medical and the Centre de recherche Cerveau et cognition (CerCo). The remaining authors have no conflicts of interest.

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.clinph.2018.12.013.

References

Alvarado-Rojas C, Lehongre K, Bagdasaryan J, Bragin A, Staba R, Engel J, et al. Single-unit activities during epileptic discharges in the human hippocampal formation. Front Comput Neurosci 2013;7:140.

Amarasingham A, Harrison MT, Hatsopoulos NG, Geman S. Conditional modeling and the jitter method of spike resampling. J Neurophysiol 2012;107:517–31.

Bartolomei F, Chauvel P, Wendling F. Epileptogenicity of brain structures in human temporal lobe epilepsy: a quantified study from intracerebral EEG. Brain 2008;131:1818–30.

Bartolomei F, Lagarde S, Wendling F, McGonigal A, Jirsa V, Guye M, et al. Defining epileptogenic networks: Contribution of SEEG and signal analysis. Epilepsia 2017;58:1131–47.

Bénar CG, Chauvière L, Bartolomei F, Wendling F. Pitfalls of high-pass filtering for detecting epileptic oscillations: a technical note on "false" ripples. Clin Neurophysiol 2010;121:301–10.
Bragin A, Engel J, Wilson CL, Fried I, Buzsáki G. High-frequency oscillations in human brain. Hippocampus 1999;9:137–42.
Burns BD, Webb AC. The correlation between discharge times of neighbouring neurons in isolated cerebral cortex. Proc Roy Soc Lond B Biol Sci 1979;203:347–60.
Chalifoux JR, Perry N, Katz JS, Wiggins GC, Roth J, Miles D, et al. The ability of high field strength 7-T magnetic resonance imaging to reveal previously uncharacterized brain lesions in patients with tuberous sclerosis complex. J Neurosurg Pediatr 2013;11:268–73.
Chu-Shore CJ, Major P, Camposano S, Muzykewicz D, Thiele EA. The natural history of epilepsy in tuberous sclerosis complex: Epilepsy in TSC. Epilepsia 2009;51:1236–41.
Colombet B, Woodman M, Badier JM, Bénar CG. AnyWave: A cross-platform and modular software for visualizing and processing electrophysiological signals. J Neurosci Methods 2015;242:118–26.
De Curtis M, Avanzini G. Interictal spikes in focal epileptogenesis. Prog Neurobiol 2001;63:541–67.
Demont-Guignard S, Benquet P, Gerber U, Biraben A, Martin B, Wendling F. Distinct hyperexcitability mechanisms underlie fast ripples and epileptic spikes. Ann Neurol 2012;71:342–52.
Engel J. Excitation and inhibition in epilepsy. Can J Neurol Sci 1996;23:167–74.
Fallah A, Rodgers SD, Weil AG, Vadera S, Mansouri A, Connolly MB, et al. Resective epilepsy surgery for tuberous sclerosis in children: determining predictors of seizure outcomes in a multicenter retrospective cohort study. Neurosurgery 2015;77:517–24.
Feliciano DM, Lin TV, Hartman NW, Bartley CM, Kubera C, Hsieh L, et al. A circuitry and biochemical basis for tuberous sclerosis symptoms: from epilepsy to neurocognitive deficits. Int J Dev Neurosci 2013;31:667–78.
Ferrari-Marinho T, Perucca P, Mok K, Olivier A, Hall J, Dubeau F, et al. Pathologic substrates of focal epilepsy influence the generation of high-frequency oscillations. Epilepsia 2015;56:592–8.
Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, et al. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Againt Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). Epilepsia 2005;46:470–2.
Garcia S, Guarino D, Jaillet F, Jennings T, Pröpper R, Rautenberg PL, et al. Neo: an object model for handling electrophysiology data in multiple formats. Front Neuroinform 2014;8:10.
Gotman J, Gloor P. Automatic recognition and quantification of interictal epileptic activity in the human scalp EEG. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 1976;41:513–29.
Grajkowska W, Kotulska K, Jurkiewicz E, Matyja E. Brain lesions in tuberous sclerosis complex. Rev Folia Neuropathol 2010;48:139–49.
Hill DN, Mehta SB, Kleinfeld D. Quality metrics to accompany spike sorting of extracellular signals. J Neurosci 2011;31:8699–705.
Jacobs J, Rohr A, Moeller F, Boor R, Kobayashi E, LeVan Meng P, et al. Evaluation of epileptogenic networks in children with tuberous sclerosis complex using EEG-fMRI. Epilepsia 2008;49:816–25.
Jansen FE, Van Huffelen AC, Algra A, Van Nieuwenhuizen O. Epilepsy surgery in tuberous sclerosis: a systematic review: epilepsy surgery in tuberous sclerosis. Epilepsia 2007;48:1477–84.
Kahane P, Landré E. The epileptogenic zone. Neurochirurgie 2008;54:265–71.
Kahane P, Landré E, Minotti L, Francione S, Ryvlin P. The Bancaud and Talairach view on the epileptogenic zone: a working hypothesis. Epileptic Disord 2006;8:16–26.
Kannan L, Vogrin S, Bailey C, Maixner W, Harvey AS. Centre of epileptogenic tubers generate and propagate seizures in tuberous sclerosis. Brain 2016;139:2653–67.
Keller CJ, Truccolo W, Gale JT, Eskandar E, Thesen T, Carlson C, et al. Heterogeneous neuronal firing patterns during interictal epileptiform discharges in the human cortex. Brain 2010;133:1668–81.
Lambrecq V, Lehongre K, Adam C, Frazzini V, Mathon B, Clemenceau S, et al. Single-unit activities during the transition to seizures in deep mesial structures: Seizures and Single-Unit Activities. Ann Neurol 2017;82:1022–8.
Ma TS, Elliott RE, Ruppe V, Devinsky O, Kuzniecky R, Weiner HL, et al. Electrocorticographic evidence of perituberal cortex epileptogenicity in tuberous sclerosis complex. J Neurosurg Pediatr 2012;10:376–82.
Madhavan D, Weiner HL, Carlson C, Devinsky O, Kuzniecky R. Local epileptogenic networks in tuberous sclerosis complex: A case review. Epilepsy Behav 2007;11:140–6.
Major P, Rakowski S, Simon MV, Cheng ML, Eskandar E, Baron J, et al. Are cortical tubers epileptogenic? Evidence from electrocorticography. Epilepsia 2009;50:147–54.
Marcotte L, Aronica E, Baybis M, Crino PB. Cytoarchitectural alterations are widespread in cerebral cortex in tuberous sclerosis complex. Acta Neuropathol 2012;123:685–93.
Mohamed AR, Bailey CA, Freeman JL, Maixner W, Jackson GD, Harvey AS. Intrinsic epileptogenicity of cortical tubers revealed by intracranial EEG monitoring. Neurology 2012;79:2249–57.
Munari C, Bancaud J. The role of stereo-electro-encephalography (SEEG) in the evaluation of partial epileptic patients. In: Porter RJ, Morselli PL, editors. The epilepsies. London: Butterworths; 1987. p. 267–76.
Narayanan NS, Laubach M. Methods for Studying Functional Interactions Among Neuronal Populations. In: Hyder F, editor. Dynamic Brain Imaging. Totowa, NJ: Humana Press; 2009. p. 135–65.
Okanishi T, Akiyama T, Tanaka S-I, Mayo E, Mitsutake A, Boelman C, et al. Interictal high frequency oscillations correlating with seizure outcome in patients with widespread epileptic networks in tuberous sclerosis complex. Epilepsia 2014;55:1602–10.
Peters JM, Prohl AK, Tomas-Fernandez XK, Taquet M, Scherrer B, Prabhu SP, et al. Tubers are neither static nor discrete Evidence from serial diffusion tensor imaging. Neurology 2015;85:1536–45.
Roehri N, Lina J-M, Mosher JC, Bartolomei F, Bénar C-G. Time-Frequency strategies for increasing high-frequency oscillation detectability in intracerebral EEG. IEEE Trans Biomed Eng 2016;63:2595–6.
Ruppe V, Dilsiz P, Reiss CS, Carlson C, Devinsky O, Zagzag D, et al. Developmental brain abnormalities in tuberous sclerosis complex: a comparative tissue analysis of cortical tubers and perituberal cortex. Epilepsia 2014;55:539–50.
Schevon CA, Ng SK, Cappell J, Goodman RR, McKhann G, Waziri A, et al. Microphysiology of epileptiform activity in human neocortex. J Clin Neurophysiol 2008;25:321–30.
Sosunov AA, McGovern RA, Mikell CB, Wu X, Coughlin DG, Crino PB, et al. Epileptogenic but MRI-normal perituberal tissue in Tuberous Sclerosis Complex contains tuber-specific abnormalities. Acta Neuropathol Commun 2015;3:17.
Sosunov AA, Wu X, Weiner HL, Mikell CB, Goodman RR, Crino PD, et al. Tuberous sclerosis: A primary pathology of astrocytes?: Astrocyte Pathology in Tuberous Sclerosis. Epilepsia 2008;49:53–62.
Truccolo W, Donoghue JA, Hochberg LR, Eskandar EN, Madsen JR, Anderson WS, et al. Single-neuron dynamics in human focal epilepsy. Nat Neurosci 2011;14:635–41.
Wyler AR, Ojemann GA, Ward AA. Neurons in human epileptic cortex: correlation between unit and EEG activity. Ann Neurol 1982;11:301–8.
Yger P, Spampinato GL, Esposito E, Lefebvre B, Deny S, Gardella C, et al. A spike sorting toolbox for up to thousands of electrodes validated with ground truth recordings in vitro and in vivo. ELife 2018;7 e34518.
Zijlmans M, Jiruska P, Zelmann R, Leijten FSS, Jefferys JGR, Gotman J. High-frequency oscillations as a new biomarker in epilepsy. Ann Neurol 2012;71:169–78.
Zijlmans M, Worrell GA, Dümpelmann M, Stieglitz T, Barborica A, Heers M, et al. How to record high-frequency oscillations in epilepsy: A practical guideline. Epilepsia 2017;58:1305–15.

SUPPLEMENTARY INFORMATION

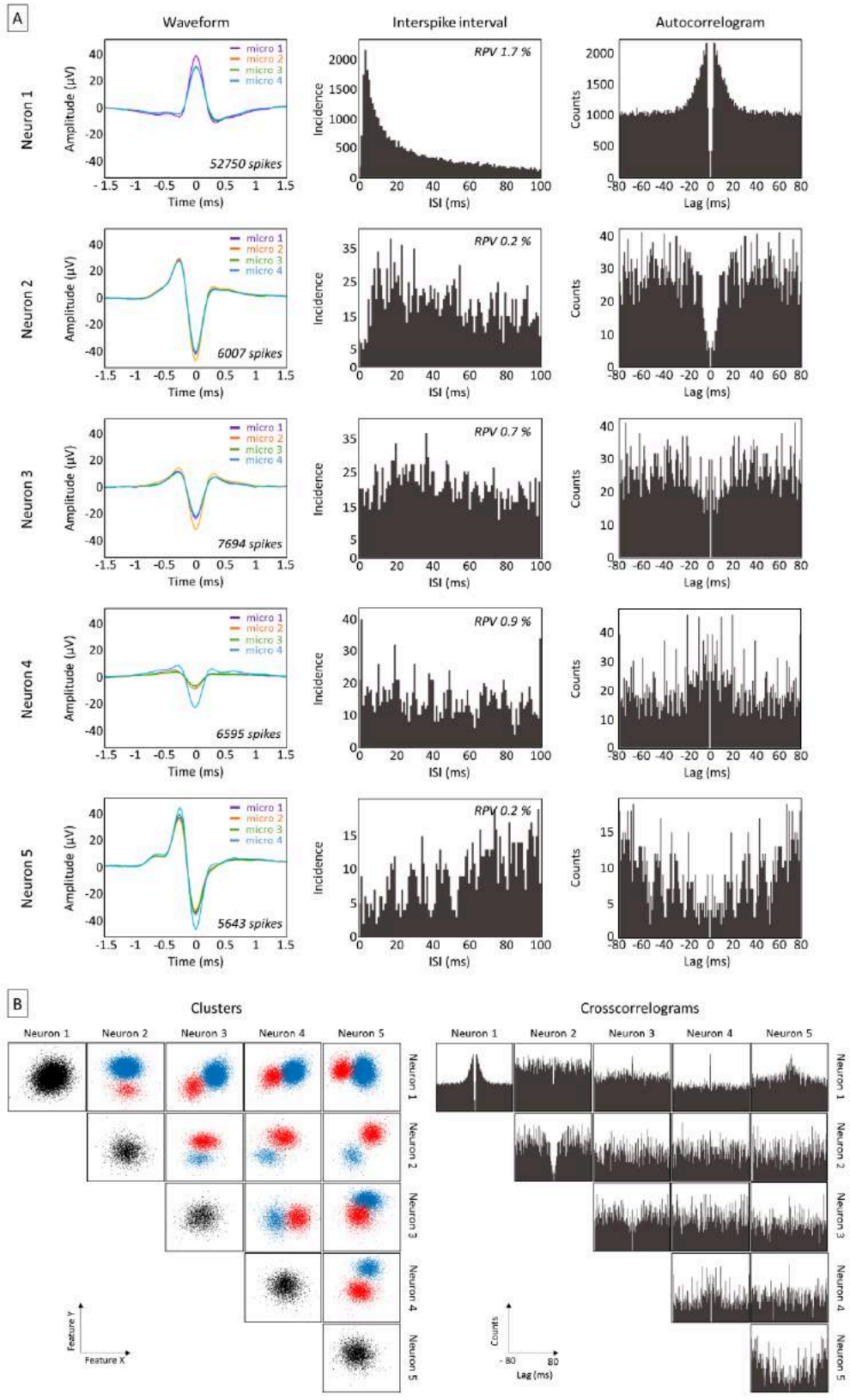


Figure S1.

(A) Five neurons were isolated from a tetrode located in the tuber on the first day of recordings (1 hour). The number of spikes on the tetrode's four microwires is shown under the average waveform for each microwire. The interspike interval and autocorrelogram were computed for each neuron. **(B)** Cluster separation and a crosscorrelogram were computed between each pair of neurons. RPV: refractory period violations (method from (Hill et al., 2011)).

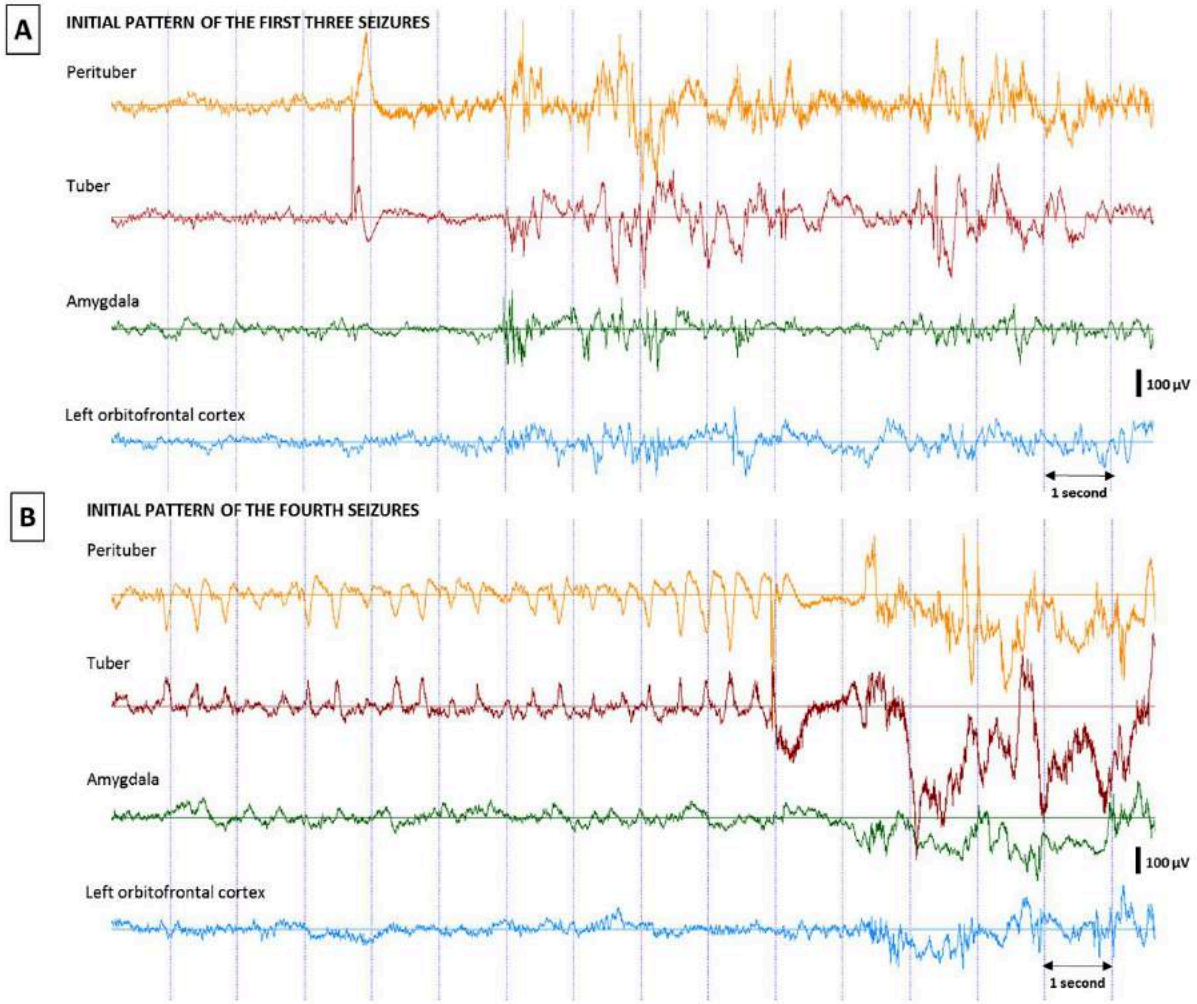


Figure S2.

(A) Example of a stereotyped and typical seizure recorded with macroelectrodes. Visual analysis localized the seizure onset simultaneously in the tuber and perituberal tissue. **(B)** Pattern of the fourth seizure, which was slightly different: a rhythmic slow-wave discharge was recorded simultaneously in the tuber and perituberal tissue before high-amplitude spike-and-wave activity similar to that found in the previous seizures.

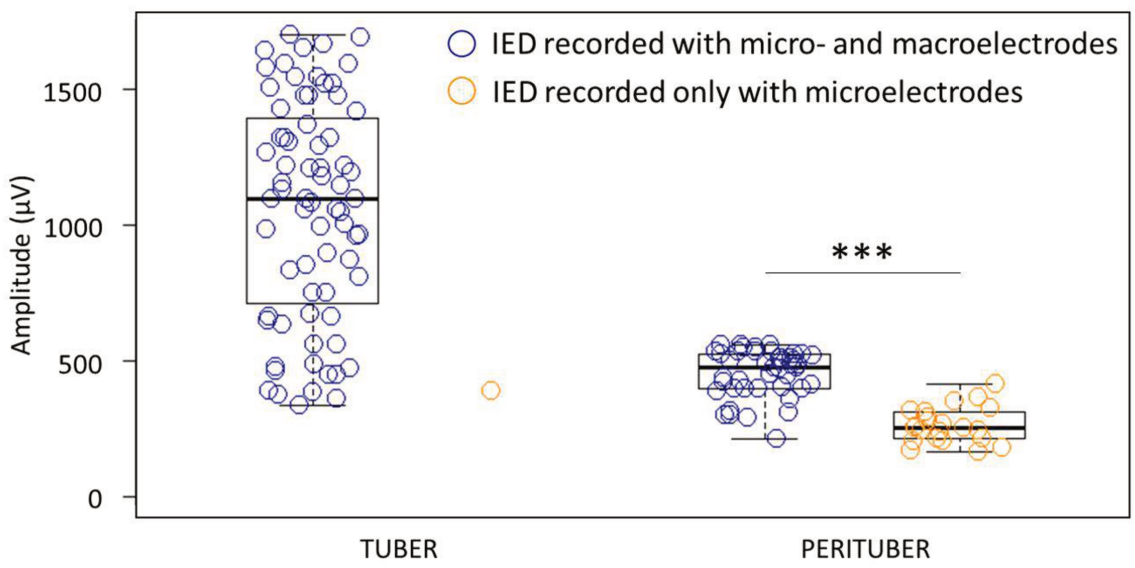
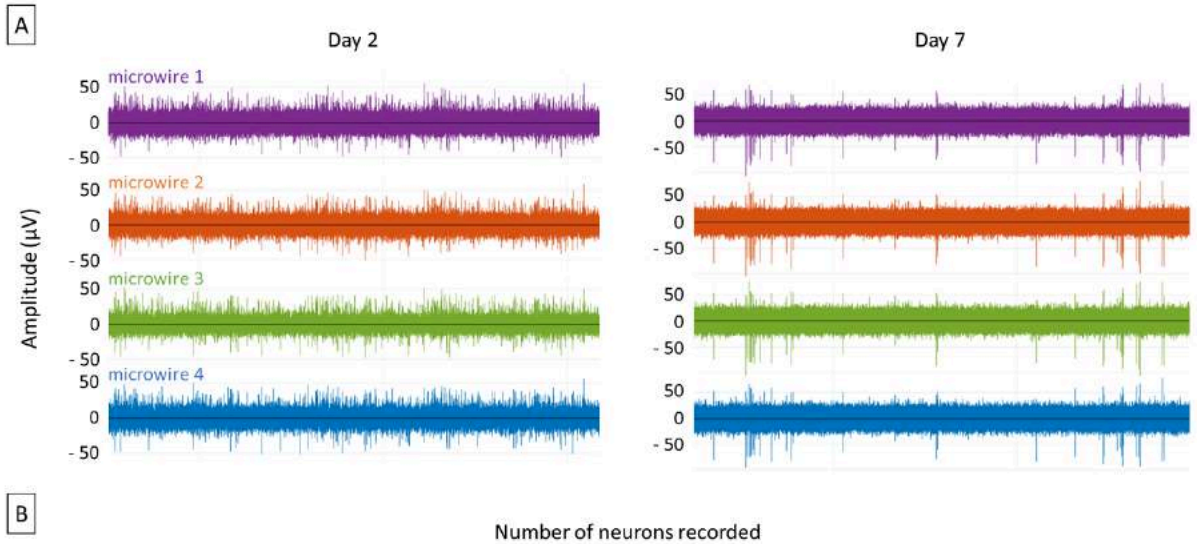


Figure S3.

Amplitude of IEDs recorded with micro- and macroelectrodes or only with microelectrodes in the tuber and perituberal tissue. IEDs that were not detected by the macroelectrodes in the perituberal tissue had a lower amplitude (Wilcoxon test, W = 936.5, $p < 0.001$). Each circle represents the amplitude of an IED measured with microelectrodes.



B

Number of neurons recorded

	Tuber	Perituber	Amygdala	Orbitofrontal cortex
Day + 2	13	16	7	15
Day + 7	8	8	1	16

Figure S4.

(A) Example of filtered signal (300-3000 Hz) obtained from a tetrode located in the tuber during the second and fifth days of recording. **(B)** Number of neurons recorded per electrode per day.

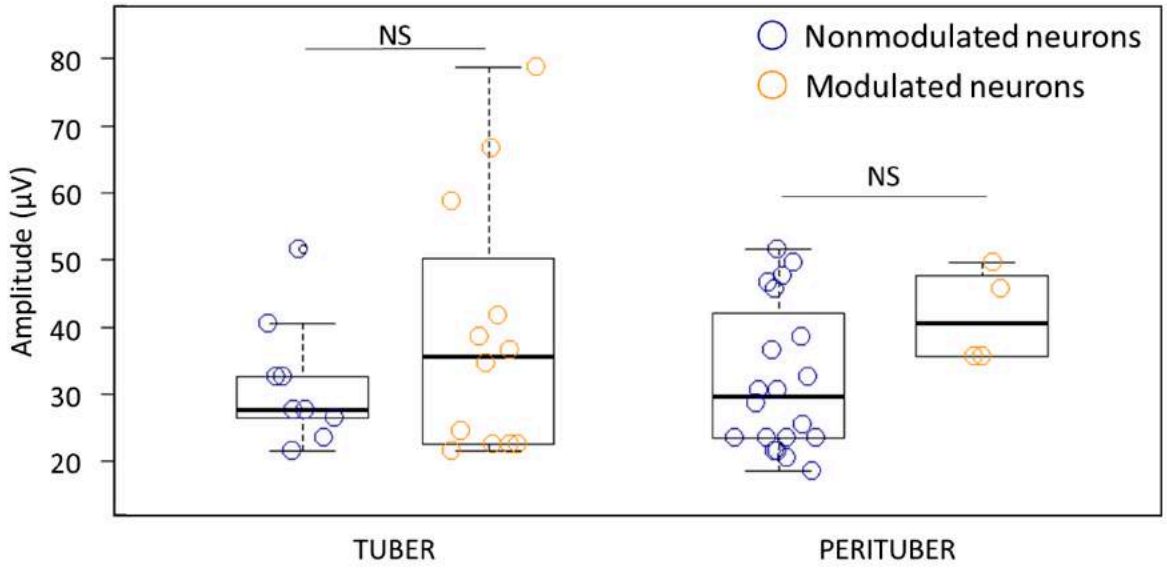


Figure S5.

Amplitude of action potentials recorded from modulated and nonmodulated neurons in the tuber and perituberal tissue. No significant differences were observed (Wilcoxon tests, W = 61.5 and $p = 0.61$ for the tuber; W = 60 and $p = 0.12$ for the perituberal tissue). Circles represent the action potential amplitude for each neuron.

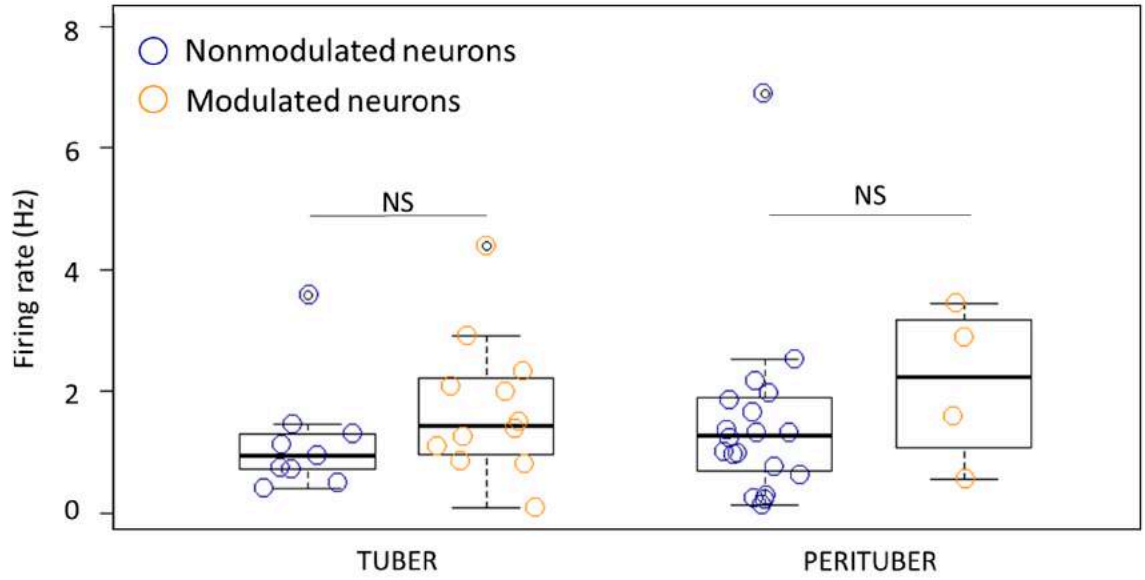


Figure S6.

Spontaneous firing rate of modulated and nonmodulated neurons in the tuber and perituberal tissue. No significant differences were observed (Wilcoxon test, W = 75 and $p = 0.14$ for the tuber; W = 53 and $p = 0.33$ for the perituberal tissue). Circles represent the firing rate (in Hz) of a neuron.

Stimulation parameters and induced effects:

Bipolar EBS (50 Hz during 5s at 0.8 and 1 mA) of the two macrocontacts around the tuber tetrodes (OP1-2) induced a scream, tachycardia, increased blood pressure, a feeling of heat in the chest, but no seizure. There was no after discharge, and the patient did not recognise any of her usual seizure symptoms.

Bipolar EBS (50 Hz during 5 s, both at 0.8 mA) of the two macrocontacts in the perituber tetrodes (electrode H1-2) triggered palpitations, tachycardia, a change in facial expression and pedalling. The patient feared a seizure would start, but no EEG modification was observed. EBS of other brain regions did not induce any seizures either.

4 Étude 3 : Riding or isolated, inside or outside seizure-onset zone… Are fast ripples recorded by intracranial macro- and microelectrodes of the same type and of the same meaning?

RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES

Communication orale lors de congrès nationaux et internationaux :

- Despouy, E., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, l., Barbeau, J. E. (2017). New hybrid micro-macroelectrodes to record fast-ripples in patients with drug-refractory epilepsy. *32nd International Epilepsy Congress. Barcelona, Spain.*

Communications sous forme de posters lors de congrès nationaux et internationaux :

- Despouy, E., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2016). Une nouvelle électrode hybride pour l'enregistrement de fast-ripples chez des patients épileptiques pharmaco-résistants. *Dix-neuvièmes Journées Françaises d'Epileptologie. Toulouse. France. Best poster award.*

- Despouy, E., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2016). Hybrid micro-macroelectrodes to record fast-ripples in patients with drug-refractory epilepsy. *GDR Multielectrodes systems for Neuroscience. Autrans-Grenoble. France.*

POINTS CLÉS

- Les microélectrodes permettent de détecter davantage de fast-ripples que les macroélectrodes.
- Les fast-ripples sont retrouvés majoritairement dans la zone épileptogène mais également dans la zone irritative et dans la zone de propagation.
- Les fast-ripples ne sont jamais retrouvés en zone saine.
- Les fast-ripples ne sont pas retrouvés chez l'ensemble des patients, même lorsque les électrodes hybrides sont bien dans la zone épileptogène.

RÉSUMÉ

Cette étude se focalise sur les FR enregistrés à l'échelle des macroélectrodes et à l'échelle des microélectrodes. A notre connaissance, il n'existe pas de comparaison des caractéristiques des FR enregistrés dans la même portion de tissu mais à différentes échelles. Nous ne savons pas si les FR enregistrés à ces différentes échelles apportent ou non la même information.

La nouvelle électrode hybride de DIXI medical permet de réaliser des enregistrements à l'aide des macro et des microélectrodes dans la même zone cérébrale. Dans cette étude, une détection des FR sur les macro et les microélectrodes est faite sur 10 min d'enregistrements chez 20 patients. Les caractéristiques des FR sont rapportées (amplitude, fréquence, durée, détecté pendant une pointe intercritique ou non, retrouvés également en macroélectrodes ou non) et les résultats sont ensuite confrontés aux données cliniques pour identifier les zones dans lesquelles sont retrouvés les FR (zone épileptogène, zone irritative, zone de propagation, zone saine).

Cette étude, encore à un stade préliminaire, est essentielle pour pouvoir lancer la procédure de marquage CE des nouvelles électrodes hybrides.

Riding or isolated, inside or outside the seizure-onset zone… Are fast ripples recorded by intracranial macro- and microelectrodes of the same type and of the same meaning?

Jonathan Curot[a,b,c], Elodie Despouy[a,b,d], Lionel G. Nowak[a,b], Leila Reddy[a,b], Jean-Christophe-Sol[e,f], Marie Denuelle[c], Luc Valton[a,b,c], Emmanuel J. Barbeau[a,b]

a- Centre de Recherche Cerveau et Cognition, Université de Toulouse, Université Paul Sabatier Toulouse, Toulouse, F-31330, France

b- Centre National de la Recherche Scientifique CerCo, Toulouse, F-31052, France

c- Explorations neurophysiologiques, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse, F-31300, France

d- DIXI Medical, Chaudefontaine, F-25640 France

e- INSERM, U1214, TONIC, Toulouse Mind and Brain Institute, Toulouse, F-31052, France

f- Neurochirurgie, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse, F-31300, France

g- Radiochirurgie stéréotaxique, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse, F-31300, France

Corresponding author: Jonathan Curot, jonathan.curot@cnrs.fr

Abbreviation

EZ: epileptogenic zone

FR: fast-ripples

IED: interictal epileptic discharge

IZ: irritative zone

PZ: propagation zone

SEEG: stereo-electroencephalography

SOZ: seizure onset zone

1. Introduction

For about 20 years, high frequency oscillations (HFO, 80-600 Hz), especially fast-ripples (FR, 200 or 250 Hz -600 Hz), have become a kind of Graal to "biomark" the seizure onset zone (SOZ) and/or the epileptogenic zone (EZ) in drug refractory epileptic patients (Bragin et al., 1999a; Jacobs et al., 2010; Wu et al., 2010). Intracranial microelectrodes recordings have suggested that FR oscillations are localized to small patches of tissue (<1 mm3), whereas interictal epileptic discharges (IED, i.e. epileptic spikes) require local field potential covering several millimeters (Bragin et al., 2002; Worrell et al., 2012). Logically, FR are widely considered as having more specificity and being more focal than IED that can be found beyond the EZ in the irritative zone (IZ) (Fedele et al., 2016; Bartolomei et al., 2017). However, after initial hopes and enthusiasm, the clinical relevance of fast-ripples has slurred over the last few years (Roehri and Bartolomei, 2019).

A series of difficulties make the pertinence of FR in clinical practice unclear. Whether initially they appeared highly correlate to the SOZ and post-surgical outcome (Haegelen et al., 2013; Fedele et al., 2016), such correlations were not replicated at the patient level in a recent multiple centers study (Jacobs et al., 2018). Furthermore, automatic detectors are required to detect HFO because it is highly time consuming to tag them visually. However, these detectors still have several limitations, including poor specificity. Moreover, it was recently demonstrated that fast ripples are not a better biomarker of epileptogenic tissues than spikes (Roehri et al., 2018).

The neuronal correlates and how FR spread is poorly known, requiring some caution in the interpretation of their clinical significance. Because individual epileptic neurons' action potential firing rate is limited below 300 Hz, they cannot fire fast enough to induce synchronized oscillations in the FR range (i.e 250-600 Hz) (Foffani et al., 2007; Ibarz et al., 2010). It was thus hypothesized that FR generation resulted from different subpopulations of synchronized neurons, each oscillating with a lower frequency and a phase delay that would produce a HFO (Jiruska et al., 2017). Desynchronous groups of firing cells (Jiruska et al., 2017) or activated but weakly synchronized pyramidal cells (Demont-Guignard et al., 2012) could lead to a fast-ripple. However, such hypotheses are based on computational models (Demont-Guignard et al., 2012; Jiruska et al., 2017) or animal studies (Bragin et al., 2002). Most experiments were conducted on hippocampal or subhippocampal lesions (Bragin et al.,

1999b), in animal or ex-vivo human slices, making extrapolations of their results to the epileptic population difficult in real life clinical practice. These patients indeed suffer from highly heterogeneous histological lesions (such as tumors, cortical malformations, neuronal migration abnormalities) that can furthermore be located in extra-hippocampal brain areas.

Such discrepancies and gaps are in part explained by the limitations of the techniques used for recordings fast-ripples in vivo in humans. The optimal spatial resolution for recording HFOs is a challenging question (Worrell et al., 2012; Zijlmans et al., 2017). While studies have demonstrated that FR are often localized to sub-millimeter scales (Bragin et al., 2002), other studies did not find a correlation between electrode size and HFO detections (Châtillon et al., 2013). FR have been recorded with microelectrodes but also clinical macroelectrodes (>1 mm2) (Urrestarazu et al., 2007; Worrell et al., 2008; Crépon et al., 2010), such as grids and SEEG intracranial electrodes, or more recently even with scalp electrodes (Zijlmans et al., 2017; Bernardo et al., 2018; Gotman, 2018). However, it is still unclear whether FR recorded by microelectrodes have the same significance and correspond to the same phenomenon as the FR detected with the usual clinical macroelectrodes. Ripples detected by macroelectrodes may have higher localizing value than ripples detected by microelectrodes (Châtillon et al., 2013), for an unknown reason. This raises even more uncertainty about FR. Morphological characteristics and patterns of FR recorded by both micro- and macro-electrodes simultaneously have not been compared yet to our knowledge.

At first sight, hybrid intracranial electrodes that combine classical clinical macroelectrodes with additional experimental microelectrodes could be a precious tool to compare the significance of FR recorded at different scales. However available intracranial hybrid electrodes (extensively used by the UCLA group) do not allow a direct comparison with a high spatial concordance of fast-ripples recorded by the macroelectrodes contact and fast ripples recorded by the microwires. Microwires extend about 5 mm from the tip of the electrode and thus do not record the same portion of brain tissue at the millimeter scale. To our knowledge, no clear comparison of FR characteristics recorded by macro- and micro-wires in the same portion of tissue is available, particularly in epileptic patients.

In our work, we have overcome these limitations by using a new hybrid electrode initially tested in our epilepsy unit, with an original design integrating tetrodes (Despouy et al., 2019). Two or three tetrodes are extended between the two deepest contacts of the

macroelectrodes after implantations in epileptic patients. They thus allow high spatial and multiscale correspondence between iEEG activities recorded by macroelectrodes and LFP activities recorded by microelectrodes. We could thus perform multiscale detailed in vivo analysis of FR. We tested the hypothesis that micro- and macroelectrodes do not deliver the same information, and that FR recorded by micro and macroelectrodes may have respectively distinct morphological characteristics and even distinct repartition with respect to the EZ.

2. Methods

2.1 Patients

We included between March 2015 and May 2018 in the Toulouse epilepsy unit all epileptic patients who accepted to participate in a prospective protocole (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02491476) aiming at assessing the clinical interest of fast ripples using a new type of hybrid micro-macro intracranial electrodes (Dixi Medical, Besançon, France). The patients were undergoing Stereo-ElectroEncephalography (SEEG) and up to 4 of the clinical intracranial electrodes were replaced by the new hybrid electrodes.

Each patient received detailed information about the objectives of the SEEG technique before intracerebral electrode implantation and about the use of hybrid electrodes. They signed an informed consent form for the implantation and for the use of the EEG data for research purposes. Implantation of the hybrid electrodes was approved by the local ethics committee and French Drug and Health Products Safety Agency (CPP Sud-Ouest et Outre-Mer I, no.1-14-23 and ANSM 2014-A00747-40).

Every patient suffered from partial epilepsy and anticonvulsant drugs failed to control their seizures. The exact location of the epileptogenic zone could not be specified by non- invasive assessments in all patients (including MRI, video-EEG, functional imagery such as 18-FDG positron emission tomography and ictal single positron emission cerebral tomography in some patients). SEEG recording was performed to precisely define the epileptogenic zone and carried out as part of the patients' clinical care.

2.2 Implantation procedure and electrodes

The global electrode plan was tailored for each patient. Two to 4 hybrid electrodes were implanted by patients depending on clinical and anatomical constraints (e.g. intra-parenchymal length vs available length of electrodes). SEEG recordings were performed using intracerebral multiple contact depth electrodes implanted intracranially according to Talairach's stereotactic method. The location of each electrode contact was based on a post-operative CT-scan/pre-operative 3D T1-weighted MRI data fusion. The resolution of these data fusion allows a visual control of anatomical location of each contact, and its location in the gray or white matters. The choice of electrode location was based solely on pre-SEEG clinical observations and on hypotheses about the location of the EZ based on non-invasive assessment. Thus, semi-rigid multilead clinical depth macroelectrodes (Microdeep, DIXI Medical, France) were implanted only for clinical purpose.

The macroelectrodes had a diameter of 0.8 mm and contained 5-18 contacts (platinum/iridium) 2 mm long and 1.5 mm apart. The hybrid electrodes each consisted of a clinical macroelectrode (diameter: 0.8 mm) equipped with two or three tetrodes (four microelectrodes each) that protruded 2 mm from the shaft between the first and second most medial macrocontacts. Tetrodes were extended from the electrode shaft after implantation, using a micrometer screw. These new hybrid electrodes have been under clinical investigation in our epilepsy center since 2015, with an agreement to implant up to four hybrid electrodes per patient. The characteristics of the hybrid electrodes have been reported in Despouy et al, (2019).

The antiepileptic treatment was gradually reduced to facilitate seizure occurrence in the several days following each implantation.

2.3 Recordings

Macrocontact signals were recorded using two SystemPLUS EVOLUTION 64-channel acquisition units (Micromed, France) at a sampling rate of 2048 Hz (anti-aliasing filter: 926.7 Hz; high-pass filter: 0.15 Hz; low-pass filter: 1000 Hz; we used the raw SystemPLUS signal to avoid unnecessary filtering as suggested (Zijlmans et al., 2017)). Microelectrode signals were recorded using a 64-channel Cerebus System (Blackrock Microsystems, Salt Lake City, UT, USA)

at a sampling rate of 30 kHz (0.3-7.5 kHz bandwidth). Line noise cancellation at 50 Hz was applied. A macrocontact located in the white matter was chosen as a reference for both systems. Macrocontacts were recorded 24/24 hours. Microelectrodes were recorded for 1 hour in five morning sessions, while the patient watched TV show episodes.

Monopolar montages and reformatted bipolar montages were used for micro- and macroelectrode recordings, respectively. Simultaneous EEG recordings on micro- and macroelectrodes were analyzed with the MicMac toolbox developed in our laboratory using Matlab and EEGLab libraries. Noisy periods or channels were excluded.

2.4 Determination of the EZ

In clinical practice, the epileptogenic zone (EZ) is an electroclinical definition corresponding to the networks of brain regions generating seizures. The irritative zone (IZ) is the site of interictal epileptic discharge (Talairach Bancaud, 1966; Bartolomei et al. 2017). The complete removal of the EZ is essential to prevent seizures after surgery (Ryvlin et al., 2014). The propagation zone (PZ) are brain areas where secondary delayed electrophysiological discharges are observed in regions outside the EZ (Bartolomei et al., 2017). Determination of the clinical EZ and non-EZ as well as the IZ, PZ and healthy regions was made independently by the clinical team of epileptologists after reviewing the clinical iEEG data (LV, MD).

2.5 Fast-ripples detection

Visual analysis of HFO is still considered to be the gold standard for HFO assessment. However, visual analysis might be subjective. Thus, we decided to combine automatic detection of fast-ripples and visual analysis. FR were analyzed during 10 minutes epochs in each patient during the 3rd day of recording (when the antiepileptic treatment was reduced). FR were tracked in the iEEG and LFP recorded on both the hybrid and clinical macroelectrodes. There were three criteria for identifying FR: an oscillation visible in both the raw data and the filtered signal (200-600-Hz bandpass finite impulse response filter to reduce ringing); at least four oscillations; and time-frequency analysis resulting in circumscribed areas in the time–frequency plane in the FR band to avoid artifacts and false ripples created by filtering (Bénar

et al. 2010; Zijlmans et al. 2012). First, we used Delphos (Roehri et al. 2016) on all 10 minutes epochs. It is an automatic detector which improves the detectability of HFO by applying a linear whitening (i.e flattening) transformation to enhance the fast oscillations while preserving an optimal signal to noise ratio. Then, each event detected by Delphos was manually reviewed to verify that all previous criteria were met. The raw and the filtered signal (200-600 Hz) of the four microwires of each tetrode were visualized simultaneously using a 0.6s time window.

Fast-ripples were detected independently by two researchers (JC and ED) blind to clinical analyses of the EZ, IZ, PZ and healthy regions as well as to the final decision regarding neurosurgery at the moment of fast ripple detection.

3. Results

3.1 Patients and clinical characteristics

Twenty-eight patients were included in the protocol during the inclusion period. Analyzes were performed in 20 patients (12 male). 8 patients were excluded because of the poor quality of EEG data and technical problems preventing synchronization between the micro- and macro-electrodes. 68 hybrid electrodes were implanted among all 20 patients. The patients' clinical characteristics are summarized in **Table 1**.

The patients had various types of lesions. The most frequent lesions (based on MRI and/or histological analysis) were hippocampal sclerosis (6 patients), cortical dysplasia (5 patients, including two particular types - tuber in tuberous sclerosis complex in 1 patient and early lipofuscin accumulation in 1 patient), other cortical development abnormality (in 4 patients, such as nodular heterotopia, double cortex and pachygyria). Some of these types of abnormal brain tissue have rarely been explored using microelectrodes (tubers, early lipofuscin accumulation, HS in cutis marmorata teleangiectasia).

Nine patients had unilateral temporal lobe epilepsy, 2 temporal plus or bitemporal EZ, 2 an anterior cingulate EZ, 1 an anterior insula EZ, 1 a frontal EZ, 5 multiple or highly widespread EZ. Twenty-five hydrid electrodes were located in the EZ after the final clinical conclusions.

Patient	Sexe	Age	Epilepsy duration	Hybrids	Epileptogenic zone (aera, hemisphere, hybrid)	Propagation	Irritative zones (IED) beyond EZ	Causal lesion (MRI/Histology)	Medical background	Surgery	Engel
CC1	F	42	12	A',B',A, C	medial temporal, L (A',B')	lateral temporal, L & temporal, R (A,C)	medial temporal, L & R	Meningoencephalocele, anterior temporal, L (MRI); Reactional gliosis (Hist.)	-	LATL	IB
JG3	M	39	13	TB,A,B'	multiple 1- lateral temporal; 2- medial temporal, R (TB, A); 3 - temporal, L (B')	lateral temporal, lateral parietal, orbitofrontal, R (0)	medial temporal, L & R	None	-	CI	-
CF6	F	35	32	B, TB, B'	multiple 1-insula, R; 2-medial temporal, L (B'); 3-SMA, R (0)	temporal pole, lateral temporal, frontal, R	insula, R; temporal, R (TB, B); temporal, L (B')	Cortical development abnormality, temporal & insula, R (MRI)	-	CI	-
DR8	F	29	16	CR',FD',TP',CC	widespread & multiple, premotor cortex, L & R	anterior cingulate, inferior & medium frontal gyrus, L& R (CR',FD',CC), insula, temporal lobe, L (TP')	premotor cortex, R & L	Surgical sequelae (hydatic cyst), fronto-insular, L & periventricular nodular heterotopia, temporal, R (MRI)	-	callosotomy	IIIA
LH11	M	28	23	CC, PA, PU, CA'	widespread, premotor L & R , (CC)	parietal, L & R (PA), posterior temporal, R	widespread, premotor, parietal, L & R (CC,PA)	Meningoencephalitis sequelae, fronto-parietal, R (MRI)	-	CI	-
AA12	F	63	60	FD, CR, CC, TP	anterior cingulate & medial prefrontal (CR, CC), R	orbito-frontal & dorsolateral frontal, R	SMA, R	Early lipofuscin accumulation,anterior cingulate & medial prefrontal, R (Hist.)	-	Lesionectomy	IIA
MM13	F	32	16	A', TB', OR', A	probably anterior medial temporal (A', TB'), L	-	widespread temporal, posterior cingulate, anterior insula, L	HS, L (MRI)	-	2nd SEEG in prep.	-
VL14	M	25	17	A,OF	lateral temporal, R	medial temporal (A), inferior frontal (OF), R		HS (Hist.), Meningoencephalocelis (MRI)	cutis marmorata teleangiectasia	oui	I
CP15	F	32	25	A,A',B'	anterior insula, L	temporal, L (A', B')	temporal, posterior cingulate, L	Fronto-temporal atrophy, temporal white and grey matters dedifferenciation, AE, L (MRI)	-	In prep.	-
DM16	M	19	8	A,CR,SA,SA'	multiple, amygdala (A), R; premotor cortex, R & L			Fronto-temporo-parietal double cortex, pachygyria, L & R (MRI)	-	Callosotomie	-
HK17	M	31	29	A',B,C',T'	medial & polar temporal (A', B', C'), L	lateral temporal, rectus gyrus, posterior cingulate, L	lateral temporal, L	HS, L (MRI)	-	LATL, in prep.	-
TA18	M	41	10	A,TB',B',A'	anterior medial temporal (TB', B', A'), L	lateral temporal, L; medial & polar temporal, R (A)	temporal pole, L; hippocampus, R	HS, AE, L (MRI)	-	LATL	IA
LJ19	M	27	17	A,A',B,C	anterior cingulate, R	medial temporal (A, B, C), posterior cingulate, R	amygdala (A'), L; anterior & posterior cingulate, R	Anterior cingulate dysplasia (MRI)	-	Anterior cingulate lesionecomy in prep. thanks to 2nd SEEG	
AA20	M	55	19	A',C',TB',TB	medial temporal (A', C', TB'), L	lateral temporal, occipito-temporal gyrus, rectus gyrus, L; temporal (TB), R	medial temporal, R	Meningoencephalitis sequelae, temporal, L & R (MRI), Neuronal ischaemic lesions, L (Hist.)		LATL	IC
SC23	M	22	18	PI,PM',PI',OT	posterior temporal & occipito-parietal, L (PI')	premotor cortex (PM'), lateral parietal, posterior superior temporal gyrus, L; premotor cortex, R (PM)	cuneus, occipito-temporal gyrus, L	Tubers (Large pariéto-occipital tuber, L; occipital nodular heterotopia, L)	Tuberous sclerosis complex	In prep.	-
BA24	F	36	36	GL',OT',TB',GL	medial temporal (B'), L	occipito-temporal gyrus (OT'), parahippocampal gyrus, L		Cortical dysplasia, L (MRI)	-	LATL, in prep.	-
CD25	M	16	5	B,C',H,OT	anterior medial temporal, R (B)	lateral temporal (H), parahippocampal gyrus, occipito-temporal gyrus (OT), R	lateral temporal, parahippocampal gyrus, R	Cortical dysplasia (temporal pole), HS, R (MRI)	-	RATL, in prep	-
FC26	M	59		TB', TP', B', B	frontal, L	temporal, L (TB', TP', B')	temporal, L (TB', TP', B')	AE, Hippcampal enlargement, L (MRI)	-	RATL, in prep.	-
SF27	M	54		TP', TB', C', TB.	widespread temporal lobe, L (TP', TB', C')	insula, posterior cingulate, L	medial temporal, R (TB); insula, L	Temporal pole meningoencephalocele, L (MRI)	-	CI	-
AB28	F	49		B,C, B'	anterior medial temporal, R (B,C)	hippocampus (B'), L; posterior cingulate, R	rectus gyrus, R; hippocampus, L (B')	HS, L (MRI)	-	RATL, in prep.	-

Table 1: *Patients' clinical characteristics. M: Male, F: Female, L: Left, R: Right, SMA: Supplementary Motor Area, HS: Hippocampal Sclerosis, RATL: Right Anterior Temporal Lobectomy, LATL: Left Anterior Temporal Lobectomy, in prep.: in preparation, CI: Contraindicated, Engel: Engel Classification for post-operative outcome.*

3.2 Prevalence and locations of fast-ripples

FR were detected on 18 microelectrodes and 11 macroelectrodes (9.3 +/- 13.8 FR per microelectrodes vs. 10.9 +/- 11.8 per macroelectrodes during the 10 minutes of recording) (all characteristics of the FR in **Table 2**).

Twenty-five hybrids (in 12 patients) were located in the EZ (36.7%). FR were detected on 10 microelectrodes (40%) among all hybrids located in the EZ, which represents 48 tetrodes in 7 patients. However, FR were not recorded by all tetrodes of all hybrids: FR could sometimes be detected exclusively on one tetrode, on two tetrodes, or on the three tetrodes of a hybrid electrode.

FR were recording on corresponding micro- and macroelectrodes in only 7 patients. FR were detected on 9 microelectrodes when no FR were detected on the adjacent macro contacts. FR were detected on only two macrocontacts when no FR was detected on the adjacent microelectrodes but microelectrodes for one of these two hybrid electrodes were not working properly (ot' in SC23).

FR were not exclusively located in EZ. They could also be recorded in the PZ or IZ. However, no FR, either with macroelectrodes or microelectrodes, was recorded in areas that were considered as healthy areas.

Among the hybrid microelectrodes where FR were detected, 9 (50%) were located in the EZ, 5 (27.8 %) were located both in IZ/PZ and 4 (22.2%) were only located in the PZ. There was no difference in the duration, amplitude and frequency of the FR in the EZ, IZ/PZ and in the PZ. In the EZ, FR were associated with IEDs on 8/9 hybrid electrodes. In the IZ/PZ, FR were associated with IEDs on only 1/4 hybrid electrodes. In the PZ, FR were associated with IED on 4/5 hybrid electrodes. Isolated FR (not associated with IEDs) recorded by microelectrodes were never seen on macroelectrodes.

Patient	Electrode	Location	Nb tetrodes	FR	FR type	Duration (s)	Amplitude (µV)	Frequency (Hz)	During IED
001_CC	c	IZ/PZ	3	5	isolated	0,024	56,19	328	0
006_CF	bp	EZ	3	3	mohawk	0,024	47,94	276	all
018_AA	bp	EZ	2	3	mohawk	0,032	72,44	375	all
018_AA	ap	EZ	3	13	mohawk	0,024	58,23	360	all
018_AA	tbp	EZ	2	14	mohawk	0,023	27,93	313	all
020_AA	cp	EZ	3	14	mohawk	0,033	47,47	266	all
020_AA	ap	EZ	2	5	mohawk	0,028	38,26	256	all
024_BA	tbp	EZ	3	2	mohawk	0,024	50,80	258	all
028_AB	b	EZ	3	5	3 mohawk/ 2 isolated	0,029	69,19	333	3/5
028_AB	c	EZ	3	1	mohawk	0,045	59,99	245	0
008_DR	crp	IZ/PZ	3	4	isolated	0,019	43,41	429	0
023_SC	pmp	IZ/PZ	3	1	isolated	0,097	39,09	230	0
028_AB	bp	IZ/PZ	2	6	mohawk	0,028	58,76	295	all
014_VL	a	PZ	2	3	mohawk	0,025	43,98	294	all
016_DM	sa	PZ	2	6	isolated	0,063	52,26	254	0
025_DC	h (b)	PZ	2	14	mohawk	0,022	42,61	310	all
026_FC	bp	PZ	2	62	mohawk	0,024	39,60	264	all
026_FC	tbp	PZ	2	8	mohawk	0,025	35,52	300	all

Table 2: *Characteristics of the FR. IED = interictal epileptiform discharge.*

3.3 The variety of fast ripples

Different patterns of fast ripples could be observed. Most were riding fast ripples, i.e. were associated with IED, however at different phase of the IED (**Figure 1 A, B, C**). Some could also show a complex dynamic (**Figure 1 D**). The majority of the FR that were not associated with IED were not in the EZ, but in the PZ or IZ excepted in one patient (**Figure 1 E**). FR recorded in the medial frontal lobes also tended to last longer than those recorded in the temporal lobes (**Figure 1 F**).

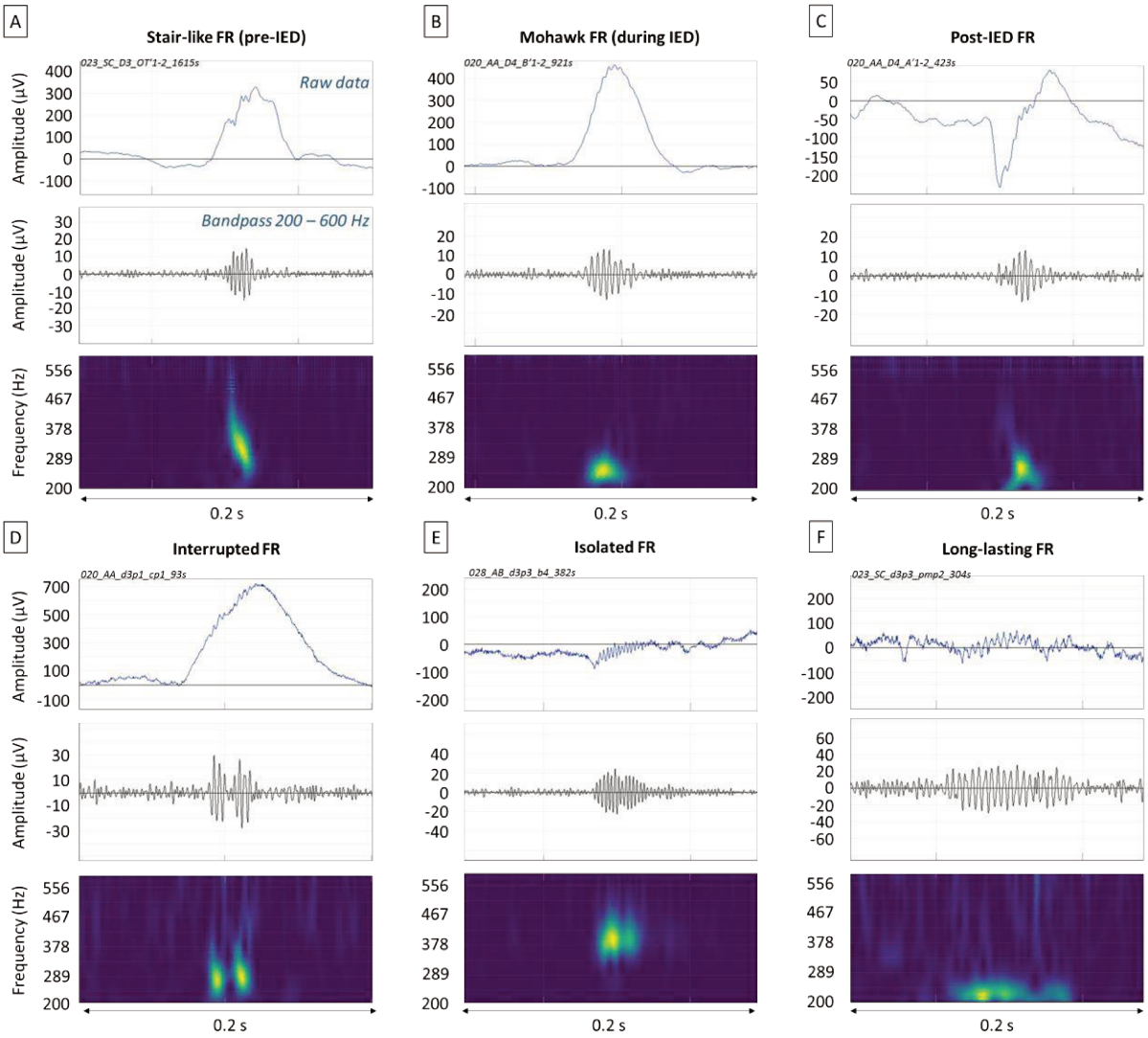


Figure 1 – Different types of FR recorded using the microelectrodes. FR in A, B and C were recorded on macro-contacts. FR in D, E, F were recorded on microwires. We tentatively labeled these different types of FR using names (see title of each figure).

3.4 FR on different spatial scales

FR could be observed at different spatial scale on the different tetrodes and/or hybrids. They could be recorded simultaneously on the tetrodes and macro contacts (**Figure 2**).

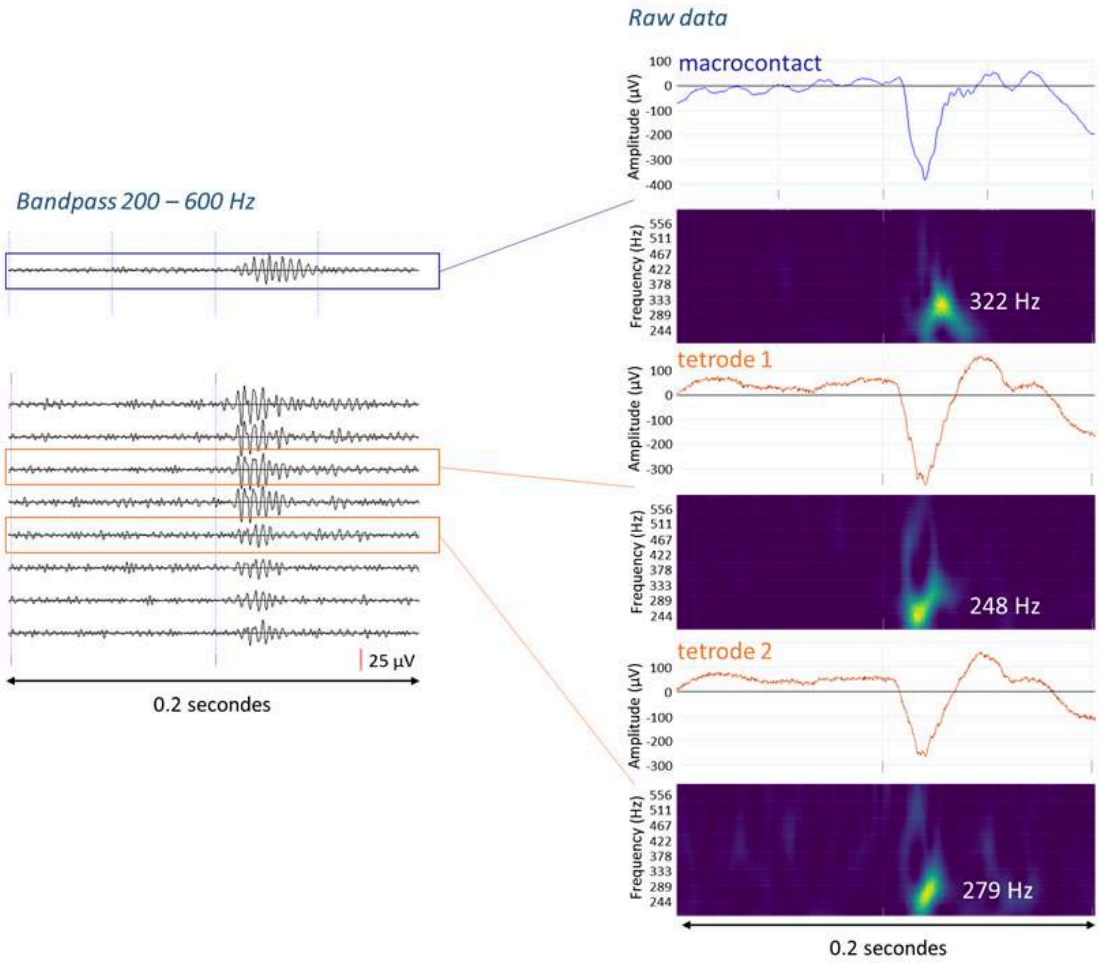


Figure 2 – Example of a FR located in the amygdala (patient 20) recorded on both macrocontacts and adjacent microwires. The hybrid electrode was located in the EZ.

Synchronous FR could also be recorded on two different adjacent hybrid electrodes, such as one in the entorhinal cortex and the hippocampus (**Figure 3**).

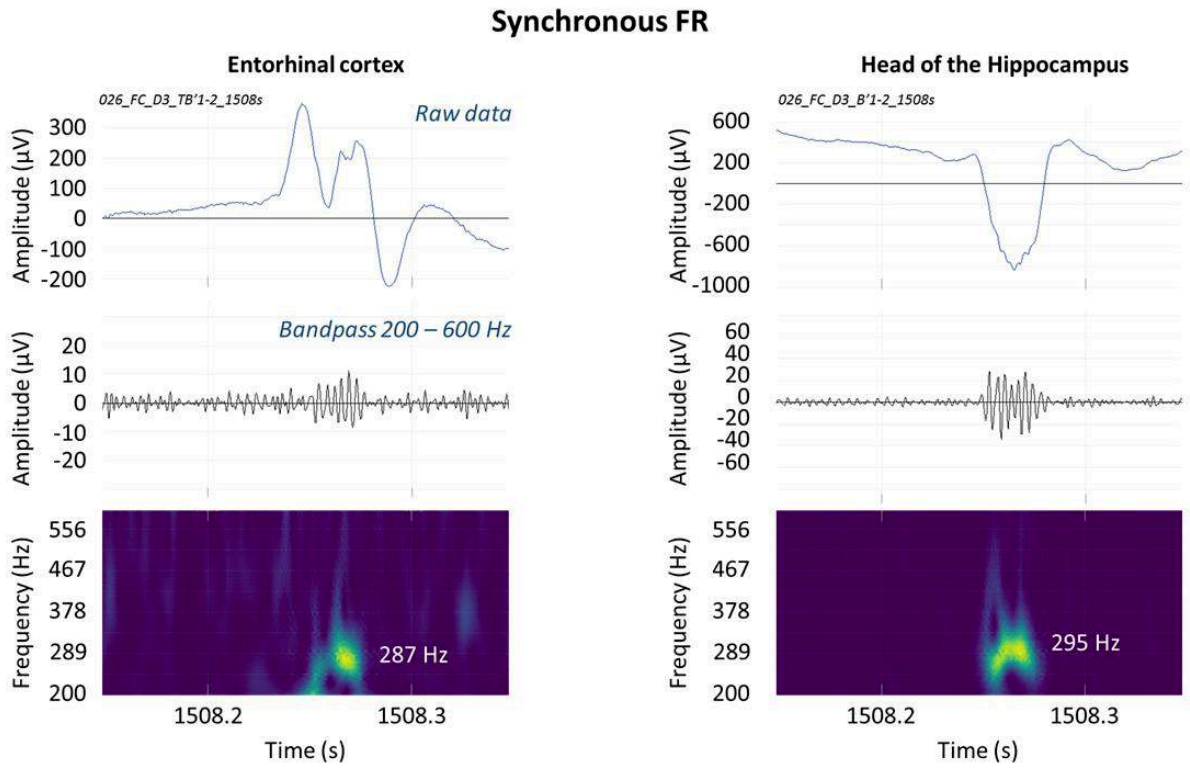


Figure 3 - Examples of synchronous FR in the entorhinal cortex and in the head of the hippocampus of patient 26 recorded using the microelectrodes. The hybrid electrodes were located in the PZ. Some FR were also recorded using macroelectrodes in these areas.

The FR could also be recorded on one tetrode and not the others (**Figure 4.A**), or on two and not the third one (**Figure 4.B**). When they were observed on 2 or 3 different tetrodes, their frequency and shape were homogeneous and their amplitude was higher (Despouy et al, 2019).

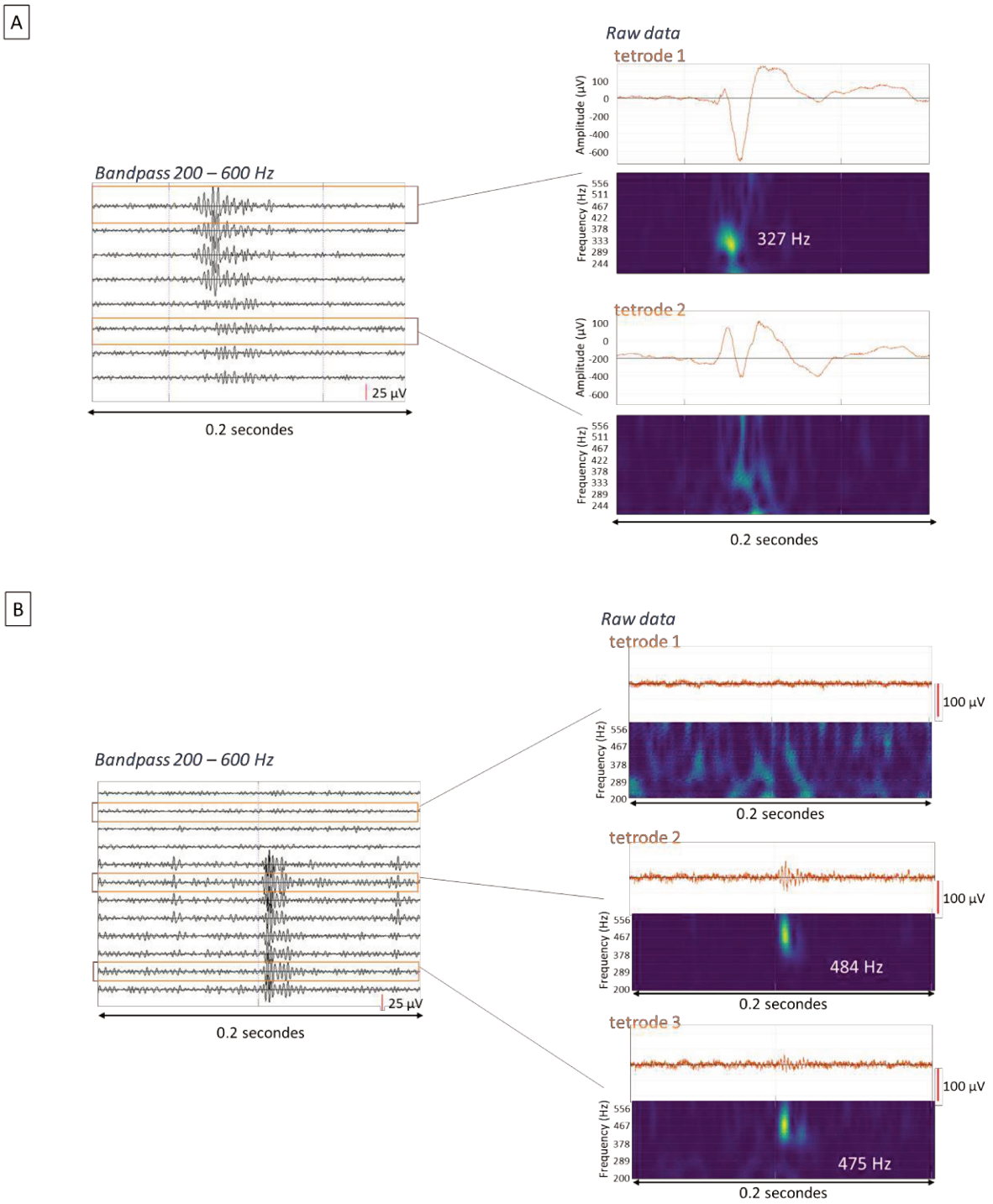


Figure 4 – (A) Example of a FR located in the hippocampus (patient 28) recorded only by one tetrode. The hybrid electrode was located in the IZ/PZ. No FR were recorded using macroelectrodes in this area. (B) Example of a FR located in the insula (patient 2) recorded by two tetrodes. The hybrid electrode was located in the EZ. No FR were recorded using macroelectrodes in this area.

Cette étude en est encore à un stade préliminaire mais plusieurs points intéressants commencent à émerger :

- Les FR sont plus facilement détectés à l'aide de microélectrodes
- Quand ils sont également détectés par les macroélectrodes, ils semblent partager les mêmes caractéristiques en termes de fréquence et de durée. Cependant, les FR détectés par les macroélectrodes sont de plus faible amplitude.
- Les FR sont retrouvés principalement dans la ZE puis dans la ZI et dans la ZP mais jamais dans les zones saines.
- Cependant, les FR ne sont pas retrouvés chez l'ensemble des patients

Les analyses ont besoin d'être approfondies. Il est prévu :

- D'analyser les enregistrements en période de sommeil pour comparer les taux de FR
- D'analyser les différents jours d'enregistrements
- Nous avons remarqué que les FR chez le patient 20 n'apparaissaient pas systématiquement au même moment de la pointe intercritique (parfois sur la phase ascendante, parfois pendant le pic, parfois sur la phase descendante). Cela sous-entend qu'il n'y aurait peut-être pas de lien univoque entre ces deux évènements. Il est nécessaire de poursuivre ces analyses pour voir ce qu'il en est chez les autres patients.

REFERENCES

Bartolomei F, Lagarde S, Wendling F, McGonigal A, Jirsa V, Guye M, Bénar C (2017) Defining epileptogenic networks: Contribution of SEEG and signal analysis. Epilepsia 58:1131–1147.

Bragin A, Engel J, Wilson CL, Fried I, Buzsáki G (1999a) High-Frequency Oscillations in Human Brain. Hippocampus:137–142.

Bragin A, Engel J, Wilson CL, Fried I, Mathern GW (1999b) Hippocampal and Entorhinal Cortex High-Frequency Oscillations (100-500 Hz) in Human Epileptic Brain and in Kainic Acid-Treated Rats with Chronic Seizures. Epilepsia 40:127–137.

Bragin A, Mody I, Wilson CL, Engel J (2002) Local generation of fast ripples in epileptic brain. Journal of Neuroscience 22:2012–2021.

Châtillon CE, Zelmann R, Hall JA, Olivier A, Dubeau F, Gotman J (2013) Influence of contact size on the detection of HFOs in human intracerebral EEG recordings. Clinical Neurophysiology 124:1541–1546.

Crépon B, Navarro V, Hasboun D, Clemenceau S, Martinerie J, Baulac M, Adam C, Le Van Quyen M (2010) Mapping interictal oscillations greater than 200 Hz recorded with intracranial macroelectrodes in human epilepsy. Brain 133:33–45.

Demont-Guignard S, Benquet P, Gerber U, Biraben A, Martin B, Wendling F (2012) Distinct hyperexcitability mechanisms underlie fast ripples and epileptic spikes. Annals of Neurology 71:342–352.

Fedele T, van ’t Klooster M, Burnos S, Zweiphenning W, van Klink N, Leijten F, Zijlmans M, Sarnthein J (2016) Automatic detection of high frequency oscillations during epilepsy surgery predicts seizure outcome. Clinical Neurophysiology 127:3066–3074.

Foffani G, Uzcategui YG, Gal B, Menendez de la Prida L (2007) Reduced Spike-Timing Reliability Correlates with the Emergence of Fast Ripples in the Rat Epileptic Hippocampus. Neuron 55:930–941.

Gotman J (2018) Oh surprise! Fast ripples on scalp EEG. Clinical Neurophysiology 129:1449–1450.

Haegelen C, Perucca P, Châtillon C-E, Andrade-Valença L, Zelmann R, Jacobs J, Collins DL, Dubeau F, Olivier A, Gotman J (2013) High-frequency oscillations, extent of surgical resection, and surgical outcome in drug-resistant focal epilepsy. Epilepsia 54:848–857.

Ibarz JM, Foffani G, Cid E, Inostroza M, Menendez de la Prida L (2010) Emergent Dynamics of Fast Ripples in the Epileptic Hippocampus. Journal of Neuroscience 30:16249–16261.

Jacobs J, Wu JY, Perucca P, Zelmann R, Mader M, Dubeau F, Mathern GW, Schulze-Bonhage A, Gotman J (2018) Removing high-frequency oscillations. Neurology 91:14.

Jacobs J, Zijlmans M, Zelmann R, Chatillon C-É, Hall J, Olivier A, Dubeau F, Gotman J (2010) High-frequency electroencephalographic oscillations correlate with outcome of epilepsy surgery. Annals of Neurology 67:209–220.

Jiruska P, Alvarado-Rojas C, Schevon CA, Staba R, Stacey W, Wendling F, Avoli M (2017) Update on the mechanisms and roles of high-frequency oscillations in seizures and epileptic disorders. Epilepsia 58:1330–1339.

Roehri N, Bartolomei F (2019) Are high-frequency oscillations better biomarkers of the epileptogenic zone than spikes?: Current Opinion in Neurology:1.

Roehri N, Pizzo F, Lagarde S, Lambert I, Nica A, McGonigal A, Giusiano B, Bartolomei F, Bénar C-G (2018) High-frequency oscillations are not better biomarkers of epileptogenic tissues than spikes: HFOs Are Not Better Than Spikes. Annals of Neurology 83:84–97.

Urrestarazu E, Chander R, Dubeau F, Gotman J (2007) Interictal high-frequency oscillations (100–500 Hz) in the intracerebral EEG of epileptic patients. Brain 130:2354–2366.

Worrell GA, Gardner AB, Stead SM, Hu S, Goerss S, Cascino GJ, Meyer FB, Marsh R, Litt B (2008) High-frequency oscillations in human temporal lobe: simultaneous microwire and clinical macroelectrode recordings. Brain 131:928–937.

Worrell GA, Jerbi K, Kobayashi K, Lina JM, Zelmann R, Le Van Quyen M (2012) Recording and analysis techniques for high-frequency oscillations. Progress in Neurobiology 98:265–278.

Wu JY, Salamon N, Kirsch HE, Mantle MM, Nagarajan SS, Kurelowech L, Aung MH, Sankar R, Shields WD, Mathern GW (2010) Noninvasive testing, early surgery, and seizure freedom in tuberous sclerosis complex. Neurology 74:392–398.

Zijlmans M, Worrell GA, Dümpelmann M, Stieglitz T, Barborica A, Heers M, Ikeda A, Usui N, Le Van Quyen M (2017) How to record high-frequency oscillations in epilepsy: A practical guideline. Epilepsia 58:1305–1315.

5 Étude 4 : Pathophysiology of fast-ripples revealed by tetrode recordings in epileptic patients

RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES

Communication orale lors de congrès nationaux et internationaux :

Despouy, E., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2017). From local field potentials to single units recordings in human epileptic patients. *8th annual meeting of the GDR Neuralnet. Strasbourg, France.*

POINTS CLÉS

- Des activités neuronales unitaires modulées par les FR ont été trouvés chez 2 patients sur 3
- Le taux de décharge de certains neurones unitaires augmente au moment de l'apparition de FR
- Chez un patient, cette modulation d'activité est légèrement décalée dans le temps pour deux groupes de neurones
- Chez ce même patient, l'activité combiné de l'ensemble des neurones modulés permet d'obtenir un taux de décharge à une fréquence similaire à celle des FR

RÉSUMÉ

Les oscillations à haute fréquence et plus particulièrement les fast-ripples (200-600 Hz) sont très étudiés ces dernières années puisqu'ils sont supposés être de bons biomarqueurs de la zone épileptogène. Dans certains centres, ils sont mêmes utilisés au moment de la chirurgie pour affiner l'étendue de la zone à réséquer. Cependant, la détection automatique de ces oscillations n'est pas encore optimale, ce qui complique leur utilisation en pratique clinique courante. La compréhension de la physiopathologie des fast-ripples pourrait faciliter leur détection. Actuellement, la majorité des études concernant la genèse des fast-ripples reposent sur des simulations. Nous disposons d'une nouvelle électrode hybride intracérébrale (combinant macro et microélectrodes) particulièrement adaptée pour réaliser des analyses à multi échelles. De plus, les microélectrodes sont organisées en tétrodes, ce qui permet d'améliorer la détection d'activités neuronales unitaires. L'objectif de cette étude est de valider ou d'infirmer les modèles existants avec des enregistrements effectués à l'aide des nouvelles électrodes hybrides de DIXI medical, dans le cadre du suivi de l'épilepsie de patients épileptiques pharmaco-résistants.

INTRODUCTION

Ces dernières années, la recherche sur l'épilepsie s'est focalisée sur les oscillations à haute fréquence (HFOs). Ces oscillations sont caractérisées par au moins quatre périodes et peuvent être divisées en deux catégories : les ripples, oscillations physiologiques comprises entre 80 et 200 Hz ; les fast-ripples, oscillations pathologiques comprises entre 200 et 600 Hz (Staba et al., 2014; Zijlmans et al., 2017). Des études rétrospectives ont montré que la résection des zones cérébrales associés à un fort taux de HFOs entrainait un meilleur résultat post chirurgical (Haegelen et al., 2013; van 't Klooster et al., 2015; Frauscher et al., 2017).

La caractérisation des mécanismes générant les HFOs est rendue difficile par le fait qu'ils apparaissent à une très petite échelle, de l'ordre de $1mm^3$ (Bragin et al., 2002). Il est cependant admis que **les HFOs pathologiques reflètent majoritairement les potentiels d'action des cellules principales** (Foffani et al., 2007; Ibarz et al., 2010; Bragin et al., 2011; Demont-Guignard et al., 2012; Gliske et al., 2017). Un exemple présenté dans la Figure 47 illustre le fait que les HFOs proviennent de décharges de potentiels d'action en bouffées (Bragin et al., 2011).

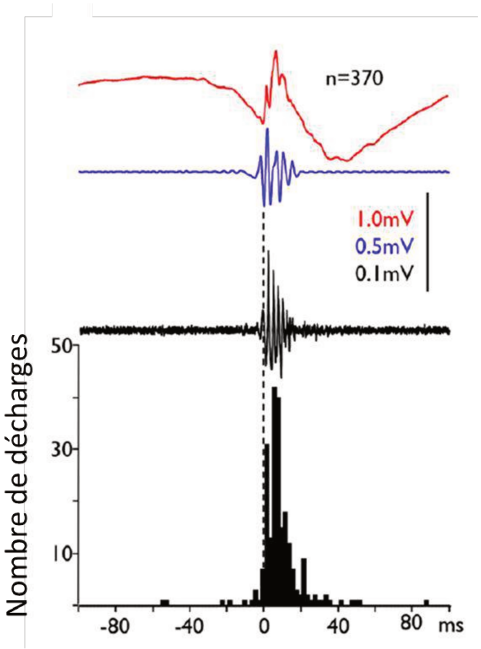


Figure 47 – Exemple de décharges neuronales multiunitaires pendant des HFOs. Moyenne de 370 HFOs. Les HFOs sont alignés sur le premier pic négatif de chaque oscillation. Elles ont été détectées à l'aide d'un filtre passe-bande compris entre 100 et 500 Hz. En rouge, la moyenne de l'ensemble des HFOs ; en bleu le signal filtré ; en noir la moyenne des activités multiunitaires. En dessous, l'histogramme des activités multiunitaires (la taille de chaque bin est de 2 ms).

La synchronisation de décharges rapides au travers d'une population de neurones interconnectés entraine la formation d'une HFO (Figure 48.A,B). Ce mécanisme nécessite une synchronisation à la ms près (Draguhn et al., 1998). Cependant, **comment expliquer l'apparition d'oscillations avec des fréquences pouvant aller jusqu'à 600 Hz ?** En effet, la fréquence peut être déterminée à partir du taux de décharge de potentiels d'action des cellules principales (Ibarz et al., 2010). Cependant, ces cellules ne peuvent pas décharger suffisamment rapidement pour produire des oscillations synchrones allant jusqu'à 600 Hz. Le taux de décharge est en général limité à 300 Hz, même pour des neurones épileptiques (Ibarz et al., 2010). **La fréquence des fast-ripples est bien au-delà des limites physiologiques**. Une explication probable est l'existence de différentes sous-populations de neurones synchronisés présentant un décalage de phase (Jefferys, 2010; Jiruska et al., 2013, Figure 48.C,D).

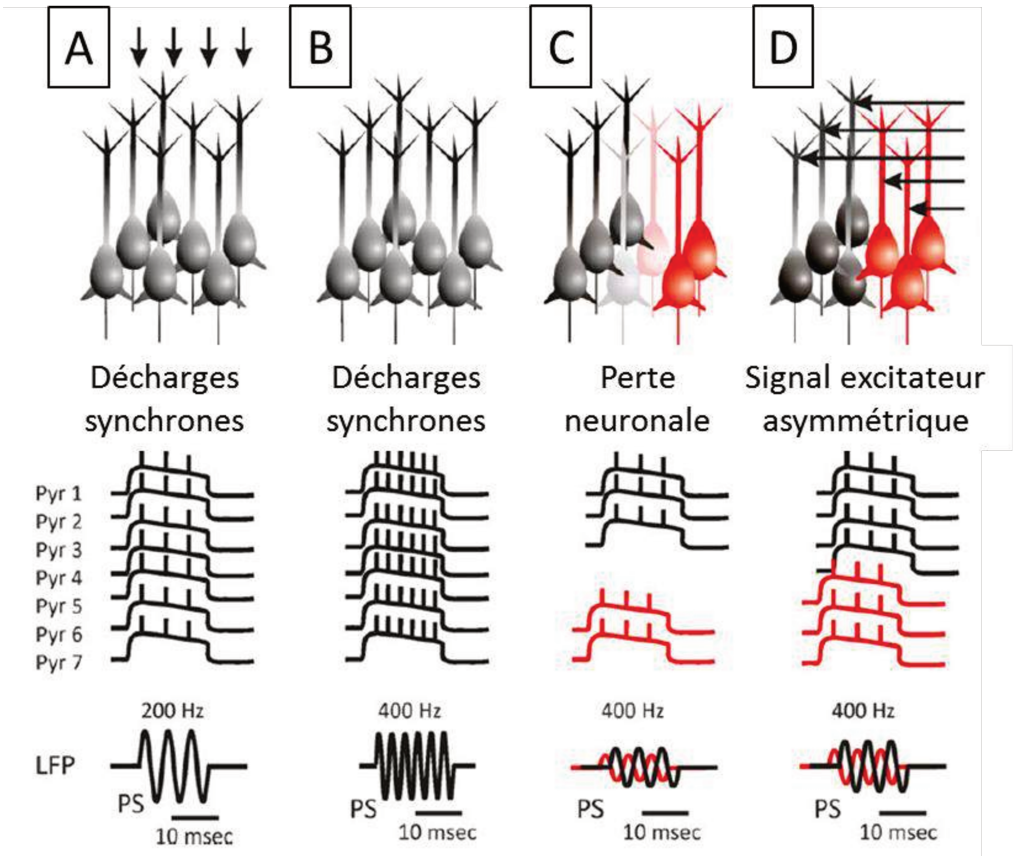


Figure 48 – Cellules principales et HFOs pathologiques. (A,B) Les HFOs peuvent être générés par des décharges synchrones provenant de cellules principales. (C,D) Des FR, avec une fréquence jusqu'à 600 Hz, peuvent être générés si différentes populations neuronales déchargent avec un décalage de phase. Image issue de Jiruska et al., 2017.

Nous disposons de nouvelles électrodes hybrides composées de tétrodes. Ces électrodes sont capables de détecter davantage d'activités neuronales unitaires, et pourront très certainement être utiles pour valider ou infirmer les hypothèses existantes concernant la génération des fast-ripples. Cette étude est encore à un stade préliminaire, des analyses n'ont pour le moment pu être effectuées que sur un faible nombre de patients.

MÉTHODES

La réalisation de cette étude nécessite de détecter des fast-ripples et des activités neuronales unitaires avec la même électrode hybride. Nous avons commencé par lancer une détection de FR chez l'ensemble de nos patients. Comme nous l'avons vu dans l'étude précédente, des fast-ripples ne sont pas systématiquement retrouvés chez tous les patients. De plus, il arrive que des fast-ripples soient détectés mais que le nombre de neurones soient très faible. Nous avons choisi ici trois patients chez lesquels un nombre assez important de neurones unitaires ont été détectés : la patiente 2, le patient 14 et le patient 20. Des rasters plots et des histogrammes ont été générés pour l'ensemble des FR détectés (bin de 2 ms, t = 0 correspondant au premier pic négatif des FR).

RÉSULTATS PRÉLIMINAIRES

- **Patient 20**

Chez ce patient, 10 neurones ont été enregistrés dans l'hippocampe (sur la première tétrode) conjointement avec 12 fast-ripples. Les analyses sur les autres tétrodes sont en cours. Ces FR sont toujours retrouvés dans les pointes intercritiques, mais à différents moment (avant le pic, pendant le pic ou après le pic). Ces FR sont majoritairement retrouvés sur les 3 tétrodes de l'électrode hybride et sont également enregistrés par les macroélectrodes (Figure 49). Les caractéristiques des FR sont les suivantes :

- Durée : 0,03 s ± 0,006 s
- Amplitude : 55,60 µV ± 12,5 µV
- Fréquence : 275 Hz ± 35 Hz

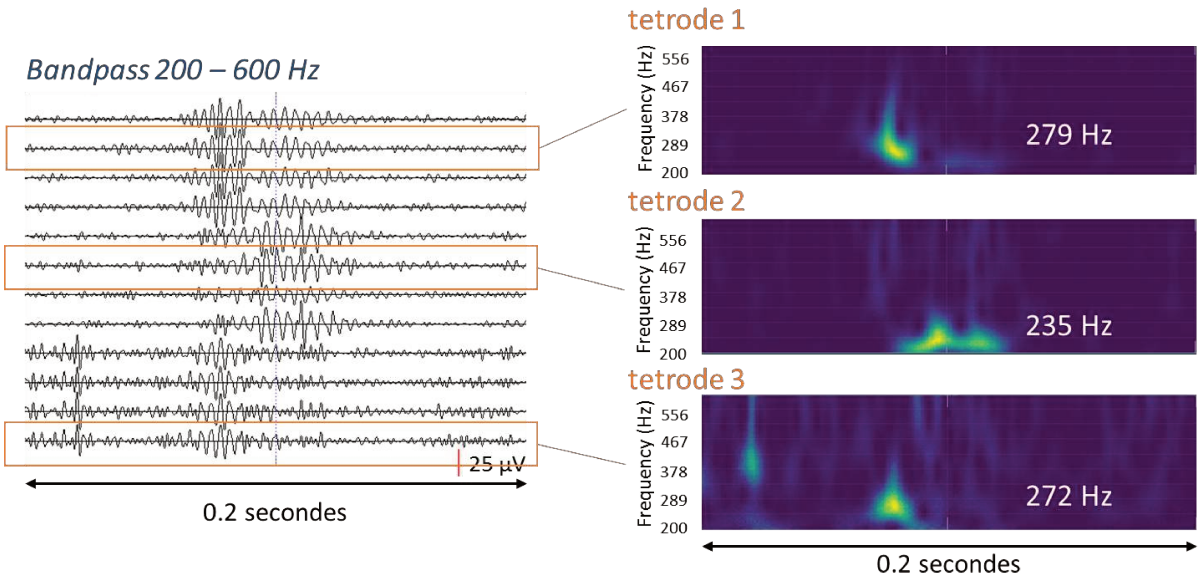


Figure 49 – Exemple d'un FR enregistré par une électrode hybride localisée dans l'hippocampe du patient 20. Le FR est retrouvé sur les 3 tétrodes de l'électrode. Chez ce patient, les FR sont également visibles sur les macroélectrodes.

Sur les 10 neurones unitaires détectés, la moitié présentent une activité modulée (augmentation du taux de décharge) au moment de l'apparition des fast-ripples (Figure 50).

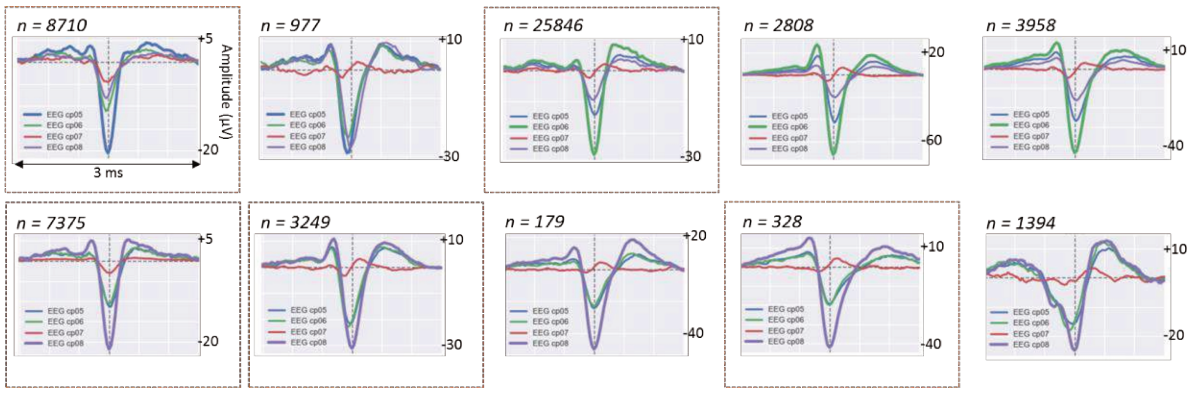


Figure 50 – Forme des neurones unitaires enregistrés sur la première tétrode chez le patient 20. Chaque couleur correspond à un brin différent de la tétrode. Les neurones modulés au moment de l'apparition des FR sont entourés en orange. Le nombre de décharges neuronales détectées durant une heure d'enregistrement est indiquée par n=...

On peut remarquer que l'augmentation du taux de décharge n'a pas exactement lieu au même moment pour les différents neurones (Figure 51). Au total, 2 neurones ont sensiblement le même motif de décharge que le neurone présenté dans la Figure 51.A et 3 neurones ont un motif de décharge similaire au neurone présenté dans la Figure 51.B.

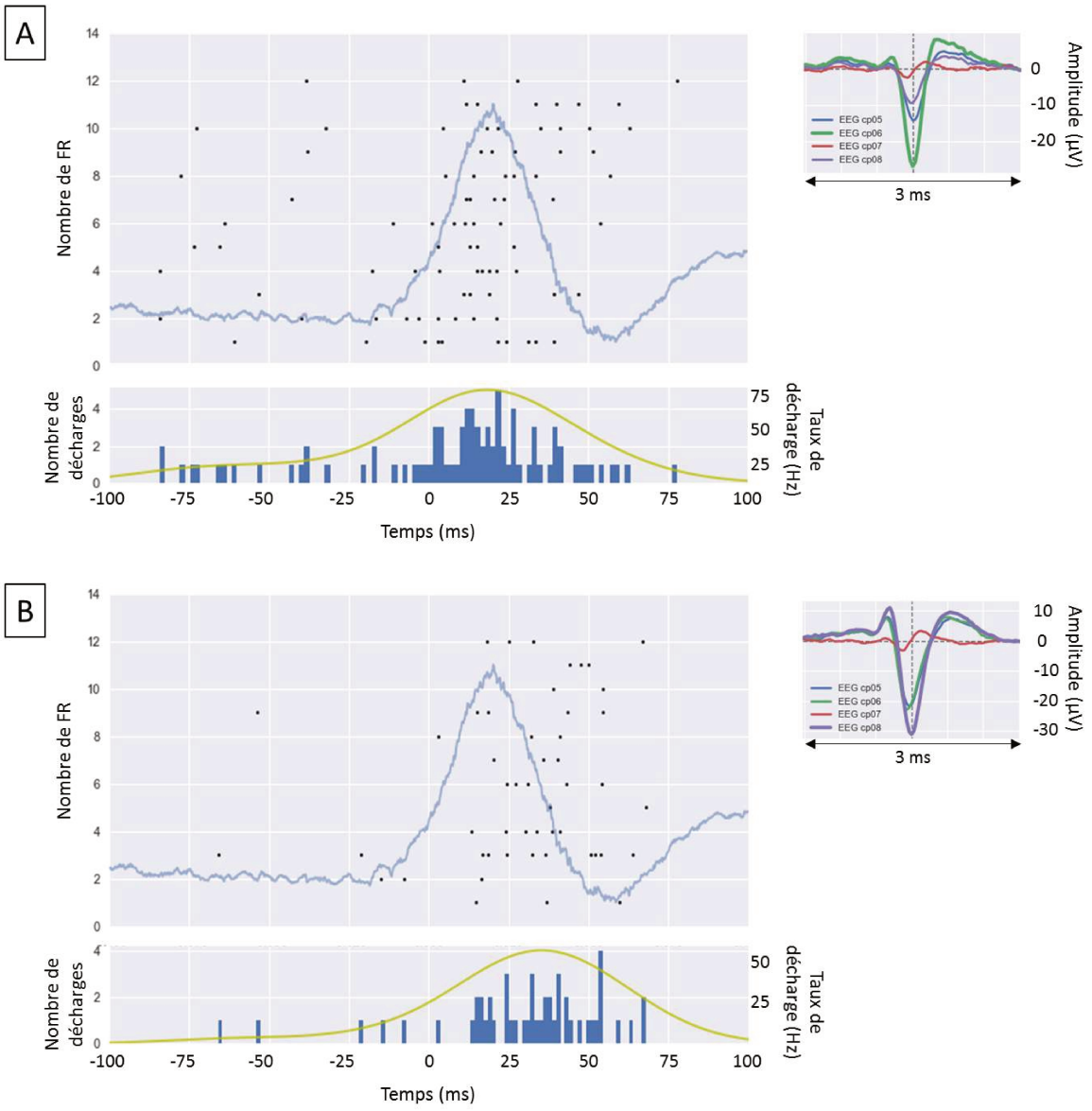


Figure 51 – Activité neuronale unitaire pendant les FR chez le patient 20. Les neurones A et B ont un taux de décharge modulé suite à l'apparition de fast-ripples. Cependant, un décalage temporel est observé entre ces deux neurones. La courbe bleue sur le rasterplot représente les potentiels de champ locaux moyennés. La courbe jaune sur l'histogramme représente l'évolution du taux de décharge de chaque neurone.

La fréquence de décharge maximale de chacun de ces 5 neurones est d'environ : 30, 75, 60, 50 et 30 Hz. Or, lorsque l'activité des cinq neurones modulés est combinée pour créer une activité multi-unitaire, on obtient un taux de décharge maximal d'environ 260 Hz, ce qui correspond à la fréquence moyenne des FR enregistrés sur cette électrode (Figure 52).

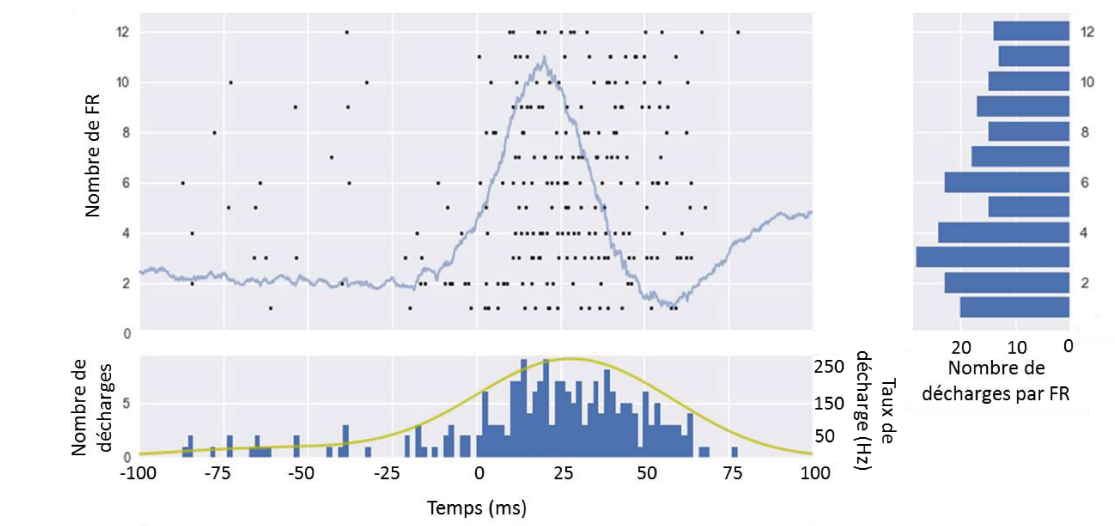


Figure 52 – Activité multi-unitaire pendant les FR chez le patient 20. Les données des 5 neurones qui modifiaient leur taux de décharge autour des FR ont été combinées.

Dans certains cas, il pourrait être compliqué de savoir si le neurone est modulé par l'apparition des FR ou par celle des pointes intercritiques (lorsque les FR apparaissent systématiquement pendant des pointes). Ici ce n'est pas le cas comme les FR apparaissent à différents moments des pointes intercritiques (phase ascendante de la pointe, pic, phase descendante). De plus, le début de l'augmentation des décharges neuronales est calé sur 0 lorsque l'on s'intéresse à l'activité multi-unitaire au moment des FR. Si l'on prend les pointes intercritiques en référence, on se rend compte que les augmentations d'activités neuronale apparaissent à des latences diverses (Figure 53).

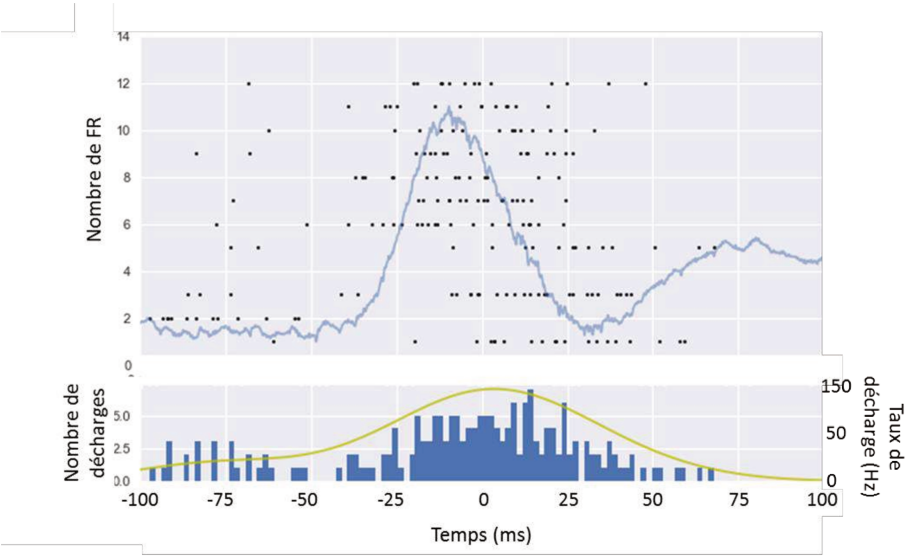


Figure 53 – Activité multi-unitaire pendant les pointes intercritiques chez le patient 20.

- **Patient 14**

Chez ce patient, 13 neurones ont été enregistrés dans l'amygdale (seulement sur la première tétrode) conjointement avec 35 FR. Les FR ont toujours été retrouvés dans les pointes intercritiques. Ces FR sont majoritairement retrouvés sur les 2 tétrodes de l'électrode hybride et sont également enregistrés par les macroélectrodes (Figure 54). Les caractéristiques des FR sont les suivantes :

- Durée : 0,025 s ± 0,003 s
- Amplitude : 43,98 µV ± 8,35 µV
- Fréquence : 294 Hz ± 13 Hz

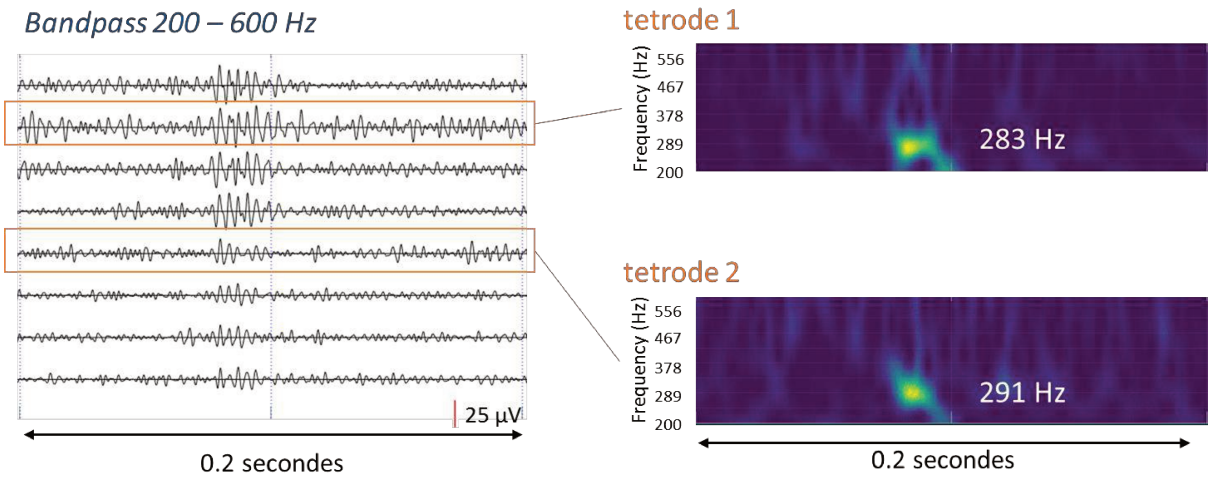


Figure 54 – Exemple d'un FR enregistré par une électrode hybride localisée dans l'amygdale du patient 14. Le FR est bien visible sur le signal filtré de la première tétrode de l'électrode et est de très faible amplitude sur la seconde tétrode. Néanmoins, le temps fréquence permet de le mettre clairement en évidence sur les deux tétrodes. Chez ce patient, les FR sont également retrouvés sur les macroélectrodes.

Sur les 13 neurones unitaires détectés, seuls deux neurones présentent une activité modulée (augmentation du taux de décharge) au moment de l'apparition des fast-ripples (Figure 55). Contrairement au patient précédent, la fréquence maximale de décharge de ces neurones est relativement faible : seulement 13 et 20 Hz. Nous sommes encore loin de la fréquence des FR qui est de 294 Hz.

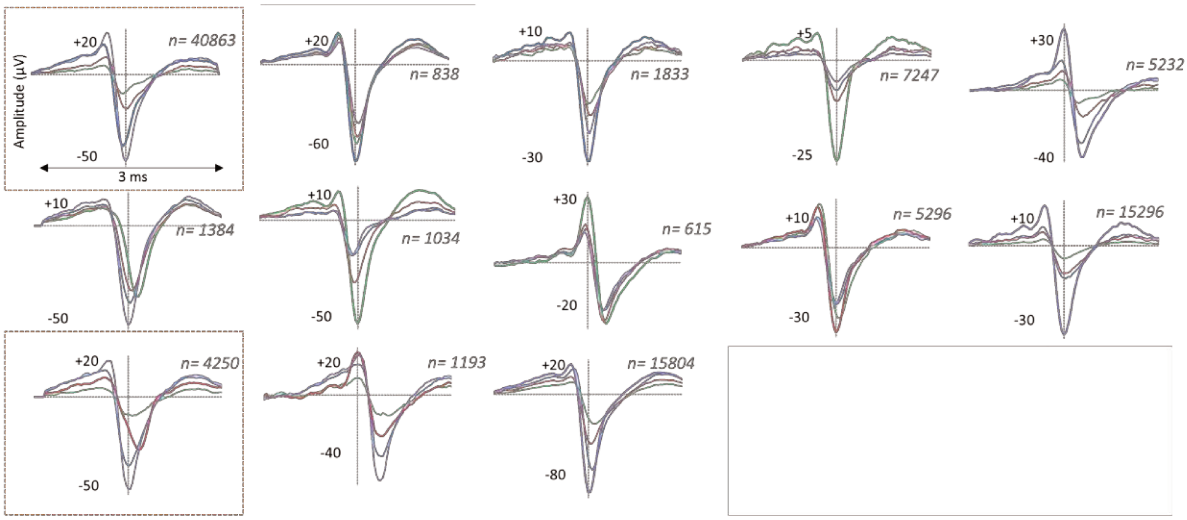


Figure 55 - Forme des neurones unitaires enregistrés chez le patient 14, sur la première tétrode. Chaque couleur correspond à un brin différent de la tétrode. Les neurones modulés

au moment de l'apparition des FR sont entourés en orange. Le nombre de décharges neuronales détectées durant une heure d'enregistrement est indiquée par n=...

- **Patiente 2**

Chez cette patiente, 8 neurones ont été enregistrés dans l'insula (sur la deuxième tétrode), conjointement avec 9 FR. Les FR ont toujours été retrouvés dans des périodes de signal dépourvues de pointes intercritiques. Ces FR sont la plupart du temps retrouvés sur 2 des 3 tétrodes de l'électrode hybride et ne sont jamais enregistrés par les macroélectrodes (Figure 56). Les caractéristiques des FR sont les suivantes :

- Durée : 0,013 s ± 0,002 s
- Amplitude : 36,79 µV ± 7,49 µV
- Fréquence : 505 Hz ± 42 Hz

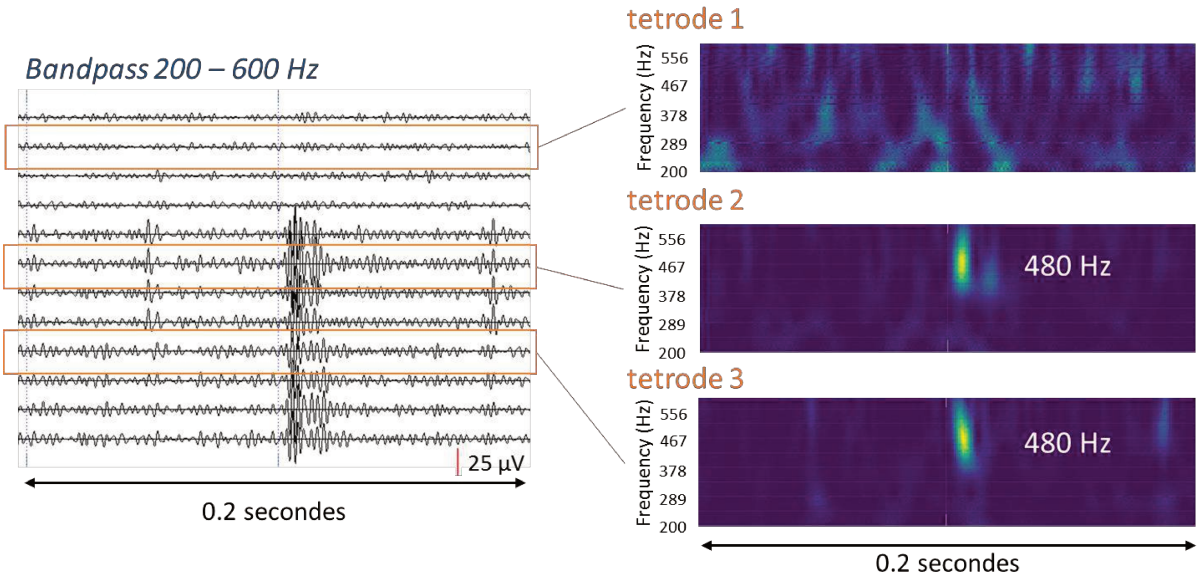


Figure 56 - Exemple d'un FR enregistré par une électrode hybride localisée dans l'insula de la patiente 2. Le FR est retrouvé sur seulement 2 des 3 tétrodes de l'électrode. Chez cette patiente, les FR ne sont pas visibles sur les macroélectrodes.

Sur les 8 neurones détectés, aucun n'a présentés une modulation de leur taux de décharge au moment de l'apparition des FR. Cependant, 7 d'entre eux ont présentés des modulations au moment de l'apparition de pointes intercritiques.

RÉSUMÉ

Les résultats de cette étude sont très préliminaires, seulement trois patients ont pu être analysés. On peut cependant déjà observer quelques résultats intéressants :

- L'activité de seulement un petit groupe de neurones est modulé (augmentation du taux de décharge) au moment où les FR apparaissent.
- Ces modulations n'ont pour le moment été trouvées que pour des FR apparaissant de façon concomitante avec des pointes intercritiques.
- Les mêmes neurones ne semblent pas moduler leur activité au moment de l'apparition des FR et des pointes intercritiques.

De façon intéressante, chez le patient 20, nous avons mis en évidence avec la même tétrode deux groupes de neurones avec un taux de décharge modulé au moment de l'apparition de fast-ripples. De plus, l'augmentation du taux de décharge de ces deux groupes de neurones est légèrement décalée dans le temps. L'activité combinée de ces deux groupes de neurones permet d'obtenir un taux de décharge maximal de 260 Hz au moment de l'apparition des FR, ce qui correspond à la fréquence moyenne des FR enregistrés sur cette tétrode.

➔ Les résultats observés chez ce patient semblent supporter l'hypothèse selon laquelle les FR sont générés par les décharges de plusieurs groupes de neurones, légèrement décalées dans le temps

CE QU'IL RESTE A FAIRE

- Analyser les données d'un plus grand nombre de patients
- Caractériser les différents types de neurones
- Analyser les différents types de FR
- Réaliser des cross-corrélogrammes pour voir si les neurones se synchronisent entre eux au moment des fast-ripples et des pointes intercritiques

V. Investigation de processus cognitifs

Un aspect très important de cette thèse est de valider que la nouvelle électrode hybride fonctionne. Une manière de le montrer consiste à enregistrer de l'activité neuronale pendant des tâches cognitives. En effet, la nécessité d'enregistrer les activités neuronales chez les patients épileptiques a offert la possibilité d'évaluer également des processus physiologiques. Le lobe temporal étant fréquemment impliqué dans les crises, de nombreuses études ont été conduites pour comprendre les processus émotionnels et la mémoire. Les investigations se sont par la suite répandues à d'autres régions cérébrales. Ce chapitre vise à illustrer l'intérêt des microélectrodes dans l'évaluation de processus cognitifs. Il est suivi par une étude en macroélectrodes (préliminaire à une étude avec des microélectrodes) portant sur la mémoire de reconnaissance visuelle. Enfin, des résultats préliminaires obtenus à Toulouse lors d'une tâche de screening sont présentés.

1 Détection d'activité neuronale dans le lobe temporal médian

Les premiers enregistrements neuronaux chez l'Homme pendant la réalisation de tâches cognitives ont débuté dans les années 1970. Des enregistrements du lobe temporal médian à l'aide de microélectrodes implantées chroniquement ont rapporté des neurones répondant à des stimuli visuels au moment de faire des choix, ou encore lors du rappel de mots présentés peu de temps avant (Halgren et al., 1978). De nombreuses équipes se sont ensuite lancés dans l'analyse de l'activité neuronale pendant des tâches cognitives, en se focalisant plus particulièrement sur le lobe temporal médian. J'ai choisi ici de parler brièvement de quatre études et découvertes princeps.

1.1 Les neurones invariants

Nous n'avons besoin que d'une fraction de seconde pour arriver à reconnaitre une personne ou un objet. Comment ce haut-niveau de représentation est-il codé dans le cerveau ? C'est la question que s'est posée une équipe qui a depuis fait beaucoup parler d'elle (Quiroga et al., 2005). En effet, les auteurs ont mis en évidence un sous-ensemble de neurones du lobe temporal qui étaient sélectivement activés par différentes photos d'une même personne, de paysages ou d'objets, et dans certains cas également par le nom écrit de la personne (exemple du neurone Halle Berry, Figure 57). Cette découverte a mis en évidence

l'existence d'un codage invariant, éparse et explicite dans le lobe temporal médian. Une telle représentation, en contraste avec la représentation métrique observée dans les aires visuelles, pourrait être importante dans le stockage de la mémoire à long terme.

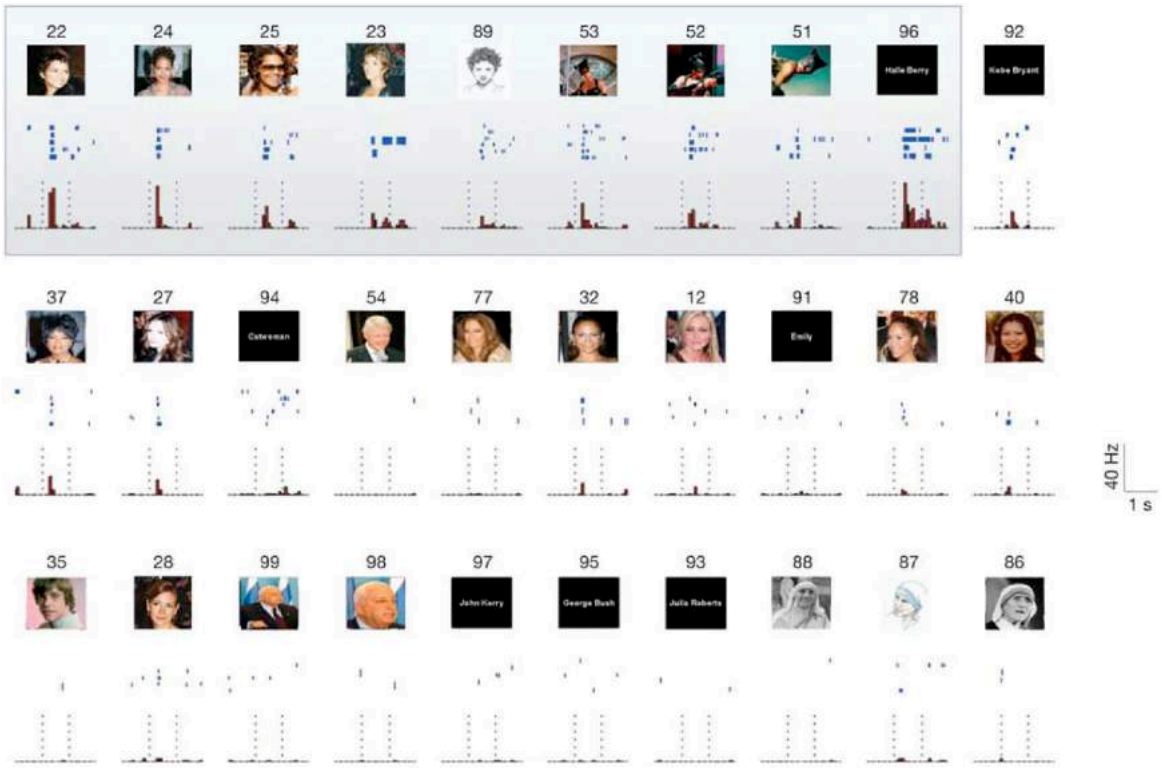


Figure 57 – Identification du neurone Halle Berry. Les raster plots et histogrammes correspondant aux décharges neuronales sont présentés sous chaque image. Ce neurone décharge à toutes les photos où Halle Berry est retrouvée, mais également à des dessins d'elle, à son nom écrit et à des images dans lesquelles elle est déguisée en catwoman. Figure issue de Quiroga et al., 2005.

1.2 Une découverte majeure : les cellules de lieu

Les cellules de lieu, trouvées dans l'hippocampe des rongeurs, font parties des exemples les plus frappants d'une corrélation entre l'activité neuronale et les comportements complexes (O'Keefe and Dostrovsky, 1971; Muller et al., 1987). En effet, ces cellules augmentent leur taux de décharge quand les animaux traversent un endroit particulier de leur environnement proche, procurant ainsi une **carte de l'environnement dépendante du contexte** (O'Keefe and Conway, 1978; Muller and Kubie, 1987; Wilson and McNaughton, 1993). Cela peut être interprété comme un cadre de référence allocentrique. Cette

découverte a valu à John O'Keefe, May-Britt Moser et Edvard I. Moser le prix Nobel de Physiologie ou Médecine en 2014.

Des études en IRM fonctionnel ont confirmé le rôle du lobe temporal médian dans la navigation spatiale chez l'Homme (Maguire et al., 1999). Cependant, ce sont des enregistrements intracérébraux qui ont permis d'avoir une vision plus précise, à l'échelle de la cellule. Des cellules de lieu ont pu être mise en évidence chez l'Homme dans trois études indépendantes pendant que les patients naviguaient dans un environnement virtuel (Figure 58). Elles ont été trouvées dans l'hippocampe, dans le gyrus para-hippocampique (incluant le cortex entorhinal) et dans l'amygdale (Ekstrom et al., 2003; Jacobs et al., 2013; Miller et al., 2013).

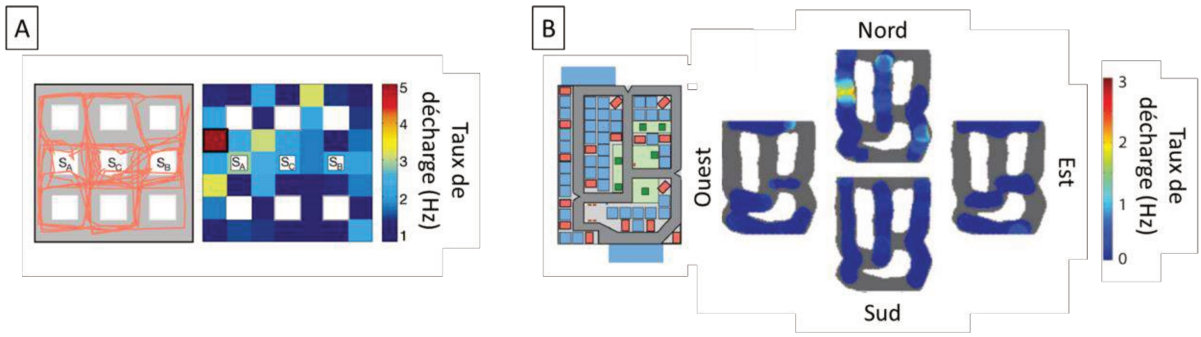


Figure 58 – Cellules de lieu chez l'Homme. (A) A gauche, le chemin parcouru. A droite, le taux de décharge d'une cellule de lieu lors d'un déplacement dans une ville virtuelle. Image issue de Ekstrom et al., 2003. (B) Dans cet exemple, la cellule de lieu ne décharge que lorsque le patient traverse la ville en direction du nord. Image adaptée de (Miller et al., 2013).

Ces études ont montré la présence de cellules de lieu dans le lobe temporal médian chez l'Homme, cependant, il ne fonctionne pas de manière isolée. Des connexions avec entre autres les régions pariétales et frontales sont requises (Herweg and Kahana, 2018). Il est donc nécessaire que des détections d'activité neuronale soient également effectuées dans d'autres régions que le lobe temporal médian.

2 Analyses d'autres régions cérébrales

Bien que le lobe temporal soit très étudié (à cause du grand nombre d'épilepsies temporales), des activités neuronales ont également été enregistrées dans d'autres régions.

2.1 Prédiction de l'acte volitionnel dans le cortex frontal médian

Lors d'une étude, des chercheurs ont réussi à enregistrer l'activité de 1019 neurones dans le cortex frontal médian chez l'Homme (Fried et al., 2011). La tâche à effectuer était relativement simple : les sujets voyaient sur l'écran de l'ordinateur une horloge avec une aiguille qui en faisait le tour. Ils devaient presser un bouton quand ils le souhaitaient, dès que l'aiguille avait fait au moins un tour. Ils devaient ensuite indiquer à quel moment (à quelle heure sur l'horloge) ils avaient eu la volonté d'appuyer sur le bouton. Des neurones localisés dans la partie dorsale du cortex cingulaire antérieur ont présenté une augmentation du taux de décharge au moment où les patients avaient la volonté d'appuyer sur le bouton (Figure 59).

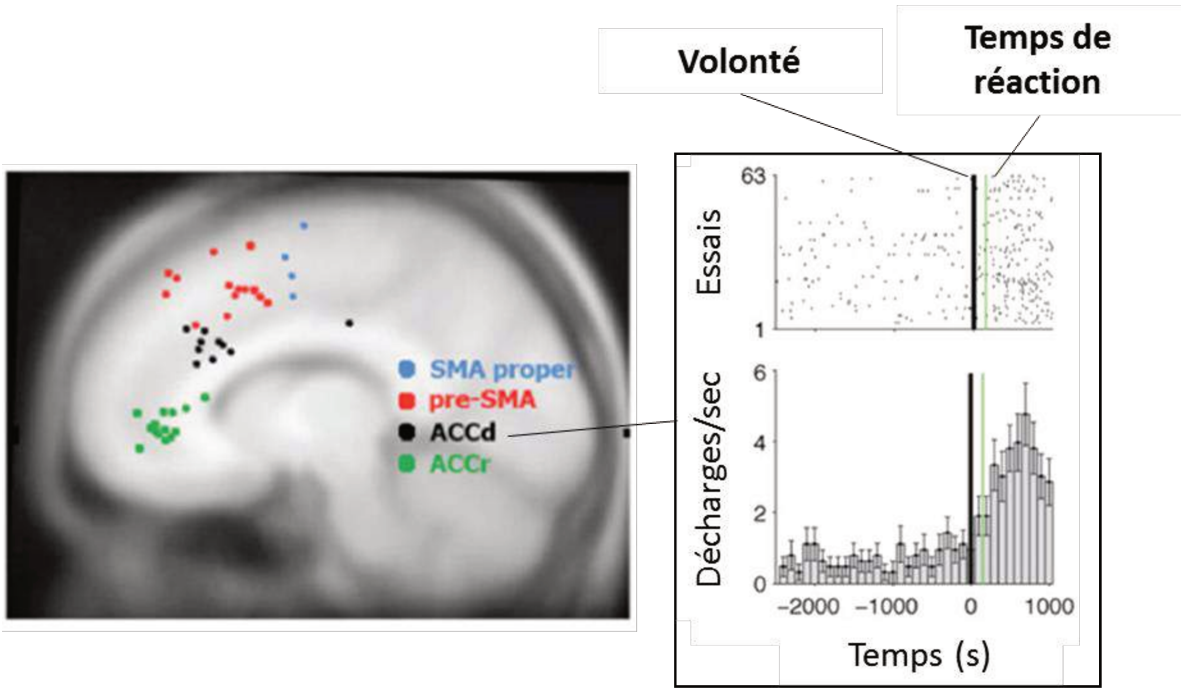


Figure 59 – Localisation des électrodes dans le lobe frontal médian. Les rasters plots et les histogrammes de neurones enregistrés dans la partie dorsale du cortex cingulaire antérieur (ACCd) montre une augmentation du taux de décharge dès le moment où le patient a la volonté d'appuyer sur le bouton. Image issue de (Fried et al., 2011).

Dans cette étude, les auteurs ont également démontré qu'une petite assemblée de neurones unitaires localisés dans le lobe frontal médian étaient capable de précéder mais également de prédire l'acte volitionnel et le moment de son apparition, essai par essai.

2.2 Activité neuronale dans le cortex visuel précoce

Les connaissances que nous avons du cortex visuel précoce proviennent en grande majorité d'enregistrements effectués chez les modèles animaux et notamment chez le macaque. Or, pour la première fois, une électrode hybride a pu être implantée dans le cortex visuel précoce chez l'Homme (Figure 60) et de l'activité neuronale multi unitaire a été détectée dans l'aire visuelle V3 (Self et al., 2016).

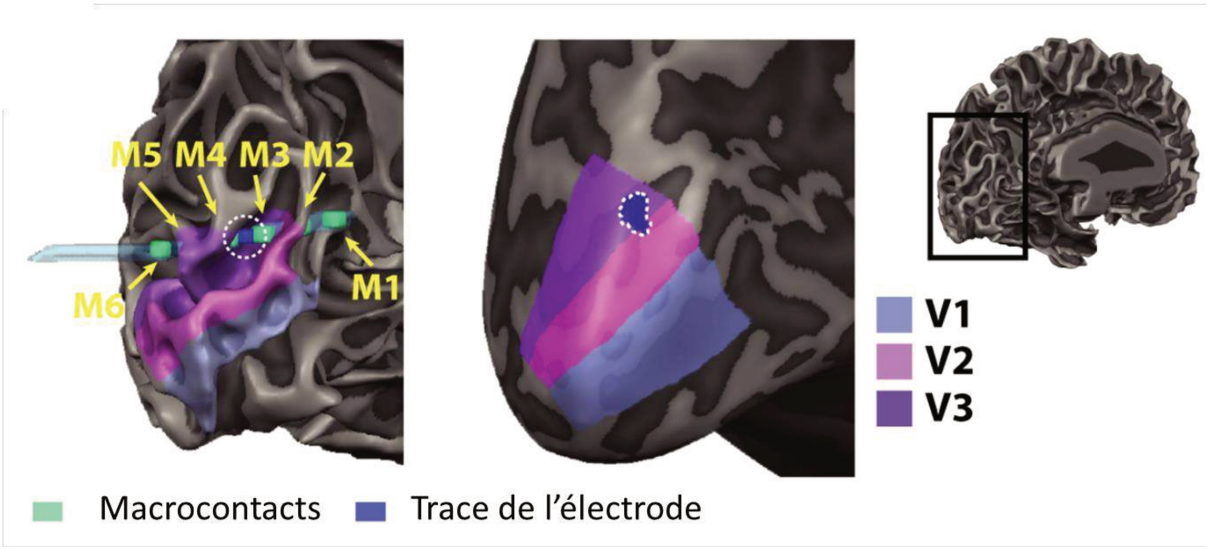


Figure 60 – Localisation de l'électrode dans le cortex visuel précoce. Les microélectrodes sont majoritairement localisées dans l'aire visuelle V3. De l'activité multi unitaire a été détecté sur les microélectrodes entre le troisième et le quatrième macrocontact (entouré en blanc sur l'image).

Ces activités multi unitaires varient en fonction du contraste, de l'orientation, de la fréquence spatiale et de la taille, de façon similaire à ce qui est observé chez le macaque. De plus, le taux de décharge des neurones enregistrés dans cette région est modulé par le contexte visuel et l'attention. Cette étude a permis de démontrer que les propriétés des neurones du cortex visuel précoce chez l'Homme sont similaires à celles du macaque. Cela signifie que le système visuel du macaque est un excellent modèle du cortex visuel humain.

RÉSUMÉ

Les opportunités d'enregistrer de l'activité neuronale chez l'Homme sont rares mais elles ont permis d'améliorer notre compréhension d'une grande variété de fonctions cognitives (dont certaines ne peuvent pas être évaluées chez l'animal, comme les aspects volitionnels). De plus, elles ont permis de valider certaines observations effectuées chez l'animal, justifiant ainsi qu'ils étaient de bons modèles pour étudier certaines fonctions. La capacité des microélectrodes à enregistrer de l'information d'intérêt pendant des tâches cognitives apparait donc comme un critère de validation important pour la nouvelle électrode hybride de DIXI medical.

La suite de ce chapitre comporte une étude de mémoire de reconnaissance réalisée avec des macroélectrodes. Des enregistrements ont également été réalisés avec des microélectrodes chez la plupart des patients mais les données sont encore en cours d'analyse. Deux étudiants (un en thèse et un en master) viennent de rejoindre le projet. Suite à cette étude, des résultats obtenus lors d'une tâche de screening chez deux de nos patientes sont présentés. Ils sont très prometteurs pour la validation de l'électrode hybride dans des tâches cognitives.

1 Étude 5 : The perirhinal cortex mediates a fast visual recognition memory system

ARTICLE EN RÉVISION

Communication orale lors de congrès nationaux et internationaux :

- **Despouy, E**., Curot, J., Deudon, M., Denuelle, M., Sol, JC., Lotterie, JA., Valton, L., Barbeau, J. E. (2018). A fast recognition memory system bypassing the hippocampus. *International conference on learning and memory. Irvine, USA.*

- Despouy, E., Curot, J., Deudon, M., Valton, L., Sol, JC., Lotterie, JA., Denuelle, M., Barbeau, J. E. (2017). Dynamique spatio-temporelle du cortex rhinal et de l'hippocampe dans la mémoire de reconnaissance visuelle. *Cinquième réunion scientifique de la Société Francophone des Troubles des Apprentissages et du langage. Toulouse, France.*

Communications sous forme de posters lors de congrès nationaux et internationaux :

- Despouy, E., Curot, J., Deudon, M., Valton, L., Sol, JC., Lotterie, JA., Denuelle, M., Barbeau, J. E. (2017). A fast recognition memory system: The temporal dynamics of perirhinal and hippocampal structures in visual recognition memory. *Society for Neuroscience. Washington, USA.*

- Despouy, E., Deudon, M., Kopal, J., Alloyer, M., Valton, L., Sol, JC., Lotterie, JA., Denuelle, M., Barbeau, J. E. (2016). The temporal dynamics of rhinal and hippocampus involvement in visual recognition memory. *6th International Conference on Memory. Budapest, Hungary.*

- Despouy, E., Valton, L., Sol, JC., Denuelle, M., Barbeau, J. E. (2015). The spatio-temporal dynamics of recognition memory. *M4 conference: Memory Mechanisms on Man and Machine. Albi, France.*

POINTS CLÉS

- Le cortex périrhinal est la région la plus précocement impliquée dans la mémoire de reconnaissance
- L'activité différentielle entre une image nouvelle et une image déjà vue est enregistrée dans le cortex périrhinal avant les premières réponses comportementales et est associée aux temps de réaction, contrairement à l'hippocampe
- Des activités en lien avec la mémoire de reconnaissance sont trouvées dans les lobes frontaux et pariétaux avant l'hippocampe
- Identification d'un système de mémoire de reconnaissance rapide indépendant de l'hippocampe

INTRODUCTION

La mémoire de reconnaissance est la capacité à déterminer qu'un stimulus a déjà été rencontré. C'est une habileté cognitive ultra efficace que nous utilisons quotidiennement sans forcément nous en rendre compte. Le système supportant cette mémoire possède une capacité de stockage massive et détaillée (Brady et al., 2008), peut faire intervenir la mémoire à long terme et est aussi très rapide puisque des réponses comportementales peuvent avoir lieu seulement 350 à 400 ms suivant la présentation du stimulus (Besson et al., 2012).

Deux régions du lobe temporal médian, le cortex périrhinal et l'hippocampe, sont très fortement impliquées dans la mémoire de reconnaissance mais leurs rôles respectifs sont contestés. Des lésions du cortex périrhinal entrainent un déficit de mémoire de reconnaissance plus important que des lésions dans d'autres régions cérébrales (Meunier et al., 1993; Bowles et al., 2007). De plus, des patients ayant des lésions hippocampiques arrivent à réaliser des tâches de mémoire de reconnaissance (Vargha-Khadem, 1997; Barbeau et al., 2011; Patai et al., 2015). Cependant, des résultats contradictoires ont été obtenus dans d'autres études (Manns et al., 2003). Il a alors été suggéré que le processus de familiarité dépendrait du cortex périrhinal et que le processus de recollection dépendrait de l'hippocampe. Des enregistrements intracérébraux ont cependant montré que l'activité enregistrée dans l'hippocampe pouvait être en lien avec la familiarité (Merkow et al., 2015). De plus, des neurones spécifiques à la familiarité ont été trouvés dans l'hippocampe de patients épileptiques (Rutishauser et al., 2006).

Dans cette étude, nous avons choisi d'adopter une toute nouvelle approche pour tenter de répondre à ce débat. Sachant que l'activité de l'hippocampe est plus tardive de quelques centaines de millisecondes en comparaison avec le cortex périrhinal (Barbeau et al., 2008; Mormann et al., 2008; Staresina et al., 2012), nous faisons l'hypothèse qu'il existe un système de mémoire rapide dépendant du cortex périrhinal mais ne nécessitant pas l'intervention de l'hippocampe.

MÉTHODES

Nous avons utilisé une tâche de mémoire de reconnaissance qui requiert que les sujets utilisent leur stratégie la plus rapide pour répondre (Besson et al., 2012; Barragan-Jason et al., 2013). Cette tâche comprend jusqu'à dix blocs, chacun composés d'une phase

d'encodage durant laquelle 30 images sont présentées avec l'instruction de les mémoriser, une phase distractrice durant laquelle un dessin-animé de 3 min est visionné, et une phase de reconnaissance avec la présentation des 30 images apprises et de 30 nouvelles images. C'est une tâche de type Go/No-go et l'objectif est de lever le doigt le plus rapidement possible d'un boitier infrarouge pour indiquer qu'une image a déjà été vue. Le temps de réponse est limité (à adapter en fonction du niveau cognitif des patients, entre 500 et 800 ms) et chaque réponse est suivie d'un feedback auditif pour indiquer au sujet s'il a bien répondu ou non. Nous nous intéressons plus particulièrement aux deux types de bonnes réponses à savoir les hits (quand une image déjà vue a correctement été reconnue) et aux rejets corrects (quand une nouvelle image a correctement été reconnue).

Cette tâche a été proposée à 14 patients épileptiques pharmaco-résistants durant l'exploration de leur épilepsie en SEEG. Ils ont tous donné leur consentement. Entre 8 et 13 macroélectrodes ont été implantées chez chaque patient. Le choix de la localisation des électrodes était déterminé exclusivement à partir de critères cliniques.

RÉSULTATS

- Les patients ont des performances similaires à celles de sujets contrôles appariés en âge, en termes de temps de réaction et de performance.
- Le cortex périrhinal est la première structure cérébrale dans laquelle une activité différentielle entre les hits et les rejets corrects est retrouvée (215 ms après la présentation du stimulus). C'est également dans cette région que cette activité dure le plus longtemps (~360 ms).
- Des activités différentielles sont ensuite retrouvées dans l'aire motrice supplémentaire (322 ms), puis dans les lobes pariétaux et frontaux (350 et 370 ms), et ce bien avant l'hippocampe (467 ms).
- La durée de la réponse évoquée dans le cortex périrhinal est corrélée avec les temps de réactions, contrairement à la durée de la réponse de l'hippocampe.
- Une grande partie des réponses comportementales sont déjà donnés avant qu'une activité différentielle ne soit détectée dans l'hippocampe.

DISCUSSION

Ces résultats suggèrent l'existence d'un système de mémoire de reconnaissance rapide ayant comme composante principale le cortex périrhinal. De plus, l'hippocampe ne semble pas pouvoir jouer un rôle dans ce système.

La participation des régions frontales et pariétales est cohérente avec l'idée d'un système de reconnaissance rapide activé avant un second système lié à l'activité hippocampique. Cela est en accord avec la notion selon laquelle le cortex périrhinal est la structure au plus haut niveau dans la hiérarchie de la voie visuelle ventrale en plus d'être impliquée dans la mémoire (Ranganath and Ritchey, 2012; Tamura et al., 2017).

Le cortex périrhinal et l'hippocampe doivent apporter une contribution différente à la mémoire de reconnaissance, comme cela a déjà été suggéré dans des modèles computationnels (Norman and O'Reilly, 2003). Cela pourrait correspondre à : (1) un système rapide en lien avec les interactions avec le monde (traitement des stimuli immédiatement pertinents) ; (2) un système plus lent en lien avec la récupération d'informations. Le changement entre l'attention portée au monde extérieur et l'attention portée au monde intérieur requiert une réorganisation majeure du cerveau (Brincat and Miller, 2016; Barbeau et al., 2017) et prend du temps, ce qui pourrait expliquer le délai observé entre le cortex périrhinal et l'hippocampe.

The Perirhinal Cortex Mediates a Fast Visual Recognition Memory System

Elodie Despouy[1,2,3*], Jonathan Curot[1,2,4], Martin Deudon[1,2], Ludovic Gardy[1,2], Marie Denuelle[4], Jean-Christophe Sol[5,6], Jean-Albert Lotterie[5,7], Luc Valton[1,2,4], Emmanuel J. Barbeau[1,2]

1- Centre de Recherche Cerveau et Cognition, Université de Toulouse, Université Paul Sabatier Toulouse, 31052, France.

2- Centre National de la Recherche Scientifique CerCo, Toulouse, 31052, France.

3- Dixi medical, Chaudefontaine, 25640, France.

4- Explorations neurophysiologiques, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse, 31059, France.

5- INSERM, U1214, TONIC, Toulouse Mind and Brain Institute, Toulouse, 31024, France

6- Neurochirurgie, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse, 31059, France

7- Radiochirurgie stéréotaxique, Hôpital Purpan, Université de Toulouse, Toulouse, 31059, France

*Corresponding Author: Elodie Despouy; CerCo CNRS UMR 5549, CHU Purpan Pavillon Baudot, BP 25202, 31052 Toulouse Cedex; +33(0)562746120; elodie.despouy@cnrs.fr

Running title: Perirhinal cortex and fast visual recognition memory

ABSTRACT

One key item of information retrieved when surveying our visual world is whether objects are familiar. However, there is no consensus on the respective roles of medial temporal lobe structures, particularly the perirhinal cortex and hippocampus. We considered whether the perirhinal cortex could support recognition memory independently of the hippocampus because it could support a fast recognition memory system *per se*. We recorded the intracerebral activity of epileptic patients while they were performing a visual recognition memory task requiring them to use their quickest strategy. The perirhinal cortex was, by far, the earliest region of the brain involved in recognition memory. This activity occurred before the first behavioural responses and was found to be related to reaction times, unlike the hippocampus. Significantly, recognition memory-related activity occurred in the frontal and parietal lobes before the hippocampus. These results are highly indicative of a fast recognition memory system mediated by the perirhinal cortex.

KEYWORDS

fast memory system; iEEG; perirhinal cortex; visual recognition memory

ABBREVIATIONS

ERP = Event Related Potential; iEEG = intracerebral EEG; MTL = Medial Temporal Lobes; minRTs = Minimum Reaction Times; MVPA = MultiVariate Pattern Analysis; SEEG = Stereoelectroencephalography; SMA = Supplementary Motor Area.

INTRODUCTION

We invariably survey our visual world for subsumed information. One key item of information retrieved during this process is whether or not objects are familiar. The system backing this ability has a massive and detailed storage capacity (Brady et al. 2008), can support very long-term memory (even for objects initially seen for only a few seconds (Larzabal et al. 2018)), and is also quite rapid as behavioural responses start to occur around 350-400 ms following presentation of the stimulus (Besson et al. 2012). This shows that the ability to recognise familiar objects is a powerful natural cognitive system.

How the brain actually processes recognition memory is unclear. Two regions of the medial temporal lobes, namely the perirhinal cortex and the hippocampus, are critically involved in this ability but their respective roles are contested. Lesions limited to the perirhinal cortex are sufficient to produce a severe loss in visual recognition memory tasks and this causes far more damage than that witnessed in any other single structure of the medial temporal lobes (Meunier et al. 1993; Winters et al. 2004; Bowles et al. 2007). In addition, the hippocampus is not needed to perform visual recognition memory tasks in patients with isolated lesions of this structure (Aggleton and Shaw 1996; Vargha-Khadem 1997; Mayes et al. 2002; Aggleton et al. 2005; Barbeau et al. 2011; Patai et al. 2015; Duzel et al. 2001). Contrasting results have, however, been reported in other apparently similar patients (Manns et al. 2003). To explain some of these conflicting results, some authors have suggested that the perirhinal cortex supports familiarity while the hippocampus is critical for recollection. However, intracerebral EEG (iEEG) recorded in the hippocampus of epileptic patients can be related to familiarity (Merkow et al. 2015). Likewise, familiarity neurons have

been recorded in the hippocampus of human patients (Rutishauser et al. 2006), which contradicts the idea of simple functional dichotomy between these structures.

This study adopts a completely novel approach to this debate. Given that the activity of the hippocampus is delayed by several tens of milliseconds compared to that of the perirhinal cortex (Barbeau et al. 2008; Mormann et al. 2008; Staresina et al. 2012), we assumed that the perirhinal cortex could support a fast recognition memory system bypassing the hippocampus. To identify this fast system, we used a specific recognition memory task requiring subjects to use their quickest strategy by applying a response deadline (Besson et al. 2012, 2015, 2017). Two concurring hypotheses could be tested in this way. Firstly, the perirhinal cortex should be activated before the quickest behavioural responses and the lagging hippocampus activity would not account for these. Secondly, the activity of the frontal and premotor areas, which drive behaviour, should also start prior to hippocampus activation.

MATERIALS AND METHODS

Patients

Fourteen patients with drug-refractory epilepsy were included in this study (6 women, median age: 34.5 years old, range: [21; 63], 8 right-handers and 2 ambidextrous). Fourteen healthy subjects were also included in order to compare behavioural performance (9 women, median age: 31 years old, range: [23; 66], all right-handers). Epileptic patients were admitted to the Epilepsy Monitoring Unit in Toulouse to identify their epileptic zone for possible subsequent resection. As non-invasive assessment failed to precisely indicate the spatial organisation of the epileptogenic zone, these patients underwent depth electrode implantation using stereoelectroencephalography (SEEG). The placement of all electrodes was

determined exclusively following clinical criteria. Each patient underwent specific implantation individually tailored to the seizure onset zone (i.e. patients did not systematically have electrodes implanted in the perirhinal cortex and hippocampus). The depth electrodes had a diameter of 0.8 mm and contained from 8 to 18 platinum/iridium contacts, 2 mm long (Microdeep depth electrode, DIXI medical, France). Eight to 13 depth electrodes were implanted stereotaxically in each patient (Supplementary Table 2).

Prior to implantation, all patients underwent a high-resolution 3T T1- weighted volumetric MRI. After electrode implantation, they underwent a high-resolution CT-scan. The pre-operative MRI and post-operative CT images were fused and normalised to the MNI brain atlas to exactly pinpoint each contact.

This study was approved by the local University Hospital Ethics Committee (CER No. 47-0913). Informed consent forms were signed for the implantation and use of EEG data for research purposes.

Recordings

Intracerebral EEG activity was recorded using two synchronised 64-channel acquisition systems (SystemPlus Evolution, SD LTM 64 EXPRESS, Micromed, France) at a sampling rate of 256 Hz for patients 1 and 2 and either at 1024 or 2048 Hz for the others (respectively, anti-aliasing filter: 115.8 Hz, 463.3 Hz and 926.7 Hz; high pass-filter: 0.15 Hz). No patients had seizures in the 6 hours leading up to the recordings.

Experimental task

We used a visual recognition memory task, namely the Speed and Accuracy Boosting procedure (SAB), which required subjects to use their quickest strategy as assessed in previous studies (Besson et al. 2012; Barragan-Jason et al. 2013). Each block began with an encoding phase during which 30 trial-specific stimuli (targets) were presented individually for at least 3s (self-paced) in the centre of a grey screen. Participants were explicitly instructed to remember all stimuli. This phase was followed by a distracting phase comprising the presentation of a 3- minute audible cartoon. The recognition memory phase followed, during which participants had to recognise the stimuli presented during the encoding phase, interspersed with 30 new stimuli (distractors) that they had never seen before. During this recognition phase, a short response deadline and an audio-feedback required subjects to answer as quickly and accurately as possible. Based on previous studies (Ranganath and Ritchey 2012), we used a response deadline between 500 and 800 ms depending on the patient's cognitive ability. This did not change the minimal reaction time (Supplementary Table 2). Responses were based on a go/no-go design. If a go-response was made before the response deadline, a positive audio-feedback was played if the stimulus was a target (hit) and a negative one if it was a distractor (false alarm) (Fig. 1). If a no-go response was made, a positive audio-feedback was played if the stimulus was a distractor (correct rejection), and a negative one if the stimulus was a target (miss). Participants answered by raising their finger from an infrared response pad as quickly as possible. The SAB is demanding and required one or two short training sessions, which were not included in subsequent analyses. Patients underwent 7 to 10 SAB blocks.

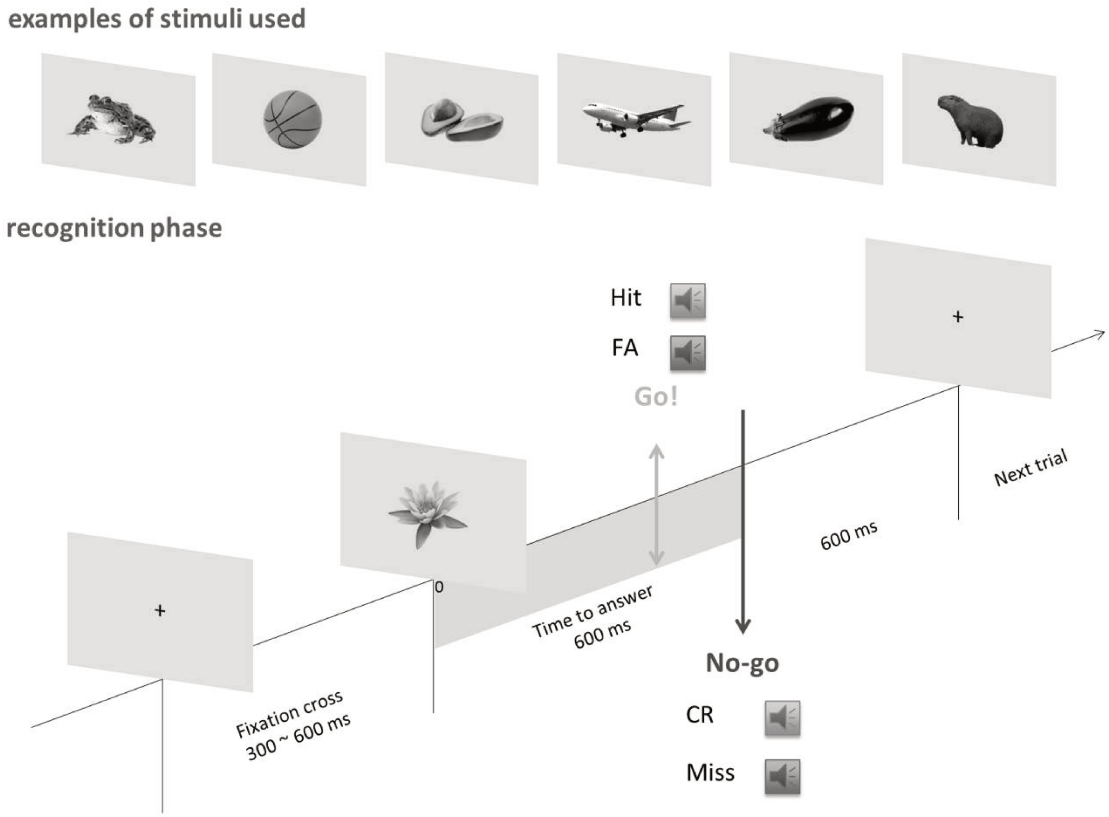


Figure 1 - Example of stimuli used during the encoding phase and illustration of the SAB procedure with a response deadline at 600 ms.

Behavioural performances analyses

In order to evaluate the subject's performance, d prime (discrimination ability) was computed for each participant (Rousselet et al. 2003). To estimate the minimal processing time required to recognise targets, the minimal behavioural reaction time (minRT) was computed by determining the latency at which correct go-responses (hits) started to significantly outnumber incorrect go-responses (false alarms) (Besson et al. 2012). For each participant, we used 30 ms time bins and a Fisher's exact test ($p < 0.05$), followed by at least two significant consecutive bins[3].

ERP processing

We used bipolar montage between adjacent macrocontacts to ensure that the signal recorded had a local origin (Lachaux et al. 2003). After downsampling to 256 Hz, ERPs were computed off-line using the MATLAB toolbox EEGlab v12.0.2.6b (Delorme and Makeig 2004) between 0 and 800 ms with a pre-stimulus baseline of 200 ms. Preliminary visual inspection of the EEG as well as manual artefact rejection procedures were used to reject the interictal activity period (an average of 14% of all trials (range: [8%-22%]) were excluded across participants). This procedure decreases the risk of including ERPs modified by the patients' epilepsy. As ERP recordings in the perirhinal cortex and hippocampus have already been studied and published completely independently of the current study, by us (i.e. in other patient groups or clinical settings (Barbeau et al. 2008, 2017)) or other groups (Trautner et al. 2004), we were also able to compare these and verify that they were similar or showed similar differential latencies.

To precisely track the time course of visual recognition memory while limiting possible confounding issues due to multiple comparisons, we performed a paired two-tailed permutation test based on the tmax statistic (Maris and Oostenveld 2007). This analysis was used to compare ERPs for hits versus correct rejections.

Multivariate Pattern Analysis (MVPA)

MVPA was conducted on single-trial ERPs (Cauchoix et al. 2014). A linear classifier was trained to discriminate between hits and correct rejections from single-trial individual time bins (4 ms) of the unfiltered iEEG signal across electrode sub-sets. Accurate measurements were derived by averaging the performance of the classifier over multiple random data splits. This type of decoding analysis characterises

temporal changes in the category signal. Each input (electrode potential) was normalised across trials in advance using normalisation between 0 and 1. A linear SVM classifier from liblinear (Fan et al. 2008) was used as a classifier. The total number of hits and correct rejections was balanced in the database using random under sampling.

To avoid overfitting, we used a nested cross validation (Pereira et al. 2009; Granholm et al. 2012). The 3 inner folds were used to tune the C parameter of the model. Then the accuracy of the best model was evaluated on the remaining outer fold. This process was repeated until all outer folds were used as the test set.

This procedure was repeated 10 times for contact sub-sets of interest. A single measure of accuracy was obtained by averaging the classification performance over all repetitions. Chance levels were measured by performing the same analysis on permuted labels. This allowed the latency of recognition information to be estimated via a paired two-tailed permutation test based on the tmax statistic (Maris and Oostenveld 2007), using a familiarity α-level of 0.05.

MVPA was computed on two adjacent contacts showing the highest amplitude in the perirhinal cortex and in the hippocampus (i.e. the same contacts that were used for the ERPs analyses, MNI coordinates available in Supplementary Table 1).

ERP image

We explored trial-to-trial differences in event-related EEG epochs using ERP-image plots (Delorme et al. 2015). The brain activity for each trial was coded as a row of values in an ERP-image matrix. Then, row vectors for the single trials were stacked and smoothed vertically (moving vector smoothing = 30 for the perirhinal cortex and the hippocampus and 10 for the supplementary motor area), forming an ERP-image

matrix of dimensions in terms of the number of epoch latencies x number of trials (Delorme et al. 2015). In order to relate cerebral activity with patient response, single trials were sorted by increasing reaction time latencies. We performed an analysis across patients by merging the different ERP images after amplitude normalisation using Z-scoring and polarity reversal if needed (the main component of interest was usually negative in the perirhinal cortex and positive in the hippocampus in most patients as in previous studies (Trautner et al. 2004; Barbeau et al. 2008); however, the position of the electrodes regarding the dipole can vary from patient to patient).

Two metrics were used to carry out correlation analyses with reaction times. In the perirhinal cortex, we computed the total time below 0 µV after the onset of the evoked response. We then averaged these durations per bin of 50 trials for correlations with RTs (we created super trials to reduce the noise that may occur in a single trial (Hebart et al. 2018)). In the supplementary motor area, we used the onset of the evoked response as our metric and then averaged these onset latencies per bin of 20 as there were less trials overall. Other numbers of trials were tested for both areas without changing the results. Onset latencies of evoked responses were determined using the median rule method (Letham and Raij 2011). A Pearson correlation coefficient was computed to assess the linear relationship between the evoked response duration and the reaction times in the perirhinal cortex or between the evoked response onset and the reaction time in the supplementary motor area. No correlation with the hippocampus was found using any of these metrics.

RESULTS

Behavioural performance

A recognition memory task requiring subjects to use their quickest strategy was given to fourteen patients with drug-refractory epilepsy. To assess whether their performance was similar to that of healthy subjects, their ability to discriminate between targets and distractors (d') and their minimum reaction times (minRTs, i.e. the moment when the number of hits significantly outnumber the number of false alarms) were compared with those of fourteen healthy matched subjects. No difference was observed (d': median = 1.46 [0.92; 2.54] for epileptic patients and 1.46 [0.82; 2.84] for healthy subjects, Mann-Whitney test, U=93, p = 0.83; minRTs: median = 450 ms [390;510] for epileptic patients and 420 ms [390; 480] for healthy subjects, Mann-Whitney test, U=135, p = 0.08, Supplementary Fig. 1).

Dissociation between the perirhinal cortex and the hippocampus

We recorded typical and focal ERPs in the perirhinal cortex and the hippocampus of the patients (Trautner et al. 2004; Barbeau et al. 2008) (see example in Fig. 2a). Differential activity between hits and correct rejections was recorded in these two structures. It occurred systematically earlier in the perirhinal cortex than in the hippocampus (median delay between the two structures = 273 ms, range = [137; 418] for 6 patients with electrodes simultaneously in the two structures (2 with bilateral implantations), Wilcoxon test, W=0, p = 0.007, Fig. 2b).

We also used a multivariate pattern analysis (Kamitani and Tong 2005; Cauchoix et al. 2014) (MVPA) to investigate the information carried in each single trial to distinguish activity between hits and correct rejections. The MVPA was computed between hits and correct rejections on 2 adjacent contacts located in the perirhinal

cortex (for 10 electrodes in 8 patients) and in the hippocampus (for 13 electrodes in 9 patients). Importantly, the decoding power recorded at the peak of maximum accuracy was similar between the perirhinal cortex and the hippocampus (median accuracy = 62%, Mann-Whitney test, U=88, $p = 0.48$) but occurred earlier in the perirhinal cortex compared to the hippocampus (median delay between both structures = 277 ms, Mann-Whitney test, U=0, $p < 0.001$) (Fig. 2c). Furthermore, the median decoding onset occurred 272 ms before the minRTs in the perirhinal cortex (range = [197; 417]), versus only 19 ms in the hippocampus (range = [-120; 68], Mann-Whitney test, U=150, $p < 0.001$; Fig. 2d). Critically, the decoding onset for MVPA was similar when applied only to the activity generated by the perirhinal cortex or the hippocampus or when applied simultaneously to activity from both the perirhinal cortex and the hippocampus (Mann-Whitney test, U=25, $p = 0.50$). The same finding was recorded when this analysis was carried out at the peak of maximum accuracy (U=35, $p = 0.79$). This implies that the interaction between these structures does not facilitate clearer differentiation of the activity related to hits and correct rejections, i.e. their contribution appears to be independent.

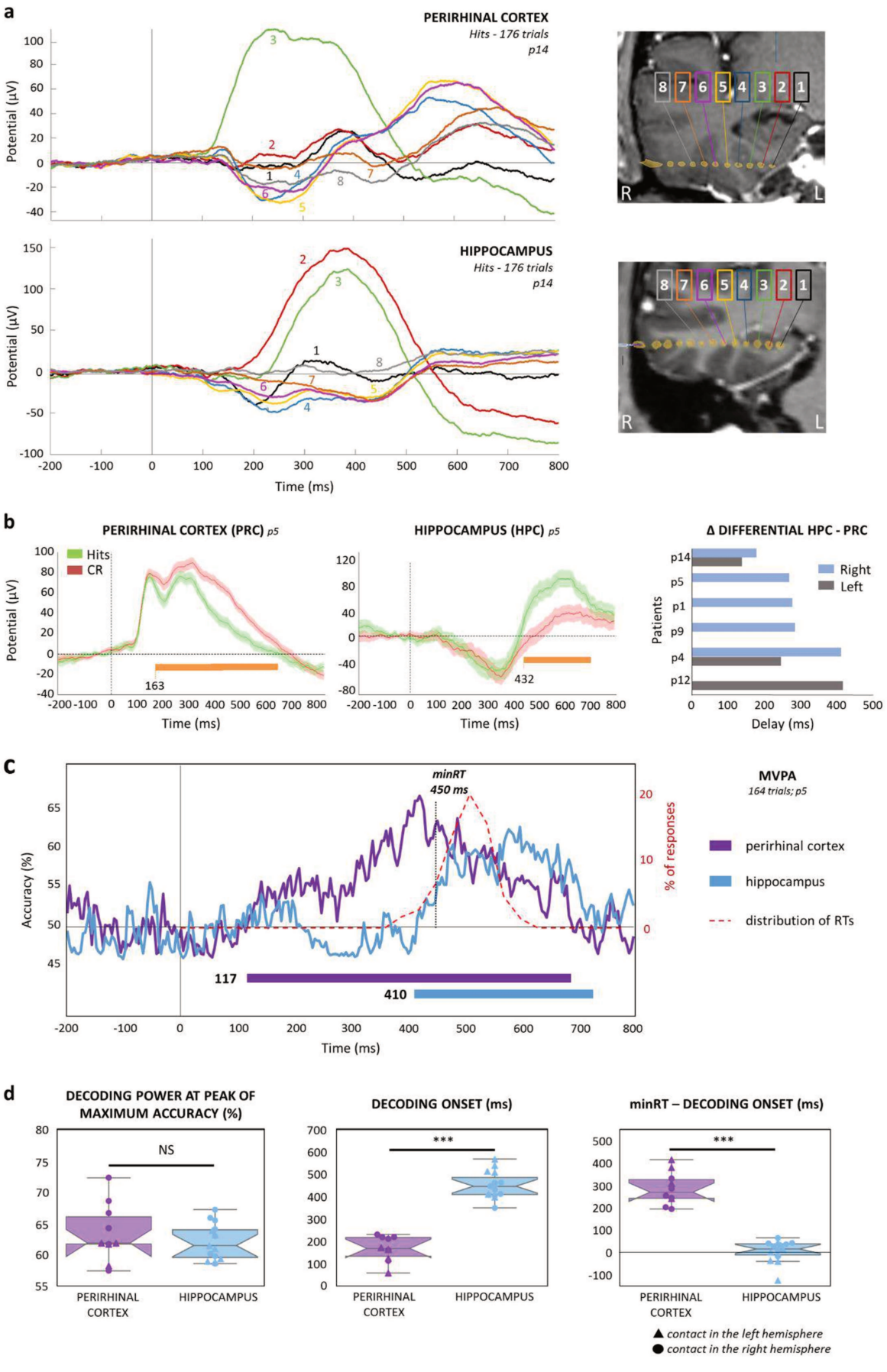

a
PERIRHINAL CORTEX
Hits - 176 trials
p14
Potential (μV)
HIPPOCAMPUS
Hits - 176 trials
p14
Time (ms)
8 7 6 5 4 3 2 1
R
L
b
PERIRHINAL CORTEX (PRC) p5
HIPPOCAMPUS (HPC) p5
Δ DIFFERENTIAL HPC - PRC
Hits
CR
163
432
Patients
p14
p5
p1
p9
p4
p12
Right
Left
Delay (ms)
c
minRT
450 ms
MVPA
164 trials; p5
perirhinal cortex
hippocampus
distribution of RTs
Accuracy (%)
% of responses
117
410
d
DECODING POWER AT PEAK OF MAXIMUM ACCURACY (%)
NS
DECODING ONSET (ms)
***
minRT – DECODING ONSET (ms)
***
PERIRHINAL CORTEX
HIPPOCAMPUS
▲ contact in the left hemisphere
● contact in the right hemisphere

Figure 2 – Electrophysiological activity recorded in the perirhinal cortex and in the hippocampus. **(a)** Example of focal ERPs recorded in the perirhinal cortex (contact 3) and in the hippocampus (contacts 2 and 3) of patient 14 (p14, monopolar montage). **(b)** Left: example of ERPs for hits and correct rejections (CR) recorded in the perirhinal cortex and in the hippocampus of patient 5 using bipolar montage (significant differences estimated from a permutation paired t-test using the tmax method are shown in orange). Right, onset of the differential activity recorded in the hippocampus (HPC) minus the onset recorded in the perirhinal cortex (PRC) for 6 patients with electrodes located in both structures (results sorted in increasing order of difference). The differential activity between hits and CR occurs systematically earlier (at least 140 ms) in the perirhinal cortex compared to the hippocampus, in both hemispheres. **(c)** Example of multivariate pattern analysis (MVPA) computed between hits and CR in the perirhinal cortex and in the hippocampus of patient 5. The distribution of reaction times is depicted by the dashed red line and the minimum reaction time (minRT) by the vertical black line. The decoding accuracy estimated from permuted labels was used to assess chance level. Paired two-tailed permutations tests were used to compute the latency of the first significant decoded bin (1 bin = 30 ms; horizontal purple line for the perirhinal cortex, blue line for the hippocampus). **(d)** Notched box plots of MVPA metrics obtained across the perirhinal cortex and the hippocampus.

Spatio-temporal dynamics of visual recognition memory throughout the whole brain

1450 contacts were recorded across the 14 patients and many areas of the brain displayed differential activity between hits and correct rejections suggesting their involvement in recognition memory (Fig. 3a). In order to perform statistical

comparisons, we selected a sub-set of brain regions according to the following criteria (Rutishauser et al. 2006): (1) ERPs exhibiting similar waveforms and latencies in the same region; (2) being generated focally, as demonstrated by polarity reversal between adjacent contacts and/or steep voltage gradient and high voltage fluctuations between adjacent contacts; (3) presenting differential activity between hits and correct rejections; (4) reaching a minimum of 3 patients per region across our population of 14 patients to ensure consistency, with the exception of the supplementary motor area (SMA) due to the scarcity of electrode implantation in this structure. If several contacts in the same region matched these criteria, the contacts showing the earliest differential activity between hits and correct rejections were selected. Contacts of both hemispheres were merged to increase power but are detailed in Supplementary Table 1.

A total of 74 bipolar contacts meeting these criteria were selected, corresponding to 10 different brain structures (Fig. 3b; MNI coordinates available in Supplementary Table 1 and details for each bipolar contact in Supplementary Fig. 2). Looking at the onset of the differential activity between hits and correct rejections in each structure, we found that the perirhinal cortex was the first structure in the brain where a differential activity occurred. It also lasted the longest. It should be noted that electrodes were also regularly implanted in the posterior and middle ventral visual pathway but did not show differential activity, or only of late onset and inconsistently. Differential activity then occurred simultaneously in the supplementary motor area, the second fastest region after the perirhinal cortex, as well as in a number of frontal and parietal areas. The last structures where differential activity was observed were other regions of the medial temporal lobes such as the amygdala, hippocampus and temporal pole as well as the anterior cingulum (Fig. 3c).

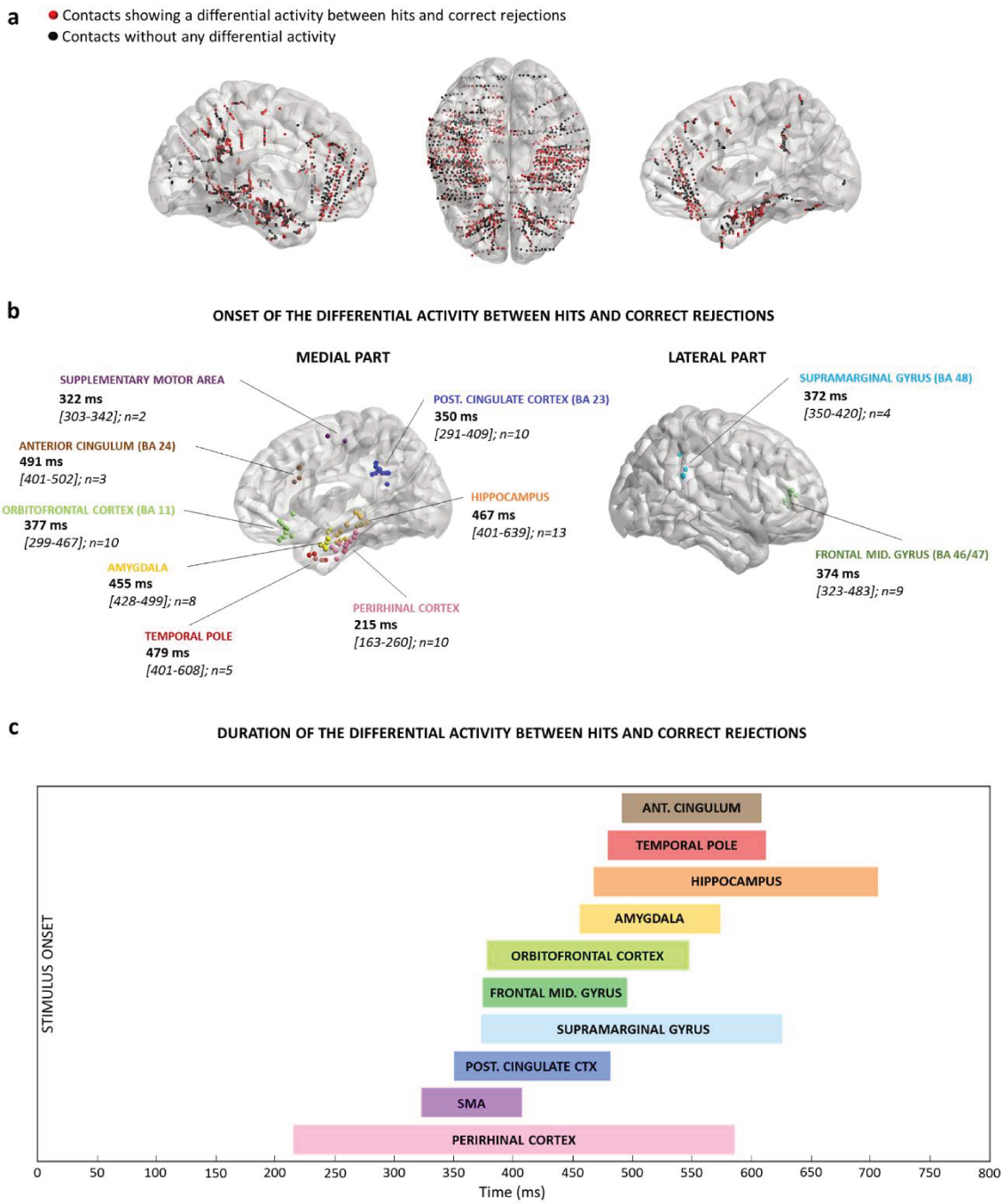


Figure 3 – Spatio-temporal dynamics of visual recognition memory throughout the whole brain. **(a)** A large number of contacts (in red) recorded across the 14 patients displayed differential activity between hits and correct rejections. **(b)** 74 bipolar contacts were selected, corresponding to 10 different brain structures following criteria (see text). For each structure, the median of the minimal differential activity (in bold), the range and the number of bipolar contacts (n) are represented. Each dot represents

the bipolar contact of a different electrode. Further information is provided in Fig. S2. **(c)** Duration of the differential activities between hits and correct rejections across the 10 brain structures in all patients. SMA: supplementary motor area.

Correlation between ERPs and reaction times

ERP images are plots of event-related single-trial activities ordered in this study in terms of increasing reaction times (RTs) across patients after amplitude normalisation (Fig. 4a, upper panel). The duration of the first specific evoked response (Fig. 4a, bottom panel) correlated to RTs in the perirhinal cortex (the longer the evoked response, the longer the RTs) whereas no such correlation was observed in the hippocampus (Pearson correlation, $r^2 = 0.79$, $p<0.001$ in the perirhinal cortex and $r^2 = 0.30$, $p = 0.06$ in the hippocampus) (Fig. 4b). This correlation also applied for the perirhinal cortex, but not for the hippocampus, when data were averaged within patients as the duration of this evoked response correlated with the median reaction time of each patient (Pearson correlation, $r^2 = 0.70$, $p = 0.03$ in the perirhinal cortex and $r^2 = 0.17$, $p = 0.57$ in the hippocampus) (Fig. 4c). A different pattern was observed in the supplementary motor area where the onset of the evoked response was strongly linked to the RTs, about 150 ms earlier (Pearson correlation, $r^2= 0.92$, $p<0.001$) (Fig. 4d). No correlation could be identified with the hippocampus.

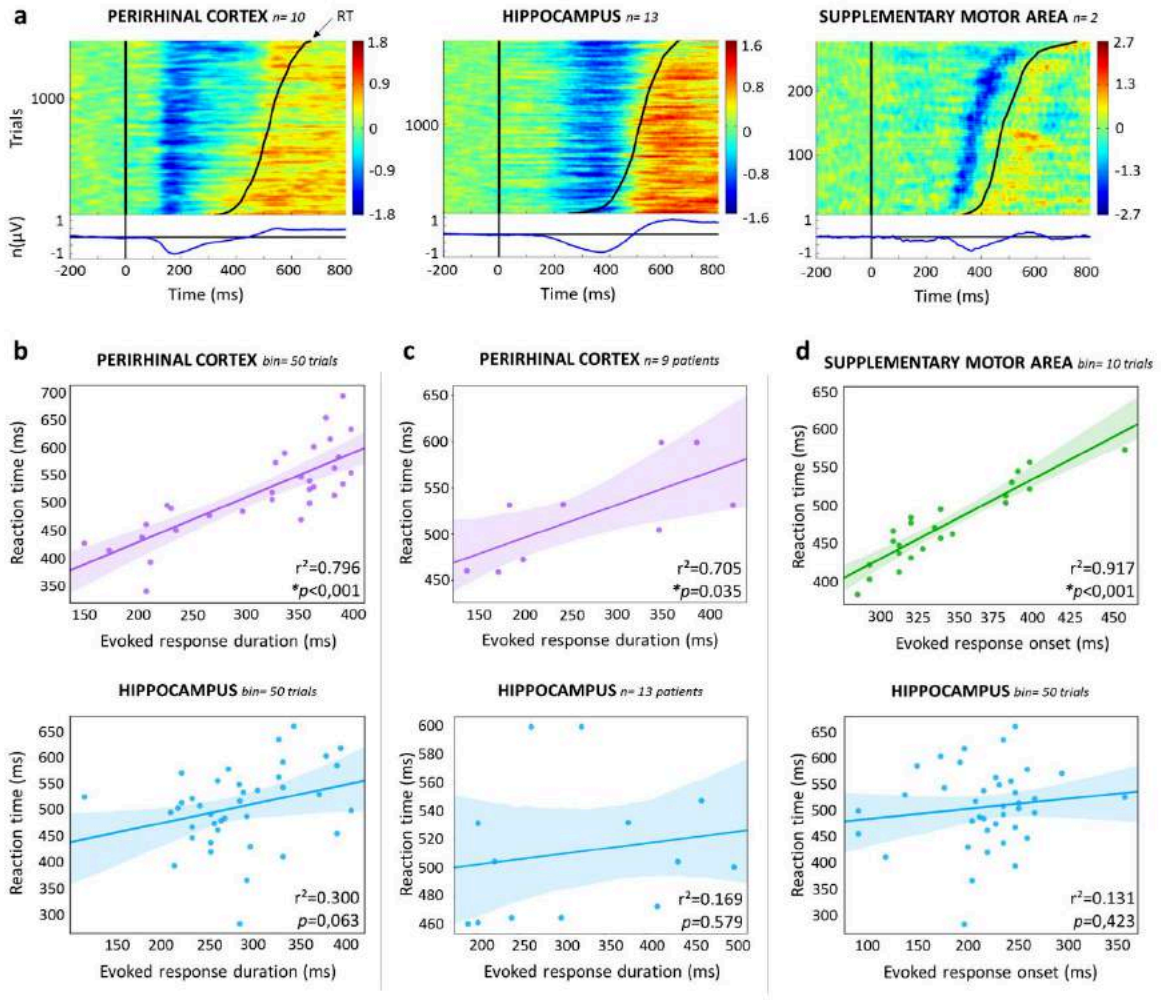


Figure 4 – Correlation between ERPs and reaction times. **(a)** Upper panel: single-trial ERP images ordered by reaction times (represented by the black curve). They were computed for each structure across patients after amplitude normalisation, polarity adjustment and vertical smoothing across trials. Bottom panel: the blue line represents the evoked response averaged across trials. **(b)** Two different patterns could be observed across patients following the single-trial ERP images. The duration of the evoked response correlated to the RTs in the perirhinal cortex but not in the hippocampus. Each dot represents data binned across trials (bin = 50). **(c)** A within patient (rather than across patients as in B and D) analysis also indicated that the duration of the evoked response in the perirhinal cortex correlated with the median

reaction time of each patient (each dot is a patient). No such correlation was observed in the hippocampus. **(d)** In the supplementary motor area, the onset of the evoked response correlated to the RTs (bin = 20).

DISCUSSION

In this study, we can identify a fast visual recognition memory system. The core component of this system is the perirhinal cortex. Moreover, the hippocampus is unlikely to play a role in this fast system.

Across the whole brain, the perirhinal cortex was the inceptive region displaying differential activity between hits and correction rejections in a specific recognition memory task. The most notable finding was that this differential activity reliably occurred much earlier (about 100 ms) than in any other region of the brain. This activity preceded behavioural responses and was found to be related to reaction times across, but also within patients, as the perirhinal evoked response correlated to median reaction times. The next fastest region was the supplementary motor area (SMA), whose activity strongly correlated to reaction times. This region is involved in the motor planning and execution of the response (Cona and Semenza 2017). These two regions thus defined a fast recognition memory system, which we could identify using a recognition memory task that required subjects to use their quickest strategy.

In contrast, the differential activity recorded in the hippocampus occurred remarkably late, about 270 ms after that of the perirhinal cortex, which strongly supports the idea that the perirhinal cortex is involved in a fast system while the hippocampus is involved in a different, much slower system. Furthermore, it appears that, in many instances, the differential activity in the hippocampus started too late to

account for the fastest reaction times because the median difference between single-trial decoding onset and the minimum reaction time was about 20 ms. This means that, in some patients, the fastest behavioural responses occurred earlier than the onset of the differential activity in the hippocampus. The delay between the onset of the differential activity in the perirhinal cortex and the SMA was about 100 ms (Fig. 3c). As there is no reason, as far as we know, to suggest that the hippocampus is connected to the SMA by a faster route, this, in fact, indicates that much of the activity of the hippocampus occurs too late to be involved in most of the fastest behavioural responses. In addition, we could not find any relationship between hippocampal activity and reaction times contrary to the perirhinal cortex or SMA. Importantly, decoding analyses indicated that the level of decoding was similar in both the perirhinal cortex and the hippocampus and that decoding involving both regions simultaneously did not increase decoding accuracy. This strongly suggests that the perirhinal cortex and the hippocampus make an independent contribution to recognition memory, albeit at different time frames. Overall, it is highly unlikely that the hippocampus is involved in the fastest behavioural responses as assessed in this study.

We initially predicted that the activity of the hippocampus occurred too late to account for the fastest behavioural responses. Hence, we should be able to identify differential activities in the frontal lobes areas occurring after the perirhinal cortex but before the hippocampus. This was indeed what we found. A number of areas in the frontal region as well as the parietal lobes (and the SMA), displayed differential activity occurring earlier than in the hippocampus. In fact, these frontal and parietal lobe areas also showed earlier differential activity than other medial temporal lobe areas (such as the amygdala and temporal pole) highlighting, within MTL structures, the specific and pivotal role of the perirhinal cortex in visual recognition memory. The participation of

these frontal and parietal regions is also consistent with the concept of a fast recognition memory system activated before a second system related to hippocampal activity.

It may seem surprising that the delay between the perirhinal cortex and the hippocampus is so protracted. A simpler model could be that the perirhinal cortex initially processes familiarity, which would then be rapidly relayed to the hippocampus via the entorhinal cortex. The speeded recognition memory task we used may, in fact, have helped to show that these two structures belong to two completely different systems. This may not have been apparent in earlier electrophysiological studies where no speed constraint was used (Delorme and Makeig 2004). Overall, our findings reveal a two-stage model in which the perirhinal cortex is initially involved in the early detection of familiar objects followed by activation of other frontal and parietal cortical areas. This finding is consistent with the notion that the perirhinal cortex is the highest area in the hierarchy of the visual ventral stream whilst also being related to memory (Ranganath and Ritchey 2012; Tamura et al. 2017). Essentially, this fast recognition memory system could have a strong ecological value, as this is the one potentially used to react at a glance. Following on from this initial stage, the hippocampus and other MTL areas are activated, probably making a qualitatively different contribution to recognition memory as postulated in neurocomputational models (Norman and O'Reilly 2003), and possibly with greater confidence (Rutishauser et al. 2015). These two stages may correspond to two fundamentally different cognitive entities: the fast system being related to an interaction with the world (i.e., processing of immediate relevant stimuli present in our environment), while the slower system would be related to the retrieval of other information from memory. The switch from attention paid to the external world to attention paid to the internal world may require major reorganisation

of the brain (Brincat and Miller 2016; Barbeau et al. 2017) and prove time-consuming, hence the delay between the perirhinal cortex and hippocampus.

In this study, we intended to avoid reference to predominant familiarity / recollection dichotomy. Firstly, we make no claim as to the cognitive processes used by our subjects in our fast recognition memory task, although there are signs that it is mainly familiarity (Sauvage et al. 2010; Ranganath and Ritchey 2012). Secondly, as we have seen, familiarity signals or neurons can sometimes be identified in the hippocampus (Rutishauser et al. 2006; Merkow et al. 2015), suggesting that familiarity may depend on different MTL structures. Ultimately our approach, which departs from conventional theory, allowed us to identify a fast recognition memory system that may be more akin to neurophysiological brain systems.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Fondation Française pour la Recherche sur l'Epilepsie (Prix Marion Clignet); a technological and innovation call from the Toulouse University Hospital and by the European Research Council, under the European Union's Seventh Framework Programme (FP/2007-2013) / ERC Grant Agreement N. 323711 (M4 project).

CONFLICT OF INTERESTS

ED is funded through a CIFRE Industrial Research Agreement (No. 2015/1135) signed between Dixi Medical and the Centre de recherche Cerveau et cognition (CerCo). The remaining authors have no competing interests.

REFERENCES

Aggleton JP, Shaw C. 1996. Amnesia and recognition memory: A re-analysis of psychometric data. Neuropsychologia. 34:51–62.

Aggleton JP, Vann SD, Denby C, Dix S, Mayes AR, Roberts N, Yonelinas AP. 2005. Sparing of the familiarity component of recognition memory in a patient with hippocampal pathology. Neuropsychologia. 43:1810–1823.

Barbeau EJ, Chauvel P, Moulin CJA, Regis J, Liégeois-Chauvel C. 2017. Hippocampus duality: Memory and novelty detection are subserved by distinct mechanisms: HIPPOCAMPUS DUALITY. Hippocampus. 27:405–416.

Barbeau EJ, Pariente J, Felician O, Puel M. 2011. Visual recognition memory: A double anatomo-functional dissociation. Hippocampus. 929–934.

Barbeau EJ, Taylor MJ, Regis J, Marquis P, Chauvel P, Liegeois-Chauvel C. 2008. Spatio temporal Dynamics of Face Recognition. Cereb Cortex. 18:997–1009.

Barragan-Jason G, Besson G, Ceccaldi M, Barbeau EJ. 2013. Fast and Famous: Looking for the Fastest Speed at Which a Face Can be Recognized. Front Psychol. 4.

Besson G, Barragan-Jason G, Thorpe SJ, Fabre-Thorpe M, Puma S, Ceccaldi M, Barbeau EJ. 2017. From face processing to face recognition: Comparing three different processing levels. Cognition. 158:33–43.

Besson G, Ceccaldi M, Didic M, Barbeau EJ. 2012. The speed of visual recognition memory. Vis Cogn. 20:1131–1152.

Besson G, Ceccaldi M, Tramoni E, Felician O, Didic M, Barbeau EJ. 2015. Fast, but not slow, familiarity is preserved in patients with amnestic mild cognitive impairment. Cortex. 65:36–49.

Bowles B, Crupi C, Mirsattari SM, Pigott SE, Parrent AG, Pruessner JC, Yonelinas AP, Köhler S. 2007. Impaired familiarity with preserved recollection after anterior temporal-lobe resection that spares the hippocampus. Proc Natl Acad Sci. 104:16382–16387.

Brady TF, Konkle T, Alvarez GA, Oliva A. 2008. Visual long-term memory has a massive storage capacity for object details. Proc Natl Acad Sci. 105:14325–14329.

Brincat SL, Miller EK. 2016. Prefrontal Cortex Networks Shift from External to Internal Modes during Learning. J Neurosci. 36:9739–9754.

Cauchoix M, Barragan-Jason G, Serre T, Barbeau EJ. 2014. The Neural Dynamics of Face Detection in the Wild Revealed by MVPA. J Neurosci. 34:846–854.

Cona G, Semenza C. 2017. Supplementary motor area as key structure for domain-general sequence processing: A unified account. Neurosci Biobehav Rev. 72:28–42.

Delorme A, Makeig S. 2004. EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. J Neurosci Methods. 134:9–21.

Delorme A, Miyakoshi M, Jung T-P, Makeig S. 2015. Grand average ERP-image plotting and statistics: A method for comparing variability in event-related single-trial EEG activities across subjects and conditions. J Neurosci Methods. 250:3–6.

Duzel E, Vargha-Khadem F, Heinze HJ, Mishkin M. 2001. Brain activity evidence for recognition without recollection after early hippocampal damage. Proc Natl Acad Sci. 98:8101–8106.

Fan R-E, Chang K-W, Hsieh C-J, Wang X-R, Lin C-J. 2008. LIBLINEAR: A Library for Large Linear Classification. J Mach Learn Res. 9:1871–1874.
Granholm V, Noble WS, Käll L. 2012. A cross-validation scheme for machine learning algorithms in shotgun proteomics. BMC Bioinformatics. 13:S3.
Hebart MN, Bankson BB, Harel A, Baker CI, Cichy RM. 2018. The representational dynamics of task and object processing in humans. eLife. 7:e32816.
Kamitani Y, Tong F. 2005. Decoding the visual and subjective contents of the human brain. Nat Neurosci. 8:679–685.
Lachaux JP, Rudrauf D, Kahane P. 2003. Intracranial EEG and human brain mapping. J Physiol-Paris. 97:613–628.
Larzabal C, Tramoni E, Muratot S, Thorpe SJ, Barbeau EJ. 2018. Extremely long-term memory and familiarity after 12 years. Cognition. 170:254–262.
Letham B, Raij T. 2011. Statistically robust measurement of evoked response onset latencies. J Neurosci Methods. 194:374–379.
Manns JR, Hopkins RO, Reed JM, Kitchener EG, Squire LR. 2003. Recognition Memory and the Human Hippocampus. Neuron. 37:171–180.
Maris E, Oostenveld R. 2007. Nonparametric statistical testing of EEG- and MEG-data. J Neurosci Methods. 164:177–190.
Mayes AR, Holdstock JS, Isaac CL, Hunkin NM, Roberts N. 2002. Relative sparing of item recognition memory in a patient with adult-onset damage limited to the hippocampus. Hippocampus. 12:325–340.
Merkow MB, Burke JF, Kahana MJ. 2015. The human hippocampus contributes to both the recollection and familiarity components of recognition memory. Proc Natl Acad Sci. 112:14378–14383.
Meunier M, Bachevalier J, Mishkin M, Murray EA. 1993. Effects on visual recognition of combined and separate ablations of the entorhinal and perirhinal cortex in rhesus monkeys. J Neurosci. 13:5418–5432.
Mormann F, Kornblith S, Quiroga RQ, Kraskov A, Cerf M, Fried I, Koch C. 2008. Latency and Selectivity of Single Neurons Indicate Hierarchical Processing in the Human Medial Temporal Lobe. J Neurosci. 28:8865–8872.
Norman KA, O'Reilly RC. 2003. Modeling hippocampal and neocortical contributions to recognition memory: A complementary-learning-systems approach. Psychol Rev. 110:611–646.
Patai EZ, Gadian DG, Cooper JM, Dzieciol AM, Mishkin M, Vargha-Khadem F. 2015. Extent of hippocampal atrophy predicts degree of deficit in recall. Proc Natl Acad Sci. 112:12830–12833.
Pereira F, Mitchell T, Botvinick M. 2009. Machine learning classifiers and fMRI: A tutorial overview. NeuroImage. 45:S199–S209.
Ranganath C, Ritchey M. 2012. Two cortical systems for memory-guided behaviour. Nat Rev Neurosci. 13:713–726.
Rousselet GA, Macé MJ-M, Fabre-Thorpe M. 2003. Is it an animal? Is it a human face? Fast processing in upright and inverted natural scenes. J Vis. 3:5–5.
Rutishauser U, Mamelak AN, Schuman EM. 2006. Single-Trial Learning of Novel Stimuli by Individual Neurons of the Human Hippocampus-Amygdala Complex. Neuron. 49:805–813.
Rutishauser U, Ye S, Koroma M, Tudusciuc O, Ross IB, Chung JM, Mamelak AN. 2015. Representation of retrieval confidence by single neurons in the human medial temporal lobe. Nat Neurosci. 18:1041–1050.
Sauvage MM, Beer Z, Eichenbaum H. 2010. Recognition memory: Adding a response deadline eliminates recollection but spares familiarity. Learn Mem. 17:104–108.

Staresina BP, Fell J, Do Lam ATA, Axmacher N, Henson RN. 2012. Memory signals are temporally dissociated in and across human hippocampus and perirhinal cortex. Nat Neurosci. 15:1167–1173.
Tamura K, Takeda M, Setsuie R, Tsubota T, Hirabayashi T, Miyamoto K, Miyashita Y. 2017. Conversion of object identity to object-general semantic value in the primate temporal cortex. Science. 357:687–692.
Trautner P, Dietl T, Staedtgen M, Mecklinger A, Grunwald T, Elger CE, Kurthen M. 2004. Recognition of famous faces in the medial temporal lobe: An invasive ERP study. Neurology. 63:1203–1208.
Vargha-Khadem F. 1997. Differential Effects of Early Hippocampal Pathology on Episodic and Semantic Memory. Science. 277:376–380.
Winters BD, Forwood SE, Cowell RA, Saksida LM, Bussey TJ. 2004. Double Dissociation between the Effects of Peri-Postrhinal Cortex and Hippocampal Lesions on Tests of Object Recognition and Spatial Memory: Heterogeneity of Function within the Temporal Lobe. J Neurosci. 24:5901–5908.

SUPPORTING INFORMATION

Supplementary Table 1

MNI coordinates of each contact of interest included in the analysis of the spatio-temporal dynamics of visual recognition memory

Location	Hemisphere	Patient	MNI X	MNI Y	MNI Z
Amygdala	Left	1	-31	4	-28
Amygdala	Left	2	-28	-4	-16
Amygdala	Left	5	-27	-2	-18
Amygdala	Left	7	-18	0	-31
Amygdala	Right	5	20	-1	-26
Amygdala	Right	6	15	-2	-23
Amygdala	Right	8	22	-1	-26
Amygdala	Right	10	30	1	-29
Post Cingulate cortex (BA 23)	Left	1	-8	-51	30
Post Cingulate cortex (BA 23)	Left	2	-14	-41	30
Post Cingulate cortex (BA 23)	Left	4	-17	-49	30
Post Cingulate cortex (BA 23)	Left	5	-7	-44	33
Post Cingulate cortex (BA 23)	Left	6	-14	-46	30
Post Cingulate cortex (BA 23)	Left	13	-11	-50	21
Post Cingulate cortex (BA 23)	Left	14	-11	-43	32
Post Cingulate cortex (BA 23)	Right	7	3	-41	35
Post Cingulate cortex (BA 23)	Right	10	8	-41	38
Post Cingulate cortex (BA 23)	Right	11	9	-38	29
Ant Cingulum (BA 24)	Left	9	-8	21	34
Ant Cingulum (BA 24)	Right	8	7	21	26
Ant Cingulum (BA 24)	Right	11	8	25	23
Frontal mid gyrus (BA 46/47)	Left	4	-35	48	11
Frontal mid gyrus (BA 46/47)	Left	5	-32	45	15

Frontal mid gyrus (BA 46/47)	Left	6	-39	42	7
Frontal mid gyrus (BA 46/47)	Left	14	-26	43	12
Frontal mid gyrus (BA 46/47)	Right	4	37	42	2
Frontal mid gyrus (BA 46/47)	Right	5	36	39	5
Frontal mid gyrus (BA 46/47)	Right	6	40	39	7
Frontal mid gyrus (BA 46/47)	Right	7	21	43	15
Frontal mid gyrus (BA 46/47)	Right	10	22	40	25
Orbitofrontal cortex. (BA 11)	Left	2	-11	26	-3
Orbitofrontal cortex. (BA 11)	Left	5	-11	32	-18
Orbitofrontal cortex. (BA 11)	Left	6	-22	37	-9
Orbitofrontal cortex. (BA 11)	Left	8	-9	37	-24
Orbitofrontal cortex. (BA 11)	Left	10	-11	31	-15
Orbitofrontal cortex. (BA 11)	Left	14	-11	32	-14
Orbitofrontal cortex. (BA 11)	Left	5	-17	35	-11
Orbitofrontal cortex. (BA 11)	Right	4	14	33	-22
Orbitofrontal cortex. (BA 11)	Right	7	17	35	-22
Orbitofrontal cortex. (BA 11)	Right	10	13	27	-21
Ant Hippocampus	Left	5	-28	-12	-17
Ant Hippocampus	Left	13	-30	-17	-12
Ant Hippocampus	Left	14	-21	-9	-20
Ant Hippocampus	Right	7	36	-16	-23
Ant Hippocampus	Right	9	35	-9	-26
Ant Hippocampus	Right	14	33	-12	-24
Post Hippocampus	Left	4	-33	-27	-4
Post Hippocampus	Left	6	-33	-28	-6
Post Hippocampus	Left	12	-31	-24	-2
Post Hippocampus	Right	1	27	-30	-11
Post Hippocampus	Right	4	36	-25	-13
Post Hippocampus	Right	5	29	-33	-10
Post Hippocampus	Right	6	36	-28	-12

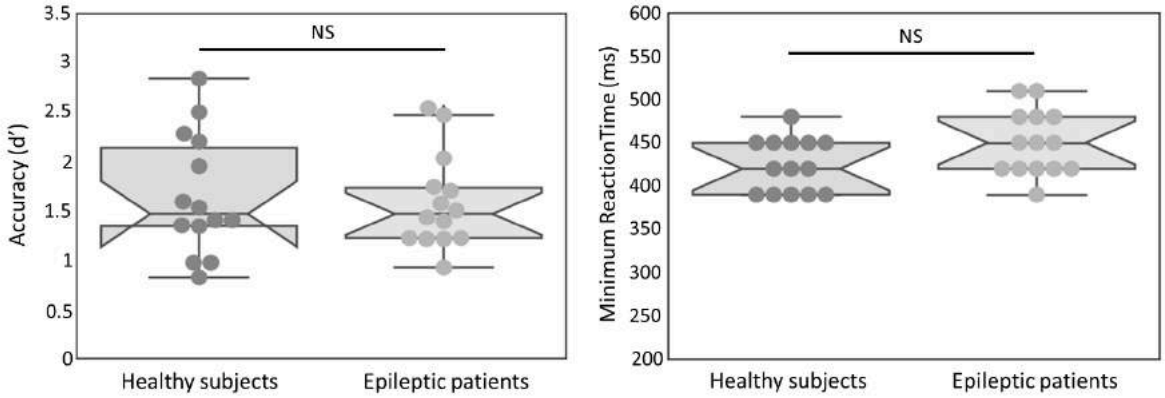
Perirhinal cortex	Left	4	-33	-11	-27
Perirhinal cortex	Left	9	-42	-16	-29
Perirhinal cortex	Left	12	-29	-5	-30
Perirhinal cortex	Left	14	-38	-20	-25
Perirhinal cortex	Right	1	43	-16	-31
Perirhinal cortex	Right	2	30	-24	-18
Perirhinal cortex	Right	4	37	-15	-33
Perirhinal cortex	Right	5	38	-23	-22
Perirhinal cortex	Right	9	43	-17	-27
Perirhinal cortex	Right	14	31	-8	-33
Supplementary motor area	Left	3	-1	-16	56
Supplementary motor area	Right	8	2	-2	60
Supramarginal gyrus (BA 48)	Left	2	-61	-43	27
Supramarginal gyrus (BA 48)	Left	5	-29	-46	44
Supramarginal gyrus (BA 48)	Left	14	-36	-41	32
Supramarginal gyrus (BA 48)	Right	7	54	-43	26
Temporal pole	Left	6	-22	13	-36
Temporal pole	Right	6	24	0	-40
Temporal pole	Right	8	21	9	-35
Temporal pole	Right	11	34	3	-40
Temporal pole	Right	14	24	8	-39

Supplementary Table 2

Patients' clinical characteristics.

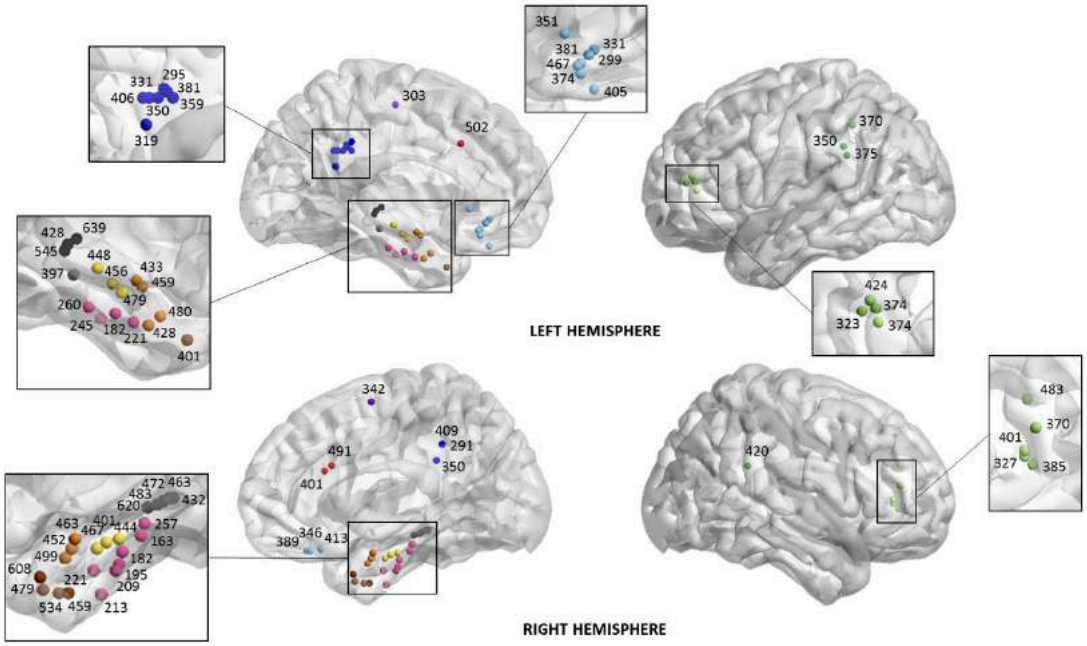
Subject	Gender	Age	Handedness	Epileptogenic zone	Aetiology	Language laterality	No. of electrodes	No. of contacts	No. of experimental blocks	Performance (d')	Minimum reaction time (ms)
1	F	33	R	Left temporal cortex (anterior and medial)	Hippocampal sclerosis	Right	10	109	8	2.03	420
2	M	47	A	Left temporal cortex (medial)	Hippocampal sclerosis	Left	9	109	10	1.22	420
3	M	21	L	Left parietal and frontal cortex	Sequelae of ischemic stroke	Left	11	103	8	1.22	420
4	M	40	R	Left temporal cortex (lateral and medial)	Hippocampal sclerosis	Left	11	100	8	1.22	420
5	F	37	R	Left temporal cortex (medial)	Arteriovenous malformation + Hippocampal sclerosis	Left	11	110	10	1.74	450
6	F	42	R	Left temporal cortex (medial and polar)	Meningo-encephalocelis	Left	13	108	10	0.92	480
7	M	35	R	Right and left temporal cortex	Cryptogenic	Left	13	107	7	1.57	450
8	M	21	R	Left ventral frontal cortex	Malformation of cortical development	Left	13	108	8	2.54	390
9	M	24	L	Left temporal cortex (anterior and lateral)	Hippocampal sclerosis	Left	12	112	10	1.43	480
10	M	34	L	Right and left temporal lobe	Sequelae of head injury	Left	12	94	10	1.39	420
11	F	63	L	Right anterior cingular cortex	Cortical dysplasia	Right	13	105	10	1.50	510
12	F	32	R	Left temporal cortex (anterior and medial)	Hippocampal sclerosis	Left	11	105	10	1.21	480
13	F	31	A	Left frontal and temporal cortex (medial)	Cryptogenic	Left	8	74	10	1.70	450
14	M	41	R	Left temporal cortex (medial)	Hippocampal sclerosis	Left	11	106	8	2.47	510

Supplementary Figure 1



Notched box plots of d' and minimal reaction times recorded in healthy subjects and the group of epileptic patients. No significant differences (Mann-Whitney tests, P>0.05) were found between the two groups, suggesting that the performance of epileptic patients can be considered normal.

Figure S2



Details of the onset of differential activity between hits and correct rejections for each bipolar contact of interest, in both hemispheres.

2 Analyses neuronales pendant les tâches cognitives

Suite aux résultats de cette étude, nous avons souhaité aller plus loin en analysant les activités neuronales enregistrées lors de cette tâche, notamment dans le cortex périrhinal et dans l'hippocampe mais également dans l'aire motrice supplémentaire et dans les régions frontales et pariétales. Cependant, nous avons manqué de temps et les résultats sont pour le moment toujours en cours d'analyse. Les résultats préliminaires d'une autre tâche sont présentés dans cette partie.

Une tâche de screening est proposée quotidiennement aux patients. Elle consiste simplement en la présentation d'images au centre d'un écran. La particularité de cette tâche est que les images présentées font partie des centres d'intérêt des patients, le but étant d'avoir le plus de chances possibles de trouver des neurones spécifiques d'un stimulus. Nous nous focalisons ici sur deux patientes : la patiente 13 et la patiente 30.

- Le cas de la patiente 13

Deux électrodes hybrides sont particulièrement intéressantes chez cette patiente. Une est implantée dans la partie superficielle de l'amygdale droite (possiblement dans le gyrus ambiens), et l'autre dans l'amygdale gauche (Figure 61).

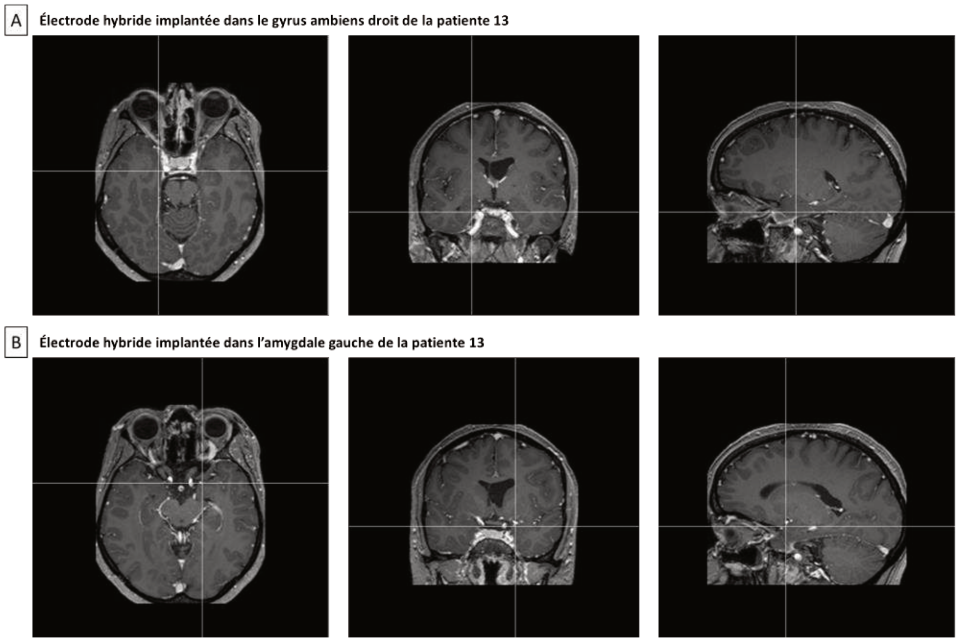


Figure 61 – Localisation des deux électrodes hybrides d'intérêt implantées dans le gyrus ambiens droit et dans l'amygdale gauche de la patiente 13.

Lors de la session de screening, 115 images ont été présentées à cette patiente (il s'agissait principalement de photographies d'acteurs, de chanteurs, de fleurs et d'animaux). Sur les deux électrodes hybrides d'intérêt, trois neurones ont présenté une augmentation du taux de décharge en réponse à des photos d'actrices (Ashley Greene et Renée Zellweger) et à la photo d'un chanteur (Kendji Girac) (Figure 62). Leur taux de décharge n'a pas été modulé par la présentation d'autres images.

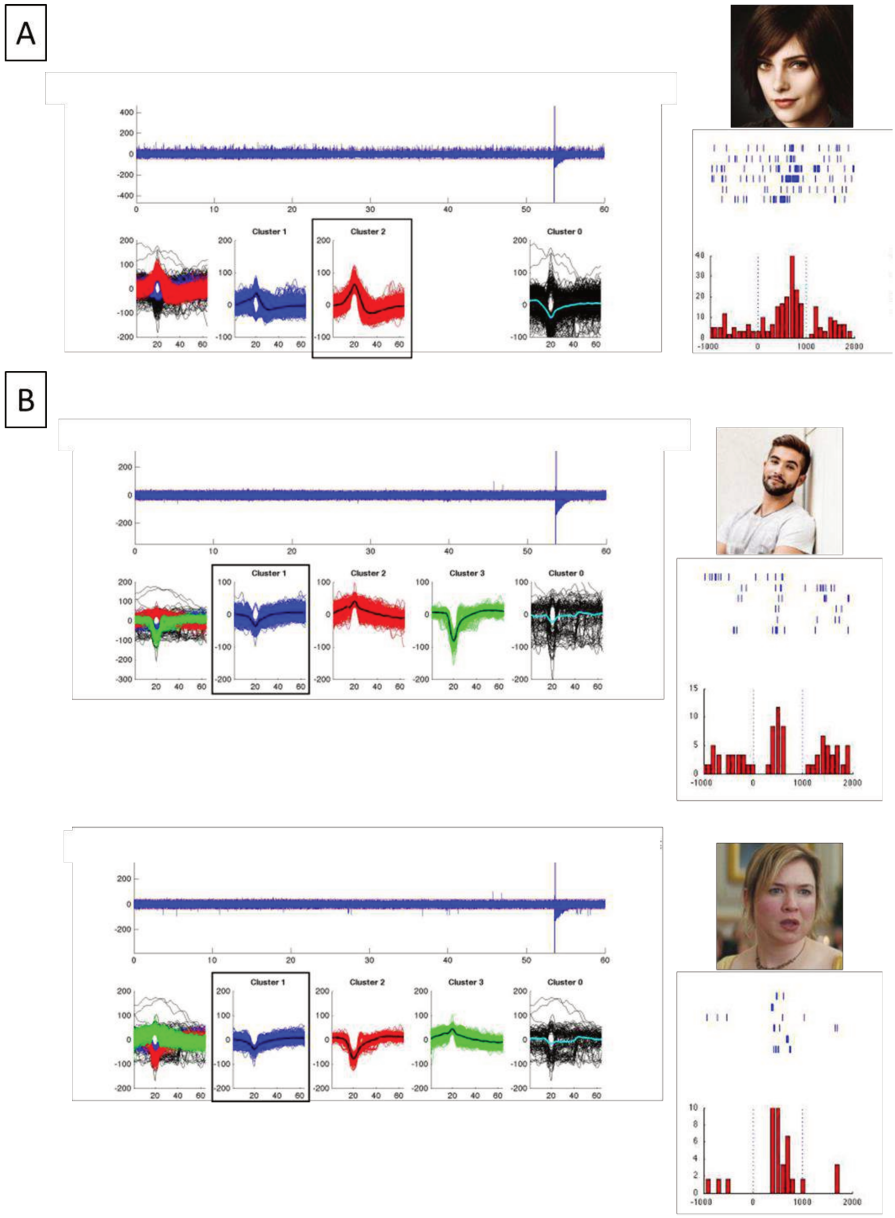


Figure 62 – Neurones spécifiques détectés chez la patiente 13. (A) Un neurone spécifique à la photo de l'actrice Ashley Greene a été trouvé dans le gyrus ambiens. (B) Un neurone spécifique au chanteur Kendji Girac et un autre neurone spécifique à l'actrice Renée Zellweger ont été trouvés dans l'amygdale de la même patiente. Ces données ont été analysées à l'aide du logiciel Wave_clus.

- Le cas de la patiente 30

Chez cette patiente, une électrode hybride a été implantée dans la partie postérieure du gyrus fusiforme et/ou du gyrus lingual gauche (Figure 63).

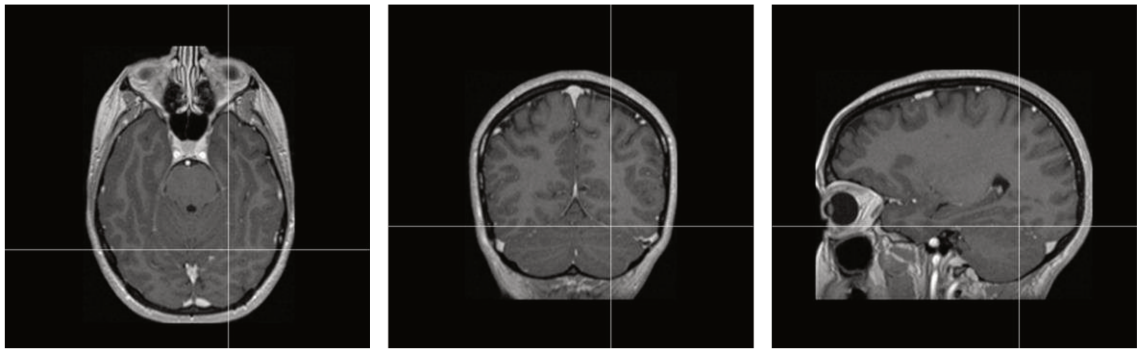


Figure 63 – Localisation de l'électrode hybride implantée dans la partie postérieure du gyrus fusiforme et/ou du gyrus lingual gauche de la patiente 30.

Lors de la session de screening, 4 neurones enregistrés par la même tétrode ont montré des réponses biphasiques à diverses images et mots écrits (Figure 64). Ces neurones présentaient une augmentation du taux de décharge très précoce suite à la présentation d'images. Les latences étaient cependant beaucoup plus tardives suite à la présentation de mots écrits.

Contrairement à la patiente 13, les activités neuronales détectées dans le gyrus fusiforme de cette patiente ne semblent pas être spécifiques.



Figure 64 – Réponses neuronales enregistrée dans le gyrus fusiforme de la patiente 30 lors d'une session de screening. (A) Le taux de décharge des neurones augmente de façon très précoce suite à la présentation d'images diverses (animaux, célébrités, ville). (B) Le taux de décharge de trois neurones augmente de façon très tardive (environ une seconde après la présentation du mot).

Bien que nous n'ayons pas encore eu le temps d'analyser les données obtenues avec les microélectrodes durant la tâche de mémoire de reconnaissance, les résultats préliminaires obtenus durant la tâche de screening chez ces deux patientes sont très prometteurs. Ils montrent en effet qu'il est possible de détecter avec la nouvelle électrode hybride de l'activité neuronale modulée par la présentation de différents stimuli.

VI. DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Le but de ma thèse est de démontrer l'innocuité des nouvelles électrodes hybrides de DIXI medical et également de valider leur fonctionnement à la fois dans l'épilepsie et dans les processus cognitifs.

Plusieurs études ont permis de répondre à l'objectif principal « évaluer la faisabilité de l'enregistrement de FR par les nouvelles électrodes hybrides de DIXI medical » :

- **ÉTUDE 2** : Neuronal spiking activity highlights a gradient of epileptogenicity in human tuberous sclerosis lesions – *publiée dans Clinical Neurophysiology*

Cette étude a permis pour la **première fois** d'enregistrer et de rapporter de l'**activité neuronale** chez une patiente épileptique souffrant également d'une **sclérose tubéreuse de Bourneville**. Nous nous sommes plus précisément focalisés sur l'activité neuronale enregistrée dans le **tuber** (petite tumeur bénigne) et le **pérituber** (zone entourant le tuber, apparaissant normale à l'IRM). Nous avons détecté des FR dans le tuber à l'aide des microélectrodes. Nous avons révélé l'existence d'un **gradient d'épileptogénicité** allant du tuber vers le pérituber à l'aide d'analyses à multi-échelles. Nous avons également mis en évidence des interactions à la fois entre et au travers du tuber et du pérituber.

- **ÉTUDE 3** : Riding or isolated, inside or outside seizure-onset zone… Are fast ripples recorded by intracranial macro- and microelectrodes of the same type and of the same meaning? – *résultats préliminaires*

Cette étude est essentielle pour pouvoir lancer la procédure de **marquage CE** des nouvelles électrodes. Nous avons comparé les fast-ripples enregistrés par les micro et les macroélectrodes de la même électrode hybride. **Les microélectrodes permettent de détecter davantage de fast-ripples que les macroélectrodes** (dans 40% des cas, les fast-ripples ne sont pas du tout visibles sur les macroélectrodes). De plus, les fast-ripples détectés par les microélectrodes sont retrouvés majoritairement dans la zone épileptogène, puis dans la zone irritative et la zone de propagation, mais **jamais en zone saine**. Cependant, les fast-ripples ne sont **pas retrouvés chez l'ensemble des patients** (aucun fast-ripples chez 21% des patients explorés, malgré une électrode hybride localisée dans la ZE).

- **ÉTUDE 4** : Pathophysiology of fast-ripples revealed by tetrode recordings in epileptic patients – *résultats préliminaires*

Cette étude préliminaire vise à mieux comprendre la **physiopathologie des fast-ripples** dans le but d'arriver plus efficacement à les détecter automatiquement. L'objectif de cette étude est de valider ou d'infirmer les modèles existants (provenant en majorité de simulations) en utilisant la nouvelle électrode hybride de DIXI medical, et plus particulièrement la configuration en tétrodes. Des **augmentations de décharges neuronales** sont détectés au moment de l'apparition de FR pour un petit groupe de neurones. Ces décharges peuvent être légèrement décalées dans le temps, supportant l'hypothèse selon laquelle les FR sont générés par les décharges de plusieurs groupes de neurones, légèrement décalées dans le temps

L'étude 3 a également permis d'apporter des éléments de réponses à deux objectifs secondaires, à savoir : « évaluer prospectivement l'intérêt des FR enregistrés par les microélectrodes comme biomarqueur de la ZE » et « comparer l'efficacité des micro et des macroélectrodes pour l'enregistrement des FR ».

Une autre étude a permis de répondre à un autre objectif secondaire : « évaluer la sécurité d'emploi des électrodes hybrides » :

- **ÉTUDE 1** : Recording EEG signals and neuronal activity using tetrodes in epileptic patients – *en cours de soumission*

Cette étude permet de montrer qu'**aucune complication clinique** n'a été signalée suite à l'utilisation des nouvelles électrodes hybrides chez 28 patients. De plus, les enregistrements obtenus à l'aide de cette électrode sont de **qualité constante** au cours du temps en termes de **niveau de bruit et d'impédance**. La configuration des microélectrodes en tétrodes permet d'enregistrer des **neurones unitaires** (en moyenne 2,20 ± 6,5 par tétrode, maximum 13) en nombre supérieur à ce que l'on peut retrouver dans la littérature avec les microélectrodes concurrentes.

La validation du fonctionnement de l'électrode nécessitait l'analyse de résultats obtenus avec le protocole EpiFaR mais également l'analyse de signaux enregistrés avec des microélectrodes lors de tâches cognitives. Nous ne pouvons pas encore apporter tous les éléments de réponse sur ce point, les analyses sont toujours en cours. Cependant nous avons réalisé une étude préliminaire à l'aide de macroélectrodes :

- **ÉTUDE 5** : The perirhinal cortex mediates a fast visual recognition memory system – *en révision dans Cerebral Cortex*

Cette étude est un travail préliminaire à l'analyse de l'activité neuronale pendant une tâche de mémoire de reconnaissance visuelle. Cependant, nos résultats et la méthodologie utilisée nous ont conduit à soumettre cet article à une revue de bon niveau.

Nous démontrons dans cette étude que le **cortex périrhinal est la région la plus précocement impliquée dans la mémoire de reconnaissance visuelle**. L'activité différentielle enregistrée dans le cortex périrhinal apparait avant les premières réponses comportementales et est associées aux temps de réaction, contrairement à l'hippocampe. De plus, des **activités en lien avec la mémoire de reconnaissance** sont retrouvées dans les **lobes frontaux et pariétaux, bien avant l'hippocampe**. Au total, cette étude a permis l'identification d'un système de mémoire de reconnaissance rapide, indépendant de l'hippocampe.

RÉSUMÉ

Au travers de ces différentes études, nous avons pu montrer que l'utilisation de la nouvelle électrode hybride de DIXI medical est aussi sûre que celle d'une macroélectrode clinique. De plus, il est maintenant clair que cette électrode hybride peu apporter une contribution à la clinique notamment grâce à la configuration des microélectrodes en tétrode (ce qui permet d'isoler davantage d'activités neuronales unitaires) et grâce au positionnement des tétrodes entre deux macrocontacts (ce qui permet la réalisation d'analyses à multi-échelle). L'apport de cette électrode dans l'investigation de processus cognitifs reste encore à approfondir mais les résultats préliminaires que nous avons obtenus sont très encourageants pour la suite.

1 Utilité des fast-ripples en clinique

Plusieurs études ont rapporté que la résection du tissu cérébral générant des HFOs était corrélée avec le fait que les patients soient libérés des crises après la chirurgie (Jacobs et al., 2010; Wu et al., 2010; Modur et al., 2011; Okanishi et al., 2014; van Klink et al., 2014). Ce qui

est intéressant, c'est que ces différentes études proviennent de centres différents, incluent des patients de tout âge (enfants, adultes) ainsi que divers types d'épilepsie et diverses méthodes d'analyses. Cependant, il est important de noter que les corrélations de ces articles fonctionnent au niveau du groupe mais que ce n'est pas forcément le cas au niveau individuel (Jacobs et al., 2010; Haegelen et al., 2013). Une autre étude utilisant des électrodes sous-durales a montré que ce qui est le plus prédictif du devenir des patients n'est pas l'étendue pré-chirurgicale des HFOs (comme on aurait pu s'y attendre) mais plutôt les HFOs trouvés après la résection (van Klink et al., 2014). De plus, une autre étude utilisant des électrodes profondes a montré que les HFOs ne sont pas de meilleurs biomarqueurs de la zone épileptogène que les pointes intercritiques (le meilleur marqueur restant les **fast-ripples combinés aux pointes intercritiques**, Roehri et al., 2018). Dans notre cas, les fast-ripples (200-600 Hz) sont plus facilement détectés à l'aide de microélectrodes que de macroélectrodes, ce qui est en accord avec la littérature (Bragin et al., 1999a; Zijlmans et al., 2017). Nous avons retrouvé des fast-ripples dans la zone épileptogène la plupart du temps, et également dans les zones irritatives et les zones de propagation mais **jamais dans les zones saines**. Cependant, **la présence des fast-ripples n'est pas systématique chez l'ensemble des patients explorés**, (aucun fast-ripple n'a été détecté chez 21% des patients, bien qu'au moins une électrode hybride soit dans la zone épileptogène).

Ces différents points font peser le **doute sur l'utilité des fast-ripples en clinique**. Pourquoi n'y a-t-il pas de corrélation entre les zones où sont retrouvés les HFOs et les résultats de la chirurgie au niveau individuel ? Pourquoi les fast-ripples ne sont-ils pas détectés si l'électrode se trouve bien dans la zone épileptogène ? Est-ce un problème de détection, de la durée de l'enregistrement, du moment de l'enregistrement ? Où ne sont-ils pas simplement aussi spécifiques de la zone épileptogène que l'on pourrait le croire ?

Il faut dire que les recommandations ne sont pas très claires, à la fois sur les caractéristiques précises des HFOs mais également sur les méthodes d'analyses. Certains centres considèrent qu'une minute de signal est suffisamment représentative du taux d'HFOs dans une région donnée (Zelmann et al., 2009; Jacobs et al., 2018) alors que d'autres vont préférer analyser 5 minutes (Roehri et al., 2018) voire une heure entière (Despouy et al., 2019). D'après notre expérience, **le taux de HFOs n'est pas forcément constant au cours des jours ni mêmes lors de la même heure d'enregistrement**. Par exemple, chez le patient 25,

nous avons enregistré 97 fast-ripples/heure le premier jour, 94 le cinquième jour, et seulement 5 le sixième jour alors que le nombre de neurones unitaires enregistrés par la même électrode hybride était respectivement de 8, 9 et 8 (ce n'est donc pas dû à un problème de bruit). De plus, si on regarde un peu plus en détail le cinquième jour où nous avons pu enregistrer 94 fast-ripples en 1 heure, nous nous apercevons rapidement que ce taux n'est pas constant tout au long de l'heure. En effet, si on découpe l'heure en six segments de dix minutes on trouve respectivement 20, 16, 9, 41, 6 et 2 fast-ripples. Il est important de préciser que durant toute l'heure d'enregistrement le patient était dans le même état cognitif, en train de regarder un épisode d'une série.

Dans la plupart des études, les fast-ripples sont détectés pendant les **périodes de sommeil**. Or, dans notre cas, nous avons acquis le signal dans la journée, pendant que les patients étaient éveillés. Cela pourrait peut-être expliquer pourquoi le taux de fast-ripples que nous avons détecté n'était pas constant (Frauscher et al., 2017). Quand le projet EPIFAR a été lancé, nous n'avions pas l'autorisation d'acquérir du signal avec les microélectrodes durant la nuit. Cependant, un amendement au CPP a été validé et nous permet maintenant d'enregistrer également pendant la nuit. Des enregistrements de nuit ont pu avoir lieu chez 5 de nos patients. Les données sont actuellement en cours d'analyses.

Ce qu'il reste à faire :

- ➔ Comparer le nombre de FR enregistrés pendant la journée et pendant la nuit chez nos patients pour vérifier si le taux de FR enregistré pendant les périodes de sommeil est plus important et plus stable que pendant les périodes de veille.
- ➔ Si cette hypothèse est vraie, analyser les périodes de sommeil des patients chez lesquels aucun FR n'a été détecté en période de veille.

Au total, les fast-ripples ne sont peut-être pas détectés chez l'ensemble des patients, mais ils sont bien retrouvés dans les zones associées à l'épilepsie (et en particulier dans la zone épileptogène). Associés aux pointes intercritiques, ils restent de bon marqueurs de la zone épileptogène (Roehri et al., 2018). De plus, une étude récente utilisant des microelectrodes array chez le rat a montré que les fast-ripples pouvaient être détectés dans l'hippocampe seulement 1h après la réalisation de lésions extra hippocampiques (Ortiz et al., 2018). Ces fast-

ripples apparaissent très rapidement après la lésion et se répandent dans les régions qui sont habituellement connectés entre elles (Figure 65). Cela suggère qu'un foyer épileptogène doit progressivement commencer à se mettre en place, bien avant l'apparition des premières crises. De plus, des fast-ripples peuvent apparaitre de façon simultanée dans différentes régions non contingentes. Cela rejoint ce que nous avons observé dans l'Étude 3 : à la page 193 et ce qui avait déjà été décrit dans la littérature (Bragin et al., 2002).

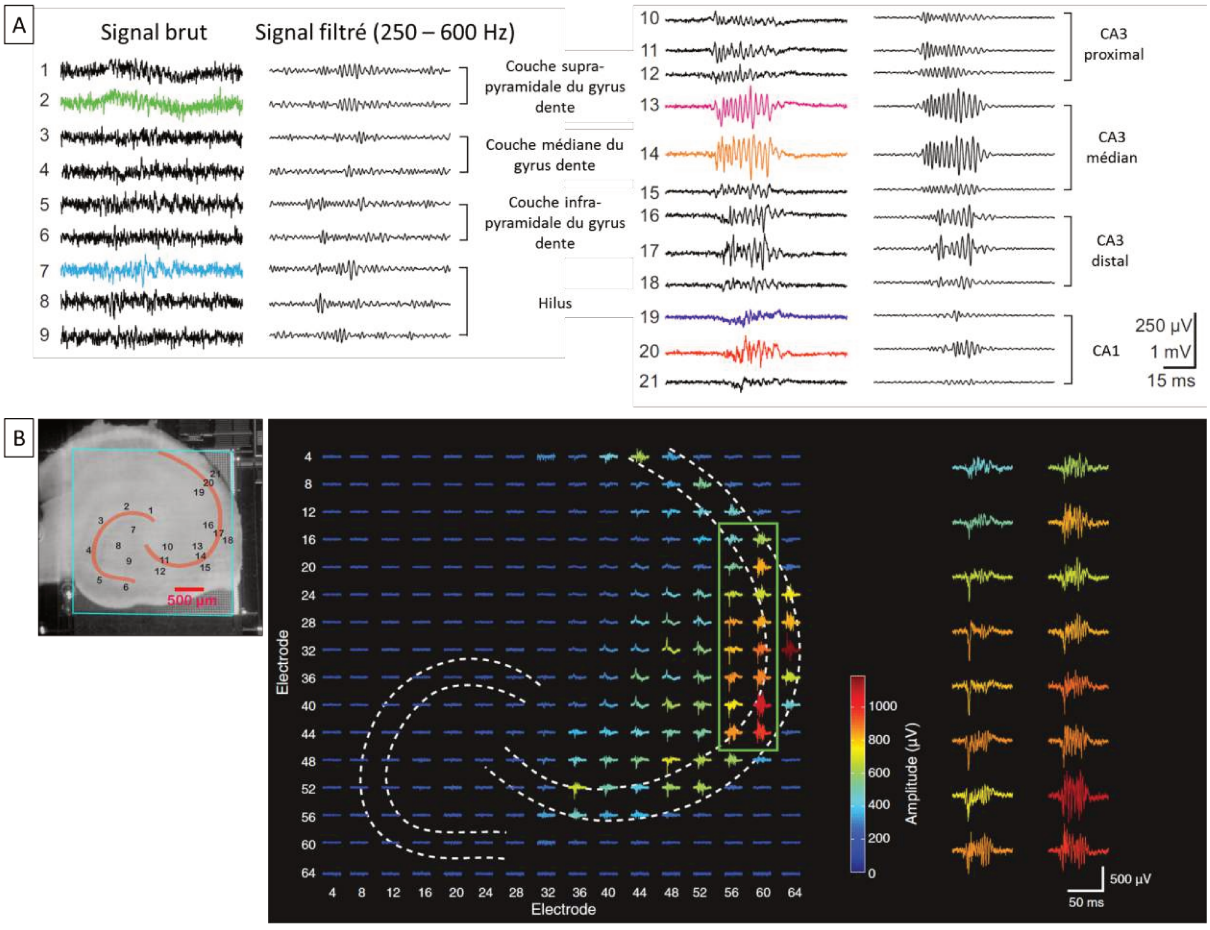


Figure 65 – Fast-ripples enregistrés dans l'hippocampe d'un rat suite à des lésions. (A) Signal brut et filtré montrant des fast-ripples dans les différentes régions du gyrus denté et de l'hippocampe chez le rat. Les nombres à gauche des tracés correspondent à la position des tracés et sont représentés en (B) sur la photographie de gauche. (B) Sur l'image de droite, enregistrements simultanés de tout l'hippocampe grâce à une multielectrode array (64 x 64 microélectrodes). Figures adaptés de Ortiz et al., 2018.

2 Une détection entièrement automatique des FR est-elle possible en clinique ?

Plusieurs résultats laissent à penser que les fast-ripples restent encore utiles pour caractériser la zone épileptogène (seuls ou combinés avec les pointes intercritiques). Néanmoins, pour qu'ils puissent être utilisés en clinique, il faut que leur détection puisse être effectuée rapidement (dans l'idéal en temps réel). Plusieurs détecteurs automatiques de HFOs ont été développés (Staba et al., 2002; Gardner et al., 2007; Zelmann et al., 2009; Crépon et al., 2010; Birot et al., 2013; Burnos et al., 2014; Roehri et al., 2016; Jrad et al., 2017) et la robustesse de 5 d'entre eux a été comparé dans une étude récente (Roehri et al., 2017). Plusieurs points importants ont été soulignés et ils illustrent très bien la difficulté actuelle à envisager l'utilisation de tels systèmes de détection en pratique clinique :

- Il n'existe **pas de caractéristiques absolues définissant les HFOs** et plus particulièrement les fast-ripples
- Les détecteurs automatiques **manquent de robustesse** dans l'estimation de l'activité de fond (la plupart de temps il faut faire face à de nombreuses fausses détections)
- Certains détecteurs sont davantage **sensibles** aux ripples qu'aux fast-ripples et inversement, ce qui peut biaiser les résultats obtenus

Cependant, l'utilisation d'un système de détection automatique reste un plus car la détection de HFOs est très couteuse en temps (même pour 10 min de signal) et ne peut être réalisée que dans le cadre de la recherche pour le moment (Jobst and Engel, 2015). La procédure que nous utilisons actuellement à Toulouse consiste à utiliser un détecteur automatique dans un premier temps (Delphos, Roehri et al., 2016), puis à revoir manuellement l'ensemble des évènements. Cette stratégie n'est pas parfaite du fait qu'il n'y a pas de référence absolue, mais elle est également utilisée dans d'autres centres puisqu'elle permet de gagner beaucoup de temps en comparaison avec une analyse entièrement visuelle (Zijlmans et al., 2017).

Pour gagner du temps et éviter au maximum les artefacts, une solution pourrait être de ne s'intéresser qu'au signal autour des pointes intercritiques (étant donné que la combinaison fast-ripples + pointes intercritiques est un meilleur biomarqueur (Frauscher et al., 2017; Roehri and Bartolomei, 2019)). Cependant, une étude a montré qu'environ 40 % des fast-

ripples apparaissaient en dehors des pointes intercritiques et qu'il était préférable d'analyser l'entièreté des enregistrements (Bernardo et al., 2018).

3 Visibilité des fast-ripples avec des méthodes non-invasives, quel est l'avenir des microélectrodes ?

A l'origine, les FR ont été identifiés à l'aide de microélectrodes (Bragin et al., 1999b). Ces oscillations rapides semblaient très prometteuses puisqu'elles étaient retrouvées exclusivement dans du tissu épileptogène. Depuis, les études n'ont eu de cesse que de trouver des corrélats de ces FR à plus grande échelle, l'idée étant d'en faciliter la détection chez des patients épileptiques à l'aide notamment d'électrodes de surface ou de magnétoencéphalographie (MEG).

Aux premiers abords, la détection de FR par des électrodes de surface semble très compliquée, voire quasi impossible, puisque cette technique ne permet de détecter que des évènements intracérébraux apparaissant de façon synchrones sur 6 à 10 cm^2 (Tao et al., 2005). De plus, l'amplitude des FR est relativement faible quand ils sont détectés avec des microélectrodes (de l'ordre de 30 µV) et elle l'est encore plus quand ils sont détectés avec des macroélectrodes (aux alentours de 15 µV). Il parait donc difficile que ces oscillations puissent être encore détectés si elles sont en plus atténuées par le crâne.

Je pense avoir été au moins aussi étonnée que Jean Gotman (cf son article « Oh surprise ! Fast ripples on scalp EEG » (Gotman, 2018)) à la lecture d'un article montrant que des FR étaient retrouvés en **EEG de surface** chez des enfants épileptiques souffrant de sclérose tubéreuse de Bourneville (Bernardo et al., 2018). Les FR sont trouvés seulement chez les enfants épileptiques (pas chez les enfants sains) et dans des régions où les tubers sont présents (validant par la même occasion les résultats que nous avons obtenus dans notre seconde étude, avec la détection de fast-ripples dans le tuber d'une patiente atteinte d'une sclérose tubéreuse de Bourneville). Les FR sont de plus très convaincant (Figure 66), les auteurs ayant même pris soin d'illustrer des faux FR (liés à des artefacts) en plus des vrais FR.

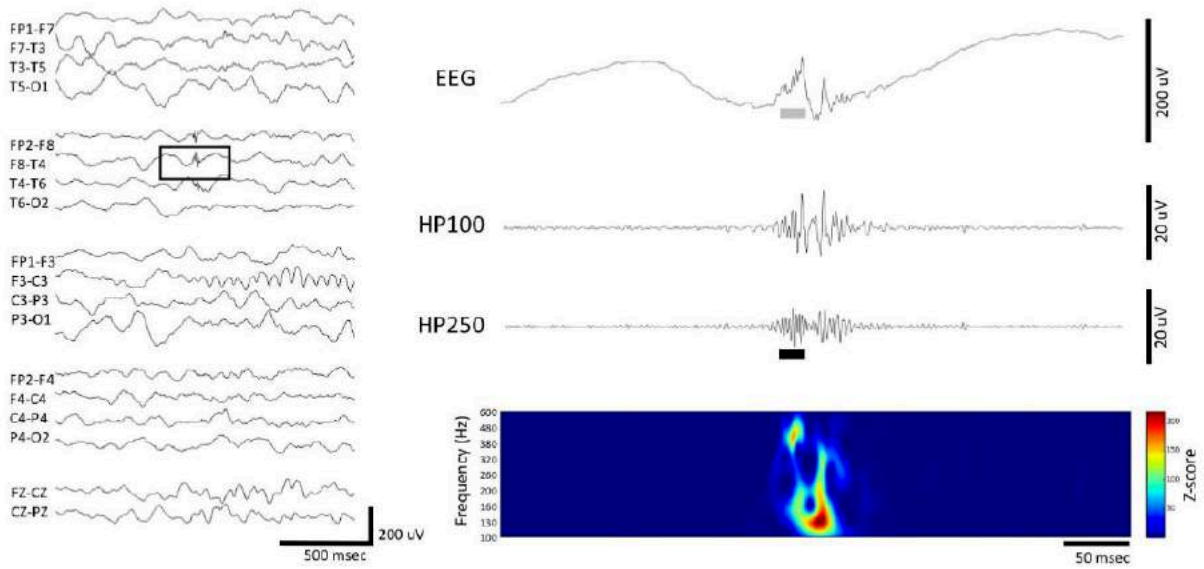


Figure 66 – Fast-ripple enregistrés à l'aide d'une électrode de surface chez un enfant épileptique atteint de sclérose tubéreuse de Bourneville. Image issue de Bernardo et al., 2018.

Mais comment est-il possible d'observer ces FR avec des électrodes de surface ? Une explication possible (résultant de simulations) est que des oscillations apparaissant simultanément et à la même fréquence mais de façon asynchrone au travers d'une région relativement large, peuvent être sommés et devenir visibles en surface (von Ellenrieder et al., 2016a; Gotman, 2018).

Nous savons donc aujourd'hui qu'il est possible de détecter des FR à l'aide d'électrodes de surface chez des enfants épileptiques. Il est probable que l'observation des FR soit facilitée chez les enfants du fait de la plus faible épaisseur de leur crâne. Chez l'adulte, la détection de FR semble plus compliquée. Une étude a montré qu'il était très difficile de faire la différence entre des FR et des artefacts et que les FR n'apparaissaient que très rarement, et pas systématiquement chez l'ensemble des patients (Pizzo et al., 2016).

Il existe de plus en plus d'évidences sur le fait qu'il soit possible de détecter des HFOs à l'aide de la **MEG**. Des HFOs localisés dans la zone épileptogène sont visibles dans la bande de fréquence des ripples (il n'y en a que très rarement en dehors de la zone épileptogène). Cependant, le taux d'HFOs détectés en MEG est relativement bas (moins de 0,5 évènements par minute). De plus, ils sont souvent détectés au même moment que des pointes épileptiques (van Klink et al., 2016a; von Ellenrieder et al., 2016b). Pour le moment, ces études ne font pas

la distinction entre les ripples et les FR (bien que les données soient acquises avec un taux d'échantillonnage suffisamment important pour détecter ces deux types d'oscillations).

Je pense qu'il existe encore un bel avenir pour les électrodes hybride et, bien que des méthodes d'enregistrements à plus large échelle (EEG de surface, MEG) permettent de détecter des HFOs (et plus particulièrement des FR en EEG de surface), elles ne le font que dans une moindre mesure. Il est pour le moment nécessaire d'avoir recours à des analyses à multi-échelle pour valider les observations effectuées. Il serait très utile de voir s'il est possible de détecter des FR simultanément à l'aide de microélectrodes et en EEG de surface. De plus, les microélectrodes permettent de mettre en évidences beaucoup de nouvelles choses mais elles sont également très sensibles à des artefacts en tout genre et il est nécessaire d'être précautionneux au moment de l'analyse. Des résultats similaires retrouvés chez plusieurs patients sont nécessaires pour avoir confiance en ce qui est observé.

4 Recommandations pour optimiser la détection de fast-ripples

Le premier point très important selon moi est qu'il faudrait arriver à se mettre d'accord sur la **caractérisation précise des HFOs** (ripples et fast-ripples). En effet, chaque centre applique ses propres caractéristiques en interne mais elles ne sont pas forcément toujours identiques. Cela peut affecter l'utilisation de détecteur automatiques et la comparaison avec une détection manuelle, si les paramètres utilisés pour la détection ne sont pas les mêmes.

Il serait ensuite intéressant, et très bénéfique à la communauté scientifique ainsi qu'aux patients, qu'une **base de données** comportant des enregistrements de FR à multi-échelles (obtenus à l'aide de microélectrodes, de macroélectrodes, d'EEG de surface, de MEG etc) soit mise à disposition et complétée par divers centres. Cela permettrait d'entrainer différents logiciels de détection automatique à faire la distinction entre des vrais FR et des faux FR liés à des artéfacts. De plus, les détecteurs automatiques actuellement disponibles sont souvent optimisés pour les données d'un centre en particulier et le niveau de bruit entre différents centres peut varier et amener à la détection d'un plus grand nombre d'artefacts.

Ces deux points commencent à être de plus en plus discutés dans la littérature, cela donne l'espoir que quelque chose dans ce sens émerge dans les prochaines années (Frauscher et al., 2017; Zijlmans et al., 2017; Roehri and Bartolomei, 2019).

Dans le cas de figure où les points ci-dessus seraient réalisés, il serait alors envisageable de lancer des **détecteurs automatiques** sur les données acquises lors d'un examen d'**EEG de surface** chez les patients épileptiques. Cela pourrait ajouter un élément au diagnostic de leur épilepsie (évaluation de la sévérité, efficacité du traitement ?) mais également à la localisation de la zone épileptogène.

BILAN SUR LES FR

Au total, le projet EpiFaR portait essentiellement sur les fast-ripples et ma thèse sur la mise au point de l'environnement permettant de les enregistrer. Beaucoup de données ont été générées et des études complémentaires sont nécessaires pour répondre aux objectifs formels du projet.

Pour le moment, il est difficile de statuer sur l'utilité des FR en clinique. En effet, leur détection est majoritairement réalisée offline, bien après les enregistrements, dans le cadre de la recherche.

Pour que les FR puissent être utilisés en clinique, il est nécessaire de progresser sur l'automatisation de leur détection. A l'heure où les développements en lien avec l'intelligence artificielle se multiplient, il est étonnant de ne pas arriver à trouver une solution rapide et fiable, pouvant être utilisée entre autres par les cliniciens.

Des études complémentaires sont nécessaires pour arriver à comprendre comment ces FR sont générés. Cela devrait permettre de faciliter leur détection à l'avenir.

5 Optimisation des tâches cognitives

Les implantations intracérébrales sont un moyen unique d'accéder à l'activité neuronale dans le cerveau humain. Elles s'avèrent utiles pour avancer dans la compréhension de l'épilepsie de façon générale mais peuvent également apporter des informations sur des processus fondamentaux. En effet, durant l'hospitalisation des patients (maximum 3 semaines), il peut leur être proposé de participer à diverses tâches cognitives. Bien qu'il soit relativement simple d'obtenir des données en lien avec l'épilepsie, ce n'est pas la même chose avec les tâches cognitives. En effet, il est encore plus crucial d'obtenir un nombre suffisamment important d'essais pour être sûr de ne pas prendre en compte des activités épileptiques.

Il est important de rappeler que les implantations sont rares (environ 10 patients par an dans notre centre à Toulouse) et que le placement des électrodes varie d'un patient à un autre. Il est donc nécessaire de **déterminer en amont les électrodes qui seront pertinentes pour une tâche cognitive** particulière. Par exemple, il sera proposé à des patients avec des électrodes implantées dans le lobe temporal des tâches de mémoire et plutôt des tâches visuelles pour des patients avec des électrodes implantées dans le lobe occipital. Il faut également garder à l'esprit que de façon générale, la proportion de neurones spécifiques à un stimulus ou à une tâche comportementale reste faible.

Une **collaboration entre les différents centres** est aussi nécessaire pour que les études puissent avancer plus rapidement. Cela est d'autant plus intéressant que différents types d'électrodes et de systèmes d'acquisition sont utilisés dans les différents centres. Si des résultats similaires sont retrouvés avec toutes ces variations (et ça devrait être le cas), cela veut dire qu'ils sont vraiment robustes.

Une autre difficulté concerne les enregistrements neuronaux durant les tâches cognitives. Si l'on s'intéresse aux potentiels de champs locaux et aux activités évoquées lors de tâches cognitives, il est facile de rassembler les essais enregistrés lors de différentes sessions d'enregistrements, pouvant s'étaler sur plusieurs jours. Cependant, pour les neurones c'est différent. Il est très difficile de savoir si les mêmes neurones sont retrouvés le lendemain. Pour traquer les neurones, il faudrait avoir accès à un enregistrement sans interruption entre les différentes sessions (donc entre plusieurs jours) et cette analyse prendrait beaucoup de

temps. Une solution est de **regrouper le maximum de sessions d'enregistrements** le même jour. Il est donc essentiel de réfléchir à des tâches comportementales qui ne soient pas trop longues pour le patient et dans lesquelles un nombre important d'essais peut être obtenu en peu de temps.

6 Futur des microélectrodes

Ces dernières années, les enregistrements à l'aide de microélectrodes ont apportés de nombreuses informations et ont contribués à diverses innovations technologiques telles que : l'identification de motifs de décharges neuronales pendant de l'**activité épileptique** (Stead et al., 2010; Truccolo et al., 2011; Merricks et al., 2015) ; la découverte de mécanismes fondamentaux dans les **processus cognitifs** (Quiroga et al., 2005; Chan et al., 2014) ; la **restauration du contrôle cortical** des membres supérieurs (Brown et al., 2010) ; le **contrôle de prothèses robotisées** (Hochberg et al., 2006; Collinger et al., 2013).

Cependant, malgré le rôle fondamental des microélectrodes dans les neurosciences et les interfaces Homme-machine, des progrès restent à faire. Les microélectrodes sont généralement composées de métaux et la différence de rigidité avec le cerveau crée des microlésions entrainant de la mort neuronale, la formation d'encapsulations gliales et, de ce fait, une plus grande distance entre les sites d'enregistrements et les corps cellulaires (Polikov et al., 2005; Winslow and Tresco, 2010). De plus, les micromouvements entre le tissu cérébral et les microélectrodes peuvent accentuer les réactions inflammatoires (Subbaroyan et al., 2005; Gilletti and Muthuswamy, 2006).

Une solution à ce problème est de **diminuer le plus possible le diamètre** des microélectrodes pour entrainer le moins de dégâts possibles, mais cela entraine une augmentation de l'impédance. Dans ce cas, il est possible d'ajouter sur l'extrémité de l'électrode des polymères organiques conducteurs, tels que le **PEDOT** (poly(3,4-ethylenedioxythiophene)), permettant d'améliorer les enregistrements au cours du temps en diminuant l'impédance (Ludwig et al., 2006, 2011; Castagnola et al., 2015). Cependant, il faut garder en tête que le PEDOT peut entrainer des dégradations suites à des stimulations électriques prolongées (Cui and Zhou, 2007).

Si le diamètre de l'électrode est trop faible, cela complique son insertion dans le tissu cérébral. Un **polymère biodégradable** comme la soie peut alors être utilisé pour recouvrir les microélectrodes et ainsi **augmenter temporairement la force mécanique** pendant l'implantation (Wu et al., 2011, voir Figure 67). Ce polymère se dégrade ensuite progressivement *in vivo* (de 30 minutes à 25 h après l'implantation). Des polymères de ce genre permettent d'envisager l'implantation de microélectrodes ayant de très petits diamètres ou étant fabriquées avec des matériaux très flexibles (Kozai et al., 2012; Canales et al., 2015; Fu et al., 2016; Luan et al., 2017; Vitale et al., 2018).

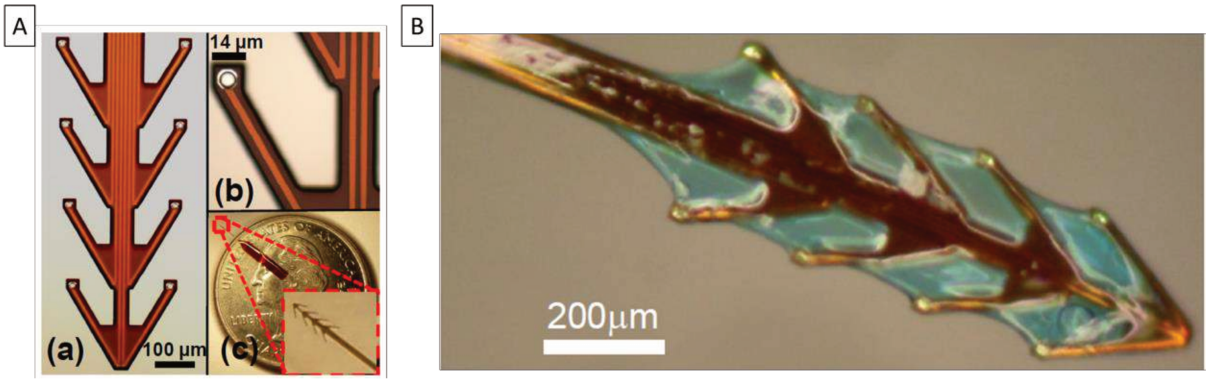


Figure 67 – Microélectrodes en forme d'arête de poisson. (A) Les microélectrodes ont un diamètre inférieur à 14 µm. (B) Les microélectrodes sont recouvertes par de la soie pour faciliter leur insertion. Images issues de Wu et al., 2011.

CONCLUSION

Des innovations technologiques paraissent très prometteuses pour arriver à enregistrer de l'activité intracérébrale tout en limitant au maximum les microlésions. Cependant, je ne pense pas qu'elles puissent être utilisées dans le cadre de l'épilepsie, ou du moins pas avant un bon moment pour plusieurs raisons :

- Actuellement, l'utilisation d'un tel dispositif est difficilement applicable techniquement. Les dispositifs invasifs à destination des patients sont soumis à une réglementation stricte et les tests qui doivent être réalisés avant de pouvoir obtenir le marquage CE sont très longs et complexes.

- La plupart des cliniciens ne sont pas prêts à changer leurs habitudes. Certains doutent de l'efficacité de nouveaux dispositifs et d'autres n'ont tout simplement pas le temps d'apprendre à utiliser de nouveaux systèmes ou logiciels.
- Il est nécessaire de développer des outils simples d'utilisation et intuitifs qui puissent être utilisés en clinique sans faire perdre trop de temps aux cliniciens.

L'utilisation d'électrodes hybrides devrait permettre de familiariser les cliniciens avec les microélectrodes et l'intérêt qu'elles peuvent avoir. Un avantage important avec l'électrode hybride de DIXI medical est qu'il est possible de réaliser des analyses à multi échelles. Cela permet de visualiser les évènements d'intérêt (comme les pointes intercritiques) à différentes échelles.

7 Prochaines évolutions de l'électrode hybride

Les électrodes hybrides de DIXI medical fonctionnent bien, elles permettent de réaliser des analyses multi-échelle grâce au positionnement des microélectrodes entre deux macrocontacts et elles permettent d'isoler un nombre important de neurones unitaires grâce à la configuration des microélectrodes en tétrode. Cependant, elles peuvent encore être améliorées. Deux modifications sont actuellement en cours d'évaluation (Figure 68) :

(1) **L'extension des tétrodes jusqu'à 3 mm au lieu de 2 mm**. Cela permet d'exploiter le potentiel de la vis micrométrique en sortant progressivement les microélectrodes à la recherche d'activité neuronale (un peu comme ce qui est fait dans la maladie de Parkinson). La longueur actuelle de sortie de 2 mm n'est pas suffisante pour exploiter ce mécanisme. En effet, la quantité de neurones trouvés à 1 mm est relativement faible comparé à celle trouvée à 2 mm. Cela est probablement due à la zone lésionnelle qui se crée autour de l'électrode au moment de l'implantation.

(2) **L'extension des tétrodes à différents niveaux de l'électrode**. Pour le moment, les microélectrodes ne sortent qu'entre les deux premiers macrocontacts. Cependant, il est techniquement possible de les faire sortir à différents niveaux de l'électrode pour pouvoir explorer notamment les épilepsies latérales. Pour cela, il faut au préalable

déterminer les cas pour lesquels il serait intéressant d'avoir une électrode de ce type, afin de proposer une gamme avec différents niveaux de sorties.

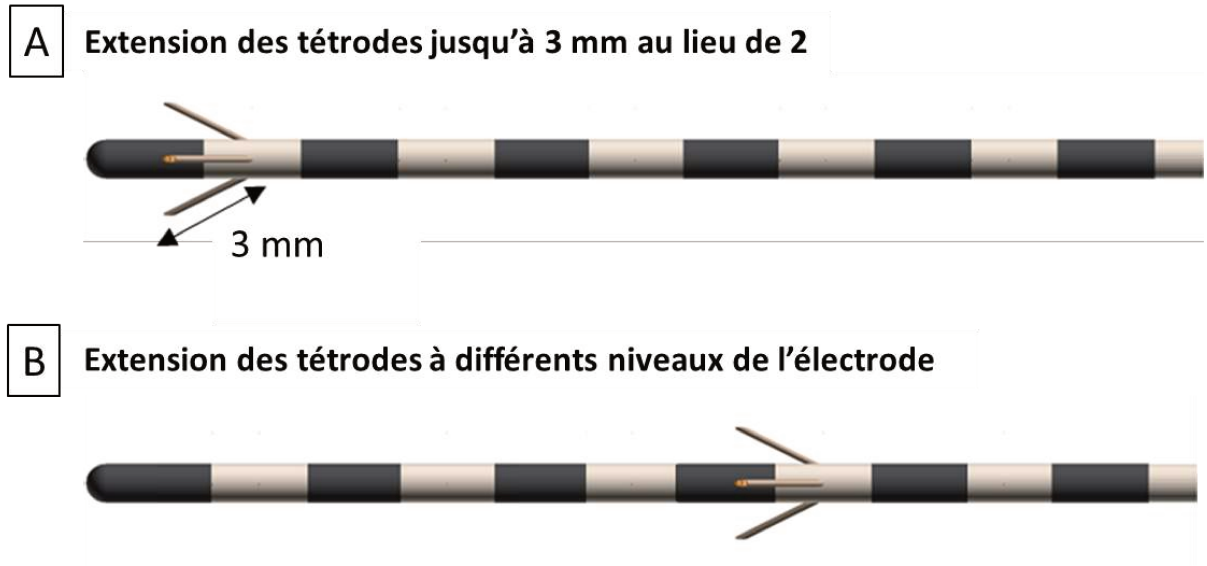


Figure 68 – Futures améliorations des électrodes hybrides. (A) Extension des tétrodes jusqu'à 3 mm au lieu de 2 mm pour pouvoir exploiter le potentiel de la vis micrométrique. (B) Extension des tétrodes à différents niveaux de l'électrode pour pouvoir explorer les épilepsies latérales.

Une autre piste d'amélioration concerne la découpe des microélectrodes. Pour le moment elle n'est pas franche, et bien que cela n'entraine pas de dommage cérébral, cela peut entrainer des variations dans le rapport signal/bruit et avoir un impact sur la stabilité des enregistrements. L'utilisation d'un laser permettrait une découpe plus franche (Figure 69) mais ce n'est pas possible pour le moment puisque la découpe des microélectrodes est la dernière étape qui suit l'assemblage de l'électrode hybride. Une révision du processus d'assemblage est actuellement en cours pour identifier les solutions possibles à ce problème.

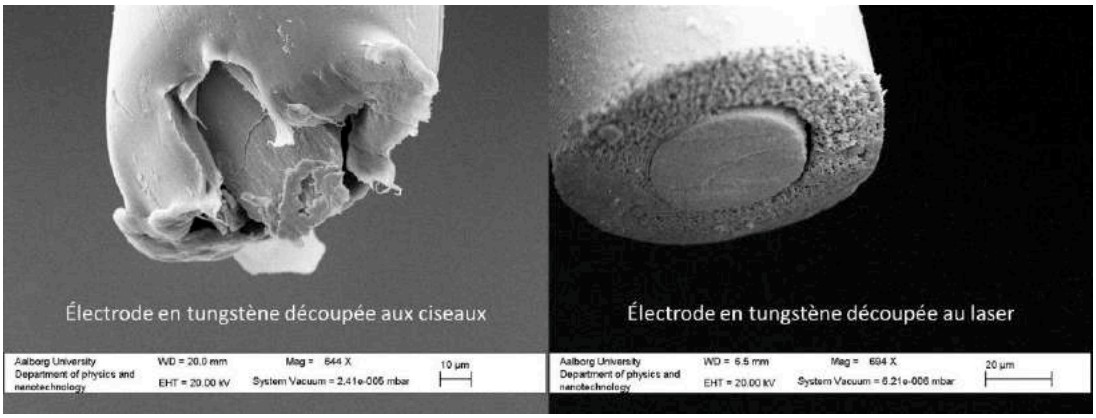


Figure 69 – Exemple de découpe de microélectrodes. A gauche, une électrode en tungstène découpée à l'aide d'un ciseau. A droite, une électrode en tungstène découpée au laser. Images provenant de https://www.nano.aau.dk/nanolab/equipment/electron-microscope-image-gallery/

CONCLUSION

Cette thèse m'a permis d'acquérir un nombre important de compétences, entre autres : la gestion de projets complexes impliquant de nombreux intervenants ; l'optimisation et la validation d'un dispositif médical ; des connaissances solides en traitement du signal. Ces compétences, en plus d'être utiles, sont facilement transférables à d'autres domaines, y compris dans l'industrie.

VII. RÉFÉRENCES

Ackermans L, Temel Y, Cath D, van der Linden C, Bruggeman R, Kleijer M, Nederveen P, Schruers K, Colle H, Tijssen MAJ, Visser-Vandewalle V, Dutch Flemish Tourette Surgery Study Group (2006) Deep brain stimulation in Tourette's syndrome: Two targets? Mov Disord 21:709–713.

Ahlskog JE, Muenter MD (2001) Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature: Levodopa Motor Complication Frequency. Mov Disord 16:448–458.

Ahmed F, Begum M, Wahab MA, Ahmed SK (2017) Quality of life of patients with obsessive compulsive disorder. Bangladesh J Psychiatry 29:18.

Albe-Fessar D, Berkley KJ, Kruger L, Ralston HJ, Willis WD (1985) Diencephalic mechanisms of pain sensation. Brain Res Rev 9:217–296.

Allert N, Lindlau A, Quindt R, Reker P, Timmermann L, Barbe MT (2018) Unstable impedance of a single electrode contact resulting in loss of DBS therapy—a case report. Acta Neurochir (Wien) Available at: http://link.springer.com/10.1007/s00701-018-3658-x [Accessed November 6, 2018].

Alonso P, Cuadras D, Gabriëls L, Denys D, Goodman W, Greenberg BD, Jimenez-Ponce F, Kuhn J, Lenartz D, Mallet L, Nuttin B, Real E, Segalas C, Schuurman R, Tezenas du Montcel S, Menchon JM (2015) Deep Brain Stimulation for Obsessive-Compulsive Disorder: A Meta-Analysis of Treatment Outcome and Predictors of Response Sgambato-Faure V, ed. PLOS ONE 10:e0133591.

Alvarado-Rojas C, Lehongre K, Bagdasaryan J, Bragin A, Staba R, Engel J, Navarro V, Le Van Quyen M (2013) Single-unit activities during epileptic discharges in the human hippocampal formation. Front Comput Neurosci 7.

Andersen RA, Hwang EJ, Mulliken GH (2010) Cognitive Neural Prosthetics. Annu Rev Psychol 61:169–190.

Anderson RJ, Frye MA, Abulseoud OA, Lee KH, McGillivray JA, Berk M, Tye SJ (2012) Deep brain stimulation for treatment-resistant depression: Efficacy, safety and mechanisms of action. Neurosci Biobehav Rev 36:1920–1933.

Anheim M, Fraix V, Chabardès S, Krack P, Benabid A-L, Pollak P (2007) Lifetime of Itrel II pulse generators for subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease. Mov Disord 22:2436–2439.

Annegers JF, Hauser WA, Coan SP, Rocca WA (1998) A Population-Based Study of Seizures after Traumatic Brain Injuries. N Engl J Med 338:20–24.

Ashkan K, Rogers P, Bergman H, Ughratdar I (2017) Insights into the mechanisms of deep brain stimulation. Nat Rev Neurol 13:548–554.

Babb TL, Carr E, Crandall PH (1973) Analysis of extracellular firing patterns of deep temporal lobe structures in man. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 34:247–257.

Bancaud J, Talairach J, Bonis A, Schaub C, Szikla G, Morel P (1965) La stéréoélectroencéphalographie dans l'épilepsie : informations neurophysiopathologiques apportées par l'investigation fonctionnelle stereotaxique. Masson Paris.

Barbeau EJ, Chauvel P, Moulin CJA, Regis J, Liégeois-Chauvel C (2017) Hippocampus duality: Memory and novelty detection are subserved by distinct mechanisms: HIPPOCAMPUS DUALITY. Hippocampus 27:405–416.

Barbeau EJ, Pariente J, Felician O, Puel M (2011) Visual recognition memory: A double anatomo-functional dissociation. Hippocampus:929–934.

Barbeau EJ, Taylor MJ, Regis J, Marquis P, Chauvel P, Liegeois-Chauvel C (2008) Spatio temporal Dynamics of Face Recognition. Cereb Cortex 18:997–1009.

Barna JS, Arezzo JC, Vaughan HG (1981) A new multielectrode array for the simultaneous recording of field potentials and unit activity. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 52:494–496.

Barragan-Jason G, Besson G, Ceccaldi M, Barbeau EJ (2013) Fast and Famous: Looking for the Fastest Speed at Which a Face Can be Recognized. Front Psychol 4 Available at: http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpsyg.2013.00100/abstract [Accessed June 20, 2018].

Barrese JC, Rao N, Paroo K, Triebwasser C, Vargas-Irwin C, Franquemont L, Donoghue JP (2013) Failure mode analysis of silicon-based intracortical microelectrode arrays in non-human primates. J Neural Eng 10:066014.

Bartolomei F, Guye M, Wendling F (2013) Abnormal binding and disruption in large scale networks involved in human partial seizures. EPJ Nonlinear Biomed Phys 1 Available at: http://www.epjnonlinearbiomedphys.com/content/1/1/4 [Accessed September 24, 2018].

Bartolomei F, Lagarde S, Wendling F, McGonigal A, Jirsa V, Guye M, Bénar C (2017) Defining epileptogenic networks: Contribution of SEEG and signal analysis. Epilepsia 58:1131–1147.

Bartolomei F, Wendling F, Bellanger J-J, Régis J, Chauvel P (2001) Neural networks involving the medial temporal structures in temporal lobe epilepsy. Clin Neurophysiol 112:1746–1760.

Bartolomei F, Wendling F, Chauvel P (2008) Le concept de réseau épileptogène dans les épilepsies partielles humaines. Neurochirurgie 54:174–184.

Bartolomei F, Wendling F, Régis J, Gavaret M, Guye M, Chauvel P (2004) Pre-ictal synchronicity in limbic networks of mesial temporal lobe epilepsy. Epilepsy Res 61:89–104.

Baumgartner C, Lindinger G, Ebner A, Aull S, Serles W, Olbrich A, Lurger S, Czech T, Burgess R, Luders H (1995) Propagation of interictal epileptic activity in temporal lobe epilepsy: Neurology 45:118–122.

Bédos Ulvin L, Jonas J, Brissart H, Colnat-Coulbois S, Thiriaux A, Vignal J-P, Maillard L (2017) Intracerebral stimulation of left and right ventral temporal cortex during object naming. Brain Lang 175:71–76.

Benabid AL (2003) Deep brain stimulation for Parkinson's disease. Curr Opin Neurobiol 13:696–706.

Benabid AL, Pollak P, Louveau A, Henry S, de Rougemont J (1987) Combined (Thalamotomy and Stimulation) Stereotactic Surgery of the VIM Thalamic Nucleus for Bilateral Parkinson Disease. Stereotact Funct Neurosurg 50:344–346.

Benabid AL, Pollak P, Seigneuret E, Hoffmann D, Gay E, Perret J (1993) Chronic VIM Thalamic Stimulation in Parkinson's Disease, Essential Tremor and Extra-Pyramidal Dyskinesias. In: Advances in Stereotactic and Functional Neurosurgery 10 (Meyerson BA, Broggi G, Martin-Rodriguez J, Ostertag C, Sindou M, eds), pp 39–44. Vienna: Springer Vienna. Available at: http://link.springer.com/10.1007/978-3-7091-9297-9_8 [Accessed January 31, 2019].

Bénar CG, Chauvière L, Bartolomei F, Wendling F (2010) Pitfalls of high-pass filtering for detecting epileptic oscillations: A technical note on "false" ripples. Clin Neurophysiol 121:301–310.

Ben-Ari Y, Dudek FE (2010) Primary and Secondary Mechanisms of Epileptogenesis in the Temporal Lobe: There Is a Before and an After. Epilepsy Curr 10:118–125.

Bernardo D, Nariai H, Hussain SA, Sankar R, Salamon N, Krueger DA, Sahin M, Northrup H, Bebin EM, Wu JY (2018) Visual and semi-automatic non-invasive detection of interictal fast ripples: A potential biomarker of epilepsy in children with tuberous sclerosis complex. Clin Neurophysiol 129:1458–1466.

Bernhardt BC, Worsley KJ, Kim H, Evans AC, Bernasconi A, Bernasconi N (2009) Longitudinal and cross-sectional analysis of atrophy in pharmacoresistant temporal lobe epilepsy. Neurology 72:1747–1754.

Bertram EH, Cornett J (1993) The ontogeny of seizures in a rat model of limbic epilepsy: evidence for a kindling process in the development of chronic spontaneous seizures. Brain Res 625:295–300.

Bertram EH, Zhang DX, Mangan P, Fountain N, Rempe D (1998) Functional anatomy of limbic epilepsy: a proposal for central synchronization of a diffusely hyperexcitable network. Epilepsy Res 32:194–205.

Besson G, Ceccaldi M, Didic M, Barbeau EJ (2012) The speed of visual recognition memory. Vis Cogn 20:1131–1152.

Bin-Mahfoodh M, Hamani C, Sime E, Lozano AM (2003) Longevity of Batteries in Internal Pulse Generators Used for Deep Brain Stimulation. Stereotact Funct Neurosurg 80:56–60.

Birot G, Kachenoura A, Albera L, Bénar C, Wendling F (2013) Automatic detection of fast ripples. J Neurosci Methods 213:236–249.

Blanche TJ, Spacek MA, Hetke JF, Swindale NV (2005) Polytrodes: High-Density Silicon Electrode Arrays for Large-Scale Multiunit Recording. J Neurophysiol 93:2987–3000.

Blume WT, Holloway GM, Wiebe S (2001) Temporal Epileptogenesis: Localizing Value of Scalp and Subdural Interictal and Ictal EEG Data. Epilepsia 42:508–514.

Boccard SGJ, Pereira EAC, Aziz TZ (2015) Deep brain stimulation for chronic pain. J Clin Neurosci 22:1537–1543.

Bourdillon P, Devaux B, Job-Chapron A-S, Isnard J (2018) SEEG-guided radiofrequency thermocoagulation. Neurophysiol Clin 48:59–64.

Bowles B, Crupi C, Mirsattari SM, Pigott SE, Parrent AG, Pruessner JC, Yonelinas AP, Köhler S (2007) Impaired familiarity with preserved recollection after anterior temporal-lobe resection that spares the hippocampus. Proc Natl Acad Sci 104:16382–16387.

Brady TF, Konkle T, Alvarez GA, Oliva A (2008) Visual long-term memory has a massive storage capacity for object details. Proc Natl Acad Sci 105:14325–14329.

Bragin A, Benassi SK, Kheiri F, Engel Jr. J (2011) Further evidence that pathologic high-frequency oscillations are bursts of population spikes derived from recordings of identified cells in dentate gyrus: pHFOs in Epileptic Mice. Epilepsia 52:45–52.

Bragin A, Engel J, Wilson CL, Fried I, Buzsáki G (1999a) High-Frequency Oscillations in Human Brain. Hippocampus:137–142.

Bragin A, Engel J, Wilson CL, Fried I, Mathern GW (1999b) Hippocampal and Entorhinal Cortex High-Frequency Oscillations (100-500 Hz) in Human Epileptic Brain and in Kainic Acid-Treated Rats with Chronic Seizures. Epilepsia 40:127–137.

Bragin A, Mody I, Wilson CL, Engel J (2002) Local generation of fast ripples in epileptic brain. J Neurosci 22:2012–2021.

Brincat SL, Miller EK (2016) Prefrontal Cortex Networks Shift from External to Internal Modes during Learning. J Neurosci 36:9739–9754.

Britt RH, Rossi GT (1982) Quantitative analysis of methods for reducing physiological brain pulsations. J Neurosci Methods 6:219–229.

Broggi G, Franzini A, Leone M, Bussone G (2007) Update on neurosurgical treatment of chronic trigeminal autonomic cephalalgias and atypical facial pain with deep brain stimulation of posterior hypothalamus: results and comments. Neurol Sci 28:S138–S145.

Brown EN, Lydic R, Schiff ND (2010) General Anesthesia, Sleep, and Coma Schwartz RS, ed. N Engl J Med 363:2638–2650.

Burnos S, Hilfiker P, Sürücü O, Scholkmann F, Krayenbühl N, Grunwald T, Sarnthein J (2014) Human Intracranial High Frequency Oscillations (HFOs) Detected by Automatic Time-Frequency Analysis Charpier S, ed. PLoS ONE 9:e94381.

Butson CR, Maks CB, McIntyre CC (2006) Sources and effects of electrode impedance during deep brain stimulation. Clin Neurophysiol 117:447–454.

Buzsáki G (2004) Large-scale recording of neuronal ensembles. Nat Neurosci 7:446–451.

Buzsaki G, Horvath Z, Urioste R, Hetke J, Wise K (1992) High-frequency network oscillation in the hippocampus. Science 256:1025–1027.

Canales A, Jia X, Froriep UP, Koppes RA, Tringides CM, Selvidge J, Lu C, Hou C, Wei L, Fink Y, Anikeeva P (2015) Multifunctional fibers for simultaneous optical, electrical and chemical interrogation of neural circuits in vivo. Nat Biotechnol 33:277–284.

Cardinale F, Cossu M, Castana L, Casaceli G, Schiariti MP, Miserocchi A, Fuschillo D, Moscato A, Caborni C, Arnulfo G, Lo Russo G (2013) Stereoelectroencephalography: Surgical Methodology, Safety, and Stereotactic Application Accuracy in 500 Procedures. Neurosurgery 72:353–366.

Carlson AA, Rutishauser U, Mamelak AN (2018) Safety and Utility of Hybrid Depth Electrodes for Seizure Localization and Single-Unit Neuronal Recording. Stereotact Funct Neurosurg:1–9.

Carr JE, Chong IM (2005) Habit Reversal Treatment of Tic Disorders: A Methodological Critique of the Literature. Behav Modif 29:858–875.

Cascino GD (2009) Temporal lobe epilepsy is a progressive neurologic disorder. Neurology 72:1718–1719.

Castagnola V, Descamps E, Lecestre A, Dahan L, Remaud J, Nowak LG, Bergaud C (2015) Parylene-based flexible neural probes with PEDOT coated surface for brain stimulation and recording. Biosens Bioelectron 67:450–457.

Chalifoux JR, Perry N, Katz JS, Wiggins GC, Roth J, Miles D, Devinsky O, Weiner HL, Milla SS (2013) The ability of high field strength 7-T magnetic resonance imaging to reveal previously uncharacterized brain lesions in patients with tuberous sclerosis complex. J Neurosurg Pediatr 11:268–273.

Chan AM, Dykstra AR, Jayaram V, Leonard MK, Travis KE, Gygi B, Baker JM, Eskandar E, Hochberg LR, Halgren E, Cash SS (2014) Speech-Specific Tuning of Neurons in Human Superior Temporal Gyrus. Cereb Cortex 24:2679–2693.

Chang EF, Wang DD, Barkovich AJ, Tihan T, Auguste KI, Sullivan JE, Garcia PA, Barbaro NM (2011) Predictors of seizure freedom after surgery for malformations of cortical development. Ann Neurol 70:151–162.

Chu-Shore CJ, Major P, Camposano S, Muzykewicz D, Thiele EA (2009) The natural history of epilepsy in tuberous sclerosis complex: Epilepsy in TSC. Epilepsia 51:1236–1241.

Collinger JL, Wodlinger B, Downey JE, Wang W, Tyler-Kabara EC, Weber DJ, McMorland AJ, Velliste M, Boninger ML, Schwartz AB (2013) High-performance neuroprosthetic control by an individual with tetraplegia. The Lancet 381:557–564.

Colosimo C, De Michele M (1999) Motor fluctuations in Parkinson's disease: pathophysiology and treatment. Eur J Neurol 6:1–21.

Cooper IS, Upton ARM (1985) Therapeutic implications of modulation of metabolism and functional activity of cerebral cortex by chronic stimulation of cerebellum and thalamus. Biol Psychiatry 20:811–813.

Cosgrove GR, Rauch SL (2003) Stereotactic cingulotomy. Neurosurg Clin N Am 14:225–235.

Cossu M, Chabardès S, Hoffmann D, Lo Russo G (2008) Explorations préchirurgicales des épilepsies pharmacorésistantes par stéréo-électro-encéphalographie : principes, technique et complications. Neurochirurgie 54:367–373.

Crépon B, Navarro V, Hasboun D, Clemenceau S, Martinerie J, Baulac M, Adam C, Le Van Quyen M (2010) Mapping interictal oscillations greater than 200 Hz recorded with intracranial macroelectrodes in human epilepsy. Brain 133:33–45.

Croucher M, Collins J, Meldrum B (1982) Anticonvulsant action of excitatory amino acid antagonists. Science 216:899–901.

Csercsa R et al. (2010) Laminar analysis of slow wave activity in humans. Brain 133:2814–2829.

Cui XT, Zhou DD (2007) Poly (3,4-Ethylenedioxythiophene) for Chronic Neural Stimulation. IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng 15:502–508.

Cukiert A, Lehtimäki K (2017) Deep brain stimulation targeting in refractory epilepsy. Epilepsia 58:80–84.

Curio G (2000) Linking 600-Hz "Spikelike" EEG/MEG Wavelets ("□-Bursts") to Cellular Substrates. J Clin Neurophysiol 17:20.

Curot J, Busigny T, Valton L, Denuelle M, Vignal J-P, Maillard L, Chauvel P, Pariente J, Trebuchon A, Bartolomei F, Barbeau EJ (2017) Memory scrutinized through electrical

brain stimulation: A review of 80 years of experiential phenomena. Neurosci Biobehav Rev 78:161–177.

Cymerblit-Sabba A, Schiller Y (2010) Network Dynamics during Development of Pharmacologically Induced Epileptic Seizures in Rats In Vivo. J Neurosci 30:1619–1630.

de Curtis M, Avanzini G (2001) Interictal spikes in focal epileptogenesis. Prog Neurobiol 63:541–567.

de Solages C, Szapiro G, Brunel N, Hakim V, Isope P, Buisseret P, Rousseau C, Barbour B, Léna C (2008) High-Frequency Organization and Synchrony of Activity in the Purkinje Cell Layer of the Cerebellum. Neuron 58:775–788.

deCharms RC, Blake DT, Merzenich MM (1999) A multielectrode implant device for the cerebral cortex. J Neurosci Methods 93:27–35.

Demont-Guignard S, Benquet P, Gerber U, Biraben A, Martin B, Wendling F (2012) Distinct hyperexcitability mechanisms underlie fast ripples and epileptic spikes. Ann Neurol 71:342–352.

Despouy E, Curot J, Denuelle M, Deudon M, Sol J-C, Lotterie J-A, Reddy L, Nowak LG, Pariente J, Thorpe SJ, Valton L, Barbeau EJ (2019) Neuronal spiking activity highlights a gradient of epileptogenicity in human tuberous sclerosis lesions. Clin Neurophysiol 130:537–547.

Diederich NJ, Kalteis K, Stamenkovic M, Pieri V, Alesch F (2005) Efficient internal pallidal stimulation in Gilles de la Tourette syndrome: A case report. Mov Disord 20:1496–1499.

Dobbins HD, Marvit P, Ji Y, Depireux DA (2007) Chronically recording with a multi-electrode array device in the auditory cortex of an awake ferret. J Neurosci Methods 161:101–111.

Draguhn A, Traub RD, Schmitz D, Jefferys JGR (1998) Electrical coupling underlies high-frequency oscillations in the hippocampus in vitro. Nature 394:189–192.

Drevets WC, Price JL, Furey ML (2008) Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. Brain Struct Funct 213:93–118.

Durand DM (2009) Control of seizure activity by electrical stimulation: Effect of frequency. In: 2009 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, pp 2375–2375. Minneapolis, MN: IEEE. Available at: http://ieeexplore.ieee.org/document/5334993/ [Accessed November 6, 2018].

Dyhrfjeld-Johnsen J, Berdichevsky Y, Swiercz W, Sabolek H, Staley KJ (2010) Interictal Spikes Precede Ictal Discharges in an Organotypic Hippocampal Slice Culture Model of Epileptogenesis: J Clin Neurophysiol 27:418–424.

Ekstrom AD, Kahana MJ, Caplan JB, Fields TA, Isham EA, Newman EL, Fried I (2003) Cellular networks underlying human spatial navigation. Nature 425:184–188.

Engel AK, Moll CKE, Fried I, Ojemann GA (2005) Invasive recordings from the human brain: clinical insights and beyond. Nat Rev Neurosci 6:35–47.

Engel J (2013) Why Is There Still Doubt to Cut It Out? Epilepsy Curr 13:198–204.

Engel J, Wiebe S, French J, Sperling M, Williamson P, Spencer D, Gumnit R, Zahn C, Westbrook E, Enos B (2003) Practice Parameter: Temporal Lobe and Localized Neocortical Resections for Epilepsy: Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology, in Association with the American Epilepsy Society and the American. Epilepsia 44:741–751.

Engel Jr J (1996) Surgery for Seizures. N Engl J Med 334:6.

Engel Jr J (2008) Surgical Treatment for Epilepsy. JAMA 300:3.

Engel Jr J, Bragin A, Staba R, Mody I (2009) High-frequency oscillations: What is normal and what is not? Epilepsia 50:598–604.

Fabo D, Magloczky Z, Wittner L, Pek A, Eross L, Czirjak S, Vajda J, Solyom A, Rasonyi G, Szucs A, Kelemen A, Juhos V, Grand L, Dombovari B, Halasz P, Freund TF, Halgren E, Karmos G, Ulbert I (2008) Properties of in vivo interictal spike generation in the human subiculum. Brain 131:485–499.

Falco-Walter JJ, Scheffer IE, Fisher RS (2018) The new definition and classification of seizures and epilepsy. Epilepsy Res 139:73–79.

Fallah A et al. (2015) Resective Epilepsy Surgery for Tuberous Sclerosis in Children: Determining Predictors of Seizure Outcomes in a Multicenter Retrospective Cohort Study. Neurosurgery 77:517–524.

Fee MS (2000) Active Stabilization of Electrodes for Intracellular Recording in Awake Behaving Animals. Neuron 27:461–468.

Feliciano DM, Lin TV, Hartman NW, Bartley CM, Kubera C, Hsieh L, Lafourcade C, O'Keefe RA, Bordey A (2013) A circuitry and biochemical basis for tuberous sclerosis symptoms: from epilepsy to neurocognitive deficits. Int J Dev Neurosci 31:667–678.

Felix SH, Shah KG, Tolosa VM, Sheth HJ, Tooker AC, Delima TL, Jadhav SP, Frank LM, Pannu SS (2013) Insertion of Flexible Neural Probes Using Rigid Stiffeners Attached with Biodissolvable Adhesive. J Vis Exp Available at: http://www.jove.com/video/50609/insertion-flexible-neural-probes-using-rigid-stiffeners-attached-with [Accessed February 5, 2019].

Ferguson JE, Boldt C, Redish AD (2009) Creating low-impedance tetrodes by electroplating with additives. Sens Actuators Phys 156:388–393.

Fernandez E, Greger B, House PA, Aranda I, Botella C, Albisua J, Soto-SÃ¡nchez C, Alfaro A, Normann RA (2014) Acute human brain responses to intracortical microelectrode arrays: challenges and future prospects. Front Neuroengineering 7 Available at: http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fneng.2014.00024/abstract [Accessed November 14, 2018].

Ferrari-Marinho T, Perucca P, Mok K, Olivier A, Hall J, Dubeau F, Gotman J (2015) Pathologic substrates of focal epilepsy influence the generation of high-frequency oscillations. Epilepsia 56:592–598.

Fins JJ (2003) From psychosurgery to neuromodulation and palliation: history's lessons for the ethical conduct and regulation of neuropsychiatric research. Neurosurg Clin N Am 14:303–319.

Fisher R et al. (2010) Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for treatment of refractory epilepsy: Deep Brain Stimulation of Anterior Thalamus for Epilepsy. Epilepsia 51:899–908.

Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, Engel J, Forsgren L, French JA, Glynn M, Hesdorffer DC, Lee BI, Mathern GW, Moshé SL, Perucca E, Scheffer IE, Tomson T, Watanabe M, Wiebe S (2014) ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. Epilepsia 55:475–482.

Fisher RS, Boas W van E, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J (2005) Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). Epilepsia 46:470–472.

Fisher RS, Velasco AL (2014) Electrical brain stimulation for epilepsy. Nat Rev Neurol 10:261–270.

Foffani G, Uzcategui YG, Gal B, Menendez de la Prida L (2007) Reduced Spike-Timing Reliability Correlates with the Emergence of Fast Ripples in the Rat Epileptic Hippocampus. Neuron 55:930–941.

Frauscher B, Bartolomei F, Kobayashi K, Cimbalnik J, van 't Klooster MA, Rampp S, Otsubo H, Höller Y, Wu JY, Asano E, Engel J, Kahane P, Jacobs J, Gotman J (2017) High-frequency oscillations: The state of clinical research. Epilepsia 58:1316–1329.

Fried I, Mukamel R, Kreiman G (2011) Internally Generated Preactivation of Single Neurons in Human Medial Frontal Cortex Predicts Volition. Neuron 69:548–562.

Fried I, Wilson CL, Maidment NT, Engel J, Behnke E, Fields TA, Macdonald KA, Morrow JW, Ackerson L (1999) Cerebral microdialysis combined with single-neuron and electroencephalographic recording in neurosurgical patients: Technical note. J Neurosurg 91:697–705.

Fu T-M, Hong G, Zhou T, Schuhmann TG, Viveros RD, Lieber CM (2016) Stable long-term chronic brain mapping at the single-neuron level. Nat Methods 13:875–882.

Fuerst D, Shah J, Shah A, Watson C (2003) Hippocampal sclerosis is a progressive disorder: A longitudinal volumetric MRI study. Ann Neurol 53:413–416.

Fujiwara H, Leach JL, Greiner HM, Holland-Bouley KD, Rose DF, Arthur T, Mangano FT (2016) Resection of ictal high frequency oscillations is associated with favorable surgical outcome in pediatric drug resistant epilepsy secondary to tuberous sclerosis complex. Epilepsy Res 126:90–97.

Gardner AB, Worrell GA, Marsh E, Dlugos D, Litt B (2007) Human and automated detection of high-frequency oscillations in clinical intracranial EEG recordings. Clin Neurophysiol 118:1134–1143.

Gazzaniga MS (1975) Review of the split brain. J Neurol 209:75–79.

Geddes LA, Roeder R (2003) Criteria for the Selection of Materials for Implanted Electrodes. Ann Biomed Eng 31:879–890.

Gilletti A, Muthuswamy J (2006) Brain micromotion around implants in the rodent somatosensory cortex. J Neural Eng 3:189–195.

Gliske SV, Stacey WC, Lim E, Holman KA, Fink CG (2017) Emergence of Narrowband High Frequency Oscillations from Asynchronous, Uncoupled Neural Firing. Int J Neural Syst 27:1650049.

Godinho F, Thobois S, Magnin M, Guenot M, Polo G, Benatru I, Xie J, Salvetti A, Garcia-Larrea L, Broussolle E, Mertens P (2006) Subthalamic nucleus stimulation in Parkinson's disease: Anatomical and electrophysiological localization of active contacts. J Neurol 253:1347–1355.

Goldensohn ES, Purpura DP (1963) Intracellular Potentials of Cortical Neurons during Focal Epileptogenic Discharges. Science 139:840–842.

Goldstein SR, Salcman M (1973) Mechanical Factors in the Design of Chronic Recording Intracortical Microelectrodes. IEEE Trans Biomed Eng BME-20:260–269.

Gordon B, Lesser RP, Rance NE, Hart J, Webber R, Uematsu S, Fisher RS (1990) Parameters for direct cortical electrical stimulation in the human: histopathologic confirmation. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 75:371–377.

Gotman J (2018) Oh surprise! Fast ripples on scalp EEG. Clin Neurophysiol 129:1449–1450.

Gotman J, Gloor P (1976) Automatic recognition and quantification of interictal epileptic activity in the human scalp EEG. Electroencephalogr Clin Neurophysiol:513–529.

Gray CM, Goodell B, Lear A (2007) Multichannel Micromanipulator and Chamber System for Recording Multineuronal Activity in Alert, Non-Human Primates. J Neurophysiol 98:527–536.

Gray CM, Maldonado PE, Wilson M, McNaughton B (1995) Tetrodes markedly improve the reliability and yield of multiple single-unit isolation from multi-unit recordings in cat striate cortex. J Neurosci Methods 63:43–54.

Greenberg BD (2002) Update on Deep Brain Stimulation. J ECT 18:4.

Greenberg BD, Malone DA, Friehs GM, Rezai AR, Kubu CS, Malloy PF, Salloway SP, Okun MS, Goodman WK, Rasmussen SA (2006) Three-Year Outcomes in Deep Brain Stimulation for Highly Resistant Obsessive–Compulsive Disorder. Neuropsychopharmacology 31:2384–2393.

Greenberg BD, Price LH, Rauch SL, Friehs G, Noren G, Malone D, Carpenter LL, Rezai AR, Rasmussen SA (2003) Neurosurgery for intractable obsessive-compulsive disorder and depression: critical issues. Neurosurg Clin N Am 14:199–212.

Grenier F, Timofeev I, Steriade M (2001) Focal Synchronization of Ripples (80–200 Hz) in Neocortex and Their Neuronal Correlates. J Neurophysiol 86:1884–1898.

Grill WM, Norman SE, Bellamkonda RV (2009) Implanted Neural Interfaces: Biochallenges and Engineered Solutions. Annu Rev Biomed Eng 11:1–24.

Grill WM, Wei XF (2009) High efficiency electrodes for deep brain stimulation. In: 2009 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, pp 3298–3301. Minneapolis, MN: IEEE. Available at: http://ieeexplore.ieee.org/document/5333774/ [Accessed November 9, 2018].

Gross RE, Krack P, Rodriguez-Oroz MC, Rezai AR, Benabid A-L (2006) Electrophysiological mapping for the implantation of deep brain stimulators for Parkinson's disease and tremor. Mov Disord 21:S259–S283.

Guenot M, Isnard J, Ryvlin P, Fischer C, Mauguiere F, Sindou M (2004) SEEG-guided RF Thermocoagulation of Epileptic Foci: Feasibility, Safety, and Preliminary Results. Epilepsia 45:1368–1374.

Haegelen C, Perucca P, Châtillon C-E, Andrade-Valença L, Zelmann R, Jacobs J, Collins DL, Dubeau F, Olivier A, Gotman J (2013) High-frequency oscillations, extent of surgical resection, and surgical outcome in drug-resistant focal epilepsy. Epilepsia 54:848–857.

Haiss F, Butovas S, Schwarz C (2010) A miniaturized chronic microelectrode drive for awake behaving head restrained mice and rats. J Neurosci Methods 187:67–72.

Halgren E, Kaestner E, Marinkovic K, Cash SS, Wang C, Schomer DL, Madsen JR, Ulbert I (2015) Laminar profile of spontaneous and evoked theta: Rhythmic modulation of cortical processing during word integration. Neuropsychologia 76:108–124.

Hariz MI, Rehncrona S, Quinn NP, Speelman JD, Wensing C, Multicentre Advanced Parkinson's Disease Deep Brain Stimulation Group (2008) Multicenter study on deep

brain stimulation in Parkinson's disease: An independent assessment of reported adverse events at 4 years. Mov Disord 23:416–421.

Harris KD, Henze DA, Csicsvari J, Hirase H, Buzsáki G (2000) Accuracy of Tetrode Spike Separation as Determined by Simultaneous Intracellular and Extracellular Measurements. J Neurophysiol 84:401–414.

Hartshorn A, Jobst B (2018) Responsive brain stimulation in epilepsy. Ther Adv Chronic Dis 9:135–142.

Heath R (1963) Electrical selg-stimulation of the brain in man. Am J Psychiatry 120:571–577.

Hefft S, Brandt A, Zwick S, von Elverfeldt D, Mader I, Cordeiro J, Trippel M, Blumberg J, Schulze-Bonhage A (2013) Safety of Hybrid Electrodes for Single-Neuron Recordings in Humans: Neurosurgery 73:78–85.

Henze DA, Borhegyi Z, Csicsvari J, Mamiya A, Harris KD, Buzsáki G (2000) Intracellular Features Predicted by Extracellular Recordings in the Hippocampus In Vivo. J Neurophysiol 84:390–400.

Herrington TM, Cheng JJ, Eskandar EN (2016) Mechanisms of deep brain stimulation. J Neurophysiol 115:19–38.

Herweg NA, Kahana MJ (2018) Spatial Representations in the Human Brain. Front Hum Neurosci 12 Available at: https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnhum.2018.00297/full [Accessed March 3, 2019].

Herzog J, Fietzek U, Hamel W, Morsnowski A, Steigerwald F, Schrader B, Weinert D, Pfister G, Müller D, Mehdorn HM, Deuschl G, Volkmann J (2004) Most effective stimulation site in subthalamic deep brain stimulation for Parkinson's disease. Mov Disord 19:1050–1054.

Hill DN, Mehta SB, Kleinfeld D (2011) Quality Metrics to Accompany Spike Sorting of Extracellular Signals. J Neurosci 31:8699–8705.

Hochberg LR, Serruya MD, Friehs GM, Mukand JA, Saleh M, Caplan AH, Branner A, Chen D, Penn RD, Donoghue JP (2006) Neuronal ensemble control of prosthetic devices by a human with tetraplegia. Nature 442:164–171.

Holmes MD, Kutsy RL, Ojemann GA, Wilensky AJ, Ojemann LM (2000) Interictal, unifocal spikes in refractory extratemporal epilepsy predict ictal origin and postsurgical outcome. Clin Neurophysiol 111:1802–1808.

Holmgren C, Harkany T, Svennenfors B, Zilberter Y (2003) Pyramidal cell communication within local networks in layer 2/3 of rat neocortex. J Physiol 551:139–153.

Honey CR, Associate Professor of Neurosurgery, Surgical Centre for Movement Disorders, University of British Columbia, Vancouver, Ranjan M, Associate Professor of Neurosurgery, National Institute of Mental Health and Neuro Sciences, Bangalore

(2012) Deep Brain Stimulation for Parkinson's Disease - A Review. Eur Neurol Rev 7:28.

Hoppe C, Poepel A, Elger CE (2007) Epilepsy: Accuracy of Patient Seizure Counts. ARCH NEUROL 64:5.

Houeto JL (2005) Tourette's syndrome and deep brain stimulation. J Neurol Neurosurg Psychiatry 76:992–995.

Hughues A, Ben-Shlomo Y, Daniel SE, Lees A (1992) What features imwove the accuracy of clinical aiagnosis in Parkinson's disease: Neurology 42:6.

Hutchison WD, Allan RJ, Opitz H, Levy R, Dostrovsky JO, Lang AE, Lozano AM (1998) Neurophysiological identification of the subthalamic nucleus in surgery for Parkinson's disease. Ann Neurol 44:622–628.

Ibarz JM, Foffani G, Cid E, Inostroza M, Menendez de la Prida L (2010) Emergent Dynamics of Fast Ripples in the Epileptic Hippocampus. J Neurosci 30:16249–16261.

Iida K, Otsubo H (2017) Stereoelectroencephalography: Indication and Efficacy. Neurol Med Chir (Tokyo) 57:375–385.

Isnard J et al. (2018) French guidelines on stereoelectroencephalography (SEEG). Neurophysiol Clin 48:5–13.

Jackson A, Fetz EE (2007) Compact Movable Microwire Array for Long-Term Chronic Unit Recording in Cerebral Cortex of Primates. J Neurophysiol 98:3109–3118.

Jackson N, Sridharan A, Anand S, Baker M, Okandan M, Muthuswamy J (2010) Long-term neural recordings using MEMS based moveable microelectrodes in the brain. Front Neuroengineering 3 Available at: http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fneng.2010.00010/abstract [Accessed February 6, 2019].

Jacobs J, Kahana MJ, Ekstrom AD, Fried I (2007) Brain Oscillations Control Timing of Single-Neuron Activity in Humans. J Neurosci 27:3839–3844.

Jacobs J, Rohr A, Moeller F, Boor R, Kobayashi E, LeVan Meng P, Stephani U, Gotman J, Siniatchkin M (2008) Evaluation of epileptogenic networks in children with tuberous sclerosis complex using EEG-fMRI. Epilepsia 49:816–825.

Jacobs J, Staba R, Asano E, Otsubo H, Wu JY, Zijlmans M, Mohamed I, Kahane P, Dubeau F, Navarro V, Gotman J (2012) High-frequency oscillations (HFOs) in clinical epilepsy. Prog Neurobiol 98:302–315.

Jacobs J, Weidemann CT, Miller JF, Solway A, Burke JF, Wei X-X, Suthana N, Sperling MR, Sharan AD, Fried I, Kahana MJ (2013) Direct recordings of grid-like neuronal activity in human spatial navigation. Nat Neurosci 16:1188–1190.

Jacobs J, Wu JY, Perucca P, Zelmann R, Mader M, Dubeau F, Mathern GW, Schulze-Bonhage A, Gotman J (2018) Removing high-frequency oscillations: A prospective multicenter study on seizure outcome. Neurology 91:e1040–e1052.

Jacobs J, Zijlmans M, Zelmann R, Chatillon C-É, Hall J, Olivier A, Dubeau F, Gotman J (2010) High-frequency electroencephalographic oscillations correlate with outcome of epilepsy surgery. Ann Neurol 67:209–220.

Jefferys JGR (2010) Advances in understanding basic mechanisms of epilepsy and seizures. Seizure 19:638–646.

Jenike MA (1991) Cingulotomy for Refractory Obsessive Compulsive Disorder: A Long-term Follow-up of 33 Patients. Arch Gen Psychiatry 48:548.

Jenkins B, Tepper SJ (2011) Neurostimulation for Primary Headache Disorders: Part 2, Review of Central Neurostimulators for Primary Headache, Overall Therapeutic Efficacy, Safety, Cost, Patient Selection, and Future Research in Headache Neuromodulation. Headache J Head Face Pain 51:1408–1418.

Jensen TS, Baron R, Haanpää M, Kalso E, Loeser JD, Rice ASC, Treede R-D (2011) A new definition of neuropathic pain: Pain 152:2204–2205.

Jiruska P, Alvarado-Rojas C, Schevon CA, Staba R, Stacey W, Wendling F, Avoli M (2017) Update on the mechanisms and roles of high-frequency oscillations in seizures and epileptic disorders. Epilepsia 58:1330–1339.

Jiruska P, de Curtis M, Jefferys JGR, Schevon CA, Schiff SJ, Schindler K (2013) Synchronization and desynchronization in epilepsy: controversies and hypotheses: Synchronization in epilepsy. J Physiol 591:787–797.

Jobst BC, Cascino GD (2015) Resective Epilepsy Surgery for Drug-Resistant Focal Epilepsy: A Review. JAMA 313:285.

Jobst BC, Engel J (2015) Is it time to replace epileptic spikes with fast ripples? Neurology 85:114–115.

Jog MS, Connolly CI, Kubota Y, Iyengar DR, Garrido L, Harlan R, Graybiel AM (2002) Tetrode technology: advances in implantable hardware, neuroimaging, and data analysis techniques. J Neurosci Methods 117:141–152.

Jonas J, Frismand S, Vignal J-P, Colnat-Coulbois S, Koessler L, Vespignani H, Rossion B, Maillard L (2014) Right hemispheric dominance of visual phenomena evoked by intracerebral stimulation of the human visual cortex: Right Hemispheric Dominance of Visual Phenomena. Hum Brain Mapp 35:3360–3371.

Jones MS, MacDonald KD, Choi B, Dudek FE, Barth DS (2000) Intracellular Correlates of Fast (>200 Hz) Electrical Oscillations in Rat Somatosensory Cortex. J Neurophysiol 84:1505–1518.

Jrad N, Kachenoura A, Merlet I, Bartolomei F, Nica A, Biraben A, Wendling F (2017) Automatic Detection and Classification of High-Frequency Oscillations in Depth-EEG Signals. IEEE Trans Biomed Eng 64:2230–2240.

Kadam SD, White AM, Staley KJ, Dudek FE (2010) Continuous Electroencephalographic Monitoring with Radio-Telemetry in a Rat Model of Perinatal Hypoxia-Ischemia Reveals Progressive Post-Stroke Epilepsy. J Neurosci 30:404–415.

Kandel ER, Spencer WA (1961) ELECTROPHYSIOLOGY OF HIPPOCAMPAL NEURONS: II. AFTER-POTENTIALS AND REPETITIVE FIRING. J Neurophysiol 24:243–259.

Karno M (1988) The Epidemiology of Obsessive-Compulsive Disorder in Five US Communities. Arch Gen Psychiatry 45:1094.

Keene DL, Whiting SE, Ventureyra ECG (2000) Electrocorticography. Epileptic Disord 2:57–64.

Keijsers GPJ, Hoogduin CAL, Schaap CPDR (1994) Predictors of Treatment Outcome in the Behavioural Treatment of Obsessive-Compulsive Disorder. Br J Psychiatry 165:781–786.

Keller CJ, Cash SS, Narayanan S, Wang C, Kuzniecky R, Carlson C, Devinsky O, Thesen T, Doyle W, Sassaroli A, Boas DA, Ulbert I, Halgren E (2009) Intracranial microprobe for evaluating neuro-hemodynamic coupling in unanesthetized human neocortex. J Neurosci Methods 179:208–218.

Keller CJ, Truccolo W, Gale JT, Eskandar E, Thesen T, Carlson C, Devinsky O, Kuzniecky R, Doyle WK, Madsen JR, Schomer DL, Mehta AD, Brown EN, Hochberg LR, Ulbert I, Halgren E, Cash SS (2010) Heterogeneous neuronal firing patterns during interictal epileptiform discharges in the human cortex. Brain 133:1668–1681.

Kessler RC, Chiu WT, Demler O, Walters EE (2005) Prevalence, Severity, and Comorbidity of 12-Month DSM-IV Disorders in the National Comorbidity Survey Replication. ARCH GEN PSYCHIATRY 62:12.

Koller W, Pahwa R, Busenbark K, Hubble J, Wilkinson S, Lang A, Tuite P, Sime E, Lazano A, Hauser R, Malapira T, Smith D, Tarsy D, Miyawaki E, Norregaard T, Kormos T, Olanow CW (1997) High-frequency unilateral thalamic stimulation in the treatment of essential and parkinsonian tremor. Ann Neurol 42:292–299.

Kozai TDY, Langhals NB, Patel PR, Deng X, Zhang H, Smith KL, Lahann J, Kotov NA, Kipke DR (2012) Ultrasmall implantable composite microelectrodes with bioactive surfaces for chronic neural interfaces. Nat Mater 11:1065–1073.

Kreiman G, Fried I, Koch C (2002) Single-neuron correlates of subjective vision in the human medial temporal lobe. Proc Natl Acad Sci 99:8378–8383.

Kulisevsky J, Berthier ML, Gironell A, Pascual-Sedano B, Molet J, Pares P (2002) Mania following deep brain stimulation for Parkinson's disease. Neurology 59:1421–1424.

Kwan P, Schachter SC, Brodie MJ (2011) Drug-Resistant Epilepsy. N Engl J Med:8.

Lago N, Ceballos D, J Rodríguez F, Stieglitz T, Navarro X (2005) Long term assessment of axonal regeneration through polyimide regenerative electrodes to interface the peripheral nerve. Biomaterials 26:2021–2031.

Lambrecq V, Lehongre K, Adam C, Frazzini V, Mathon B, Clemenceau S, Hasboun D, Charpier S, Baulac M, Navarro V, Le Van Quyen M (2017) Single-unit activities during the transition to seizures in deep mesial structures: Seizures and Single-Unit Activities. Ann Neurol 82:1022–1028.

Laxton AW, Tang-Wai DF, McAndrews MP, Zumsteg D, Wennberg R, Keren R, Wherrett J, Naglie G, Hamani C, Smith GS, Lozano AM (2010) A phase I trial of deep brain stimulation of memory circuits in Alzheimer's disease. Ann Neurol 68:521–534.

Lee H, Bellamkonda RV, Sun W, Levenston ME (2005) Biomechanical analysis of silicon microelectrode-induced strain in the brain. J Neural Eng 2:81–89.

Lesser RP, Lüders H, Klem G, Dinner DS, Morris HH, Hahn J (1984) Cortical Afterdischarge and Functional Response Thresholds: Results of Extraoperative Testing. Epilepsia 25:615–621.

Levy R, Deer TR, Henderson J (2010) Intracranial Neurostimulation for Pain Control: A Review. Pain Physician 13:157–165.

Liao Y-F, Tsai M-L, Yen C-T, Cheng C-H (2011) A simple method for fabricating microwire tetrode with sufficient rigidity and integrity without a heat-fusing process. J Neurosci Methods 195:211–215.

Limousin P, Speelman JD, Gielen F, Janssens M, study collaborators (1999) Multicentre European study of thalamic stimulation in parkinsonian and essential tremor. J Neurol Neurosurg Psychiatry 66:289–296.

Lockman J, Fisher RS (2009) Therapeutic Brain Stimulation for Epilepsy. Neurol Clin 27:1031–1040.

Loeb GE (2018) Neural Prosthetics: <b/> A Review of Empirical vs. Systems Engineering Strategies. Appl Bionics Biomech 2018:1–17.

Lopez AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJ (2006) Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. The Lancet 367:1747–1757.

Lozano AM, Lipsman N (2013) Probing and Regulating Dysfunctional Circuits Using Deep Brain Stimulation. Neuron 77:406–424.

Lozano AM, Mayberg HS, Giacobbe P, Hamani C, Craddock RC, Kennedy SH (2008) Subcallosal Cingulate Gyrus Deep Brain Stimulation for Treatment-Resistant Depression. Biol Psychiatry 64:461–467.

Luan L, Wei X, Zhao Z, Siegel JJ, Potnis O, Tuppen CA, Lin S, Kazmi S, Fowler RA, Holloway S, Dunn AK, Chitwood RA, Xie C (2017) Ultraflexible nanoelectronic probes form reliable, glial scar–free neural integration. Sci Adv 3:e1601966.

Ludwig KA, Langhals NB, Joseph MD, Richardson-Burns SM, Hendricks JL, Kipke DR (2011) Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) polymer coatings facilitate smaller neural recording electrodes. J Neural Eng 8:014001.

Ludwig KA, Uram JD, Yang J, Martin DC, Kipke DR (2006) Chronic neural recordings using silicon microelectrode arrays electrochemically deposited with a poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT) film. J Neural Eng 3:59–70.

Madhavan D, Weiner HL, Carlson C, Devinsky O, Kuzniecky R (2007) Local epileptogenic networks in tuberous sclerosis complex: A case review. Epilepsy Behav 11:140–146.

Maguire EA, Burgess N, O'Keefe J (1999) Human spatial navigation: cognitive maps, sexual dimorphism, and neural substrates. Curr Opin Neurobiol 9:171–177.

Maillard LG, Tassi L, Bartolomei F, Catenoix H, Dubeau F, Szurhaj W, Kahane P, Nica A, Marusic P, Mindruta I, Chassoux F, Ramantani G (2017) Stereoelectroencephalography and surgical outcome in polymicrogyria-related epilepsy: A multicentric study: SEEG and Epilepsy Surgery in PMG. Ann Neurol 82:781–794.

Major P, Rakowski S, Simon MV, Cheng ML, Eskandar E, Baron J, Leeman BA, Frosch MP, Thiele EA (2009) Are cortical tubers epileptogenic? Evidence from electrocorticography. Epilepsia 50:147–154.

Mallory GW, Abulseoud O, Hwang S-C, Gorman DA, Stead SM, Klassen BT, Sandroni P, Watson JC, Lee KH (2012) The Nucleus Accumbens as a Potential Target for Central Poststroke Pain. Mayo Clin Proc 87:1025–1031.

Malone DA, Dougherty DD, Rezai AR, Carpenter LL, Friehs GM, Eskandar EN, Rauch SL, Rasmussen SA, Machado AG, Kubu CS, Tyrka AR, Price LH, Stypulkowski PH, Giftakis JE, Rise MT, Malloy PF, Salloway SP, Greenberg BD (2009) Deep Brain Stimulation of the Ventral Capsule/Ventral Striatum for Treatment-Resistant Depression. Biol Psychiatry 65:267–275.

Manns JR, Hopkins RO, Reed JM, Kitchener EG, Squire LR (2003) Recognition Memory and the Human Hippocampus. Neuron 37:171–180.

Marchand S, Kupers RC, Bushnell CM, Duncan GH (2003) Analgesic and placebo effects of thalamic stimulation: Pain 105:481–488.

Marcotte L, Aronica E, Baybis M, Crino PB (2012) Cytoarchitectural alterations are widespread in cerebral cortex in tuberous sclerosis complex. Acta Neuropathol (Berl) 123:685–693.

Martinez-Ramirez D et al. (2018) Efficacy and Safety of Deep Brain Stimulation in Tourette Syndrome: The International Tourette Syndrome Deep Brain Stimulation Public Database and Registry. JAMA Neurol 75:353.

Matsumoto H, Marsan CA (1964) Cellular mechanisms in experimental epileptic seizures. Science 144:193–194.

Mayberg HS (1997) Limbic-cortical dysregulation: a proposed model of depression. J Neuropsychiatry Clin Neurosci 9:471–481.

Mayberg HS (2003) Modulating dysfunctional limbic-cortical circuits in depression: towards development of brain-based algorithms for diagnosis and optimised treatment. Br Med Bull 65:193–207.

Mayberg HS, Lozano AM, Voon V, McNeely HE, Seminowicz D, Hamani C, Schwalb JM, Kennedy SH (2005) Deep Brain Stimulation for Treatment-Resistant Depression. Neuron 45:651–660.

McBain CJ, Boden P, Hill RG (1989) Rat hippocampal slices 'in vitro' display spontaneous epileptiform activity following long-term organotypic culture. J Neurosci Methods 27:35–49.

McNaughton BL, O'Keefe J, Barnes CA (1983) The stereotrode: A new technique for simultaneous isolation of several single units in the central nervous system from multiple unit records. J Neurosci Methods 8:391–397.

Merkow MB, Burke JF, Kahana MJ (2015) The human hippocampus contributes to both the recollection and familiarity components of recognition memory. Proc Natl Acad Sci 112:14378–14383.

Merricks EM, Smith EH, McKhann GM, Goodman RR, Bateman LM, Emerson RG, Schevon CA, Trevelyan AJ (2015) Single unit action potentials in humans and the effect of seizure activity. Brain 138:2891–2906.

Merrill DR (2014) Materials considerations of implantable neuroengineering devices for clinical use. Curr Opin Solid State Mater Sci 18:329–336.

Merrill DR, Bikson M, Jefferys JGR (2005) Electrical stimulation of excitable tissue: design of efficacious and safe protocols. J Neurosci Methods 141:171–198.

Messina G, Rizzi M, Cordella R, Caraceni A, Zecca E, Bussone G, Franzini A, Leone M (2013) Secondary chronic cluster headache treated by posterior hypothalamic deep brain stimulation: First reported case. Cephalalgia 33:136–138.

Meunier M, Bachevalier J, Mishkin M, Murray EA (1993) Effects on visual recognition of combined and separate ablations of the entorhinal and perirhinal cortex in rhesus monkeys. J Neurosci 13:5418–5432.

Miller JF, Neufang M, Solway A, Brandt A, Trippel M, Mader I, Hefft S, Merkow M, Polyn SM, Jacobs J, Kahana MJ, Schulze-Bonhage A (2013) Neural Activity in Human

Hippocampal Formation Reveals the Spatial Context of Retrieved Memories. Science 342:1111–1114.

Milner B, Squire LR, Kandel ER (1998) Cognitive Neuroscience and the Study of Memory. Neuron 20:445–468.

Misra A, Burke JF, Ramayya AG, Jacobs J, Sperling MR, Moxon KA, Kahana MJ, Evans JJ, Sharan AD (2014) Methods for implantation of micro-wire bundles and optimization of single/multi-unit recordings from human mesial temporal lobe. J Neural Eng 11:026013.

Modur PN, Zhang S, Vitaz TW (2011) Ictal high-frequency oscillations in neocortical epilepsy: implications for seizure localization and surgical resection: Ictal High-Frequency Oscillations. Epilepsia 52:1792–1801.

Mohamed AR, Bailey CA, Freeman JL, Maixner W, Jackson GD, Harvey AS (2012) Intrinsic epileptogenicity of cortical tubers revealed by intracranial EEG monitoring. Neurology 79:2249–2257.

Moore NZ, Lempka SF, Machado A (2014) Central Neuromodulation for Refractory Pain. Neurosurg Clin N Am 25:77–83.

Moran NF, Poole K, Bell G, Solomon J, Kendall S, McCarthy M, McCormick D, Nashef L, Sander J, Shorvon SD (2004) Epilepsy in the United Kingdom: seizure frequency and severity, anti-epileptic drug utilization and impact on life in 1652 people with epilepsy. Seizure 13:425–433.

Mormann F, Kornblith S, Quiroga RQ, Kraskov A, Cerf M, Fried I, Koch C (2008) Latency and Selectivity of Single Neurons Indicate Hierarchical Processing in the Human Medial Temporal Lobe. J Neurosci 28:8865–8872.

Mormann F, Kreuz T, Andrzejak RG, David P, Lehnertz K, Elger CE (2003) Epileptic seizures are preceded by a decrease in synchronization. Epilepsy Res 53:173–185.

Morrell MJ (2011) Responsive cortical stimulation for the treatment of medically intractable partial epilepsy. Neurology 77:1295–1304.

Muller R, Kubie J (1987) The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. J Neurosci 7:1951–1968.

Muller R, Kubie J, Ranck J (1987) Spatial firing patterns of hippocampal complex-spike cells in a fixed environment. J Neurosci 7:1935–1950.

Mullin JP, Sexton D, Al-Omar S, Bingaman W, Gonzalez-Martinez J (2016a) Outcomes of Subdural Grid Electrode Monitoring in the Stereoelectroencephalography Era. World Neurosurg 89:255–258.

Mullin JP, Shriver M, Alomar S, Najm I, Bulacio J, Chauvel P, Gonzalez-Martinez J (2016b) Is SEEG safe? A systematic review and meta-analysis of stereo-electroencephalography-related complications. Epilepsia 57:386–401.

Navarrete M, Alvarado-Rojas C, Le Van Quyen M, Valderrama M (2016) RIPPLELAB: A Comprehensive Application for the Detection, Analysis and Classification of High Frequency Oscillations in Electroencephalographic Signals Charpier S, ed. PLOS ONE 11:e0158276.

Netoff TI, Schiff SJ (2002) Decreased Neuronal Synchronization during Experimental Seizures. J Neurosci 22:7297–7307.

Nicolelis MAL (2001) Actions from thoughts. Nature 409:403–407.

Norman KA, O'Reilly RC (2003) Modeling hippocampal and neocortical contributions to recognition memory: A complementary-learning-systems approach. Psychol Rev 110:611–646.

Ogren JA, Bragin A, Wilson CL, Hoftman GD, Lin JJ, Dutton RA, Fields TA, Toga AW, Thompson PM, Engel Jr. J, Staba RJ (2009) Three-dimensional hippocampal atrophy maps distinguish two common temporal lobe seizure-onset patterns. Epilepsia 50:1361–1370.

Okanishi T, Akiyama T, Tanaka S-I, Mayo E, Mitsutake A, Boelman C, Go C, Snead OC, Drake J, Rutka J, Ochi A, Otsubo H (2014) Interictal high frequency oscillations correlating with seizure outcome in patients with widespread epileptic networks in tuberous sclerosis complex. Epilepsia 55:1602–1610.

O'Keefe J, Conway DH (1978) Hippocampal place units in the freely moving rat: Why they fire where they fire. Exp Brain Res 31 Available at: http://link.springer.com/10.1007/BF00239813 [Accessed March 3, 2019].

O'Keefe J, Dostrovsky J (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. Brain Res 34:171–175.

O'Keefe J, Recce ML (1993) Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. Hippocampus 3:317–330.

Okun MS, Fernandez HH, Wu SS, Kirsch-Darrow L, Bowers D, Bova F, Suelter M, Jacobson CE, Wang X, Gordon CW, Zeilman P, Romrell J, Martin P, Ward H, Rodriguez RL, Foote KD (2009) Cognition and mood in Parkinson's disease in subthalamic nucleus versus globus pallidus interna deep brain stimulation: The COMPARE Trial. Ann Neurol 65:586–595.

Oliver B, Gascón J, Aparicio A, Ayats E, Rodriguez R, Maestro de León JL, García-Bach M, Soler PA (2003) Bilateral Anterior Capsulotomy for Refractory Obsessive-Compulsive Disorders. Stereotact Funct Neurosurg 81:90–95.

Ortiz F, Zapfe WPK, Draguhn A, Gutiérrez R (2018) Early Appearance and Spread of Fast Ripples in the Hippocampus in a Model of Cortical Traumatic Brain Injury. J Neurosci 38:9034–9046.

Ossipov MH, Dussor GO, Porreca F (2010) Central modulation of pain. J Clin Invest 120:3779–3787.

Pahwa R, Lyons KE, Wilkinson SB, Simpson RK, Ondo WG, Tarsy D, Norregaard T, Hubble JP, Smith DA, Hauser RA, Jankovic J (2006) Long-term evaluation of deep brain stimulation of the thalamus. J Neurosurg:506–512.

Parent A, Hazrati L-N (1994) Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. Brain Res Rev 20:128–154.

Park S, Yoon E, Lee S, Shin H, Park H, Kim B, Kim D, Park J, Park S (2008) The development of a PZT-based microdrive for neural signal recording. Smart Mater Struct 17:027001.

Parvizi J, Kastner S (2018) Promises and limitations of human intracranial electroencephalography. Nat Neurosci 21:474–483.

Patai EZ, Gadian DG, Cooper JM, Dzieciol AM, Mishkin M, Vargha-Khadem F (2015) Extent of hippocampal atrophy predicts degree of deficit in recall. Proc Natl Acad Sci 112:12830–12833.

Pauls DL, Abramovitch A, Rauch SL, Geller DA (2014) Obsessive–compulsive disorder: an integrative genetic and neurobiological perspective. Nat Rev Neurosci 15:410–424.

Penfield W, Boldrey E (1937) Somatic motor and sensory representation in the cerebral cortex of man as studied by electrical stimulation. Brain:389–443.

Penfield W, Jasper H (1954) Electrocorticography. Funct Anat Hum Brain:692–738.

Pereira EAC, Boccard SG, Linhares P, Chamadoira C, Rosas MJ, Abreu P, Rebelo V, Vaz R, Aziz TZ (2013) Thalamic deep brain stimulation for neuropathic pain after amputation or brachial plexus avulsion. Neurosurg Focus 35:E7.

Pesaran B, Nelson MJ, Andersen RA (2008) Free choice activates a decision circuit between frontal and parietal cortex. Nature 453:406–409.

Peters JM, Prohl AK, Tomas-Fernandez XK, Taquet M, Scherrer B, Prabhu SP, Lidov HG, Singh JM, Jansen FE, Braun KP, others (2015) Tubers are neither static nor discrete Evidence from serial diffusion tensor imaging. Neurology 85:1536–1545.

Picot M-C, Baldy-Moulinier M, Daurs J-P, Dujols P, Crespel A (2008) The prevalence of epilepsy and pharmacoresistant epilepsy in adults: A population-based study in a Western European country. Epilepsia 49:1230–1238.

Pizzo F, Frauscher B, Ferrari-Marinho T, Amiri M, Dubeau F, Gotman J (2016) Detectability of Fast Ripples (>250 Hz) on the Scalp EEG: A Proof-of-Principle Study with Subdermal Electrodes. Brain Topogr 29:358–367.

Podkorytova I, Hoes K, Lega B (2016) Stereo-Encephalography Versus Subdural Electrodes for Seizure Localization. Neurosurg Clin N Am 27:97–109.

Polikov VS, Tresco PA, Reichert WM (2005) Response of brain tissue to chronically implanted neural electrodes. J Neurosci Methods 148:1–18.

Prasad A, Xue Q-S, Sankar V, Nishida T, Shaw G, Streit WJ, Sanchez JC (2012) Comprehensive characterization and failure modes of tungsten microwire arrays in chronic neural implants. J Neural Eng 9:056015.

Prince DA (1967) Control Mechanisms in Cortical Epileptogenic Foci*: "Surround" Inhibition. Arch Neurol 16:194.

Prohaska O, Pacha F, Pfundner P, Petsche H (1979) A 16-fold semi-microelectrode for intracortical recording of field potentials. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 47:629–631.

Qian P, Li H, Xue J, Yang Z (2016) Scalp-recorded high-frequency oscillations in atypical benign partial epilepsy. Clin Neurophysiol 127:3306–3313.

Quiroga QR, Nadasdy Z, Ben-Shaul Y (2004) Unsupervised spike detection and sorting with wavelets and superparamagnetic clustering. Neural Comput:1661–1687.

Quiroga RQ (2012) Spike sorting. Curr Biol 22:R45–R46.

Quiroga RQ, Reddy L, Kreiman G, Koch C, Fried I (2005) Invariant visual representation by single neurons in the human brain. Nature 435:1102–1107.

Rakhade SN, Jensen FE (2009) Epileptogenesis in the immature brain: emerging mechanisms. Nat Rev Neurol 5:380–391.

Ran X, Li J, Shao Q, Chen H, Lin Z, Sun ZS, Wu J (2015) EpilepsyGene: a genetic resource for genes and mutations related to epilepsy. Nucleic Acids Res 43:D893–D899.

Ranck JB (1973) Studies on Single Neurons in Dorsal Hippocampal Formation and Septum in Unrestrained Rats. Exp Neurol 14:461–555.

Ranganath C, Ritchey M (2012) Two cortical systems for memory-guided behaviour. Nat Rev Neurosci 13:713–726.

Rao NG, Donoghue JP (2014) Cue to action processing in motor cortex populations. J Neurophysiol 111:441–453.

Rasche D, Rinaldi PC, Young RF, Tronnier VM (2006) Deep brain stimulation for the treatment of various chronic pain syndromes. Neurosurg Focus 21:1–8.

Rehncrona S, Johnels B, Widner H, Törnqvist A-L, Hariz M, Sydow O (2003) Long-term efficacy of thalamic deep brain stimulation for tremor: Double-blind assessments: Long-Term Efficacy of Thalamic DBS. Mov Disord 18:163–170.

Rey HG, Pedreira C, Quian Quiroga R (2015) Past, present and future of spike sorting techniques. Brain Res Bull 119:106–117.

Reynolds DV (1969) Surgery in the Rat during Electrical Analgesia Induced by Focal Brain Stimulation. Science 164:444–445.

Robinson DA (1968) The electrical properties of metal microelectrodes. Proc IEEE 56:1065–1071.

Rodrigues JP, Walters SE, Watson P, Stell R, Mastaglia FL (2007) Globus pallidus stimulation in advanced Parkinson's disease. J Clin Neurosci 14:208–215.

Roehri N, Bartolomei F (2019) Are high-frequency oscillations better biomarkers of the epileptogenic zone than spikes?: Curr Opin Neurol:1.

Roehri N, Lina J-M, Mosher JC, Bartolomei F, Bénar C-G (2016) Time-Frequency strategies for increasing high-frequency oscillation detectability in intracerebral EEG. IEEE Trans Biomed Eng 63:2595–2606.

Roehri N, Pizzo F, Bartolomei F, Wendling F, Bénar C-G (2017) What are the assets and weaknesses of HFO detectors? A benchmark framework based on realistic simulations Avoli M, ed. PLOS ONE 12:e0174702.

Roehri N, Pizzo F, Lagarde S, Lambert I, Nica A, McGonigal A, Giusiano B, Bartolomei F, Bénar C-G (2018) High-frequency oscillations are not better biomarkers of epileptogenic tissues than spikes: HFOs Are Not Better Than Spikes. Ann Neurol 83:84–97.

Rolston JD, Englot DJ, Cornes S, Chang EF (2016) Major and minor complications in extraoperative electrocorticography: A review of a national database. Epilepsy Res 122:26–29.

Rosenberger PH, Jokl P, Ickovics J (2006) Psychosocial Factors and Surgical Outcomes: An Evidence-Based Literature Review: J Am Acad Orthop Surg 14:397–405.

Rousche PJ, Pellinen DS, Pivin DP, Williams JC, Vetter RJ, Kipke DR (2001) Flexible polyimide-based intracortical electrode arrays with bioactive capability. IEEE Trans Biomed Eng 48:361–371.

Ruo B, Rumsfeld JS, Hlatky MA, Liu H, Browner WS, Whooley MA (2003) Depressive Symptoms and Health-Related Quality of Life. JAMA 290:215–221.

Ruppe V, Dilsiz P, Reiss CS, Carlson C, Devinsky O, Zagzag D, Weiner HL, Talos DM (2014) Developmental brain abnormalities in tuberous sclerosis complex: A comparative tissue analysis of cortical tubers and perituberal cortex. Epilepsia 55:539–550.

Rush AJ, Trivedi MH, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Stewart JW, Warden D, Niederehe G, Thase ME, Lavori PW, Lebowitz BD, McGrath PJ, Rosenbaum JF, Sackeim HA (2006) Acute and Longer-Term Outcomes in Depressed Outpatients Requiring One or Several Treatment Steps: A STAR*D Report. Am J Psychiatry:13.

Rutishauser U, Mamelak AN, Schuman EM (2006) Single-Trial Learning of Novel Stimuli by Individual Neurons of the Human Hippocampus-Amygdala Complex. Neuron 49:805–813.

Rutishauser U, Ye S, Koroma M, Tudusciuc O, Ross IB, Chung JM, Mamelak AN (2015) Representation of retrieval confidence by single neurons in the human medial temporal lobe. Nat Neurosci 18:1041–1050.

Salanova V et al. (2015) Long-term efficacy and safety of thalamic stimulation for drug-resistant partial epilepsy. Neurology 84:1017–1025.

Sato T, Suzuki T, Mabuchi K (2007) A new multi-electrode array design for chronic neural recording, with independent and automatic hydraulic positioning. J Neurosci Methods 160:45–51.

Scharfman HE (2007) The neurobiology of epilepsy. Curr Neurol Neurosci Rep 7:348–354.

Schevon CA, Goodman RR, McKhann G, Emerson RG (2010) Propagation of Epileptiform Activity on a Submillimeter Scale: J Clin Neurophysiol 27:406–411.

Schevon CA, Ng SK, Cappell J, Goodman RR, McKhann G, Waziri A, Branner A, Sosunov A, Schroeder CE, Emerson RG (2008) Microphysiology of Epileptiform Activity in Human Neocortex: J Clin Neurophysiol 25:321–330.

Schlaepfer TE, Cohen MX, Frick C, Kosel M, Brodesser D, Axmacher N, Joe AY, Kreft M, Lenartz D, Sturm V (2008) Deep Brain Stimulation to Reward Circuitry Alleviates Anhedonia in Refractory Major Depression. Neuropsychopharmacology 33:368–377.

Schmidt RF, Wu C, Lang MJ, Soni P, Williams KA, Boorman DW, Evans JJ, Sperling MR, Sharan AD (2016) Complications of subdural and depth electrodes in 269 patients undergoing 317 procedures for invasive monitoring in epilepsy. Epilepsia 57:1697–1708.

Schrag A, Quinn N (2000) Dyskinesias and motor fluctuations in Parkinson's disease. Brain 123:2297–2305.

Schulz R, Beach SR, Ives DG, Martire LM, Ariyo AA, Kop WJ (2000) Association Between Depression and Mortality in Older Adults: The Cardiovascular Health Study. Arch Intern Med 160:1761.

Schwartz AB (2004) CORTICAL NEURAL PROSTHETICS. Annu Rev Neurosci 27:487–507.

Seifried C, Weise L, Hartmann R, Gasser T, Baudrexel S, Szelényi A, van de Loo S, Steinmetz H, Seifert V, Roeper J, Hilker R (2012) Intraoperative microelectrode recording for the delineation of subthalamic nucleus topography in Parkinson's disease. Brain Stimulat 5:378–387.

Self MW, Peters JC, Possel JK, Reithler J, Goebel R, Ris P, Jeurissen D, Reddy L, Claus S, Baayen JC, Roelfsema PR (2016) The Effects of Context and Attention on Spiking Activity in Human Early Visual Cortex Pack CC, ed. PLOS Biol 14:e1002420.

Senova S, Chaillet A, Lozano AM (2018) Fornical Closed-Loop Stimulation for Alzheimer's Disease. Trends Neurosci 41:418–428.

Sosunov AA, McGovern RA, Mikell CB, Wu X, Coughlin DG, Crino PB, Weiner HL, Ghatan S, Goldman JE, McKhann GM (2015) Epileptogenic but MRI-normal perituberal tissue in Tuberous Sclerosis Complex contains tuber-specific abnormalities. Acta Neuropathol Commun 3.

Sosunov AA, Wu X, Weiner HL, Mikell CB, Goodman RR, Crino PD, McKhann GM (2008) Tuberous sclerosis: A primary pathology of astrocytes?: Astrocyte Pathology in Tuberous Sclerosis. Epilepsia 49:53–62.

Staba RJ, Stead M, Worrell GA (2014) Electrophysiological Biomarkers of Epilepsy. Neurotherapeutics 11:334–346.

Staba RJ, Wilson CL, Bragin A, Fried I, Engel J (2002) Quantitative Analysis of High-Frequency Oscillations (80–500 Hz) Recorded in Human Epileptic Hippocampus and Entorhinal Cortex. J Neurophysiol 88:1743–1752.

Staresina BP, Fell J, Do Lam ATA, Axmacher N, Henson RN (2012) Memory signals are temporally dissociated in and across human hippocampus and perirhinal cortex. Nat Neurosci 15:1167–1173.

Stead M, Bower M, Brinkmann BH, Lee K, Marsh WR, Meyer FB, Litt B, Van Gompel J, Worrell GA (2010) Microseizures and the spatiotemporal scales of human partial epilepsy. Brain 133:2789–2797.

Stein MB, Forde DR, Anderson G, Walker JR (1997) Obsessive-compulsive disorder in the community: an epidemiologic survey with clinical reappraisal. Am J Psychiatry 154:1120–1126.

Stensaas SS, Stensaas LJ (1978) Histopathological evaluation of materials implanted in the cerebral cortex. Acta Neuropathol (Berl) 41:145–155.

Subbaroyan J, Martin DC, Kipke DR (2005) A finite-element model of the mechanical effects of implantable microelectrodes in the cerebral cortex. J Neural Eng 2:103–113.

Suner S, Fellows MR, Vargas-Irwin C, Nakata GK, Donoghue JP (2005) Reliability of Signals From a Chronically Implanted, Silicon-Based Electrode Array in Non-Human Primate Primary Motor Cortex. IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng 13:524–541.

Sutula TP, Dudek FE (2007) Unmasking recurrent excitation generated by mossy fiber sprouting in the epileptic dentate gyrus: an emergent property of a complex system. In: Progress in Brain Research, pp 541–563. Elsevier. Available at: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079612307630295 [Accessed December 13, 2018].

Swadlow HA, Bereshpolova Y, Bezdudnaya T, Cano M, Stoelzel CR (2005) A Multi-Channel, Implantable Microdrive System for Use With Sharp, Ultra-Fine “Reitboeck” Microelectrodes. J Neurophysiol 93:2959–2965.

Szikla G, Bouvier G, Hori T (1975) In vivo localization of brain sulci by arteriography: a stereotactic anatomoradiological study. Brain Res 95:497–502.

Talairach J, Bancaud J (1966) Lesion, “Irritative” Zone and Epileptogenic Focus. Confin Neurol:91–94.

Tamura K, Takeda M, Setsuie R, Tsubota T, Hirabayashi T, Miyamoto K, Miyashita Y (2017) Conversion of object identity to object-general semantic value in the primate temporal cortex. Science 357:687–692.

Tao JX, Ray A, Hawes-Ebersole S, Ebersole JS (2005) Intracranial EEG Substrates of Scalp EEG Interictal Spikes. Epilepsia 46:669–676.

Téllez-Zenteno JF, Dhar R, Wiebe S (2005) Long-term seizure outcomes following epilepsy surgery: a systematic review and meta-analysis. Brain 128:1188–1198.

Temel Y, Blokland A, Steinbusch HWM, Visser-Vandewalle V (2005) The functional role of the subthalamic nucleus in cognitive and limbic circuits. Prog Neurobiol 76:393–413.

Torrance N, Smith BH, Bennett MI, Lee AJ (2006) The Epidemiology of Chronic Pain of Predominantly Neuropathic Origin. Results From a General Population Survey. J Pain 7:281–289.

Trébuchon A, Chauvel P (2016) Electrical Stimulation for Seizure Induction and Functional Mapping in Stereoelectroencephalography: J Clin Neurophysiol 33:511–521.

Truccolo W, Ahmed OJ, Harrison MT, Eskandar EN, Cosgrove GR, Madsen JR, Blum AS, Potter NS, Hochberg LR, Cash SS (2014) Neuronal Ensemble Synchrony during Human Focal Seizures. J Neurosci 34:9927–9944.

Truccolo W, Donoghue JA, Hochberg LR, Eskandar EN, Madsen JR, Anderson WS, Brown EN, Halgren E, Cash SS (2011) Single-neuron dynamics in human focal epilepsy. Nat Neurosci 14:635–641.

Ulbert I, Halgren E, Heit G, Karmos G (2001) Multiple microelectrode-recording system for human intracortical applications. J Neurosci Methods 106:69–79.

Ulbert I, Heit G, Madsen J, Karmos G, Halgren E (2004) Laminar Analysis of Human Neocortical Interictal Spike Generation and Propagation: Current Source Density and Multiunit Analysis In Vivo. Epilepsia 45:48–56.

Urrestarazu E, Chander R, Dubeau F, Gotman J (2007) Interictal high-frequency oscillations (100–500 Hz) in the intracerebral EEG of epileptic patients. Brain 130:2354–2366.

Usui N, Terada K, Baba K, Matsuda K, Usui K, Tottori T, Mihara T, Inoue Y (2015) Significance of Very-High-Frequency Oscillations (Over 1,000Hz) in Epilepsy: Significance of VHFO in epilepsy. Ann Neurol 78:295–302.

van Klink N, Hillebrand A, Zijlmans M (2016a) Identification of epileptic high frequency oscillations in the time domain by using MEG beamformer-based virtual sensors. Clin Neurophysiol 127:197–208.

van Klink NEC, van 't Klooster MA, Leijten FSS, Jacobs J, Braun KPJ, Zijlmans M (2016b) Ripples on rolandic spikes: A marker of epilepsy severity. Epilepsia 57:1179–1189.

van Klink NEC, van't Klooster MA, Zelmann R, Leijten FSS, Ferrier CH, Braun KPJ, van Rijen PC, van Putten MJAM, Huiskamp GJM, Zijlmans M (2014) High frequency oscillations in intra-operative electrocorticography before and after epilepsy surgery. Clin Neurophysiol 125:2212–2219.

van Melle JP, de Jonge P, Spijkerman TA, Tijssen JGP, Ormel J, van Veldhuisen DJ, van den Brink RHS, van den Berg MP (2004) Prognostic Association of Depression Following Myocardial Infarction With Mortality and Cardiovascular Events: A Meta-analysis: Psychosom Med 66:814–822.

van 't Klooster MA, van Klink NEC, Leijten FSS, Zelmann R, Gebbink TA, Gosselaar PH, Braun KPJ, Huiskamp GJM, Zijlmans M (2015) Residual fast ripples in the intraoperative corticogram predict epilepsy surgery outcome. Neurology 85:120–128.

van 't Klooster MA, Zijlmans M, Leijten FSS, Ferrier CH, van Putten MJAM, Huiskamp GJM (2011) Time–frequency analysis of single pulse electrical stimulation to assist delineation of epileptogenic cortex. Brain 134:2855–2866.

Varela F, Lachaux J-P, Rodriguez E, Martinerie J (2001) The brainweb: Phase synchronization and large-scale integration. Nat Rev Neurosci 2:229–239.

Vargha-Khadem F (1997) Differential Effects of Early Hippocampal Pathology on Episodic and Semantic Memory. Science 277:376–380.

Vitale F, Vercosa DG, Rodriguez AV, Pamulapati SS, Seibt F, Lewis E, Yan JS, Badhiwala K, Adnan M, Royer-Carfagni G, Beierlein M, Kemere C, Pasquali M, Robinson JT (2018) Fluidic Microactuation of Flexible Electrodes for Neural Recording. Nano Lett 18:326–335.

Volkmann J, Allert N, Voges J, Sturm V, Schnitzler A, Freund H-J (2004) Long-term results of bilateral pallidal stimulation in Parkinson's disease. Ann Neurol 55:871–875.

von Ellenrieder N, Dan J, Frauscher B, Gotman J (2016a) Sparse asynchronous cortical generators can produce measurable scalp EEG signals. NeuroImage 138:123–133.

von Ellenrieder N, Pellegrino G, Hedrich T, Gotman J, Lina J-M, Grova C, Kobayashi E (2016b) Detection and Magnetic Source Imaging of Fast Oscillations (40–160 Hz) Recorded with Magnetoencephalography in Focal Epilepsy Patients. Brain Topogr 29:218–231.

Voorhies JM, Cohen-Gadol A (2013) Techniques for placement of grid and strip electrodes for intracranial epilepsy surgery monitoring: Pearls and pitfalls. Surg Neurol Int.

Wagner FB, Eskandar EN, Cosgrove GR, Madsen JR, Blum AS, Potter NS, Hochberg LR, Cash SS, Truccolo W (2015) Microscale spatiotemporal dynamics during neocortical propagation of human focal seizures. NeuroImage 122:114–130.

Walther H, Lambert JDC, Jones RSG, Heinemann U, Hamon B (1986) Epileptiform activity in combined slices of the hippocampus, subiculum and entorhinal cortex during perfusion with low magnesium medium. Neurosci Lett 69:156–161.

Weaver FM et al. (2009) Bilateral Deep Brain Stimulation vs Best Medical Therapy for Patients With Advanced Parkinson DiseaseA Randomized Controlled Trial. JAMA 301:63.

Weissman MM, Bland RC, Canino GJ, Greenwald S, Hwu H-G, Joyce PR, Karam EG, Lee C-K, Lellouch J, Lepine J-P, Newman SC, Rubio-Stipec M, Wells JE, Wickramaratne PJ, Wittchen H-U, Yeh E-K (1999) Prevalence of suicide ideation and suicide attempts in nine countries. Psychol Med 29:9–17.

Wendling F, Bartolomei F, Bellanger JJ, Chauvel P (2001) Interpretation of interdependencies in epileptic signals using a macroscopic physiological model of the EEG. Clin Neurophysiol 112:1201–1218.

West S, Nolan SJ, Cotton J, Gandhi S, Weston J, Sudan A, Ramirez R, Newton R (2015) Surgery for epilepsy Cochrane Epilepsy Group, ed. Cochrane Database Syst Rev Available at: http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD010541.pub2 [Accessed November 5, 2018].

Wiebe S (2001) A Randomized, Controlled Trial of Surgery for Temporal-Lobe Epilepsy. N Engl J Med:8.

Wiechert P, Herbst A (1966) PROVOCATION OF CEREBRAL SEIZURES BY DERANGEMENT OF THE NATURAL BALANCE BETWEEN GLUTAMIC ACID AND ?-AMINOBUTYRIC ACID. J Neurochem 13:59–64.

Wieser H et al (2001) Proposal for a New Classification of Outcome with Respect to Epileptic Seizures Following Epilepsy Surgery. 42:5.

Williams A, Gill S, Varma T, Jenkinson C, Quinn N, Mitchell R, Scott R, Ives N, Rick C, Daniels J, Patel S, Wheatley K (2010) Deep brain stimulation plus best medical therapy versus best medical therapy alone for advanced Parkinson's disease (PD SURG trial): a randomised, open-label trial. Lancet Neurol 9:581–591.

Williams PA, White AM, Clark S, Ferraro DJ, Swiercz W, Staley KJ, Dudek FE (2009) Development of Spontaneous Recurrent Seizures after Kainate-Induced Status Epilepticus. J Neurosci 29:2103–2112.

Wilson M, McNaughton B (1993) Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. Science 261:1055–1058.

Winslow BD, Tresco PA (2010) Quantitative analysis of the tissue response to chronically implanted microwire electrodes in rat cortex. Biomaterials 31:1558–1567.

Woerdeman PA, Willems PWA, Noordmans HJ, Berkelbach van der Sprenkel JW, van Rijen PC (2005) Frameless stereotactic subcaudate tractotomy for intractable obsessive-compulsive disorder. Int Congr Ser 1281:798–803.

Wolf MT, Cham JG, Branchaud EA, Mulliken GH, Burdick JW, Andersen RA (2009) A Robotic Neural Interface for Autonomous Positioning of Extracellular Recording Electrodes. Int J Robot Res 28:1240–1256.

Worrell GA, Gardner AB, Stead SM, Hu S, Goerss S, Cascino GJ, Meyer FB, Marsh R, Litt B (2008) High-frequency oscillations in human temporal lobe: simultaneous microwire and clinical macroelectrode recordings. Brain 131:928–937.

Wu F, Im M, Yoon E (2011) A flexible fish-bone-shaped neural probe strengthened by biodegradable silk coating for enhanced biocompatibility. In: 2011 16th International Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems Conference, pp 966–969. Beijing, China: IEEE. Available at: http://ieeexplore.ieee.org/document/5969356/ [Accessed February 5, 2019].

Wu JY, Sankar R, Lerner JT, Matsumoto JH, Vinters HV, Mathern GW (2010) Removing interictal fast ripples on electrocorticography linked with seizure freedom in children. Neurology 75:1686–1694.

Yamamoto J, Wilson MA (2008) Large-Scale Chronically Implantable Precision Motorized Microdrive Array for Freely Behaving Animals. J Neurophysiol 100:2430–2440.

Yamamoto T, Katayama Y, Obuchi T, Kano T, Kobayashi K, Oshima H, Fukaya C (2006) Thalamic Sensory Relay Nucleus Stimulation for the Treatment of Peripheral Deafferentation Pain. Stereotact Funct Neurosurg 84:180–183.

Yang P-F, Zhang H-J, Pei J-S, Tian J, Lin Q, Mei Z, Zhong Z-H, Jia Y-Z, Chen Z-Q, Zheng Z-Y (2014) Intracranial electroencephalography with subdural and/or depth electrodes in children with epilepsy: Techniques, complications, and outcomes. Epilepsy Res 108:1662–1670.

Yger P, Spampinato GL, Esposito E, Lefebvre B, Deny S, Gardella C, Stimberg M, Jetter F, Zeck G, Picaud S, Duebel J, Marre O (2018) A spike sorting toolbox for up to thousands of electrodes validated with ground truth recordings in vitro and in vivo. eLife 7 Available at: https://elifesciences.org/articles/34518 [Accessed April 14, 2018].

Yu T, Wang X, Li Y, Zhang G, Worrell G, Chauvel P, Ni D, Qiao L, Liu C, Li L, Ren L, Wang Y (2018) High-frequency stimulation of anterior nucleus of thalamus desynchronizes epileptic network in humans. Brain Available at: https://academic.oup.com/brain/advance-article/doi/10.1093/brain/awy187/5050180 [Accessed February 28, 2019].

Zelmann R, Zijlmans M, Jacobs J, Châtillon C-E, Gotman J (2009) Improving the identification of High Frequency Oscillations. Clin Neurophysiol 120:1457–1464.

Zhang W, Yamawaki R, Wen X, Uhl J, Diaz J, Prince DA, Buckmaster PS (2009) Surviving Hilar Somatostatin Interneurons Enlarge, Sprout Axons, and Form New Synapses with Granule Cells in a Mouse Model of Temporal Lobe Epilepsy. J Neurosci 29:14247–14256.

Zijlmans M, Jacobs J, Zelmann R, Dubeau F, Gotman J (2009) High frequency oscillations and seizure frequency in patients with focal epilepsy. Epilepsy Res 85:287–292.

Zijlmans M, Jiruska P, Zelmann R, Leijten FSS, Jefferys JGR, Gotman J (2012) High-frequency oscillations as a new biomarker in epilepsy. Ann Neurol 71:169–178.

Zijlmans M, Worrell GA, Dümpelmann M, Stieglitz T, Barborica A, Heers M, Ikeda A, Usui N, Le Van Quyen M (2017) How to record high-frequency oscillations in epilepsy: A practical guideline. Epilepsia 58:1305–1315.

RÉSUMÉ DE LA THÈSE EN FRANÇAIS

Cette thèse CIFRE en collaboration avec la société DIXI medical, le centre hospitalier de Toulouse et le Centre de recherche Cerveau et Cognition de Toulouse, a pour but de valider l'utilisation d'une nouvelle **électrode hybride intracérébrale**, à destination des **patients épileptiques pharmaco-résistants**. Ces électrodes sont utilisées dans le cadre de la stéréo-électroencéphalographie, une méthode permettant d'identifier la zone cérébrale à l'origine de l'épilepsie (zone épileptogène). En effet, la seule possibilité pour les patients pharmaco-résistants d'être libérés de leurs crises est d'arriver à identifier et à réséquer la **zone épileptogène**.

Ces dernières années, la recherche sur l'épilepsie s'est focalisée sur des oscillations à très haute fréquence (les **fast-ripples**, 200-600 Hz), apparaissant comme étant de bons biomarqueurs de la zone épileptogène. La résection des zones où sont retrouvés ces fast-ripples empêche la resurvenue des crises chez un grand nombre de patients épileptiques. Bien que les fast-ripples puissent être détectés à l'aide de macroélectrodes clinique (diamètre de 800 à 1300 microns), leur identification est largement facilitée à l'aide de microélectrodes (diamètre de 20 microns).

Au CHU de Toulouse, les macroélectrodes clinique ont un diamètre de 800 microns. Or, Les électrodes hybrides (comprenant des macro et des microélectrodes) disponibles sur le marché ont un diamètre de 1300 µm. Une collaboration a alors débuté avec DIXI medical dans le but de créer une nouvelle électrode hybride avec un **diamètre similaire** à celui d'une macroélectrode clinique. La nouvelle électrode hybride comporte également d'autres avantages : (1) les microélectrodes sont organisées, pour la première fois chez l'homme, en **tétrode** (4 microfilaments collés ensemble), ce qui facilite l'identification de l'activité de neurones unitaires ; (2) les microélectrodes peuvent être **étendues jusqu'à 2mm** une fois que la macroélectrode a été implantée, ce qui permet de chercher des neurones à différentes distances ; (3) **les microélectrodes sont situées entre les macrocontacts**, ce qui permet de réaliser des analyses de l'activité électrophysiologique à différentes échelles simultanément (de quelques millimètres à quelques microns).

Cette nouvelle électrode hybride est en cours d'investigation clinique au CHU de Toulouse depuis mars 2015. **Le but de ma thèse est de démontrer l'innocuité de cette électrode mais également son bon fonctionnement au travers d'études à multi-échelle en épilepsie et en recherche fondamentale.**

Ma thèse est organisée autour d'une revue de la littérature et de 5 études. L'**étude 1** est une étude méthodologique visant à présenter les caractéristiques de la nouvelle électrode hybride et à démontrer son innocuité. Les études 2, 3 et 4 sont en rapport avec l'utilisation de cette électrode en épilepsie. L'**étude 2** décrit le cas d'une patiente souffrant d'une sclérose tubéreuse de Bourneville couplée à une épilepsie pharmaco-résistante. C'est la première fois que l'activité neuronale est enregistrée et rapportée dans cette pathologie. L'**étude 3** est essentielle pour lancer la procédure de marquage CE, elle vise notamment à vérifier que les fast-ripples enregistrés avec les électrodes hybrides sont effectivement de bons prédicteurs de la zone épileptogène. L'**étude 4** porte sur l'analyse de la neurophysiopathologie des fast-ripples pendant lesquels les activités neuronales sous-jacentes à leur apparition sont étudiées. Enfin, l'**étude 5** rapporte la dynamique spatio-temporelle de la mémoire de reconnaissance visuelle à l'aide de macroélectrodes cliniques classiques. Il s'agit d'une étude préliminaire à l'analyse de l'activité neuronale pendant cette tâche.

RÉSUMÉ DE LA THÈSE EN ANGLAIS

This thesis was done in collaboration with DIXI medical, the CHU of Toulouse and the Centre de Recherche Cerveau et Cognition in order to validate the use of a new **hybrid electrode** in drug refractory epileptic patients. These electrodes are used in order to identify the seizure onset zone during stereo-electroencephalography. If this zone can be identified and removed, drug-refractory epileptic patients may become seizure free.

In recent years, epilepsy research has focused on high frequency oscillations and more precisely on fast-ripples (200-600 Hz). These oscillations appear to be a good biomarker of the seizure onset zone. **Fast-ripples** can be detected with clinical macroelectrodes (diameter 800-1300 µm) but their identification is facilitated with microelectrodes (diameter 80 µm).

In the CHU of Toulouse, clinical macroelectrodes have a diameter of 800 µm and hybrid electrodes (combining macro and microelectrodes) available on the market have a diameter of 1300 µm. This problem leads to a collaboration with DIXI medical in order to manufacture a new hybrid electrode with the **same diamete**r as the clinical ones. The new hybrid electrode has different advantages: (1) the microelectrodes are, for the first time in the human, in a **tetrode** configuration (4 microwires bundled together), which facilitates single neuron identification; (2) microelectrodes can be **extended up to 2 mm**, which enable to search for neurons; (3) **microelectrodes can be extended between the macrocontacts**, which enable multiscale analysis.

This new hybrid electrode is under clinical investigation in the CHU of Toulouse since March 2015. **The goal of my thesis is to demonstrate the safety of the electrode and its ability to record EEG signal of interest both in epilepsy and in fundamental research.**

My thesis is composed of a literature review and 5 studies. The **first study** is a methodological study, which present the characteristics of the new hybrid electrode and demonstrates its safety. Studies 2, 3 and 4 concern the use of the hybrid electrode in epilepsy. More precisely, the **2nd study** describes the case of a patient with a tuberous sclerosis lesion associated with drug-refractory epilepsy. It's the first time that neuronal activity can be recorded and analyzed in vivo in this pathology. The **3rd study** is required to CE mark the new electrode. In this study, we verify whether the fast-ripples recorded with the new hybrid electrodes are really a good biomarker of the seizure onset zone. The **4th study** is about the neurophysiopathology of fast-ripples. We analyze the relationship between neuronal activities and fast-ripples. Finally, the **5th study** describe the spatiotemporal dynamic of visual recognition memory using macro-electrodes. It is a preliminary study to the analyses of neuronal activity during such cognitive task.