

# THÈSE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

ÉCOLE DOCTORALE N° 601  
*Mathématiques et Sciences et Technologies  
de l'Information et de la Communication*  
Spécialité : *AST : Signal, Image, Vision*

Par

**Yvan AVDEEW**

**Traitement du signal et définition de variables de contrôle appliqués à la stimulation du nerf vague.**

**Thèse présentée et soutenue à Rennes, le 20 octobre 2022**  
**Unité de recherche : Laboratoire de Traitement de Signal et de l'Image**

## **Rapporteurs avant soutenance :**

Mario CHAVEZ      Chargé de recherche CNRS à L'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière Paris  
Sofiane BOUDAUD    Professeur des universités - Université de Technologie de Compiègne (UTC)

## **Composition du Jury :**

Président :	David GUIRAUD	Directeur de Recherche INRIA
Examineurs :	Sofiane BOUDAUD	Professeur des universités - Université de Technologie de Compiègne (UTC)
	Mario CHAVEZ	Chargé de recherche CNRS à L'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière Paris
Dir. de thèse :	Alfredo HERNANDEZ	Directeur de recherche INSERM - UR1 - LTSI
Co-dir. de thèse :	Virginie LE ROLLE	Maître de conférence - UR1 - LTSI



# REMERCIEMENTS

---

Je n'aurais pas pu accomplir tous ces travaux sans l'aide de plusieurs personnes que je souhaite citer et remercier chaleureusement.

Tout d'abord, mes deux directeurs de thèse Alfredo Hernández et Virginie Le Rolle. Je pense que je sous-estime la chance d'avoir eu deux encadrants aussi humains et altruistes. Alfredo a été, tout au long de ma thèse, un soutien professionnel considérable tant à la fois sur l'aspect scientifique que moral. Il a toujours été positif et bienveillant. Il m'a fait profiter dans mes travaux de son sens critique scientifique incroyable. Je pense ne pas avoir assez de mots pour remercier, comme elle le mérite, Virginie. Elle a fait preuve d'une très grande compassion et générosité sans négliger de me garder sur le droit chemin dans les moins bons moments de la thèse. Je la remercie également d'avoir pris parfois de son temps personnel pour m'aider sans conditions. Je sais qu'on ne peut pas avoir deux directeurs aussi géniaux qu'ils l'ont été. Je suis profondément admiratif de ces deux personnes.

Je remercie également tous les collègues du LTSI qui m'ont accueilli avec le sourire dès le premier jour de la thèse. Un grand merci à Lotfi Senhadji pour sa disponibilité et son expertise, à Amar Kachenoura pour son aide et ses connaissances approfondies. J'adresse des remerciements particuliers à Patricia, Muriel et Soizic d'avoir été à mon aide à n'importe quel moment de nécessité. À toute l'équipe AdaptVNS : Benoît, Quentin, Diego, Maxime ont été des personnes absolument adorables, à l'écoute et j'ai ressenti un réel plaisir de travailler à vos côtés tout au long de ma participation au projet. Évidemment il manque une personne dans la liste. Mais il me semble important de remercier tout particulièrement Gabriel d'avoir été un collègue aussi précieux, autant à l'écoute et toujours avec le sourire. Il a été une des personnes les plus importantes au cours de ces années.

J'ai eu l'occasion et la chance pendant ma thèse de donner cours au sein de l'Université de Rennes 1 et en particulier à l'ISTIC. J'ai eu le plaisir de travailler avec Sophie Allain et Samuel Crand, aussi inspirants qu'altruistes. Un grand merci à l'équipe d'enseignants : Oscar, Mireille, Di, Laurence. Un remerciement tout particulier à l'équipe de SEN1, Solenna et Ronan, pour tout le bon temps et le bon fonctionnement en binôme de TPs, à Johanne, qui a été un grand soutien et a su toujours trouver les mots pour me remotiver.

---

A tous mes collègues doctorants et postdoctorants, Raphaël, Orlane, Bertille, Alban et bien sûr Gustavo et Cristhyne, qui ont la capacité de donner instantanément le sourire quand on les croise dans les couloirs ou quand on mange avec eux.

Et parce qu'il ne faut pas oublier l'importance qu'a l'amitié, j'adresse mes remerciements à toutes les personnes qui m'accompagnent au quotidien, souvent à distance, parfois avec moi. Merci à Aminata, Mounir, Julie, Clémence, Axel, Juliette, Pierlou, Pierre, Dylan, François, Thomas, Tifenn, Florianne. Merci à mes deux supers coachs d'athlétisme Simon et Philippine pour tous ces entraînements et les bons moments sur les stades. Pour finir, des remerciements spéciaux à Ronan, Jules, Arnaud et Rodolphe pour tout le soutien moral apporté et leur présence. Je ne vous remercierai jamais assez.

Je conclus ce paragraphe en citant les deux personnes les plus importantes, mes parents, Eric et Marie-France Avdeew qui depuis 27 ans me servent de modèle tous les jours. Je ne pourrai jamais exprimer ma reconnaissance envers eux. Je souhaite pour finir remercier mon frère Corentin et ma sœur Amélie, dont je suis autant fier.

A vous toutes et tous, MERCI

# SOMMAIRE

---

Liste des abbréviations	7
Liste des publications	9
Introduction	11
<b>1 Neuromodulation du nerf vague</b>	<b>17</b>
1.1 Neuromodulation	18
1.2 Le nerf vague	19
1.2.1 Trajet du nerf, ses terminaisons et origines	19
1.2.2 Innervation cardiaque	21
1.2.3 Composition des fibres	23
1.3 Stimulation du nerf vague	23
1.3.1 Etat de l'art de la stimulation du nerf vague	24
1.3.2 L'effet de la stimulation du nerf vague sur le système cardiovasculaire	26
1.4 Contributions du projet PSPC INTENSE	28
1.5 Projet ANR AdaptVNS	30
1.6 Objectifs et organisation de ce travail de thèse	35
<b>2 Détection de bursts et débruitage</b>	<b>47</b>
2.1 Introduction	48
2.2 Méthodes	49
2.2.1 Préparation <i>in situ</i>	49
2.2.2 Électrode organique pour l'enregistrement ENG	50
2.2.3 Impédance électrochimique Spectroscopie	52
2.2.4 Enregistrement du nerf	52
2.2.5 Traitement des données	53
2.2.6 Simulation de bipoles à partir des voies OE	57
2.2.7 Test statistique	58
2.3 Résultats	58

2.3.1	Analyse en configuration monopolaire. . . . .	59
2.3.2	Analyse en configuration bipolaire. . . . .	61
2.3.3	Analyse en configuration tripolaire . . . . .	63
2.4	Discussion . . . . .	65
2.4.1	Pertinence électrophysiologique du PEDOT :PSS . . . . .	65
2.4.2	Électrode à succion pour l'enregistrement ENG . . . . .	66
2.4.3	Enregistrements ENG aigus avec OE . . . . .	66
2.4.4	Vers une meilleure sélectivité pour enregistrer et stimuler avec l'OE ?	68
2.5	Conclusion . . . . .	69
<b>3</b>	<b>Caractéristiques des signaux ENG et ECG pendant une SUDEP induite par AGS</b>	<b>81</b>
3.1	Introduction . . . . .	82
3.2	Base de données du projet PSPC Intense . . . . .	84
3.2.1	Contexte et objectifs . . . . .	84
3.2.2	Protocole . . . . .	84
3.2.3	Méthodes numériques . . . . .	85
3.2.4	Résultats . . . . .	86
3.2.5	Discussion . . . . .	88
3.3	Experimentation <i>in vivo</i> AdaptVNS . . . . .	89
3.3.1	Préparation des électrodes . . . . .	90
3.3.2	Protocole chirurgical . . . . .	92
3.3.3	Enregistrement des signaux . . . . .	94
3.3.4	Induction de la crise audiogène . . . . .	94
3.3.5	Méthodes numériques . . . . .	94
3.3.6	Résultats . . . . .	96
3.3.7	Discussion . . . . .	105
3.4	Conclusion . . . . .	109
	<b>Conclusion</b>	<b>115</b>

# LISTE DES ABBRÉVIATIONS

---

<b>ACP</b>	Analyse en composantes principales
<b>AGS</b>	Audiogenic Seizure
<b>AV</b>	Atrio-ventriculaire
<b>C4</b>	4ème cervicale
<b>CF</b>	Course folle
<b>CT</b>	Crise tonique
<b>CTC</b>	Crise tonico-clonique
<b>ECG</b>	Electrocardiogramme
<b>EIS</b>	Electrochemical impedance Spectroscopy
<b>ENG</b>	Electroneurogramme
<b>F</b>	False
<b>FN</b>	False Negative
<b>FP</b>	False Positive
<b>HF</b>	Heart Failure
<b>MAV</b>	Mean Absolute Value
<b>N</b>	Negative
<b>OE</b>	Organic Electrode
<b>P</b>	Positive
$P_d$	Probabilité de détection
$P_{fa}$	Probabilité de fausse alarme
<b>pENG</b>	Electroneurogramme phrénique
$pENG_P$	Electroneurogramme phrénique pendant les bouffées respiratoires
$pENG_N$	Electroneurogramme phrénique à l'extérieur des bouffées respiratoires
<b>PHR</b>	Nerf phrénique
<b>PI</b>	Proportionnel intégrale
<b>PP</b>	Intervalle entre deux ondes P
<b>Ref</b>	Référence
<b>ROC</b>	Receiver Operating Characteristics
<b>RR</b>	Intervalle entre deux ondes R
<b>SE</b>	Succion Electrode
<b>SNR</b>	Signal to Noise Ratio
<b>STD</b>	Standard Deviation
<b>SUDEP</b>	Sudden Unexpected Death in Epilepsy

*Liste des abréviations*

---

<b>T</b>	True
<b>TN</b>	True Negative
<b>TP</b>	True Positive
<b>VNS</b>	Stimulation du nerf vague
<b>X</b>	Nerf Vague
<b>XII</b>	Nerf Hypoglosse

# LISTE DES PUBLICATIONS

---

## Revue à comité de lecture

Avdeew, Y. ; Bergé-Laval, V. ; Le Rolle, V. ; Dieuset, G. ; Moreau, D. ; Kergoat, L. ; Martin, B. ; Bernard, C. ; Gestreau, C. ; Hernández, A. Assessment of the Use of Multi-Channel Organic Electrodes to Record ENG on Small Nerves : Application to Phrenic Nerve Burst Detection. *Sensors* **2021**, 21, 5594.

## Articles dans des conférences internationales à comité de lecture

Avdeew, Y. ; Le Rolle, V. ; Bergé-Laval, V. ; Gestreau, C. ; Hernández, A. Optimal selection of multipolar burst detection configurations for nerve burst electrode. Conference : 2022 44th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine & Biology Society (EMBC)



# INTRODUCTION

---

La neuromodulation consiste à modifier l'activité du système nerveux, en appliquant une stimulation électrique contrôlée, au moyen de dispositifs médicaux spécifiques. La stimulation du nerf vague (VNS) est l'une des approches de neuromodulation les plus intéressantes et à plus grande croissance aujourd'hui. En effet, le nerf vague est le principal « canal de transmission » reliant les centres de contrôle du système nerveux autonome parasympathique à l'ensemble d'organes (cerveau, cœur, système respiratoire,...). Cet aspect systémique fait du nerf vague une cible privilégiée pour les thérapies de neuromodulation. La VNS est approuvée pour l'épilepsie et la dépression pharmaco-résistantes, mais elle est également étudiée comme une approche thérapeutique prometteuse pour l'insuffisance cardiaque, les arythmies, l'inflammation et les maladies auto-immunes [1], [2].

Cependant, pour toutes ces applications, établies ou potentielles, l'une des principales difficultés rencontrées est la définition d'une thérapie efficace tout en minimisant les effets secondaires. En fait, l'administration d'une neuromodulation optimale peut s'avérer particulièrement complexe, car l'effet évoqué dépend fortement : i) des paramètres de stimulation délivrés (amplitude du courant, fréquence, etc.), ii) de la réponse individuelle d'un patient donné à ces paramètres et iii) des configurations et des technologies d'électrodes utilisées [2], [3]. Il est désormais largement reconnu que l'administration de la VNS doit être définie spécifiquement pour chaque patient. Toutefois, il s'agit d'une question particulièrement difficile [4].

Les travaux précédents de notre équipe ont démontré que le contrôle en boucle fermée peut être une approche prometteuse pour optimiser la neuromodulation d'une manière adaptative et spécifique au patient, afin de minimiser les effets secondaires [5]. Pour délivrer une stimulation en boucle fermée, plusieurs correcteurs ont été proposés dans notre équipe : tout-ou-rien [6] (fortes oscillations de la variable de contrôle), correcteur proportionnel-intégrateur [7] (pour réduire ces oscillations). Plus récemment, un correcteur original, à la fois générique et facilement implantable dans un environnement embarqué, a été proposé et breveté. La recherche est focalisée aujourd'hui sur l'identification des variables de contrôle capables d'alimenter des telles boucles de contrôle, en fonction de la pathologie ciblée. Le traitement de l'électroneurogramme (ENG), acquis à partir d'élec-

trodes implantées et posés sur le nerf cible, peut être une source d'information pertinente pour atteindre cet objectif [8]. Ces variables de contrôle seront utilisées comme entrées du système de stimulation et permettront de déterminer et d'acquérir les connaissances sur la manière dont elles peuvent être modulées par la VNS pour délivrer une thérapie efficace. Des méthodes de traitement doivent être développées afin d'extraire de potentielles variables de contrôle.

Le contexte général de ma thèse s'inscrit dans le cadre du projet ANR AdaptVNS, dont l'objectif est de proposer des nouvelles méthodes de traitement des données et des nouvelles technologies d'électrodes, permettant une optimisation personnalisée de la VNS en boucle fermée. Cet objectif implique donc une recherche sur l'identification, l'obtention et la caractérisation de potentielles variables de contrôle à utiliser.

Par ailleurs, bien que les méthodes et les technologies proposées dans le projet ANR AdaptVNS soient génériques, un second objectif est d'explorer, par expérimentation *in silico*, *in situ* et *in vivo*, l'utilité du système proposé sur la prévention de la mort subite et inattendue chez les patients épileptiques (SUDEP). Ce second objectif implique notamment la détection précoce des événements induisant une SUDEP incluant la bradycardie et l'arrêt respiratoire.

Les objectifs spécifiques de ma thèse sont donc les suivants :

- évaluer des nouvelles technologies d'électrodes afin de permettre un enregistrement efficace de l'activité neurale en tant que potentielle source de variables de contrôle,
- mettre en place des nouveaux montages expérimentaux précliniques *in situ* et *in vivo* permettant l'enregistrement de l'activité du nerf vague, de l'activité cardiaque lors d'un processus de mort subite et inattendue (SUDEP)
- définir une variable de contrôle pertinente permettant la conception d'un dispositif en boucle fermée.

La figure 1 reprend le cadre d'étude de la thèse dans le contexte de l'optimisation de la boucle fermée pour la stimulation du nerf vague en prévention de la SUDEP. Les étapes principales sont : a) l'enregistrement de l'activité du nerf vague lors d'un processus d'induction de SUDEP, ii) le traitement de ces signaux et iii) la détermination des variables de contrôle potentiels. La définition de variables de contrôle appropriées est notamment essentielle pour la mise en œuvre d'une neuromodulation en boucle fermée (Projet PSC Intense). Dans le cadre de la SUDEP, un des objectifs est de pouvoir bloquer les efférences du nerf vague afin de prévenir l'arrêt cardio-respiratoire. Des travaux sur le blocage des efférences du nerf sciatique ont été proposés par notre équipe [9] afin

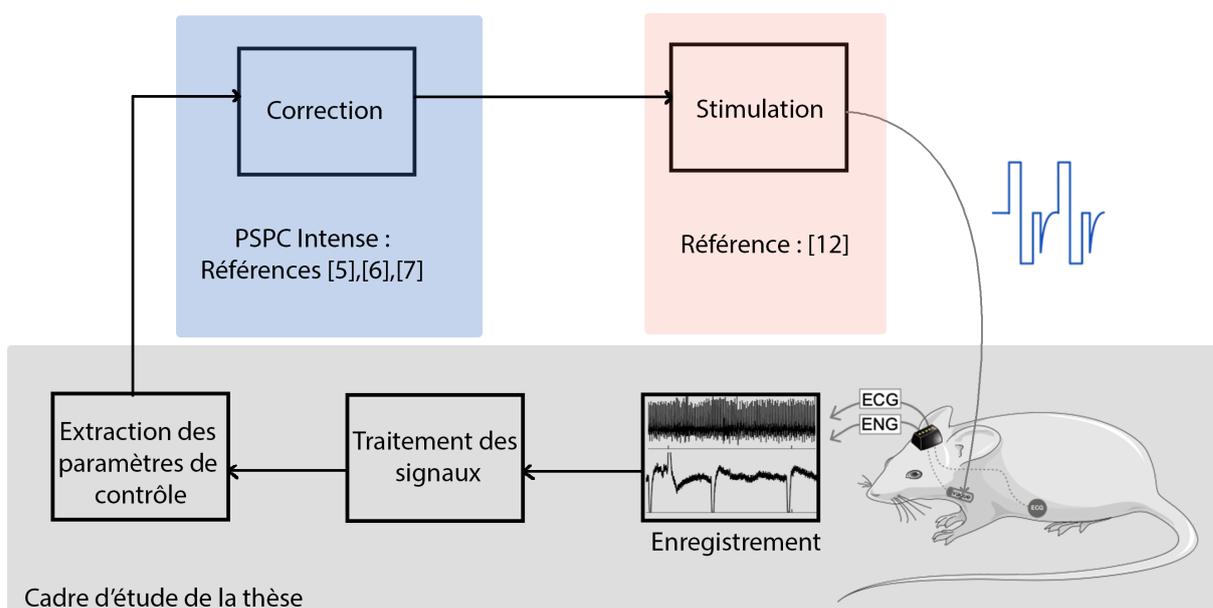


FIGURE 1 – Schéma de stimulation du nerf vague pour la prévention de SUDEP. Le schéma décrit 3 étapes majeures : 1) le cadre gris (cadre principal de la thèse), étape d'enregistrement et de détermination de variables de contrôle, 2) le cadre bleu, étape de correction (Projet PSPC Intense), 3) le cadre orange, étape de stimulation du nerf vague. Les signaux seront enregistrés en permanence avant et après la stimulation permettant ainsi en mettant à jour les variables de contrôle d'adapter via le correcteur les paramètres de stimulation pour une thérapie optimale.

de montrer la faisabilité de l'approche.

Afin d'aborder ces objectifs, une méthodologie multidisciplinaire a été appliquée en intégrant l'évaluation de nouvelles technologies d'électrodes, des méthodes de traitement du signal et l'évaluation pré-clinique, intégrant des expérimentations *in situ* et *in vivo*.

Le présent manuscrit de thèse est constitué de trois chapitres :

- Le chapitre 1 présente les enjeux de la neuromodulation et notamment son application sur le nerf vague, nerf principal du système parasympathique. Dans ce contexte, le cadre d'étude a été placé, au cours du projet AdaptVNS, sur la neuromodulation comme traitement de la mort subite inattendue en épilepsie (SUDEP).
- Le chapitre 2 introduit le travail effectué sur l'évaluation de nouvelles technologies d'électrodes sur des expérimentations *in situ* chez le rat. Si le nerf vague est le principal nerf ciblé, pour des raisons de simplifications expérimentales, le nerf phrénique sera étudié dans ce chapitre. Afin d'évaluer la capacité des électrodes à détecter des décharges d'activité nerveuse, ce nerf est un bon candidat car son

activité ENG présente des décharges spontanées visibles et clairement caractérisées dans la littérature. Ce chapitre servira également à introduire les méthodes de traitement de signal appliquées et un algorithme de détection de décharge d'activité nerveuse.

- Enfin, le chapitre 3 est découpé en deux parties : dans un premier temps, une analyse de signaux enregistrés sur le nerf vague de mouton (sans SUDEP) est faite afin d'introduire le traitement et les méthodes sur le nerf vague. Dans une seconde partie, un protocole expérimental va être proposé : une induction d'une SUDEP par crise audiogène (Audiogenic seizure ou AGS en anglais) dans un cadre de manipulation *in vivo*. Les signaux vagal et électrocardiogramme vont être enregistrés et étudiés en utilisant les méthodes définies dans la première partie. Dans cette partie nous tenterons d'extraire des caractéristiques des signaux afin d'établir des variables de contrôles potentielles pour l'établissement d'une boucle de contrôle pour la stimulation en boucle fermée du nerf vague. Ces variables de contrôles sont primordiales afin de prodiguer une thérapie efficace et adaptative dans le temps à un patient spécifique.

Le manuscrit présente enfin des conclusions et perspectives de ces travaux.

# BIBLIOGRAPHIE

---

- [1] A. H. MILBY, C. H. HALPERN et G. H. BALTUCH, « Vagus Nerve Stimulation for Epilepsy and Depression », *Neurotherapeutics*, t. 5, 1, p. 75-85, 2008, Device Therapy, ISSN : 1933-7213. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2007.10.071>. adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1933721307002590>.
- [2] D. GUIRAUD, D. ANDREU, S. BONNET et al., « Vagus nerve stimulation : state of the art of stimulation and recording strategies to address autonomic function neuromodulation », *Journal of Neural Engineering*, t. 13, 4, p. 041002, 2016. DOI : 10.1088/1741-2560/13/4/041002.
- [3] D. OJEDA, V. L. ROLLE, H. M. ROMERO-UGALDE et al., « Sensitivity Analysis of Vagus Nerve Stimulation Parameters on Acute Cardiac Autonomic Responses : Chronotropic, Inotropic and Dromotropic Effects. », *PLoS ONE*, t. 11, 9, e0163734, 2016. DOI : 10.1371/journal.pone.0163734.
- [4] M. BYKU et D. L. MANN, « NEUROMODULATION OF THE FAILING HEART : LOST IN TRANSLATION ? », *JACC Basic Transl Sci*, t. 1, 3, p. 95-106, avr. 2016.
- [5] H. ROMERO UGALDE, V. ROLLE, J.-L. BONNET et al., « Closed-Loop Vagus Nerve Stimulation Based on State Transition Models », *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, t. PP, oct. 2017. DOI : 10.1109/TBME.2017.2759667.
- [8] C. GALLET, S. BONNET, V. LE ROLLE et al., « Characteristics of the right cervical vagal activity during baseline and Valsalva-like manoeuvre », in *2015 7th International IEEE/EMBS Conference on Neural Engineering (NER)*, avr. 2015, p. 988-991. DOI : 10.1109/NER.2015.7146792.
- [9] D. PEREZ, G. DIEUSET, M. YOCHUM et al., « Quantification of Neural Conduction Block on the Rat Sciatic Nerve based on EMG Response », *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, t. 2019, p. 6450-6453, juill. 2019.



# NEUROMODULATION DU NERF VAGUE

---

La neuromodulation est une approche thérapeutique utilisée dans un certain nombre de pathologies, notamment les troubles neurodégénératifs et neuropsychiatriques, l'épilepsie, les prothèses neurales, la douleur chronique, etc. Pour toutes ces applications cliniques, une difficulté commune est de fournir une thérapie efficace tout en minimisant les effets secondaires. En effet, l'administration d'une neuromodulation optimale peut être particulièrement complexe, car la réponse dépend fortement :

- des paramètres de stimulation (amplitude du courant, fréquence, etc.),
- de la réponse individuelle d'un patient donné à ces paramètres,
- des configurations et technologies d'électrodes utilisées.

Les stratégies de neuromodulation en boucle fermée ont montré des performances prometteuses pour optimiser la réponse à la thérapie de manière adaptative et spécifique au patient afin de minimiser les effets secondaires. La thérapie de neuromodulation en boucle fermée nécessite la définition de variables de contrôle appropriées et l'électroneurogramme (ENG), acquis à partir d'électrodes implantées, peut être une source d'information pertinente pour atteindre cet objectif. Cependant, il est nécessaire *i*) d'utiliser des technologies d'électrodes appropriées pour l'acquisition de cet ENG et *ii*) de proposer des méthodes de traitement de données permettant l'extraction des variables de contrôle pertinentes.

Ce chapitre servira d'introduction générale pour présenter les enjeux de la neuromodulation et notamment son application sur le nerf vague, nerf principal du système parasympathique. Dans ce contexte, une attention particulière est portée au traitement de l'épilepsie et, notamment, à la prévention de la mort subite en épilepsie (SUDEP) qui est l'un des objectifs du projet AdaptVNS, dans lequel s'inscrit cette thèse.

## 1.1 Neuromodulation

La neuromodulation consiste à moduler l'activité d'un nerf ou d'un neurone électriquement en stimulant, ralentissant ou bloquant les potentiels d'action. Il existe plusieurs grands domaines d'applications à la neuromodulation :

- Les méthodes de neuromodulation électrique, elles peuvent être invasives, nécessitant ainsi une opération pour implanter l'électrode de stimulation, ou non invasives, à l'aide d'électrodes externes. Ces méthodes consistent, en général, à délivrer un courant électrique classiquement par train d'ondes de stimulation. Les méthodes invasives les plus courantes sont : la stimulation de la moëlle épinière [10], la stimulation cérébrale profonde ou encore la stimulation du nerf vague (VNS) [11] ou du nerf trijumeau [12], [13]. Concernant les méthodes non invasives on retrouve la stimulation transcraniale [14], la stimulation électrique transcutanée nerveuse [15] et les thérapies électroconvulsives [16],
- Les prothèses, dispositifs qui remplacent les fonctions sensorielles motrices ou cognitives déficientes. On retrouve des exemples d'utilisation clinique de la neuromodulation appliquée aux prothèses comme les implants proprioceptifs [17]-[19] ou encore des implants rétiniens [20],
- Les applications qui étudient la fonction des neurones et réseaux neuronaux dans le système nerveux périphérique et central, comme les applications d'optogénétique [21].

Dans cette thèse, nous nous intéresserons principalement aux applications liées à la stimulation des nerfs périphériques. Les premières applications de la neuromodulation sur le système périphérique date de 1965 avec la conceptualisation de la porte de la douleur par Wall et Melzack [22]. Deux ans après, la première étude sur le soulagement de la douleur par traitement par stimulation nerveuse (le nerf stimulé dépendait de la zone douloureuse) a été faite chez l'homme [23]. Une stimulation constituée d'impulsion a été appliquée pendant 2 minutes chez 8 patients souffrant de douleurs chroniques. Pendant la stimulation, la douleur avait disparu de la zone sensible et 4 patients ressentaient alors un soulagement de la douleur après la stimulation pendant une durée d'une trentaine de minutes. Ces premiers travaux ont été la voie à de nombreux autres et les applications n'ont cessé de se multiplier. Le traitement de la douleur a été le premier domaine d'intérêt pour la stimulation des nerfs périphériques [24], [25], de nombreuses applications ont ensuite été mises en place avec l'avancée des méthodes de neurostimulation comme la

libération d'insuline chez les patients atteints de diabète [26] ou la régulation de l'absorption rénale chez les personnes souffrant d'hypertension [27], le traitement de l'épilepsie [28], la dépression [29], les lésions cérébrales traumatiques [30], obésité [31] et la maladie de Parkinson [32].

Le nerf principal qui va nous intéresser au cours de cette thèse est le nerf vague. Ce nerf étant un acteur principal des fonctions autonomiques du corps humain, les applications de neurostimulation sont nombreuses et prometteuses pour de nombreuses thérapies.

## 1.2 Le nerf vague

Le nerf vague (Xème nerf crânien ou nerf X) fait partie intégrante du système parasympathique, centre des fonctions autonomiques du corps humain. Le nerf vague joue un rôle à la fois moteur et sensitif. Ses fonctions sont somatiques comme végétatives : il s'agit donc d'un nerf mixte. Son innervation est multiple, passant par des structures situées dans la cavité crânienne, du cou, du thorax, jusqu'à l'abdomen et le pelvis. Ses principales fonctions motrices concernent la mise en actions des muscles du pharynx (sauf le muscle stylo-pharyngien), du larynx et du voile du palais (sauf le muscle tenseur du voile du palais). De même ses fonctions sensitives vont impacter le pharynx et larynx ainsi que la base de la langue, l'épiglotte et la région postérieure de l'oreille interne. Le rôle fondamental du nerf vague va concerner ses fonctions végétatives, à destinée pulmonaire, œsophagienne, coeliaque ainsi que cardiaque. Les fonctions du nerf vague sur le système cardiaque seront centrales dans le cadre de la thèse et de la stimulation du nerf vague (VNS).

### 1.2.1 Trajet du nerf, ses terminaisons et origines

Le nerf vague est un nerf avec :

- un noyau moteur qui comprend la partie basse du noyau ambigu
- un noyau sensitif dont les fibres gagnent la partie inférieure du noyau du faisceau solitaire
- un noyau végétatif viscéro-moteur (le noyau dorsal du X) et un noyau viscéro-sensible (le noyau rond et noyau sensitif du X).

Le nerf vague ressort avec le nerf glosso-pharyngien (IXème nerf crânien ou nerf IX) et le nerf spinal (XIème nerf crânien ou nerf XI) par le foramen jugulaire. Il a deux gan-

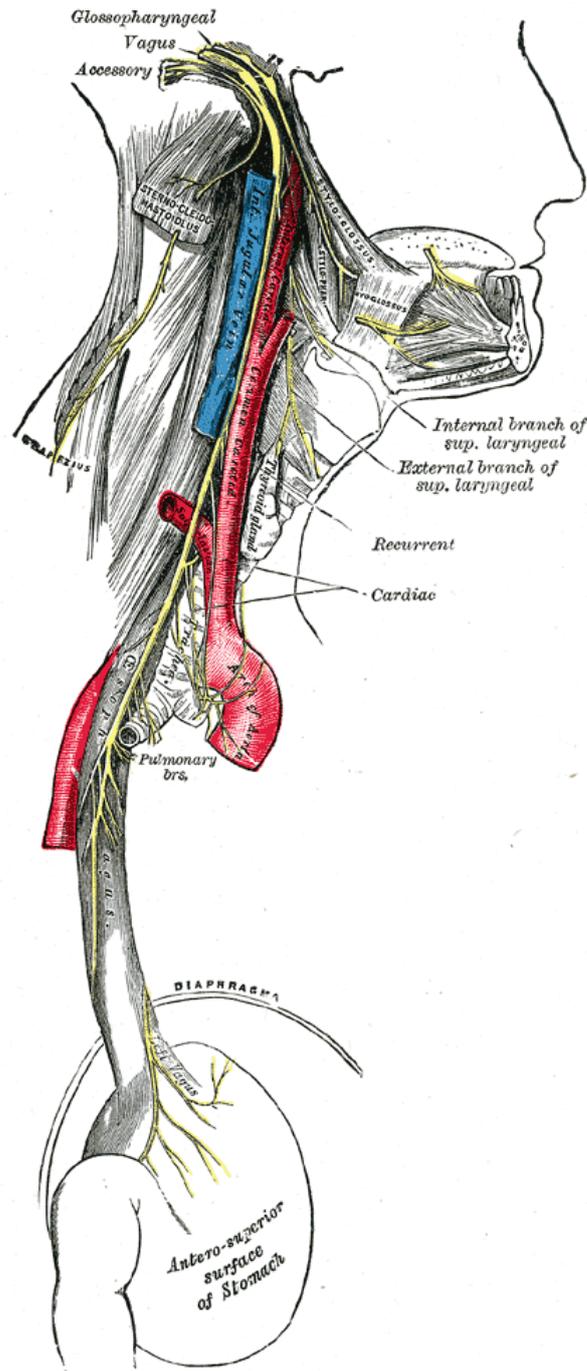


FIGURE 1.1 – Schéma anatomique du nerf vague. Henry Vandyke Carter, Public domain, via Wikimedia Commons

gions, un supérieur (intracrânien) l'autre inférieur (cervical) appelé plexiforme. Il donne naissance à deux rameaux, le méningé et l'anastomotique de la fosse jugulaire. Dans la

portion cervicale il est accompagné de plus par le nerf hypoglosse (XIIème nerf crânien ou nerf XII) et par le tronc cervical sympathique avec lequel il forme une branche anastomotique entre les ganglions supérieurs et le ganglion sympathique cervical supérieur. Le X descend au sein du fascia contenant la veine jugulaire interne et l'artère carotide interne au-dessus de la quatrième vertèbre cervicale (C4), puis au sein du fascia qui englobe la veine jugulaire interne et l'artère carotide primitive sous C4 en aboutissant à l'orifice supérieur du thorax. Dans cette portion cervicale nous pouvons accéder au nerf vague chirurgicalement pour l'implantation d'électrodes de stimulation et d'enregistrement. Le nerf vague est le plus souvent situé entre l'artère et la veine dans cette portion. Il donne également naissance à plusieurs rameaux :

- le rameau pharyngien pour l'innervation des muscles constricteurs du pharynx, larynx.
- le rameau carotidien
- le nerf laryngé supérieur pour les fonctions sensibles du larynx et moteur du muscle crico-thyroïdien.
- les nerfs cardiaques supérieurs qui vont nous intéresser pour l'innervation cardiaque

C'est au travers de la portion thoracique que les nerfs droit et gauche deviennent asymétriques. A droite le nerf passe par le médiastin postérieur et va ensuite sur la face postérieure de l'œsophage. Il devient le nerf vague postérieur. A gauche le nerf va rejoindre le pédicule pulmonaire gauche pour aboutir sur la face antérieure de l'œsophage. Il devient le nerf vague antérieur. On observe dans la région la naissance de plusieurs rameaux :

- les rameaux trachéaux,
- le nerf laryngé récurrent,
- les rameaux pulmonaires ventraux et broncho-pulmonaire,
- les rameaux cardiaques.

On observe dans la portion œsophagienne une ramification des deux nerfs conduisant au plexus œsophagien et une distinction entre le tronc vagal ventral (issu du X gauche) et dorsal (issu du X droit). Après avoir traversé le diaphragme le tronc vagal ventral se ramifie en branches pour l'estomac et le dorsal rejoint le plexus coélique.

### 1.2.2 Innervation cardiaque

Le nerf vague a un rôle essentiel dans l'innervation du système cardiaque. 3 groupes de nerfs sont issus des nerfs vagues :

- les nerfs cardiaques supérieurs qui rejoignent le médiastin supérieur vers le plan

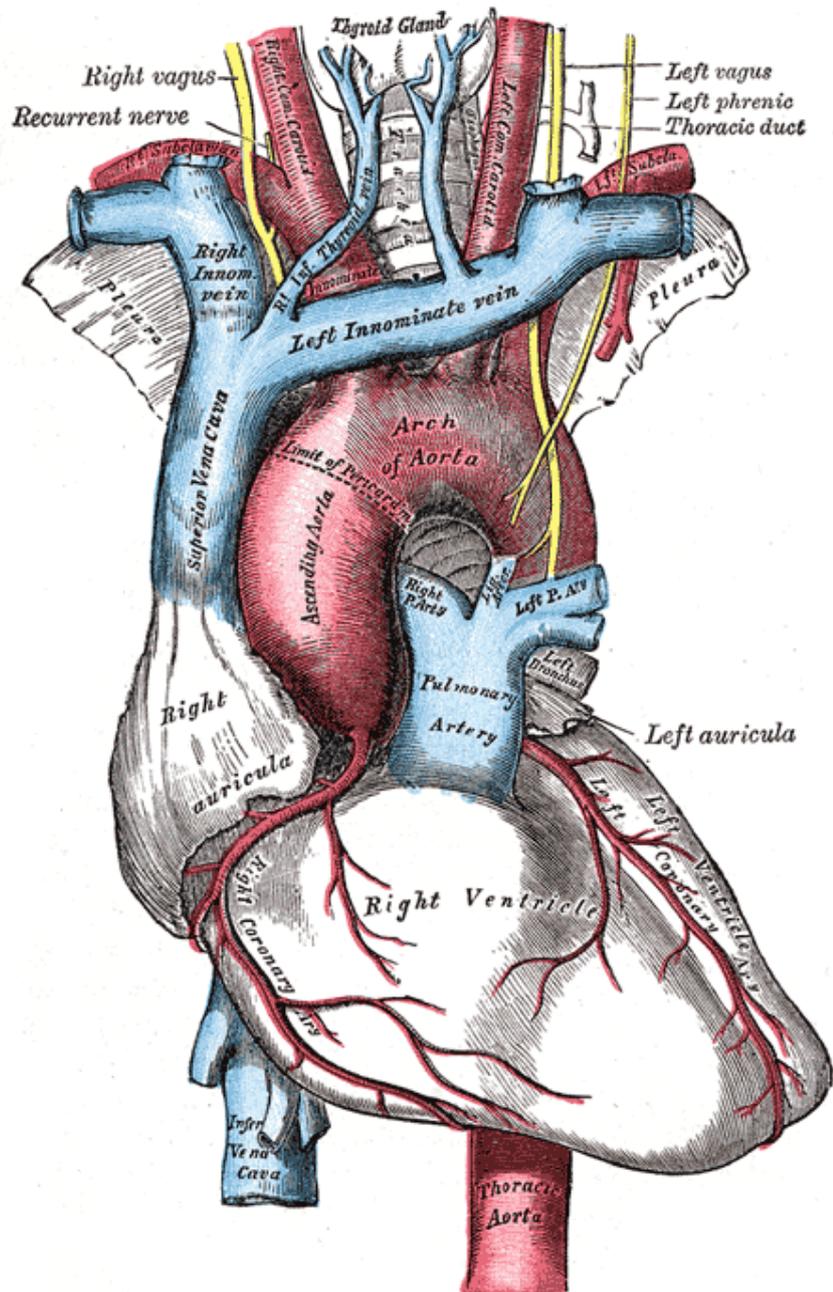


FIGURE 1.2 – Schéma de la portion thoracique du nerf vague. Cette figure provient de Henry Vandyke Carter, Public domain, via Wikimedia Commons

- cardiaque superficiel ou artériel,
- les nerfs cardiaques moyens qui rejoignent le plexus cardiaque profond ou veineux,
- les nerfs cardiaques inférieurs qui rejoignent à droite le plexus cardiaque veineux

et à gauche le plexus cardiaque artériel.

Ces nerfs convergent et se mélangent à des nerfs du système sympathique, les nerfs cardiaques supérieurs issus du ganglion cervical supérieur sympathique, les nerfs cardiaques moyens issus du ganglion cervical moyen, et les nerfs cardiaques inférieurs issus du ganglion stellaire formant ainsi au niveau artériel le lymphonœud dit de Wrisberg et au niveau veineux le plexus de Permann. Les nerfs issus des nerfs du système sympathique forment la dualité sympathique/parasympathique de l'innervation cardiaque. Leurs rôles sont souvent considérés comme antagonistes : le système sympathique a un effet excitateur sur le système cardiovasculaire alors que le système parasympathique a un effet inhibiteur. Saper, Kibbe et al. [33] ont montré que les fonctions des deux nerfs vagues étaient asymétriques à droite et à gauche. Si le nerf vague gauche possède des fibres qui se distribuent de manière plus dense au niveau des ventricules cardiaques le droit est plus dense au niveau des oreillettes cardiaques.

### 1.2.3 Composition des fibres

Le nerf vague est composé à 80 % de fibres afférentes somatosensorielles et viscérosensorielles [34]. Les 20 % restants forment les fibres efférentes du X et ciblent principalement les viscères thoraco-abdominaux et l'innervation parasympathique de l'estomac, de l'intestin, du foie et bien sûr du cœur. Les fibres afférentes sont représentées par deux types de fibres : les fibres A et les fibres C selon la notation de Erlanger et Gasser. Les fibres de type A sont présentes entre 0 à 15 % et les fibres C entre 65 à 80 %. Les premières sont myélinisées et propagent des informations afférentes viscérosensorielles et motrices alors que les secondes sont non myélinisées et ne concernent que des informations viscérosensorielles. Les fibres restantes (de type B) sont le centre des efférences parasympathiques et sont myélinisées [35]. Ces trois types de fibres se différencient également par des vitesses de conduction et des seuils d'excitabilité différents, le type A pour les fibres les plus rapides au type C les plus lentes [36].

## 1.3 Stimulation du nerf vague

La stimulation du nerf vague (VNS) est une thérapie clinique approuvée pour les épilepsies [28] et dépressions médicalement réfractaires [29], [37]-[40]. La VNS a également été proposée comme une thérapie prometteuse pour d'autres pathologies telles que l'insuf-

TABLEAU 1.1 – Caractéristiques des différents types de fibres du nerf vague

	Myélinisées		Amyéliniques
Notation	A	B	C
Vitesse (m/s)	20-120	10-30	0.5-2
Diamètre ( $\mu\text{m}$ )	4-20	3	0.5
Proportion (%)	0-15	20	65-80
Excitabilité (mA)	0.02-0.2	0.04-0.6	$\geq 2$

fisance cardiaque (Heart Failure HF) [41], l'arythmie cardiaque [42]-[44], l'inflammation et les maladies auto-immunes [45]-[47], la cognition et les lésions cérébrales [48]-[50], les ischémies et les infarctus du myocarde [51]-[53], l'anxiété [28], [38], [54], la douleur chronique [55]-[57], l'hypertension [58], [59] et les migraines et maux de tête [60]. En outre, de grandes études suggèrent un risque réduit de mort subite inattendue dans l'épilepsie (SUDEP) chez les patients traités par VNS chronique [61]. Une difficulté commune, actuellement rencontrée dans toutes ces applications, est de fournir une thérapie efficace, tout en minimisant les effets secondaires. C'est un problème particulièrement complexe dans le cas de la VNS. En effet, un des modèles connus consiste à stimuler le nerf avec un ensemble d'impulsions biphasiques. Ces impulsions sont caractérisées par plusieurs paramètres (amplitude du courant, impulsion largeur, nombre d'impulsions, période des impulsions, etc.) [4], [62], [63], et sont délivrées par différentes configurations d'électrodes. De plus, les effets physiologiques aigus et chroniques de la VNS sont mal connus et difficiles à étudier, car ils impliquent de nombreux organes et fonctions physiologiques différents et peuvent changer avec le temps, en raison d'un remodelage neuronal ou organique. Ces difficultés expliquent pourquoi la technologie VNS actuelle est appliquée à l'aide de paramètres fixes, obtenus à partir d'une configuration manuelle limitée et non optimale.

### 1.3.1 Etat de l'art de la stimulation du nerf vague

En 1883, J. Corning [64], précurseur de la stimulation du nerf vague, a décrit qu'un ralentissement du rythme cardiaque pouvait réduire et limiter les effets d'une crise d'épilepsie. En 1938, l'influence de la VNS sur les fonctions nerveuses centrales a été mise en avant par Bailey et Bremer [35]. En 1949, MacLea[64]n et Pribram ont ensuite rapporté, avec leurs travaux effectués sur des chimpanzés, que des ondes lentes sur le cortex frontal latéral étaient induites par la VNS (cité par George [48] en 2000). En 1952, Zanchetti et

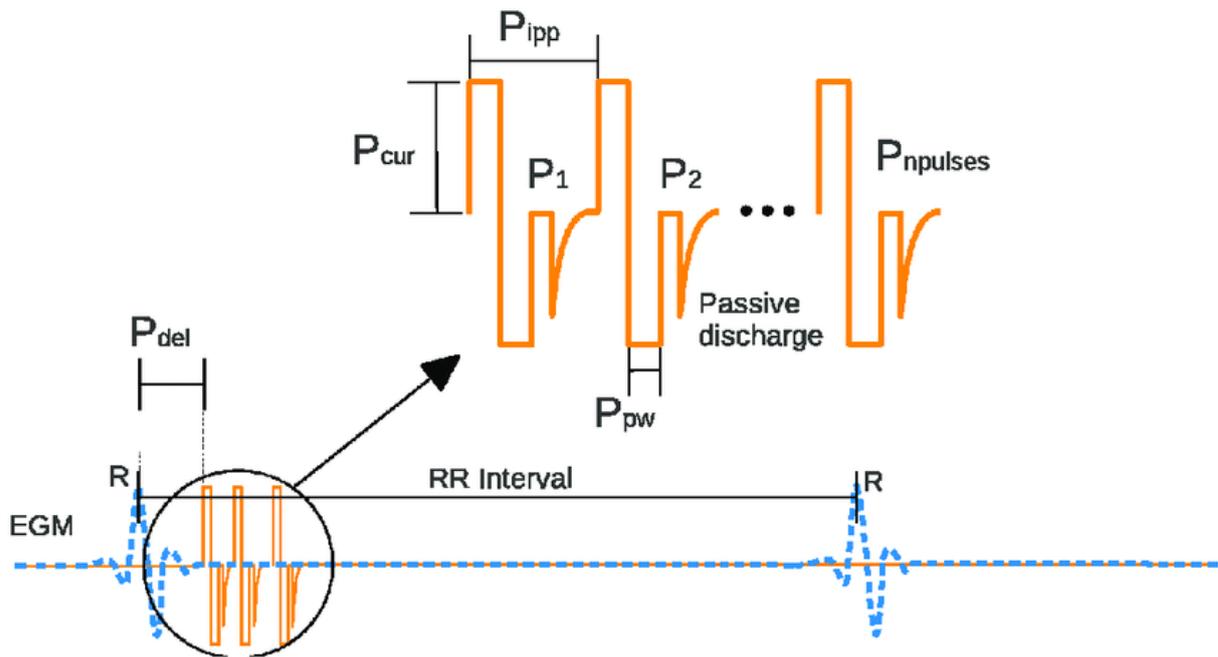


FIGURE 1.3 – Schéma de stimulation typique du nerf vague (ligne continue), synchronisé avec l'activité cardiaque (ligne pointillée). Le contrôleur peut moduler les paramètres VNS suivants : nombre d'impulsions ( $P_{npulses}$ ), période interimpulsions ( $P_{ipp}$ , ms), retard ( $P_{del}$ , ms), amplitude du courant ( $P_{cur}$ , mA) et largeur d'impulsion ( $P_{pw}$ , ms).

al ont démontré que la VNS supprime les événements épileptiques interictaux dans un modèle de chat [65]. L'option thérapeutique de la VNS comme traitement de l'épilepsie a été envisagée et des nombreuses études ont été publiées depuis. En 1985, Zabara a décrit pour la première fois l'effet de la VNS sur le contrôle des crises dans un modèle canin [66]. Les résultats obtenus ont été reproduits, validés et complétés par plusieurs auteurs [67]-[69].

Le premier neurostimulateur implantable sur l'homme a été publié en 1990 par Perny [70] sur quatre patients. En 1994 [11], le dispositif a été implanté chez 67 patients. Des réductions de la fréquence des crises ont été observées pour la plupart des patients. Néanmoins, environ un tiers des patients ne présentait pas de réponse significative au traitement. De plus, la présence d'effets secondaires, comme la douleur, la modification de la voix et la présence de toux, ont limité le potentiel de la VNS. Par conséquent, les stimulations ont été contraintes à des intensités qui ne permettraient pas de meilleurs résultats sur l'impact des crises [71]. En revanche, les traitements à long terme ont démontré des

résultats très satisfaisants [72], avec une observation d'une diminution significative des crises avec un effet qui croit au fil des années ( $> 75\%$  à 10 ans).

La VNS est maintenant un traitement clinique approuvé pour l'épilepsie pharmaco-résistante [73], [74] et la dépression [40]. Aujourd'hui, plus de 85 000 patients épileptiques sont équipés d'un système VNS [75] et des études ont montré que 43 % des patients traités réduisent la fréquence de leurs crises d'au moins 50 % par rapport au niveau initial [76]. Bien que le traitement de l'épilepsie par VNS n'ait pas été conçu pour prévenir ou éviter les SUDEP, une étude rétrospective, portant sur tous les patients épileptiques américains ayant reçu une thérapie VNS entre 1988 et 2012, suggère que la VNS chronique pourrait réduire le risque de SUDEP de 29 % [61]. Cependant, la plupart de ces patients restent exposés à un risque élevé de SUDEP. Par ailleurs, il est maintenant admis que l'efficacité générale et les taux de réponse à la VNS peuvent être améliorés en personnalisant les paramètres de stimulation et en les délivrant de façon adaptative (en boucle fermée). Aujourd'hui aucun dispositif de VNS en boucle fermée n'existe dans le marché.

### **1.3.2 L'effet de la stimulation du nerf vague sur le système cardiovasculaire**

La stimulation du nerf vague a de multiples effets sur le système physiologique cardiaque. Les principaux effets sont 1) le chronotropisme, modification du rythme cardiaque par modulation du rythme sinusal, 2) le dromotropisme, changement de la conductibilité fibreuse, 3) l'inotropisme, impactant la contractibilité du myocarde, 4) le bathmotropisme, modification de la réponse d'un tissu excitable et 5) le lusitropisme, changement de la relaxation du muscle cardiaque [3], [77]. Plus généralement concernant la régulation de l'activité cardiovasculaire et cardiaque, le système sympathique a des effets positifs (augmentation du chronotropisme, inotropisme...) alors que le système parasympathique a des effets négatifs (diminution du chronotropisme, inotropisme...). Dans une étude [78], une stimulation du nerf vague gauche a été réalisée sur 10 porcs en gardant intactes toutes les autres voies nerveuses. Des effets négatifs sur l'inotropisme, le chronotropisme et le dromotropisme ont été observés et un retour aux valeurs de base de ces paramètres a été remarqué, même si la stimulation vagale fonctionnait toujours, car les autres voies nerveuses intactes étaient activées. Des résultats similaires ont été obtenus avec une stimulation auriculaire. La VNS a également été proposée comme une

approche thérapeutique prometteuse pour d'autres pathologies ayant un impact majeur sur la santé publique, comme l'insuffisance cardiaque, l'arythmie cardiaque, l'inflammation et les maladies auto-immunes [2]. Les effets d'une stimulation sélective directe du nerf vague droit sur la fonction ventriculaire gauche ont été évalués chez 10 chiens atteints d'insuffisance cardiaque (HF) [79]. Les résultats ont démontré qu'un traitement à long terme (3 mois) par stimulation du nerf vague prévient l'augmentation progressive du volume télé-diastolique du ventricule gauche, la réduction du volume télé-systolique du ventricule gauche et l'augmentation significative de la fraction d'éjection du ventricule gauche. Il a été démontré que les conséquences cardiovasculaires de la stimulation électrique du nerf vague chez le rat induisent une diminution de la fréquence cardiaque et de la pression ventriculaire gauche [80]. Le contrôle de la contractilité ventriculaire dans le cœur du rat diffère de celui des autres mammifères [78] car, lorsque la stimulation vagale est réalisée pendant la stimulation cardiaque, elle provoque des chutes de la contractilité ventriculaire alors qu'aucun effet sur la pression ventriculaire gauche n'est observé. Les effets de la stimulation du nerf vague droit ont également été étudiés et aucune différence n'a été constatée par rapport au côté gauche [33].

Les avantages potentiels de la VNS chez les patients atteints d'HF ont été étudiés dans une étude [81]. Le suivi à long terme de l'augmentation du tonus vagal sur 12 mois à l'aide d'un système de stimulation (CardioFit, BioControl, Yehud, Israël) a démontré que les symptômes de l'HF peuvent être significativement diminués, la fraction d'éjection du ventricule gauche augmentée et les volumes ventriculaires réduits. L'augmentation de l'activité parasympathique peut stimuler la production d'oxyde nitrique et réduire le processus inflammatoire dévastateur de l'HF. Une revue des effets de la stimulation du nerf vague sur l'insuffisance cardiaque peut être trouvée dans [79]. Les effets suivants ont été rapportés : i) diminution de la fréquence cardiaque, ii) augmentation de la variabilité de la fréquence cardiaque et de la sensibilité des barorécepteurs, iii) effet antiarythmique, iv) diminution de la production de cytokines et influence de l'oxyde nitrique. Cependant, l'application de la thérapie VNS à l'insuffisance cardiaque a donné des résultats contradictoires [4]. Bien que les premières études précliniques et cliniques aient donné des résultats prometteurs, les essais cliniques récents n'ont pas réussi à démontrer les avantages du VNS dans des populations plus importantes de patients atteints d'insuffisance cardiaque [41], [62], [63]. L'une des principales limitations de ces études cliniques est associée au fait que le critère de titration manuelle des paramètres de stimulation était orienté vers la minimisation du courant délivrée (afin de minimiser les effets secondaires). Aucune mesure

quantitative n'a été utilisée dans ces études pour mesurer si la thérapie était effectivement délivrée. Il est donc probable qu'une partie non-négligeable des patients n'aient pas reçu une dose appropriée. A nouveau, il est actuellement admis qu'une approche de neuromodulation en boucle fermée serait indispensable dans ce contexte.

## 1.4 Contributions du projet PSPC INTENSE

Le Laboratoire de Traitement de Signal et de l'Image (LTSI) a participé au projet INTENSE (2012-2017), sélectionné dans le cadre des PSPC des pôles de compétitivité, s'inscrivant dans le portefeuille des « Investissements d'Avenir ». Le consortium du projet s'était donné comme objectif de développer de nouveaux dispositifs électroniques implantables combinant la stimulation électrique cardiaque et la neuromodulation de la voie autonome vagale, dans le cadre des pathologies multifactorielles telles que l'insuffisance cardiaque. Deux partenaires industriels étaient impliqués dans ce projet : LivaNova-Sorin (pour les prothèses cardiaques) et Obélia-Neuromedix (pour la stimulation neurologique). Trois partenaires étaient impliqués dans les aspects méthodologiques : le LTSI, l'INRIA Montpellier et le CEA-LETI. L'évaluation animale et clinique étaient réalisées par le l'INRA de Rennes, l'Hôpital Européen Georges Pompidou (HEGP) et le CIC-IT de Rennes. Dans le cadre de ce projet, le LTSI est intervenu sur les problématiques liées à l'analyse de la réponse à la VNS et à la proposition d'un dispositif en boucle fermée.

Une analyse de sensibilité originale a été proposée afin de quantifier l'effet induit par chaque paramètre VNS sur la modulation de la réponse cardiovasculaire aiguë chez le mouton, ainsi que les principales interactions entre ces paramètres [3]. Il a été montré que ces réponses cardiovasculaires sont spécifiques au sujet, ce qui signifie que différents sujets peuvent répondre de manière très différente aux mêmes paramètres VNS. Une modification conjointe des paramètres de la VNS est importante. En effet, avec certaines combinaisons de paramètres, on peut provoquer des réponses fonctionnelles sélectives, ce qui peut limiter les effets secondaires. En outre, il a été démontré que la sensibilité à ces modifications de paramètres évolue dans le temps. Tous ces résultats impliquent que, pour délivrer le VNS de manière appropriée, une méthode d'optimisation de ses paramètres doit être appliquée de manière spécifique au sujet et en boucle fermée sur plus d'un paramètre de la VNS.

La plupart des essais cliniques portant sur l'évaluation de la VNS ont inclus un titrage

manuel des paramètres en boucle ouverte spécifique au sujet [4], [62], [63]. Cependant, ce titrage manuel est effectué sur un seul paramètre VNS (le courant délivré), en utilisant comme référence une seule variable physiologique (généralement, la fréquence cardiaque), en appliquant un nombre limité de valeurs de paramètres prédéfinies. De plus, cette phase de titration n'a été appliquée qu'en milieu hospitalier, avec une seule titration au début du traitement ou des titrations hebdomadaires pendant les 10 premières semaines. Nous pouvons supposer que l'absence d'une estimation formelle des paramètres en boucle fermée peut expliquer pourquoi certains patients ne répondent pas au traitement VNS. Bien que de nombreux efforts aient été déployés récemment pour proposer des méthodes VNS en boucle fermée, les algorithmes proposés restent simples, limités à la modulation d'un paramètre VNS et sans définition claire des variables de contrôle appropriées. Par exemple, Waninger a proposé dans [82] un contrôleur VNS basé sur la technique classique des cartes de contrôle à somme cumulative, tandis que des correcteurs basés sur des actions proportionnelles et intégrales (PI) ont été proposés par Dong et al [83] et Tosato et al [84]. Dans le cadre du projet PSPC INTENSE, le LTSI a proposé des systèmes de contrôle en boucle fermée, à différents degrés de complexité, pour délivrer la VNS en boucle fermée [6], [7], [85], schématiquement représenté par la figure 1.4. Bien que facile à intégrer dans un dispositif implantable, le correcteur tout-ou-rien initialement proposé dans [6], conduisait à de fortes oscillations sur la variable de contrôle. Afin de réduire ces oscillations, un correcteur PI a été proposé et évalué [7]. Les performances de contrôle ont été significativement améliorées, mais les performances obtenues dépendaient fortement des paramètres du correcteur PI et les valeurs optimales de ces paramètres étaient difficiles à définir. Une approche de conception à base de modèle a été publiée par le LTSI pour trouver les plages de paramètres PI optimales et simplifier la définition des paramètres spécifiques au patient [85]. Cependant, le correcteur PI obtenu restait relativement complexe à intégrer dans un dispositif de neurostimulation implantable et était limité à la modulation d'un seul paramètre de la VNS (amplitude du courant délivré).

Plus récemment, notre équipe a proposé un correcteur original à la fois générique, facilement intégrable dans un dispositif implantable et permettant la modulation adaptative de plusieurs paramètres de la VNS, basé sur des modèles dynamiques de transition d'état. Quatre familles de brevets ont été co-déposées entre le LTSI (partie principale de l'invention) et Sorin CRM concernant ce nouveau correcteur. Cependant, de nouveaux développements sont nécessaires afin d'optimiser la VNS en boucle fermée et de prendre en compte les technologies d'électrodes avancées. En effet, afin de développer une méthode

en boucle fermée, il est nécessaire d'identifier les variables de contrôle qui devraient être utilisées comme entrée du système et d'acquérir des connaissances sur la manière dont ces variables peuvent être modulées par la VNS. Des méthodes de traitement du signal doivent être développées afin d'extraire les variables de contrôle potentielles. Afin de valider ces méthodes de traitement du signal et de modélisation, un ensemble d'expérimentations animales contrôlées *in situ* et *in vivo* a été étudié dans cette thèse.

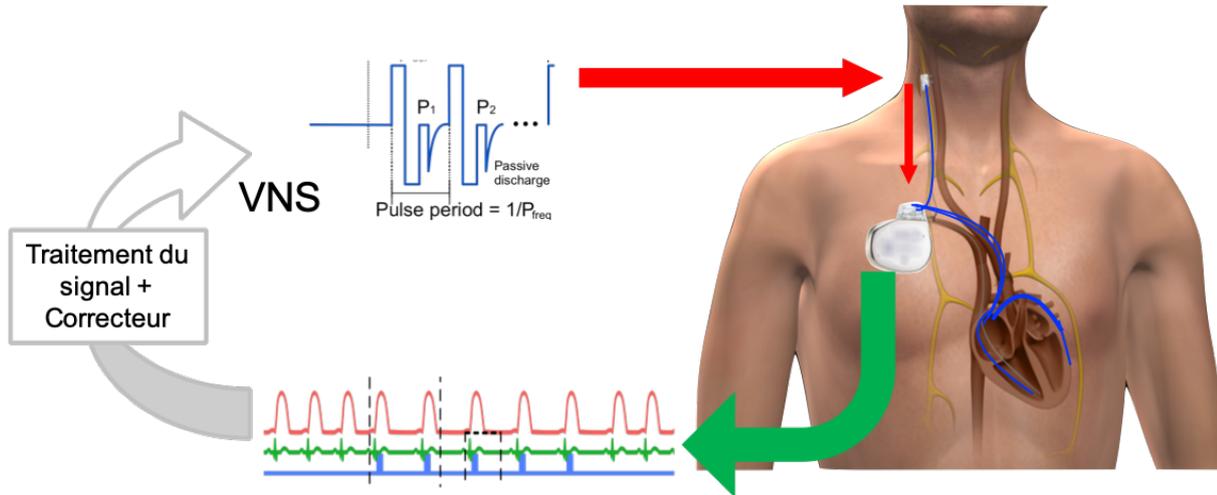


FIGURE 1.4 – Schéma représentant l'objectif du projet PSCPIntense. Pendant la stimulation du nerf, on enregistre les signaux physiologiques du patient. Ces signaux sont traités et les paramètres de la stimulation sont corrigés par le correcteur. Une nouvelle stimulation est appliquée. Ce système est en boucle fermée et contrôlé par le correcteur.

## 1.5 Projet ANR AdaptVNS

La proposition du projet ANR AdaptVNS (2017-2021) repose sur le constat qu'il existe un besoin croissant de nouvelles méthodes formelles pour optimiser l'administration de la VNS de manière adaptative et spécifique au sujet. Bien que de nombreux efforts aient été déployés pour proposer des méthodes VNS en boucle fermée, les algorithmes proposés restent simples,

et sans définition claire des variables de contrôle appropriées. En outre, les technologies d'électrodes actuelles offrent une faible résolution spatiale pour la stimulation et un faible rapport signal/bruit pour l'enregistrement neuronal, ce qui limite également le développement d'approches avancées en boucle fermée. Nous supposons que l'utilisation d'une méthode automatisée, en boucle fermée et spécifique au sujet pour l'optimisation

des paramètres de la VNS, intégrant les nouvelles technologies d'électrodes et les nouvelles connaissances de la physiologie sous-jacente, peut conduire à une amélioration des résultats pour les patients VNS et à de nouvelles applications thérapeutiques.

L'objectif principal du projet AdaptVNS (voir figure 1.5) est de proposer de nouvelles méthodes de traitement des données ainsi que de nouvelles technologies d'électrodes, permettant une optimisation en boucle fermée et spécifique au sujet du traitement VNS. Bien que les méthodes et technologies proposées soient génériques, un deuxième objectif est d'explorer, par le biais d'expérimentations approfondies *in silico*, *in situ* et *in vivo*, l'utilité du système proposé pour la prévention de la mort subite et inattendue chez les patients épileptiques (SUDEP) [86]. Cette application s'appuie sur la méthode en boucle fermée proposée pour détecter précocement un événement potentiel de SUDEP et pour appliquer une VNS aiguë et adaptative, capable de bloquer la propagation par les voies efférentes vagales, afin d'éviter une bradycardie sévère et un arrêt respiratoire. Afin d'atteindre ces objectifs généraux, un certain nombre de barrières techniques, scientifiques et expérimentales doivent être levées, ce qui correspond aux objectifs spécifiques du projet AdaptVNS :

- proposer de nouvelles technologies VNS en boucle fermée capables d'adapter les paramètres de stimulation afin d'atteindre une cible physiologique spécifique (Figure 1.5A)
- améliorer les technologies actuelles d'électrodes multicontact afin de permettre un enregistrement et une stimulation efficaces de l'activité neuronale (figure 1.5B)
- développer un prototype de système de neuromodulation adaptatif intégrant une VNS en boucle fermée avec de nouvelles technologies d'électrodes (figure 1.5C)
- concevoir de nouvelles expérimentations précliniques *in situ* et *in vivo* et appliquer ces expériences pour évaluer les méthodes et technologies proposées, ainsi que leurs applications à la prévention de la SUDEP (voir figure 1.5D).

Les technologies d'électrodes constituent une autre limite majeure à l'administration optimale de la VNS. Celles actuellement disponibles sont limitées par la résolution spatiale des éléments actifs, qui sont en contact avec le nerf. La plupart des électrodes utilisées pour la VNS en pratique clinique sont constituées d'anneaux métalliques qui s'enroulent autour du nerf [87]. Cette technologie ne permet pas une stimulation sélective dans l'espace, puisque tout le diamètre du nerf est activé à chaque stimulation. Bien que des architectures d'électrodes plus avancées, constituées de 3 ou 4 électrodes métalliques différentes autour du nerf, aient été proposées, par exemple dans le cadre du projet PSC

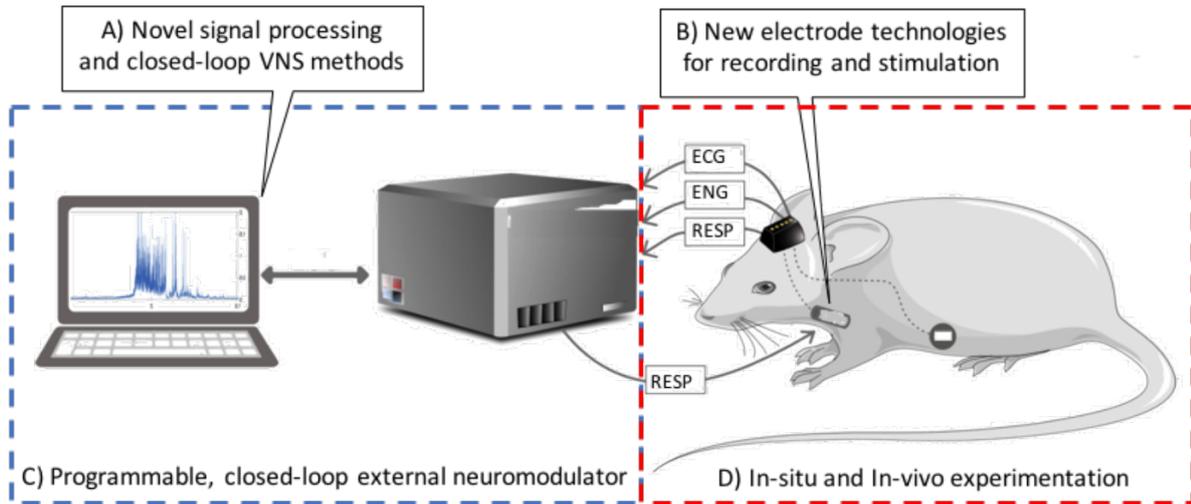


FIGURE 1.5 – Représentation générale du projet AdaptVNS A) Des contributions méthodologiques de traitement de signal, modèles et méthodes de contrôles sera intégré dans un nouveau système en temps réel. B) De nouvelles technologies d'électrodes seront implantées pour des expérimentations aiguës et chroniques. C) La contribution principale d'AdaptVNS : un neuromodulateur externe en boucle fermée et programmable. D) Des setups expérimentaux *in situ* et *in vivo* seront utilisés pour valider le système et tester la prévention de la SUDEP en boucle fermée.

INTENSE, elles doivent encore être testées de manière approfondie et la résolution spatiale reste faible, ce qui rend impossible leur application à l'expérimentation sur les petits animaux. Au-delà de cet aspect de stimulation sélective, de meilleures technologies d'électrodes sont également nécessaires pour l'enregistrement de l'électroneurogramme (ENG) du nerf vague, pour lequel des rapports signal/bruit élevés doivent être préservés. Il s'agit là d'un point important pour le projet AdaptVNS, puisque l'ENG du nerf vague est l'une des variables de contrôle possibles pour notre système. L'Institut des NeuroSciences (INS) de Aix-Marseille est parmi les leaders mondiaux de l'électronique organique appliquée aux neurosciences et à la recherche sur l'épilepsie [88]-[93]. Ils ont conçu des grilles d'électrodes pour enregistrer des signaux électrophysiologiques avec une qualité sans précédent [88], [89], et ces grilles sont maintenant utilisées pour enregistrer l'activité neuronale de patients en salle d'opération [94]. Ils ont montré que les sites d'enregistrement peuvent être utilisés à la fois pour enregistrer et stimuler les neurones [90]. Dans ce projet, l'INS est chargé de développer des électrodes basées sur ces technologies de transistors organiques avec une disposition adaptée à la stimulation du nerf vague chez la souris et le rat.

Dans une phase préliminaire du projet, le LTSI a étudié la faisabilité de la VNS sur

des rongeurs en utilisant des électrodes à manchette nerveuse en platine (Cortec®). Une VNS efficace a pu être appliquée sur des rats et des souris dans des conditions aiguës et chroniques. Grâce à un prototype d'électrode réalisé par l'INS, le LTSI a pu stimuler le nerf vague chez le rat. Cette électrode basse résolution a été enroulée autour de l'artère carotide et du nerf vague et connectée à un neuromodulateur programmable développé dans le cadre du programme PSPC Intense. Le nerf vague du rat a ensuite été stimulé en utilisant différents paramètres de la VNS. La figure 1.6 montre les résultats non publiés de ces expériences VNS. Ces expériences préliminaires ont été réalisées afin de fournir une première preuve de concept pour la stimulation du nerf vague par des électrodes organiques et de comparer les performances de stimulation par rapport aux technologies existantes d'électrodes. Des résultats très encourageants ont été obtenus en ce qui concerne la faisabilité d'une telle VNS, en utilisant de telles électrodes organiques.

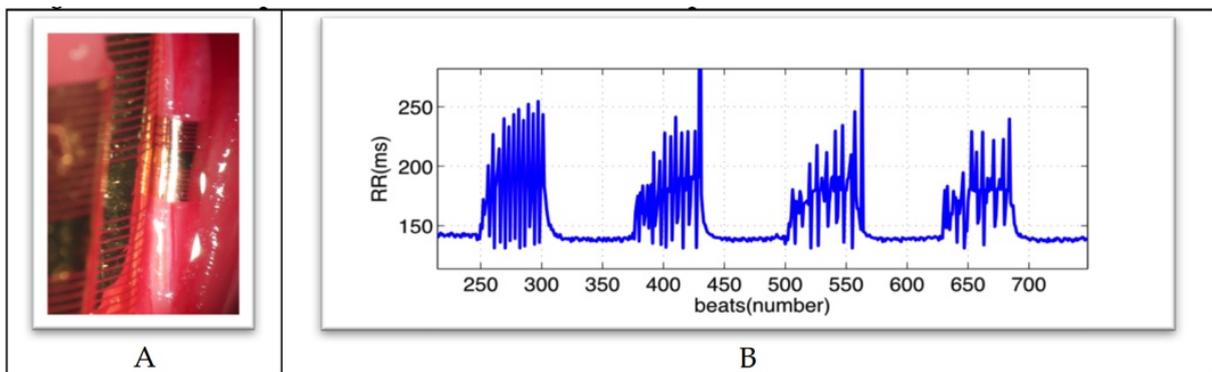


FIGURE 1.6 – A) Electrode organique placée autour du nerf vague droit et de l'artère carotide. B) Intervalle RR pendant 4 stimulations du nerf vague. Caractéristiques des impulsions de stimulation : 3mA, période= 20ms, 3 impulsions de 300  $\mu$ s espacées de 16ms. Des bradycardies (augmentation de l'intervalle RR) contrôlées peuvent être induites par VNS. La présence d'erreurs de détection de l'onde R est à noter, conséquence d'un SNR plus bas pendant les stimulations.

Cependant, nos expériences préliminaires de stimulation avec des électrodes organiques étaient limitées au modèle expérimental du rat. Dans AdaptVNS, nous souhaitons utiliser le modèle de la souris, qui est beaucoup plus adapté que le modèle du rat pour traiter la SUDEP. Néanmoins, les souris ont un nerf vague beaucoup plus fin que les rats, ce qui nécessite le développement de nouvelles architectures d'électrodes avec une densité spatiale beaucoup plus élevée, afin de stimuler sélectivement le nerf vague des souris.

Un des modèles d'induction de la SUDEP chez la souris consiste à provoquer la crise à l'aide d'un stimulus sonore (Audiogenic Seizure ou AGS). En attente de la nouvelle

technologie d'électrodes, des souris 129/SvTer ont été instrumentés avec des électrodes en platine (Cortec®) autour du nerf vague et avec des électrodes sous cutanées pour l'enregistrement de l'ECG. Des résultats préliminaires d'enregistrement du nerf vague pendant une crise d'épilepsie induite par AGS ont été obtenus. La figure 1.7 (à gauche) montre une souris C57BL/6J instrumentée avec le connecteur à chapeau qui permet de relier les électrodes, dont les fils ont été tunnelisés, au système d'acquisition. Le panneau de droite de la figure 1.7 présente les résultats expérimentaux préliminaires du LTSI montrant une bradycardie significative et non létale générée par la crise induite. Cette bradycardie est précédée d'une augmentation de l'activité vagale.

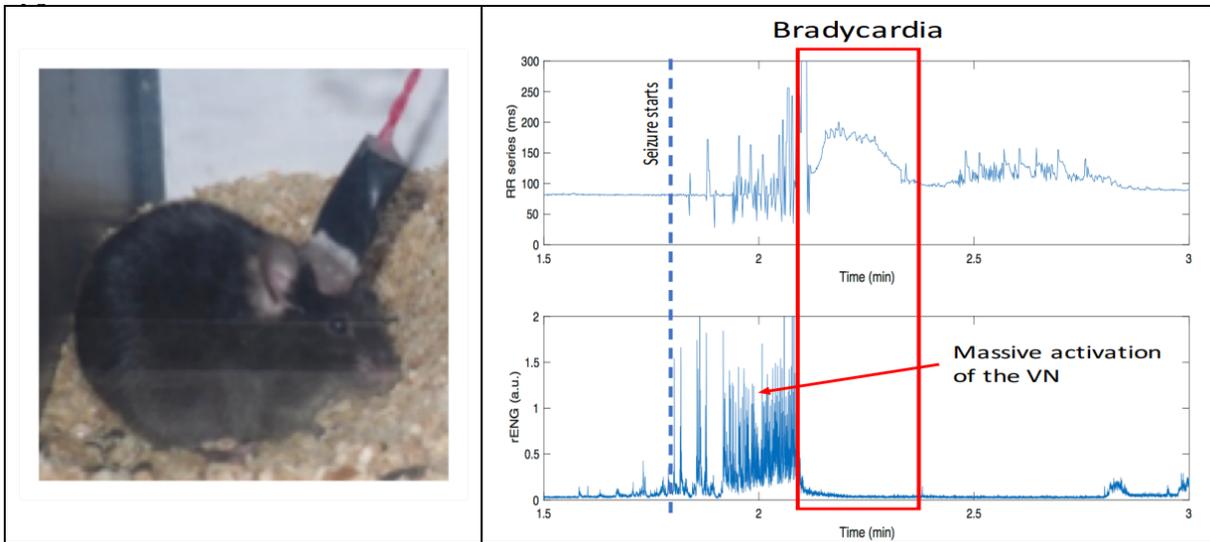


FIGURE 1.7 – A gauche. Souris C57BL/6J instrumentée. A droite. Données d'une souris 129/SvTer pendant une induction par AGS non létale et conduisant à un épisode de bradycardie. Le graphe de haut montre le rythme cardiaque (intervale RR) provenant de l'ECG. Malgré un bruit significatif présent sur l'ENG pendant la crise tonique, avec des battements manqués, une bradycardie est observée après la phase tonique. Cette bradycardie est précédé par une augmentation significative de l'énergie de l'ENG vagal enregistré par l'électrode cuff (graphe du bas).

Dans un récent brevet déposé par le LTSI (FR1670039), nous avons proposé de réaliser la VNS de manière spécifique, en boucle fermée, afin de bloquer l'effet efférent de cette activité vagale massive sur le système cardiorespiratoire, prévenant ainsi la SUDEP. La série RR et l'énergie enregistrée par le nerf vague (comme le montre la figure 1.7) pourraient être utilisées comme variables de contrôle pour un tel système.

## 1.6 Objectifs et organisation de ce travail de thèse

Afin de délivrer une thérapie optimale dans le cadre de la VNS en boucle fermée et spécifique au patient, il est nécessaire de pouvoir sélectionner de bonnes variables de contrôles. La définition de ces variables permettra une thérapie qui limite les effets secondaires de la VNS et optimisée et de piloter la boucle fermée. Les études du LTSI ont mis en avant deux potentielles variables de contrôle : une énergie vagale importante enregistrée pendant l'induction d'une SUDEP par AGS et une bradycardie présente après la crise tonique. Pour analyser ces deux premiers marqueurs, il convient d'établir des méthodes robustes pour analyser *i)* les ENG du nerf vague pour détecter la potentielle décharge massive vagale présente sur la figure 1.7 et *ii)* l'ECG pour détecter les marqueurs indirects comme la bradycardie et pour pouvoir extraire d'autres potentielles variables.

Les objectifs de la thèse se déclinent sur ces différents points :

- L'établissement de méthodes de traitement pour la détection d'activités électroneurogrammes importantes à l'aide d'une nouvelle technologie d'électrode (Chapitre 2). Pour répondre à cet axe, l'étude a été portée sur le nerf phrénique du rat dans un cadre d'expérimentations *in situ*. Le choix du nerf phrénique assure la présence de décharge d'activité nerveuse. Ces décharges présentes spontanément sur l'ENG phrénique correspondent aux bouffées respiratoires de l'animal.
- L'analyse de l'ENG vagal pendant une SUDEP induite par AGS pour détecter la décharge massive vagale (Chapitre 3).
- L'analyse de l'ECG dans le même contexte expérimental pour détecter les marqueurs indirects comme la bradycardie (Chapitre 3).

# BIBLIOGRAPHIE

---

- [2] D. GUIRAUD, D. ANDREU, S. BONNET et al., « Vagus nerve stimulation : state of the art of stimulation and recording strategies to address autonomic function neuromodulation », *Journal of Neural Engineering*, t. 13, 4, p. 041002, 2016. DOI : 10.1088/1741-2560/13/4/041002.
- [3] D. OJEDA, V. L. ROLLE, H. M. ROMERO-UGALDE et al., « Sensitivity Analysis of Vagus Nerve Stimulation Parameters on Acute Cardiac Autonomic Responses : Chronotropic, Inotropic and Dromotropic Effects. », *PLoS ONE*, t. 11, 9, e0163734, 2016. DOI : 10.1371/journal.pone.0163734.
- [4] M. BYKU et D. L. MANN, « NEUROMODULATION OF THE FAILING HEART : LOST IN TRANSLATION ? », *JACC Basic Transl Sci*, t. 1, 3, p. 95-106, avr. 2016.
- [5] H. ROMERO UGALDE, V. ROLLE, J.-L. BONNET et al., « Closed-Loop Vagus Nerve Stimulation Based on State Transition Models », *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, t. PP, oct. 2017. DOI : 10.1109/TBME.2017.2759667.
- [6] H. ROMERO UGALDE, « On-off closed-loop control of vagus nerve stimulation for the adaptation of heart rate », t. 2014, août 2014. DOI : 10.1109/EMBC.2014.6945060.
- [7] H. ROMERO UGALDE, D. OJEDA, V. ROLLE et al., « Model-based design of control modules for neuromodulation devices », t. 2015, juill. 2015, p. 462-465. DOI : 10.1109/NER.2015.7146659.
- [10] T. R. DEER, N. MEKHAIL, D. PROVENZANO et al., « The appropriate use of neurostimulation of the spinal cord and peripheral nervous system for the treatment of chronic pain and ischemic diseases : the Neuromodulation Appropriateness Consensus Committee », *Neuromodulation*, t. 17, 6, p. 515-550, août 2014.
- [11] E. BEN-MENACHEM, R. MAÑON-ESPAILLAT, R. RISTANOVIC et al., « Vagus nerve stimulation for treatment of partial seizures : 1. A controlled study of effect on seizures. First International Vagus Nerve Stimulation Study Group », *Epilepsia*, t. 35, 3, p. 616-626, 1994.

- 
- [12] J. POP, D. MURRAY, D. MARKOVIC et C. M. DEGIORGIO, « Acute and long-term safety of external trigeminal nerve stimulation for drug-resistant epilepsy », *Epilepsy & Behavior*, 2011.
- [14] A. R. BRUNONI, A. H. MOFFA, F. FREGNI et al., « Transcranial direct current stimulation for acute major depressive episodes : meta-analysis of individual patient data », *Br J Psychiatry*, t. 208, 6, p. 522-531, juin 2016.
- [15] J. M. DESANTANA, D. M. WALSH, C. VANCE, B. A. RAKEL et K. A. SLUKA, « Effectiveness of transcutaneous electrical nerve stimulation for treatment of hyperalgesia and pain », *Curr Rheumatol Rep*, t. 10, 6, p. 492-499, déc. 2008.
- [16] W. Z. POTTER et M. V. RUDORFER, « Electroconvulsive therapy—a modern medical procedure », *N Engl J Med*, t. 328, 12, p. 882-883, mars 1993.
- [17] I. WILLIAMS et T. CONSTANDINO, « An energy-efficient, dynamic voltage scaling neural stimulator for a proprioceptive prosthesis », *IEEE Trans Biomed Circuits Syst*, t. 7, 2, p. 129-139, avr. 2013.
- [18] K. J. GUSTAFSON, G. C. PINAULT, J. J. NEVILLE et al., « Fascicular anatomy of human femoral nerve : implications for neural prostheses using nerve cuff electrodes. », *Journal of rehabilitation research and development*, t. 46, p. 973-984, 2009. DOI : doi:10.1682/jrrd.2008.08.0097.
- [19] V. GILJA, P. NUYUJUKIAN, C. A. CHESTEK et al., « A high-performance neural prosthesis enabled by control algorithm design », *Nature Neuroscience*, t. 15, 12, p. 1752-1757, 2012.
- [20] L. THEOGARAJAN, « Strategies for restoring vision to the blind : current and emerging technologies », *Neurosci Lett*, t. 519, 2, p. 129-133, juin 2012.
- [21] L. FENNO, O. YIZHAR et K. DEISSEROTH, « The development and application of optogenetics », *Annu Rev Neurosci*, t. 34, p. 389-412, 2011.
- [22] R. MELZACK et P. D. WALL, « Pain mechanisms : a new theory », *Science*, t. 150, 3699, p. 971-979, nov. 1965.
- [23] P. D. WALL et W. H. SWEET, « Temporary abolition of pain in man », *Science*, t. 155, 3758, p. 108-109, jan. 1967.
- [24] R. J. IGNELZI et J. K. NYQUIST, « Direct effect of electrical stimulation on peripheral nerve evoked activity : implications in pain relief », *J Neurosurg*, t. 45, 2, p. 159-165, août 1976.

- [25] R. L. WEINER et K. L. REED, « Peripheral neurostimulation for control of intractable occipital neuralgia », *Neuromodulation*, t. 2, 3, p. 217-221, juill. 1999.
- [26] E. E. MEYERS, A. KRONEMBERGER, V. LIRA, K. RAHMOUNI et H. M. STAUSS, « Contrasting effects of afferent and efferent vagal nerve stimulation on insulin secretion and blood glucose regulation », *Physiol Rep*, t. 4, 4, fév. 2016.
- [27] Y. SATA, G. A. HEAD, K. DENTON, C. N. MAY et M. P. SCHLAICH, « Role of the Sympathetic Nervous System and Its Modulation in Renal Hypertension », *Front Med (Lausanne)*, t. 5, p. 82, 2018.
- [28] S. M. CHAVEL, M. WESTERVELD et S. SPENCER, « Long-term outcome of vagus nerve stimulation for refractory partial epilepsy », *Epilepsy Behav*, t. 4, 3, p. 302-309, juin 2003.
- [29] P. J. GOODNICK, A. J. RUSH, M. S. GEORGE, L. B. MARANGELL et H. A. SACKEIM, « Vagus nerve stimulation in depression », *Expert Opin Pharmacother*, t. 2, 7, p. 1061-1063, juill. 2001.
- [30] D. NEREN, M. D. JOHNSON, W. LEGON, S. P. BACHOUR, G. LING et A. A. DIVANI, « Vagus Nerve Stimulation and Other Neuromodulation Methods for Treatment of Traumatic Brain Injury », *Neurocrit Care*, t. 24, 2, p. 308-319, avr. 2016.
- [31] F. V. GOUVEIA, E. SILK, B. DAVIDSON et al., « A systematic review on neuromodulation therapies for reducing body weight in patients with obesity », *Obes Rev*, t. 22, 10, e13309, oct. 2021.
- [32] A. Q. FARRAND, K. L. HELKE, R. A. GREGORY, M. GOOZ, V. K. HINSON et H. A. BOGER, « Vagus nerve stimulation improves locomotion and neuronal populations in a model of Parkinson's disease », *Brain Stimulation*, 2017.
- [33] C. B. SAPER, M. R. KIBBE, K. M. HURLEY et al., « Brain natriuretic peptide-like immunoreactive innervation of the cardiovascular and cerebrovascular systems in the rat. », *Circulation Research*, t. 67, 6, p. 1345-1354, 1990. DOI : 10.1161/01.RES.67.6.1345.
- [34] J. O. FOLEY et F. S. DUBOIS, « Quantitative studies of the vagus nerve in the cat. I. The ratio of sensory to motor fibers », *Journal of Comparative Neurology*, t. 67, 1, p. 49-67, 1937. DOI : <https://doi.org/10.1002/cne.900670104>. eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/cne.900670104>. adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cne.900670104>.

- [35] P. BAILEY et F. BREMER, « A SENSORY CORTICAL REPRESENTATION OF THE VAGUS NERVE : WITH A NOTE ON THE EFFECTS OF LOW BLOOD PRESSURE ON THE CORTICAL ELECTROGRAM », *Journal of Neurophysiology*, t. 1, 5, p. 405-412, 1938. DOI : 10.1152/jn.1938.1.5.405. eprint : <https://doi.org/10.1152/jn.1938.1.5.405>. adresse : <https://doi.org/10.1152/jn.1938.1.5.405>.
- [36] J. ERLANGER et H. S. GASSER, « THE ACTION POTENTIAL IN FIBERS OF SLOW CONDUCTION IN SPINAL ROOTS AND SOMATIC NERVES », *American Journal of Physiology-Legacy Content*, t. 92, 1, p. 43-82, 1930. DOI : 10.1152/ajplegacy.1930.92.1.43. eprint : <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1930.92.1.43>. adresse : <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1930.92.1.43>.
- [37] A. J. RUSH, M. S. GEORGE, H. A. SACKEIM et al., « Vagus nerve stimulation (VNS) for treatment-resistant depressions : a multicenter study », *Biol Psychiatry*, t. 47, 4, p. 276-286, fév. 2000.
- [38] A. J. RUSH, L. B. MARANGELL, H. A. SACKEIM et al., « Vagus nerve stimulation for treatment-resistant depression : a randomized, controlled acute phase trial », *Biol Psychiatry*, t. 58, 5, p. 347-354, sept. 2005.
- [39] A. J. RUSH, H. A. SACKEIM, L. B. MARANGELL et al., « Effects of 12 months of vagus nerve stimulation in treatment-resistant depression : a naturalistic study », *Biol Psychiatry*, t. 58, 5, p. 355-363, sept. 2005.
- [40] H. AKHTAR, F. BUKHARI, M. NAZIR, M. N. ANWAR et A. SHAHZAD, « Therapeutic Efficacy of Neurostimulation for Depression : Techniques, Current Modalities, and Future Challenges », *Neurosci Bull*, t. 32, 1, p. 115-126, fév. 2016.
- [41] F. ZANNAD, G. M. DE FERRARI, A. E. TUINENBURG et al., « Chronic vagal stimulation for the treatment of low ejection fraction heart failure : results of the NEural Cardiac TherApy foR Heart Failure (NECTAR-HF) randomized controlled trial », *Eur Heart J*, t. 36, 7, p. 425-433, fév. 2015.
- [42] B. S. KOLMAN, R. L. VERRIER et B. LOWN, « The effect of vagus nerve stimulation upon vulnerability of the canine ventricle : role of sympathetic-parasympathetic interactions », *Circulation*, t. 52, 4, p. 578-585, oct. 1975.

- [43] G. ZUANETTI, G. M. DE FERRARI, S. G. PRIORI et P. J. SCHWARTZ, « Protective effect of vagal stimulation on reperfusion arrhythmias in cats », *Circ Res*, t. 61, 3, p. 429-435, sept. 1987.
- [44] E. VANOLI, G. M. DE FERRARI, M. STRAMBA-BADIALE, S. S. HULL, R. D. FOREMAN et P. J. SCHWARTZ, « Vagal stimulation and prevention of sudden death in conscious dogs with a healed myocardial infarction », *Circ Res*, t. 68, 5, p. 1471-1481, mai 1991.
- [45] L. V. BOROVIKOVA, S. IVANOVA, M. ZHANG et al., « Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin », *Nature*, t. 405, 6785, p. 458-462, mai 2000.
- [46] D. J. van WESTERLOO, I. A. GIEBELEN, J. C. MEIJERS et al., « Vagus nerve stimulation inhibits activation of coagulation and fibrinolysis during endotoxemia in rats », *J Thromb Haemost*, t. 4, 9, p. 1997-2002, sept. 2006.
- [48] M. S. GEORGE, H. A. SACKEIM, A. J. RUSH et al., « Vagus nerve stimulation : a new tool for brain research and therapy », *Biological Psychiatry*, t. 47, p. 287-295, 2000.
- [49] T. MASADA, T. ITANO, M. FUJISAWA et al., « Protective effect of vagus nerve stimulation on forebrain ischaemia in gerbil hippocampus », *Neuroreport*, t. 7, 2, p. 446-448, jan. 1996.
- [50] K. B. CLARK, D. K. NARITOKU, D. C. SMITH, R. A. BROWNING et R. A. JENSEN, « Enhanced recognition memory following vagus nerve stimulation in human subjects », *Nat Neurosci*, t. 2, 1, p. 94-98, jan. 1999.
- [51] K. M. KENT, E. R. SMITH, D. R. REDWOOD et S. E. EPSTEIN, « Electrical stability of acutely ischemic myocardium. Influences of heart rate and vagal stimulation », *Circulation*, t. 47, 2, p. 291-298, fév. 1973.
- [52] R. W. MYERS, A. S. PEARLMAN, R. M. HYMAN et al., « Beneficial effects of vagal stimulation and bradycardia during experimental acute myocardial ischemia », *Circulation*, t. 49, 5, p. 943-947, mai 1974.
- [53] J. F. SNEDDON, Y. BASHIR et D. E. WARD, « Vagal stimulation after myocardial infarction : accentuating the positive », *J Am Coll Cardiol*, t. 22, 5, p. 1335-1337, nov. 1993.

- 
- [54] J. E. CHILDS, A. C. ALVAREZ-DIEPPA, C. K. MCINTYRE et S. KROENER, « Vagus Nerve Stimulation as a Tool to Induce Plasticity in Pathways Relevant for Extinction Learning », *J Vis Exp*, 102, e53032, août 2015.
- [55] A. KIRCHNER, F. BIRKLEIN, H. STEFAN et H. O. HANDWERKER, « Left vagus nerve stimulation suppresses experimentally induced pain », *Neurology*, t. 55, 8, p. 1167-1171, oct. 2000.
- [56] M. DE COUCK, J. NIJS et Y. GIDRON, « You may need a nerve to treat pain : the neurobiological rationale for vagal nerve activation in pain management », *Clin J Pain*, t. 30, 12, p. 1099-1105, déc. 2014.
- [58] E. M. ANNONI, X. XIE, S. W. LEE et al., « Intermittent electrical stimulation of the right cervical vagus nerve in salt-sensitive hypertensive rats : effects on blood pressure, arrhythmias, and ventricular electrophysiology », *Physiol Rep*, t. 3, 8, août 2015.
- [59] M. GIERTHMUEHLEN et D. T. PLACHTA, « Effect of selective vagal nerve stimulation on blood pressure, heart rate and respiratory rate in rats under metoprolol medication », *Hypertens Res*, t. 39, 2, p. 79-87, fév. 2016.
- [60] E. D. HORD, M. S. EVANS, S. MUEED, B. ADAMOLEKUN et D. K. NARITOKU, « The effect of vagus nerve stimulation on migraines », *J Pain*, t. 4, 9, p. 530-534, nov. 2003.
- [61] P. RYVLIN, E. L. SO, C. M. GORDON et al., « Long-term surveillance of SUDEP in drug-resistant epilepsy patients treated with VNS therapy », *Epilepsia*, t. 59, 3, p. 562-572, mars 2018.
- [62] P. J. HAUPTMAN, P. J. SCHWARTZ, M. R. GOLD et al., « Rationale and study design of the increase of vagal tone in heart failure study : INOVATE-HF », *Am Heart J*, t. 163, 6, p. 954-962, juin 2012.
- [63] R. K. PREMCHAND, K. SHARMA, S. MITTAL et al., « Extended Follow-Up of Patients With Heart Failure Receiving Autonomic Regulation Therapy in the ANTHEM-HF Study », *J Card Fail*, t. 22, 8, p. 639-642, août 2016.
- [64] J. CORNING, « Considerations on the pathology and therapeutics of epilepsy », *Journal of Nervous and Mental Disease*, t. 10, 1883. DOI : 10.1097/00005053-188304000-00005.

- [65] A. ZANCHETTI, S. WANG et G. MORUZZI, « The effect of vagal afferent stimulation on the EEG pattern of the cat », English, *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, t. 4, 3, p. 357-361, août 1952, ISSN : 0013-4694.
- [66] J. ZABARA, « Peripheral control of hypersynchronous discharge in epilepsy », *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, t. 61, 1985.
- [67] J. S. LOCKARD, W. C. CONGDON et L. L. DUCHARME, « Feasibility and safety of vagal stimulation in monkey model », *Epilepsia*, t. 31 Suppl 2, S20-26, 1990.
- [68] D. M. WOODBURY et J. W. WOODBURY, « Effects of vagal stimulation on experimentally induced seizures in rats », *Epilepsia*, t. 31 Suppl 2, p. 7-19, 1990.
- [69] R. S. MCLACHLAN, « Suppression of interictal spikes and seizures by stimulation of the vagus nerve », *Epilepsia*, t. 34, 5, p. 918-923, 1993.
- [70] J. K. PENRY et J. C. DEAN, « Prevention of intractable partial seizures by intermittent vagal stimulation in humans : preliminary results », *Epilepsia*, t. 31 Suppl 2, S40-43, 1990.
- [71] C. D. BINNIE, « Vagus nerve stimulation for epilepsy : a review », *Seizure*, t. 9, 3, p. 161-169, avr. 2000.
- [72] R. E. ELLIOTT, A. MORSI, S. P. KALHORN et al., « Vagus nerve stimulation in 436 consecutive patients with treatment-resistant epilepsy : long-term outcomes and predictors of response », *Epilepsy Behav*, t. 20, 1, p. 57-63, jan. 2011.
- [73] S. HEALY, J. LANG, J. TE WATER NAUDE, F. GIBBON et P. LEACH, « Vagal nerve stimulation in children under 12 years old with medically intractable epilepsy », *Childs Nerv Syst*, t. 29, 11, p. 2095-2099, nov. 2013.
- [74] F. RYCHLICKI, N. ZAMPONI, R. TRIGNANI, R. A. RICCIUTI, M. IACOANGELI et M. SCERRATI, « Vagus nerve stimulation : clinical experience in drug-resistant pediatric epileptic patients », *Seizure*, t. 15, 7, p. 483-490, oct. 2006.
- [75] M. PANEBIANCO, C. ZAVANONE, S. DUPONT, D. A. RESTIVO et A. PAVONE, « Vagus nerve stimulation therapy in partial epilepsy : a review », *Acta Neurol Belg*, t. 116, 3, p. 241-248, sept. 2016.
- [76] E. BEN-MENACHEM, « Vagus-nerve stimulation for the treatment of epilepsy », *The Lancet Neurology*, t. 1, 8, p. 477-482, 2002, ISSN : 1474-4422. DOI : [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(02\)00220-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(02)00220-X). adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S147444220200220X>.

- [77] L. ROUSSELET, V. LE ROLLE, D. OJEDA et al., « Influence of Vagus Nerve Stimulation parameters on chronotropism and inotropism in heart failure », *2014 36th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBC 2014*, t. 2014, p. 526-9, août 2014. DOI : 10.1109/EMBC.2014.6943644.
- [78] S. C. M. A. ORDELMAN, L. KORNET, R. CORNELUSSEN, H. P. J. BUSCHMAN et P. H. VELTINK, « Selectivity for Specific Cardiovascular Effects of Vagal Nerve Stimulation With a Multi-Contact Electrode Cuff », *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, t. 21, 1, p. 32-36, 2013. DOI : 10.1109/TNSRE.2012.2214058.
- [79] B. OLSHANSKY, H. N. SABBAH, P. J. HAUPTMAN et W. S. COLUCCI, « Parasympathetic Nervous System and Heart Failure : pathophysiology and potential implications for therapy », *Circulation*, t. 118, 8, p. 863-871, 2008. DOI : 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.760405. eprint : <https://www.ahajournals.org/doi/pdf/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.760405>. adresse : <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.760405>.
- [80] E. NALIVAICO, V. R. ANTUNES et J. F. PATON, « Control of cardiac contractility in the rat working heart-brainstem preparation », *Exp Physiol*, t. 95, 1, p. 107-119, jan. 2010.
- [81] H. U. KLEIN et G. M. FERRARI, « Vagus nerve stimulation : A new approach to reduce heart failure », *Cardiol J*, t. 17, 6, p. 638-644, 2010.
- [82] M. S. WANINGER, J. D. BOURLAND, L. A. GEDDES et al., « Electrophysiological control of ventricular rate during atrial fibrillation », *Pacing Clin Electrophysiol*, t. 23, 8, p. 1239-1244, août 2000.
- [83] Z. DONG, X. HUANG, J. FENG et L. ZHANG, « Dynamic model for control system design and simulation of a low temperature nuclear reactor », *Nuclear Engineering and Design*, t. 239, 10, p. 2141-2151, 2009, ISSN : 0029-5493. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.nucengdes.2009.05.006>. adresse : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0029549309002179>.
- [84] M. TOSATO, K. YOSHIDA, E. TOFT, V. NEKRASAS et J. J. STRUIJK, « Closed-loop control of the heart rate by electrical stimulation of the vagus nerve », *Med Biol Eng Comput*, t. 44, 3, p. 161-169, mars 2006.

- [85] H. M. R. UGALDE, D. OJEDA, V. LE ROLLE et al., « Model-Based Design and Experimental Validation of Control Modules for Neuromodulation Devices », *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, t. 63, 7, p. 1551-1558, 2016. DOI : 10.1109/TBME.2015.2498878.
- [86] P. RYVLIN, L. NASHEF, S. LHATOO et al., « Incidence and mechanisms of cardio-respiratory arrests in epilepsy monitoring units (MORTEMUS) : A retrospective study », English (US), *The Lancet Neurology*, t. 12, 10, p. 966-977, oct. 2013, ISSN : 1474-4422. DOI : 10.1016/S1474-4422(13)70214-X.
- [87] W. STACEY et B. LITT, « Technology Insight : neuroengineering and epilepsy—designing devices for seizure control », *Nature Clinical Practice Neurology*, t. 4, p. 190-201, 2008.
- [88] D. KHODAGHOLY, T. DOUBLET, P. QUILICHINI et al., « In vivo recordings of brain activity using organic transistors », *Nature communications*, t. 4, p. 1575, mars 2013. DOI : 10.1038/ncomms2573.
- [89] D. KHODAGHOLY, T. DOUBLET, M. GURFINKEL et al., « Highly Conformable Conducting Polymer Electrodes for In Vivo Recordings », *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, t. 23, H268-72, sept. 2011. DOI : 10.1002/adma.201102378.
- [90] A. WILLIAMSON, M. FERRO, P. LELEUX et al., « Localized Neuron Stimulation with Organic Electrochemical Transistors on Delaminating Depth Probes », *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, t. 27, juin 2015. DOI : 10.1002/adma.201500218.
- [91] A. JONSSON, S. INAL, L. UGUZ et al., « Bioelectronic neural pixel : Chemical stimulation and electrical sensing at the same site », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, t. 113, août 2016. DOI : 10.1073/pnas.1604231113.
- [92] J. RIVNAY, P. LELEUX, M. FERRO et al., « High-performance transistors for bioelectronics through tuning of channel thickness. », *Science Advances*, mai 2015. DOI : 10.17863/CAM.21507.
- [93] A. WILLIAMSON, J. RIVNAY, L. KERGOAT et al., « Controlling Epileptiform Activity with Organic Electronic Ion Pumps », *Advanced Materials*, t. 27, 20, p. 3138-3144, 2015. DOI : <https://doi.org/10.1002/adma.201500482>. eprint : <https://doi.org/10.1002/adma.201500482>.

[//onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/adma.201500482](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/adma.201500482). adresse :  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adma.201500482>.

- [94] D. KHODAGHOLY, J. GELINAS, T. THESEN et al., « NeuroGrid : Recording action potentials from the surface of the brain », *Nature neuroscience*, t. 18, déc. 2014. DOI : 10.1038/nn.3905.



# DÉTECTION DE BURSTS ET DÉBRUITAGE

---

## Résumé

Une neuromodulation efficace en boucle fermée repose sur l'acquisition de variables de contrôle physiologiques appropriées et la stimulation par un signal approprié. En particulier, les données d'électroneurogramme (ENG) acquises à partir d'un ensemble d'électrodes posées à la surface du nerf peuvent être utilisées comme variables potentielles de contrôle dans ce domaine. Dans ce contexte, il est nécessaire de proposer de nouvelles technologies d'électrodes et des méthodes de traitement de données. Dans ce chapitre, nous avons évalué une nouvelle technologie d'électrodes basée sur des électrodes organiques multicanaux (OE) et appliqué une chaîne de traitement du signal afin de détecter les bouffées respiratoires du nerf phrénique. Les ENG phréniques (pENG) ont été acquises à partir de préparations *in situ* de neuf rats Long Evans. Pour chaque préparation, une OE à 16 canaux a été posée autour de la surface du nerf phrénique et une électrode à succion a été posée à l'extrémité coupée du même nerf. La première électrode a fourni de nombreux signaux pENG d'études tandis que la dernière électrode enregistre la référence pour l'analyse des données. Les corrélations entre les signaux OE et ceux de la référence ont été estimées. Le rapport signal sur bruit (SNR) et les courbes ROC ont été construits pour quantifier les performances de détection des bouffées phréniques. Le score de corrélation a montré la capacité de l'OE à enregistrer des pENG de haute qualité. Nos méthodes ont permis une bonne détection des bouffées phréniques. Nous avons aussi montré que certaines associations de voies en configuration bipolaire permettent d'annuler le bruit et d'augmenter le SNR, cependant il s'agit d'une première approche de sélectivité spatiale à partir des multiples pENG enregistrés par la matrice OE. Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent qu'une électrode multicanaux hautement flexible et biocompatible peut représenter une alternative intéressante aux électrodes cuff métalliques pour effectuer la détection des bouffées nerveuses et/ou la neuromodulation en boucle fermée.

## 2.1 Introduction

La définition d'une neuromodulation en boucle fermée [95] nécessite la définition d'une variable de contrôle appropriée. Dans ce contexte, l'électroneurogramme (ENG), acquis à partir d'électrodes implantées, peut être une source d'information pertinente pour atteindre cet objectif [8]. Cependant, il est nécessaire de proposer de nouvelles technologies d'électrodes et des chaînes de traitement associées afin d'améliorer les étapes d'analyse et de traitement de l'ENG.

Deux types d'électrodes peuvent être utilisées pour la stimulation et/ou l'enregistrement des nerfs périphériques : 1) les électrodes extra-neurales en contact avec l'épinèvre, 2) les intraneurales également appelées électrodes intrafasciculaires [96]-[98]. Les électrodes extra-neurales sont plus couramment utilisées en pratique clinique [97], [99]. La conception des électrodes et les matériaux implantés sont très variables en fonction des besoins cliniques. Différentes méthodes d'implantation et de cuff peuvent être utilisées pour les électrodes extra-neurales, les plus couramment utilisées étant les électrodes cuff cylindrique et les électrodes cuff en spirale métallique [100]. En effet, ces dernières ont été utilisées pour enregistrer des données ENG à partir de petits nerfs, tel que le nerf phrénique [101]. Cependant, la conception, les matériaux et les méthodes d'implantation de ces électrodes doivent être améliorés. Les principaux points d'amélioration sont leur ajustement à la morphologie du nerf, la rigidité de l'électrode, la difficulté d'installation, la perte de contact avec le nerf et/ou les dommages causés par la compression nerveuse. [102]-[105]. Il existe également un besoin d'améliorer la résolution spatiale des interfaces nerveuses périphériques [106]. Il y a quelques travaux concernant la stimulation sélective notamment de la stimulation utilisant de grandes électrodes cuff multicontact métalliques adaptée au tronc du nerf hypoglosse du chien [107].

D'autre part, les polymères conjugués offrent de nombreux avantages par rapport aux électrodes métalliques en terme de conformité et de biocompatibilité ainsi que de sélectivité et de sensibilité. Dopé au polystyrène sulfonate (PSS), le PEDOT :PSS a une conductivité, une stabilité chimique et une biocompatibilité [89] grandement améliorées. Le PEDOT :PSS s'est avéré être un matériau de choix pour les dispositifs bio électroniques à base de polymère. Le polymère a été utilisé sur diverses lignées cellulaires en culture tout en préservant leur capacité de survie [108]. Il a également été utilisé pour enregistrer et stimuler des zones du cortex [89], [93] ainsi que les nerfs périphériques [109], [110]. Enfin, le matériau du substrat de cette électrode est du parylène C, un polymère connu pour sa

flexibilité [111], [112], et sa biocompatibilité en implantation aiguë et chronique. Un autre avantage du parylène C est sa réaction inflammatoire minimale par rapport au PDMS, un autre biocompatible polymère utilisé dans les électrodes chroniques implantables [113]. À notre connaissance, les électrodes organiques (OE) multicontacts en PEDOT :PSS n'ont pas été utilisées pour enregistrer des signaux à partir de petits nerfs, bien que cette technologie puisse présenter plusieurs avantages par rapport aux électrodes métalliques, comme cela a été discuté. Dans ce chapitre, nous choisissons d'enregistrer à partir du nerf phrénique (PHR) qui joue un rôle crucial dans la respiration. Les objectifs de notre étude étaient (1) d'enregistrer les signaux pENG à l'aide d'une OE à 16 canaux adapté au nerf PHR, (2) d'analyser la détection de bouffées PHR, et (3) d'analyser les performances de l'OE par rapport à une électrode à succion (SE) utilisée comme référence en configuration monopolaire et bipolaire.

Ce chapitre est organisé comme suit : La section 2.2 détaille la description du protocole expérimental et des méthodes de traitement et de comparaison des données. Les résultats sur tous les ensembles de données et un exemple représentatif sont présentés dans la section 2.3. Une discussion sur les principaux résultats et les limites de l'étude est présentée dans la section 2.4.

## 2.2 Méthodes

### 2.2.1 Préparation *in situ*

Les expérimentations animales *in situ* ont été effectuées par Victor Bergé Laval, docteur, sous la tutelle de Christian Gestreau, maître de conférences, (Aix-Marseille Université, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée (INMED), INSERM U1249, Marseille, France). Toutes les expériences ont été réalisées sur des rats Long Evans ( $n= 9$ , P17-25, poids corporel 50–110 g) des deux sexes, le système cardio cérébral fonctionnant par perfusion artérielle ou en utilisant une préparation *in situ*, comme décrit précédemment [114], [115]. Cette préparation permet au tronc cérébral d'être bien oxygéné, de maintenir un pH sanguin normal et d'aboutir à un schéma eupnéique physiologique d'activité motrice respiratoire [116]. Les rats ont été anesthésiés avec de l'isoflurane (1-chloro-2,2,2-trifluoroéthyl-difluorométhyléther ; Baxter). Chaque animal a été sectionné sous le diaphragme et décérébré au niveau précolliculaire une fois que la respiration ait été stoppée et que l'animal n'a pas répondu au pincement réflexe de la queue ou de l'orteil. Après

transfert dans une zone glacée (5°C) et équilibrée avec 95% O<sub>2</sub> et 5% CO<sub>2</sub> aCSF (composition ci-dessous), la peau et les poumons ont été prélevés. Le cervelet a également été enlevé. Le PHR de gauche a été préparé pour l'enregistrement (voir Figure 2.1). Après ces procédures initiales, la préparation a été transférée dans une chambre d'enregistrement sur mesure. L'aorte descendante a été canulée et perfusée avec du aCSF chauffé et gazé au carbogène (33 °C) à l'aide d'une pompe péristaltique (Watson-Marlow) via un cathéter à double lumière connecté à la canule de perfusion aortique et à un tensiomètre (WPI, USA) à un débit de 24–32 mL/min. Le aCSF est composé de (en mM) 125 NaCl, 3 KCl, 1,25 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2,5 CaCl<sub>2</sub>, 1,25 MgSO<sub>4</sub>, 25 NaHCO<sub>3</sub>, et 10 D-glucose (1.25% Ficoll), maintenus à 7.35 pH par gazage avec un 90% O<sub>2</sub> et 5% CO<sub>2</sub> carbogène. Filtré et passé à travers des pièges à bulles, le perfusat a été récupéré après fuite de la préparation et remis en circulation après sa réoxygénation. L'activité cardiaque a repris en quelques secondes et les contractions rythmiques des muscles respiratoires sont revenues 2 à 5 min après le début de la perfusion. Les mouvements respiratoires ont été stoppés en utilisant 250 μL de bromure de vécuronium (3–30 μg/mL ; Organon) dissous dans du aCSF pour éviter les artefacts liés à l'activité musculaire, mais cela n'affecte pas l'activité centrale du réseau respiratoire enregistrée sur les nerfs. Le débit de perfusion a ensuite été ajusté pour obtenir un schéma respiratoire triphasé identifiable, qui a été évalué par l'enregistrement du nerf phrénique, vague et hypoglosse (non représenté), innervant respectivement le diaphragme, le larynx et la langue, attestant de l'état du réseau respiratoire (i.e. Inspiration, expiration précoce et expiration tardive).

### 2.2.2 Électrode organique pour l'enregistrement ENG

Le design des électrodes organiques a été fait par l'équipe de Christophe Bernard, directeur de recherche de l'Institut de Neurosciences des Systèmes de Marseille et fabriqué par David Moreau, maître assistant aux Mines Saint-Etienne. La grille d'enregistrement est composée de 16 (4 × 4) OE avec une taille de 20 μm × 20 μm. Chaque OE sera noté ici  $C_{i,j}$  (ligne  $i$  colonne  $j$ , comme montré sur la figure 2.2). Les sites d'enregistrement de l'OE sont disposés dans des rectangles de 200 μm × 100 μm. L'OE a été connecté à l'instrument d'enregistrement avec un connecteur à force d'insertion nulle (ZIF) avec un pas de 250 μm. L'appareil a une bande à l'extrémité et un trou de 600 μm × 550 μm à environ 2 mm du centre de la grille. La grille est enroulée autour du PHR et verrouillée en faisant glisser la bande à l'intérieur du trou. Le processus de fabrication de la grille OE a été décrit précédemment [88], [117]. Une couche de parylène (PaC) épaisse de 3 μm (SCS

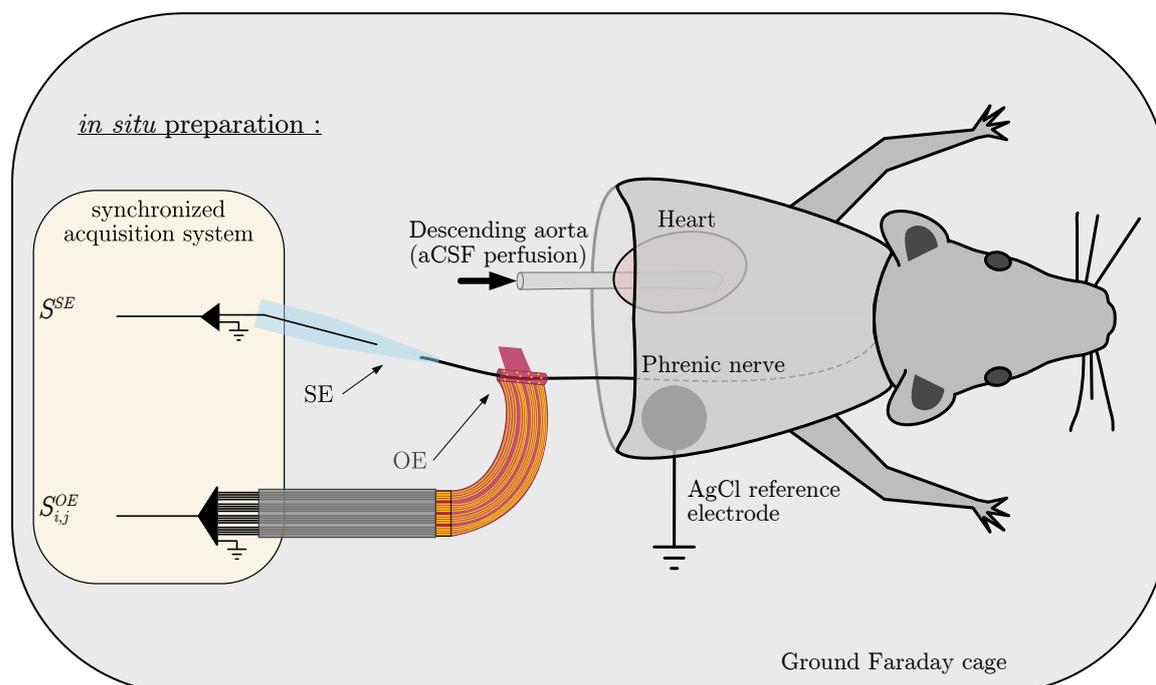


FIGURE 2.1 – Représentation schématique de la préparation *in situ*. La perfusion a été appliquée à travers l'aorte descendante en utilisant un liquide céphalorachidien artificiel réchauffé (31 °C) équilibré en carbogène. Une pompe à débit réglable a été utilisée pour contrôler la pression de perfusion et assurer une oxygénation adéquate du tronc cérébral. Les fonctions cardiorespiratoires reprennent 5 à 10 minutes après la re-perfusion, et la préparation génère un schéma de respiration eupnéique. Des enregistrements en série de la décharge du nerf phrénique ont été réalisés avec SE attachée à l'extrémité coupée et OE attachée au tronc nerveux principal. Tous les signaux ont été acquis de manière synchrone avec le même système d'acquisition.

Labcoater 2) est déposée sur une lame de verre propre. Ensuite, les électrodes métalliques, les interconnexions et les plages de contact sont modelées par photolithographie (SUSS MJB4 Contact Aligner). Tout d'abord, la résine photosensible négative AZnLOF2070 est modelée au-dessus du PaC. Ensuite, une couche de chrome d'environ 10 nm d'épaisseur (pour une meilleure adhérence de l'or) et une couche d'or de 100 nm d'épaisseur sont déposées par évaporation thermique (Suss Microtec, MJB4 Mask Aligner). Enfin, le motif métallique est obtenu en décollant la résine dans l'acétone. Une seconde couche de 3  $\mu\text{m}$  PaC est déposée pour servir d'isolant. Ensuite, le contour du dispositif est modelé par photolithographie à l'aide de la résine photosensible positive AZ9260, suivie d'une gravure ionique réactive des deux couches de PaC avec un plasma d'oxygène (Oxford,

Plasmalab 80 Plus). Une couche sacrificielle de PaC 3  $\mu\text{m}$  épaisse est déposée et des ouvertures dans le PaC sont modelées, au-dessus des électrodes et des plots de contact, par photolithographie à l'aide d'AZ9260 puis gravées par gravure ionique réactive avec le plasma d'oxygène. Un mélange de PEDOT : PSS (Heraeus Clevions PH1000), d'éthylène glycol, d'acide dodécylbenzène sulfonique et de 3-glycidoxypropyltriméthoxysilane est ensuite déposé par centrifugation et cuit à 110 °C pendant 1 min. La couche sacrificielle est décollée, laissant PEDOT : PSS uniquement au-dessus des OE et des plots de contact. Ensuite, le PEDOT :PSS est cuit dur à 140 °C pendant 1 h. Enfin, le dispositif est mis dans l'eau et se décolle de la lame de verre pour obtenir le dispositif souple.

### 2.2.3 Impédance électrochimique Spectroscopie

Les mesures de spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) ont été effectuées dans une solution PBS, avec un Autolab PGSTAT128N. PEDOT : des électrodes revêtues de PSS ont été utilisées comme électrodes de travail et une électrode Ag/AgCl comme contre-électrode. Une tension sinusoïdale d'environ 10 mV a été appliquée à une fréquence allant de 10 à 100 000 Hz (Figure 2.3).

### 2.2.4 Enregistrement du nerf

Dans chaque expérience, le PHR gauche et les nerfs vague et hypoglosse droits ont été disséqués et coupés pour enregistrer l'activité motrice respiratoire à l'aide d'électrodes de succion en verre (référence). La SE a été fabriquée à partir de tubes capillaires en verre borosilicaté (OD 1,5 mm, WPI), tirés avec un tire pipette vertical (modèle 720, KOPF). La pointe de l'électrode a été sectionnée à un diamètre adapté au nerf enregistré (200  $\mu\text{m}$  pour le PHR) et enfilée à une sonde en argent et remplie de liquide conducteur (aCSF). L'électrode était attachée à un support étanche avec un trou latéral relié à une seringue, avec laquelle le nerf était aspiré dans l'électrode, formant un milieu isolé à l'intérieur. Une fois dans l'électrode, le nerf a été connecté à la sonde d'argent en raison du liquide conducteur. Ensuite, la matrice d'électrodes organiques a été posée, entourant le tronc du nerf phrénique gauche. Les signaux ont été amplifiés et filtrés (gain 0,5–10 K ; BP 0,3–3 KHz), numérisés (12 KHz, 16 bits ; Tucker-Davis Technologies, Alachua, FL, USA) et exportés à l'aide du logiciel OpenEx (Trieur hors ligne et NeuroExplorer ; Plexon Inc., Dallas, TX, États-Unis). Le signal de la référence SE pENG sera noté dans ce travail comme  $S^{SE}$  et ceux de chaque canal OE  $C_{i,j}$  sont nommé  $S_{i,j}^{OE}$ .

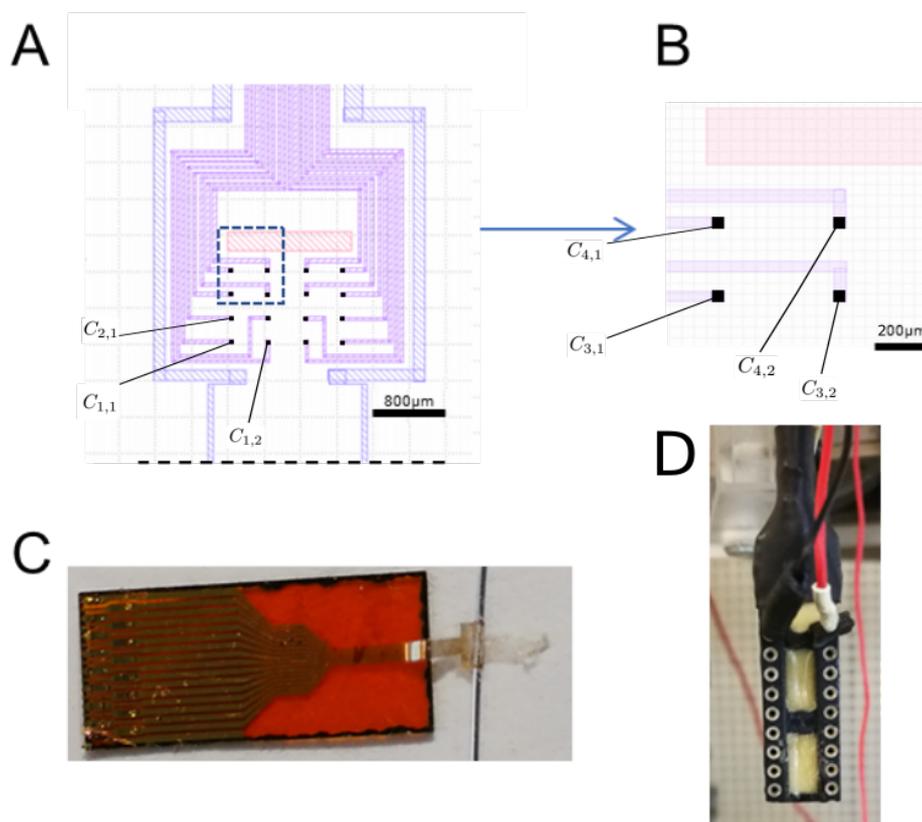


FIGURE 2.2 – Représentation OE. (A) Vue schématique des 16 ( $4 \times 4$ ) sites d’enregistrement avec des fils d’or en violet ; les limites du PaC sont en bleues ; la fente pour insérer la langue (panneau supérieur) est en rouge et les sites d’enregistrement en violet foncé. La languette PaC de l’électrode organique n’est pas entièrement représentée ici (ligne pointillée) et mesure 4,4 mm de long. (B) Vue agrandie du carré pointillé bleu en A représentant 4 sites d’enregistrement or/PEDOT :PSS  $20 \times 20 \mu\text{m}$ . Une notation matricielle de la forme  $C_{i,j}$  est utilisée ici pour identifier un canal individuel donné dans la ligne  $i$  et la colonne  $j$ . Le nerf se trouve le long de l’axe horizontal sur les deux figures du haut. (C) Image complète de l’électrode organique montée sur une couche de kapton, avec les sites d’enregistrement enroulés autour d’un fil  $350 \text{ } \emptyset \mu\text{m}$ . (D) La référence est une électrode Ag/Cl connectée au fil noir disposé sous la cage thoracique de l’animal et le fil rouge (la masse) est connecté à une cage de Faraday.

### 2.2.5 Traitement des données

Une chaîne de traitement de données a été proposée pour comparer la détection des bouffées phréniques obtenues à partir de  $S^{SE}$  (référence) avec chaque  $S_{i,j}^{OE}$ . La méthode proposée (Figure 2.4) inclut la réduction du bruit, la détection d’enveloppe et l’extraction d’indicateurs de comparaison (courbes de corrélation et ROC). Chaque étape de

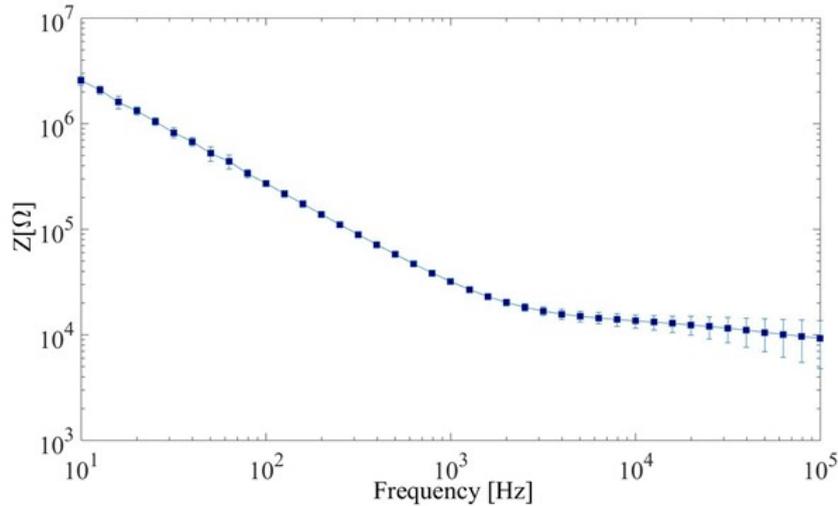


FIGURE 2.3 – Spectre d’impédance électrochimique des électrodes enrobées PEDOT :PSS. Dix électrodes ont été utilisées pour ces mesures.

l’approche développée est détaillée dans les sous-sections suivantes.

### Réduction de bruit et détection de l’enveloppe

Tous les signaux acquis ( $S_{i,j}^{OE}$  et  $S^{SE}$ ) ont été filtrés passe bande dans l’intervalle 300-3000 Hz en utilisant un filtre Butterworth du 4ème ordre [8]. Lorsque des artefacts ECG sont présents (avec une énergie suffisamment élevée pour perturber la détection des bouffées phréniques), des filtres morphologiques, basés sur des opérations d’érosion et de dilatation (similaires aux opérations en traitement d’image), ont été appliqués sur une fenêtre mobile de 20 échantillons afin de réduire le bruit sans perturber la qualité initiale du signal en éliminant les artefacts ECG aux dynamiques très rapides [118]. Ensuite, un filtre Savitzky-Golay a été appliqué pour lisser le signal sans distorsion et les enveloppes des signaux ont été obtenues avec une transformée de Hilbert. Enfin, les enveloppes ont été lissées à l’aide d’un filtre passe-bas Butterworth de 4e ordre à 20 Hz. Les enveloppes de signal résultantes ( $E_{i,j}^{OE}$  et  $E^{SE}$ ) ont été utilisées pour extraire les indicateurs de performance (voir Figure 2.4).

### Indicateurs de performance

Afin d’étudier les relations entre les signaux OE et SE, deux indicateurs ont été utilisés : 1) les coefficients de corrélation entre  $E_{i,j}^{OE}$  et  $E^{SE}$ , 2) l’aire sous la courbe (AUC) extraite de la courbe des caractéristiques de fonctionnement du récepteur (ROC), produit pour

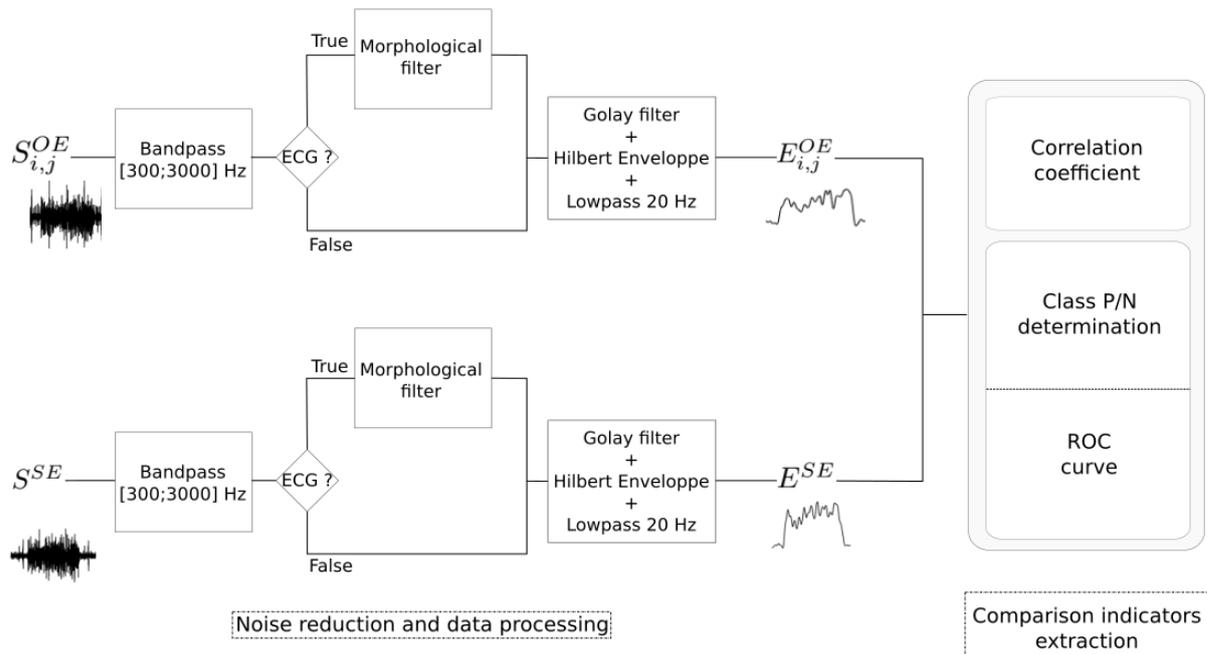


FIGURE 2.4 – Description du traitement des données et de l'extraction de caractéristiques appliqués aux signaux OE et SE. Tous les canaux disponibles de l'OE sont traités. Chaque canal est comparé au signal SE filtré, utilisé comme modèle, afin d'estimer les performances.

estimer la capacité des OE à détecter des bouffées spontanées en utilisant le signal SE comme référence, et 3) le rapport signal sur bruit des différentes voies.

1) Coefficient de corrélation : Le coefficient de corrélation de Pearson ( $\rho_{i,j}$ ) a été calculé pour mesurer le degré auquel les signaux  $E_{i,j}^{OE}$  et  $E^{SE}$  sont linéairement liés :

$$\rho_{i,j} = \frac{cov(E_{i,j}^{OE}, E^{SE})}{\sigma_{i,j}^{OE} \cdot \sigma^{SE}} \quad (2.1)$$

où  $cov$  est la covariance et  $\sigma_i^{OE}$  et  $\sigma^{SE}$  sont, respectivement, l'écart type des signaux  $E_{i,j}^{OE}$  et  $E^{SE}$ .

2) Courbes ROC et AUC : Les courbes ROC ont été utilisées pour analyser les performances d'un simple seuil, appliqué sur  $E_{i,j}^{OE}$ , pour détecter les bouffées phréniques. Les classes de référence ont été extraites de  $E^{SE}$  en appliquant un seuil  $K$  fixé manuellement, puis ajusté en minimisant le nombre de bouffées détectées. Les classes positives (P) et négatives (N) ont été définies comme des ensembles d'échantillons appartenant (P) ou

non (N) à une bouffée (Figure 2.5). Concernant les courbes ROC construites à partir des signaux OE, 200 points ont été tracés pour des valeurs seuils discriminantes,  $\lambda$ , variant de 0 à M valeur maximale du signal. Nous définissons des classes de prédiction à partir de ces seuils discriminants : condition prédite positive (Vrai ou T) pour tous les échantillons supérieurs à  $\lambda$  et condition prédite négative (Faux ou F) pour les échantillons inférieurs :

$$TP = (P) \cap (T); \quad TN = (N) \cap (F) \quad (2.2)$$

$$FP = (N) \cap (T); \quad FN = (P) \cap (F) \quad (2.3)$$

La courbe ROC montre le taux de vrai positif, ou probabilité de détection  $P_d(\lambda)$ , contre le taux de faux positif, ou probabilité de fausse alarme  $P_{fa}(\lambda)$ , pour un seuil variable et caractérise le comportement du détecteur de bouffée phrénique :

$$P_d(\lambda) = \frac{TP}{TP + FN} \quad (2.4)$$

$$P_{fa}(\lambda) = \frac{FP}{TN + FP} \quad (2.5)$$

Enfin, l'aire sous la courbe (AUC) est extraite de la courbe ROC afin d'évaluer les performances de détection. La valeur AUC se situe entre 0,5 et 1, où 0,5 désigne un mauvais détecteur et 1 correspond à un détecteur idéal. Toutes les analyses ont été effectuées en utilisant le logiciel disponible dans le commerce MatLab (Mathworks Inc., MI, USA).

3) Rapport signal/bruit : Pour tous les ensembles de données, le SNR a été calculé comme le rapport entre l'amplitude de la valeur absolue moyenne (MAV) des signaux ENG enregistrés pendant la période des bouffées et en dehors de la période des bouffées, sur la base du classificateur P/N défini dans la partie *Courbes ROC et AUC*, comme réalisées dans[119] :

$$MAV = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |x| \quad (2.6)$$

$$SNR = 20 \log_{10} \frac{\text{mean}(MAV(ENG_P))}{\text{mean}(MAV(ENG_N))} \quad (2.7)$$

où  $ENG_P$  est le signal ENG pendant la période des bouffées et  $ENG_N$  à l'extérieur.

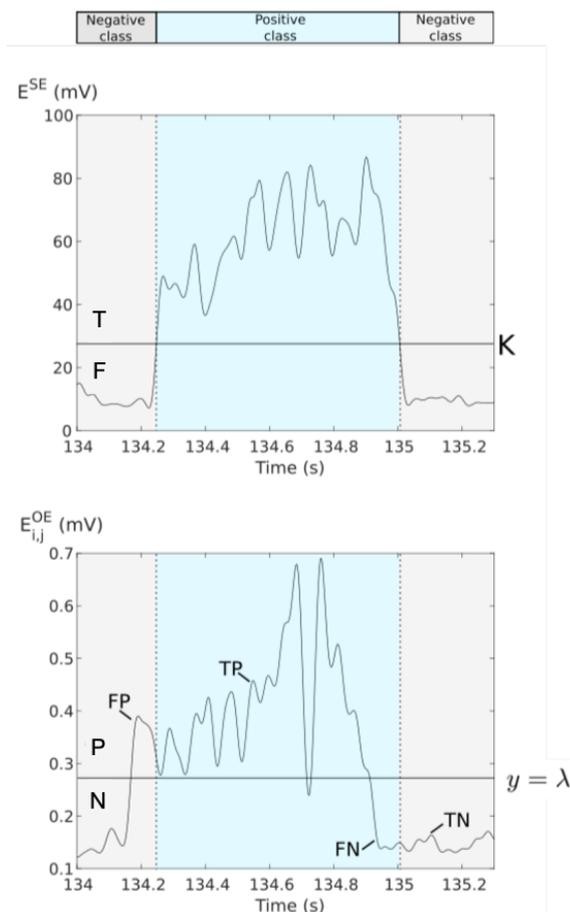


FIGURE 2.5 – Détermination du classificateur. Le signal SE est utilisé comme référence pour créer notre classificateur. La classe "True" (T) est définie comme "tous les points au-dessus du seuil" et la classe "False" (F) l'inverse. La même définition est appliquée au signal OE pour la classe positive (P) et la classe négative (N) avec le seuil défini comme  $y = \lambda$ . On définit Vrai positif (TP) tous les échantillons appartenant à (P) et (T), Vrai Négatif (TN) ceux appartenant à (N) et (F), Faux Positif (FP) à (N) et (T) et Faux Négatif (FN) à (P) et (F).

## 2.2.6 Simulation de bipoles à partir des voies OE

A partir des signaux de l'OE, une simulation de dipôles a été effectuée. On applique une analyse en composantes principales (ACP) sur nos 16 voies OE pour déterminer la combinaison linéaire de voies qui maximise la variance associée à l'activité phrénique<sup>1</sup>.

1. Pour compléter l'analyse, des méthodes de séparation de sources classiques ont été utilisées à la place de l'ACP pour déterminer d'autres combinaisons linéaires susceptibles d'améliorer nos résultats. Néanmoins, les résultats n'ont pas été satisfaisants ils ne seront donc pas présentés.

Notons  $S$  la matrice ( $16 \times N$ ) des signaux OE centrés où  $N$  est la taille d'un signal OE et  $W$  la matrice de blanchiment issue de l'ACP de  $S$  et  $Z=W*S$ . Le vecteur propre qui maximise l'activité phrénique est noté  $W^{ACP}$  tel que :

$$W^{ACP} = \{W(k)/\forall i \in [1, 16], SNR(Z(i)) \leq SNR(Z(k))\} \quad (2.8)$$

Ce vecteur  $W^{ACP}$  est l'axe principal de l'activité phrénique à la sortie de l'ACP. A partir de ce vecteur nous pouvons simuler  $\sum_{i=1}^{15} i = 120$  bipolaires en combinaison linéaire de deux OE. Les bipolaires sont simulées de la façon suivante :

$$S_K^{bip} = \{W^{ACP}(I)S_{i,j}^{OE} + W^{ACP}(J)S_{i',j'}^{OE} / I = 4(i-1)+j, J = 4(i'-1)+j', K = (j-i)+16(i-1) + \sum_{k=0}^{i-1} k\} \quad (2.9)$$

avec  $i \in [1, 4], j \in [1, 4]$  et  $I < J$ . Les indices  $I, J$  et  $K$  permettent de simuler les bipolaires sans doublons et en excluant les configurations monopolaires. Une fois les 120 dipôles simulés, on applique sur chacun d'entre eux la même chaîne de traitement que précédemment puis on extrait les indicateurs de performances définies en amont afin de comparer les résultats en bipolaire par rapport à une configuration monopolaire.

### 2.2.7 Test statistique

Un test unilatéral à gauche de somme des rangs de Wilcoxon entre chaque indicateur de chaque configuration est utilisé pour estimer si la modification des résultats sur les paramètres est significative (basé sur la p-value annotée  $p$ ) avec un niveau de significativité  $\alpha = 0,1$ .

## 2.3 Résultats

Cette section présente : 1) les résultats de l'analyse en configuration monopolaire sur l'ensemble du jeu de données avec l'exemple détaillé d'un jeu de données qui a été choisi puisque les 16 voies OE ont été utilisées, 2) les résultats de l'analyse en configuration bipolaire sur le jeu de données exemple précédent, 3) les résultats de l'analyse en configuration tripolaire sur le jeu de données exemple précédent, l'analyse sur les autres jeux n'a pas été faite puisque les correspondances voies d'enregistrements/voies OE ne sont pas connues.

### 2.3.1 Analyse en configuration monopolaire.

#### Exemple de traitement et analyse de données

La figure 2.6 montre les signaux bruts ( $S^{SE}$ ,  $S_{i,j}^{OE}$ ) et leurs enveloppes ( $E^{SE}$ ,  $E_{i,j}^{OE}$ ) d'un jeu de données. Les bouffées phréniques étaient clairement visibles à partir du signal de l'électrode de succion (SE). Leur durée était de  $\sim 0,5$  s, et la fréquence respiratoire était d'environ 33 respirations par minute, conformément à la littérature[116]. Sur la plupart des sites OE des bouffées phréniques sont visibles. Le tableau 2.1 donne le SNR pour chaque site d'enregistrement de l'OE et du SE. Comme prévu, le SNR le plus élevé a été mesuré à partir du SE (11 dB avant et environ 15 dB après le traitement des données). Le SNR des sites d'enregistrement OE varie de 0,36 à 6,78 dB avant traitement et de 0,63 à 8,87 dB après traitement. Le SNR moyen ( $\pm$ SD) après traitement des données est de  $5,51 \pm 3,61$  dB. A noter, les artefacts ECG visibles sur certains canaux (voir, par exemple,  $S_{1,1}^{OE}$ ,  $S_{1,3}^{OE}$ , et  $S_{4,2}^{OE}$  dans Figure 2.6) ont été supprimés après le traitement des données. Les coefficients de corrélation entre tous les signaux ont été calculés à partir de l'ensemble du jeu de données. La figure 2.7A montre la carte de corrélation de l'exemple de jeu de données. La dernière rangée représente les coefficients de corrélation de chaque canal OE avec la SE dont les valeurs sont indiquées dans le tableau 2.1. Le coefficient de corrélation moyen ( $\pm$ SD) après traitement des données était de  $0,83 \pm 0,19$  (plage de 0,39 à 0,93). Cependant, 3 des 16 canaux avaient de faibles valeurs de coefficient de corrélation ( $< 0,6$ ). La figure 2.7B présente la probabilité de détection des bouffées phréniques enregistrées par les 16 sites OE (courbes ROC obtenues en comparant les signaux OE avec le signal SE). L'AUC moyenne de de détection des bouffées PHR ( $\pm$ SD) après traitement des données était de  $0,94 \pm 0,07$  (plage de 0,77 à 0,99) (tableau 2.1). Douze des 16 canaux avaient une AUC supérieure à 0,9.

#### Résultats globaux

L'EIS mesuré calculé à partir de 10 électrodes était de  $31\,668 \pm 1866 \Omega$  (moyenne  $\pm$  SD) à 1 kHz. Le tableau 2.4 représente les résultats moyens obtenus à partir de 9 rats. Les corrélations  $\rho(i, j)$  étaient comprises entre 0,047 et 0,997, et la valeur moyenne est de  $0,736 \pm 0,135$ . Les valeurs minimales et maximales de l'ASC étaient respectivement de 0,63 et 0,99. Les valeurs moyennes de l'AUC ( $\pm$  SD) étaient  $0,900 \pm 0,091$ . Dans chaque jeu de données, au moins un canal a montré un coefficient de corrélation supérieur à 0,7, et au moins une AUC était supérieure à 0,9.

TABLEAU 2.1 – Résultats de la détection des bouffées phréniques proposée sur l'ensemble du jeu de données après les étapes de filtrage et de suppression de l'ECG. Les deuxième et sixième lignes sont le coefficient de corrélation entre le signal OE et le signal SE pour chaque voie, les résultats AUC sont donnés sur les troisième et septième lignes utilisant le signal SE comme référence, et les quatrième et huitième lignes sont le SNR en dB.

Voies	1,1	1,2	1,3	1,4	2,1	2,2	2,3	2,4
Correlation	0.934	0.391	0.933	0.768	0.439	0.927	0.932	0.933
AUC	0.994	0.708	0.994	0.929	0.734	0.992	0.994	0.993
SNR (dB)	8.705	0.678	8.574	2.278	0.745	7.188	8.396	8.758
3,1	3,2	3,3	3,4	4,1	4,2	4,3	4,4	Mean $\pm$ STD
0.934	0.934	0.933	0.821	0.686	0.935	0.523	0.748	$0.798 \pm 0.191$
0.994	0.994	0.994	0.958	0.879	0.994	0.783	0.918	$0.925 \pm 0.072$
8.811	8.701	8.861	2.974	1.611	8.874	0.980	2.063	$5.510 \pm 3.61$

TABLEAU 2.2 – Performance globale de la détection des ondes phréniques proposée. La colonne 2 indique le nombre de canaux utilisés pour l'enregistrement ; Les colonnes 3 à 5 et les colonnes 6 à 8 montrent, respectivement, les performances de corrélation et les performances AUC. La dernière ligne montre la moyenne globale de chaque marqueur.

Rat	Voies	Corr.			AUC		
		Moy.	Intervalle	STD	Moy.	Intervalle	STD
1	16	0.798	[0.391;0.935]	0.191	0.925	[0.708;0.994]	0.072
2	3	0.872	[0.858;0.879]	0.012	0.998	[0.998;0.999]	$5.8 \times 10^{-4}$
3	8	0.661	[0.047;0.997]	0.175	0.860	[0.557;0.967]	0.3553
4	8	0.398	[0.097;0.960]	0.275	0.816	[0.628;0.999]	0.1207
5	8	0.656	[0.166;0.940]	0.297	0.908	[0.648;0.999]	0.1600
6	8	0.549	[0.451;0.945]	0.169	0.825	[0.758;0.999]	0.0769
7	16	0.582	[0.505;0.702]	0.052	0.867	[0.819;0.943]	0.0337
8	8	0.954	[0.915;0.995]	0.042	0.999	[0.996;1]	$1.75 \times 10^{-4}$
9	3	0.972	[0.969;0.973]	0.003	0.999	[0.998;0.998]	$8.55 \times 10^{-5}$
Mean		0.736	[0.610;0.923]	0.135	0.900	[0.852;0.989]	0.091

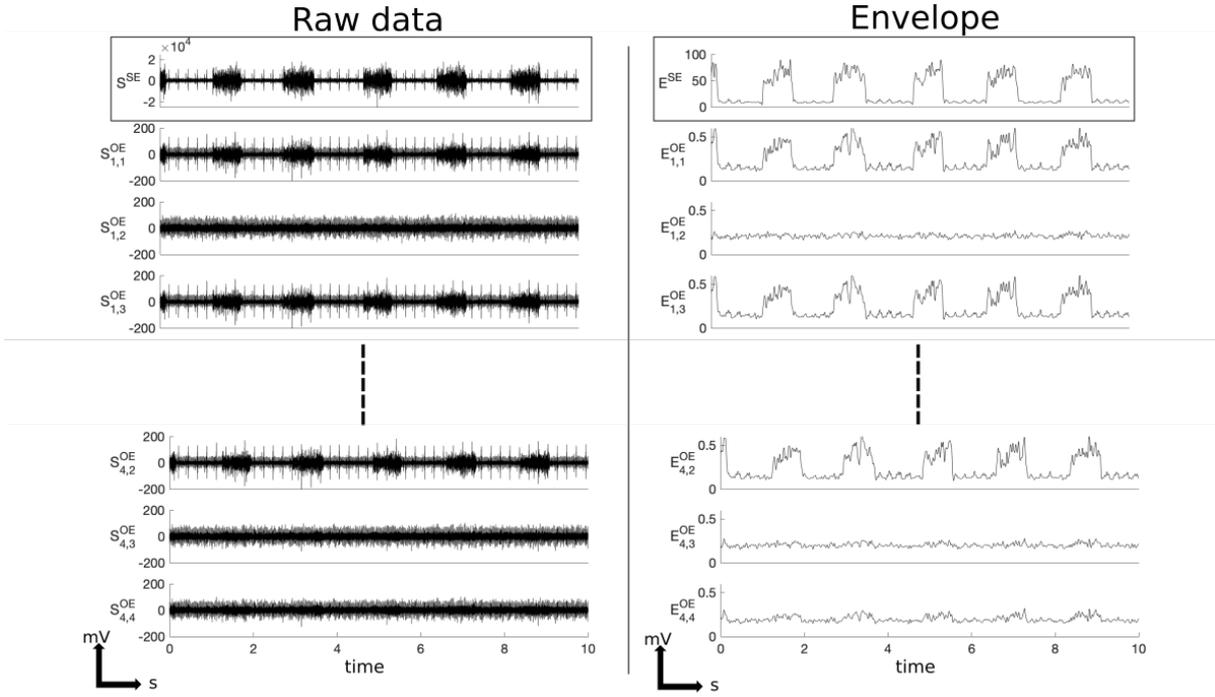


FIGURE 2.6 – **Gauche** : Données brutes d’un exemple représentatif de l’ensemble de données acquis. **Droite** : Sortie de l’étape de traitement des données, montrant l’enveloppe d’un signal débruité. **Panneau supérieur** : signal phrénique fourni par l’électrode de succion de référence avec des bouffées phréniques typiques et des artefacts d’électrocardiogramme et le signal filtré phrénique fourni par l’électrode SE. **Panneaux du bas** : signal phrénique obtenu à partir de l’électrode OE. Cet exemple souligne les propriétés hétérogènes de ces différents enregistrements et les types de bruit typiquement observés dans cette configuration.

### 2.3.2 Analyse en configuration bipolaire.

A partir de l’ACP de la matrice globale des voies OE on peut extraire les signaux blanchis (voir Figure 2.8) sur lesquels le SNR est calculé avec la définition donnée en 2.2 pour déterminer lequel de ses signaux maximise l’activité phrénique vis-à-vis de l’ES. Le calcul donne pour la voie 9 le SNR maximal de 5.65 dB.  $W^{ACP}$  est donc défini par le 9<sup>ème</sup> vecteur de la matrice de blanchiment  $W$ . Une fois  $W^{ACP}$  déterminé les bipolaires sont simulées, filtrées puis les indicateurs de performance sont calculés. Un exemple de bipolaire simulée est donné en figure 2.9. Il s’agit de la bipolaire formée par  $S_{1,1}^{OE}$  et  $S_{3,4}^{OE}$ . On observe visuellement un bon résultat de simulation avec des bouffées phréniques visibles et similaires à celles enregistrées par l’ES. Le SNR de la voie simulée est de 6.85dB avant filtrage et de 10.17dB après filtrage. En comparant aux résultats obtenus pour les configurations

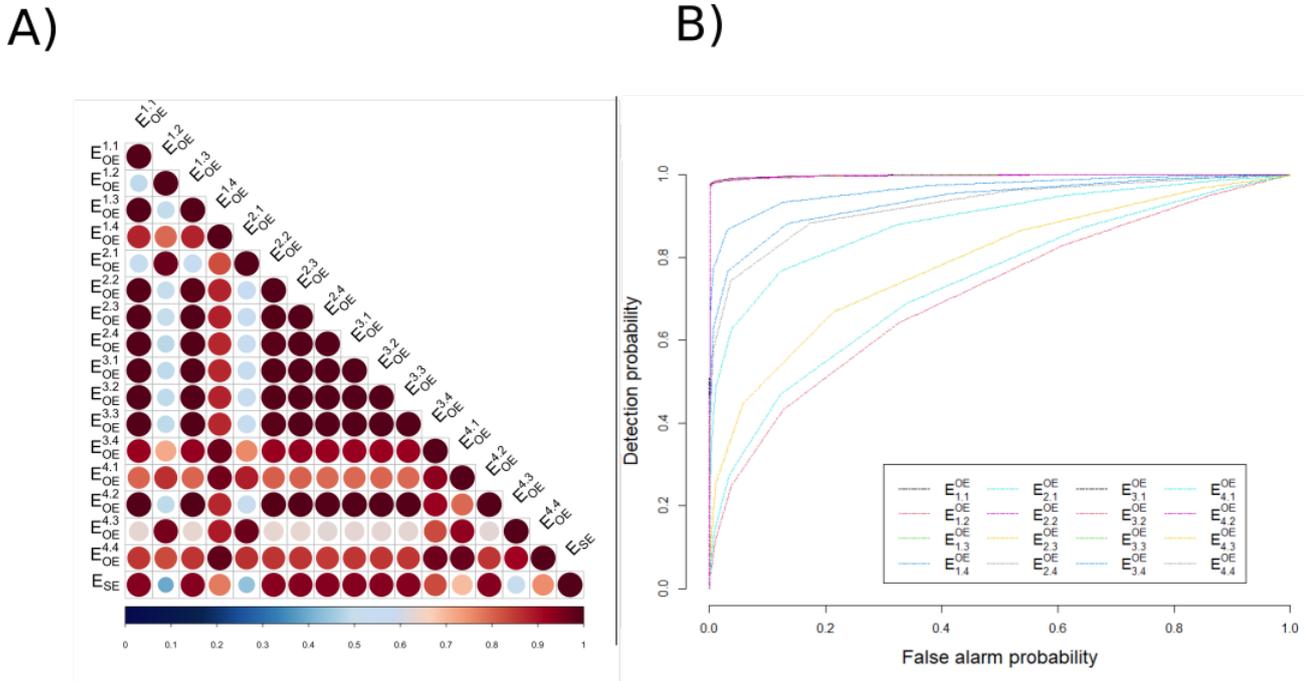


FIGURE 2.7 – (A) Carte de corrélation entre le signal fourni par la référence SE et OE. (B) Courbe ROC illustrant la détection des ondes phréniques basée sur un seuil constant sur le signal de l'électrode SE. Ces scores reflètent les scores de corrélation. Plus la corrélation est faible, plus l'AUC est faible.

monopolaires le SNR est supérieur avant et après filtrage au maximum de la meilleure voie OE. Concernant les résultats de corrélation, on obtient un coefficient de 0.94 et pour l'AUC de la courbe ROC 0.99. Les résultats de la globalité des configurations bipolaires sont donnés dans le tableau 2.3. Le SNR moyen ( $\pm$ SD) de l'intégralité des configurations était de  $6.64 \pm 2,22$  dB avec un maximum à 10.18dB. Le coefficient de corrélation moyen ( $\pm$ SD) après traitement était de  $0.84 \pm 0,19$  et l'AUC moyenne de détection des bouffées phréniques ( $\pm$ SD) de  $0,95 \pm 0,1$ . Par rapport à la configuration monopolaire, les résultats de la configuration bipolaire ont montré une augmentation significative du SNR post-filtré ( $p=0,077$ ), de la corrélation ( $p=0,003$ ) et des AUC ( $p=1,30.10^{-4}$ ), tandis que l'augmentation du SNR avant filtrage n'était pas significative ( $p = 0,19$ ).

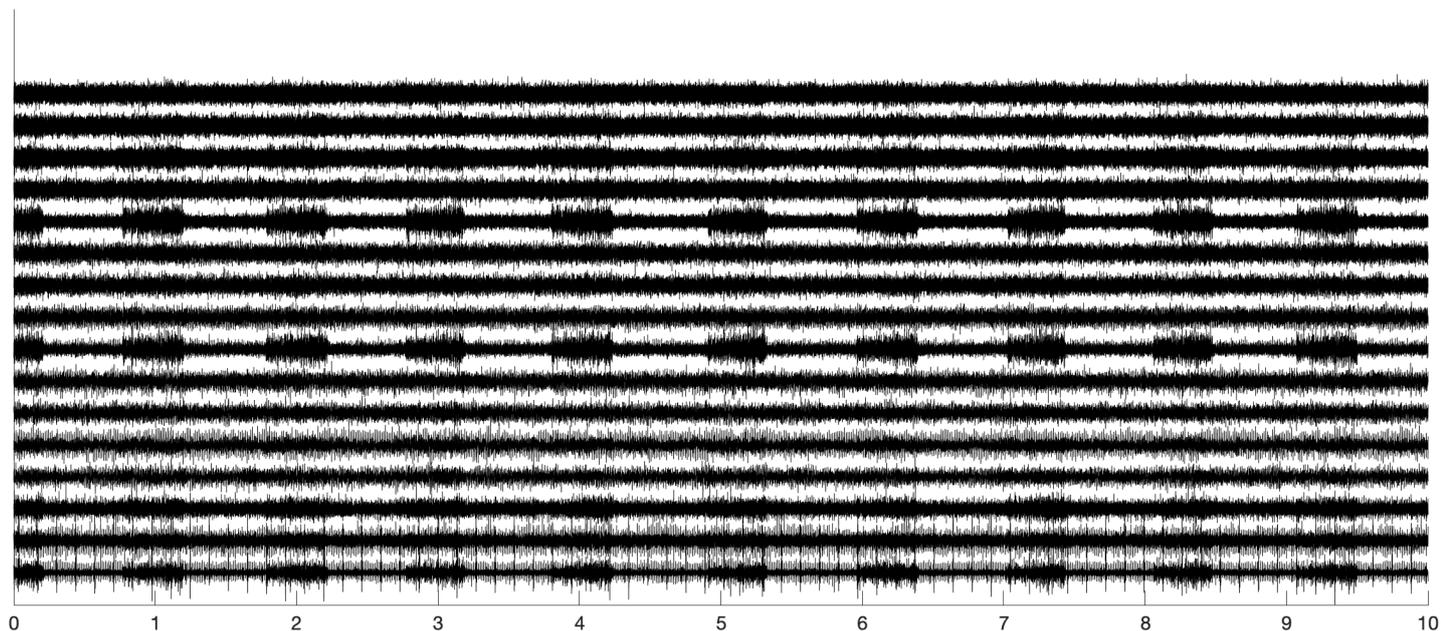


FIGURE 2.8 – Signaux blanchis après l’Analyse en Composantes Principales appliquée au 16 voies de la matrice OE. On distingue une activité phrénique prédominante sur les directions 5 9 et 16. Le calcul du SNR détermine la direction 9 comme celle maximisant l’activité phrénique.

### 2.3.3 Analyse en configuration tripolaire

Concernant la configuration tripolaire, les résultats sont donnés dans le tableau 2.4. Le SNR moyen de l’ensemble de la configuration était de  $7,13 \pm 7,80$  dB avec un maximum de 12,85 dB. Le coefficient de corrélation post-traitement moyen était de  $0,88 \pm 0,02$  et la moyenne des AUC de la détection des bouffées phréniques était de  $0,95 \pm 0,1$ . Pour chaque indicateur de performance, les valeurs maximales étaient plus élevées et les valeurs minimales étaient inférieures à celles de la configuration bipolaire. Par rapport à la configuration monopolaire, les résultats de la configuration tripolaire a montré une augmentation significative du SNR pré-filtré ( $p=0,065$ ), du SNR post-filtré ( $p=0,022$ ), de la corrélation ( $p=2.49.10^{-4}$ ) et de l’AUC ( $p=1.59.10^{-6}$ ). Les valeurs mesurées dans la configuration tripolaire ont également été significativement très différentes de ceux obtenus en configuration bipolaire. (SNR pré-filtré,  $p=0,069$ ; SNR post-filtré,  $p=0,063$ ; corrélation,  $p=0,082$ ; AUC,  $p = 0,079$ ). Ainsi, la configuration tripolaire a fourni de meilleures per-

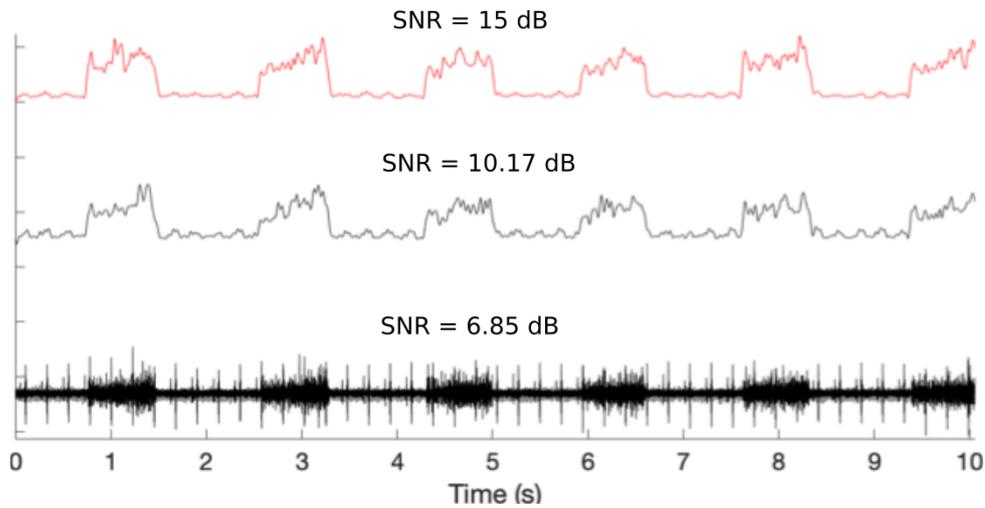


FIGURE 2.9 – De haut en bas : i) En rouge l’enveloppe du signal SE de référence. ii) L’enveloppe du signal simulé entre la voie 1,1 et la voie 3,4 de la matrice OE. iii) Le signal brut du signal simulé entre la voie 1,1 et la voie 3,4 de la matrice OE

TABLEAU 2.3 – Performances sur l’ensemble des 120 configurations bipolaires disponibles

	<b>Moy</b>	<b>STD</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>
<b>SNR (pré filtrage)</b>	4.55	2.22	0.07	7.43
<b>SNR (post filtrage)</b>	6.64	3.12	0.04	10.18
<b>Corrélation</b>	0.84	0.19	0.03	0.95
<b>AUC</b>	0.95	0.1	0.51	0.99/1

formances que les configurations monopolaires et bipolaires, avec en retour un plus grand nombre de calculs et de configurations.

TABLEAU 2.4 – Performances sur l’ensemble des 560 configurations tripolaires disponibles

	<b>Mean</b>	<b>STD</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>
<b>SNR (pre filtrage)</b>	4.89 dB	4.00 dB	0.02 dB	9.27 dB
<b>SNR (post filtrage)</b>	7.13 dB	7.80 dB	0.03 dB	12.85 dB
<b>Correlation</b>	0.88	0.02	0.03	0.97
<b>AUC</b>	0.95	0.1	0.51	0.99/1

## 2.4 Discussion

L'objectif de ce chapitre était d'étudier les performances d'une technologie d'électrode organique multicontact (OE) autobloquante conçue sur mesure pour enregistrer un petit nerf après une implantation aiguë. Dans ce but, nous avons enregistré le nerf phrénique (PHR) du rat avec une préparation cardio-cérébrale, qui préserve les fonctions cardio-respiratoires physiologiques [116], [120], [121]. Un protocole d'enregistrement PHR ENG a été obtenu en appliquant une électrode de succion (SE) à l'extrémité coupée du nerf PHR pour obtenir un signal de haute qualité et en enroulant l'OE autour de l'épinèvre du PHR. Nous avons effectué un filtrage des données pour améliorer la détection des bouffées PHR ENG sur nos signaux et analysé la qualité des enregistrements OE par rapport aux signaux SE. Bien que nous ne fournissions pas de comparaison par rapport aux technologies classiques d'électrodes métalliques, nos résultats montrent que des enregistrements de bonne qualité peuvent être obtenus avec de petits sites d'enregistrement PEDOT :PSS à faible impédance. De plus, nous avons pu mettre en évidence une activité respiratoire à partir de signaux qui, à première vue, n'exprimaient aucune activité respiratoire. Ces résultats suggèrent que les OE sont adaptées pour enregistrer les signaux respiratoires et montrent la possibilité d'installer facilement 16 sites d'enregistrement autour d'un petit nerf, améliorant ainsi la résolution spatiale.

### 2.4.1 Pertinence électrophysiologique du PEDOT :PSS

L'un des principaux avantages de l'utilisation du polymère conducteur organique PEDOT :PSS est sa conductivité mixte ionique/électronique qui en fait un bon candidat pour les applications bio électroniques en général. La capacité du matériau à absorber l'eau et donc à capter les ions dissout en fait un bon candidat pour les applications bio électroniques en général. Cette qualité fait participer la totalité du matériau à l'interaction entre les ions et les électrons. L'aspect électrique de celui-ci se traduit par une différence dans la composante capacitive de l'électrode : pour les électrodes métalliques, la capacité est surfacique, tandis que pour PEDOT :PSS, la capacité est volumétrique [122]. Cela signifie que pour une même surface d'électrode, l'utilisation de PEDOT :PSS entraîne une augmentation de la capacité. En conséquence, compte tenu d'une surface d'électrode fixe, l'utilisation de PEDOT :PSS permet d'obtenir une impédance plus faible, donc un meilleur rapport signal sur bruit pour l'enregistrement par rapport aux électrodes métalliques [123]. De plus, les électrodes métalliques planes telles que les dispositifs à base

d'IrOx, pourraient augmenter les contributions faradiques indésirables. Ces contributions sont tolérables uniquement si les processus redox sont confinés et réversibles [124]. Venkatraman et al. a également comparé les électrodes PEDOT :PSS avec les électrodes PtIr et IrOx, et a découvert que les micro-électrodes revêtues de PEDOT :PSS présentent des performances supérieures à celles des électrodes PtIr en termes d'enregistrements et de stimulation et présentent également des limites d'injection de charge supérieures à celles des électrodes IrOx à 0 DC [125].

### 2.4.2 Électrode à succion pour l'enregistrement ENG

Les SE sont couramment utilisés pour enregistrer les ENG à partir d'axones sectionnés de divers nerfs *in situ* [116], [121], [126], [127]. Ils fournissent des signaux ENG de très haute qualité qui peuvent être utilisés pour surveiller l'activité respiratoire centrale et également pour calculer la moyenne des pics de déclenchement dans les études électrophysiologiques [128], [129]. La qualité de nos signaux SE est donc en accord avec les observations précédentes. Cela est probablement dû au fait qu'une petite partie du nerf distal, y compris l'extrémité coupée, est aspirée et insérée dans la pointe SE qui contient une petite quantité de liquide conducteur. Par conséquent, les potentiels d'action se propageant le long du nerf atteignent la partie distale du nerf presque simultanément. Ainsi, il produit une densité de courant élevée dans la SE, et cela se traduit par des potentiels d'action composés de grande amplitude. De tels signaux ENG enregistrés avec la SE sont classiquement utilisés comme référence pour les enregistrements. Cependant, pour des raisons évidentes, la section nerveuse ne peut pas être envisagée chez l'homme. Un défi reste donc de concevoir des électrodes appropriées qui peuvent être posées à la surface du nerf tout en fournissant des signaux ENG utiles.

### 2.4.3 Enregistrements ENG aigus avec OE

Différents types d'électrodes autobloquantes sont disponibles, et certaines d'entre elles sont utilisées chez l'homme pour la neuromodulation[130]. Ici, nous fournissons des preuves de bons enregistrements PHR ENG à l'aide d'une électrode PEDOT :PSS comprenant une partie autobloquante. Lorsqu'elle est verrouillée, le diamètre de l'électrode est de 350  $\mu\text{m}$  (voir Figure 2.2). Le nerf phrénique du rat varie de 250 à 320  $\mu\text{m}$  de diamètre[131]. Ainsi, le diamètre interne de la coiffe de notre OE est supérieur au diamètre externe du nerf PHR et devrait limiter les lésions nerveuses. Les OE sont fabriqués avec un polymère bio-

compatible mince (parylène) et utilisent des polymères conducteurs appelés PEDOT :PSS couplés à des fils d'or, conférant une faible impédance et une bonne flexibilité. Les enregistrements effectués dans ce chapitre sont aigus. Même si nos électrodes ont une grande flexibilité, des expériences chroniques peuvent conduire à des résultats radicalement différents impactés par les matériaux, la rigidité et divers autres facteurs de forme. Il a été démontré que cette technologie fournit des enregistrements à rapport signal/bruit élevé de l'interface neuronale sur des applications électroencéphalographiques et électrocorticographiques[88]-[92], [132]. Les OE ont également été utilisés pour enregistrer l'activité neuronale chez les patients en salle d'opération[94]. De plus, les sites OE peuvent être utilisés à la fois pour enregistrer et stimuler les neurones[90]. Comparé au  $S^{SE}$ , le  $S^{OE}$  a un rapport signal/bruit inférieur. Cela résultait probablement de la fonction de transfert et de l'atténuation du signal des sources de signal dans le nerf vers les sites d'enregistrement sur l'épinèvre.

Une limite de cette étude était l'absence de mesure d'impédance des différents sites OE lorsque l'électrode était en contact avec le nerf. Une impédance plus élevée sur certains sites OE peut être responsable d'une diminution de l'amplitude pENG et de l'AUC, et donc de faibles corrélations entre  $S^{OE}$  et  $S^{SE}$ . Cependant, nos résultats ont démontré que les  $S^{OE}$  et  $S^{SE}$  avaient une forme similaire. Ce schéma comprenait une augmentation progressive de la décharge au début de l'inspiration, une augmentation semblable à une rampe tout au long de la phase inspiratoire et une forte diminution de l'activité PHR à la fin de l'inspiration, reflétant une décharge physiologique de PHR [116], [120], [121], [126], [127], [133]. De plus, des coefficients de corrélation élevés ont été mesurés entre  $S^{SE}$  et  $S^{OE}$  et des scores AUC élevés ont été trouvés sur plusieurs canaux OE dans chaque préparation. Nos résultats suggèrent que l'OE peut représenter une alternative aux électrodes plus classiques qui sont actuellement utilisées pour les applications de neuromodulation. Des enregistrements de l'activité du nerf PHR ont été réalisés chez des chats à l'aide d'une simple électrode cuff métallique, et le rapport signal sur bruit (SNR) moyen était de  $2,44 \pm 0,18$  dB[101]. Ici, la technologie proposée dans cette section nous permet d'enregistrer à partir du nerf PHR de rat avec un SNR moyen plus élevé ( $5,51 \pm 3,61$  dB). Les électrodes hélicoïdales, en brassard ou plates, avec des caractéristiques mono-, bi- ou tripolaires ont été principalement testées pour la neurostimulation[134]-[136]. Des investigations supplémentaires sont nécessaires pour comparer les performances de ces électrodes avec l'OE multicontact dans l'enregistrement ENG. De plus, notre étude a été réalisée dans un état aigu, tandis que les études de neuromodulation nécessitent une im-

plantation chronique *in vivo*. Bien que la stabilité des électrodes revêtues de PEDOT :PSS ait déjà été reportée, leur fiabilité pourrait être améliorée avant qu'elles ne puissent être utilisées dans des conditions chroniques [137]. L'un des principaux problèmes en termes de stabilité à long terme des électrodes revêtues de PEDOT :PSS reste la délamination d'un tel polymère conducteur de la surface de l'électrode. Cela vient des mauvaises propriétés d'adhérence de ces matériaux sur le dessus des couches métalliques dans des conditions aqueuses, encore plus prononcées sous stimulation. Les approches futures pourraient surmonter ces limitations technologiques, comme par exemple l'utilisation de promoteurs d'adhérence biostables[138]. La fibrose n'a pas été étudiée dans notre étude bien que ce problème (ainsi que d'autres lésions nerveuses) ait été signalé avec des électrodes métalliques couramment utilisées. Comme des preuves de lésions tissulaires ont été observées 1 jour après l'implantation [139], nous émettons l'hypothèse que la fibrose ne s'est pas développée dans nos conditions aiguës. Une étude récente utilisant des biocapteurs Parylen C similaires a suggéré une très bonne biostabilité après 6 mois d'activité d'enregistrement cérébral[140]. D'autres investigations après implantation nerveuse chronique avec une électrode PEDOT :PSS sont nécessaires pour déterminer si la fibrose se produit.

#### **2.4.4 Vers une meilleure sélectivité pour enregistrer et stimuler avec l'OE ?**

Dans ce chapitre, nous avons étudié une OE avec des sites symétriques adaptés pour l'acquisition ENG. Nous avons réussi à utiliser cet électrode cuff avec la plupart des sites OE en contact avec le nerf, permettant de multiples enregistrements pENG. Une telle technique d'enregistrement peut être transposée à d'autres nerfs périphériques comme le nerf vague qui est la cible d'une neuromodulation dans de nombreuses pathologies[141]-[143]. Comme il a été démontré que la stimulation du nerf vague avec un OE provoque des réponses cardiaques différenciées, de futures études devraient tester la possibilité à la fois de stimuler et d'enregistrer avec le même OE multicontact, probablement en utilisant différents contacts. Le nerf phrénique est principalement composé de fibres motrices et est également composé de 30 à 45% de fibres sensorielles[144]. La grande majorité des fibres motrices (97%) correspondent à des axones alpha, et le reste des fibres (3%) sont des axones gamma[145]. Comme ce nerf était sectionné, les signaux enregistrés pENG ne correspondaient qu'à des fibres motrices actives. Nos résultats n'ont pas fourni de preuves de potentiels d'action composés différenciés entre les différents canaux des sites OE. Ce

manque apparent de sélectivité spatiale peut s'expliquer par plusieurs facteurs. Le très petit diamètre du PHR réduit probablement la sélectivité transversale (ou fasciculaire)[146]. De plus, la vitesse de conduction rapide des fibres motrices PHR ( $\sim 55\text{--}60 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  [147]) associée à la distance assez courte entre les sites OE peuvent limiter la sélectivité de la vitesse[148]. Il est donc possible que des enregistrements ENG multiples similaires posés sur des nerfs périphériques plus gros ou conçus avec des distances plus longues entre les sites OE puissent permettre d'obtenir une sélectivité fasciculaire et/ou de vitesse, et ainsi différencier des pools distincts de fibres nerveuses.

En revanche si on considère une OE en configuration bipolaire voire tripolaire on observe que certaines configurations sont des configurations qui annulent le bruit augmentant ainsi le SNR du signal. A l'inverse certaines simulations ont montré que certaines configurations annulent le signal lui-même. Les méthodes de traitement du signal peuvent être améliorées pour mieux estimer les informations complémentaires des différents sites acquis. Parvenir à une sélectivité spatiale réussie de l'activité du nerf phrénique pourrait favoriser les recherches sur les pathologies de la transmission axonale ou les insuffisances respiratoires inexplicables.

## 2.5 Conclusion

La principale contribution de ce chapitre était de montrer la capacité de l'OE biocompatible à enregistrer des signaux nerveux liés à la respiration et à détecter des bouffées physiologiques sur l'activité PHR à partir d'une matrice d'électrodes placées autour de l'épinèvre phrénique. Nous avons également fourni des preuves d'une optimisation de la détection des bouffées respiratoires après traitement du signal, et les mesures des corrélations entre les canaux OE et les enveloppes SE ainsi que les courbes ROC ont démontré une bonne performance de la matrice OE. L'OE apparaît comme un outil prometteur pour enregistrer plusieurs signaux ENG au niveau des nerfs périphériques. Les travaux futurs seront orientés vers l'amélioration de la géométrie de l'OE et des méthodes de traitement du signal associées afin d'améliorer l'enregistrement sélectif, ainsi que l'application et l'évaluation de cette technologie OE pour estimer les variables de contrôle dérivées de l'ENG utiles pour la neuromodulation en boucle fermée.

# BIBLIOGRAPHIE

---

- [1] A. H. MILBY, C. H. HALPERN et G. H. BALTUCH, « Vagus Nerve Stimulation for Epilepsy and Depression », *Neurotherapeutics*, t. 5, 1, p. 75-85, 2008, Device Therapy, ISSN : 1933-7213. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2007.10.071>. adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1933721307002590>.
- [2] D. GUIRAUD, D. ANDREU, S. BONNET et al., « Vagus nerve stimulation : state of the art of stimulation and recording strategies to address autonomic function neuromodulation », *Journal of Neural Engineering*, t. 13, 4, p. 041002, 2016. DOI : [10.1088/1741-2560/13/4/041002](https://doi.org/10.1088/1741-2560/13/4/041002).
- [3] D. OJEDA, V. L. ROLLE, H. M. ROMERO-UGALDE et al., « Sensitivity Analysis of Vagus Nerve Stimulation Parameters on Acute Cardiac Autonomic Responses : Chronotropic, Inotropic and Dromotropic Effects. », *PLoS ONE*, t. 11, 9, e0163734, 2016. DOI : [10.1371/journal.pone.0163734](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163734).
- [5] H. ROMERO UGALDE, V. ROLLE, J.-L. BONNET et al., « Closed-Loop Vagus Nerve Stimulation Based on State Transition Models », *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, t. PP, oct. 2017. DOI : [10.1109/TBME.2017.2759667](https://doi.org/10.1109/TBME.2017.2759667).
- [8] C. GALLET, S. BONNET, V. LE ROLLE et al., « Characteristics of the right cervical vagal activity during baseline and Valsalva-like manoeuvre », in *2015 7th International IEEE/EMBS Conference on Neural Engineering (NER)*, avr. 2015, p. 988-991. DOI : [10.1109/NER.2015.7146792](https://doi.org/10.1109/NER.2015.7146792).
- [32] A. Q. FARRAND, K. L. HELKE, R. A. GREGORY, M. GOOZ, V. K. HINSON et H. A. BOGER, « Vagus nerve stimulation improves locomotion and neuronal populations in a model of Parkinson's disease », *Brain Stimulation*, 2017.
- [76] E. BEN-MENACHEM, « Vagus-nerve stimulation for the treatment of epilepsy », *The Lancet Neurology*, t. 1, 8, p. 477-482, 2002, ISSN : 1474-4422. DOI : [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(02\)00220-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(02)00220-X). adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S147444220200220X>.

- [87] W. STACEY et B. LITT, « Technology Insight : neuroengineering and epilepsy—designing devices for seizure control », *Nature Clinical Practice Neurology*, t. 4, p. 190-201, 2008.
- [88] D. KHODAGHOLY, T. DOUBLET, P. QUILICHINI et al., « In vivo recordings of brain activity using organic transistors », *Nature communications*, t. 4, p. 1575, mars 2013. DOI : 10.1038/ncomms2573.
- [89] D. KHODAGHOLY, T. DOUBLET, M. GURFINKEL et al., « Highly Conformable Conducting Polymer Electrodes for In Vivo Recordings », *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, t. 23, H268-72, sept. 2011. DOI : 10.1002/adma.201102378.
- [90] A. WILLIAMSON, M. FERRO, P. LELEUX et al., « Localized Neuron Stimulation with Organic Electrochemical Transistors on Delaminating Depth Probes », *Advanced materials (Deerfield Beach, Fla.)*, t. 27, juin 2015. DOI : 10.1002/adma.201500218.
- [91] A. JONSSON, S. INAL, L. UGUZ et al., « Bioelectronic neural pixel : Chemical stimulation and electrical sensing at the same site », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, t. 113, août 2016. DOI : 10.1073/pnas.1604231113.
- [92] J. RIVNAY, P. LELEUX, M. FERRO et al., « High-performance transistors for bioelectronics through tuning of channel thickness. », *Science Advances*, mai 2015. DOI : 10.17863/CAM.21507.
- [93] A. WILLIAMSON, J. RIVNAY, L. KERGOAT et al., « Controlling Epileptiform Activity with Organic Electronic Ion Pumps », *Advanced Materials*, t. 27, 20, p. 3138-3144, 2015. DOI : <https://doi.org/10.1002/adma.201500482>. eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/adma.201500482>. adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adma.201500482>.
- [94] D. KHODAGHOLY, J. GELINAS, T. THESEN et al., « NeuroGrid : Recording action potentials from the surface of the brain », *Nature neuroscience*, t. 18, déc. 2014. DOI : 10.1038/nn.3905.
- [95] F. SUN et M. MORRELL, « Closed-loop Neurostimulation : The Clinical Experience », *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, t. 11, mai 2014. DOI : 10.1007/s13311-014-0280-3.

- [96] D. TYLER et D. DURAND, « Functionally selective peripheral nerve stimulation with a flat interface nerve electrode », *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, t. 10, 4, p. 294-303, 2002. DOI : 10.1109/TNSRE.2002.806840.
- [97] B. CHRISTIE, M. FREEBERG, W. MEMBERG et al., « “Long-term stability of stimulating spiral nerve cuff electrodes on human peripheral nerves” », *Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation*, t. 14, juill. 2017. DOI : 10.1186/s12984-017-0285-3.
- [98] T. BORETIUS, J. BADIA, A. PASCUAL-FONT et al., « A transverse intrafascicular multichannel electrode (TIME) to interface with the peripheral nerve », *Biosensors and Bioelectronics*, t. 26, 1, p. 62-69, 2010, ISSN : 0956-5663. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.05.010>. adresse : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566310002496>.
- [99] E. OTTESTAD et D. S. ORLOVICH, « History of Peripheral Nerve Stimulation—Update for the 21st Century », *Pain Medicine*, t. 21, *Supplement\_1*, S3-S5, août 2020, ISSN : 1526-2375. DOI : 10.1093/pm/pnaa165. eprint : <https://academic.oup.com/painmedicine/article-pdf/21/Supplement\1/S3/33656379/pnaa165.pdf>. adresse : <https://doi.org/10.1093/pm/pnaa165>.
- [100] C. RUSSELL, A. ROCHE et S. CHAKRABARTY, « Peripheral nerve bionic interface : a review of electrodes », *International Journal of Intelligent Robotics and Applications*, t. 3, mars 2019. DOI : 10.1007/s41315-019-00086-3.
- [101] M. SAHIN, M. A. HAXHIU, D. M. DURAND et I. A. DRESHAJ, « Spiral nerve cuff electrode for recordings of respiratory output », *Journal of Applied Physiology*, t. 83, 1, p. 317-322, 1997, PMID : 9216978. DOI : 10.1152/jappl.1997.83.1.317. eprint : <https://doi.org/10.1152/jappl.1997.83.1.317>. adresse : <https://doi.org/10.1152/jappl.1997.83.1.317>.
- [102] S. MACKINNON, A. DELLON, A. HUDSON et D. HUNTER, « Chronic nerve compression ; an experimental model in the rat », English, *Annals of Plastic Surgery*, t. 13, 2, p. 112-120, jan. 1984, ISSN : 0148-7043. DOI : 10.1097/00000637-198408000-00004.
- [103] J. T. MORTIMER et N. BHADRA, « PERIPHERAL NERVE AND MUSCLE STIMULATION », in *Neuroprosthetics*, p. 638-682. DOI : 10.1142/9789812561763\_0020.

- 
- [104] E. ROMERO, J. F. DENEFF, J. DELBEKE, A. ROBERT et C. VERAART, « Neural morphological effects of long-term implantation of the self-sizing spiral cuff nerve electrode », *Medical and Biological Engineering and Computing*, t. 39, 1, p. 90-100, 2001. DOI : 10.1007/bf02345271.
- [105] P. COOREMAN, R. THOELLEN, J. MANCA et al., « Impedimetric immunosensors based on the conjugated polymer PPV », *Biosensors and Bioelectronics*, t. 20, 10, p. 2151-2156, 2005, Selected Papers from the Eighth World Congress on Biosensors, Part II, ISSN : 0956-5663. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.bios.2004.08.029>. adresse : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566304003975>.
- [106] C. BETTINGER, « Recent advances in materials and flexible electronics for peripheral nerve interfaces », *Bioelectronic Medicine*, t. 4, déc. 2018. DOI : 10.1186/s42234-018-0007-6.
- [107] P. B. YOO, M. SAHIN et D. M. DURAND, « Selective stimulation of the canine hypoglossal nerve using a multi-contact cuff electrode », *Ann Biomed Eng*, t. 32, 4, p. 511-519, avr. 2004.
- [108] M. BERGGREN et A. RICHTER-DAHLFORS, « Organic Bioelectronics », *Advanced Materials*, t. 19, 20, p. 3201-3213, 2007. DOI : <https://doi.org/10.1002/adma.200700419>. eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/adma.200700419>. adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adma.200700419>.
- [109] L. KERGOAT, G. DIEUSET, V. LE ROLLE et al., « PEDOT :PSS electrodes for acute experimental evaluation of vagus nerve stimulation on rodents », in *2018 40th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, t. 2018-July, Honolulu, France : IEEE, 2018, p. 4760-4763. DOI : 10.1109/EMBC.2018.8513235. adresse : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02408297>.
- [110] F. DECATALDO, T. CRAMER, D. MARTELLI et al., « Stretchable Low Impedance Electrodes for Bioelectronic Recording from Small Peripheral Nerves », *Scientific Reports*, t. 9, juill. 2019. DOI : 10.1038/s41598-019-46967-2.

- [111] D. RODGER, A. FONG, W. LI et al., « Flexible parylene-based multielectrode array technology for high-density neural stimulation and recording », *Sensors and Actuators B : Chemical*, t. 132, p. 449-460, juin 2008. DOI : 10.1016/j.snb.2007.10.069.
- [112] S. TAKEUCHI, D. ZIEGLER, Y. YOSHIDA, K. MABUCHI et T. SUZUKI, « Parylene flexible neural probes integrated with microfluidic channels », *Lab Chip*, t. 5, p. 519-523, 5 2005. DOI : 10.1039/B417497F. adresse : <http://dx.doi.org/10.1039/B417497F>.
- [113] D. LEE, S. KIM, E. KWON et al., « Comparison of in vivo biocompatibilities between parylene-C and polydimethylsiloxane for implantable microelectronic devices », *Bulletin of Materials Science*, t. 36, nov. 2013. DOI : 10.1007/s12034-013-0570-0.
- [114] S. WANG, N. BENAMER, S. ZANELLA et al., « TASK-2 Channels Contribute to pH Sensitivity of Retrotrapezoid Nucleus Chemoreceptor Neurons », *Journal of Neuroscience*, t. 33, 41, p. 16 033-16 044, 2013, ISSN : 0270-6474. DOI : 10.1523/JNEUROSCI.2451-13.2013. eprint : <https://www.jneurosci.org/content/33/41/16033.full.pdf>. adresse : <https://www.jneurosci.org/content/33/41/16033>.
- [115] M. DUTSCHMANN, M. KRON, M. MÖRSCHER et C. GESTREAU, « Activation of Orexin B receptors in the pontine Kölliker-Fuse nucleus modulates pre-inspiratory hypoglossal motor activity in rat », *Respiratory Physiology & Neurobiology*, t. 159, 2, p. 232-235, 2007, ISSN : 1569-9048. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.resp.2007.06.004>. adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569904807001759>.
- [116] J. F. PATON, « A working heart-brainstem preparation of the mouse », *Journal of Neuroscience Methods*, t. 65, 1, p. 63-68, 1996, ISSN : 0165-0270. DOI : [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(95\)00147-6](https://doi.org/10.1016/0165-0270(95)00147-6). adresse : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0165027095001476>.
- [117] M. J. DONAHUE, A. KASZAS, G. F. TURI et al., « Multimodal Characterization of Neural Networks Using Highly Transparent Electrode Arrays », *eNeuro*, t. 5, 6, 2018. DOI : 10.1523/ENEURO.0187-18.2018. eprint : <https://www.eneuro.org/content/5/6/ENEURO.0187-18.2018.full.pdf>. adresse : <https://www.eneuro.org/content/5/6/ENEURO.0187-18.2018>.

- 
- [118] G. L. MOREL, « Feasibility and advantages of real-time monitoring of diaphragmatic ventilatory fatigue in anesthesiology and in intensive care unit », Theses, Université Jean Monnet - Saint-Etienne, sept. 2014. adresse : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01174062>.
- [119] S. RASPOPOVIC, J. CARPANETO, E. UDINA, X. NAVARRO et S. MICERA, « On the identification of sensory information from mixed nerves by using single-channel cuff electrodes », *Journal of neuroengineering and rehabilitation*, t. 7, p. 17, avr. 2010. DOI : 10.1186/1743-0003-7-17.
- [120] C. GESTREAU, M. DUTSCHMANN, S. OBLED et A. BIANCHI, « Activation of XII motoneurons and premotor neurons during various oropharyngeal behaviors. », *Respiratory Physiology and Neurobiology*, t. 147, p. 159-176, 2005. DOI : 10.1016/j.resp.2005.03.015. adresse : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00014099>.
- [121] V. BERGÉ-LAVAL et C. GESTREAU, « Quipazine Elicits Swallowing in the Arterially Perfused Rat Preparation : A Role for Medullary Raphe Nuclei ? », *International Journal of Molecular Sciences*, t. 21, p. 5120, juill. 2020. DOI : 10.3390/ijms21145120.
- [122] C. M. PROCTOR, J. RIVNAY et G. G. MALLIARAS, « Understanding volumetric capacitance in conducting polymers », *Journal of Polymer Science Part B : Polymer Physics*, t. 54, 15, p. 1433-1436, 2016. DOI : <https://doi.org/10.1002/polb.24038>. eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/polb.24038>. adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/polb.24038>.
- [123] G. DIJK, H. J. RUIGROK et R. P. O'CONNOR, « Influence of PEDOT :PSS Coating Thickness on the Performance of Stimulation Electrodes », *Advanced Materials Interfaces*, t. 7, 16, p. 2000675, 2020. DOI : <https://doi.org/10.1002/admi.202000675>. eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/admi.202000675>. adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/admi.202000675>.
- [124] J. RIVNAY, H. WANG, L. FENNO, K. DEISSEROTH et G. G. MALLIARAS, « Next-generation probes, particles, and proteins for neural interfacing », *Science Advances*, t. 3, 6, 2017. DOI : 10.1126/sciadv.1601649. eprint : <https://>

- advances.sciencemag.org/content/3/6/e1601649.full.pdf. adresse : <https://advances.sciencemag.org/content/3/6/e1601649>.
- [125] S. VENKATRAMAN, J. HENDRICKS, Z. A. KING et al., « In Vitro and In Vivo Evaluation of PEDOT Microelectrodes for Neural Stimulation and Recording », *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, t. 19, 3, p. 307-316, 2011. DOI : 10.1109/TNSRE.2011.2109399.
- [126] K. HASHIMOTO, Y. SUGIYAMA, S. FUSE et al., « Activity of swallowing-related neurons in the medulla in the perfused brainstem preparation in rats : Swallowing-Related Neurons in Perfused Rats », *The Laryngoscope*, t. 129, nov. 2018. DOI : 10.1002/lary.27401.
- [127] S. FUSE, Y. SUGIYAMA, K. HASHIMOTO et al., « Laryngeal afferent modulation of swallowing interneurons in the dorsal medulla in perfused rats », *The Laryngoscope*, t. 130, 8, p. 1885-1893, août 2020, ISSN : 0023-852X. DOI : 10.1002/lary.28284. adresse : <https://doi.org/10.1002/lary.28284>.
- [128] D. BAEKEY, K. MORRIS, C. GESTREAU, Z. LI, B. LINDSEY et R. SHANNON, « Medullary respiratory neurones and control of laryngeal motoneurones during fictive eupnoea and cough in the cat », *The Journal of physiology*, t. 534, p. 565-81, août 2001. DOI : 10.1111/j.1469-7793.2001.t01-1-00565.x.
- [129] M. OTT, S. NUDING, L. SEGERS, R. O'CONNOR, K. MORRIS et B. LINDSEY, « Central chemoreceptor modulation of breathing via multipath tuning in medullary ventrolateral respiratory column circuits », *Journal of neurophysiology*, t. 107, p. 603-17, jan. 2012. DOI : 10.1152/jn.00808.2011.
- [130] J. L. PARKER et T. CAMERON, « Technology for Peripheral Nerve Stimulation », in *Progress in Neurological Surgery*, S. Karger AG, p. 1-19. DOI : 10.1159/000434651. adresse : <https://doi.org/10.1159/000434651>.
- [131] A. RODRIGUES, R. FERREIRA, H. SALGADO et V. FAZAN, « Morphometric analysis of the phrenic nerve in male and female Wistar-Kyoto (WKY) and spontaneously hypertensive rats (SHR) », *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, t. 44, 6, p. 583-591, juin 2011. DOI : 10.1590/s0100-879x2011007500053. adresse : <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2011007500053>.

- [132] R. GREEN, N. LOVELL, G. WALLACE et L. POOLE-WARREN, « Conducting polymers for neural interfaces : Challenges in developing an effective long-term implant », *Biomaterials*, t. 29, p. 3393-9, août 2008. DOI : 10.1016/j.biomaterials.2008.04.047.
- [133] T. BAUTISTA et M. DUTSCHMANN, « Ponto-medullary nuclei involved in the generation of sequential pharyngeal swallowing and concomitant protective laryngeal adduction in situ », *The Journal of physiology*, t. 592, mars 2014. DOI : 10.1113/jphysiol.2014.272468.
- [134] S.-P. CHEN, I. AY, A. MORAIS et al., « Vagus nerve stimulation inhibits cortical spreading depression », *Pain*, t. 157, déc. 2015. DOI : 10.1097/j.pain.0000000000000437.
- [135] M. YAGI, K. MORISHITA, A. UENO et al., « Electrical stimulation of the vagus nerve improves intestinal blood flow after trauma and hemorrhagic shock », *Surgery*, t. 167, nov. 2019. DOI : 10.1016/j.surg.2019.09.024.
- [136] J. E. BUCKSOT, A. J. WELLS, K. C. RAHEBI et al., « Flat electrode contacts for vagus nerve stimulation », *PLOS ONE*, t. 14, 11, p. 1-22, nov. 2019. DOI : 10.1371/journal.pone.0215191. adresse : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215191>.
- [137] G. DIJK, A. L. RUTZ et G. G. MALLIARAS, « Stability of PEDOT :PSS-Coated Gold Electrodes in Cell Culture Conditions », *Advanced Materials Technologies*, t. 5, 3, p. 1900662, 2020. DOI : <https://doi.org/10.1002/admt.201900662>. eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/admt.201900662>. adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/admt.201900662>.
- [138] P. OLDROYD et G. MALLIARAS, « Achieving long-term stability of thin-film electrodes for neurostimulation », *Acta Biomaterialia*, 2021, ISSN : 1742-7061. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.05.004>. adresse : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706121003056>.
- [139] V. S. POLIKOV, P. A. TRESKO et W. M. REICHERT, « Response of brain tissue to chronically implanted neural electrodes », *Journal of Neuroscience Methods*, t. 148, 1, p. 1-18, oct. 2005. DOI : 10.1016/j.jneumeth.2005.08.015. adresse : <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2005.08.015>.

- [140] A. LECOMTE, A. DEGACHE, E. DESCAMPS, L. DAHAN et C. BERGAUD, « In vitro and in vivo biostability assessment of chronically-implanted Parylene C neural sensors », *Sensors and Actuators B : Chemical*, t. 251, p. 1001-1008, nov. 2017. DOI : 10.1016/j.snb.2017.05.057. adresse : <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.05.057>.
- [141] Y. WANG, G. ZHAN, Z. CAI et al., « Vagus nerve stimulation in brain diseases : Therapeutic applications and biological mechanisms », *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, t. 127, p. 37-53, 2021, ISSN : 0149-7634.
- [142] S. SENOVA, C. RABU, S. BEAUMONT et al., « Stimulation du nerf vague dans le traitement de la dépression », *La Presse Médicale*, t. 48, 12, p. 1507-1519, 2019, ISSN : 0755-4982. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2019.10.019>. adresse : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0755498219304889>.
- [143] I. URITS, R. SCHWARTZ, D. SMOOTS et al., « Peripheral Neuromodulation for the Management of Headache », *Anesthesiology and Pain Medicine*, t. In Press, nov. 2020. DOI : 10.5812/aapm.110515.
- [144] M. J. FOGARTY, C. B. MANTILLA et G. C. SIECK, « Breathing : Motor Control of Diaphragm Muscle », *Physiology*, t. 33, 2, p. 113-126, 2018, PMID : 29412056. DOI : 10.1152/physiol.00002.2018. eprint : <https://doi.org/10.1152/physiol.00002.2018>. adresse : <https://doi.org/10.1152/physiol.00002.2018>.
- [145] J. GOTTSCHALL, « The diaphragm of the rat and its innervation. Muscle fiber composition ; perikarya and axons of efferent and afferent neurons », *Anatomy and Embryology*, t. 161, p. 405-417, 2004.
- [146] A. UENO, N. KATAYAMA, A. KARASHIMA et M. NAKAO, « Improvement of Diameter Selectivity in Nerve Recruitment Using Multi-cuff Electrodes », *Advanced Biomedical Engineering*, t. 1, 0, p. 36-42, 2012. DOI : 10.14326/abe.1.36. adresse : <https://doi.org/10.14326/abe.1.36>.
- [147] L. B. FONTANESI, F. S. FAZAN, F. J. DIAS, M. C. L. SCHIAVONI, W. M. JR. et V. P. S. FAZAN, « Sensory and Motor Conduction Velocity in Spontaneously Hypertensive Rats : Sex and Aging Investigation », *Frontiers in Systems Neuroscience*, t. 13, nov. 2019. DOI : 10.3389/fnsys.2019.00062. adresse : <https://doi.org/10.3389/fnsys.2019.00062>.

- [148] N. DONALDSON, R. RIEGER, M. SCHUETTLER et J. TAYLOR, « Noise and selectivity of velocity-selective multi-electrode nerve cuffs », *Medical & Biological Engineering & Computing*, t. 46, 10, p. 1005-1018, août 2008. DOI : 10.1007/s11517-008-0365-4. adresse : <https://doi.org/10.1007/s11517-008-0365-4>.



# CARACTÉRISTIQUES DES SIGNAUX ENG ET ECG PENDANT UNE SUDEP INDUITE PAR AGS

---

## Résumé

Pour appliquer une neuromodulation efficace il est nécessaire de comprendre les signaux utiles et d'en déterminer les caractéristiques et les paramètres sur lesquels la neuromodulation peut s'appliquer. Dans le contexte du projet AdaptVNS de proposer une boucle fermée de neuromodulation il convient de déterminer quels paramètres vont être les acteurs permettant de déclencher la stimulation. Dans le cadre de la prévention de la SUDEP, l'hypothèse principale du projet décrit le nerf vague comme une structure fortement impliquée dans la survenue des événements cardiorespiratoires. Dans ce chapitre, un travail préliminaire sur un jeu de données d'un enregistrement du nerf vague sur plusieurs moutons a été effectué pour comprendre l'activité nerveuse du nerf et une chaîne de traitement a été proposée. Après une procédure de traitement du signal classique, un moyennage des signaux ENG et ECG autour des ondes R est fait, permettant ainsi une étude locale de l'ENG vis-à-vis de l'ECG. Une fois cette activité étudiée, un protocole expérimental original d'induction de SUDEP par AGS est mis en place afin d'enregistrer cette activité nerveuse vagale chez la souris pendant et après la crise. Pour chacune des souris, le nerf vague est enregistré sur 3 voies ainsi que l'ECG. Sur ces enregistrements les ondes P de l'ECG ont été détectées pendant la phase post-ictale. L'étude locale de l'ENG sur les moutons a permis de détecter plusieurs dynamiques de l'activité vagale : 1) on retrouve la fréquence respiratoire induite grâce à une modulation de son activité, 2) on observe une chute de l'activité locale vagale autour des ondes R. Ces dynamiques ne sont malheureusement pas présentes sur les enregistrements vagues de la souris. En revanche, nous observons : 1) une décharge de l'activité enregistré par la sonde ENG pendant la

crise d'épilepsie, 2) une forte bradycardie à l'issue de la crise chez chacune des souris ainsi que la présence d'une dissociation des ondes P et R, associée à un bloc atrio-ventriculaire (AV), jusqu'à l'arrêt cardiaque de l'animal. Si nous avons pu discerner une présence d'une activité enregistrée plus importante pendant la crise, il nous est impossible de déterminer s'il s'agit d'une activité majoritairement vagale ou bruite (notamment dû à la présence d'électromyogramme). Nous ne pouvons donc pas caractériser avec certitude cette activité comme précurseur de la SUDEP. En revanche, la présence de bradycardie, et en particulier d'un bloc AV intermittent, pourrait marquer et caractériser une cause conduisant à une SUDEP.

### 3.1 Introduction

La VNS est reconnue comme une thérapie efficace contre les épilepsies pharmaco-résistantes [73], [74].

Plus de 85 000 patients épileptiques sont actuellement équipés d'un système VNS [75]. Cette thérapie a permis la réduction de la fréquence des crises d'épilepsie d'au moins 50% chez environ 43% de ces patients [11]. La principale cause de mortalité directement associée à l'épilepsie est connue sous le nom de mort subite et inattendue de l'épilepsie (ou SUDEP pour Sudden Unexpected Death in Epilepsy). La SUDEP est définie comme une mort inattendue, avec ou sans témoin, sans signe de traumatisme ni noyade, chez une personne épileptique [149]. La SUDEP représente 17 % des décès prématurés toutes formes d'épilepsies confondues [150] et 50 % des décès prématurés chez les personnes épileptiques réfractaires aux traitements [151]. On estime la prévalence de la SUDEP à 1.20/1000 personnes-années (1.41/1000 chez les hommes et 0.96/1000 chez les femmes) [61] Même si la VNS n'a pas été développée pour la prévention de la SUDEP, il a été observé chez les patients épileptiques ayant reçu une VNS entre 1988 et 2012 une réduction des risques de SUDEP sur 40 443 patients [61]. Parmi ces patients 3689 sont décédés et 632 épisodes de SUDEP ont été diagnostiqués.

Des études expérimentales et cliniques récentes suggèrent un dysfonctionnement cardiorespiratoire, subséquent à une crise d'épilepsie, qui provoquerait des apnées prolongées et des arythmies cardiaques conduisant à la mort [152]. Par ailleurs, des facteurs de risque ont pu être définis : apparition des crises d'épilepsie au jeune âge, crises tonicocloniques (crises avec des raideurs musculaires et la présence de spasmes) généralisées, crises d'épilepsie à longue durée ou encore la présence de crises partielles [153]. Cependant, les mécanismes

sous-jacents à la SUDEP sont méconnus, ce qui limite la stratification du risque et la prise en charge optimale des patients épileptiques. L'une des hypothèses explorées durant la thèse est que, suite à une crise d'épilepsie, l'enchaînement d'un processus autonome impliquant une décharge massive vagale est à l'origine de la SUDEP. L'analyse de cette hypothèse pose un véritable challenge. D'une part, les sources pour obtenir des données cliniques ou expérimentales SUDEP sont rares, avec des modalités d'observation très limitées. D'autre part, cette analyse implique l'étude des interactions entre les systèmes nerveux autonome, respiratoire et cardiaque, nécessitant la proposition et l'application de méthodes avancées de traitement des signaux physiologiques. Afin de lever ces points de blocage, il est nécessaire de :

1) proposer une chaîne de traitement de signaux physiologiques adaptée à ce problème ; 2) définir un cadre expérimental permettant l'acquisition de signaux pendant une SUDEP et d'appliquer la chaîne de traitement proposée.

Concernant la proposition d'une chaîne de traitement, un travail préliminaire a été effectué afin de valider les traitements sur des signaux physiologiques acquis dans le cadre du projet PSPC Intense [8]. Ces signaux ont été acquis sur plusieurs moutons insuffisants cardiaques, après induction d'infarctus du myocarde, pendant une manœuvre de Valsava avec pour objectif d'étudier les caractéristiques de l'ENG enregistré sur le nerf vague. Dans le contexte de cette thèse, ces données serviront à proposer une chaîne de traitement préliminaire. La première partie de ce chapitre sera donc consacrée à la description des traitements et analyses effectuées sur la base de données INTENSE.

Concernant la proposition d'un cadre expérimental permettant d'étudier la SUDEP, un des principaux défis est de pouvoir enregistrer l'activité vagale survenant avant, pendant et après une crise d'épilepsie menant à une SUDEP. De nombreux modèles d'induction de SUDEP chez les souris ont été développés dans la littérature [154]-[159]. Un des modèles les plus fiables pour provoquer une SUDEP est le modèle par AGS, ou Audiogenic Seizure, chez les souris [160]. Ce modèle consiste à induire la SUDEP par un moyen non invasif : un stimulus sonore de 12 kHz/110 dB [161], [162].

Après le début du stimulus sonore, la souris va traverser différentes étapes caractéristiques d'une AGS : une course folle, une crise tonico-clonique (avec présence de raideurs et spasmes musculaires) et une crise tonique (raidissement complet du corps incluant les 4 membres moteurs). Cette crise est suivie ou non d'une mort (SUDEP) [161], [163]. La seconde partie de ce chapitre est dédiée à la description du cadre expérimental original défini pendant le projet AdaptVNS et des analyses effectuées sur ces données AGS.

## 3.2 Base de données du projet PSPC Intense

### 3.2.1 Contexte et objectifs

Le projet PSPC Intense avait pour objectif de développer un dispositif implantable de neuro-stimulation innovant pour le traitement de l'insuffisance cardiaque et l'obésité.

Dans ce cadre, le projet visait notamment le développement d'un dispositif combinant stimulation électrique cardiaque et neuromodulation vagale. Une des contributions de notre laboratoire était de proposer un contrôle en boucle fermée afin d'assurer un traitement stable, spécifique au patient et permettant une adaptation à l'état de santé au cours du temps. Clément Gallet, post-doctorant au LTSI, a étudié des signaux ENG, issus du nerf vague, enregistrés sur des moutons insuffisants cardiaques [8]. L'objectif était de déterminer les caractéristiques du signal vagal durant une manœuvre de Valsalva, connue pour induire des modifications sur le système nerveux autonome [164]. Dans cette thèse, ces premières données enregistrées pendant le projet PSPC Intense serviront de résultats préliminaires et introductifs à l'enregistrement du nerf vague. Nous nous intéresserons uniquement à la ligne basale de l'ENG vagal afin de proposer une chaîne de traitement. L'implication de la manœuvre de Valsalva ne sera pas étudiée. Ce traitement sera par la suite utilisé sur les signaux physiologiques vagues enregistrés pendant l'induction de SUDEP chez la souris.

### 3.2.2 Protocole

Les expérimentations ont été réalisées sur deux moutons avec un infarctus du myocarde induit par la ligature des trois artères coronaires marginales. Le protocole expérimental a été approuvé par le comité d'éthique en expérimentation animale. Six mois après la ligature, une électrode a été placée, sous anesthésie à l'isoflurane (2%), dans le ventricule gauche pour enregistrer les électroneurogrammes intracardiaques ainsi que la pression ventriculaire. L'animal a été placé sous respiration artificielle au rythme de 0.3Hz.

Pour l'enregistrement de l'ENG vagal, une électrode cuff (IMTEK, Freiburg University, Germany) a été posée pour l'enregistrement du nerf vague. Le signal enregistré a été amplifié avec un gain 100 000 à l'aide d'un amplificateur fait sur mesure. Tous les signaux ont été acquis grâce au logiciel Labchart (ADInstruments). L'ENG est échantillonné à 20

kHz, l'ECG et la pression ventriculaire à 1 kHz. Une fois la pose des électrodes terminée, un changement d'anesthésiant a été fait, l'isoflurane a été remplacé par de l'étomidate (avec un débit de  $100 \mu/\text{kg}/\text{min}$ ). Une fois les paramètres cardio-vasculaires stabilisés, un enregistrement de 5 min est lancé pour récupérer le signal basal. Ensuite, une manœuvre de Valsalva a été effectuée trois fois : une mise en apnée de 15s avec une pression positive continue de  $30\text{cmH}_2\text{O}$  a été appliquée, suivie d'une autre apnée à pression atmosphérique de 10s. Entre chacune des manœuvres, l'animal récupère pendant 60s.

### 3.2.3 Méthodes numériques

#### Traitement de l'ENG du nerf vague

Le signal ENG est, dans un premier temps, traité avec un filtre passe-bande de Butterworth d'ordre 4 avec une bande passante égale à  $[300-3000\text{Hz}]$ . Pour annuler la distorsion en phase, le signal a été inversé puis filtré avec les mêmes caractéristiques. Il est ensuite rectifié puis intégré sur une fenêtre de 10ms. Le spectre de Fourier de l'ENG a été également estimé.

#### Traitement de l'ECG

Le signal ECG acquis a été traité par un filtre passe-haut d'ordre 4 de Butterworth à 5Hz et par un filtre "Notch" à 50Hz. À partir du signal traité, les ondes R ont été détectées par un algorithme de Pan & Thompkins, puis les séries RR ont été estimées (en bpm). À la suite de l'algorithme, une vérification et correction manuelle ont été faites afin de limiter les incertitudes à l'aide d'une interface graphique développée par le LTSI permettant d'annoter les ondes R. L'enveloppe de l'ECG a également été estimée en récupérant l'enveloppe de la transformée de Hilbert. Les transformées de Fourier de l'enveloppe de l'ECG et de la série RR ont été estimées.

#### Calcul de l'ENG moyen sur plusieurs cycles cardiaques

Le signal extrait du filtrage du signal ECG comprend plusieurs cycles cardiaques sur lesquels l'ENG et l'ECG moyen vont être calculés. L'ECG filtré et l'ENG intégré sont découpés en  $N$  segments de taille égale à la moyenne des intervalles RR. Les ensembles des cycles sont notés :

$$\Lambda_{ECG} = \{ECG_{cycle}(i)/i \in [1, N]\} \quad (3.1)$$

$$\Lambda_{ENG} = \{ENG_{cycle}(i)/i \in [1, N]\} \quad (3.2)$$

Afin de sélectionner les cycles correspondants à un état stable, on choisit l'ensemble des cycles ECG présentant une corrélation supérieure à 80 % avec le premier cycle choisi comme référence.

La prochaine étape revient à calculer les coefficients de corrélation :

$$c_{i,1} = corr(ECG_{cycle}(i), ECG_{cycle}(1)) \text{ avec } i \in [1, N] \quad (3.3)$$

puis à sélectionner les indices de cycles tels que :

$$L = \{i, c_{i,1} \geq 0,80\} \quad (3.4)$$

Notons  $N_s$  le nombre de cycles restants. La dernière étape consiste à calculer les moyennes de l'ENG et de l'ECG à partir des cycles restants :

$$ECG_m = \frac{1}{N_s} \sum_{i \in L} ECG_{cycle}(i) \quad (3.5)$$

$$ENG_m = \frac{1}{N_s} \sum_{i \in L} ENG_{cycle}(i) \quad (3.6)$$

La figure 3.1 décrit la chaîne de traitement.

### 3.2.4 Résultats

La figure 3.2 représente l'ENG vagal, l'ECG, la série RR et la dérivée de pression ventriculaire de deux moutons avant et après traitement. Nous considérons la ligne de base du signal vagal l'ENG enregistré pendant les 60 premières secondes. Pendant cette ligne basale, le signal ECG montre une modulation à la fréquence de la respiration artificielle 0.3Hz.

Si ces fluctuations sont peu présentes sur le signal brut, la rectification du signal ENG permet de mettre en lumière cette respiration artificielle. On observe effectivement après le traitement une dynamique à une fréquence de 0.3Hz. La 4ème ligne de la figure 3.2 présente la série RR associée. La fréquence moyenne pendant les 100 premières secondes est estimée à  $102 \pm 0.6$  bpm chez le mouton 1 est  $115 \pm 4.2$  bpm chez le second mouton. Si le rythme cardiaque est constant de manière globale et physiologique, on observe des

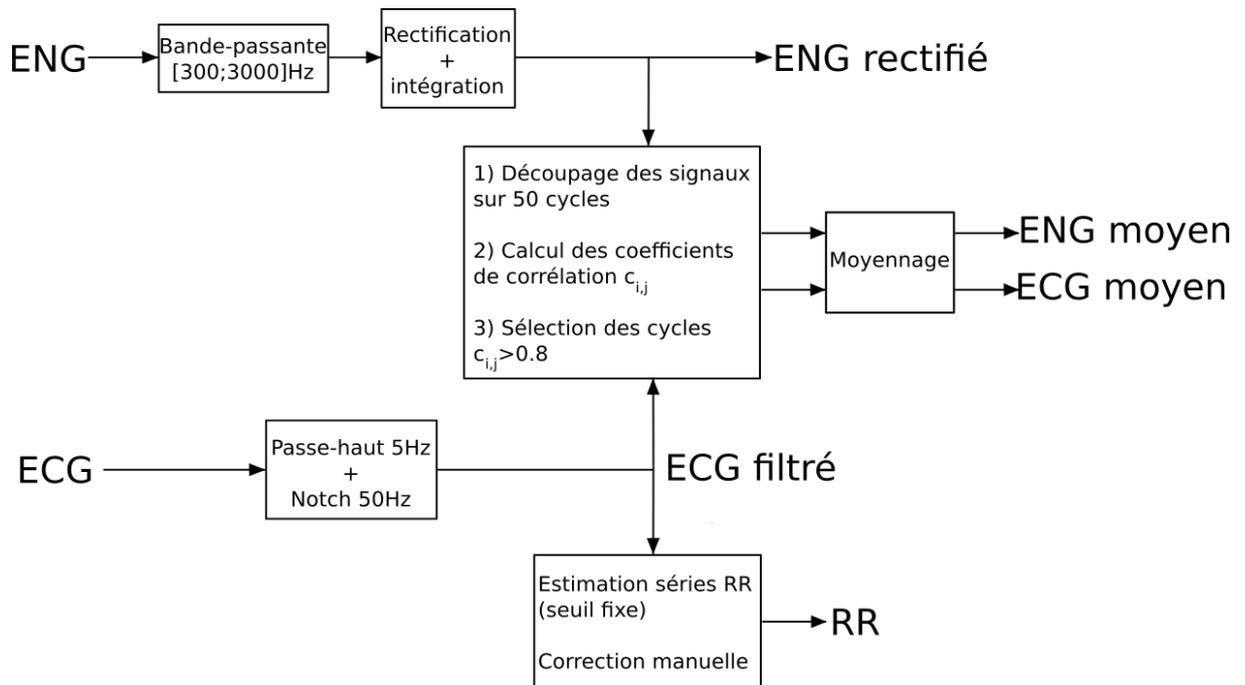


FIGURE 3.1 – Description de la chaîne de traitement proposée. L'ENG passe par un filtre bande passante [300;3000]Hz avant d'être rectifié puis intégré sur une fenêtre de 1.5ms. Le signal résultant est appelé ENG rectifié. L'ECG passe par un filtre passe-haut 5Hz et un Notch à 50Hz. Le signal résultant est appelé ECG filtré. Les signaux ENG rectifié et ECG filtré sont synchronisés sur 50 complexes QRS donnant ainsi 50 signaux ENG et ECG. Ils sont ensuite moyennés pour obtenir l'ENG rectifié moyen (ENG moyen) et l'ECG filtré moyen (ECG moyen) sur 50 complexes QRS. À partir de l'ECG filtré la série RR est estimée puis corrigée manuellement.

fluctuations à la même fréquence sur les séries RR.

La moyenne des ENG sur 50 complexes QRS a été calculée et comparée à la moyenne des segments ECG sélectionnés (voir figure 3.3). L'échelle temporelle est centrée sur l'onde R. On observe une perte de l'activité vagale moyenne enregistrée au moment du complexe QRS (Mouton 1 : -6,2 %; Mouton 2 : -11 %). Cette dynamique de l'activité vagale est similaire sur les deux moutons. À une échelle globale, sur l'ensemble des moutons, l'activité vagale est modulée par le rythme respiratoire visible sur le signal rectifié et à l'échelle locale, on constate une diminution de l'activité vagale avant un battement cardiaque ainsi qu'une augmentation après le battement.

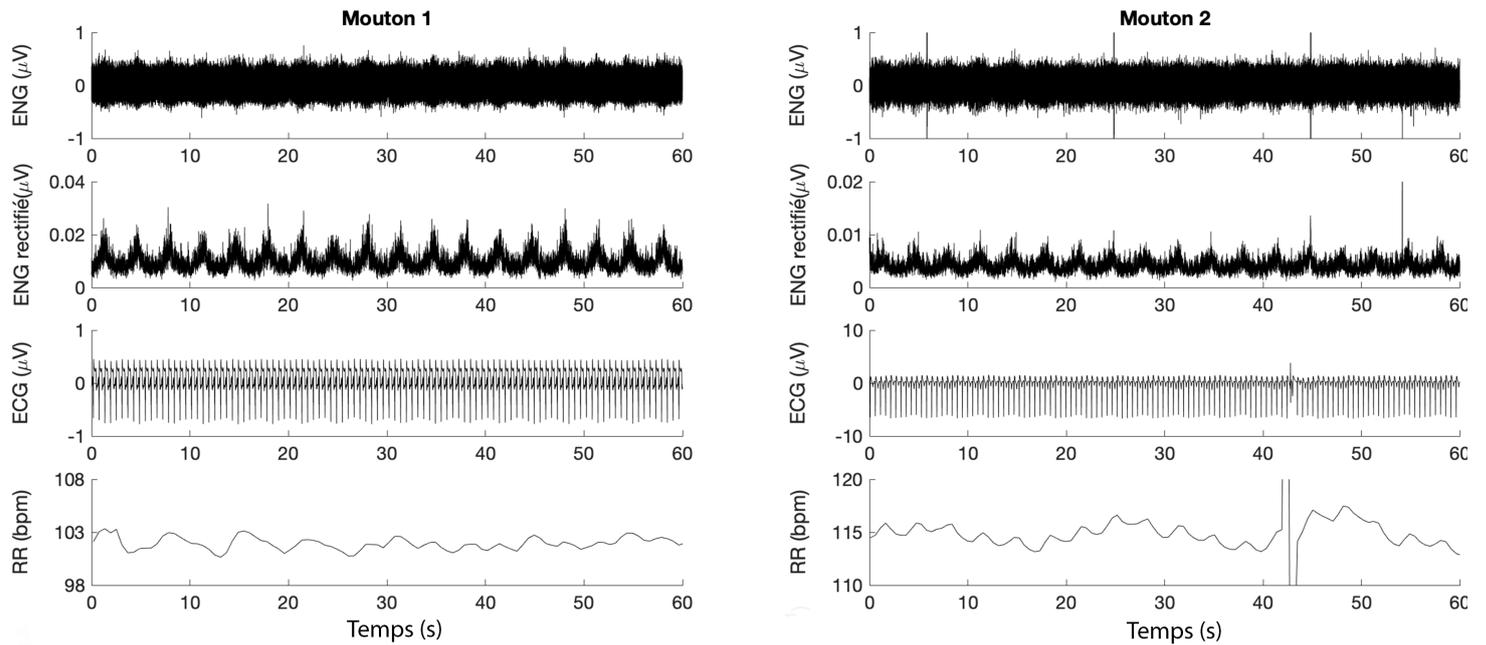


FIGURE 3.2 – Électroneurogramme du nerf vague droit et signal rectifié pendant une durée de 60s chez les deux moutons. Sur le mouton 2, à 43s une perturbation extérieure se produit et l’onde R se superpose à un artéfact de bruit rendant difficile sa détection grâce à l’algorithme et manuelle. Cela explique la fluctuation au niveau de la série RR.

### 3.2.5 Discussion

Cette première étude préliminaire avait pour objectif d’introduire l’enregistrement de l’ENG vagal et de déterminer quelques caractéristiques du signal ENG sur la ligne basale afin d’établir une chaîne de traitement qui pourrait être utilisée pour l’enregistrement et analyse de ces signaux physiologiques dans le cadre du projet AdaptVNS. Ces premiers résultats ont permis de montrer plusieurs correspondances :

- Entre les signaux ENG, ECG et la respiration artificielle : on observe des fluctuations à la fréquence de la respiration artificielle. Cette fréquence est aussi récupérée sur la série RR associée à l’ECG enregistré. Une simple analyse spectrale met en évidence une fréquence caractéristique à 0.3Hz sur les signaux ENG, sur l’enveloppe de l’ECG et sur la série RR associée qui correspond à la fréquence respiratoire artificielle,
- De manière locale, entre l’ENG rectifié et les complexes QRS : diminution de l’activité vagale avant le complexe et augmentation après le complexe.

Ces différentes caractéristiques vont être utilisées comme marqueurs de contrôle pour

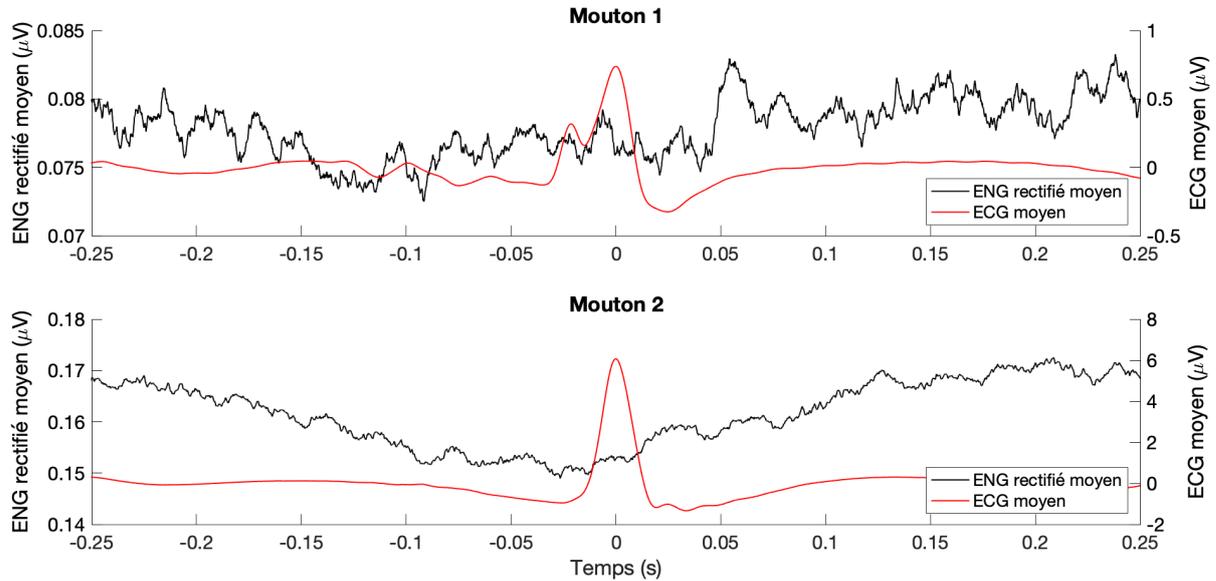


FIGURE 3.3 – En noir, moyenne des ENG rectifiés, en rouge, moyenne des ECG. Les moyennes sont faites sur 50 complexes QRS détectés par un seuil fixe avec correction manuelle. On observe une diminution de l’activité vagale avant le complexe QRS et une augmentation après ce complexe chez les 2 moutons observés.

évaluer au bon enregistrement du signal ENG vagal pour la prochaine manipulation. La même chaîne de traitement va être utilisée (adaptée à l’animal) pour voir si on arrive à récupérer les mêmes dynamiques.

### 3.3 Experimentation *in vivo* AdaptVNS

La chirurgie, la prise en charge de l’animal et la manipulation sont faites par Gabriel Dieuset, assistant ingénieur en expérimentation et instrumentation au LTSI. J’assiste à la manipulation et je participe à la définition du protocole, au branchement des électrodes au système d’acquisition, à l’enregistrement des signaux et la vérification du bon fonctionnement pendant la manipulation. Dans cette partie, nous allons étudier la SUDEP dans un cadre expérimental d’induction par AGS. Nous allons utiliser la chaîne de traitement définie précédemment pour l’analyse de ces signaux inédits. À notre connaissance, il s’agit de la première fois que l’enregistrement des signaux d’ENG du nerf vague et ECG est fait pendant une induction de SUDEP par AGS.

Le modèle d’AGS chez la souris permet une induction de la SUDEP de manière non invasive, sans intervention pharmacologique ou électrique.

Cependant, les conditions d'enregistrement sont difficiles sur la souris car il s'agit d'un petit animal qui va être libre de mouvement dans ce cadre expérimental. Il convient donc d'évaluer la pertinence des acquisitions des signaux obtenus afin de pouvoir déterminer des marqueurs caractéristiques de la SUDEP.

### 3.3.1 Préparation des électrodes

#### Sonde ENG

Les sondes ENG utilisées pour enregistrer le nerf vague de la souris sont des *Micro Nerve Cuff* développées par Microprobes (voir figure 3.4). La longueur de la sonde est de 6mm avec un diamètre interne de 0.3mm. Elle est munie de 3 électrodes cuff d'une largeur de 50  $\mu\text{m}$  en Platiniun/Iridium distante de 1mm. La dernière électrode est placée à 2mm de l'extrémité de la sonde. Chacune des électrodes est isolée individuellement avec un câble en inox de 300mm et est ensuite regroupée avec les autres dans une gaine en silicone.



FIGURE 3.4 – Sonde *Micro Nerve Cuff* développé par Microprobes (vue microscope).

#### Sonde ECG

Les sondes électrodes sont fabriquées au LTSI par Gabriel Dieuset (voir figure 3.5). Elles sont composées d'une électrode, réalisée à partir d'un tube en argent de diamètre externe de 1.75mm, d'épaisseur, de paroi de 0.1mm et de longueur 5mm (GoodFellow AG007150) et d'un câble en inox multibrins (Science Products 3SS-2T) de 150  $\mu\text{m}$  de

diamètre et 90mm de longueur. Le câble est dénudé sur 8mm avec un nœud plat à son extrémité. Le nœud est placé dans le tube en argent avec des copeaux d'étain et incorporé avec une goutte de fluidifiant de soudure. L'électrode est ensuite sertie puis chauffée pour faire fusionner l'étain dans le tube en argent et ainsi sceller l'ensemble électriquement et mécaniquement.



FIGURE 3.5 – Sonde ECG développée par Gabriel Dieuset. L'électrode est positionnée à gauche et le câble en inox à droite.

### **Connectique et assemblage.**

Les câbles des différentes sondes (nombre variable en fonction des expérimentations) sont regroupés sur un connecteur 10 positions Minitex127® (ref. 20021321-00010C4LF). Ce connecteur est fabriqué par Amphenol et est utilisé classiquement pour des montages en surface de carte électronique. Avant utilisation, le fond du connecteur est étanché au silicone ou à la paraffine. Cette précaution est nécessaire pour empêcher la résine dentaire utilisée lors de la chirurgie de remonter par capillarité et d'empêcher le bon fonctionnement. Chacun des câbles est dénudé sur 2mm puis est équipé d'un petit ressort de 1mm x 1mm de diamètre interne 0.5mm fabriqué au laboratoire LTSI avec un fil d'acier non isolé. La présence du ressort permet une stabilité de la fusion de la boule d'étain lors de la soudure entre les câbles et le connecteur. Cela permet d'obtenir une soudure solide et fiable. Tous les câbles sont soudés de façon à se diriger vers la gauche du connecteur pour faciliter son implantation future.

### **3.3.2 Protocole chirurgical**

#### **Les animaux**

Les expérimentations réalisées dans ce projet ont été au préalable soumises à un comité d'éthique et validées par le ministère de la recherche selon les directives des lois françaises du 1 février 2013. Nous avons utilisé exclusivement la souris 129/SvTer pour sa sensibilité à la crise audiogène (90% de crise ; 50% mortalité poste crise)[160]. Les animaux mâles et femelles ont été élevés au laboratoire et âgés de 2 à 3 mois afin d'avoir une corpulence suffisante pour la chirurgie. Au total, 8 souris ont été implantées pour le modèle AGS.

#### **Matériel**

Nous utilisons un poste d'anesthésie (isoflurane) complet avec boîte d'induction, masque de paillasse et masque pour le cadre stéréotaxique. Durant la totalité de la chirurgie, la température des animaux est maintenue à 38°C grâce à un tapis chauffant thermo régulé. La chirurgie d'une durée de 2h à 2h30 est réalisée avec un cadre stéréotaxique (KOPF modèle 900) et une loupe binoculaire. Nous utilisons des instruments de chirurgie classique (ciseaux, pinces, pince de précision, agrafe, aiguille et fil de suture) et également des instruments en verre fabriqués au laboratoire pour la manipulation du nerf afin de ne pas l'endommager ni provoquer des décharges électrostatiques, qui sont présentes lors de la manipulation avec des instruments métalliques. Ces instruments (pointe fine, pointe ronde, crochet) sont réalisés à partir d'une pipette pasteur étirée pour obtenir les différentes formes voulues. Tous les instruments, sondes et connecteur sont désinfectés chimiquement (à base d'acide péracétique) avant la chirurgie.

#### **Anesthésie et analgésie.**

La souris est pesée puis elle reçoit 0.05ml de méloxicam concentrée à 0.5 mg/ml, cet anti-inflammatoire non stéroïdien donné avant la chirurgie va permettre une meilleure récupération post-chirurgie. Le méloxicam a une durée d'action de 24h. La souris est ensuite placée dans une boîte d'induction avec un air enrichi en oxygène grâce à un concentrateur. On induit l'anesthésie par un mélange air/oxygène 0.3 L/min et isoflurane à 4% durant 1 à 2 minutes pour que la souris tombe en narcose. La souris est ensuite transférée sur la table de chirurgie avec un masque pour poursuivre l'anesthésie avec une concentration en isoflurane de 2%. Elle reçoit alors une injection sous cutanée 0.1ml/10g de buprénorphine concentré à 0.03mg/kg. La buprénorphine est un analgésique puissant

à action prolongée agissant sur les récepteurs morphiniques du système nerveux central. Son action débute après 15 à 20 min, atteint son pic après 1h et agit durant 6h. Au réveil de la souris après la chirurgie, nous aurons une analgésie puissante qui durera encore 4h post-chirurgie.

## **Procédure**

Durant la stabilisation de l'anesthésie et de l'analgésie, les poils de la souris sont tondu au niveau de la tête, des flancs et du bas du dos. La souris est ensuite placée dans le cadre stéréotaxique sur le ventre. On désinfecte le sommet de la tête avec de la chlorexidine alcoolique 0.5%. Ensuite, on incise la peau du crâne sur 10 mm et l'on nettoie l'os et les berges afin d'avoir une surface sèche et propre exempte de sang et de tissu conjonctif. On réalise une rotation à 180° de la souris pour mettre la souris sur le dos et l'on incise sur 15mm au niveau du cou. On crée ensuite un passage sous la peau vers la gauche entre le conduit auditif et l'œil pour rejoindre l'incision sur le dessus du crâne. La souris est placée sur le côté droit et les sondes (ENG, ECG, Ref) sont insérées dans le passage créé auparavant de la tête vers le cou. La souris est ensuite replacée sur le ventre, le connecteur est collé à la colle cyanoacrylate. La peau est également collée pour minimiser au maximum l'espace entre les câbles. On réalise un montage avec une résine dentaire pour protéger les câbles et sceller le connecteur à l'os du crâne.

Après les 5 min nécessaires au séchage de la résine, la souris est retournée sur le dos. Trois incisions sont faites (flanc gauche, droit et dos). Les électrodes ECG sont tunnelliées sous la peau pour ressortir dans les incisions des flancs et la référence dans le dos. Chaque électrode est fixée au muscle sous-conjonctif puis l'incision est nettoyée avec de l'Hibitane aqueux 0.05% et refermée avec 1 ou 2 agrafes. L'incision du cou est aussi nettoyée avec de l'Hibitane aqueux et est agrandie de la jonction des clavicules au milieu du cou. La sonde ENG est descendue sous la peau au niveau du thorax puis remontée en formant une boucle pour ne pas entraver les mouvements de la souris. Le câble de l'électrode est fixé au niveau du muscle sous clavière par un point de suture en ajustant la distance pour atteindre le nerf vague. Si besoin, le thymus est retiré et les muscles sternohyoïdiens et sternothyroïdiens sont écartés pour attendre le nerf vague. Celui-ci est délicatement séparé de la carotide sur 10mm à l'aide d'instrument en verre pour ne pas endommager le nerf. Un film de paraffine est placé sous le nerf pour l'isoler de la carotide et pouvoir le manipuler correctement. Le nerf vague est guidé dans la gouttière de la sonde puis celle-ci est refermée par 2 points de suture entre les contacts de la sonde. Le film de paraffine est

retiré, le câble est calé entre les muscles sternohyoïdiens et sternothyroïdiens qui sont fixés avec un point de colle chirurgicale. La zone est nettoyée à l'Hibitane aqueux et la peau est suturée avec du fil de suture non résorbable 4-0 en soie. Si besoin on peut ajouter quelques points de colle chirurgicale. La souris est sortie du cadre stéréotaxique et placée dans une cage propre sur une feuille de papier absorbante à 35°C. Elle se réveillera complètement en 10 à 20 min mais nous attendrons au moins 30min pour la replacer dans la pièce d'hébergement.

### **3.3.3 Enregistrement des signaux**

Nous réalisons l'acquisition des signaux ECG, ENG à l'aide d'un BioPac MP150 et un amplificateur AM système modèle 1700 Biopac ou d'un BioPac MP36 en fonction du nombre de sonde à connecter. Les signaux sont enregistrés à 20kHz. La plupart du temps les montages sont réalisés en configuration monopolaire en connectant l'électrode de référence à la masse du système d'enregistrement.

### **3.3.4 Induction de la crise audiogène**

Une période d'attente de 7 jours est nécessaire entre la chirurgie et l'enregistrement de la crise audiogène. Si l'enregistrement est possible dans cette période, l'isoflurane utilisé pour la chirurgie bloque les crises audiogènes provoquées. Pour réaliser la crise audiogène (modèle de SUDEP), on utilise une cuve cylindrique de 30cm de large. La cuve est surmontée de deux haut-parleurs connectés à un amplificateur audio. Le système est créé pour générer un bruit blanc à 110dB SPL. La souris est placée dans la cuve et est connectée au système d'acquisition. Le stimulus sonore est émis pour une minute maximum et est arrêté pendant la crise tonique de l'animal. Un enregistrement vidéo est effectué pour pouvoir annoter les signaux en post-traitement. En post-traitement, les signaux sont annotés pour indiquer les différentes phases de la crise audiogène. La figure 3.6 illustre le schéma d'acquisition des signaux pendant la manipulation.

### **3.3.5 Méthodes numériques**

#### **Traitement de l'ENG**

Comme dans la section 3.2.3, le signal ENG va être filtré avec un filtre de Butterworth d'ordre 4 [300 ;3000] Hz puis rectifié et intégré. La fenêtre d'intégration choisie pour l'ENG

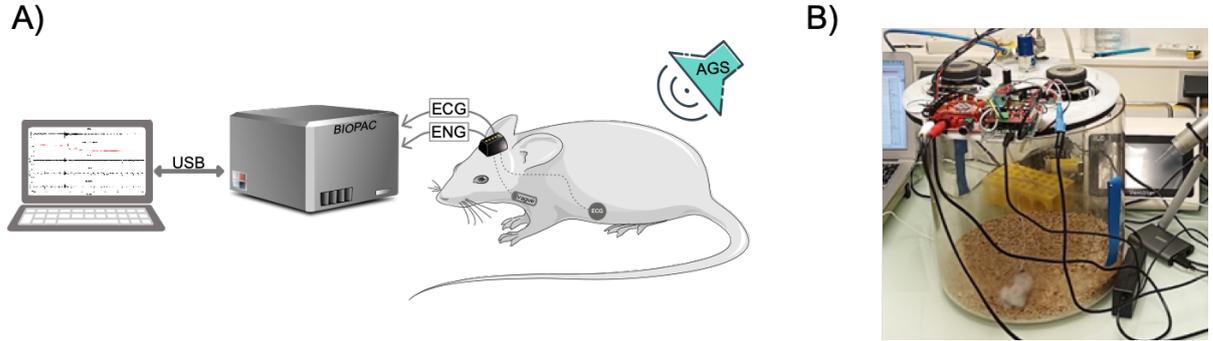


FIGURE 3.6 – A) Schéma du modèle d'induction de SUDEP par AGS. Le stimulus sonore représenté par le haut-parleur à droite va déclencher la crise d'épilepsie létale de la souris. La souris est instrumentée afin d'enregistrer les signaux ECG et ENG (3 voies d'enregistrement). Les signaux sont récupérés par le système d'acquisition BIOPAC et échantillonné à 20 kHz. B) Photo de la cuve dans laquelle est placée et instrumentée pendant la manipulation.

de la souris est de 1.5ms. Ce choix a été fait en comparant les dynamiques cardiovasculaires des deux animaux. Le rythme cardiaque moyen chez le mouton varie entre 65 et 80 bpm [165] contre 500 à 700 bpm chez la souris [166].

### Traitement de l'ECG

L'ECG va être filtré par un filtre de Butterworth d'ordre 4 passe-haut et par un Notch à 50Hz. À partir de l'ECG filtré les séries RR et PP sont estimées. Concernant la série RR un algorithme de Pan-Thompkins est d'abord appliqué puis une correction manuelle est faite pour éliminer/rajouter des ondes R à l'échantillon. Pour estimer la bradycardie le ratio suivant est calculé :

$$\Delta_{RR} = 100 \cdot \frac{\overline{RR}_{base} - \overline{RR}_{PI}}{\overline{RR}_{base}} \quad (3.7)$$

où  $\overline{RR}_{base}$  représente la moyenne de la série RR sur 10s avant la crise et  $\overline{RR}_{PI}$  celle post-ictale (10s après la crise).

Pour l'estimation des ondes P (présentes uniquement en phase post-ictale) une annotation manuelle est faite. Le LTSI a développé une fonction permettant l'annotation par une interface graphique. Le signal ECG filtré est envoyé dans cette interface et l'annotation est faite dans la phase post-ictale. Certaines ondes P peuvent parfois se confondre

avec le bruit ou les ondes QRS. Une interpolation linéaire est alors faite pour diminuer l'erreur de détection à vue. On estime également le ratio du bloc AV en calculant sur 10s la moyenne du rapport  $\frac{PP}{RR}$ , lorsqu'un bloc est présent. Le ratio est ensuite arrondi à l'entier le plus proche  $R$  et le bloc AV est caractérisé par le ratio  $R:1$ .

### Calcul de l'ENG moyen sur plusieurs cycles cardiaques

L'ENG rectifié et de l'ECG filtré sont alors découpés en  $N$  centré sur les ondes R puis moyennés avec le même processus que précédemment.

### 3.3.6 Résultats

Sur l'ensemble des expérimentations de SUDEP induites par AGS, 3 ont abouti à un résultat exploitable (les souris annotées 1, 2 et 3). L'intégralité des manipulations effectuées dans le cadre du projet AdaptVNS est résumée dans le tableau 3.1.

Nous avons pu rencontrer plusieurs types de problèmes :

- liés à l'enregistrement : présence de 50 Hz trop importante (pour les souris 2 et 4). Cette présence de 50Hz peut permettre l'étude comme sur la souris 2 mais détériore la qualité du signal,
- liés à la manipulation : la souris 4 n'a pas fait de SUDEP,
- liés à la manipulation : la souris 4 n'a pas fait de SUDEP, liés à la casse matériel (confirmé à la fin de la manipulation lors de l'extraction des sondes) : la souris 5 a présenté une sonde ECG cassé, sur la souris 6 les sondes UP et DOWN se sont cassés pendant la manipulation et la sonde MID en amont de la manipulation et sur la souris 7, le connecteur s'est décollé,
- liés à l'animal : la souris 8 est morte après la chirurgie au moment du réveil.

La chirurgie et la manipulation étant très complexes, l'un des problèmes majeurs confrontés a été la casse matérielle. Il faut noter également la modification des sondes ECG pour les souris 7 et 8 : afin d'améliorer le signal ECG, notamment pendant la crise, une électrode intrathoracique a été placée. Malheureusement aucun de ces 2 enregistrements n'a abouti.

Sur 8 expérimentations, 3 jeux de données ont pu être exploités complètement. Cette section présente : 1) un exemple de données détaillé sur une souris, 2) les résultats globaux de l'analyse sur les 3 souris.

TABLEAU 3.1 – Récapitulatif des différentes expérimentations effectuées dans le cadre de la thèse et du projet AdaptVNS. On retrouve le numéro de la souris, le nombre de sondes utilisées. Pour chaque jeu de données, la présence de l’augmentation de l’énergie vagale pendant la crise est notée (X) dans la colonne *Décharge*. La colonne *Bradycardie* indique la diminution du rythme des ondes R survenue après la crise et la colonne *Bloc AV* indique le ratio du bloc survenu. Les trois dernières colonnes répertorient quelques remarques sur le jeu de données : La colonne *Etats* donne l’issue de la manipulation ( S=SUDEP ; NS=No SUDEP ; NA=Non aboutie ; DC=Décès prématuré), la colonne *50Hz* indique une présence trop importante de 50Hz et la colonne *Casse* répertorie les casses matérielles qui sont survenues avant ou au cours de la manipulation.

Numéro	Sondes		Activité ENG	Activité ECG		Remarques		
	ENG	ECG	Décharge	Bradycardie	Bloc AV	Etats	50Hz	Casse
1	3	1	X	-34 %	2:1	S		
2	3	1	X	-51 %	3:1	S	X	
3	3	1	X	-77 %	2:1	S		
4	3	1	X			NS	X	
5	3	0	X			S		ECG 3 ENG Connectique
6	2	1	X	-53 %	2:1	S		
7	3	3				NA		
8	3	3				DC		

### Exemple de traitement et analyse de données

Le premier exemple présente une souris 129/SvTer (souris numéro 1) instrumentée décédée d’une SUDEP induite par AGS. La figure 3.7 présente les résultats d’une SUDEP chez cette souris induite par AGS. 4 phases sont représentées :

- La phase 1 qui correspond à la mise en place de l’animal et au réglage du moniteur d’enregistrement ; pendant cette phase le signal est bruité, des contacts physiques avec les câbles sont effectués afin de faciliter les mouvements de l’animal.
- La phase 2 est l’enregistrement de la ligne basale des signaux
- À 625s d’enregistrement le stimulus sonore est déclenché et la souris entre en crise d’épilepsie (phase 3). On peut remarquer une forte montée de bruit sur l’enregistrement de l’ECG et de l’ENG pendant cette phase provoquée par la course et les tremblements de la souris pendant la crise. Ce bruit est assimilé à de l’électromyogramme et une modification du contact nerf/électrode lors des mouvements.
- Une fois la crise tonique atteinte, le stimulus sonore est éteint. La souris se relâche et la crise s’arrête (phase 4)

Nous allons nous intéresser en détail aux phases 2, 3 et 4. L'étude de la phase 2 nous permettra de valider ou d'invalidier la chaîne de traitement définie. L'étude de la phase 3 restera succincte à cause de la présence non négligeable du bruit.

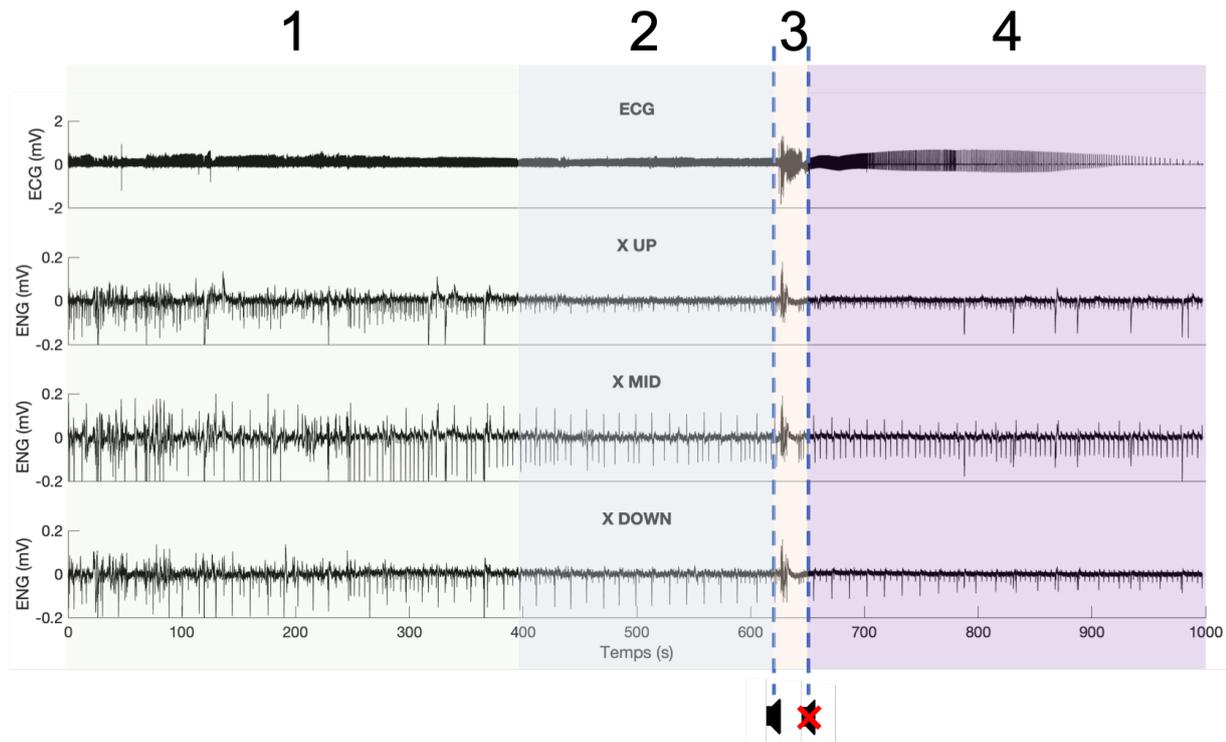


FIGURE 3.7 – Résultat d'un enregistrement ECG et de l'ENG vagal avec induction d'une AGS. La souris décède d'une SUDEP suite à la crise. 4 étapes de la manipulation sont indiquées : 1) Mise en place de l'animal et réglage du moniteur d'enregistrement ; 2) Enregistrement de la ligne basale du signal ; 3) Crise d'épilepsie ; 4) Relâchement de l'animal à la fin de la crise. Les deux droites verticales pointillées représentent le début et la fin du stimulus sonore.

### Phase 2 : Etude de la ligne basale

La ligne basale d'enregistrement correspond à la phase 2 de la figure 3.7. La chaîne de traitement définie précédemment a été appliquée. Les signaux plus détaillés (échelle de 50s entre les temps 400s et 450s) sont présentés sur la figure 3.8. L'enregistrement de l'ECG permet de distinguer les ondes R du signal pendant la ligne basale, le RR moyen sur cette section est estimé à  $657 \pm 52$  bpm. Cependant, sur cette section les ondes P n'étant pas visibles il a été impossible d'estimer les intervalles PP. Concernant les enregistrements des ENG du nerf vague, les décharges présentes sur les signaux sont des artéfacts électriques de fréquence estimée aux harmoniques du 50Hz. La chaîne de traitement arrive à bien éli-

miner ces artéfacts. En revanche, après traitement, il est impossible de discerner l'activité respiratoire à partir du nerf vague.

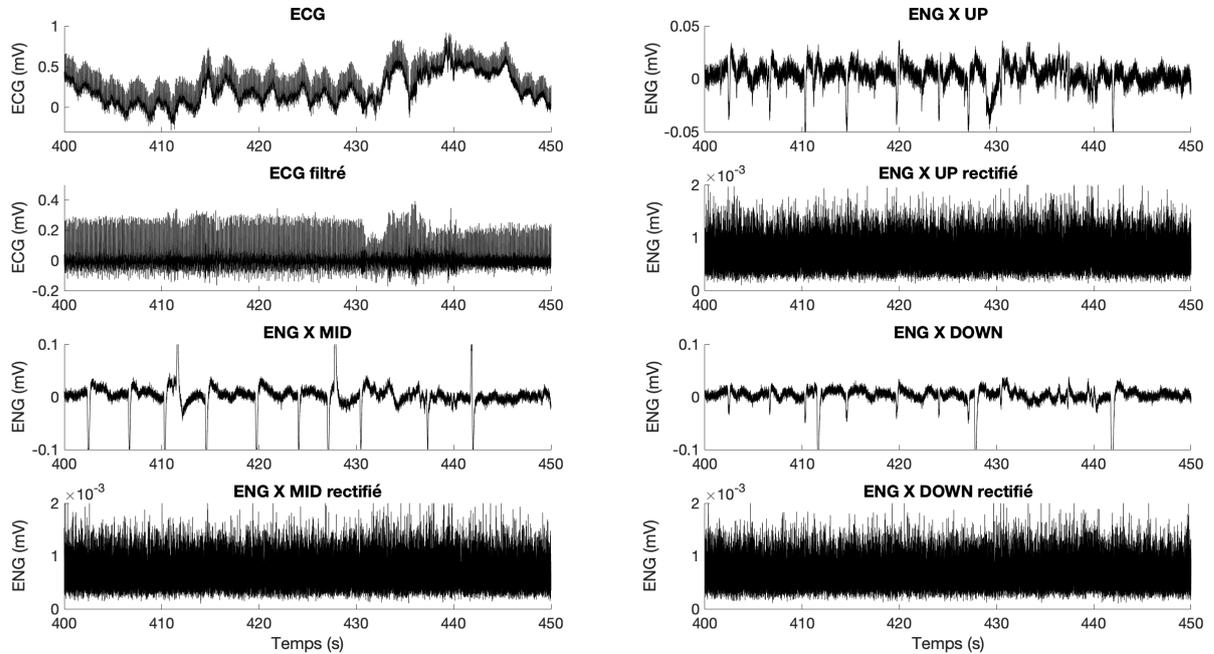


FIGURE 3.8 – Enregistrement des signaux pendant la phase 2 pré-AGS. Chacun des blocs de 2 graphes présente le signal brut et post-traitement. En haut à gauche le bloc ECG, à sa droite le bloc ENG du nerf vague enregistrée par l'électrode UP, en bas de gauche à droite les blocs ENG du nerf vague enregistrées respectivement par l'électrode MID et DOWN. Sur le bloc ECG, l'enregistrement permet de distinguer les ondes R. Sur les blocs ENG, les décharges présentes sont des artéfacts du 50Hz qui sont traités par la chaîne de traitement proposée. Sur les signaux ENG filtrés, la fréquence respiratoire n'est pas distinguable et le bruit est conséquent.

La figure 3.9 représente la synchronisation ENG rectifié moyen avec l'ECG moyen sur 50 artéfacts QRS. De la même façon que précédemment, l'échelle temporelle est centrée sur l'artéfact. L'amplitude pic à pic du signal rectifié est très faible ( $5.9 \mu\text{V}$  pour l'électrode UP ;  $5.2 \mu\text{V}$  pour l'électrode MID ;  $5.3 \mu\text{V}$  pour l'électrode DOWN). De plus, nous n'observons pas la même dynamique locale présente dans les expérimentations PSPCIntense. Ni la diminution de l'activité avant le battement ni l'augmentation de l'activité après le battement ne sont présentes. Cette absence de dynamique peut être la conséquence d'une prédominance du bruit par rapport au signal vagal utile. Nous estimons aujourd'hui ne pas avoir réussi à enregistrer correctement le signal utile du nerf vague vis-à-vis du bruit pour ce modèle expérimental. Nous allons par la suite nous soustraire

de la synchronisation de l'ENG rectifié moyen avec l'ECG moyen.

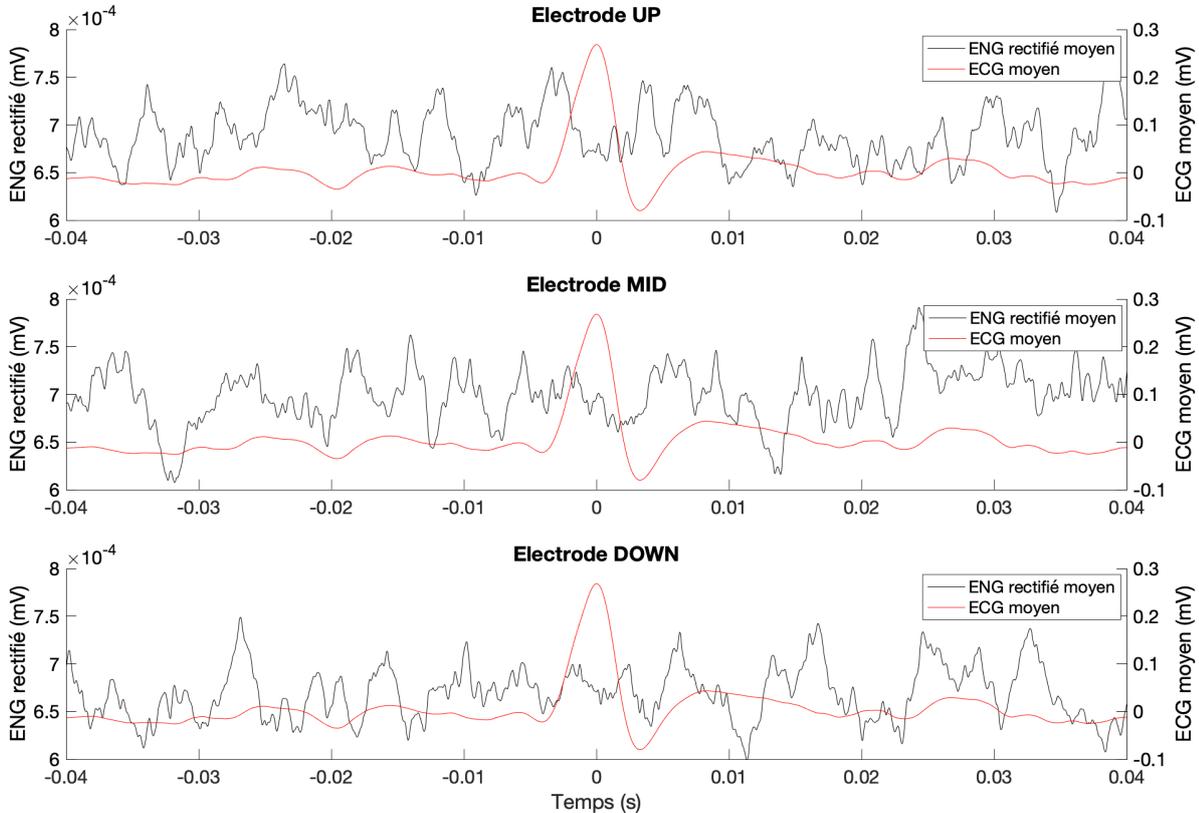


FIGURE 3.9 – Synchronisation ENG rectifié moyen avec l'ECG moyen. En noir, moyenne des ENG rectifiés, en rouge, moyenne des ECG. Les moyennes sont faites sur 50 artéfacts QRS détectés par un seuil fixe avec correction manuelle. Pour les signaux enregistrés par les 3 électrodes, nous n'observons pas la diminution caractéristique avant l'artéfact QRS ni l'augmentation après l'artéfact.

### Phase 3 : Etude de la crise d'épilepsie

Aux environs de 625s d'enregistrement le stimulus sonore est mis en marche déclenchant une crise d'épilepsie chez la souris quelques secondes après. La figure 3.10 montre les différentes étapes de la crise :

- Course folle (CF) : Quelques secondes après l'enclenchement du stimulus la souris se met à courir de manière frénétique dans la cuve,
- Crise tonico-clonique (CTC) : Pendant sa course la souris finit par chuter et se raidir au sol pendant de courtes secondes,
- Crise tonique (CT) : La souris commence par être prise de spasme et d'un raidissement musculaire global. Le son est alors arrêté,

- Relâchement musculaire (phase 3) : après l'arrêt du stimulus, les muscles de la souris se relâchent progressivement.

La figure 3.10 illustre les étapes de la crise et les enregistrements du nerf vague et de l'ECG pendant ces différentes étapes. Les périodes de CF, CTC et CT se produisent pendant la phase 3 définie dans la figure 3.7 et durent 17s. Pendant ces trois périodes il a été impossible d'estimer la fréquence des ondes R à cause d'un bruit trop important créé par les mouvements frénétiques de la souris. En revanche, une forte bradycardie est visible dès le relâchement musculaire par rapport au rythme basal. Il est rassurant d'obtenir la présence d'une bradycardie à l'issue de la crise, comme le suggère l'une des hypothèses primordiales du projet AdaptVNS, comme illustré par la figure 1.7 en introduction. La fréquence cardiaque a chuté de 34% à l'issue de la crise. Cependant, nous ne pouvons pas affirmer que la bradycardie est déclenchée dès le début de la crise, les dynamiques pendant la crise ne sont pas non plus estimables.

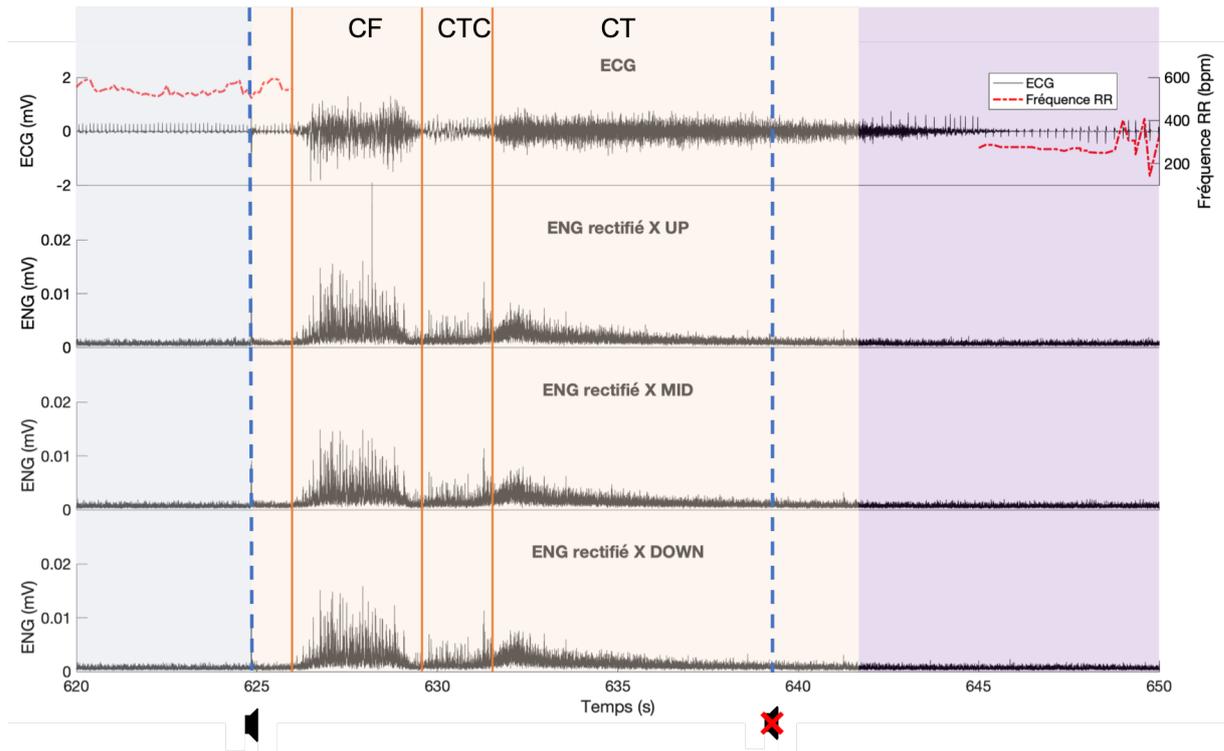


FIGURE 3.10 – Enregistrement des signaux ENG rectifiés et ECG pendant une AGS. On retrouve chez la souris trois phases épileptiques : une course folle (CF), une crise tonico-clonique (CTC) et une crise tonique (CT). À l'arrêt du stimulus sonore un relâchement musculaire progressif est observé ainsi qu'un fort épisode bradycardique. La crise est létale. La fréquence RR n'a pas pu être estimée pendant les phases CF, CTC et CT.

Concernant l'activité vagale observée, comme il a été illustré avec les résultats précurseurs à AdaptVNS (voir figure 1.7), une augmentation significative de l'énergie de l'ENG vagal est observée pendant chacune des étapes de la crise (+230% pendant la CF, +92% pendant la CTC et +79% pendant la CT). Cependant, même si l'on soupçonne une activité vagale importante due à la présence d'une bradycardie post-crise, il est impossible de déterminer si la nature de la décharge d'activité enregistrée est uniquement vagale ou un mélange de signaux, notamment du signal myographique. L'une des hypothèses limitantes à l'enregistrement est la présence très forte d'EMG pendant la crise, l'énergie accrue de l'ENG enregistré pourrait être causée par cette présence.

#### **Phase 4 : Etude de l'ECG pendant la phase de relâchement**

L'un des marqueurs les plus impactants qui semble caractéristique d'une crise d'épilepsie est cette profonde bradycardie. Cependant elle ne semble pas être caractéristique d'un événement léthal comme la SUDEP. Certaines AGS marquées par cette bradycardie ne sont pas nécessairement létales, c'est effectivement le cas des résultats pré-AdaptVNS illustrés par la figure 1.7. Il convient donc de déterminer d'autres marqueurs de SUDEP. La figure 3.11 représente l'ECG filtré après la crise avant l'arrêt cardiaque complet. On observe à l'œil nu la bradycardie annoncée dans la sous-section précédente. Aux alentours de 670s, un épisode tachycardique se déclenche spontanément (néanmoins toujours avec une fréquence cardiaque inférieure à la fréquence basale). Cet épisode précède une nouvelle bradycardie qui va s'intensifier jusqu'à l'arrêt cardiaque de l'animal. On note également la présence de plusieurs blocs atrio-ventriculaire (AV), en effet aux alentours de 676s on observe une régularité des ondes P alors que les ondes R viennent à manquer. En conséquence les fréquences des ondes P et R ont été estimées et représentées sur le graphe en bas de la même figure. Les ondes P étant difficiles à discerner, le début du graphique présente beaucoup d'incertitudes. Dans un premier temps on observe bien une tachycardie vers 670s avec l'augmentation de la fréquence cardiaque. À partir de 651s les ondes P deviennent facilement discernables. Vers 676s la fréquence des ondes R décroche celle des ondes P avec un ratio 2:1. Ce bloc s'atténue vers 695s, les ondes P ralentissent et reviennent à hauteur de la fréquence des ondes R. Un nouvel épisode de bradycardie (au sens fréquence des ondes R) arrive vers 702s néanmoins les ondes P restent à la même fréquence. Un bloc AV est de nouveau présent avec un ratio 2:1. Ce bloc reste présent et s'accroît jusqu'à l'arrêt cardiaque de l'animal quelques minutes plus tard.

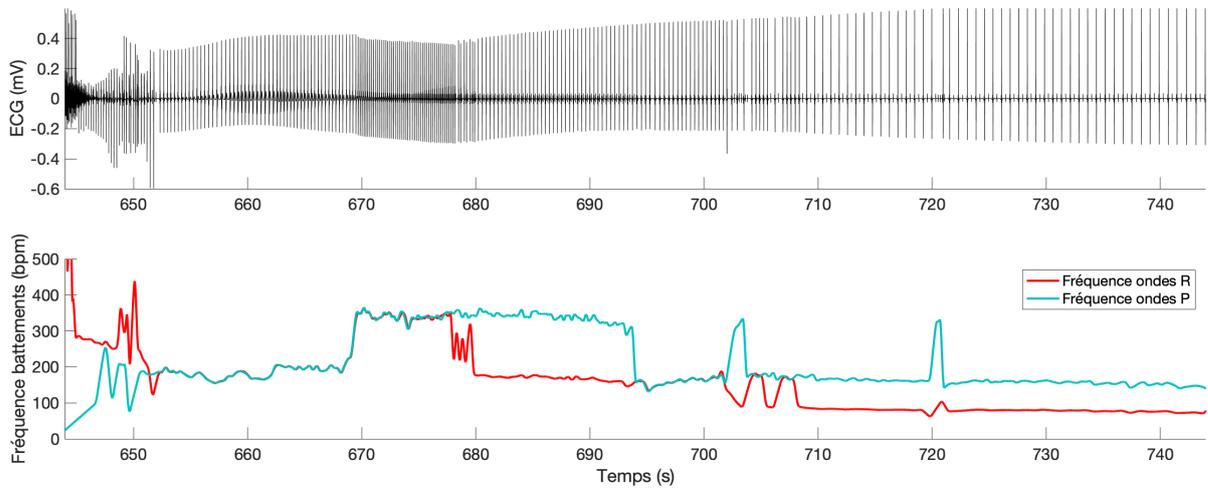


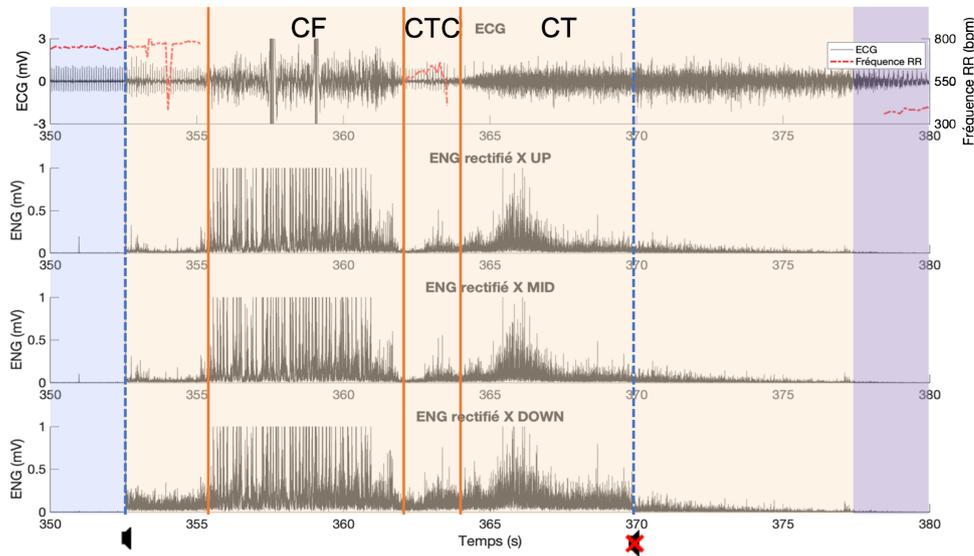
FIGURE 3.11 – Enregistrement de l’ECG après la crise d’épilepsie. En haut, le signal ECG filtré. On peut observer à l’œil nu des disparitions de l’onde R alors que l’onde P reste présente. Il s’agit de bloc atrio-ventriculaire (AV). En bas, les fréquences des ondes R et des ondes P. La dissociation entre les fréquences des ondes P et R autour de 676s illustre bien la présence d’un bloc AV. Les ondes P semblent raccrocher les ondes R à 695s mais un nouveau bloc s’opère vers 702s. Ce bloc reste présent jusqu’à l’arrêt cardiaque de l’animal.

## Résultats globaux

Les enregistrements de 3 souris sont viables. La figure 3.12 présente les enregistrements pendant l’AGS des souris 2 et 3. Sur l’enregistrement de la souris numéro 2 on observe une décharge d’activité enregistrée par la sonde ENG pendant la crise ainsi qu’une bradycardie avec une diminution de la fréquence des ondes R de 51%. Sur cet enregistrement nous avons pu estimer sur une faible fenêtre la série RR pendant la phase tonico-clonique. Une diminution de la fréquence des ondes R de 17%. Concernant les enregistrements de la souris 3 nous avons pu observer la présence de trois courses folles avant les phases tonico-clonique et tonique. À l’issue des deux premières courses folles, aucune bradycardie n’est observée. En revanche, une diminution du rythme cardiaque de 77% est constatée après les phases tonico-clonique et tonique. On remarque aussi également une augmentation de l’activité vagale pendant les courses et pendant la crise.

Les estimations des séries RR et PP pendant la phase post-ictale chez la souris 2 et 3 sont données en figure 3.13. Si la fréquence des ondes P chez la souris 2 varie autour de 410 bpm, on constate une diminution importante de la fréquence des ondes R (-75%) autour des 410s. On observe un bloc AV de ratio 3:1. Concernant la souris 3, nous pouvons

### Souris 2



### Souris 3

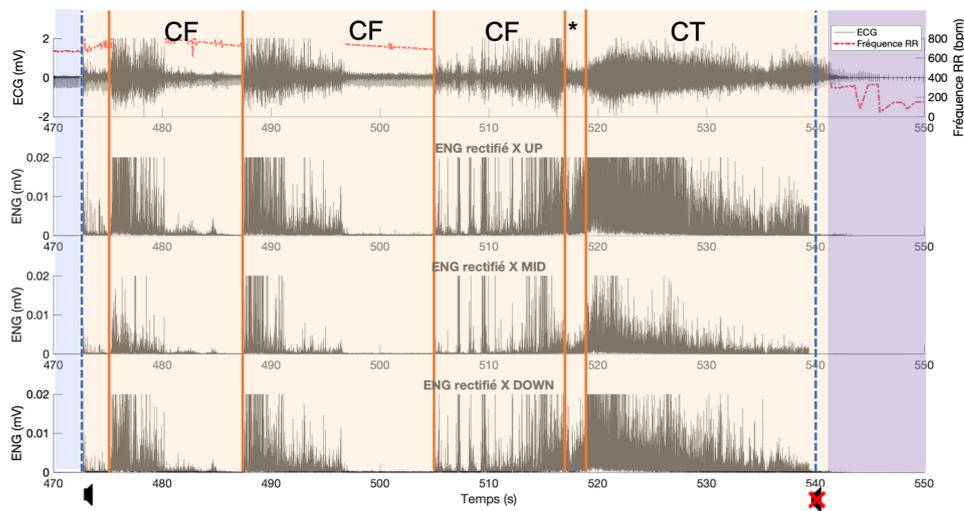


FIGURE 3.12 – Enregistrement des signaux ENG et ECG pendant une AGS chez la souris 2 et la souris 3. Souris 2 : À l'issue de la crise un épisode bradycardique est observé. On remarque également une faible fenêtre d'observabilité pendant la crise tonico-clonique pour laquelle la série RR a pu être estimée et on observe une légère bradycardie déjà à cette étape. Souris 3 : cette souris a fait 3 courses folles avant de rentrer dans la CTC puis la CT. À l'instar des souris 1 et 2 une bradycardie post-ictale est présente. En revanche on remarque que la bradycardie intervient uniquement avec la présence des phases CTC et CT.

aussi observer plusieurs blocs AV. Pendant les 15 premières secondes le rythme des ondes R (moyenne :  $159 \pm 52$  bpm) est moins élevé que celui des ondes P (moyenne :  $261 \pm 89$  bpm), un premier bloc de ratio 2:1. À 560s les ondes R raccrochent les ondes P avant un nouveau bloc 2:1 vers 572s de 10s. À la seconde 610 un nouveau bloc définitif 2:1 est présent. Il reste présent jusqu'à la mort de l'animal.

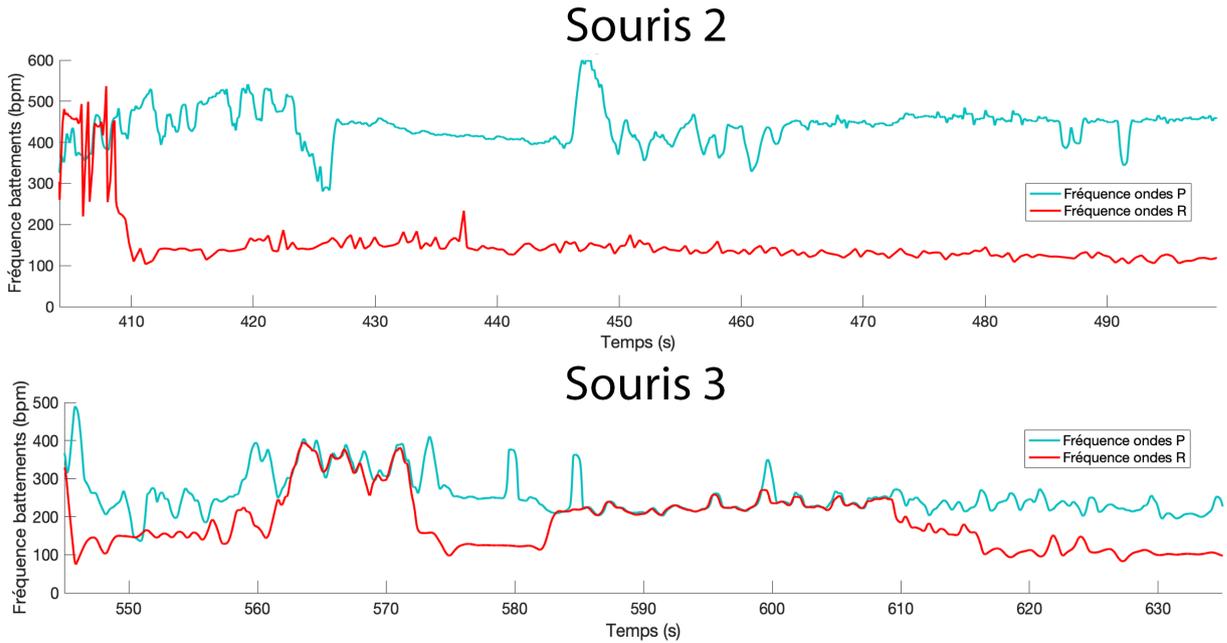


FIGURE 3.13 – Estimation des fréquences PP et RR après le relâchement de l'animal. Souris 2 : à 410s les ondes R décrochent totalement les ondes P avec un ratio de 3:1 présentant un bloc AV. Souris 3 : Les ondes R décrochent les ondes P sur les 15 premières secondes puis reviennent à la même fréquence que les ondes P. Un nouveau bloc est présent entre les secondes 572 et 582 et après 609s un bloc définitif est présent avec un ratio 2:1.

### 3.3.7 Discussion

L'objectif de ce chapitre était de présenter plusieurs enregistrements inédits d'un électroneurogramme du nerf vague pendant une AGS.

Cependant, l'enregistrement du nerf vague chez la souris pour ce modèle d'induction présente de nombreuses limites : 1) le nerf vague chez la souris est très petit et est donc très difficile à enregistrer en limitant le bruit, 2) la souris étant libre de mouvement pendant la durée d'expérimentation, l'enregistrement présente une forte sensibilité à l'énergie de l'électromyogramme, 3) de plus, il y a un risque potentiel de casse pendant et avant

l'expérimentation, 4) l'isoflurane (anesthésiant utilisé) provoque une désensibilisation à la SUDEP chez la souris, il faut donc attendre une semaine après la chirurgie pour la manipulation, dont l'une des conséquences est décrite au point précédent. Pour certaines de ces raisons, il n'a pas été possible d'enregistrer le nerf vague avec précision dans ce contexte. En effet, sur les différents enregistrements nous ne retrouvons pas le comportement observé sur les jeux de données du projet PSPC Intense. La différence majeure entre les deux manipulations est le modèle expérimental. Dans le projet PSPC Intense, des moutons sont instrumentés et sous anesthésie. Dans le projet AdaptVNS, ce sont des souris réveillées et libres de mouvement. Le challenge d'enregistrement est bien plus conséquent chez la souris puisqu'il s'agit d'un plus petit animal libre de mouvement. Il s'agit de la raison principale du travail préliminaire : pouvoir évaluer la pertinence de l'enregistrement. En revanche, une activité de l'ENG du nerf vague plus importante est présente pendant la crise d'épilepsie et en amont de la bradycardie parfois observée lors d'une crise d'épilepsie [167], [168] sur chacun des jeux de données enregistrés. De même, on retrouve effectivement une bradycardie post-ictale dans ce contexte d'expérimentations. Plusieurs blocs atrio-ventriculaire ont aussi été observés. La littérature répertorie déjà quelques observations de ces blocs chez la souris [152] et chez l'homme [168].

### **Activité autonome associée à la SUDEP**

L'une des explications majeures proposées de la SUDEP est une inhibition centrale de la respiration pendant la crise qui provoque une réduction importante de la  $pO_2$  entraînant ainsi qu'un ralentissement du rythme cardiaque [169], [170]. Cette inhibition du rythme cardiaque a été observée par une bradycardie post-ictale récurrente dans le modèle AGS chez la souris 129/SvTer. On retrouve cette bradycardie chez l'homme mais dans une proportion bien moindre puisqu'elles sont présentes pour 5% des crises d'épilepsie [167]. En revanche, la bradycardie post-ictale est très fréquente dans les cas de SUDEP. Philippe Ryvlin répertorie, dans la base de données MORTEMUS des bradycardies durant les 3 minutes suivant la crise chez tous les patients dont la SUDEP a été surveillée [170]. La bradycardie post-ictale semble être un facteur de SUDEP sans être nécessairement présente pendant une crise d'épilepsie sans SUDEP.

De plus, des dissociations atrio-ventriculaires ont pu être observées à l'issue de la crise. Nous avons répertorié sur l'ensemble des jeux de données trois souris présentant ces blocs dans la phase post-ictale. Ces derniers sont peu répertoriés lors d'une SUDEP, Schilling décrit cette apparition des blocs comme conséquence de l'arrêt brutal de la respiration

pendant la crise [152]. Toutes ces arythmies possibles qui apparaissent dans la période post-ictale pourraient être causées par une activité vagale dans l'innervation cardiaque importante et inattendue [171]-[173]. L'influence du nerf vague sur le nœud AV a été décrite notamment lors de travaux sur l'influence de la stimulation du nerf vague sur le nœud atrio-ventriculaire [174], [175]. Cependant, aucun enregistrement présentant l'ENG vagal et la présence de bloc AV n'est présent dans la littérature. On trouve néanmoins des rapports de cas [176], [177] de blocs AV présupposant d'une activité vagale importante (présence de vomissements, toux, difficulté à avaler et hoquet).

### **Variables de contrôle pour une neuromodulation en boucle fermée**

Nos résultats mettent en évidence 1) une augmentation de l'ENG pendant la crise d'épilepsie 2) une forte bradycardie suivant la crise et 3) des dissociations atrio-ventriculaires. Ces marqueurs, extraits de nos résultats, sont des variables de contrôles potentielles pour la neuromodulation en boucle fermée. Dès la détection d'un événement cité en parallèle d'une crise, le contrôleur considère un risque de SUDEP et déclenche une stimulation du nerf vague visant à bloquer les efférences du signal vagal et bloquant ainsi la mort subite.

Même si nos résultats mettent en évidence une augmentation importante du signal ENG pendant la crise, cette observation doit être prise avec précaution car nous sommes incapables de discerner si l'activité est relative à l'énergie vagale ou de l'EMG, qui est particulièrement présent pendant la phase de course folle. Néanmoins, cette augmentation de l'énergie enregistrée sur le nerf vague conjointe avec la présence d'une bradycardie laisse fortement penser à une activation vagale importante même si on ne peut aujourd'hui pas l'affirmer. Ce manque de visibilité pendant la crise d'épilepsie est la limite principale de la détermination de variable de contrôle.

Les dissociations atrio-ventriculaires, observées chez les trois souris, constituent des potentielles variables de contrôles pour la neuromodulation en boucle fermée. Cette variable est particulièrement prometteuse car l'ECG peut être plus facilement accessible que l'ENG dans certains cas. Néanmoins, le problème de non visibilité pendant la crise peut également s'appliquer. Nos travaux futurs doivent consister à proposer un protocole utilisant une électrode ECG intrathoracique (et non plus surfacique) afin d'obtenir un meilleur enregistrement pendant la crise et certains verrous expérimentaux doivent être encore levés (colle fixant la connectique des électrodes,...).

## Difficultés expérimentales

Il faut noter la complexité de cette expérimentation. Afin d'instrumenter la souris, la chirurgie nécessaire est très longue et risquée pour l'animal, cependant une seule souris est décédée suite à la chirurgie. La deuxième grande limitation expérimentale est l'utilisation de l'anesthésiant, il a été détecté, après plusieurs expérimentations, que l'anesthésiant utilisé, l'isoflurane, bloque l'AGS, il est nécessaire d'attendre une semaine entre la chirurgie et la manipulation. Cette limite implique une conséquence qui détériore la qualité de l'enregistrement, la souris vivant pendant une semaine avec les sondes implantées peut lors de ses mouvements provoquer un déplacement des électrodes voire les casser. Certaines expérimentations n'ont pu aboutir à cause de la casse des électrodes.

## Limites du modèle expérimental

Comme précisé précédemment, le modèle d'AGS est un des modèles les plus fiables [160] chez la souris. En effet, chez la souris 129/SvTer, nous avons réussi à engendrer une lignée répondant à 90% au modèle AGS. Même si la lignée de souris reste précise, l'instrumentation sur la souris est complexe pour l'enregistrement du nerf vague, puisque le nerf est bien plus fin que chez le rat par exemple (de 250 à 320  $\mu\text{m}$  chez le rat [131] contre 110 à 190  $\mu\text{m}$  chez la souris [178]). Nous avons préféré induire la crise par un moyen non invasif électriquement ou chimiquement chez la souris, la SUDEP n'étant pas induite par AGS chez le rat [162].

Néanmoins, l'enregistrement du nerf vague chez la souris reste difficile et la technologie d'électrode doit être capable de fournir un rapport signal sur bruit d'enregistrement suffisant. C'est pour cette raison que nous avons proposé une technologie d'électrode organique désignée par l'INS (voir le chapitre 2). Malheureusement, ce design d'électrode n'a pas donné de résultats dans le cadre d'expérimentations *in vivo* comme le modèle AGS proposé. Ces électrodes étaient trop fragiles pour supporter les mouvements de l'animal et notamment pendant la course folle. Nous avons fait le choix de revenir sur des électrodes commercialisées MicroProbes. Même si le risque de casse n'est pas nul, ces électrodes ont pu être utilisées mais n'ont pas permis un enregistrement fiable de l'ENG vagal. Ensuite, un problème d'anesthésiant est survenu. Il s'est avéré que l'isoflurane (anesthésiant utilisé et annoncé dans les protocoles éthiques) limite très fortement le phénomène de SUDEP, voire le bloque totalement. L'une des conséquences de cette influence de l'isoflurane impose un temps de repos après la chirurgie de l'animal d'une semaine. Pendant

cette période, l'animal cohabite avec les sondes instrumentées, ce qui augmente la probabilité de casse. Cette conséquence impose des contraintes temporelles et de prévision des expérimentations, ce qui explique l'impossibilité de multiplier les enregistrements.

À cela s'ajoute la crise COVID-19 qui a frappé le monde des expérimentations animales : l'INS de Marseille, responsable des manipulations *in situ* a dû mettre fin à ces expérimentations, consistant en l'enregistrement du nerf vague dans ce cadre *in situ*. Bien évidemment, cela a bouleversé tout le planning d'expérimentations animales.

### 3.4 Conclusion

Une contribution importante de mon travail de thèse est l'analyse des signaux ENG et ECG obtenus lors de crises suivies d'un arrêt cardiorespiratoire induites par AGS chez des souris 129/SvTer âgées de 18 à 28 jours. Une chaîne de traitement des signaux a pu être proposée afin d'analyser 1) l'activité vagale à partir de l'ENG et 2) les modifications des intervalles RR et PP lors de la SUDEP. Les résultats ont permis d'identifier une augmentation de l'énergie du signal ENG pendant la crise, même si les signaux restent difficiles à analyser pendant les crises d'épilepsie. Après détection des intervalles RR et PP sur l'ECG, une dissociation atrio-ventriculaire a pu être mise en évidence chez certaines souris précédant les événements cardiorespiratoires. Ces marqueurs constituent des potentielles variables de contrôles pour la neuromodulation en boucle fermée. Ce chapitre met également en évidence les difficultés expérimentales liées à l'évaluation de l'activité vagale et des interactions cardiorespiratoires pendant une crise d'épilepsie et pour l'étude de la SUDEP. Même si ces résultats doivent être consolidés sur une population plus importante, les travaux proposés dans ce travail de thèse sont prometteurs en particulier concernant la mesure et le traitement du signal ENG lors d'une SUDEP et pour la proposition de variables de contrôle permettant la définition d'une neuromodulation avancée en boucle fermée.

# BIBLIOGRAPHIE

---

- [3] D. OJEDA, V. L. ROLLE, H. M. ROMERO-UGALDE et al., « Sensitivity Analysis of Vagus Nerve Stimulation Parameters on Acute Cardiac Autonomic Responses : Chronotropic, Inotropic and Dromotropic Effects. », *PLoS ONE*, t. 11, 9, e0163734, 2016. DOI : 10.1371/journal.pone.0163734.
- [5] H. ROMERO UGALDE, V. ROLLE, J.-L. BONNET et al., « Closed-Loop Vagus Nerve Stimulation Based on State Transition Models », *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, t. PP, oct. 2017. DOI : 10.1109/TBME.2017.2759667.
- [8] C. GALLET, S. BONNET, V. LE ROLLE et al., « Characteristics of the right cervical vagal activity during baseline and Valsalva-like manoeuvre », in *2015 7th International IEEE/EMBS Conference on Neural Engineering (NER)*, avr. 2015, p. 988-991. DOI : 10.1109/NER.2015.7146792.
- [41] F. ZANNAD, G. M. DE FERRARI, A. E. TUINENBURG et al., « Chronic vagal stimulation for the treatment of low ejection fraction heart failure : results of the NEural Cardiac TherApy foR Heart Failure (NECTAR-HF) randomized controlled trial », *Eur Heart J*, t. 36, 7, p. 425-433, fév. 2015.
- [47] L. BARONE, G. COLICCHIO, D. POLICICCHIO et al., « Effect of vagal nerve stimulation on systemic inflammation and cardiac autonomic function in patients with refractory epilepsy », *Neuroimmunomodulation*, t. 14, 6, p. 331-336, 2007.
- [57] K. CHAKRAVARTHY, H. CHAUDHRY, K. WILLIAMS et P. J. CHRISTO, « Review of the Uses of Vagal Nerve Stimulation in Chronic Pain Management », *Current Pain and Headache Reports*, t. 19, 12, p. 54, oct. 2015, ISSN : 1534-3081. DOI : 10.1007/s11916-015-0528-6. adresse : <https://doi.org/10.1007/s11916-015-0528-6>.
- [61] P. RYVLIN, E. L. SO, C. M. GORDON et al., « Long-term surveillance of SUDEP in drug-resistant epilepsy patients treated with VNS therapy », *Epilepsia*, t. 59, 3, p. 562-572, mars 2018.

- 
- [100] C. RUSSELL, A. ROCHE et S. CHAKRABARTY, « Peripheral nerve bionic interface : a review of electrodes », *International Journal of Intelligent Robotics and Applications*, t. 3, mars 2019. DOI : 10.1007/s41315-019-00086-3.
- [101] M. SAHIN, M. A. HAXHIU, D. M. DURAND et I. A. DRESHAJ, « Spiral nerve cuff electrode for recordings of respiratory output », *Journal of Applied Physiology*, t. 83, 1, p. 317-322, 1997, PMID : 9216978. DOI : 10.1152/jappl.1997.83.1.317. eprint : <https://doi.org/10.1152/jappl.1997.83.1.317>. adresse : <https://doi.org/10.1152/jappl.1997.83.1.317>.
- [107] P. B. YOO, M. SAHIN et D. M. DURAND, « Selective stimulation of the canine hypoglossal nerve using a multi-contact cuff electrode », *Ann Biomed Eng*, t. 32, 4, p. 511-519, avr. 2004.
- [109] L. KERGOAT, G. DIEUSET, V. LE ROLLE et al., « PEDOT :PSS electrodes for acute experimental evaluation of vagus nerve stimulation on rodents », in *2018 40th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, t. 2018-July, Honolulu, France : IEEE, 2018, p. 4760-4763. DOI : 10.1109/EMBC.2018.8513235. adresse : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02408297>.
- [110] F. DECATALDO, T. CRAMER, D. MARTELLI et al., « Stretchable Low Impedance Electrodes for Bioelectronic Recording from Small Peripheral Nerves », *Scientific Reports*, t. 9, juill. 2019. DOI : 10.1038/s41598-019-46967-2.
- [118] G. L. MOREL, « Feasibility and advantages of real-time monitoring of diaphragmatic ventilatory fatigue in anesthesiology and in intensive care unit », Theses, Université Jean Monnet - Saint-Etienne, sept. 2014. adresse : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01174062>.
- [131] A. RODRIGUES, R. FERREIRA, H. SALGADO et V. FAZAN, « Morphometric analysis of the phrenic nerve in male and female Wistar-Kyoto (WKY) and spontaneously hypertensive rats (SHR) », *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, t. 44, 6, p. 583-591, juin 2011. DOI : 10.1590/s0100-879x2011007500053. adresse : <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2011007500053>.
- [145] J. GOTTSCHALL, « The diaphragm of the rat and its innervation. Muscle fiber composition ; perikarya and axons of efferent and afferent neurons », *Anatomy and Embryology*, t. 161, p. 405-417, 2004.

- [149] M. MAGUIRE, C. JACKSON, A. MARSON et S. NEVITT, « Treatments for the prevention of Sudden Unexpected Death in Epilepsy (SUDEP) », *Cochrane Database of Systematic Reviews*, t. 4, avr. 2020. DOI : 10.1002/14651858.CD011792.pub3.
- [150] T. A. MANOLIS, A. A. MANOLIS, H. MELITA et A. S. MANOLIS, « Sudden unexpected death in epilepsy : The neuro-cardio-respiratory connection », *Seizure*, t. 64, p. 65-73, jan. 2019.
- [151] M. R. SPERLING, « Sudden Unexplained Death in Epilepsy », *Epilepsy Curr*, t. 1, 1, p. 21-23, sept. 2001.
- [152] W. P. SCHILLING, M. K. MCGRATH, T. YANG, P. A. GLAZEBROOK, C. L. FAINGOLD et D. L. KUNZE, « Simultaneous cardiac and respiratory inhibition during seizure precedes death in the DBA/1 audiogenic mouse model of SUDEP », *PLoS One*, t. 14, 10, e0223468, 2019.
- [153] D. C. HESDORFFER, T. TOMSON, E. BENN et al., « Combined analysis of risk factors for SUDEP », *Epilepsia*, t. 52, 6, p. 1150-1159, juin 2011.
- [154] H. J. FENG et C. L. FAINGOLD, « Abnormalities of serotonergic neurotransmission in animal models of SUDEP », *Epilepsy Behav*, t. 71, Pt B, p. 174-180, juin 2017.
- [155] C. L. FAINGOLD, M. RANDALL et S. P. KOMMAJOSYULA, « Susceptibility to seizure-induced sudden death in DBA/2 mice is altered by adenosine », *Epilepsy Res*, t. 124, p. 49-54, août 2016.
- [156] C. L. FAINGOLD, S. P. KOMMAJOSYULA, X. LONG, K. PLATH et M. RANDALL, « Serotonin and sudden death : differential effects of serotonergic drugs on seizure-induced respiratory arrest in DBA/1 mice », *Epilepsy Behav*, t. 37, p. 198-203, août 2014.
- [157] C. L. FAINGOLD et M. RANDALL, « Effects of age, sex, and sertraline administration on seizure-induced respiratory arrest in the DBA/1 mouse model of sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) », *Epilepsy Behav*, t. 28, 1, p. 78-82, juill. 2013.
- [158] E. L. SO, « What is known about the mechanisms underlying SUDEP ? », *Epilepsia*, t. 49 Suppl 9, p. 93-98, déc. 2008.
- [159] A. P. PANSANI, D. B. COLUGNATI, C. A. SCORZA, A. C. de ALMEIDA, E. A. CAVALHEIRO et F. A. SCORZA, « Furthering our understanding of SUDEP : the role of animal models », *Expert Rev Neurother*, t. 16, 5, p. 561-572, mai 2016.

- 
- [160] B. MARTIN, G. DIEUSET, J. L. PAWLUSKI, N. COSTET et A. BIRABEN, « Audiogenic seizure as a model of sudden death in epilepsy : A comparative study between four inbred mouse strains from early life to adulthood », *Epilepsia*, t. 61, 2, p. 342-349, fév. 2020.
- [161] L. V. VINOGRADOVA, « Audiogenic kindling and secondary subcortico-cortical epileptogenesis : Behavioral correlates and electrographic features », *Epilepsy Behav*, t. 71, Pt B, p. 142-153, juin 2017.
- [162] J. L. FULLER et F. H. SJURSEN, « Audiogenic seizures in eleven mouse strains », *J Hered*, t. 58, 3, p. 135-140, 1967.
- [163] K. C. ROSS et J. R. COLEMAN, « Developmental and genetic audiogenic seizure models : behavior and biological substrates », *Neurosci Biobehav Rev*, t. 24, 6, p. 639-653, août 2000.
- [164] N. G. GREGORY, A. R. AUDSLEY et D. LISTER, « Studies on the sympathetic nervous system : the Valsalva like manoeuvre in sheep », *Res Vet Sci*, t. 30, 3, p. 284-287, mai 1981.
- [165] T. KONOLD et G. E. BONE, « Heart rate variability analysis in sheep affected by transmissible spongiform encephalopathies », *BMC Res Notes*, t. 4, p. 539, déc. 2011.
- [166] D. HO, X. ZHAO, S. GAO, C. HONG, D. E. VATNER et S. F. VATNER, « Heart Rate and Electrocardiography Monitoring in Mice », *Curr Protoc Mouse Biol*, t. 1, p. 123-139, mars 2011.
- [167] S. S. ALLANA, H. N. AHMED, K. SHAH et A. F. KELLY, « Ictal bradycardia and atrioventricular block : a cardiac manifestation of epilepsy », *Oxf Med Case Reports*, t. 2014, 2, p. 33-35, mai 2014.
- [168] P. TINUPER, F. BISULLI, A. CERULLO et al., « Ictal bradycardia in partial epileptic seizures : Autonomic investigation in three cases and literature review », *Brain*, t. 124, Pt 12, p. 2361-2371, déc. 2001.
- [169] T. TOMSON, R. SURGES, R. DELAMONT, S. HAYWOOD et D. C. HESDORFFER, « Who to target in sudden unexpected death in epilepsy prevention and how ? Risk factors, biomarkers, and intervention study designs », *Epilepsia*, t. 57 Suppl 1, p. 4-16, jan. 2016.

- [170] P. RYVLIN, L. NASHEF, S. D. LHATOO et al., « Incidence and mechanisms of cardiorespiratory arrests in epilepsy monitoring units (MORTEMUS) : a retrospective study », *Lancet Neurol*, t. 12, 10, p. 966-977, oct. 2013.
- [171] E. GLASSCOCK, J. W. YOO, T. T. CHEN, T. L. KLASSEN et J. L. NOEBELS, « Kv1.1 potassium channel deficiency reveals brain-driven cardiac dysfunction as a candidate mechanism for sudden unexplained death in epilepsy », *J Neurosci*, t. 30, 15, p. 5167-5175, avr. 2010.
- [172] B. M. MOORE, C. JERRY JOU, M. TATALOVIC, E. S. KAUFMAN, D. D. KLINE et D. L. KUNZE, « The Kv1.1 null mouse, a model of sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) », *Epilepsia*, t. 55, 11, p. 1808-1816, nov. 2014.
- [173] F. KALUME, « Sudden unexpected death in Dravet syndrome : respiratory and other physiological dysfunctions », *Respir Physiol Neurobiol*, t. 189, 2, p. 324-328, nov. 2013.
- [174] F. T. PIROLA et E. K. POTTER, « Vagal action on atrioventricular conduction and its inhibition by sympathetic stimulation and neuropeptide Y in anaesthetised dogs », *J Auton Nerv Syst*, t. 31, 1, p. 1-12, sept. 1990.
- [175] P. MARTIN, « The influence of the parasympathetic nervous system on atrioventricular conduction », *Circ Res*, t. 41, 5, p. 593-599, nov. 1977.
- [176] P. ALBONI, A. HOLZ et M. BRIGNOLE, « Vagally mediated atrioventricular block : pathophysiology and diagnosis », *Heart*, t. 99, 13, p. 904-908, juill. 2013.
- [177] L. D. SUGGS, J. B. TONNESSEN et B. B. PAVRI, « Differential Effects of Vagal Activation on the Sinus and Atrioventricular Nodes : Report of 2 Cases », *JACC Case Rep*, t. 2, 11, p. 1748-1752, sept. 2020.
- [178] N. STAKENBORG, P. J. GOMEZ-PINILLA, T. J. M. VERLINDEN et al., « Comparison between the cervical and abdominal vagus nerves in mice, pigs, and humans », *Neurogastroenterol Motil*, t. 32, 9, e13889, sept. 2020.

# CONCLUSION

---

Même si la VNS est reconnue pour le traitement de nombreuses pathologies, la configuration de cette thérapie, pour un patient spécifique, est un problème complexe, difficile à vivre par les patients et les neurologues. Il est donc prioritaire de proposer des méthodes avancées de définition et d'application de la VNS, de façon automatique, personnalisée et auto-adaptative. Cette thèse s'inscrit dans ce contexte et les contributions principales sont les suivantes :

- Une chaîne de traitement des ENG a été proposée pour la détection de façon fiable le début et la fin de « bursts » d'activation neuronale spontanée sur le nerf phrénique, en utilisant une matrice d'électrodes organiques disposée autour du nerf [179]. La performance de détection varie en fonction des électrodes utilisées entre 62 et 98 %, en utilisant une électrode de succion comme gold standard. Ce résultat ouvre la voie à la détection d'une éventuelle décharge massive vagale, qui serait à l'origine d'épisodes de SUDEP,
- La mise en place d'un protocole expérimental d'induction de SUDEP par un stimulus sonore chez des souris âgées de 18 à 28 jours. Cette mise en place a été faite tant sur l'aspect expérimental qu'en terme d'instrumentation et d'enregistrement, que ça soit en amont de la manipulation ou pendant,
- Le traitement des signaux ECG et ENG, obtenus lors de crises suivies d'un arrêt cardiorespiratoire induites a permis d'identifier une augmentation de l'énergie du signal ENG pendant la crise, même si ces résultats doivent être consolidés sur une population plus importante. Après détection des intervalles RR et PP sur l'ECG, une dissociation atrio-ventriculaire a pu être mise en évidence chez certaines souris précédant les événements cardiorespiratoires. Ces marqueurs constituent des potentielles variables de contrôles pour la neuromodulation en boucle fermée.

Lors d'une neuromodulation en boucle fermée on distingue quatre grandes étapes : l'enregistrement des signaux, la définition de variables de contrôle de la boucle, la correction et la stimulation.

Des systèmes en boucle fermée ont déjà été utilisés pour contrôler la stimulation du

---

nerf vague [6], [82]-[84], [95]. Même si les correcteurs principalement utilisés sont basés sur des approches PID, ils fonctionnent de manière asynchrone aux battements cardiaques et ne contrôlent qu'un seul paramètre de stimulation. Notre équipe a proposé un correcteur original, basé sur des modèles dynamiques de transition d'état, permettant ainsi le contrôle d'un ensemble de paramètres de VNS [5]. L'optimisation des paramètres de contrôle a été réalisée *in silico*, à l'aide d'un modèle mathématique. L'utilisation de ces modèles pourrait à la fois définir les paramètres initiaux du correcteur et de valider les paramètres de contrôle de l'enregistrement. Au sein de l'équipe deux récents modèles ont été proposés. Le premier modèle défini par Gustavo Guerreiro illustre les mécanismes physiologiques cardio-respiratoires au cours des apnées du sommeil [180]. Dans ce modèle, Gustavo met en avant l'impact des voies parasympathique et sympathique sur le rythme cardiaque notamment l'influence de la voie parasympathique à réduire la fréquence (représenté par la variable de contrôle qu'est la bradycardie). D'un autre côté un second modèle cette fois récursif a été proposé par Quentin Gillardin pour évaluer les activités parasympathiques et sympathiques pendant une crise avec des événements tachycardiques et bradycardiques [181]. Ce modèle relie les activités sympathiques et parasympathiques au rythme cardiaque. Il a été évalué sur quatre crises observées sur le même patient. Les résultats montrent une activation des voies sympathiques et une inhibition des voies parasympathiques au début de la crise, puis une activité vagale conséquente qui conduit à une bradycardie ictale. Les deux modèles proposés sont en accord avec les résultats expérimentaux chez l'animal et permettent : 1) d'amplifier notre hypothèse de décharge massive vagale durant la crise, 2) de valider nos variables de contrôle, 3) de servir de base pour le réglage du correcteur dans la boucle de stimulation. Cette approche *in silico*, à base de modèles, reste une démarche indispensable et complémentaire à l'expérimentation animale dans notre domaine.

Cette thèse reprend les étapes d'enregistrement et de définition des variables (représentées par la figure 3.14). La contribution du travail autour des électrodes organiques est faite en amont de la boucle pour garantir un bon enregistrement des signaux. L'objectif du design des électrodes a été de détecter correctement des activités nerveuses massives tout en permettant d'enregistrer et de stimuler le nerf. Ces électrodes ont été fabriquées pour le modèle du rat. Une fois les électrodes conformes, l'objectif a été de les tester en conditions d'enregistrement lors d'une manipulation *in vivo* d'induction de SUDEP par AGS. Cette étape permet d'enregistrer les signaux pour les analyser et extraire des enregistrements des variables permettant de contrôler la boucle fermée. Les résultats ont

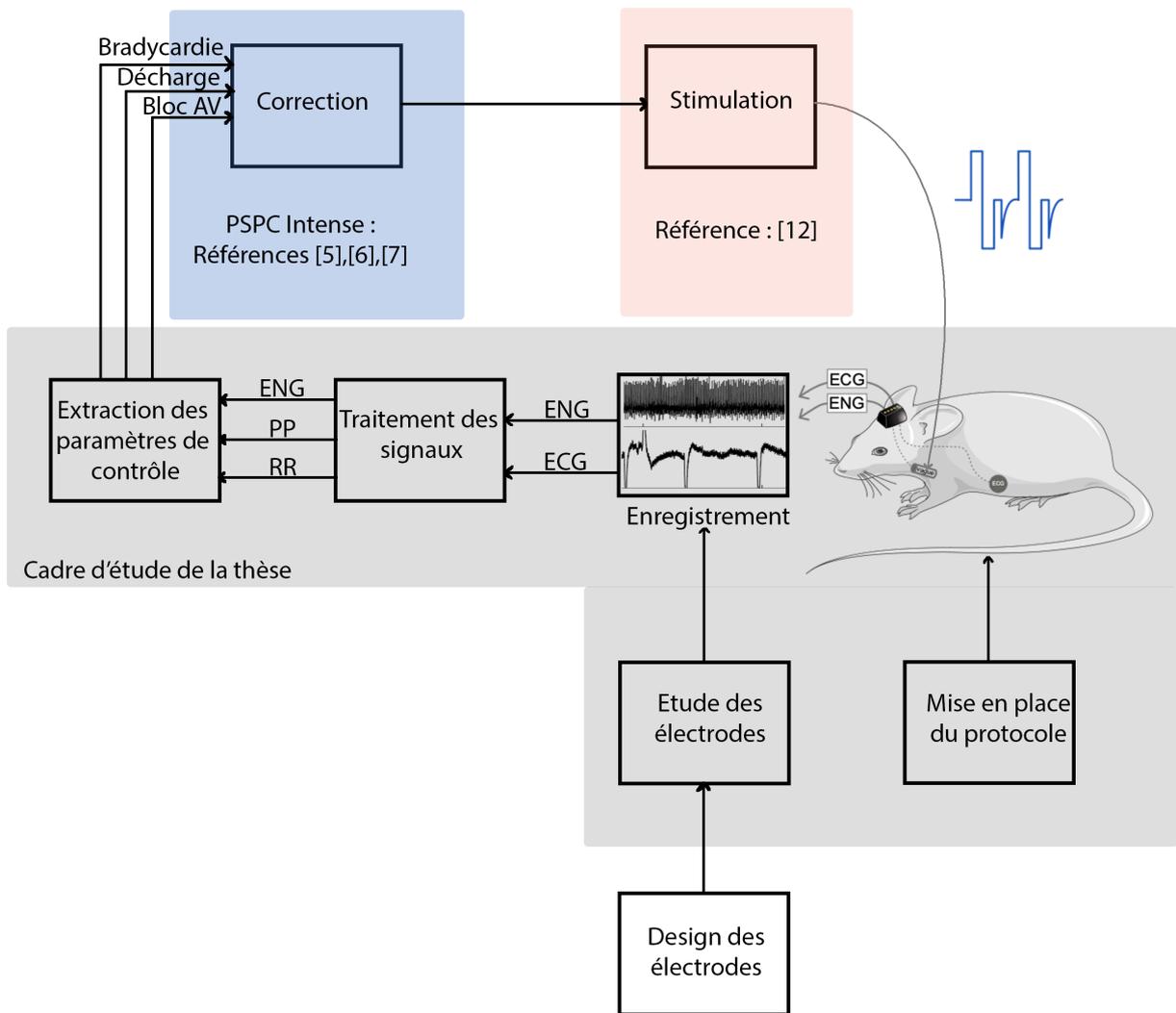


FIGURE 3.14 – Schéma de stimulation du nerf vague pour la prévention de SUDEP. Le cadre gris représente le cadre d'étude de la thèse, la partie supérieure à l'intérieur de la boucle de contrôle. L'étude des électrodes, la mise en place du protocole et le design des électrodes ne font pas partie intégrante de la boucle mais sont des travaux préliminaires à l'élaboration de celle-ci. Les paramètres de contrôle sont ici rajoutés avec la bradycardie, le bloc AV et la décharge d'activité enregistrée.

montré trois marqueurs potentiels : 1) une augmentation de l'énergie du signal ENG vagal, 2) une bradycardie conjointe à la crise 3) l'apparition d'un bloc AV en post-ictal. La combinaison et la détection de ces marqueurs pourraient être le déclencheur de la stimulation du nerf en prévention de l'arrêt cardiorespiratoire.

Pour améliorer nos enregistrements et le traitement, une solution à ce problème est

---

d'envisager des méthodes numériques pour traiter le problème de non-visibilité. Des méthodes de séparation de sources aveugles classiques ont été utilisées sur les jeux de données [182], cependant le nombre faible de voies d'enregistrement utilisées ne permet pas de discriminer les sources. L'utilisation des électrodes organiques pendant les manipulations pourrait résoudre cette problématique.

Le signal ECG est aussi perturbé par le niveau de bruit trop important pendant cette phase. Nous avons tenté de remplacer les électrodes ECG par des électrodes intrathoraciques pour améliorer le rapport signal sur bruit. Deux tentatives ont été menées : les souris 8 et 9 du tableau 3.1. En excluant la souris 9 qui est décédée lors de la chirurgie, nous avons pu observer une amélioration du rapport signal sur bruit pendant le début de l'enregistrement de la souris 8 avant que la connectique ne se casse. La solution de l'électrode intrathoracique est à approfondir puisqu'elle semble prometteuse.

Il apparaît de grandes similarités sur l'ensemble des jeux de données. Trois marqueurs principaux ont été extraits. Des travaux supplémentaires pourraient permettre de préciser l'impact de ces phénomènes sur le système cardiorespiratoire pendant une crise d'épilepsie, néanmoins ils peuvent être définis comme bonnes variables de contrôle pour la thérapie en boucle fermée de la SUDEP. Dès la détection d'un déclenchement individuel ou conjoint de ces marqueurs nous pourrions envisager de lancer la stimulation pour bloquer les efférences du nerf vague et empêcher l'arrêt cardiorespiratoire. Ces résultats sont un bon espoir pour la réalisation d'un bon contrôle de la stimulation.

Une fois toutes les étapes de traitement *in vivo* validées, l'objectif sera de valider l'intégralité de la boucle sur l'animal, de l'enregistrement à la stimulation. Concernant la stimulation, un système complet et fonctionnel permettant une neuromodulation avancée en boucle fermée dans la gamme des kHz et capable d'intégrer des méthodes de traitement du signal en temps réel a été conçu et développé en interne. L'étape cruciale est de relier les enregistrements et l'extraction des variables de contrôle au correcteur, une fois cela achevé les tests précliniques pourront valider l'intégralité du dispositif.

La neuromodulation en boucle fermée sur des patients peut contribuer à réduire la morbidité et la mortalité dans les populations cibles, en augmentant l'effet thérapeutique tout en minimisant les effets secondaires.

# BIBLIOGRAPHIE

---

- [5] H. ROMERO UGALDE, V. ROLLE, J.-L. BONNET et al., « Closed-Loop Vagus Nerve Stimulation Based on State Transition Models », *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, t. PP, oct. 2017. DOI : 10.1109/TBME.2017.2759667.
- [6] H. ROMERO UGALDE, « On-off closed-loop control of vagus nerve stimulation for the adaptation of heart rate », t. 2014, août 2014. DOI : 10.1109/EMBC.2014.6945060.
- [82] M. S. WANINGER, J. D. BOURLAND, L. A. GEDDES et al., « Electrophysiological control of ventricular rate during atrial fibrillation », *Pacing Clin Electrophysiol*, t. 23, 8, p. 1239-1244, août 2000.
- [83] Z. DONG, X. HUANG, J. FENG et L. ZHANG, « Dynamic model for control system design and simulation of a low temperature nuclear reactor », *Nuclear Engineering and Design*, t. 239, 10, p. 2141-2151, 2009, ISSN : 0029-5493. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.nucengdes.2009.05.006>. adresse : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0029549309002179>.
- [84] M. TOSATO, K. YOSHIDA, E. TOFT, V. NEKRASAS et J. J. STRUIJK, « Closed-loop control of the heart rate by electrical stimulation of the vagus nerve », *Med Biol Eng Comput*, t. 44, 3, p. 161-169, mars 2006.
- [95] F. SUN et M. MORRELL, « Closed-loop Neurostimulation : The Clinical Experience », *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, t. 11, mai 2014. DOI : 10.1007/s13311-014-0280-3.
- [179] Y. AVDEEW, V. BERGÉ-LAVAL, V. LE ROLLE et al., « Assessment of the Use of Multi-Channel Organic Electrodes to Record ENG on Small Nerves : Application to Phrenic Nerve Burst Detection », *Sensors*, t. 21, 16, 2021, ISSN : 1424-8220. DOI : 10.3390/s21165594. adresse : <https://www.mdpi.com/1424-8220/21/16/5594>.
- [180] G. GUERRERO, V. LE ROLLE, C. LOIODICE, A. AMBLARD, J. L. PEPIN et A. HERNANDEZ, « Modeling Patient-Specific Desaturation Patterns in Sleep Apnea », *IEEE Trans Biomed Eng*, t. 69, 4, p. 1502-1511, avr. 2022.

- 
- [181] Q. GILLARDIN, V. ROLLE, A. NICA, A. BIRABEN, B. MARTIN et A. HERNANDEZ, « Recursive model identification for the analysis of cardiovascular autonomic modulation during epileptic seizures », déc. 2020. DOI : 10.22489/CinC.2020.206.
- [182] A. KACHENOURA, L. ALBERA et L. SENHADJI, « Séparation aveugle de sources en ingénierie biomédicale - Blind source separation in biomedical engineering », *Innovation and Research in BioMedical engineering*, t. 28, 1, p. 20-34, 2007. DOI : 10.1016/j.rbmret.2007.02.004. adresse : <https://www.hal.inserm.fr/inserm-00151997>.



**Titre :** Traitement du signal et définition de variables de contrôle appliqués à la stimulation du nerf vague.

**Mot clés :** Neuromodulation, SUDEP, Nerf vague, ENG

**Résumé :** La neuromodulation en boucle fermée du nerf vague est une approche thérapeutique prometteuse pour optimiser la neuromodulation d'une manière adaptative et spécifique au patient, afin de minimiser les effets secondaires, dans le cadre de nombreuses pathologies dont l'épilepsie. Les objectifs de la thèse concernent : 1) l'évaluation de nouvelles technologies d'électrodes pour l'enregistrement de l'activité neurale, 2) la proposition de nouveaux montages expérimentaux précliniques in situ et in vivo permettant l'enregistrement de l'activité du nerf vague, de l'activité cardiaque lors d'un processus de mort subite et inattendue (SUDEP), 3) la définition d'une variable de contrôle pertinente pour la boucle fermée. L'une des hypothèses explorées durant la thèse est que, suite à une crise d'épilepsie, l'enchaînement d'un proces-

sus autonome impliquant une décharge massive vagale est à l'origine de la SUDEP. Des méthodes de traitement pour la détection d'activations neurales massives ont été proposées et appliquées à un protocole expérimental original d'induction de SUDEP pendant laquelle le nerf vague et l'électrocardiogramme (ECG) sont enregistrés. Les résultats ont permis d'identifier une activité massive importante avec la présence conjointe d'une bradycardie caractéristique. Les séries RR et PP de l'ECG ont été estimées et un bloc atrio-ventriculaire a pu être détecté en amont de l'arrêt cardio-respiratoire. Ces trois marqueurs observés pourraient être définis comme variable de contrôle d'une boucle fermée lors de la stimulation du nerf vague pour la prévention de la SUDEP.

**Title:** Signal processing and definition of control variables applied to vagus nerve stimulation vagus nerve stimulation.

**Keywords:** Neuromodulation, SUDEP, Vagus nerve, ENG

**Abstract:** Closed-loop neuromodulation of the vagus nerve is a promising therapeutic approach to optimize neuromodulation in an adaptive and patient-specific manner, to minimize side effects, in the context of many pathologies including epilepsy. The objectives of the thesis concern: 1) the evaluation of new electrode technologies for the recording of neural activity, 2) the proposal of new pre-clinical in situ and in vivo experimental set-ups allowing the recording of vagus nerve activity, cardiac activity during a sudden unexpected death process (SUDEP), 3) the definition of a relevant control variable for the closed-loop. One of the hypotheses explored during the thesis is that, following an epileptic seizure,

the sequencing of an autonomic process involving a massive vagal discharge is at the origin of SUDEP. Processing methods for the detection of massive neural activations were proposed and applied to a novel experimental protocol for SUDEP induction during which the vagus nerve and electrocardiogram (ECG) are recorded. The results identified significant massive activity with the concomitant presence of characteristic bradycardia. The RR and PP series of the ECG were estimated and an atrioventricular block could be detected upstream of the cardiorespiratory arrest. These three observed markers could be defined as a closed-loop control variable during vagus nerve stimulation to prevent SUDEP.