

# Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	vii
Liste des figures.....	viii
Liste des abréviations.....	ix
Remerciements.....	x
Avant-propos.....	xii
Chapitre 1 : Introduction.....	1
1.1 Qu'est-ce que la stimulation cérébrale profonde?.....	2
1.1.1 Pathologies traitées par la stimulation cérébrale profonde.....	3
1.2 Stimulation cérébrale profonde dans le contexte de la maladie de Parkinson.....	6
1.2.1 Maladie de Parkinson.....	6
1.2.2 Circuiterie des ganglions de la base.....	10
1.2.3 Fonctionnement de la stimulation cérébrale profonde.....	11
1.2.4 Mécanismes cellulaires.....	21
1.2.5 Effets secondaires.....	24
1.3 Modèles d'étude.....	26
1.3.1 Stimulation semi-chronique.....	27
1.3.2 Stimulation chronique.....	30
1.4 Problématique.....	34
1.4.1 Modèles existants pour l'étude de la SCP chez le petit animal.....	34
1.5 Objectifs du projet.....	36
1.5.1 Développement d'un micro-stimulateur.....	36
1.5.2 Étude des mécanismes d'action.....	36
Chapitre 2 : Matériel et méthodes.....	37
2.1 Système de micro-stimulation.....	37
2.1.1 Électrodes.....	37
2.1.2 Micro-stimulateur.....	38
2.1.3 Câbles.....	39
2.1.4 Dispositif de batteries.....	39

2.2 Validation <i>in vitro</i> .....	40
2.3 Validation <i>in vivo</i> .....	40
2.3.1 Animaux utilisés.....	40
2.3.2 Approche chirurgicale .....	41
2.3.3 Statut général de santé des souris .....	44
2.3.4 Protocole de stimulation chronique.....	44
2.3.5 Mesures des paramètres électriques .....	44
2.3.6 Préparation des cerveaux.....	45
Chapitre 3 : Résultats .....	46
3.1 Système de micro-stimulation.....	46
3.1.1 Électrodes .....	46
3.1.2 Micro-stimulateur.....	47
3.1.3 Dispositif de batteries.....	48
3.2 Validation <i>in vitro</i> .....	50
3.3 Validation <i>in vivo</i> .....	52
3.3.1 Approche chirurgicale .....	52
3.3.2 Statut général de santé des souris.....	52
3.3.3 Protocole de stimulation chronique.....	53
3.3.4 Mesure des paramètres électriques.....	54
Chapitre 4 : Discussion .....	59
4.1 Développement du système de micro-stimulation .....	59
4.1.1 Micro-stimulateur.....	59
4.1.2 Dispositif de batteries.....	63
4.2 Validation <i>in vitro</i> .....	64
4.3 Validation <i>in vivo</i> .....	65
4.3.1 Développement de l'approche chirurgicale.....	65
4.3.2 Soins post-opératoires .....	66
4.3.3 Protocole de stimulation chronique.....	66
4.3.4 Mesure des paramètres électriques.....	68
Chapitre 5 : Conclusions .....	70
Chapitre 6 : Perspectives .....	72
Références .....	73

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Résumé des contextes pathologiques utilisant la stimulation cérébrale profonde comme traitement, des cibles thérapeutiques connues pour chacune de ces maladies, de la fréquence de stimulation utilisée ainsi que du statut de ce traitement (approuvé/à l'étude) .....	4
<b>Tableau 2.</b> Prototypes de systèmes de micro-stimulation semi-chronique : implantables ou externes .....	26
<b>Tableau 3.</b> Prototypes de systèmes de micro-stimulation chronique implantables.....	29

# Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Système de stimulation cérébrale profonde implanté chez l'humain .....	2
<b>Figure 2.</b> Neuropathologie de la maladie de Parkinson .....	7
<b>Figure 3.</b> Circuiterie des ganglions de la base en condition saine versus dans le contexte de la maladie de Parkinson.....	10
<b>Figure 4.</b> Théorie de l'inhibition lors de la SCP du NST.....	13
<b>Figure 5.</b> Théorie de l'inhibition lors de la SCP du GPi.....	14
<b>Figure 6.</b> Théorie de l'activation lors de la SCP du NST.....	16
<b>Figure 7.</b> Théorie de l'activation lors de la SCP du NST/GPi par le biais de connexions réciproques ou indirectes .....	17
<b>Figure 8.</b> Théorie de la perturbation de l'hypersynchronisation de la voie hyperdirecte lors d'une SCP dans le NST ou le GPi.....	19
<b>Figure 9.</b> Système de micro-stimulation .....	46
<b>Figure 10.</b> Validation <i>in vitro</i> .....	47
<b>Figure 11.</b> Mesure du voltage de la stimulation électrique <i>in vitro</i> .....	48
<b>Figure 12.</b> Statut général de santé des souris .....	50
<b>Figure 13.</b> Mesure du voltage de la stimulation électrique <i>in vivo</i> .....	51
<b>Figure 14.</b> Mesure de l'intensité <i>in vivo</i> .....	53

## Liste des abréviations

μA	Microampères
μs	Microsecondes
6-OHDA	6-hydroxydopamine
ATP	Adénosine triphosphate
BACI	Bras antérieur de la capsule interne
DA	Dopamine
DYN	Dynorphin
ENK	Enképhaline
FDA	Food and Drug Administration
G	Gramme(s)
GABA	«Gamma-Aminobutyric acid»
GFAP	Protéine acide fibrillaire gliale/ «Glial fibrillary acidic protein»
GLU	Glutamate
GPe	Globus pallidus externe
GPi	Globus pallidus interne
h	Heure(s)
Hz	Hertz
j	Jour(s)
m	Mois
mA	Milliampères
min	Minutes
MP	Maladie de Parkinson
MPTP	1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tétrahydropyridine
ms	Millisecondes
NAc	Noyau accumbens
NS	Non spécifié
NST	Noyau sous-thalamique
PPN	Noyau pédonculopontine / «peduncolopontine nucleus»
SCP	Stimulation cérébrale profonde
SE	Système externe
sem	Semaine(s)
SN	Substance noire
SNc ou SNpc	Substance noire «pars compacta»
SNr	Substance noire «pars reticula»
SP	Substance P
TLR	Récepteur Toll-like/ «Toll-like receptor»
TLR2	Récepteur Toll-like 2/ «Toll-like receptor 2»
V	Volts
VEGF	Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire/ «Vascular endothelium growth factor»
Vim	Noyau ventral intermédiaire

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de recherche, la Dre Francesca Cicchetti. Merci de m'avoir donné la chance de réaliser cette maîtrise et d'évoluer dans le domaine de la recherche scientifique. Merci pour ce projet qui m'a permis d'apprendre toutes les bases du travail en laboratoire et, surtout, merci pour ton aide et ton soutien constant. Les années passées au sein de ton laboratoire m'ont permis d'apprendre la rigueur scientifique de même que la persévérance. Merci à toi et ta formidable équipe qui m'avez donné la force de continuer à avancer lorsque ce projet a présenté des difficultés majeures (ou des défis comme tu préfères qu'on les appelle). Un merci plus particulier à Martine Saint-Pierre et Benoît Aubé qui ont travaillé de manière plus étroite sur ce projet et à Primma Microtechnologies qui nous a aidés à conceptualiser et à développer nos micro-stimulateurs.

Merci aux Instituts de recherche en santé du Canada qui ont financé ce projet et à la Fondation du CHU de Québec pour la bourse de formation Desjardins pour la recherche et l'innovation que j'ai obtenue pour l'année 2016.

Je souhaite aussi remercier les membres du comité d'évaluation qui prendront de leur précieux temps afin de réviser et corriger ce mémoire. Merci à l'avance de vos commentaires constructifs qui me permettront de continuer à m'améliorer et à progresser en tant qu'étudiante aux cycles supérieurs.

Je me dois d'adresser un merci plus particulier à Martine Saint-Pierre, l'extraordinaire professionnelle de recherche de la Dre Francesca Cicchetti. Martine! Un immense merci pour l'incroyable apprentissage que j'ai fait auprès de toi! Que ce soit pour le travail de laboratoire comme : le fameux «gossage» d'électrodes, les chirurgies, les perfusions et les immunos... ou pour apprendre à organiser/préparer des protocoles ou, surtout, pour m'avoir guidé afin que je réfléchisse intelligemment à ces protocoles! Merci pour ta patience infinie et tes réponses à mes innombrables questions. Merci pour les nombreux rappels amicaux... «pis ton étude?», «pis ton travail?», «pis ton comptage?» et, surtout, le fameux «pis ton mémoire?». Il me paraît clair que sans tout cet apprentissage et ton soutien je ne serais pas

aujourd'hui l'étudiante que je suis. Francesca a une formidable professionnelle de recherche sur laquelle elle a pu compter pour l'aider dans mon encadrement.

Angèle, Hélène, Marie, Martine merci pour le bon temps que j'ai passé et que je passe encore avec vous. Au fil de ces études, vous êtes devenues de véritables amies (en plus d'être des collègues exceptionnelles!). Notre liste de projets/activités reste encore longue! Il me tarde qu'on loue ce fameux chalet, qu'on fasse finalement ce «road trip» à Saint-Jean-Port-Joli... et quoi d'autre encore! Vous m'avez permis de relâcher la pression dans les moments moins évidents et je ne pourrai jamais assez vous remercier pour ça.

Merci à tout mon entourage au sein des autres équipes de recherche. Andrée-Anne, Benoît, Mélanie, Morgan, Philippe! Merci pour toutes les conversations scientifiques (pertinentes... ou pas) et tous vos conseils avisés qui m'ont aidé à cheminer et à progresser tout au long de ma maîtrise. Et merci pour les agréables soirées qui m'ont permis de décompresser!

Et, finalement, merci à ma famille! Julie! Je te rappelle que je suis déménagée à Lévis... au cas où tu finirais par venir me visiter! Et, surtout, merci, Maman et Papa pour TOUT! Les épiceries Costco, les épiceries faites dans votre frigo, et, dernièrement, pour la méga tonne de petits plats congelés qui m'ont permis d'investir tout mon temps dans ce mémoire. Merci pour votre aide et votre soutien indéfectible et, plus encore, de m'endurer dans les bons comme les moins bons moments!

## Avant-propos

Mes travaux de maîtrise ont porté sur le développement d'un prototype de micro-stimulation pour l'étude de la stimulation cérébrale profonde chez la souris. Dès le début de mes travaux, je me suis familiarisée avec la littérature concernant les dispositifs de micro-stimulation. Cela m'a permis de participer comme 5<sup>e</sup> auteure (sur 9) à la publication de : «*A novel combinational approach of microstimulation and bioluminescence imaging to study the mechanisms of action of cerebral electrical stimulation in mice*», dans le journal : «*The Journal of Physiology*». En effet, j'ai participé à la correction, la mise à jour et la révision d'un tableau répertoriant les différents prototypes de micro-stimulation utilisés en recherche et j'ai aussi participé à la retouche de certaines figures et à la relecture et la soumission de l'article.

En ce qui concerne les travaux présentés dans ce mémoire, je me suis occupée de la fabrication des électrodes, du nettoyage et de l'étanchéification des micro-stimulateurs, des différents tests *in vitro* et des protocoles animaux, incluant le développement des méthodes d'implantation du micro-stimulateur, des chirurgies, des soins post-opératoires et des tests des différents paramètres électriques. En début de projet, j'ai été aidée par Martine Saint-Pierre, professionnelle de recherche au sein du laboratoire de la Dre Francesca Cicchetti. Pour ce qui est du micro-stimulateur lui-même, n'ayant aucune formation en physique/électronique, la conceptualisation et le développement du micro-stimulateur ont été réalisés en collaboration avec Primma Microtechnologies, une firme spécialisée dans la conception de projets électroniques et Benoît Aubé, professionnel de recherche dans le laboratoire du Dre Francesca Cicchetti et ingénieur physique, s'est occupé de monter les micro-stimulateurs, de les programmer et d'effectuer les tests d'imagerie *in vivo*.

### Autres contributions :

Au cours de ma maîtrise, j'ai aussi travaillé sur une collaboration avec le Dr Jean-François Poulin et le Dr Rajeshwar Awatramani de l'Université de Northwestern. Toutefois, ces travaux ne seront pas abordés dans le cadre de ce mémoire puisqu'ils ne sont pas en lien avec mon projet de maîtrise.

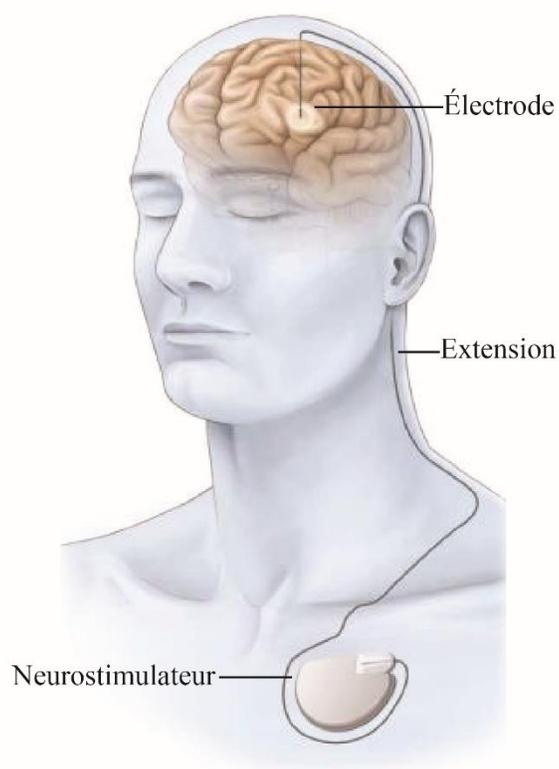
Ces travaux ont consisté en l'identification de sous-populations de neurones dopaminergiques dans des tissus post-mortem de patients normaux et parkinsoniens. Nos collaborateurs avaient déjà effectué ces travaux chez la souris et ils désiraient voir si la répartition des différentes sous-populations était similaire chez l'humain. Ces travaux avaient aussi pour but de confirmer la vulnérabilité de l'une de ces sous-populations. J'ai ainsi travaillé à la demande de tissus humains provenant d'une banque de cerveaux, à l'optimisation des différents marquages par immunofluorescence, aux marquages eux-mêmes, au décompte de chacune des sous-populations ainsi qu'à l'imagerie en microscopie confocale de ces marquages. Ce travail permettra d'amener un volet humain à leur étude réalisée chez la souris.

# Chapitre 1 : Introduction

Dans ce mémoire, vous trouverez des explications relatives à mes travaux de maîtrise. Ces travaux ont réellement porté sur la stimulation cérébrale profonde (SCP) en elle-même, dans le but ultime que les concepts développés, dans le cadre de ce projet, soient applicables à toutes les maladies pouvant être traitées par la SCP. Aucun de mes travaux n'a abordé le contexte pathologique de la maladie de Parkinson (MP). Cependant, je m'appuierai sur celle-ci pour des fins d'explications et de précisions. Bien que, dans ce cadre-ci, la MP ne soit pas le sujet principal de ce mémoire, elle demeure l'une des premières maladies pour laquelle l'utilisation de la SCP a été reconnue et la SCP est, aujourd'hui, largement utilisée dans son traitement<sup>1</sup>. De plus, l'étude des mécanismes cellulaires sous-jacents aux effets de la SCP dans le contexte de la MP est aussi l'application future que notre groupe souhaite faire des concepts développés au cours de ces travaux.

## 1.1 Qu'est-ce que la stimulation cérébrale profonde?

La SCP est une procédure chirurgicale utilisée dans le traitement de divers contextes pathologiques<sup>2</sup>. Elle consiste en l'implantation d'électrodes dans une région cible du cerveau et d'un neurostimulateur, de manière sous-cutanée. Ces deux éléments sont reliés par une extension (voir figure 1)<sup>3</sup>. Ainsi, ce système permet de délivrer une stimulation électrique dans une région ciblée du cerveau et ce qui permettra la réduction des symptômes associés au contexte pathologique en cause.



**Figure1.** Système de stimulation cérébrale profonde implanté chez l'humain. (Adaptée de McIntyre, C.C. *et al* 2015<sup>3</sup>.)

### **1.1.1 Pathologies traitées par la stimulation cérébrale profonde**

La SCP est un traitement déjà approuvé par les différentes instances de santé (Santé Canada, Food and Drug Administration (FDA), etc.) pour son utilisation dans le domaine de la clinique dans certains contextes pathologiques et qui est présentement à l'étude pour bien d'autres maladies. En effet, la variété des cibles thérapeutiques disponibles au cerveau et des paramètres électriques utilisables en font un traitement flexible, applicable dans à un grand nombre de pathologies (**voir tableau 1**).

Pathologie	Cible	Fréquence	Approuvé/À l'étude
Maladie de Parkinson <sup>4,5</sup>	Noyau sous-thalamique, Globus Pallidus interne (GPi), Noyau ventral intermédiaire (Vim) du thalamus	Haute : ~130 Hz	Approuvé Santé Canada, FDA, Europe
	Noyau pédonculopontine	Variable : 20-130 Hz	À l'étude
Tremblement essentiel <sup>6</sup>	Vim du thalamus	Basse : 4-12 Hz	Approuvé Santé Canada, FDA, Europe
Dystonie <sup>7</sup>	GPi	Haute : ~130 Hz	Approuvé Santé Canada, FDA, Europe
Trouble obsessionnel compulsif <sup>8</sup>	Bras antérieur de la capsule interne (BACI) et striatum ventral adjacent	Haute : 100-130 Hz	Approuvé Santé Canada, FDA
	Noyau accumbens (NAc)	Haute : 100-130 Hz	À l'étude
Épilepsie réfractaire <sup>9,10</sup>	Noyau antérieur du thalamus	Variable : 90-175 Hz	Approuvé Santé Canada, Europe
Douleur chronique <sup>11</sup>	Espace épidural	Variable : 25-130 Hz	Approuvé Santé Canada
Syndrome Gilles de la Tourette <sup>12</sup>	Très variées (thalamus, GPi BACI, NAc, etc.)	Haute : 130-185 Hz	À l'étude
Maladie de Huntington <sup>13</sup>	GPi	Haute : ~130 Hz	À l'étude
Maladie d'Alzheimer <sup>14</sup>	Fornix	Haute : ~130 Hz	À l'étude
Dépression majeure <sup>15</sup>	Très variées (Gyrus cingulaire subgénéral, BACI, NAc)	Haute : ~130 Hz	À l'étude
Addiction <sup>16</sup>	Striatum ventral, NAc	Haute : ~130 Hz	À l'étude
Désordre de la faim/Obésité <sup>17,18</sup>	Hypothalamus, NAc	Variable : 50-200 Hz	À l'étude

**Tableau 1.** Résumé des contextes pathologiques utilisant la stimulation cérébrale profonde comme traitement, des cibles thérapeutiques connues pour chacune de ces maladies, de la fréquence de stimulation utilisée ainsi que du statut de ce traitement (approuvé/à l'étude). Abréviations : BACI ; Bras antérieur de la capsule interne, GPi ; Globus pallidus interne, Hz ; Hertz, NAc ; Noyau accumbens, Vim ; Noyau ventral intermédiaire.

Actuellement, la SCP est approuvée pour son usage dans le traitement de la MP (2002<sup>19</sup>), le tremblement essentiel (1997<sup>19</sup>) et la dystonie (2003<sup>19</sup>) par les instances de santé telles que, Santé Canada, la FDA et le marquage CE (Conformité européenne) qui régit l'Union européenne. Ces troubles moteurs constituent les indications pour lesquelles la SCP est la plus fréquemment utilisée et reconnues. Plus particulièrement, dans le cas de la MP, trois cibles thérapeutiques sont déjà approuvées et une autre est encore à l'étude. La SCP est aussi approuvée par Santé Canada et la FDA dans le cadre du traitement du trouble obsessionnel compulsif (2009<sup>19</sup>) pour deux cibles thérapeutiques et une autre est présentement à l'étude. La SCP a aussi obtenu l'approbation de Santé Canada et le marquage CE pour l'Union européenne pour le traitement de l'épilepsie réfractaire (2010<sup>20</sup>) et Santé Canada a aussi approuvé la SCP pour le traitement de la douleur chronique (2011<sup>21</sup>). Ce traitement est actuellement à l'étude dans bien d'autres contextes pathologiques tels que, le Syndrome Gilles de la Tourette, la maladie de Huntington, la dépression majeure, les dépendances et les désordres de la faim<sup>22</sup>.

Le traitement de ces pathologies par la stimulation électrique est possible grâce à ses effets sur diverses circuiteries neuronales. En effet, certaines fonctions nerveuses sont gérées par une organisation neuronale en boucle, par exemple la boucle du mouvement qui est constituée des ganglions de la base qui est impliquée dans la gestion des fonctions motrices et la boucle limbique constituée du circuit de Papez qui est impliquée dans le contrôle des comportements émotionnels<sup>23</sup>. Ainsi une stimulation électrique délivrée à certains endroits spécifiques du cerveau permet d'agir sur ces organisations neuronales en boucle et de pallier aux modifications que celles-ci subissent dans certains contextes pathologiques<sup>24</sup>.

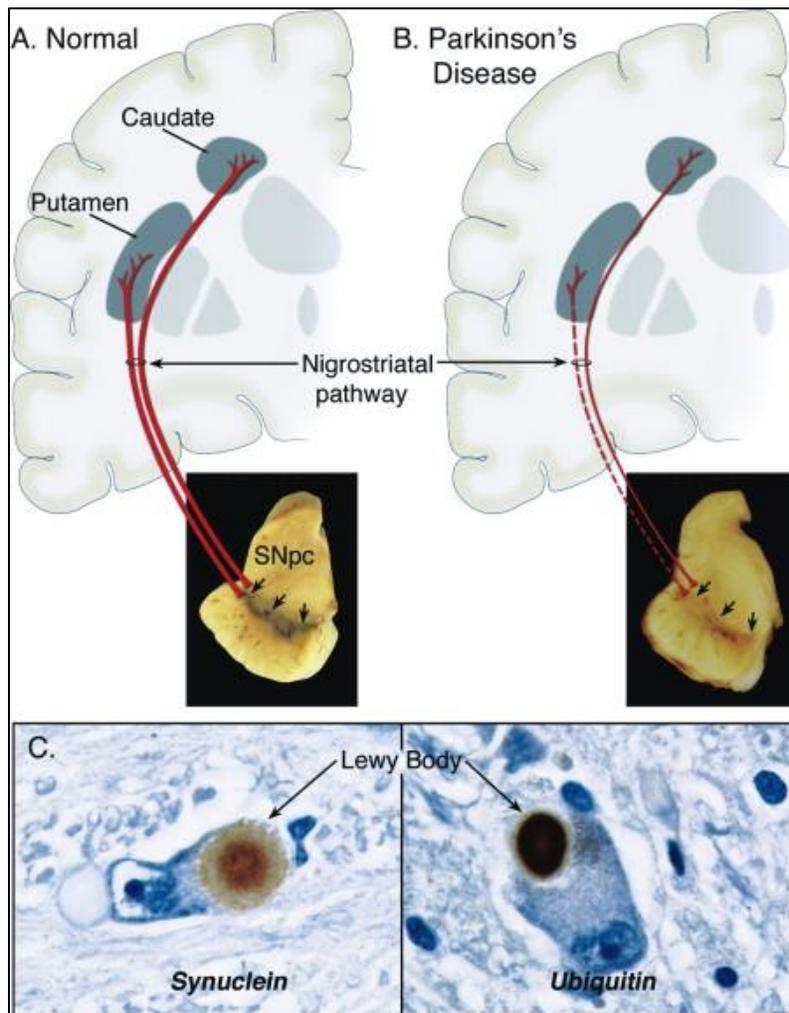
## **1.2 Stimulation cérébrale profonde dans le contexte de la maladie de Parkinson**

La SCP dans le contexte de la MP a été mise à l'essai dès les années 60. Elle a, cependant, été abandonnée suite à l'obtention de résultats peu encourageants portant ainsi l'intérêt vers des traitements tels que la chirurgie radicale (méthode consistant à faire une lésion/ablation d'une zone précise du cerveau étant en cause dans la pathologie, exemple : thalamus<sup>25</sup>) et la médication. En effet, c'est à cette époque qu'émerge la compréhension de l'importance de la dopamine et de la lévodopa (traitement pharmacologique de la MP) chez les rongeurs<sup>26-29</sup> et chez l'humain<sup>29,30</sup>. D'ailleurs, en 1961, la réussite d'un essai clinique utilisant la lévodopa injectée de manière intraveineuse chez des patients parkinsoniens a grandement contribué au ralentissement des progrès en neurochirurgie<sup>29,31,32</sup>. Vers la fin des années 80, la SCP est revenue dans l'actualité suite à la découverte des bénéfices de l'utilisation de stimulation électrique à haute fréquence, par le Dr Alim-Louis Benabid. En effet, dans les années 60, on prônait plutôt l'utilisation de stimulation à basse fréquence, mais à l'occasion d'une intervention sur un patient atteint de la MP, en 1987, le Dr Benabid a eu l'idée de changer la fréquence de l'électrode initialement réglée à 50 Hertz (Hz) (basse fréquence). En augmentant la fréquence de l'électrode à 100 Hz, le Dr Benabid s'est aperçu que les tremblements du patient étaient fortement diminués. Il en a donc déduit que ce traitement pourrait s'avérer utile pour la MP<sup>33</sup>. Depuis, la SCP est devenue une procédure assez répandue dans le traitement de la MP, lorsque la médication pharmacologique classique échoue<sup>4</sup>.

### **1.2.1 Maladie de Parkinson**

La MP est la seconde maladie neurodégénérative en prévalence après la maladie d'Alzheimer. Le diagnostic clinique de cette maladie repose sur l'identification d'une triade de symptômes moteurs soit les tremblements de repos, les bradykinésies et la rigidité musculaire qui s'accompagnent habituellement d'instabilité posturale entraînant des troubles d'équilibre<sup>34</sup>. Ces symptômes moteurs surviennent suite à la dégénérescence de plus de 50% des neurones constituant la voie dopaminergique nigrostriée, soit l'un des principaux indices pathologiques de la MP (**voir figure 2**)<sup>35,36</sup>.

Une autre caractéristique importante de la MP est la présence d'inclusions composées de diverses protéines dans le corps cellulaire des neurones de la substance noire (SN). Ces inclusions portent le nom de corps de Lewy et sont principalement composées de la protéine alpha-synucléine mal repliée (**voir figure 2**)<sup>34,37</sup>.



**Figure 2. Neuropathologie de la maladie de Parkinson.** A-B : Représentation de la voie nigrostriée qui se compose des corps cellulaires des neurones dopaminergiques dans la «pars compacta» de la substance noire et de leurs projections au striatum. A : Patient sain, B : Patient atteint de la maladie de Parkinson présentant une dégénérescence de la substance noire, C : Immunohistochimies identifiant les corps de Lewy (Tirée de Dauer et Przedborski 2003<sup>38</sup>). Abréviations : SNpc; Substance noire «pars compacta».

Cependant, les anomalies motrices peuvent être précédées jusqu'à 10 ans par des symptômes non-moteurs tels que des atteintes cognitives, des troubles du sommeil, des dysfonctions olfactives et des dysfonctions du système nerveux autonome<sup>39</sup>. Plus particulièrement, les troubles neuropsychiatriques tels que la dépression, l'anxiété, l'apathie, la fatigue, les hallucinations et la psychose sont fréquents dans le contexte de la MP. En effet, la dépression et l'anxiété peuvent affecter de 30 à 40% des patients atteints de la maladie. Quant à elles, l'apathie et la fatigue peuvent représenter de 17 à 70% des patients<sup>40,41</sup>. Ces deux caractéristiques sont difficiles à évaluer séparément de la dépression et l'anxiété puisqu'elles y sont souvent associées. En effet, 12-40% des patients peuvent présenter une combinaison d'apathie et de dépression<sup>40,41</sup>. Ces troubles neuropsychiatriques peuvent même aller jusqu'aux hallucinations et à la psychose. Les cas modérés de psychose ont été répertoriés comme pouvant affecter jusqu'à 50% des patients parkinsoniens<sup>40,41</sup>. Ces symptômes sont persistants et progressifs et peuvent mener, à long terme, à une mort prématurée par le suicide<sup>40,41</sup>. Les symptômes neuropsychiatriques sont, bien souvent, rapportés comme les plus invalidants par les patients atteints de la MP et doivent aussi être traités par la médication<sup>41</sup>. Cette situation amène les patients à prendre tout un cocktail de médicaments qui se doit d'être adapté à chaque individu rendant ainsi le travail des médecins traitants complexe<sup>41</sup>.

Ainsi, dans le contexte pathologique de la MP, le diagnostic clinique survient bien après le début de la dégénérescence neuronale<sup>36,42,43</sup>. En ce qui a trait à son traitement, il existe deux grandes catégories : les approches pharmacologiques et les traitements chirurgicaux (tels que la SCP). Les approches pharmacologiques se classent principalement en trois catégories soient; la dopathérapie, les agonistes dopaminergiques et les inhibiteurs enzymatiques. Tous ces traitements ont pour but de rétablir la transmission dopaminergique striatale qui s'effectue, en condition normale, au niveau des ganglions de la base (voir section ci-bas, 1.2.2 Circuiterie des ganglions de la base)<sup>44</sup>. La dopathérapie (lévodopa) permettra l'augmentation directe des niveaux de dopamine dans le cerveau<sup>44</sup>. C'est d'ailleurs le traitement pharmacologique de référence pour traiter la MP<sup>44-46</sup>. Pour leur part, les agonistes dopaminergiques (ex : apomorphine) iront activer les récepteurs dopaminergiques remplaçant ainsi l'action habituellement générée par la liaison de la dopamine à ceux-ci, bien

que leur action soit assez limitée<sup>44,45,47</sup>. Les inhibiteurs enzymatiques se divisent eux-mêmes en deux classes soient; les inhibiteurs de catéchol-O-méthyl-transférase (ex : entacapone) et les inhibiteurs de la mono-amine-oxydase B (ex : rasagiline)<sup>44,45</sup>. Quant à eux, ces traitements pharmacologiques permettent l'inhibition des métabolismes de la dégradation de la dopamine<sup>48,49</sup>. L'utilisation à long terme, de même que l'augmentation des doses quotidiennes, de ces différents traitements pharmacologiques peut provoquer l'apparition d'effets secondaires tels que nausées, vomissements, hallucinations et complications motrices dont les dyskinésies - des mouvements anormaux<sup>44,46</sup>.

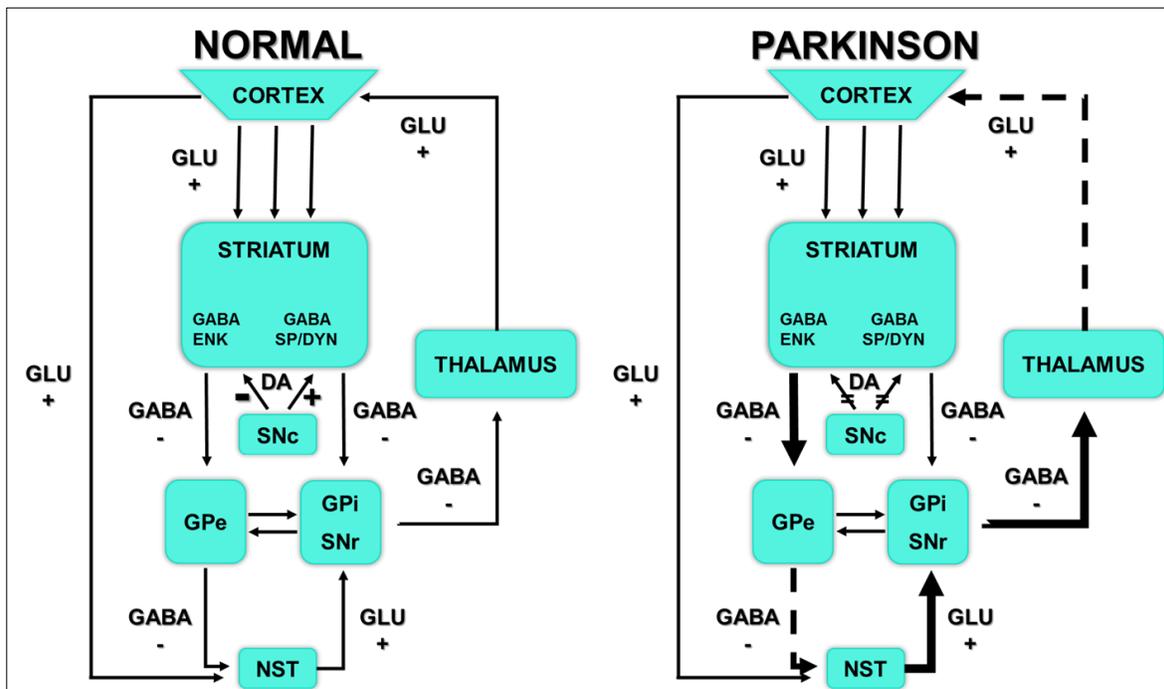
Les traitements actuels sont largement symptomatiques et aucun d'entre eux n'a, à ce jour, démontré d'effets significatifs sur l'évolution de la maladie, d'où l'émergence de plusieurs traitements expérimentaux, dont la transplantation cellulaire et la thérapie génique<sup>50</sup>.

### 1.2.2 Circuiterie des ganglions de la base

Le modèle de l'organisation fonctionnelle des ganglions de la base a été introduit dès 1989-1990 par Albin *et al*<sup>51</sup> et DeLong<sup>52</sup>. Les ganglions de la base sont un ensemble de noyaux interconnectés qui forment un système de boucle appelé, boucle cortico-striato-thalamo-corticale, laquelle est impliquée, entre autres, dans la gestion des fonctions motrices<sup>53</sup>. La perte de neurones dopaminergiques de la «pars compacta» de la SN impliqués dans la voie nigrostriée dans le contexte de la MP entraîne une dysfonction de la circuiterie des ganglions de la base.

En effet, en condition normale, les neurones dopaminergiques de la voie nigrostriée agissent en freinant les effets des efférences inhibitrices des ganglions de la base ce qui permet d'augmenter l'excitabilité des neurones corticaux. Aussi, les voies directe (striatum projetant directement sur le globus pallidus interne (GPi) et la SN réticulée (SNr)) et indirecte (striatum projetant sur le globus pallidus externe (GPe) qui à son tour se projette sur le noyau sous-thalamique (NST)) gèrent de manière opposée les informations transmises en facilitant ou en supprimant l'activité corticale, respectivement, permettant ainsi la bonne régulation de la boucle cortico-striato-thalamo-corticale (**voir figure 3**)<sup>54</sup>.

Dans le contexte de la MP, la perte de neurones dopaminergiques de la «pars compacta» de la SN entraîne une augmentation de l'inhibition GABAergique du striatum sur le GPe, provoquant ainsi la désinhibition du NST. Cette désinhibition entraîne, par la suite, l'augmentation de l'excitation glutamatergique du NST sur le GPi et la SNr, puis l'augmentation de l'inhibition GABAergique du GPi sur le thalamus. Ces phénomènes mènent ultimement à une réduction de l'activation des neurones corticaux. En effet, la MP est un trouble hypokinétique qui résulte de l'augmentation de l'activité du GPi et du NST (**voir figure 3**)<sup>23,55-57</sup>.



**Figure 3.** Modèle simplifié de l'organisation anatomique et fonctionnelle des ganglions de la base en condition saine (gauche) et dans le contexte de la maladie de Parkinson (droite, adaptée de Parent *et al.* 2000 et Jahanshahi *et al.* 2015<sup>54,55</sup>).  $\longrightarrow$  : condition normale,  $\longrightarrow$  : augmentation de l'activité,  $\dashrightarrow$  : diminution de l'activité. Abréviations : DA; Dopamine, DYN; Dynorphin, ENK; Enképhaline, GABA; «Gamma-Aminobutyric acid», GLU; Glutamate, GPe; Globus pallidus externe, GPi; Globus pallidus interne, NST; Noyau sous-thalamique, SNc; Substance noire «pars compacta», SNr; Substance noire «pars reticula», SP; Substance P.

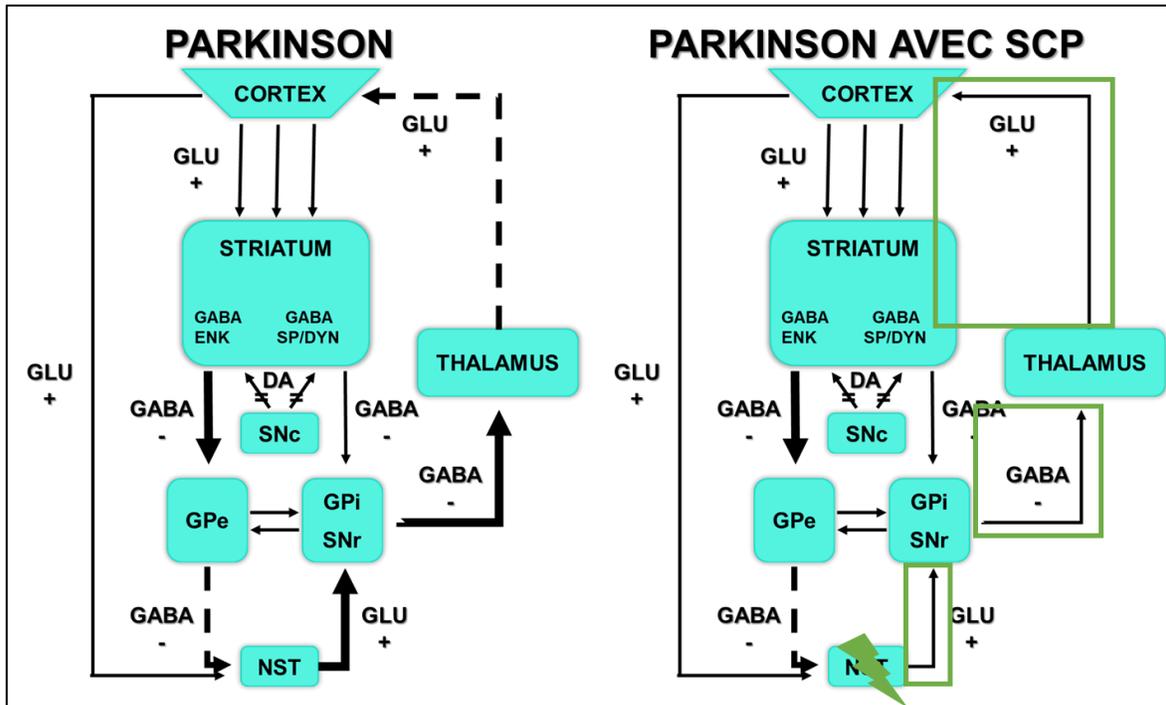
### 1.2.3 Fonctionnement de la stimulation cérébrale profonde

La connaissance de la circuiterie des ganglions de la base et des différents acteurs qu'elle implique a permis de mener à sa manipulation grâce à la SCP ainsi qu'à différentes spéculations quant au fonctionnement de cette dernière. En effet, de nombreuses études se sont intéressées aux effets de la SCP sur le patron de l'activité électrophysiologique des différentes régions impliquées dans la voie nigrostriée de même qu'à la différence pouvant exister entre les diverses cibles thérapeutiques.

Tout d'abord, la SCP utilisée pour traiter la MP est effectuée dans trois cibles thérapeutiques qui sont déjà approuvées par les différentes instances de santé (Santé Canada, FDA, etc.). Le NST demeure la cible de premier choix puisqu'elle permet généralement une diminution significative de la médication, bien qu'elle semble augmenter le risque associé aux effets secondaires neuropsychiatriques. Cependant, on privilégie le GPi en présence de dyskinésies ou dans les cas où le patient présente des troubles psychiatriques, puisque la SCP au niveau du NST induirait davantage d'effets secondaires (incluant les troubles neuropsychiatriques)<sup>58</sup>. Il est aussi possible de stimuler le noyau ventral intermédiaire (Vim) du thalamus pour le traitement de certains cas particuliers où le patient présente des tremblements sans rigidité et sans bradykinésie<sup>59</sup>. Actuellement, le noyau pédonculopontin (PPN, de l'anglais «pedunclopontine nucleus») est une cible thérapeutique qui demeure à l'étude. En effet, les évidences rapportées par diverses études ayant testées la SCP au niveau du PPN semblent diverger. En effet, celle-ci semblerait produire de meilleurs résultats avec une stimulation à basse fréquence (20-25 Hz) alors que pour les autres cibles thérapeutiques, la fréquence utilisée est haute (130 Hz). De plus, elle semblerait plus efficace dans certains cas particuliers, par exemple pour améliorer les symptômes locomoteurs tels qu'un blocage (incapacité passagère de bouger les jambes ou les pieds durant la marche) et l'instabilité posturale<sup>5,59</sup>, sans toutefois améliorer les autres symptômes de la MP<sup>60</sup>.

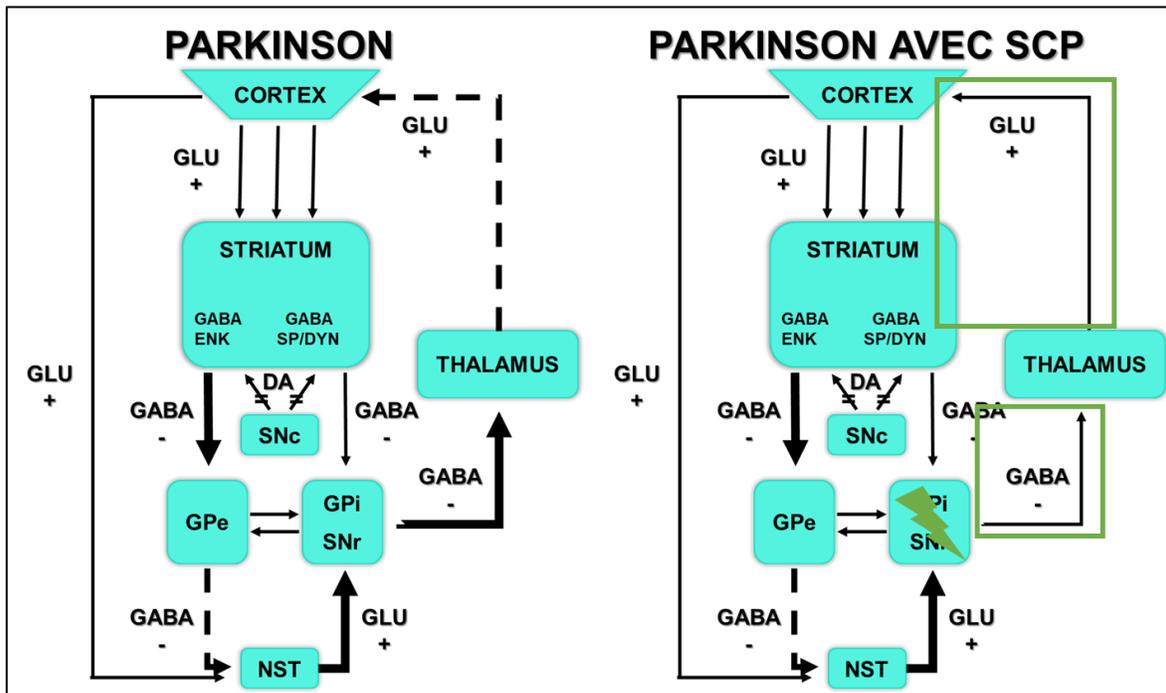
Initialement, certaines observations suggéraient que la SCP avait des effets similaires à une lésion de régions spécifiques du cerveau en inhibant complètement les neurones locaux. Aujourd'hui, les hypothèses s'orientent davantage vers une certaine balance des phénomènes d'inhibition et d'excitation en fonction des éléments cellulaires touchés<sup>37</sup> ainsi que vers des théories qui suggèrent une perturbation de la synchronisation des neurones corticaux<sup>37,54</sup>.

*Théorie de l'inhibition* : Cette hypothèse suggère que la SCP réduirait le taux de décharge des neurones au pourtour de l'électrode au même titre qu'une lésion ou un blocage. Cette hypothèse a été confirmée par l'enregistrement des zones de stimulation dans le NST chez des patients<sup>61,62</sup>, des singes<sup>63,64</sup> et des rats parkinsoniens<sup>65,66</sup>. En effet, il y aurait suppression de l'activité neuronale (ou légère activité résiduelle) autour du site de l'électrode<sup>62,63,66</sup>. Des observations similaires ont aussi été faites au niveau du GPi chez des patients parkinsoniens<sup>67-69</sup> et des singes parkinsoniens<sup>70</sup> ou normaux<sup>71</sup>. Cependant, il semblerait y avoir une inhibition complète lors de la SCP du GPi alors que, dans le cas du NST, il y aurait majoritairement une activité résiduelle des neurones (**voir figure 4 et 5**)<sup>37</sup>.



**Figure 4 :** Théorie de l’inhibition lors de la SCP du NST.

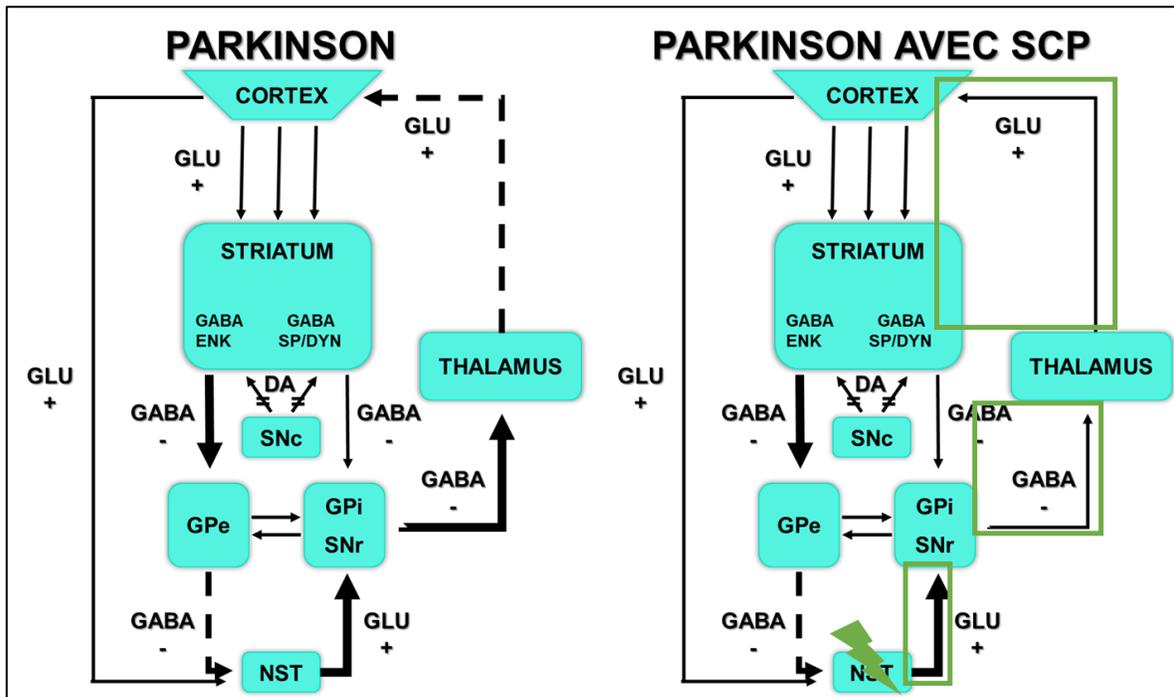
La stimulation électrique du NST permet de rétablir l’inhibition du NST grâce à une diminution nette de l’activité neuronale (légère activité résiduelle). Le retour de l’inhibition du NST permet une diminution de l’excitation glutamatergique du NST sur le GPi et la SNr ce qui conduit à une diminution de l’inhibition GABAergique du GPi sur le thalamus. Cela provoque une augmentation de l’excitation des neurones corticaux laquelle est habituellement diminuée dans le contexte de la MP<sup>37,54,55</sup> (adaptée de Parent *et al.* 2000 et Jahanshahi *et al.* 2015<sup>54,55</sup>).  $\longrightarrow$  : condition normale,  $\longrightarrow$  : augmentation de l’activité,  $\dashrightarrow$  : diminution de l’activité. Abréviations : DA; Dopamine, DYN; Dynorphin, ENK; Enképhaline, GABA; «Gamma-Aminobutyric acid», GLU; Glutamate, GPe; Globus pallidus externe, GPi; Globus pallidus interne, NST; Noyau sous-thalamique, SNc; Substance noire «pars compacta», SNr; Substance noire «pars reticula», SP; Substance P.



**Figure 5** : Théorie de l'inhibition lors de la SCP du GPi

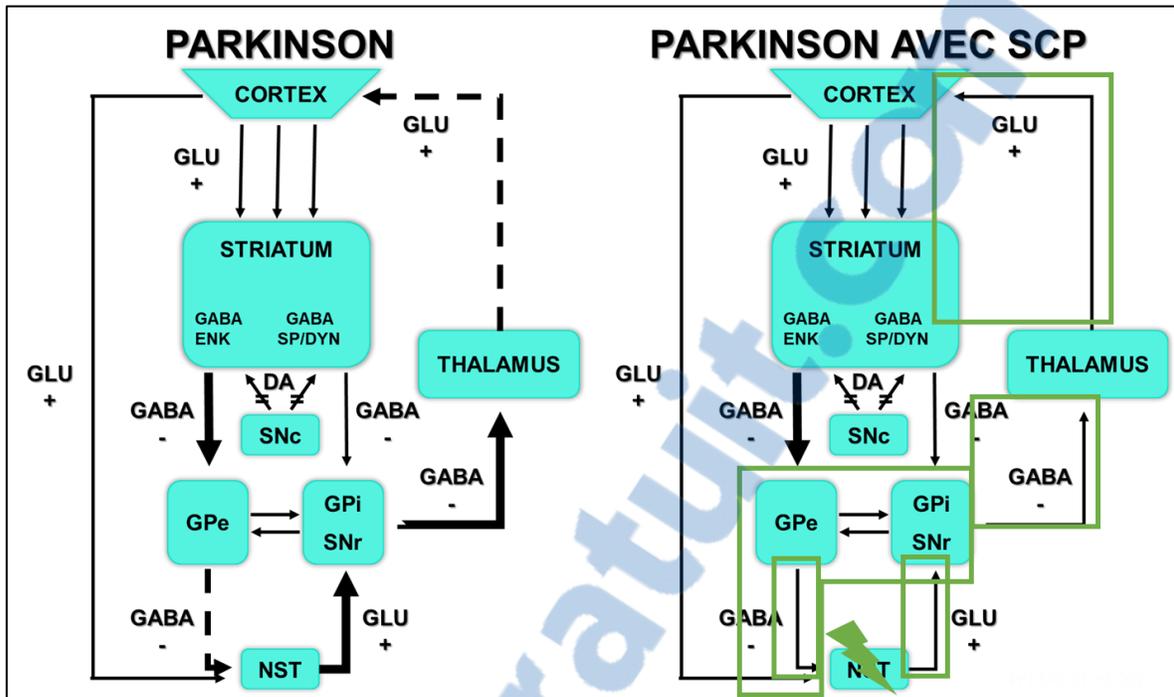
La stimulation électrique du GPi, grâce à l'inhibition de l'activité neuronale, permet de diminuer l'inhibition GABAergique que le GPi exerce sur le thalamus. Ceci permet de rétablir l'excitabilité des neurones corticaux et, ainsi, le mouvement<sup>37,54,55</sup> (adaptée de Parent *et al.* 2000 et Jahanshahi *et al.* 2015<sup>54,55</sup>).  $\longrightarrow$  : condition normale,  $\longrightarrow$  : augmentation de l'activité,  $\dashrightarrow$  : diminution de l'activité. Abréviations : DA; Dopamine, DYN; Dynorphin, ENK; Enképhaline, GABA; «Gamma-Aminobutyric acid», GLU; Glutamate, GPe; Globus pallidus externe, GPi; Globus pallidus interne, NST; Noyau sous-thalamique, SNc; Substance noire «pars compacta», SNr; Substance noire «pars reticula», SP; Substance P.

*Théorie de l'activation* : D'un autre côté, certains résultats suggèrent que la SCP provoquerait l'excitation d'axones efférents menant ainsi à l'activation des axones et, ainsi, à l'activation de la région sur laquelle ceux-ci se projettent. Cette activation pourrait se faire par le biais de connexions réciproques ou indirectes, tant au niveau de la SCP du NST qu'au niveau du GPi chez des signes parkinsoniens<sup>72,73</sup> et dans le GPe, le GPi et la SNr chez des patients parkinsoniens<sup>74,75</sup>. En effet, cette stimulation provoquerait l'excitation des projections neuronales des neurones localisés dans le NST, le GPi, le GPe et la SN. Bref, cette activation permettrait d'atténuer les effets des efférences inhibitrices des ganglions de la base et de rétablir l'excitabilité de neurones corticaux, améliorant ainsi les symptômes moteurs de la MP (voir figure 6 et 7)<sup>37,76</sup>.



**Figure 6.** Théorie de l'activation lors de la SCP au niveau du NST.

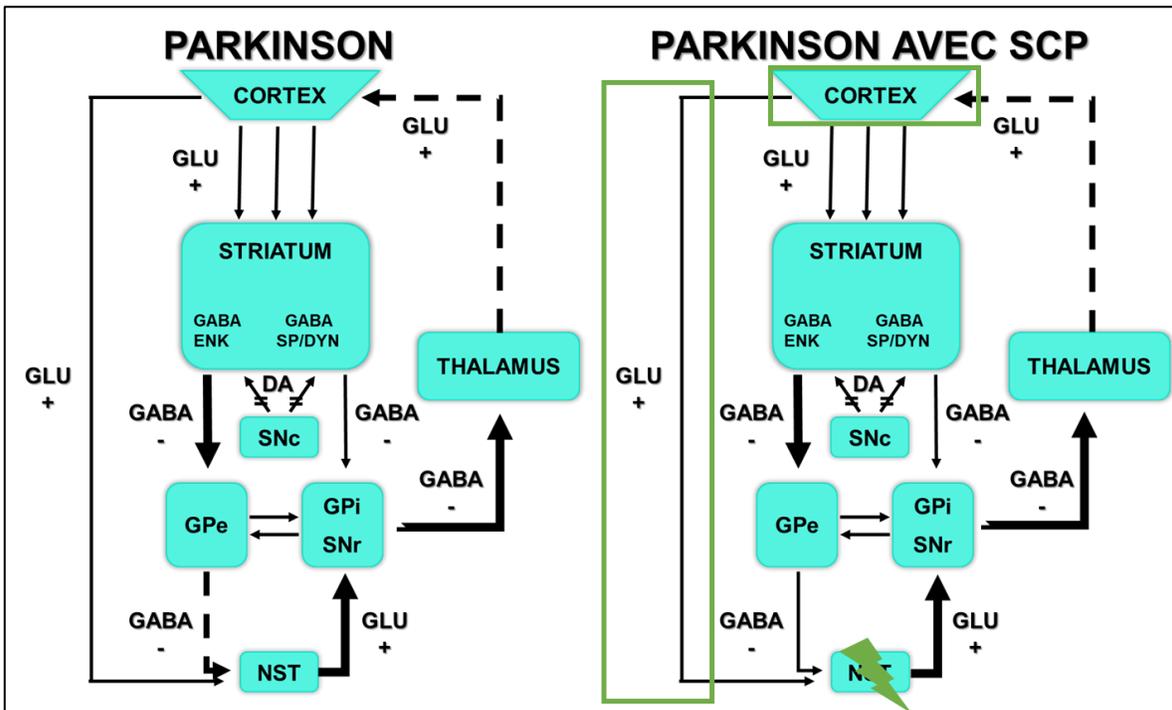
La SCP au niveau du NST mène à l'activation des projections axonales du NST sur le GPi et la SNr. Cela amène un changement du patron de décharge du GPi et de la SNr provoquant un retour à la normale de l'inhibition GABAergique du GPi et de la SNr sur le thalamus permettant ainsi le rétablissement de l'excitabilité des neurones corticaux<sup>37,54,55</sup> (adaptée de Parent *et al.* 2000 et Jahanshahi *et al.* 2015<sup>54,55</sup>).  $\longrightarrow$  : condition normale,  $\longrightarrow$  : augmentation de l'activité,  $\dashrightarrow$  : diminution de l'activité. Abréviations : DA; Dopamine, DYN; Dynorphin, ENK; Enképhaline, GABA; «Gamma-Aminobutyric acid», GLU; Glutamate, GPe; Globus pallidus externe, GPi; Globus pallidus interne, NST; Noyau sous-thalamique, SNc; Substance noire «pars compacta», SNr; Substance noire «pars reticula», SP; Substance P.



**Figure 7.** Théorie de l'activation lors de la SCP du NST/GPi par le biais de connexions réciproques ou indirectes.

La SCP au niveau du NST/GPi pourrait mener à l'activation des projections axonales du NST ou du GPi et de la SNr permettant, par le biais d'un phénomène de boucle (connexions réciproques ou indirectes), un retour de l'inhibition du NST menant à une diminution de l'excitation glutamatergique du NST sur le GPi et la SNr qui mènera à diminution de l'inhibition GABAergique sur le thalamus, conduisant à l'augmentation de l'excitabilité des neurones corticaux<sup>37,54,55</sup> (adaptée de Parent *et al.* 2000 et Jahanshahi *et al.* 2015<sup>54,55</sup>).  $\longrightarrow$  : condition normale,  $\longrightarrow$  : augmentation de l'activité,  $\dashrightarrow$  : diminution de l'activité. Abréviations : DA; Dopamine, DYN; Dynorphin, ENK; Enképhaline, GABA; «Gamma-Aminobutyric acid», GLU; Glutamate, GPe; Globus pallidus externe, GPi; Globus pallidus interne, NST; Noyau sous-thalamique, SNc; Substance noire «pars compacta», SNr; Substance noire «pars reticula», SP; Substance P.

*Perturbation de l'hypersynchronisation* : Quelques études se sont aussi penchées sur la possibilité de l'existence d'une voie hyperdirecte, dans laquelle le NST recevrait des projections axonales du cortex. D'ailleurs les observations réalisées par Nambu *et al.* ont démontré que les effets excitateurs de la voie hyperdirecte étaient puissants et pouvaient contourner le striatum permettant ainsi d'obtenir un temps de conduction plus court que les effets transmis par les voies directe et indirecte<sup>54,77,78</sup>. Des études chez le singe ont démontré que la SCP du GPi serait en mesure de perturber le patron de décharge des neurones corticaux perturbant ainsi les informations transmises par la voie hyperdirecte et, par le fait même, les informations anormales amenées au cortex (symptômes moteurs) permettant ainsi de les supprimer. La SCP du NST agirait de manière similaire (**voir figure 8**). En effet, le NST projette sur le GPi/SNr permettant son activation qui permet, quant à elle, l'inhibition du thalamus qui résultera par l'activation du cortex, provoquant ainsi la transmission d'informations via la voie hyperdirecte<sup>79,80</sup>.



**Figure 8.** Théorie de la perturbation de l'hypersynchronisation de la voie hyperdirecte lors d'une SCP dans le NST ou le GPi.

Dans un premier temps, la SCP induit une perturbation de l'hypersynchronisation des neurones corticaux ce qui, par le biais de la voie hyperdirecte permet, dans un deuxième temps, de supprimer les informations anormales amenées au cortex permettant ainsi la diminution des symptômes moteurs liés à la MP (effet semblable à la théorie de l'inhibition lors de la SCP du NST : voir figure 4)<sup>37,54,55</sup> (adaptée de Parent *et al.* 2000 et Jahanshahi *et al.* 2015<sup>54,55</sup>).  $\longrightarrow$  : condition normale,  $\longrightarrow$  : augmentation de l'activité,  $\dashrightarrow$  : diminution de l'activité. Abréviations : DA; Dopamine, DYN; Dynorphin, ENK; Enképhaline, GABA; «Gamma-Aminobutyric acid», GLU; Glutamate, GPe; Globus pallidus externe, GPi; Globus pallidus interne, NST; Noyau sous-thalamique, SNc; Substance noire «pars compacta», SNr; Substance noire «pars reticulata», SP; Substance P.

En résumé, les preuves apportées par la littérature divergent et les effets engendrés par la SCP sur le patron électrophysiologique des cellules des régions cibles restent encore malconnus.

#### 1.2.4 Mécanismes cellulaires

Plusieurs études se sont penchées, quant à elles, sur les mécanismes cellulaires sous-jacents aux effets de la SCP. En effet, l'étude de l'impact de la SCP sur le patron électrophysiologique de la cellule n'est pas la seule voie importante à considérer. L'évaluation des effets de la SCP quant à son impact sur l'inflammation, la neurogenèse, l'axogenèse et l'angiogenèse est aussi importante.

*Inflammation* : La littérature rapporte de nombreuses études suggérant la contribution des processus neuroinflammatoires à la dégénérescence des neurones dopaminergiques<sup>81</sup>. Entre autres, plusieurs études ont rapporté des niveaux élevés de cytokines proinflammatoires dans le cerveau de patients parkinsoniens<sup>82-85</sup>. Plusieurs événements moléculaires et cellulaires ont également été identifiés, incluant l'activation microgliale (en combinaison avec la sécrétion de cytokines proinflammatoires) et l'infiltration lymphocytaire. Parmi les éléments de la réponse immune/inflammatoire, les récepteurs Toll-like (TLR) représentent des joueurs clés et sont, en grande partie, exprimés par les cellules immunitaires, incluant les cellules microgliales. Parmi eux, les récepteurs Toll-like 2 (TLR2) reconnaissent plusieurs ligands tels que les composés de la paroi bactérienne (peptidoglycanes, acides lipotéichoïques), les «heat shock proteins» (Hsp) et les débris cellulaires issus de la nécrose<sup>86-88</sup>. Plusieurs études sur la réponse inflammatoire produite dans divers modèles de lésions démontrent une corrélation parfaite entre cette réponse et l'expression de TLR2 par les cellules microgliales<sup>89-91</sup>. Dans le cadre de l'étude des mécanismes cellulaires sous-jacents à une stimulation électrique dans une région cible du cerveau, Arsenault *et al.* ont déjà démontré qu'une stimulation semi-chronique (à raison de 5h/j sur 10j) chez la souris induisait une réponse inflammatoire, grâce à l'étude de la réponse des récepteurs TLR2 par l'imagerie *in vivo* et des microglies sur des tissus post-mortem<sup>92</sup>. McConnell *et al.* se sont aussi penchés sur la réponse inflammatoire dans des tissus post-mortem humains et ont démontré qu'une électrode implantée de manière chronique induit une inflammation locale et de la neurodégénérescence chez l'humain<sup>93</sup>. Il importe de préciser que les conséquences d'une réaction inflammatoire à long terme ne sont pas encore toutes connues. En effet, cette réaction peut mener à l'activation d'une cascade de divers événements qui pourront influencer, de manière transitoire ou permanente les circuits neuronaux<sup>91</sup>.

*Neurogenèse/axogenèse* : La littérature concernant les désordres neurodégénératifs, dont la MP, semble suggérer l'existence d'une relation entre l'inflammation au cerveau et la régulation de la neurogenèse<sup>94-98</sup>. Il a été démontré que la neurogenèse est modulée, lors d'une lésion au cerveau, en réponse aux fluctuations des cytokines, des chimiokines, des neurotransmetteurs et des dérivés réactifs de l'oxygène, sécrétés lors de l'inflammation par les macrophages, les microglies et les astrocytes activés<sup>99</sup>. Plus spécifiquement, une étude a suggéré un rôle du TLR2 dans la neurogenèse au niveau de la zone sous-granulaire du gyrus denté<sup>100</sup>. Par ailleurs, dans le contexte de la MP, certaines études rapportent des changements dans les processus de neurogenèse, à la fois chez l'humain et chez des modèles animaux. Plusieurs travaux montrent qu'une déplétion dopaminergique complète de la voie nigrostriée produite par la 6-hydroxydopamine (6-OHDA)<sup>101,102</sup> ou le 1-méthyl-4-phenyl-1,2,3,6-tétrahydropyridine (MPTP)<sup>102-104</sup> - des toxines principalement utilisées pour reproduire les caractéristiques de la MP chez l'animal - mène à une augmentation de la prolifération cellulaire au niveau du striatum et de la SN sans toutefois qu'aucun de ces nouveaux neurones n'exprime un phénotype dopaminergique<sup>105</sup>. Cependant, d'autres études employant ces modèles démontrent une diminution de la prolifération cellulaire au niveau des zones sous-ventriculaire et sous-granulaire<sup>106,107</sup>. Néanmoins, la neurogenèse est augmentée au niveau de la SN chez le modèle parkinsonien de la souris MPTP<sup>108</sup>. Plus récemment, il a été rapporté que l'augmentation de la prolifération cellulaire au niveau du striatum appauvri en dopamine serait à prédominance astrocytaire, une répercussion possible de la réaction gliale observée dans la pathologie<sup>109</sup>. Il devient fort intéressant d'identifier les facteurs inflammatoires qui favorisent la neurogenèse ou la gliogenèse, ainsi que les facteurs qui inhibent la survie et/ou l'incorporation des nouveaux neurones au sein des circuiteries du système nerveux central. D'ailleurs, Lozano et ses collègues ont démontré que lors d'une SCP à haute fréquence dans le contexte de la maladie d'Alzheimer, il y avait une augmentation de la neurogenèse et de l'arborisation des neurites dans l'hippocampe et, ce, chez la souris, chez le rat et chez l'humain. Cette neurogenèse permet même l'amélioration de la mémoire chez l'humain. En effet, cela pourrait être dû à l'augmentation de facteurs trophiques et à l'augmentation de l'expression de protéines synaptiques<sup>110-113</sup>.

Dans le contexte pathologique de la MP, il a été suggéré que l'activation des cellules astrocytaires participait à une cascade d'évènements pouvant conduire à la dégénérescence neuronale. Des observations neuropathologiques dénotent une augmentation de la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP, de l'anglais «glial fibrillary acidic protein»), confirmant ainsi une réaction gliale dans la MP<sup>114-116</sup>. De nombreuses études histologiques ont démontré une réaction astrocytaire ainsi qu'une augmentation de la production de la GFAP au pourtour de l'électrode implanté chez l'humain<sup>117-122</sup>. Cette activation astrocytaire découlant de la SCP conduit à la relâche de gliotransmetteurs (glutamate, adénosine triphosphate (ATP), calcium) qui influence le flux sanguin avec pour effet l'augmentation ou la diminution de l'activité neuronale. Ainsi, la réaction astrocytaire peut influencer la composition et l'activité des circuits neuronaux et induire des changements dans les synapses neuronales<sup>123,124</sup>.

*Angiogenèse* : Quelques études ont aussi exploré le phénomène d'angiogenèse pouvant être impliqué dans les effets de la SCP. En effet, il a été démontré que l'altération des vaisseaux sanguins était impliquée dans de nombreuses maladies neurodégénératives, telles que la MP, la maladie d'Alzheimer, la sclérose en plaques et la sclérose latérale amyotrophique<sup>125</sup>. D'ailleurs, il a été démontré que les patients parkinsoniens recevant de la SCP par rapport à des patients parkinsoniens ne recevant pas de SCP entraînent des changements microvasculaires. Plus particulièrement, une augmentation de l'épaisseur, de la longueur et de la densité des cellules endothéliales a été observée chez les patients ayant reçus la SCP, de même qu'une augmentation des protéines associées aux jonctions d'ancrage ainsi qu'aux jonctions serrées (en lien avec la barrière hémato-encéphalique et donc avec l'intégrité des vaisseaux sanguins). Ces observations suggèrent que la SCP pourrait ainsi renverser la dégradation de la barrière hémato encéphalique observée chez les patients parkinsoniens ne recevant pas de SCP. Aussi, une augmentation significative de l'expression du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF, de l'anglais «vascular endothelial growth factor», facteur angiogénique). Les mécanismes en lien avec l'angiogenèse pourraient jouer un rôle clé dans les effets bénéfiques découlant d'un traitement par SCP chez les patients parkinsoniens<sup>126,127</sup>.

Il importe de préciser qu'il faut considérer les évidences mise de l'avant par ces études avec prudence et considérer leur contexte, puisque les effets médiés par la SCP au niveau cellulaire peuvent varier grandement selon la région ciblée. En effet, il est aujourd'hui reconnu que certaines régions du cerveau sont, par exemple, plus propices à la neurogenèse alors que dans d'autres régions, il sera impossible d'observer les mêmes effets dus aux différences de populations cellulaires qui y résident.

### **1.2.5 Effets secondaires**

Bien que la SCP soit maintenant une chirurgie assez courante, certains patients présentent des effets secondaires dus à la chirurgie, dont les plus courants sont des douleurs et/ou des infections qui sont des risques inhérents à toute chirurgie, mais aussi des effets secondaires dus à la stimulation électrique elle-même<sup>128</sup>.

En effet, les patients traités par la SCP peuvent développer des troubles moteurs en lien avec la stimulation électrique délivrée au cerveau. La proportion de patients développant des troubles de la démarche, que ce soit lors d'une stimulation du NST ou du Vim, varie de 11.5 à 35.7%. Plusieurs troubles du langage sont aussi observés, particulièrement au niveau de la fluidité verbale<sup>129</sup>. La proportion de patients touchée peut s'élever jusqu'à 19.4% et ceux étant traités par une stimulation bilatérale (34.6%) sembleraient plus susceptibles à ces difficultés que ceux étant traités par une stimulation unilatérale (10.2%)<sup>130</sup>. Cependant, la différence entre les régions cibles (exemple, NST versus GPi) ne semblerait pas déterminante<sup>131</sup>. L'incontinence serait aussi un autre effet secondaire moteur éprouvé par les patients traités par la SCP, bien qu'en minorité (5.1%)<sup>130</sup>.

De plus, les études reconnaissent de plus en plus que certains patients, bien que représentant une minorité (2.6-9.0%) développeraient des troubles neuropsychiatriques, tels que la dépression, les hallucinations, la confusion et d'autres désordres cognitifs. Ces effets secondaires semblent être majoritairement associés à la stimulation électrique du NST et du GPi<sup>128,132</sup>. Ces troubles psychiatriques semblent plus fréquents dans les cas de MP traités par la SCP du NST que ceux traités par la SCP du Vim et de même que lors de la SCP utilisée dans le contexte d'autres troubles moteurs<sup>132</sup>. Ces observations soulèvent l'importance des dépistages neuropsychologiques préalables à la procédure chirurgicale.

Buhmann *et al.* ont répertorié 16 études soulevant le problème des effets secondaires rencontrés suite à la SCP et qui semblent toutes aller dans la même direction que leurs observations. Cependant, l'étude approfondie des effets secondaires observés suite à la SCP est freinée par l'hétérogénéité inter-patient (sexe, âge, poids, etc.), la différence inter-centre/médecin traitant, la variabilité méthodologique ainsi que le manque de procédures normalisées. Ainsi, il est difficile d'interpréter les différentes études sur le sujet, puis de les comparer entre elles. Cependant, les études semblent clairement indiquer que les patients souffrant d'effets secondaires graves et irréversibles représenteraient environ 4.9%, mais en ce qui concerne les effets secondaires moins graves et réversibles/passagers, une majorité des patients traités par la SCP les ressentiraient<sup>130,132</sup>. La différence entre ceux-ci et les patients pour qui la chirurgie est un succès demeure, encore aujourd'hui, inexpliquée.

### 1.3 Modèles d'étude

Actuellement, dans le domaine de la recherche sur la SCP, il existe un certain nombre de dispositifs de micro-stimulation pouvant servir comme modèle d'étude aux mécanismes d'action sous-jacents aux effets de la SCP chez le petit animal de laboratoire. Il existe deux types de stimulation soit, semi-chronique et chronique. Dans le domaine de la clinique, le type de stimulation utilisée est une stimulation chronique. En effet, chez l'humain, la stimulation se fait en continue et, ce, jusqu'à la fin de la durée de vie du neurostimulateur. Précisons que cette stimulation peut toutefois être arrêtée à tout moment par le patient (exemple : la nuit) lui-même, ou par le médecin traitant en cas de problèmes.

Actuellement, la recherche scientifique dans le domaine de la SCP se fait presque exclusivement chez le rat. Les études réalisées chez le rat présentent l'avantage d'une miniaturisation moindre des équipements servant à la SCP (électrodes et stimulateurs). De plus, la plus grande taille du cerveau (par rapport à la souris) présente aussi l'avantage de réduire la difficulté de l'atteinte de différentes régions cibles de petites tailles (ex : NST). Cependant, l'étude de la SCP chez la souris permettrait de bénéficier d'une grande variété de souris transgéniques qui offrent la possibilité de réaliser des études à grande échelle, d'étudier divers sentiers cellulaires et moléculaires spécifiques, d'explorer diverses voies de signalisation intracellulaires grâce aux «knock-out» et aux «knock-in» de gènes spécifiques, de profiter de divers modèles transgéniques de pathologie qui permettront de réaliser des études à différents âges et à différents stades de la pathologie offrant ainsi la possibilité d'étudier les fenêtres thérapeutiques. Ainsi, les études des mécanismes cellulaires sous-jacents à la SCP chez la souris représenteraient un net avantage dans l'avancement des connaissances de ce domaine d'étude.

Bien que mon projet de recherche soit vraiment axé sur les modèles animaux de petites tailles, il est important de préciser que la recherche dans le domaine de la SCP s'effectue aussi sur des modèles de primates non-humains. Ces modèles animaux présentent l'avantage de pouvoir utiliser des équipements très similaires à ceux utilisés chez l'humain<sup>133</sup>. De plus, le primate non-humain est un modèle très près de la clinique, permettant ainsi une translation rapide et efficace, chez l'humain, des découvertes effectuées dans ce modèle.

### **1.3.1 Stimulation semi-chronique**

Les études de stimulation semi-chronique présentent des protocoles où la stimulation est administrée quelques heures par jour pendant une certaine période de temps. Certains dispositifs de micro-stimulation utilisés dans ce type d'étude peuvent être implantés chez la souris afin qu'elle soit libre de ses mouvements. Cependant, la majorité des systèmes utilisés sont des systèmes externes qui sont reliés par un fil à l'animal (dessus de la cage ouverte pour permettre le passage du câble (**voir tableau 2**)).

Référence	Espèce	Durée du protocole <i>in vivo</i>	Durée théorique de la stimulation	Poids du prototype implantable (g)	Paramètres électriques de la stimulation (intensité / fréquence / durée d'impulsion / tension / mono-biphasique / balancée ou non)
Kundishora <i>et al.</i> 2017 <sup>134</sup>	Rat	NS	NS	SE	75-400 $\mu$ A / 50-100Hz / 0,5ms / NS / biphasique / NS
Liu <i>et al.</i> 2017 <sup>135</sup>	Rat	15min ON, 45min OFF, 3fois/j	3m	SE	0,2-0,5mA / 1-200Hz / 0,03-1,40ms / 3V / monophasique / balancée
Madsen <i>et al.</i> 2017 <sup>136</sup>	Souris	Cycles 5min ON/OFF, 12h/j pour 4-7j ou 15-21j	17.5j	NS	30 $\mu$ A / 8Hz / 1ms / NS / NS / NS
Xia <i>et al.</i> 2017 <sup>137</sup>	Souris	1h	NS	SE	NS / 130Hz / 90 $\mu$ s / NS / NS / NS
Yang <i>et al.</i> 2017 <sup>138</sup>	Rat	1h/j pour 14j	NS	SE	NS / 50Hz / 200ms / NS / NS / NS
Batra <i>et al.</i> 2016 <sup>139</sup>	Rat	3h/j pour 5 j	NS	SE	100-250 $\mu$ A / 130-180Hz / 60-90ms / NS / NS / NS
Magdaleno-Madrigal <i>et al.</i> 2016 <sup>140</sup>	Rat	Séquence : 10min	NS	SE	200 $\mu$ A / 100Hz / 0,5ms / NS / biphasique / NS
Arsenault <i>et al.</i> 2015 <sup>92</sup>	Souris	5h/j pour 9j	NS	SE	150 $\mu$ A / 130Hz / 100 $\mu$ s / 14,1 V / biphasique / balancée
Luo et Ker 2015 <sup>141</sup>	Rat	NS	NS	SE	28 $\mu$ A / NS / 0,5ms / 12V / biphasique / balancée
Halpern <i>et al.</i> 2014 <sup>142</sup>	Souris	1h ou 4j	NS	SE	75-150 $\mu$ A / 130-160Hz / 60-90 $\mu$ s / monophasique / NS
Irving <i>et al.</i> 2013 <sup>143</sup>	Souris	4h/j pour 1m	NS	1	0-1mA / 50-5000Hz / 25-250 $\mu$ s / NS / biphasique / balancée
Hentall 2013 <sup>144</sup>	Rat	Impulsion suivie de 5min de repos/12h pour 7 ou 14j	21-42j	2	20-100 $\mu$ A / 8 or 16 or 24 Hz / 100-1000 $\mu$ s / 34V / monophasique / non balancée
Jeffrey <i>et al.</i> 2013 <sup>145</sup>	Souris	4-6m	NS	SE	10-150 $\mu$ A / 60Hz / 0,5 ms / NS / NS / NS

Quinkert et Pfaff 2012 <sup>146</sup>	Souris	24 x 10 min en 3j	NS	NS	75, 100 ou 125 $\mu$ A / 50, 125, 175 ou 225Hz / 0,2ms / NS / biphasique / balancée
Perry <i>et al.</i> 2012 <sup>147</sup>	Rat	4h/j, 5j/sem	NS	NS	0-2000 $\mu$ A / 5-150Hz / 50 $\mu$ s / NS / biphasique / balancée
Semprini <i>et al.</i> 2012 <sup>148</sup>	Rat	NS	NS	SE	5-100 $\mu$ A / 10-200Hz / 160 $\mu$ s / NS / biphasique / NS
Langevin <i>et al.</i> 2010 <sup>149</sup>	Rat	4h/j pour 7j	NS	SE	2,5V / 160Hz / 120 $\mu$ s / NS / NS / NS
Quinkert <i>et al.</i> 2010 <sup>150</sup>	Souris	10 min aux 3h, la nuit	NS	SE	25, 75, 100 ou 150 $\mu$ A / 50Hz / 0,1ms / biphasique / balancée
Ye <i>et al.</i> 2009 <sup>151</sup>	Rat	NS	2hrs	43g	Variable / variable / variable / 3,7V / biphasique / balancée
Butovas et Schwarz 2007 <sup>152</sup>	Rat	NS	NS	NI	4-25 $\mu$ A / 5-320Hz / 100-600 $\mu$ s / NS / biphasique / balancée
Liu <i>et al.</i> 2008 <sup>153</sup>	Rat	3h/j pour 7-10j	100j	14-16	0,2-0,5mA / 130Hz / 0,21ms / 3V / monophasique / NS
Millard et Shepherd 2007 <sup>154</sup>	Rat	4h/j pour 14 sem	NS	2,5	100-500 $\mu$ A / 50-5000Hz / 25-250 $\mu$ s / 5V / biphasique / balancée

**Tableau 2.** Prototypes de systèmes de stimulation semi-chronique : implantables ou externes. Abréviations :  $\mu$ A; Microampères,  $\mu$ s; Microsecondes, g; Gramme(s), h; Heure(s), Hz; Hertz, j; Jour(s), m; Mois, mA; Milliampères, min; Minutes, ms; Millisecondes, NS; Non spécifié, SE; Système externe, sem; Semaine(s), V; Volts.

La majorité des études concernant la stimulation semi-chronique ont été réalisées chez le rat. Sans compter que la majorité de ces études ont aussi utilisé des systèmes de microstimulation externe relié par un fil à l'électrode fixée sur la tête de l'animal posant ainsi un problème pour les études à long terme puisque le dessus de la cage de l'animal se doit d'être ouvert sans toutefois lui permettent de s'enfuir. En effet, ces deux tendances découlent des difficultés de miniaturisation de l'équipement de SCP utilisée en clinique chez l'humain. De plus, tel que mentionné précédemment, la taille du cerveau du rat facilite les interventions neurochirurgicales nécessaires à la réalisation de protocoles de SCP. Il est important de bien comprendre que l'utilisation de ce type de systèmes de stimulation permet difficilement la

reproduction des stimulations faites en clinique chez l'être humain, qui sont réalisées de manière continue et à long terme. Tous les paramètres électriques utilisés par ces études sont majoritairement semblables à ceux utilisés chez l'humain en clinique.

Les prototypes les plus intéressants, en ce qui concerne les protocoles de stimulation semi-chroniques sont ceux de Madsen *et al.* 2017, Irving *et al.* 2013, Quinkert et Pfaff 2012 et Millard et Shepherd 2007. En effet, ceux-ci ont développé des systèmes de micro-stimulation implantables de faible poids permettant ainsi leur utilisation chez la souris. Cependant, ces systèmes ne permettent pas une stimulation chronique à long terme. En effet, les stimulations *in vivo* ont été respectivement de : cycles de 5min ON/OFF, 12h/j pour 4-7j ou 15-21j, 4h/j pour 1m, 24 x 10 min en 3j et 4h/j pour 14 sem<sup>136,143,146,154</sup>. Aussi, bien que Millard et Shepherd soutiennent que leur système de micro-stimulation soit utilisable chez la souris, tous les résultats présentés ont été produits chez le rat<sup>154</sup>.

### 1.3.2 Stimulation chronique

Certains systèmes de stimulation ont aussi été développés pour une utilisation chronique à long terme chez les petits animaux de laboratoire. Ainsi, la stimulation se fait en continue sur une certaine période de temps donnée. Ce sont des systèmes implantables qui permettent le libre mouvement des animaux pendant toute la durée du protocole (**voir tableau 3**).

Reference	Espèce	Durée protocole <i>in vivo</i>	Durée théorique de la stimulation	Poids du prototype implantable (g)	Paramètres électriques de la stimulation (intensité / fréquence / durée d'impulsion / tension / mono-biphasique / balancée ou non)
Kouzani <i>et al.</i> 2016 <sup>155</sup>	Rat	3j	22j	4,75	200µA / 130 Hz / 90µs / 3V / NS / balancée
Lin <i>et al.</i> 2016 <sup>156</sup>	Rat	NS	NS	20	82,5-229µA / 60-220Hz / 40-440µs / 1,5-4,5V / biphasique / NS
Pinnell <i>et al.</i> 2015 <sup>157</sup>	Rat	NS	1sem	8,5	30µA-1,5mA / 0,1Hz-5KHz / 10µs-500ms / 15-18V / monophasique / non balancée
Angotzi <i>et al.</i> 2014 <sup>158</sup>	Rat	NS	NS	47	4-300µA / 1Hz-10kHz / 100µs / biphasique / balancée
Kolb <i>et al.</i> 2014 <sup>159</sup>	Rat	3sem	6j	13.8	26-2036µA / 10-300Hz / NS / 17,6V / biphasique / balancée
Ewing et Grace 2013 <sup>160</sup>	Rat	5j	NS	NS	100µA / 130 Hz / 100µs / NS / monophasique / NS
Ewing <i>et al.</i> 2013a <sup>161</sup>	Rat	NS	21 ou 33j	9.9 ou 13.1	50-200µA / 10, 50, 130 ou 180Hz / 50, 100, 150 ou 200µs / 20V / biphasique / balancée
Ewing <i>et al.</i> 2013 <sup>162</sup>	Rat	10j	10-12j	11.5	0-1mA / 2-200Hz / 60-200µs / 20V / biphasique / balancée
Kouzani <i>et al.</i> 2013 <sup>163</sup>	Rat	12j	12.3j	3,27, 5,08 ou 5,1	200µA / 130Hz / 90µs / 3,1V / monophasique / balancée
De Haas <i>et al.</i> 2012 <sup>164</sup>	Souris	1j	10h	2,1	20-100µA / 131Hz / 60µs / 4,65V / biphasique / balancée
Forni <i>et al.</i> 2012 <sup>165</sup>	Rat	5sem	6sem	6,5	50-120µA / 0-130Hz / 0-80µs / <6V / monophasique / NS
Morimoto <i>et al.</i> 2011 <sup>166</sup>	Rat	1sem	1sem	NS	100 or 200µA / 2, 10 ou 50 Hz / 1ms / NS / monophasique / non balancée
Paulat <i>et al.</i> 2011 <sup>167</sup>	Rat	3sem	3sem	NS	50, 100 ou 200µA / 130Hz / NS / NS/mono ou biphasique / balancée ou non
Qian <i>et al.</i> 2011 <sup>168</sup>	Rat	NS	3m	NS	0-2,5V / 2-250Hz / 60-450µs / NS / monophasique / balancée

Lee <i>et al.</i> 2010 <sup>169</sup>	Rat	68-923h	68-923h	NS	0-135 $\mu$ A / 31-1000Hz / 5-320 $\mu$ s / 3-3,6V / biphasique / balancée
Baba <i>et al.</i> 2009 <sup>127</sup>	Rat	1sem	1sem	NS	100 ou 200 $\mu$ A / 2, 10 ou 50Hz / 1 ms / NS / monophasique / non balancée
Rolston <i>et al.</i> 2009 <sup>170</sup>	Rat	NS	NS	NS	2-50 $\mu$ A / 0,25Hz / 800 $\mu$ s / 6V / biphasique / NS
Venkatraman <i>et al.</i> 2009 <sup>171</sup>	Rat	NS	NS	NS	30 $\mu$ A / NS / 3Hz-9kHz / 200 $\mu$ s / 5V / biphasique / balancée
Harnack <i>et al.</i> 2008 <sup>172</sup>	Rat	3sem	21-35j	13	50-600 $\mu$ A / 131Hz / 52 $\mu$ s / 12V / biphasique / balancée
Oueslati <i>et al.</i> 2007 <sup>173</sup>	Rat	5j	NS	NS	80 $\mu$ A / 130HZ / 80 $\mu$ S / NS / NS / NS
Gubellini <i>et al.</i> 2006 <sup>174</sup>	Rat	5j	NS	NS	60 $\mu$ A / 130HZ / 80 $\mu$ S / NS / NS / NS
Xu <i>et al.</i> 2004 <sup>175</sup>	Rat	7h	7j	28	50-100 $\mu$ A / 100Hz / 0.5ms / 6 ou 9V / biphasique / balancée

**Tableau 3.** Prototypes de systèmes de micro-stimulation chronique implantables. Abréviations :  $\mu$ A; Microampères,  $\mu$ s; Microsecondes, g; Gramme(s), h; Heure(s), Hz; Hertz, j; Jour(s), m; Mois, mA; Milliampères, min; Minutes, ms; Millisecondes, NS; Non spécifié, SE; Système externe, sem; Semaine(s), V; Volts.

La majorité des études concernant la stimulation de type chronique ont été réalisées chez le rat avec des systèmes de micro-stimulation présentant un poids important empêchant ainsi leur utilisation chez la souris. En effet, les défis de miniaturisation des systèmes de SCP, tels que ceux utilisés en clinique, freinent leur utilisation chez la souris. L'utilisation de pièces électroniques réduites en taille, mais ayant des fonctionnalités électriques similaires aux pièces utilisées dans les systèmes de stimulation clinique, tant pour le stimulateur que les électrodes, posent des difficultés supplémentaires dans le développement de ces systèmes. De plus, les systèmes de stimulation développés doivent être de faible poids afin qu'ils soient utilisables chez la souris et les électrodes doivent être adaptées à la petite taille du cerveau de la souris<sup>176,177</sup>. Cependant, tel que mentionné précédemment, il serait nettement avantageux d'avoir un système de micro-stimulation pouvant être implanté de manière chronique et à long terme chez la souris. Ils utilisent majoritairement des paramètres

électriques semblables à ceux utilisés en clinique chez l'humain. En tenant compte de ces considérations, le prototype le plus intéressant est celui de De Haas *et al.* 2012. En effet, leur système de micro-stimulation est totalement implantable chez la souris et présente un faible poids tolérable par la souris. Malheureusement, le système de batterie utilisé permet seulement une stimulation continue de 10h<sup>164</sup>.

Ainsi, il nous est possible de constater que les outils disponibles dans l'étude des mécanismes d'actions de la SCP ne sont pas adaptés à une étude de stimulation chronique chez la souris et à long terme, telle qu'utilisée en clinique chez l'humain.

## 1.4 Problématique

Bien que la SCP soit devenue un traitement assez répandu, elle demeure, étant donné son caractère invasif et l'hétérogénéité des résultats obtenus, une alternative de second choix suite à l'échec des approches pharmacologiques classiques, plus particulièrement dans les cas où les patients ne répondent pas aux traitements pharmacologiques courants ou encore qui ont développé des effets secondaires majeurs suite à l'utilisation de ces traitements à long terme<sup>4,178,179</sup>. Une meilleure compréhension de ses mécanismes d'action, des effets cellulaires qu'elle engendre ainsi que de ses fenêtres thérapeutiques pourrait permettre d'améliorer ce traitement, d'en réduire les effets secondaires néfastes et d'en élargir son applicabilité clinique. En effet, certaines études ont démontré que la qualité de vie des patients ayant reçus de la SCP de manière précoce suite à leur diagnostic accompagné d'une réduction de leur médication était plus élevée que ceux recevant exclusivement un traitement pharmacologique<sup>180-182</sup>.

### 1.4.1 Modèles existants pour l'étude de la SCP chez le petit animal

À ce jour, les dispositifs de stimulation cérébrale disponibles pour l'étude des mécanismes d'action de la SCP et les études les utilisant ont été réalisées presque exclusivement chez le rat (**voir tableau 2 et 3**). En effet, les études chez la souris se révèlent très difficiles en raison des défis considérables imposés par la miniaturisation des systèmes de SCP, lesquels doivent pouvoir répliquer les dispositifs humains ainsi que les paramètres électriques utilisés en clinique. De plus, les systèmes de micro-stimulation disponibles pour les études chez la souris ne répondent pas aux critères de la recherche. En effet, ces systèmes se doivent d'être de petite taille afin de permettre l'implantation chez la souris permettant ainsi leur libre mouvement et, par conséquent, l'utilisation de différents tests comportementaux. Actuellement, le seul système de micro-stimulation chronique ayant été utilisé pour des protocoles de stimulation chronique chez la souris a été utilisé pendant une journée (10h) empêchant ainsi l'étude des effets engendrés par la SCP à long terme<sup>164</sup>.

Face à ces limitations, il nous est rapidement apparu que nous devions développer notre propre outil de micro-stimulation qui remplirait tous les critères voulus afin de pousser l'étude des mécanismes d'action de la SCP à un niveau supérieur.

## **1.5 Objectifs du projet**

### **1.5.1 Développement d'un micro-stimulateur**

Mon projet de maîtrise visait à développer un dispositif de micro-stimulation implantable de manière chronique chez la souris tout en permettant, l'imagerie *in vivo* et le libre mouvement des souris au cours de la durée des protocoles. Ce projet avait également pour but de développer et valider les techniques nécessaires à la réalisation de protocoles animaux.

### **1.5.2 Étude des mécanismes d'action**

Le dispositif de micro-stimulation développé devait pouvoir servir, à long terme, à l'étude des mécanismes cellulaires sous-jacent aux effets, tant bénéfiques que néfastes de la SCP, dans le contexte de la MP.

# Chapitre 2 : Matériel et méthodes

## 2.1 Système de micro-stimulation

### 2.1.1 Électrodes

Les électrodes ont été fabriquées à la main. Nous avons développé 3 types d'électrodes, 2 d'entre elles sont dédiées à la stimulation cérébrale de structures de surface et l'autre est dédiée à la stimulation cérébrale de structures profondes.

*Électrodes pour la stimulation cérébrale de structures de surface* : 2 fils (Stainl. Steel (FH), Bare : 0.05", Coated : 0.008", A-M systems, Sequim, WA, États-Unis) de 7 et 8 mm ont été découpés, puis ont été dénudés à chaque extrémité (l'extrémité qui sera implantée dans le cerveau doit être dénudée sur seulement 0.25mm). Les 2 fils ont été formés afin d'obtenir un angle de 90° à 2mm du début du fils. L'extrémité opposée a été soudée à un connecteur («2 position receptacle connector through hole gold», Digi-key, Electronics, Thief River Falls, MN, États-Unis) à un angle de 90° ou 180° selon le type d'électrodes (respectivement pour une stimulation seule ou une stimulation combinée à de l'imagerie *in vivo*) (**voir figure 9**).

*Électrode pour la stimulation cérébrale de structures profondes* : Une seringue «30GX1/2 BD precision glide™» (diamètre : 0.255mm, BD, Franklin Lakes, NJ, États-Unis) a été coupée à chaque extrémité afin d'obtenir un tube d'acier de 7mm de longueur. Un fils (Platinum-iridium, Bare : 0.051mm, Coated : 0.10mm, A-M systems, Sequim, WA, États-Unis) avec une extrémité dénudée de 0.25mm a été inséré dans ce tube qui a été soudé à l'une des pattes du connecteur («2 position receptacle connector through hole gold», Digi-key, Electronics, Thief River Falls, MN, États-Unis). L'extrémité opposée de ce fils a été dénudée, puis soudée à l'autre patte du connecteur (**voir figure 9**).

Toutes les électrodes fabriquées ont été testées dans de la saline 0.9% (Hospira Healthcare Corporation, Montréal, Québec, Canada) avant leur utilisation, que ce soit pour des protocoles *in vitro* ou des protocoles *in vivo*, afin de s'assurer de leur bon fonctionnement.

### 2.1.2 Micro-stimulateur

Le micro-stimulateur a été conceptualisé et développé avec l'aide d'une compagnie spécialisée dans le développement de projet électronique, Primma Microtechnologies. Les micro-stimulateurs ont été montés par un ingénieur (**voir figure 9**).

#### *Encapsulation*

Une encapsulation a été réalisée afin d'imperméabiliser le micro-stimulateur. Le micro-stimulateur a été nettoyé avec un nettoyant pour liquide de soudage («Flux remover for PC Boards», MG Chemicals, Burlington, ON, Canada) à l'aide d'une brosse en poil de porc (MG Chemicals, Burlington, ON, Canada), 2 fois et a été séché pendant 48 heures. Après, il a été recouvert d'une couche de colle époxy (Adhaero, China) et a été séché 24 heures. Le micro-stimulateur a ensuite été vaporisé de 3 couches de silicone en aérosol (MG Chemicals, Burlington, ON, Canada) à intervalle de 5 minutes, puis a été séché 48 heures. Il a ensuite été recouvert de 2 couches de silicone en gel à intervalle de 15 minutes et a été séché 48 heures. Ce traitement a été effectué en alternance pour les 2 faces du micro-stimulateur.

Les micropuces de ces micro-stimulateurs ont été programmées par un ingénieur physique afin de pouvoir délivrer une stimulation de 150 $\mu$ A, 130Hz, 0,5ms, biphasique et balancée. Celles-ci peuvent être reprogrammées à volonté en cours de protocole puisque cette programmation se fait via le circuit de batteries.

### **2.1.3 Câbles**

Un câble flexible a été utilisé afin de relier le micro-stimulateur et l'électrode (Mouser Electronics, Mansfield, Texas, États-Unis). Le câble mesure 12.7cm de longueur, de 7mm de largeur et de 1mm d'épaisseur. Il contient 4 circuits qui sont composés de cuivre. Les contacts se font par le biais de deux pattes situées à chacun des bouts du câble.

### **2.1.4 Dispositif de batteries**

Les dispositifs de batteries ont aussi été conceptualisés et développés avec l'aide de la compagnie Primma Microtechnologies et ont aussi été montés par un ingénieur.

#### *Encapsulation*

En ce qui concerne l'encapsulation des dispositifs de batteries en vue de les rendre étanches à toute infiltration de liquide biologique, seule la surface du bas (soit celle en contact avec le dos de l'animal) a été imperméabilisée. Le dispositif de batteries a été nettoyé avec un nettoyant pour liquide de soudage («Flux remover for PC Boards», MG Chemicals, Burlington, ON, Canada) à l'aide d'une brosse en poil de porc (MG Chemicals, Burlington, ON, Canada), 2 fois et a ensuite été séché pendant 48 heures. Après quoi, il a été recouvert d'une couche de colle époxy (Adhaero, China) et a été séché 24 heures.

Le circuit de batteries doit être branché le côté indiquant un «V» vers l'avant (vers le connecteur du câble) et le côté comportant la lumière DEL vers l'arrière. Le circuit de batteries utilise 2 piles de type 393, de 1.55V chacune (Energizer Battery Company, St-Louis, MO, États-Unis). Il est important, une fois les batteries en position, de manipuler le circuit de batteries avec un outil non conducteur afin d'éviter de décharger accidentellement les batteries. Les piles doivent être positionnées le signe + vers le haut.

Une lumière DEL rouge permet d'indiquer si les batteries doivent être changées.

## 2.2 Validation *in vitro*

Le système de micro-stimulation, soit le micro-stimulateur, les batteries, le câble ainsi que les électrodes, a été assemblé dans des pétris (Corning Incorporated, Corning, NY, États-Unis) contenant de la saline 0.9% (Hospira Healthcare Corporation, Montréal, Québec, Canada) qui ont été placés à 37°C afin de reproduire les conditions *in vivo*. Des mesures ont été prises chaque semaine et, ce, pendant 4 semaines afin de valider la durée de vie des batteries et du micro-stimulateur lui-même (**voir figure 10**).

Les paramètres électriques du signal de la stimulation ont été vérifiés par le branchement d'un oscilloscope, relié à un ordinateur, sur le dispositif de batteries. Les impulsions et la tension de celles-ci ont été mesurées par le branchement de l'oscilloscope entre les signaux C (commun) et V (volt) sur le circuit de batteries. Puis, l'intensité délivrée a été mesurée par le branchement de l'oscilloscope sur les signaux C (commun) et S (shunt) (**voir figure 11**).

## 2.3 Validation *in vivo*

### 2.3.1 Animaux utilisés

Toutes les procédures réalisées au cours de ce protocole animal ont été approuvées par le comité de protection des animaux du Centre de recherche du CHU de Québec selon les normes et les politiques du Conseil Canadien de Protection des Animaux. Dix-sept souris C57BL/6 ont été utilisées entre 5 mois ½ et 7 mois. Ces souris ont été gardées à l'animalerie du Centre de recherche du CHU de Québec – Université Laval dans des conditions environnementales contrôlées (température, humidité, cycle lumière/noirceur 12 :12h) avec un accès libre à l'eau et la nourriture et changement de cage toutes les semaines. Les souris étaient placées seules dans leur cage pour la durée du protocole. Le type de cage utilisé était des micro-isolateurs dont toutes les parois étaient dépourvues de pièces métalliques. La chirurgie d'implantation de l'électrode a été réalisée de manière unilatérale (hémisphère droit) dans la région M1 du cortex moteur sur la totalité des souris (17) et le micro-stimulateur

a été implanté sur 8 d'entre elles, compte tenu du nombre de micro-stimulateurs dont nous disposions.

### **2.3.2 Approche chirurgicale**

#### *Implantation stéréotaxique de l'électrode*

Les souris ont été anesthésiées avec 3-4% d'isoflurane (Corporation AbbVie, Saint-Laurent, Québec, Canada) dans de l'oxygène (0.8-1.5L/min) dans une chambre d'induction. Les souris ont été transférées sous 1.5-2% d'isoflurane dans de l'oxygène (0.5L/min). La profondeur de l'anesthésie a été surveillée grâce à la respiration de l'animal et la température a été maintenue par l'utilisation d'un tapis chauffant (Graymar Industries Inc, Orchard Park, NY, États-Unis) durant toute la durée de la chirurgie.

Les souris ont subi les procédures pré-opératoires; injection sous-cutanée de 0.1mL au site d'incision (sur le dessus de la tête) de lidocaïne/buvicaïne et 0.03mL dans chaque oreille, 0.5mL de saline 0.9% (Hospira Healthcare Corporation, Montréal, Québec, Canada) et 0.5-1mg/kg de buprénorphine à libération lente. Un onguent ophtalmique lubrifiant (Refresh Lacri-lube, Allergan Inc, Markham, Ontario, Canada) a été appliqué sur les yeux de chacune des souris et le site chirurgical a été rasé (Wahl, Sterling, IL, États-Unis), puis nettoyé.

Les souris ont ensuite été transférées dans un cadre stéréotaxique (David Kopf Instrument, Tujunga, CA, États-Unis) muni d'un support pour la tête permettant l'anesthésie gazeuse (David Kopf Instrument, Tujunga, CA, États-Unis). Le site chirurgical a été désinfecté par 3 lavages d'éthanol 70% (Commercial Alcohols, Brampton, Ontario, Canada) suivi d'un passage à la chlorexidine. La calotte crânienne a été exposée en enlevant une petite pièce de peau par l'utilisation de ciseaux et le périoste a été retiré par 3 lavages de peroxyde 3% (RW packaging, Winnipeg, MB, Canada) suivi d'un passage de 0.1% d'eau de javel (Lavo Inc, Montréal, Québec, Canada). Il a été vérifié que le crâne de la souris était complètement horizontal, par la mesure du bregma (point où se rejoignent la suture coronale et sagittale), du lambda (point où se rejoignent la suture lambdoïde et sagittale) et de deux points à égale distance de chaque côté du bregma. Puis, les coordonnées du site d'intérêt, la région M1 du

cortex moteur, ont été atteintes à partir du bregma (servant de point de référence) et 2 trous ont été percés afin de permettre le passage des pattes de l'électrode dans le cerveau (antéropostérieur -0.2mm, médiolatéral -1.0mm, dorsoventral -0.6mm, basé sur les coordonnées du bregma de l'atlas de Paxinos et Franklin; «The mouse brain in stereotaxic coordinates»<sup>183</sup>). L'électrode a été implantée de manière unilatérale dans l'hémisphère droit. Quelques dépôts de colle (Quick-Bond-Aron Alpha 200, Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA, États-Unis) ont été effectués sur le crâne, puis l'électrode a été fixée en place par l'utilisation de ciment dentaire («fast curing orthodontic acrylic resin Ortho-Jet™, Lang dental, Wheeling, IL, États-Unis) appliqué à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille (20GX1", Terumo, Laguna, Philippines). Le connecteur de l'électrode a été fermé afin d'éviter que toute saleté interfère avec son fonctionnement futur.

Les souris ont reçu 30 secondes d'oxygène (sans isoflurane), puis ont été réveillées dans une cage propre sur tapis chauffant.

#### *Implantation du micro-stimulateur*

L'implantation du micro-stimulateur a été réalisée une semaine après celle de l'électrode.

Les micro-stimulateurs ont été désinfectés à l'éthanol 70% (Commercial Alcohols, Brampton, Ontario, Canada), puis rincés dans la saline 0.9% (Hospira Healthcare Corporation, Montréal, Québec, Canada). Ils ont ensuite été enveloppés dans un treillis chirurgical (SurgicalMesh, Brookfield, Connecticut, États-Unis) qui a été cousu autour du micro-stimulateur par des points de suture avec du fil de suture («5-0 coated vicryl Ethicon», Johnson & Johnson, Markham, Ontario, Canada). Les connecteurs susceptibles de subir une infiltration de liquide biologique au cours de la procédure ont été recouverts de parafilm (Bemis, Neenah, WI, États-Unis) préalablement désinfecté.

Les conditions d'anesthésie et les mêmes procédures pré-opératoires ont été utilisées que celles décrites précédemment (voir implantation stéréotaxique de l'électrode). Une incision horizontale a été faite dans le haut du dos et une pince chirurgicale a été utilisée pour décoller le tissu sous-cutané de la peau afin de créer une poche sous-cutanée. Quelques gouttes de saline 0.9% (Hospira Healthcare Corporation, Montréal, Québec, Canada) ont été déposées dans l'espace ainsi créé et le micro-stimulateur y a été inséré, puis poussé jusque dans le bas du dos de manière centrée. Une incision a été pratiquée à l'endroit de chacun des connecteurs du micro-stimulateur et la peau a été repoussée en place autour des connecteurs et le parafilm a été retiré – les connecteurs sont donc positionnés de manière transcutanée. Afin de maintenir en place le micro-stimulateur dans la poche sous-cutanée, 2 points de suture sous-cutanées ont été réalisés en passant dans le maillage chirurgical. L'incision du haut du dos a ensuite été suturée par des points de suture matelas («5-0 coated vicryl Ethicon», Jonhson & Jonhson, Markham, Ontario, Canada) qui servent à mieux répartir la tension créée sur la plaie et la plaie a été recouverte d'un onguent antibiotique (Polyderm™, Taro pharmaceuticals Inc, Brampton, Ontario, Canada). Un câble a ensuite été fixé entre le micro-stimulateur et l'électrode et chacune de ces extrémités a été recouverte de silicone (Transparent Silicone I, General Electric Company, Huntersville, NC, États-Unis). Suite à quoi, les batteries ont été mises en place, puisqu'elles sont positionnées de manière entièrement externe.

Les souris ont reçu 30 secondes d'oxygène (sans isoflurane), puis ont été réveillées dans une cage propre sur tapis chauffant. Les souris ont eu une période d'une semaine afin de s'adapter au système de micro-stimulation avant le début du protocole de stimulation.

### **2.3.3 Statut général de santé des souris**

Dès la fin des chirurgies, les souris ont été surveillées quotidiennement et leur poids a été suivi pendant toute la durée de la période post-opératoire. Durant toute la durée du protocole de stimulation, les souris ont reçu un gel à haute teneur en calories ainsi que de la nourriture molle. Les plaies ayant pu apparaître suite au frottement du stimulateur ont été soignées avec de l'argile verte et les points de suture ont été repris au besoin. Les souris n'ont reçu aucun antibiotique que ce soit de manière pré ou post-opératoire. L'administration d'antibiotiques ne s'est pas avérée nécessaire puisque les chirurgies ont été réalisées en conditions stériles et que les souris ont été remises dans des cages propres suite à la chirurgie.

### **2.3.4 Protocole de stimulation chronique**

Suite à une semaine d'adaptation (après l'implantation du micro-stimulateur), le protocole de stimulation chronique a été débuté pour une période d'un mois. Les souris ont reçu une stimulation électrique de 150 $\mu$ A, 130Hz, 0,5ms, biphasique et balancée.

### **2.3.5 Mesures des paramètres électriques**

Chaque semaine durant le protocole de stimulation chronique, les souris ont été anesthésiées selon les procédures décrites précédemment (voir implantation stéréotaxique de l'électrode) et les paramètres électriques de la stimulation délivrée ont été mesurés afin de confirmer le bon fonctionnement du stimulateur. Ces mesures ont été faites par l'utilisation d'un oscilloscope, relié à un ordinateur portable, branché sur le dispositif de batteries tel que décrit précédemment (voir validation *in vitro*). Chaque semaine, au cours de cette procédure, les batteries ont été remplacées par des batteries neuves.

### **2.3.6 Préparation des cerveaux**

Suite au protocole de stimulation chronique d'une durée d'un mois, les souris ont été euthanasiées. Les souris ont été anesthésiées à l'aide d'un mélange de kétamine/xylazine (100 mg kétamine et 10 mg xylazine par ml) injecté de manière intra-péritonéale (0,1-0,3 ml  $10 \text{ g}^{-1}$ ). Elles ont ensuite été perfusé de manière intracardiaque à l'aide de 50 ml tampon phosphate (PBS) froid 1X suivi de 50 ml de paraformaldéhyde 4% froide. Les cerveaux ont été récoltés et post-fixés 6 heures à 4°C dans de la paraformaldéhyde 4%. Les cerveaux ont ensuite été conservés dans un mélange de 20% de sucrose dans du PBS1X contenant 0,05% d'azide de sodium.

## Chapitre 3 : Résultats

Cette section présentera les résultats obtenus au cours de la réalisation du premier objectif de ce projet, soit de développer un système de micro-stimulation implantable chez la souris et de développer et valider les techniques nécessaires à la réalisation de protocoles animaux. Les principaux critères ayant guidés le développement de notre prototype de micro-stimulation murin sont les suivants: 1) la taille devait permettre l'implantation chez la souris (dans le dos de l'animal), 2) il devait permettre une stimulation chronique de longue durée, 3) les paramètres électriques devaient être ajustables et 4) il devait pouvoir reproduire les paramètres électriques utilisés en clinique dans le traitement de la MP chez l'humain.

### 3.1 Système de micro-stimulation

#### 3.1.1 Électrodes

Nous avons développé 3 types d'électrodes. Deux électrodes ont été développées pour la stimulation de structures de surface. Une de celles-ci est dédiée à une stimulation simple et l'autre a été adaptée pour une stimulation combinée à un protocole d'imagerie *in vivo*. Il est ainsi possible de réaliser des protocoles de stimulation chronique et à long terme avec des lignées de souris transgéniques fluorescentes pour divers éléments cellulaires et de pouvoir imager ces souris sur toute la durée du protocole. De plus, il est possible d'adapter la longueur de cette électrode en fonction de la structure visée. Une autre électrode a été développée pour l'utilisation de stimulation de structures profondes, telle que le NST. Chacun de ces types d'électrodes a été testé *in vivo* (voir **Figure 9, B et C**).

### 3.1.2 Micro-stimulateur

Le micro-stimulateur développé, en collaboration avec Primma Microtechnologies, est utilisable chez la souris. Il a une taille de 2cm de longueur, 0.9cm de largeur et 0.1cm de hauteur pour la partie qui sera implantée dans l'espace sous-cutané. Le stimulateur a un poids de 4.65g (incluant le poids du dispositif de batteries et des batteries, **voir Figure 9**).

#### *Encapsulation*

Suite à l'essai de différentes combinaisons de produits dans le but de rendre le micro-stimulateur étanche aux fuites (*in vitro* : saline 0.9% et *in vivo* : fluides biologiques), nous avons constaté que la meilleure combinaison était 1 couche de colle époxy, 3 couches de silicone en vaporisateur et 2 couches de silicone en gel. Cette combinaison est celle qui permet d'assurer la meilleure étanchéité du micro-stimulateur lors de son utilisation *in vitro* et *in vivo* (pour plus de détails, veuillez consulter la section matériel et méthodes).

Chacune des combinaisons suivantes ont été testées à l'aide de circuit avec et sans couche protectrice. Dans toutes les conditions suivantes, la première étape est le nettoyage du circuit à l'aide d'un nettoyant pour liquide de soudage (MG Chemicals) et d'une brosse en poil de porc.

Combinaison 1 : Silicone en vaporisateur (MG Chemicals) : trois couches, Époxy (Adhaero), Silicone en gel (Dow Corning) : 2 couches.

Combinaison 2 : Époxy (Adhaero) : sur toute la surface, Silicone en vaporisateur (MG Chemicals) : trois couches, Silicone en gel (Dow Corning) : deux couches.

Combinaison 3 : Époxy (Adhaero) : seulement autour des connecteurs, Silicone en vaporisateur (MG Chemicals) : trois couches, Silicone en gel (Dow Corning) : deux couches.

Combinaison 4 : Époxy (MG Chemicals) : sur toute la surface, Silicone en vaporisateur (MG Chemicals) : trois couches, Silicone en gel (Permatex) : deux couches.

Combinaison 5 : Époxy (MG Chemicals) : sur toute la surface, Silicone en gel (Permatex) : deux couches.

Combinaison 6 : Silicone en vaporisateur (MG Chemicals) : trois couches, Époxy (MG Chemicals) : sur toute la surface, Silicone en gel (Permatex) : deux couches.

Combinaison 7 : Silicone en vaporisateur (MG Chemicals) : trois couches, Silicone en gel (Permatex) : deux couches.

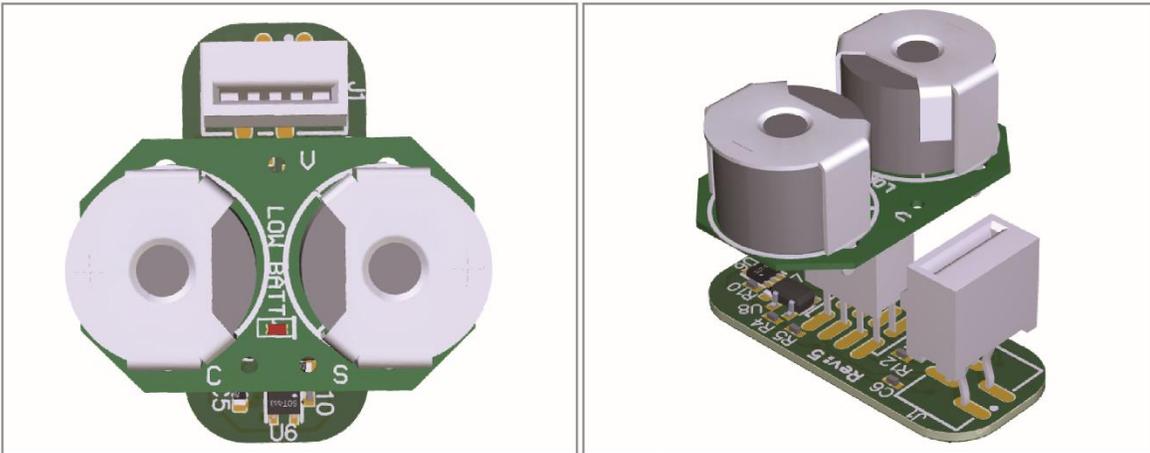
Combinaison 8 : Époxy (MG Chemicals) : sur toute la surface, Silicone en vaporisateur (MG Chemicals) : trois couches, Silicone en gel (Dow Corning) : deux couches.

Les circuits avec couche protectrice encapsulés suivant les combinaisons 2 et 6 n'ont pas pu résister aux infiltrations de liquide au-delà d'un mois. Dans le cas de la combinaison 4, ni les circuits avec couche protectrice ni les circuits sans couche protectrice n'ont pu résister plus d'un mois aux infiltrations de liquides.

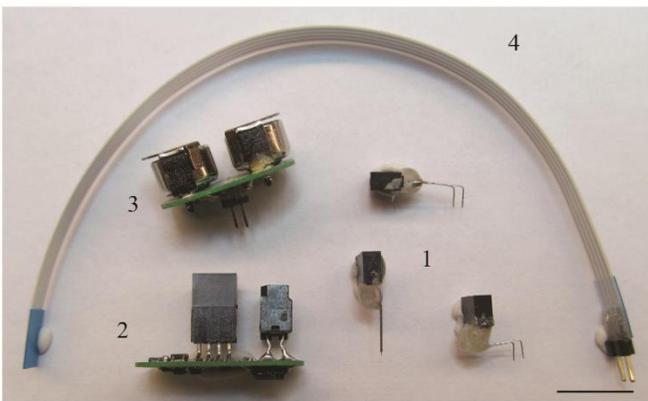
### **3.1.3 Dispositif de batteries**

Le dispositif de batteries permet l'utilisation de 2 piles de type 393 allouant ainsi une autonomie, à notre micro-stimulateur, pouvant aller jusqu'à 2 semaines. Dans le cadre de nos protocoles, les batteries ont été changées toutes les semaines assurant ainsi qu'il n'y ait jamais d'interruption de la stimulation.

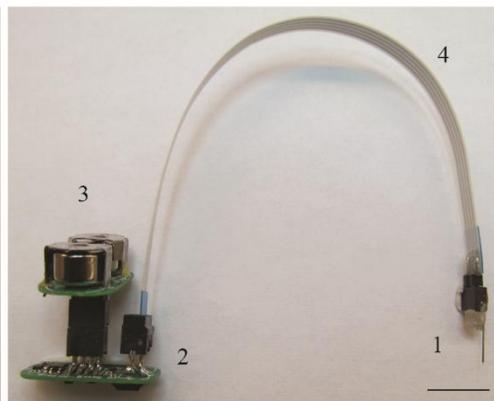
### A. Schématisation du micro-stimulateur



### B. Composantes du système de micro-stimulation



### C. Système de micro-stimulation

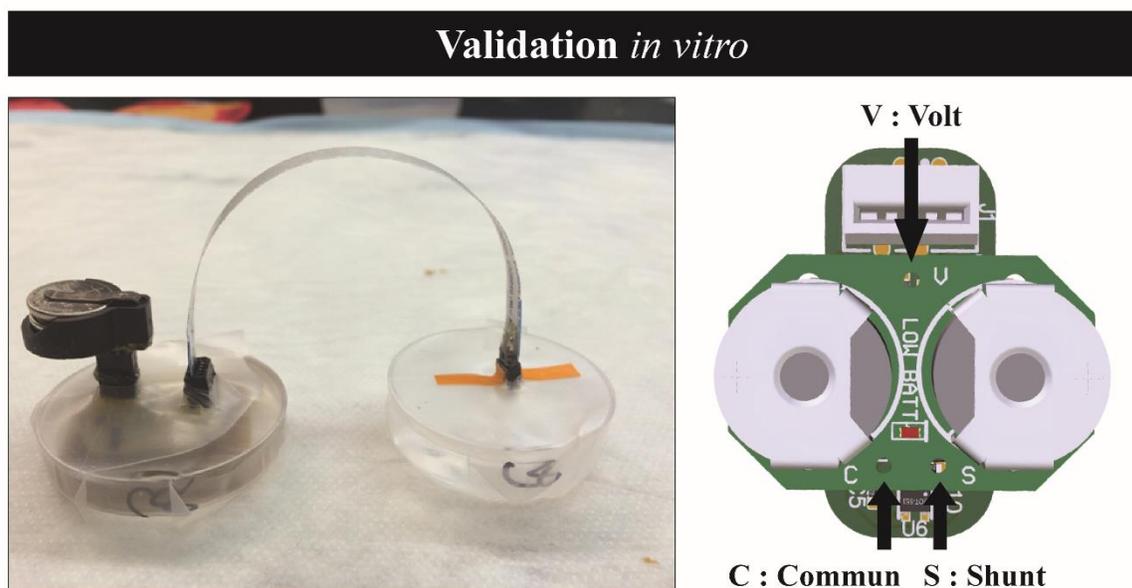


**Figure 9.** Système de micro-stimulation. A, Représentation schématisée du micro-stimulateur et de son système de batteries. B, Composantes du système de micro-stimulation. C, Système de micro-stimulation assemblé. 1, Électrodes : (en haut) Électrode pour stimulation de structures de surface combinée à l'imagerie, (en bas, à gauche) Électrode pour stimulation de structures profondes, (en bas, à droite) Électrode pour stimulation de structures de surface seule. 2, Micro-stimulateur. 3, Circuit de batteries. 4, Câble. Barre d'échelle : 1cm.

### 3.2 Validation *in vitro*

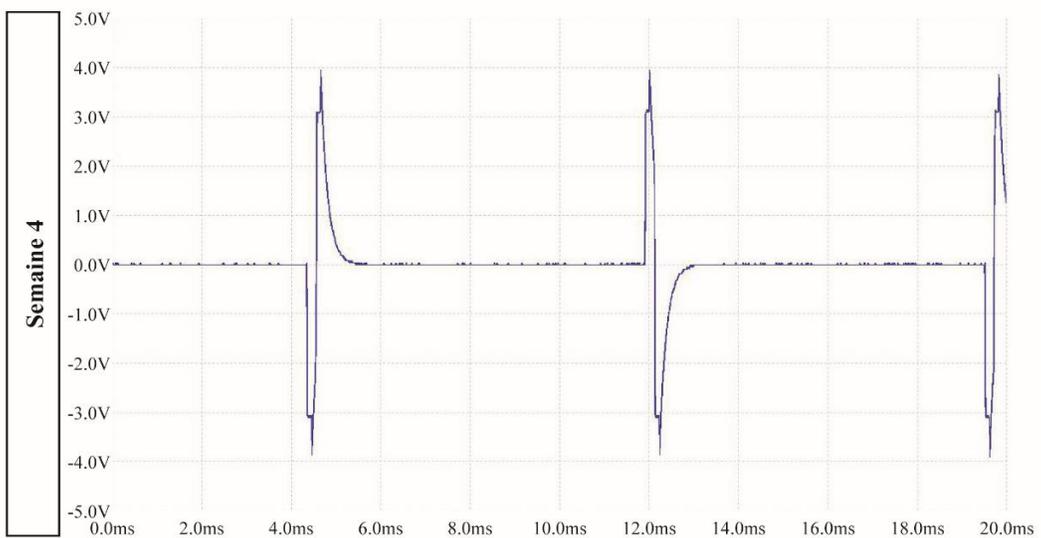
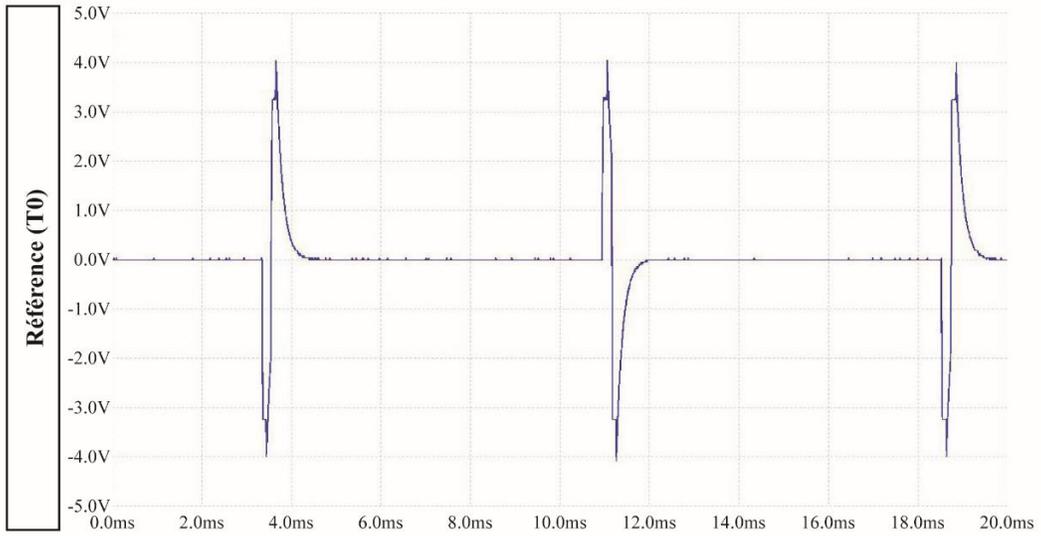
La validation *in vitro* a pu s'effectuer grâce à la méthode que nous avons développée. La durée de vie ainsi que la méthode d'encapsulation optimale ont été évaluées à l'aide de système de micro-stimulation dont le micro-stimulateur et l'électrode étaient immergés dans de la saline 0.9%, placés à 37°C. Ces conditions reproduisaient fidèlement les conditions *in vivo* (voir Figure 10).

Les impulsions et la tension délivrées par le micro-stimulateur ont été mesurées chaque semaine pendant une durée d'un mois. Le branchement de l'oscilloscope entre les signaux C (commun) et V (volt) sur le circuit de batteries nous a permis de constater que la stimulation délivrée était biphasique, balancée et d'une tension de 3V, tel que désiré (voir Figure 11). Ce test a permis d'établir que notre micro-stimulateur pouvait atteindre une durée de vie d'au moins un mois *in vitro*.



**Figure 10.** Validation *in vitro*. (Gauche) Le système de micro-stimulation a été assemblé dans des pétris contenant de la saline 0.9%, afin que le micro-stimulateur et l'électrode soient immergés. Les pétris ont été placés à 37°C pour une durée d'un mois. (Droite) Emplacements C (Commun), V (Volt) et S (Shunt), sur le dispositif de batteries, permettant de réaliser la mesure des différents paramètres électriques (voir section matériel et méthodes, validation *in vitro*).

### Mesure du voltage de la stimulation *in vitro*



**Figure 11.** Mesure du voltage de la stimulation électrique *in vitro*. La tension de l'impulsion délivrée par le micro-stimulateur a été mesurée de façon hebdomadaire sur une période d'un mois. Les résultats présentent le voltage mesuré au temps de référence (T0), à la semaine 2 et à la semaine 4, lors des tests des stimulateurs en saline. Ces mesures ont été réalisées avec la première génération de micro-stimulateurs. Axe des X : Mesure du voltage de la stimulation mesurée en volts (V), Axe des Y : Durée de l'impulsion mesurée en millisecondes (ms).

### **3.3 Validation *in vivo***

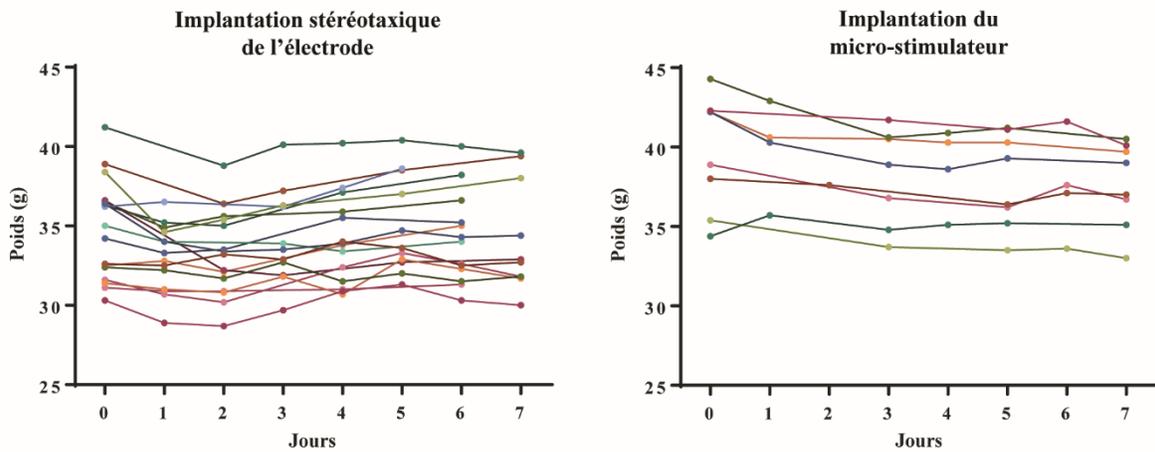
#### **3.3.1 Approche chirurgicale**

L'approche chirurgicale développée (voir sous-section 2.3.2 Approche chirurgicale du Chapitre 2 Matériel et méthodes) permet l'implantation du micro-stimulateur chez la souris. Sans le dispositif de batteries, le micro-stimulateur peut rester en place chez la souris, plus de deux mois. Lors de l'ajout du dispositif de batteries, le poids de ces dernières réduit la durée d'implantation à 1 mois.

#### **3.3.2 Statut général de santé des souris**

Le fait que la chirurgie se déroule en deux étapes, soit l'implantation stéréotaxique des électrodes suivie d'une semaine de repos (ou plus selon l'état de santé des souris), puis de l'implantation du micro-stimulateur, permet aux souris de récupérer plus facilement. En effet, dès le jour 3 suivant chacune de ces chirurgies, le poids des souris se stabilise (**voir Figure 12**). Suite à chacune de ces chirurgies, les souris ont soit conservées leur poids initial, soit subies une faible perte de poids. Étant donné la stabilisation du poids des souris 7 jours après l'implantation du micro-stimulateur, la prise de cette mesure a été arrêtée. Aussi, les souris ont eu accès à du gel à haute teneur en calories ainsi qu'à de la nourriture molle tout au long du protocole. De plus, aucun signe d'infection n'a été observé.

## Statut général de santé des souris



**Figure 12.** Statut général de santé des souris. Stabilisation du poids des souris sur 7 jours suite à la chirurgie de l'implantation stéréotaxique de l'électrode (à gauche,  $n = 17$ ) et suite à l'implantation du micro-stimulateur (à droite,  $n = 8$ ). *Gauche*, 7 jours suite à l'implantation de l'électrode, 10 souris n'ont subi aucune perte de poids et 7 souris ont subi une perte de poids variant entre 0,9% et 10%. Suite à une semaine de repos post-opératoire, les souris ont subi la chirurgie d'implantation du micro-stimulateur. *Droite*, 7 jours suite à l'implantation du micro-stimulateur, 1 souris n'a subi aucune perte de poids et 7 souris ont subi une perte de poids variant entre 2,6% et 8,5%.

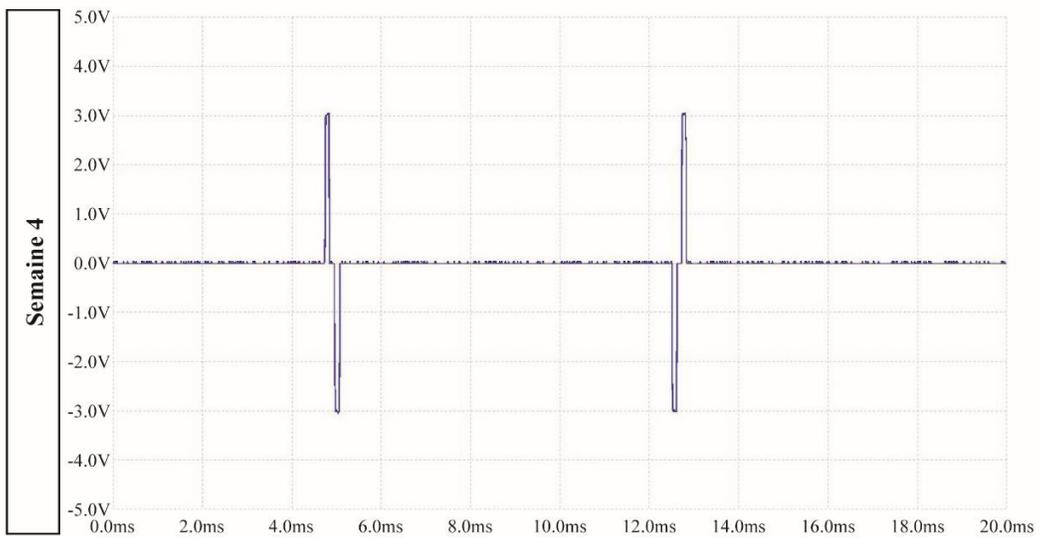
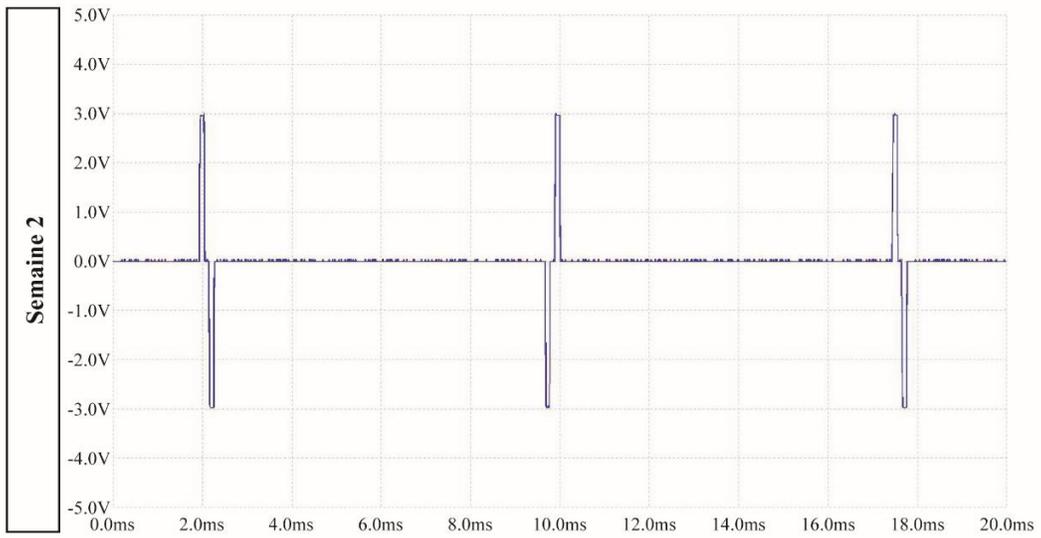
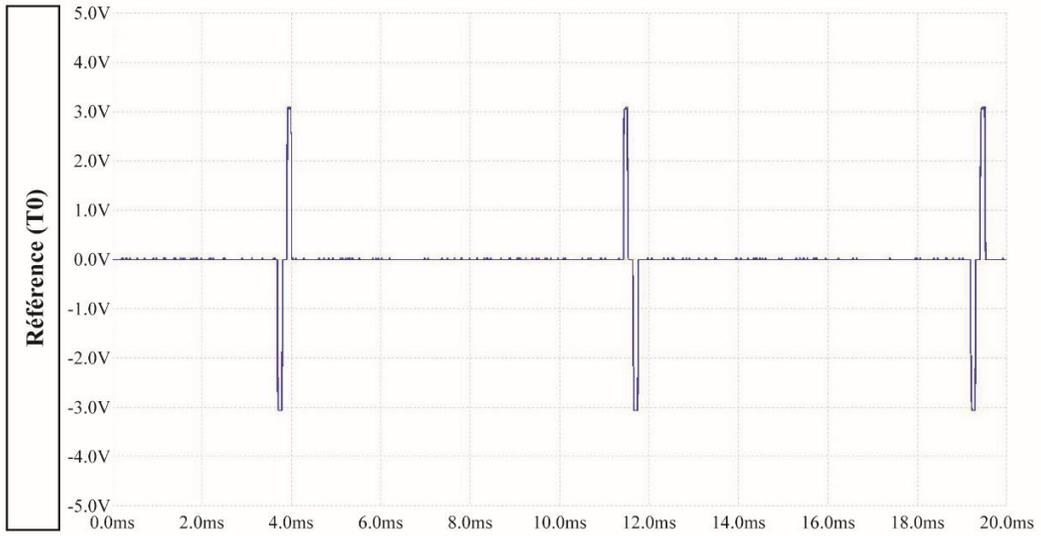
### 3.3.3 Protocole de stimulation chronique

Le protocole de stimulation chronique a été réalisé sur une durée de 4 semaines.

### 3.3.4 Mesure des paramètres électriques

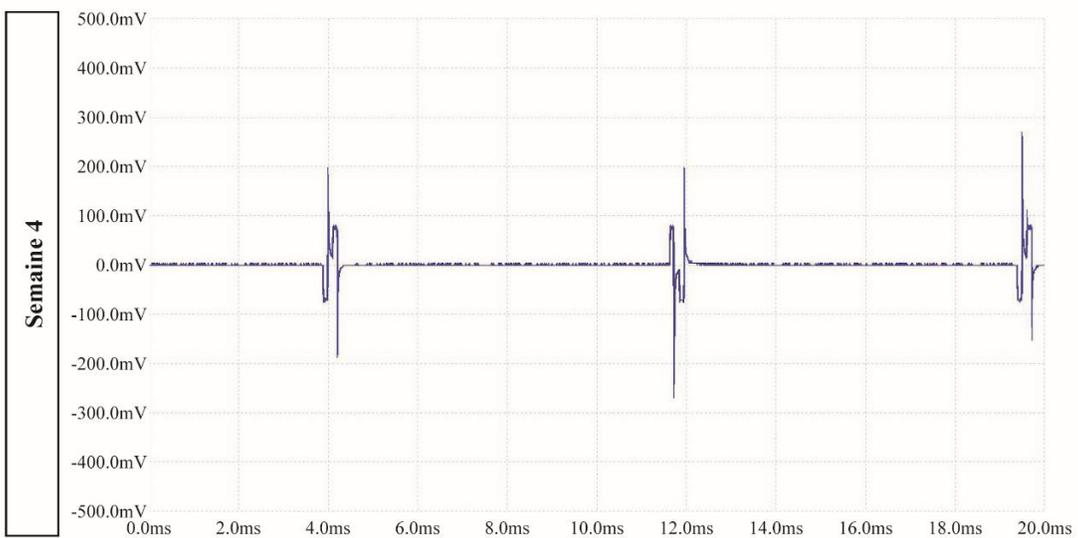
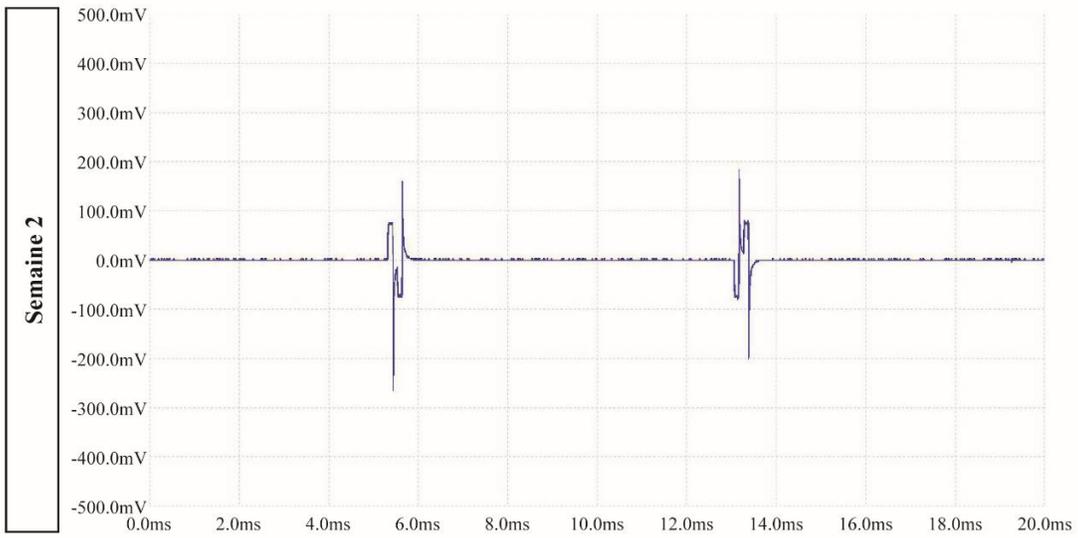
Les tests des paramètres électriques de la stimulation délivrée dans le cerveau des souris ont été vérifiés toutes les semaines. Le fonctionnement de nos micro-stimulateurs a ainsi été validé sur une durée d'utilisation de 4 semaines *in vivo*. En effet, le micro-stimulateur lui-même a délivré sur toute cette durée une tension de 3V et, ce, de manière biphasique et balancée pour une durée approximative de 0.5ms (**voir Figure 13**). L'intensité délivrée a elle aussi été contrôlée durant toute la durée du protocole. Ici mesurée en millivolts, elle s'est maintenue autour de 80, ce qui correspond à 160 $\mu$ A (**voir Figure 14**).

### Mesure du voltage de la stimulation *in vivo*



**Figure 13.** Mesure du voltage de la stimulation électrique *in vivo*. La tension de l'impulsion délivrée par le micro-stimulateur a été mesurée de façon hebdomadaire sur une période d'un mois. Ici, les résultats présentent la tension mesurée au temps de référence (T0), à la semaine 2 (S2) et à la semaine 4 (S4). Il s'agit d'un exemple illustrant le maintien de la bonne fonction du micro-stimulation à T0, à S2 et à S4 pour la durée du protocole pour une même souris. Axe des X : Mesure du voltage de la stimulation mesurée en volts (V), Axe des Y : Durée de l'impulsion mesurée en millisecondes (ms).

### Mesure de l'ampérage de la stimulation *in vivo*



**Figure 14.** Mesure de l'intensité *in vivo*. La mesure de l'intensité de l'impulsion délivrée par le micro-stimulateur a été réalisée de façon hebdomadaire sur une période d'un mois. Ici, les résultats présentent la tension mesurée au temps de référence (T0), à la semaine 2 et à la semaine 4. Il s'agit d'un exemple illustrant le maintien de la bonne fonction du micro-stimulation à T0, à S2 et à S4 pour la durée du protocole pour une même souris. Axe des X : Intensité de la stimulation mesurée en millivolts (mV), Axe des Y : Durée de l'impulsion mesurée en millisecondes (ms).

Rapport-Gratuit.com

## Chapitre 4 : Discussion

L'objectif principal ayant guidé mon projet de maîtrise était de développer un micro-stimulateur d'une taille permettant son implantation chez la souris et qui permettrait une stimulation cérébrale chronique de longue durée. Sans compter le développement d'une approche chirurgicale adaptée à cette situation. À ce jour, il n'existe aucun outil allouant la possibilité d'une stimulation chronique de longue durée chez la souris, bien que certaines autres recherches s'en soient approchées<sup>136,143,146</sup>. Néanmoins, notre groupe souhaitait pousser l'étude des mécanismes cellulaires sous-jacents aux effets de la SCP à un niveau supérieur amenant ainsi l'ajout de conditions telles que permettre le libre mouvement des souris afin de pouvoir effectuer divers tests comportementaux, permettre l'utilisation de l'imagerie *in vivo* en cours de protocole et permettre l'utilisation du système de micro-stimulation dans divers contextes pathologiques. Aucun des outils disponibles actuellement pour l'étude des mécanismes d'action de la SCP ne remplit tous ses critères.

### 4.1 Développement du système de micro-stimulation

#### 4.1.1 Micro-stimulateur

À ce jour, il existe plusieurs dispositifs de micro-stimulation dans le domaine de la recherche (**voir tableau 1 et 2**). Cependant, aucun n'est aussi flexible d'utilisation que celui que nous avons développé. En effet, notre micro-stimulateur est d'une taille suffisamment réduite afin de permettre une implantation chez la souris lors de protocole de stimulation chronique (en continu) de longue durée. Ces paramètres électriques sont ajustables en fonction du contexte pathologique à l'étude et il permet de reproduire des paramètres électriques semblables à ceux utilisés chez l'humain en clinique. Il alloue le libre mouvement aux souris nous donnant ainsi la possibilité de combiner la stimulation à l'imagerie *in vivo* ou à l'utilisation de certains tests comportementaux. À notre connaissance, il s'agit du premier outil pouvant remplir toutes ces conditions.

Parmi les systèmes existants, plusieurs servent dans des études de stimulation semi-chronique (seulement quelques heures par jour pour une durée déterminée). La majorité de ces dispositifs sont des systèmes externes ce qui permet d'éliminer les problèmes liés à la miniaturisation de l'équipement en vue de son utilisation chez les petits animaux de laboratoire. Ces systèmes sont reliés par un fil à l'électrode placée sur la tête de l'animal. Les difficultés engendrées par l'utilisation de ce type d'équipement sont le fait que l'animal est ainsi placé dans une cage dont le dessus contient une ouverture afin de laisser passer le fil. Bien que les animaux soient libres de leurs mouvements, le fil peut rendre ceux-ci plus difficile à cause de la tension qu'il peut exercer sur la tête de l'animal. De plus, il s'avère difficile de réaliser des stimulations chroniques lorsque les animaux risquent de sortir de leur cage. Il est donc impossible de reproduire les stimulations données chez l'humain puisque celles-ci sont faites de manière chronique et à long terme. Quelques-unes de ces études semi-chronique ont utilisé des systèmes implantables, mais ceux-ci présentent un poids important rendant son utilisation chez la souris impossible. Sur une totalité de 22 études de stimulation semi-chronique, seules 6 ont été réalisées chez la souris. Les études de Halpern *et al.* 2014, de Jeffrey *et al.* 2013 et de Quinkert *et al.* 2010 ont toutes été réalisées à l'aide de système externes<sup>142,145,150</sup>.

Pour leur part, Quinkert et Pfaff en 2012 ont utilisé un système entièrement implantable chez la souris. La faiblesse de ce système réside justement dans le fait qu'ils soient entièrement implantables, incluant les batteries. Ainsi, l'accès aux batteries n'est pas possible ce qui diminue la durée des stimulations qu'il est possible de donner. Afin de pallier à ce problème les stimulations sont faites de manière semi-chronique (24 fois 10min sur une période de 3j)<sup>146</sup>. L'étude présentée par Irving *et al.* en 2013 a eut recours à l'utilisation du système précédemment utilisé par Millard et Shepherd en 2007 qui ne permet pas de stimulation chronique de longue durée (4h/j pour une durée de 1 mois)<sup>143</sup>. En effet, Millard et Shepherd, en 2007, ont publié un article sur un micro-stimulateur utilisable chez la souris. Cependant, les résultats présentés dans cet article ont tous été réalisés chez le rat, mais ils affirment que leur système peut aussi être utilisé chez la souris. Bien que leur système de micro-stimulation en lui-même semble prometteur, il implique le recours à l'utilisation d'une cage à bobines excitatrices (cages ouvertes servant spécialement à produire la stimulation) limitant ainsi la durée de la stimulation (4h/j pour une durée de 14 sem)<sup>154</sup>.

Seule l'étude de Madsen *et al.* 2017 présente un micro-stimulateur sur lequel les batteries semblent accessibles. En effet, il s'agit d'un système implantable sur la tête de la souris et la batterie est positionnée du côté supérieur. Cependant, leur article ne précise pas s'il est vraiment possible de la changer et les stimulations qu'ils ont réalisées sont faites selon un cycle 5min ON-OFF sur une période de 12h/j pour une durée allant jusqu'à 21j<sup>136</sup>.

Plusieurs dispositifs de micro-stimulation existent aussi pour des protocoles de stimulation chronique (en continu). Parmi ceux-ci, une majorité sont des systèmes entièrement implantables semblables au nôtre. Cependant, leur utilisation est faite chez le rat. En effet, la majorité de ces systèmes de micro-stimulation ont un poids au-dessus de 10g. Considérant que le poids moyen des souris utilisées au cours de nos protocoles était entre 30 et 35g, il n'était pas possible d'utiliser des micro-stimulateurs qui représentaient un tiers ou plus de leur poids. Parmi les études de stimulation chronique, une seule a été réalisée chez la souris par de Haas *et al.* en 2012. Cependant, leur système est entièrement implantable incluant les batteries. Tel que mentionné précédemment, lorsqu'un système ne présente pas la possibilité d'accéder aux batteries, la durée de la stimulation est grandement réduite. Ainsi, leur étude, bien qu'elle présente une stimulation chronique (en continu), n'a été réalisée que pendant 10h<sup>164</sup>.

Pour nous, il était très important de s'approcher le plus possible de protocoles de stimulation semblables à ceux donnés chez l'humain en clinique. Il est essentiel si l'on veut comprendre les effets et les mécanismes d'action régies par la SCP de faire nos études dans un contexte s'approchant de la réalité. Si l'idée d'un système entièrement implantable semble la meilleure solution, elle présente aussi des difficultés majeures. En effet, cette solution ne permet pas l'accès aux batteries empêchant ainsi leur changement, au besoin, et ne permet donc pas d'allonger la durée de stimulation. De plus, elle ne permet pas de pouvoir tester les pièces du système de micro-stimulation afin de confirmer leur bon fonctionnement au cours de la durée du protocole. Ainsi, le système que nous avons développé offre la possibilité de changer les batteries et de tester toutes les pièces du système puisque chacun de connecteur est disposé de manière transcutanée.

### *Encapsulation*

Les systèmes de micro-stimulation existants dans la littérature utilisent en majorité une étanchéification reposant sur l'utilisation de silicone en gel<sup>161,167,172</sup>. Perry *et al* ont, quant à eux, allié l'utilisation du silicone en vaporisateur à celle du silicone en gel<sup>147</sup>.

Dans notre cas, divers tests d'encapsulation ont été faits afin d'atteindre une durée de vie du micro-stimulateur plus longue. Initialement la première génération de nos micro-stimulateurs subissait une infiltration de liquide à partir du jour 10. Pour pallier à ce problème, nous avons testé différentes combinaisons de produits ainsi que différentes marques de ces produits afin d'étanchéifier les micro-stimulateurs.

Notre choix s'est finalement porté sur la combinaison 2 de nos tests avec un circuit sans couche protectrice. Cette combinaison allie une couche d'époxy, trois couches de silicone en vaporisateur et deux couches de silicone en gel. Nous avons choisi cette combinaison puisque ces produits sont peu coûteux et faciles à trouver. Aussi, le silicone de la marque Dow Corning avait déjà été utilisé dans les études de Ewing *et al.* et Harnack *et al.*<sup>161,172</sup>. Cela nous assurait que le silicone utilisé serait biocompatible diminuant ainsi les risques de réactions indésirables chez les souris. Il est important de préciser que l'époxy et le silicone en gel sont deux produits dans lesquels des bulles peuvent facilement se former. Il importe donc de porter une attention particulière lors de l'application des couches de ces produits afin d'éviter toute formation de bulles/microbulles qui pourraient permettre l'infiltration de liquide.

Cette combinaison de produits a permis d'allonger la durée de vie des micro-stimulateurs de 10 jours à plus d'un mois en réduisant les risques associés à une infiltration de liquide qui interférerait avec le bon fonctionnement de nos micro-stimulateurs.

### *Améliorations possibles*

Bien que notre système de micro-stimulation soit performant et flexible d'utilisation, il serait possible de le miniaturiser davantage. En effet, les pièces électroniques utilisées dans nos micro-stimulateurs existent dans des tailles plus petites. Cependant, nous avons choisi cette taille de micro-stimulateur, car elle permettait qu'ils soient montés à la main (à l'aide d'un binoculaire) ce qui ne serait pas possible si nous réduisions davantage sa taille.

#### **4..1.2 Dispositif de batteries**

Initialement, les batteries utilisées avaient une durée de vie de 24hrs, tout au plus, 48hrs. Cela impliquait donc beaucoup de manipulation des animaux en cours de protocole, puisqu'il fallait changer les batteries tous les jours. Nous avons pu optimiser cette condition en changeant le type de piles utilisées. Les piles de type 393 ont permis de fournir une stimulation pendant plus de deux semaines. Toujours dans le but de favoriser une manipulation moindre des animaux, le circuit de batteries a été amélioré par l'ajout d'une lumière DEL qui s'allume lorsque les batteries commencent à être faibles.

L'allongement de la durée de vie des batteries diminue de manière significative la manipulation des animaux et améliore, par le fait même, leur état de santé général. En effet, les batteries ont été changées aux semaines alors que les souris étaient déjà anesthésiées pour la prise des mesures des paramètres électriques. Pendant cette procédure, le fait que la souris soit anesthésiée permet de diminuer les complications pouvant être liées aux changements de batteries sur souris éveillées. Avec l'usage des batteries de première génération (durée de vie de 24hrs), il était impossible de procéder de cette manière puisqu'une anesthésie quotidienne des souris n'aurait pas été envisageable.

Tel que mentionné précédemment, les systèmes de micro-stimulation comportant l'utilisation de batteries permettant une stimulation chronique de longue durée chez la souris sont inexistantes. Dans plusieurs cas, les études ont priorisé un protocole de stimulation semi-chronique afin de réduire le nombre d'heures d'utilisation de la batterie par jour afin de pouvoir allonger la durée des protocoles. Le problème majeur vient des systèmes de micro-stimulation entièrement implantables (sans accès aux batteries) ou de l'utilisation de sources de courant externes (cage à bobines excitatrices, système externe).

#### *Améliorations possibles*

Le poids des batteries compte pour beaucoup dans le poids final d'un système de micro-stimulation. Ainsi, elles auraient avantage à être encore réduites. Cependant, il importe d'aussi prendre en considération leur durée de vie. En effet, une réduction de taille des batteries ne représenterait pas un avantage notable si cela provoquait une diminution de la durée de vie de celle-ci.

## **4.2 Validation *in vitro***

Le développement de tests *in vitro* nous a permis de pouvoir tester la durée de vie du micro-stimulateur dans des conditions contrôlées. Ces dernières ont été développées dans le but de reproduire fidèlement les conditions présentes chez la souris. Ainsi, le micro-stimulateur et les électrodes ont été placés dans une solution de saline (afin que la stimulation soit délivrée). Ils ont été reliés par un câble et les batteries ont été ajoutées. Le tout a été placé dans un incubateur à 37°C.

La mesure des paramètres électriques du micro-stimulateur nous a permis de constater qu'il était possible d'atteindre 1 mois de stimulation. En effet, ces tests nous permettent de nous assurer que, pendant toute la durée du protocole de stimulation, le micro-stimulateur continue de délivrer la stimulation souhaitée ce qui confirme son bon fonctionnement et valide par le fait même les résultats pouvant découler de ces protocoles de stimulation. Cela représente une nette avancée par rapport à la seule étude de stimulation chronique qui a été réalisée chez la souris par de Haas *et al.*<sup>164</sup>.

### **4.3 Validation *in vivo***

#### **4.3.1 Développement de l'approche chirurgicale**

Initialement, notre technique de chirurgie consistait à faire une incision verticale dans le bas du dos, à y insérer le micro-stimulateur, puis à refermer la peau autour des connecteurs par l'emploi de points de suture. Nous nous sommes aperçus que cette technique ne permettait pas que le micro-stimulateur reste bien en place dans le dos de la souris.

Au cours de l'optimisation de notre technique de chirurgie, trois études ont retenu notre attention grâce à leur emploi de treillis chirurgical<sup>143,147,154</sup>. Il s'agit d'un matériau totalement biocompatible qui permet de promouvoir l'adhésion des tissus et aide à prévenir les mouvements sous-cutanés du micro-stimulateur<sup>143</sup>. Aussi, l'étude de Ewing *et al.* 2013b a aussi retenu notre attention puisqu'elle met de l'avant certaines difficultés pouvant être rencontrées lors de la chirurgie de l'implantation d'un micro-stimulateur. Lorsque celui-ci est placé de manière centrée dans le dos, il est possible que celui-ci glisse sur un côté. De plus, cette méthode tend aussi à augmenter l'abrasion provoquée par le micro-stimulateur et, ainsi, les lésions de la peau. Pour leur part, Ewing *et al.* ont donc décidé d'implanter leur micro-stimulateur dans une poche sous-cutanée sur un des côtés de l'animal<sup>162</sup>. Bien que cette technique ne puisse pas s'appliquer avec notre micro-stimulateur, cette étude nous a donné des pistes de réflexion sur les difficultés que nous pourrions rencontrer.

Ainsi, avec ces indices en poche, nous avons développé notre propre méthode chirurgicale adaptée à notre micro-stimulateur. Suite à l'essai de diverses techniques chirurgicales, à l'essai de différents types de treillis chirurgical, de différents types de points de suture et de différents fils de suture, nous avons convenu que l'utilisation de treillis chirurgical et d'une incision horizontale dans le haut du dos permettait d'augmenter significativement la durée des protocoles de stimulation puisque le stimulateur tenait plus longtemps dans le dos de la souris. En effet, initialement, il était difficile de dépasser 10 jours de stimulation. Avec ces techniques, un micro-stimulateur seul (sans batteries) peut tenir parfaitement pendant deux mois dans le dos d'une souris. Cette période est réduite à un mois lorsqu'on ajoute le poids des batteries.

#### **4.3.2 Soins post-opératoires**

L'utilisation de buprénorphine à relâche lente s'est avérée ingénieuse puisqu'elle nous a permis de réduire le nombre de manipulations effectuées sur les souris suite aux chirurgies. Elle présente l'avantage d'une libération lente et d'une durée d'action qui perdure pendant 72 hrs permettant ainsi de donner une seule injection au moment de la chirurgie plutôt que 4 injections de buprénorphine normale (1 à la chirurgie, 3 après aux 12hrs). Cela a grandement aidé à augmenter l'état de santé général des souris.

#### **4.3.3 Protocole de stimulation chronique**

Le choix des paramètres électriques de stimulation a été réalisé selon les paramètres électriques fréquemment utilisés dans le domaine de la recherche sur la SCP (**voir Tableau 2 et 3, section 1.3 Modèles d'étude**). Tout d'abord, la fréquence de la stimulation, soit 130 Hz, a été déterminée. La fréquence de 130 Hz est un paramètre régulièrement utilisé en clinique et, ce, dans plusieurs contextes pathologiques différents (**voir Tableau 1, section 1.1.1 Pathologies traitées par la stimulation cérébrale profonde**). De plus, Buffel *et al.* ont démontré que l'utilisation d'une stimulation d'une fréquence de 130 Hz pouvait moduler l'excitabilité dans le cadre d'une stimulation du cortex moteur<sup>184</sup>. Aussi, vu la petite taille des électrodes (par rapport à celles utilisées chez le rat, le primate non-humain et l'humain),

il était essentiel d'adapter les paramètres de stimulation afin de diminuer les risques de dommages tissulaires dans la zone au pourtour de l'électrode. Pour cette raison, nous avons utilisé une stimulation biphasique balancée (par rapport celle monophasique utilisée chez l'humain) permettant ainsi d'obtenir des effets similaires à la SCP utilisée en clinique tout en diminuant les dommages tissulaires<sup>185</sup>. En effet, l'utilisation d'une stimulation biphasique n'engendre pas de dommages tissulaire dans le cerveau (par rapport à une stimulation monophasique)<sup>185</sup>. Les paramètres tels que l'intensité, la durée de l'impulsion et la durée entre les impulsions ont été choisis selon les observations faites par Buffel et *al.*, Cappaert et *al.* et De Haas et *al.*<sup>164,184,186</sup>. L'amplitude du courant a été ajustée au-dessus du seuil de 100  $\mu$ A puisqu'il s'agit du seuil afin d'obtenir une modulation de l'excitabilité corticale<sup>184</sup>. La durée des impulsions ainsi que la durée entre les impulsions a été déterminé selon l'étude de Cappaert et *al.* dans laquelle ils ont induit des réponses neuronales et synaptiques<sup>186</sup>. Nos électrodes sont caractérisées par une impédance faible avec un voltage enregistré à 3V (2 piles lithium de 1.55V) permettant ainsi des impulsions carrées d'une amplitude d'environ 150  $\mu$ A. En ce qui concerne le champ d'action de la stimulation électrique délivrée dans le tissu neuronal, le courant électrique circule d'une patte de l'électrode à l'autre et celles-ci sont espacées d'environ 0,8 mm. Tous ces paramètres de stimulation électrique ont été testés et utilisés lors d'une étude préalable réalisée par notre laboratoire<sup>92</sup>.

En cours de protocole, nous avons remarqué que le balancement du micro-stimulateur induit par la démarche de la souris pouvait mener à un frottement du micro-stimulateur dans la poche sous-cutanée où il se trouve. Ce problème semble être dû à la hauteur des connecteurs pour le dispositif de batteries. Cependant, nous avons fait face à un problème de taille lorsque nous avons voulu diminuer la hauteur de ce connecteur dans le but ultime de réduire le frottement du micro-stimulateur induit par le balancement de celui-ci. En effet, lors de cet essai les micro-stimulateurs ont subi des dommages dus à l'infiltration de liquides biologiques entraînant ainsi un dysfonctionnement du micro-stimulateur et, ce, dès les tests des paramètres électriques suite à la première semaine de stimulation. Ainsi, nous avons conservé le connecteur initialement utilisé afin de pouvoir poursuivre nos protocoles.

À cause de ce problème de frottement du micro-stimulateur, certaines souris ont eu besoin de points de suture supplémentaires. Ces souris ont aussi été traitées avec un analgésique permettant de réduire l'inconfort pouvant être ressenti. Nous avons aussi rencontré des difficultés en ce qui a trait à ce traitement. En effet, nous avons essayé deux produits différents, soit le Dermacool, la Xylocaïne Jelly. Le Dermacool étant liquide, celui-ci présentait un risque important d'infiltration de liquide dans nos micro-stimulateurs et, ce, malgré une application prudente et restreinte. En effet, étant donné que la connexion entre le stimulateur et le dispositif de batterie est externe, la vaporisation d'un liquide sur les plaies présente un risque quasi certain d'infiltration. Pour sa part, la Xylocaïne Jelly traitait bien les plaies sans risque pour le stimulateur puisque le produit était sous forme de gel. Cependant, suite au soulagement apporté par le produit, les souris se grattaient de manière intensive empêchant ainsi la guérison complète de la plaie. Finalement, nous avons constaté que le meilleur traitement était l'application d'une couche d'argile verte suite à une désinfection de la plaie à la chlorexidine. En effet, l'argile verte forme, en séchant, une croûte qui permet de protéger efficacement la plaie du grattage de la souris.

#### *Améliorations possibles*

Il serait nettement avantageux d'améliorer la hauteur du connecteur du dispositif de batteries. En effet, il importe de trouver le juste milieu entre la hauteur actuelle qui induit un balancement du micro-stimulateur et donc le frottement de celui-ci à l'intérieur de sa poche sous-cutanée et une hauteur trop basse qui permettrait une infiltration de liquides biologiques. Une réduction de la taille et du poids des batteries aiderait aussi à diminuer les inconforts provoqués par le balancement du micro-stimulateur.

#### **4.3.4 Mesure des paramètres électriques**

Tel que mentionné précédemment, l'emploi de système entièrement implanté de manière sous-cutanée présente la problématique majeure de ne pas permettre de tester des différents composants du système (électrodes, câble, micro-stimulateur, batteries). Comparativement, notre système présente le net avantage de pouvoir tester toutes les pièces et d'en confirmer le bon fonctionnement en cours de protocole.

Cela nous a permis de confirmer le bon fonctionnement de notre système de micro-stimulation pendant les 4 semaines du protocole de stimulation chronique.

## Chapitre 5 : Conclusions

Durant, mon projet de maîtrise, j'ai tenté d'atteindre l'objectif 1 de ce projet soit, le développement d'un prototype de micro-stimulation murin dont : 1) la taille devait permettre l'implantation chez la souris (dans le dos de l'animal), 2) il devait permettre une stimulation chronique de longue durée, 3) les paramètres électriques devaient être ajustables et 4) qui devait pouvoir reproduire les paramètres électriques utilisés dans le traitement de la MP chez l'humain. Bien que l'atteinte de cet objectif se soit avérée beaucoup plus complexe, beaucoup plus laborieuse et beaucoup plus longue que prévu, nous avons réussi à développer un outil de micro-stimulation comblant tous ces critères.

Cependant, bien que notre micro-stimulateur se soit avéré fiable, il pourrait être davantage optimisé. Plus particulièrement, une miniaturisation encore accrue du système permettrait de réduire l'inconfort ressenti par les animaux et permettrait ainsi un suivi de leur statut de santé plus flexible. Dans le même ordre d'idée, le connecteur pour le dispositif de batteries gagnerait à ce que sa hauteur soit réduite. Cependant, lorsque nous avons tenté d'y remédier, nous avons dû faire face à une infiltration de liquides biologiques qui a mené au dysfonctionnement de nos micro-stimulateurs. Une amélioration de la hauteur de ce connecteur permettrait de réduire le frottement interne du micro-stimulateur provoqué par le balancement de ce dernier induit par le poids des batteries lorsque la souris est en mouvement.

Il est à noter que l'outil novateur que nous avons développé est le tout premier, à notre connaissance, permettant une stimulation chronique de longue durée chez la souris pouvant, en plus, être combinée à l'utilisation de tests comportementaux et à l'imagerie en temps réel de souris transgéniques. Il s'agit d'une approche tout à fait novatrice qui permettra l'approfondissement des connaissances des mécanismes d'action sous-jacents aux effets, tant bénéfiques que néfastes, de la SCP.

Les nombreuses difficultés rencontrées au cours du développement du micro-stimulateur et d'une approche chirurgicale adaptée ne m'ont pas permis de progresser dans l'atteinte du deuxième objectif de ce projet, qui consistait à utiliser le micro-stimulateur développé pour explorer les divers mécanismes cellulaires pouvant être responsables des effets de la SCP. Ainsi, les cerveaux récoltés restent encore à analyser. Cependant, notre groupe avait déjà commencé à s'intéresser à l'impact de la réponse immunitaire/inflammatoire induite par une stimulation semi-chronique, réalisée à l'aide d'un système externe à raison de 5h/j pendant 10j. En effet, Arsenault *et al.* ont ainsi démontré qu'une activation des TLR2 et des cellules microgliales était induite, spécifiquement, par une stimulation électrique, de manière minime et transitoire. Les conséquences sur la dégénérescence neuronale n'ont pas pu, à ce moment, être étudiées<sup>92</sup>. Ainsi, maintenant que nous possédons un système de micro-stimulation, nous pourrions approfondir notre compréhension de la réponse immunitaire/inflammatoire induite par une stimulation électrique ainsi que ces conséquences.

## Chapitre 6 : Perspectives

Grâce au système de micro-stimulation développé ainsi qu'aux différents types d'électrodes développées, l'atteinte du deuxième objectif de ce projet pourra être poursuivie. En effet, cela ouvre la voie à l'exploration de la réponse immunitaire/inflammatoire de manière plus approfondie, à l'étude de la neurogenèse/axogenèse et de l'angiogenèse ainsi qu'à une meilleure compréhension de l'interrelation de ces mécanismes cellulaires pouvant être à l'origine dans effets tant bénéfiques que néfastes générés par la SCP.

Notre micro-stimulateur peut, selon sa programmation, atteindre différents paramètres de stimulation. Le fait que ces paramètres électriques soient aussi flexibles permettra son utilisation dans plusieurs autres contextes pathologiques. Une mise au point a aussi été amorcée pour l'utilisation de tests comportementaux en cours de protocole. Ceux-ci pourront être rapidement mis à l'essai. En effet, de par la liberté de mouvement qu'il procure à la souris, le micro-stimulateur que nous avons développé rendra possible l'utilisation de tests comportementaux. Les tests tels que le champ ouvert et le cylindre pourront être mis à l'essai sans risque. En ce qui concerne le test de la poutre, les souris sauvages réussiront bien, mais il pourrait s'avérer difficile pour certaines lignées de souris présentant des difficultés à réaliser le test et, ce, avant même d'être munies d'un micro-stimulateur (exemple : dans un modèle de la MP). Aussi, il sera possible de réaliser de l'imagerie *in vivo* en cours de protocole grâce à l'utilisation d'un certain type d'électrode développé à cet effet (voir section matériel et méthode et résultats concernant les électrodes).

L'attrait principal d'une meilleure compréhension des mécanismes de la SCP réside dans l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques qui pourront, par la suite, être manipulées de manière moins invasive visant ainsi l'optimisation de ce traitement (élargissement de l'applicabilité clinique, diminution des effets secondaires, augmentation de l'efficacité) dans divers contextes pathologiques.

## Références

1. Gardner, J. A history of deep brain stimulation: Technological innovation and the role of clinical assessment tools. *Social Studies of Science*. **43**, 707-728 (2013).
2. Wichmann, T. & DeLong, M.R. Deep brain stimulation for neurologic and neuropsychiatric disorders. *Neuron* **52**, 197-204 (2006).
3. McIntyre, C.C., Chaturvedi, A., Shamir, R.R. & Lempka, S.F. Engineering the next generation of clinical deep brain stimulation technology. *Brain stimulation* **8**, 21-26 (2015).
4. Grimes, D., *et al.* Lignes directrices canadiennes sur la maladie de Parkinson : Introduction. *Canadian Journal of Neurological Sciences* **39**, S1-S30 (2012).
5. Nandi, D., Liu, X., Winter, J.L., Aziz, T.Z. & Stein, J.F. Deep brain stimulation of the pedunculopontine region in the normal non-human primate. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia* **9**, 170-174 (2002).
6. Oluigbo, C.O., Salma, A. & Rezai, A.R. Deep brain stimulation for neurological disorders. *IEEE reviews in biomedical engineering* **5**, 88-99 (2012).
7. Vidailhet, M., *et al.* Bilateral deep-brain stimulation of the globus pallidus in primary generalized dystonia. *The New England journal of medicine* **352**, 459-467 (2005).
8. Alonso, P., *et al.* Deep Brain Stimulation for Obsessive-Compulsive Disorder: A Meta-Analysis of Treatment Outcome and Predictors of Response. *PloS one* **10**, e0133591 (2015).
9. Fisher, R., *et al.* Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for treatment of refractory epilepsy. *Epilepsia* **51**, 899-908 (2010).
10. Krishna, V. & Lozano, A.M. Brain stimulation for intractable epilepsy: Anterior thalamus and responsive stimulation. *Annals of Indian Academy of Neurology* **17**, S95-98 (2014).
11. Monsalve, G.A. Motor cortex stimulation for facial chronic neuropathic pain: A review of the literature. *Surgical neurology international* **3**, S290-311 (2012).
12. Akbarian-Tefaghi, L., Zrinzo, L. & Foltynie, T. The Use of Deep Brain Stimulation in Tourette Syndrome. *Brain sciences* **6**(2016).
13. Delorme, C., *et al.* Deep brain stimulation of the internal pallidum in Huntington's disease patients: clinical outcome and neuronal firing patterns. *Journal of neurology* **263**, 290-298 (2016).
14. Lozano, A.M., *et al.* A Phase II Study of Fornix Deep Brain Stimulation in Mild Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* **54**, 777-787 (2016).
15. Delaloye, S. & Holtzheimer, P.E. Deep brain stimulation in the treatment of depression. *Dialogues in clinical neuroscience* **16**, 83-91 (2014).
16. Kuhn, J., *et al.* Remission of alcohol dependency following deep brain stimulation of the nucleus accumbens: valuable therapeutic implications? *BMJ case reports* **2009**(2009).
17. Franco, R., *et al.* DBS for Obesity. *Brain sciences* **6**(2016).
18. Gobel, C.H., Tronnier, V.M. & Munte, T.F. Brain stimulation in obesity. *International journal of obesity (2005)* **41**, 1721-1727 (2017).
19. Administration, U.S.F.a.D. Medical devices. (2017).

20. Medtronic. Newsroom - Medtronic Receives European CE Mark Approval for Deep Brain Stimulation Therapy for Refractory Epilepsy. (2010).
21. Medtronic. Newsroom - Medtronic Receives FDA Approval of AdaptiveStim™ with RestoreSensor™ for the Management of Chronic Pain. (2011).
22. Kocabicak, E., Temel, Y., Hollig, A., Falkenburger, B. & Tan, S. Current perspectives on deep brain stimulation for severe neurological and psychiatric disorders. *Neuropsychiatr Dis Treat* **11**, 1051-1066 (2015).
23. Purves, D., *et al.* *Neurosciences*, (De Boeck Supérieur, Bruxelles, 2011).
24. Wichmann, T. & Delong, M.R. Deep-Brain Stimulation for Basal Ganglia Disorders. *Basal Ganglia* **1**, 65-77 (2011).
25. Walter, B.L. & Vitek, J.L. Surgical treatment for Parkinson's disease. *The Lancet. Neurology* **3**, 719-728 (2004).
26. Montagu, K.A. Catechol compounds in rat tissues and in brains of different animals. *Nature* **180**, 244-245 (1957).
27. Carlsson, A., Lindqvist, M. & Magnusson, T. 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature* **180**, 1200 (1957).
28. Carlsson, A., Lindqvist, M., Magnusson, T. & Waldeck, B. On the presence of 3-hydroxytyramine in brain. *Science (New York, N.Y.)* **127**, 471 (1958).
29. Hornykiewicz, O. A brief history of levodopa. *Journal of neurology* **257**, S249-252 (2010).
30. Weil-Malherbe, H. & Bone, A.D. Intracellular distribution of catecholamines in the brain. *Nature* **180**, 1050-1051 (1957).
31. Birkmayer, W. & Hornykiewicz, O. [The L-3,4-dioxyphenylalanine (DOPA)-effect in Parkinson-akinesia]. *Wien Klin Wochenschr* **73**, 787-788 (1961).
32. Birkmayer, W. & Hornykiewicz, O. [The L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) effect in Parkinson's syndrome in man: On the pathogenesis and treatment of Parkinson akinesia]. *Arch Psychiatr Nervenkr Z Gesamte Neurol Psychiatr* **203**, 560-574 (1962).
33. DeLong, M.R. & Benabid, A.L. Discovery of high-frequency deep brain stimulation for treatment of Parkinson disease: 2014 Lasker Award. *JAMA* **312**, 1093-1094 (2014).
34. A. Warrell, D., M. Cox, T., D. Firth, J. & J. Benz Jr, E. *Oxford Textbook of Medicine*, (Oxford University Press, 2003).
35. J. Weatherall, D., G. Ledingham, J.G. & A. Warrell, D. *Oxford Textbook of Medicine*, (Oxford University Press, 1996).
36. Davie, C.A. A review of Parkinson's disease. *Br Med Bull* **86**, 109-127 (2008).
37. Chiken, S. & Nambu, A. Mechanism of Deep Brain Stimulation: Inhibition, Excitation, or Disruption? *Neuroscientist* **22**, 313-322 (2016).
38. Dauer, W. & Przedborski, S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* **39**, 889-909 (2003).
39. Chaudhuri, K.R., Healy, D.G. & Schapira, A.H. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: diagnosis and management. *The Lancet. Neurology* **5**, 235-245 (2006).
40. Aarsland, D. & Kramberger, M.G. Neuropsychiatric Symptoms in Parkinson's Disease. *J Parkinsons Dis* **5**, 659-667 (2015).
41. Martinez-Martin, P. The importance of non-motor disturbances to quality of life in Parkinson's disease. *J Neurol Sci* **310**, 12-16 (2011).

42. Chaudhuri, K.R. & Schapira, A.H. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: dopaminergic pathophysiology and treatment. *The Lancet. Neurology* **8**, 464-474 (2009).
43. Pont-Sunyer, C., *et al.* The onset of nonmotor symptoms in Parkinson's disease (the ONSET PD study). *Mov Disord* **30**, 229-237 (2015).
44. Defebvre, L. & Moreau, C. [Medical and surgical treatment of Parkinson's disease]. *Presse Med* **46**, 218-224 (2017).
45. Chen, J.J. & Swope, D.M. Pharmacotherapy for Parkinson's disease. *Pharmacotherapy* **27**, 161S-173S (2007).
46. Oertel, W. & Schulz, J.B. Current and experimental treatments of Parkinson disease: A guide for neuroscientists. *Journal of neurochemistry* **139 Suppl 1**, 325-337 (2016).
47. Tan, E.K. Dopamine agonists and their role in Parkinson's disease treatment. *Expert Rev Neurother* **3**, 805-810 (2003).
48. Muller, T. Catechol-O-methyltransferase inhibitors in Parkinson's disease. *Drugs* **75**, 157-174 (2015).
49. Schapira, A.H. Monoamine oxidase B inhibitors for the treatment of Parkinson's disease: a review of symptomatic and potential disease-modifying effects. *CNS Drugs* **25**, 1061-1071 (2011).
50. Kalia, L.V. & Lang, A.E. Parkinson's disease. *Lancet* **386**, 896-912 (2015).
51. Albin, R.L., Young, A.B. & Penney, J.B. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in neurosciences* **12**, 366-375 (1989).
52. DeLong, M.R. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends in neurosciences* **13**, 281-285 (1990).
53. Lanciego, J.L., Luquin, N. & Obeso, J.A. Functional neuroanatomy of the basal ganglia. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* **2**, a009621 (2012).
54. Jahanshahi, M., Obeso, I., Rothwell, J.C. & Obeso, J.A. A fronto-striato-subthalamic-pallidal network for goal-directed and habitual inhibition. *Nature reviews. Neuroscience* **16**, 719-732 (2015).
55. Parent, A., *et al.* Organization of the basal ganglia: the importance of axonal collateralization. *Trends in neurosciences* **23**, S20-27 (2000).
56. Kopell, B.H., Rezai, A.R., Chang, J.W. & Vitek, J.L. Anatomy and physiology of the basal ganglia: implications for deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Mov Disord* **21 Suppl 14**, S238-246 (2006).
57. Parent, A., Levesque, M. & Parent, M. A re-evaluation of the current model of the basal ganglia. *Parkinsonism Relat Disord* **7**, 193-198 (2001).
58. Williams, N.R., Foote, K.D. & Okun, M.S. STN vs. GPi Deep Brain Stimulation: Translating the Rematch into Clinical Practice. *Mov Disord Clin Pract* **1**, 24-35 (2014).
59. Moldovan, A.S., *et al.* The treatment of Parkinson's disease with deep brain stimulation: current issues. *Neural regeneration research* **10**, 1018-1022 (2015).
60. Benabid, A.L. & Torres, N. New targets for DBS. *Parkinsonism & related disorders* **18 Suppl 1**, S21-23 (2012).
61. Filali, M., Hutchison, W.D., Palter, V.N., Lozano, A.M. & Dostrovsky, J.O. Stimulation-induced inhibition of neuronal firing in human subthalamic nucleus. *Exp Brain Res* **156**, 274-281 (2004).
62. Welter, M.L., *et al.* Effects of high-frequency stimulation on subthalamic neuronal activity in parkinsonian patients. *Archives of neurology* **61**, 89-96 (2004).

63. Meissner, W., *et al.* Subthalamic high frequency stimulation resets subthalamic firing and reduces abnormal oscillations. *Brain : a journal of neurology* **128**, 2372-2382 (2005).
64. Moran, A., Stein, E., Tischler, H., Bebelovsky, K. & Bar-Gad, I. Dynamic stereotypic responses of Basal Ganglia neurons to subthalamic nucleus high-frequency stimulation in the parkinsonian primate. *Front Syst Neurosci* **5**, 21 (2011).
65. Shi, L.H., Luo, F., Woodward, D.J. & Chang, J.Y. Basal ganglia neural responses during behaviorally effective deep brain stimulation of the subthalamic nucleus in rats performing a treadmill locomotion test. *Synapse* **59**, 445-457 (2006).
66. Tai, C.H., *et al.* Electrophysiological and metabolic evidence that high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus bridles neuronal activity in the subthalamic nucleus and the substantia nigra reticulata. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* **17**, 1820-1830 (2003).
67. Dostrovsky, J.O., *et al.* Microstimulation-induced inhibition of neuronal firing in human globus pallidus. *J Neurophysiol* **84**, 570-574 (2000).
68. Lafreniere-Roula, M., *et al.* High-frequency microstimulation in human globus pallidus and substantia nigra. *Exp Brain Res* **205**, 251-261 (2010).
69. Wu, Y.R., Levy, R., Ashby, P., Tasker, R.R. & Dostrovsky, J.O. Does stimulation of the GPi control dyskinesia by activating inhibitory axons? *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **16**, 208-216 (2001).
70. Boraud, T., Bezard, E., Bioulac, B. & Gross, C. High frequency stimulation of the internal Globus Pallidus (GPi) simultaneously improves parkinsonian symptoms and reduces the firing frequency of GPi neurons in the MPTP-treated monkey. *Neurosci Lett* **215**, 17-20 (1996).
71. Chiken, S. & Nambu, A. High-frequency pallidal stimulation disrupts information flow through the pallidum by GABAergic inhibition. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **33**, 2268-2280 (2013).
72. Anderson, M.E., Postupna, N. & Ruffo, M. Effects of high-frequency stimulation in the internal globus pallidus on the activity of thalamic neurons in the awake monkey. *J Neurophysiol* **89**, 1150-1160 (2003).
73. Hashimoto, T., Elder, C.M., Okun, M.S., Patrick, S.K. & Vitek, J.L. Stimulation of the subthalamic nucleus changes the firing pattern of pallidal neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **23**, 1916-1923 (2003).
74. Reese, R., *et al.* Subthalamic deep brain stimulation increases pallidal firing rate and regularity. *Exp Neurol* **229**, 517-521 (2011).
75. Galati, S., *et al.* Biochemical and electrophysiological changes of substantia nigra pars reticulata driven by subthalamic stimulation in patients with Parkinson's disease. *The European journal of neuroscience* **23**, 2923-2928 (2006).
76. Benabid, A.L. Neuroscience: spotlight on deep-brain stimulation. *Nature* **519**, 299-300 (2015).
77. Nambu, A., Tokuno, H. & Takada, M. Functional significance of the cortico-subthalamo-pallidal 'hyperdirect' pathway. *Neurosci Res* **43**, 111-117 (2002).
78. Nambu, A., *et al.* Excitatory cortical inputs to pallidal neurons via the subthalamic nucleus in the monkey. *J Neurophysiol* **84**, 289-300 (2000).

79. Maurice, N., Thierry, A.M., Glowinski, J. & Deniau, J.M. Spontaneous and evoked activity of substantia nigra pars reticulata neurons during high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **23**, 9929-9936 (2003).
80. de Hemptinne, C., *et al.* Therapeutic deep brain stimulation reduces cortical phase-amplitude coupling in Parkinson's disease. *Nature neuroscience* **18**, 779-786 (2015).
81. Whitton, P.S. Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease. *Br J Pharmacol* **150**, 963-976 (2007).
82. McGeer, P.L. & McGeer, E.G. Inflammation and the degenerative diseases of aging. *Ann N Y Acad Sci* **1035**, 104-116 (2004).
83. Nagatsu, T. & Sawada, M. Inflammatory process in Parkinson's disease: role for cytokines. *Curr Pharm Des* **11**, 999-1016 (2005).
84. Tansey, M.G., *et al.* Neuroinflammation in Parkinson's disease: is there sufficient evidence for mechanism-based interventional therapy? *Front Biosci* **13**, 709-717 (2008).
85. Sawada, M., Imamura, K. & Nagatsu, T. Role of cytokines in inflammatory process in Parkinson's disease. *J Neural Transm Suppl*, 373-381 (2006).
86. Li, M., *et al.* An essential role of the NF-kappa B/Toll-like receptor pathway in induction of inflammatory and tissue-repair gene expression by necrotic cells. *J Immunol* **166**, 7128-7135 (2001).
87. Schwandner, R., Dziarski, R., Wesche, H., Rothe, M. & Kirschning, C.J. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J Biol Chem* **274**, 17406-17409 (1999).
88. Yoshimura, A., *et al.* Cutting edge: recognition of Gram-positive bacterial cell wall components by the innate immune system occurs via Toll-like receptor 2. *J Immunol* **163**, 1-5 (1999).
89. Boivin, A., *et al.* Toll-like receptor signaling is critical for Wallerian degeneration and functional recovery after peripheral nerve injury. *J Neurosci* **27**, 12565-12576 (2007).
90. Richard, K.L., Filali, M., Prefontaine, P. & Rivest, S. Toll-like receptor 2 acts as a natural innate immune receptor to clear amyloid beta 1-42 and delay the cognitive decline in a mouse model of Alzheimer's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **28**, 5784-5793 (2008).
91. Cicchetti, F. & Barker, R.A. The glial response to intracerebrally delivered therapies for neurodegenerative disorders: is this a critical issue? *Front Pharmacol* **5**, 139 (2014).
92. Arsenault, D., *et al.* A novel combinational approach of microstimulation and bioluminescence imaging to study the mechanisms of action of cerebral electrical stimulation in mice. *The Journal of physiology* **593**, 2257-2278 (2015).
93. McConnell, G.C., *et al.* Implanted neural electrodes cause chronic, local inflammation that is correlated with local neurodegeneration. *J Neural Eng* **6**, 056003 (2009).
94. Kaul, M. HIV's double strike at the brain: neuronal toxicity and compromised neurogenesis. *Front Biosci* **13**, 2484-2494 (2008).
95. Krathwohl, M.D. & Kaiser, J.L. Chemokines promote quiescence and survival of human neural progenitor cells. *Stem Cells* **22**, 109-118 (2004).

96. Krathwohl, M.D. & Kaiser, J.L. HIV-1 promotes quiescence in human neural progenitor cells. *J Infect Dis* **190**, 216-226 (2004).
97. Peng, H., *et al.* HIV-1-infected and/or immune-activated macrophage-secreted TNF-alpha affects human fetal cortical neural progenitor cell proliferation and differentiation. *Glia* **56**, 903-916 (2008).
98. Waldau, B. & Shetty, A.K. Behavior of neural stem cells in the Alzheimer brain. *Cell Mol Life Sci* **65**, 2372-2384 (2008).
99. Whitney, N.P., Eidem, T.M., Peng, H., Huang, Y. & Zheng, J.C. Inflammation mediates varying effects in neurogenesis: relevance to the pathogenesis of brain injury and neurodegenerative disorders. *J Neurochem* **108**, 1343-1359 (2009).
100. Rolls, A., *et al.* Toll-like receptors modulate adult hippocampal neurogenesis. *Nat Cell Biol* **9**, 1081-1088 (2007).
101. Lie, D.C., *et al.* The adult substantia nigra contains progenitor cells with neurogenic potential. *J Neurosci* **22**, 6639-6649 (2002).
102. Stromberg, I., *et al.* Astrocyte responses to dopaminergic denervations by 6-hydroxydopamine and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine as evidenced by glial fibrillary acidic protein immunohistochemistry. *Brain Res Bull* **17**, 225-236 (1986).
103. Kay, J.N. & Blum, M. Differential response of ventral midbrain and striatal progenitor cells to lesions of the nigrostriatal dopaminergic projection. *Dev Neurosci* **22**, 56-67 (2000).
104. Mao, L., Lau, Y.S., Petroske, E. & Wang, J.Q. Profound astrogenesis in the striatum of adult mice following nigrostriatal dopaminergic lesion by repeated MPTP administration. *Brain Res Dev Brain Res* **131**, 57-65 (2001).
105. Frielingsdorf, H., Schwarz, K., Brundin, P. & Mohapel, P. No evidence for new dopaminergic neurons in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**, 10177-10182 (2004).
106. Baker, S.A., Baker, K.A. & Hagg, T. Dopaminergic nigrostriatal projections regulate neural precursor proliferation in the adult mouse subventricular zone. *Eur J Neurosci* **20**, 575-579 (2004).
107. Hoglinger, G.U., *et al.* Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat Neurosci* **7**, 726-735 (2004).
108. Zhao, M., *et al.* Evidence for neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 7925-7930 (2003).
109. Aponso, P.M., Faull, R.L. & Connor, B. Increased progenitor cell proliferation and astrogenesis in the partial progressive 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Neuroscience* **151**, 1142-1153 (2008).
110. Toda, H., Hamani, C., Fawcett, A.P., Hutchison, W.D. & Lozano, A.M. The regulation of adult rodent hippocampal neurogenesis by deep brain stimulation. *J Neurosurg* **108**, 132-138 (2008).
111. Sankar, T., *et al.* Deep Brain Stimulation Influences Brain Structure in Alzheimer's Disease. *Brain Stimul* **8**, 645-654 (2015).
112. Encinas, J.M., Hamani, C., Lozano, A.M. & Enikolopov, G. Neurogenic hippocampal targets of deep brain stimulation. *The Journal of comparative neurology* **519**, 6-20 (2011).

113. Gondard, E., *et al.* Rapid Modulation of Protein Expression in the Rat Hippocampus Following Deep Brain Stimulation of the Fornix. *Brain stimulation* **8**, 1058-1064 (2015).
114. Mena, M.A. & Garcia de Yebenes, J. Glial cells as players in parkinsonism: the "good," the "bad," and the "mysterious" glia. *Neuroscientist* **14**, 544-560 (2008).
115. Solano, R.M., *et al.* Glial dysfunction in parkin null mice: effects of aging. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **28**, 598-611 (2008).
116. Rappold, P.M. & Tieu, K. Astrocytes and therapeutics for Parkinson's disease. *Neurotherapeutics* **7**, 413-423 (2010).
117. Pekny, M. & Nilsson, M. Astrocyte activation and reactive gliosis. *Glia* **50**, 427-434 (2005).
118. DiLorenzo, D.J., Jankovic, J., Simpson, R.K., Takei, H. & Powell, S.Z. Long-term deep brain stimulation for essential tremor: 12-year clinicopathologic follow-up. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **25**, 232-238 (2010).
119. Haberler, C., *et al.* No tissue damage by chronic deep brain stimulation in Parkinson's disease. *Annals of neurology* **48**, 372-376 (2000).
120. Pilitsis, J.G., *et al.* Factors involved in long-term efficacy of deep brain stimulation of the thalamus for essential tremor. *Journal of neurosurgery* **109**, 640-646 (2008).
121. Stock, G., Sturm, V., Schmitt, H.P. & Schlor, K.H. The influence of chronic deep brain stimulation on excitability and morphology of the stimulated tissue. *Acta Neurochir (Wien)* **47**, 123-129 (1979).
122. Sun, D.A., *et al.* Postmortem analysis following 71 months of deep brain stimulation of the subthalamic nucleus for Parkinson disease. *Journal of neurosurgery* **109**, 325-329 (2008).
123. Fenoy, A.J., Goetz, L., Chabardes, S. & Xia, Y. Deep brain stimulation: are astrocytes a key driver behind the scene? *CNS Neurosci Ther* **20**, 191-201 (2014).
124. Vedam-Mai, V., *et al.* Deep brain stimulation and the role of astrocytes. *Mol Psychiatry* **17**, 124-131, 115 (2012).
125. Lee, H. & Pienaar, I.S. Disruption of the blood-brain barrier in Parkinson's disease: curse or route to a cure? *Front Biosci (Landmark Ed)* **19**, 272-280 (2014).
126. Pienaar, I.S., *et al.* Deep-brain stimulation associates with improved microvascular integrity in the subthalamic nucleus in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* **74**, 392-405 (2015).
127. Baba, T., *et al.* Electrical stimulation of the cerebral cortex exerts antiapoptotic, angiogenic, and anti-inflammatory effects in ischemic stroke rats through phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling pathway. *Stroke* **40**, e598-605 (2009).
128. Nassery, A., *et al.* Psychiatric and Cognitive Effects of Deep Brain Stimulation for Parkinson's Disease. *Current neurology and neuroscience reports* **16**, 87 (2016).
129. Hojlund, A., Petersen, M.V., Sridharan, K.S. & Ostergaard, K. Worsening of Verbal Fluency After Deep Brain Stimulation in Parkinson's Disease: A Focused Review. *Computational and structural biotechnology journal* **15**, 68-74 (2017).
130. Alomar, S., *et al.* Speech and language adverse effects after thalamotomy and deep brain stimulation in patients with movement disorders: A meta-analysis. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* **32**, 53-63 (2017).

131. Boel, J.A., *et al.* Cognitive and psychiatric outcome 3 years after globus pallidus pars interna or subthalamic nucleus deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders* **33**, 90-95 (2016).
132. Buhmann, C., *et al.* Adverse events in deep brain stimulation: A retrospective long-term analysis of neurological, psychiatric and other occurrences. *PloS one* **12**, e0178984 (2017).
133. Elder, C.M., Hashimoto, T., Zhang, J. & Vitek, J.L. Chronic implantation of deep brain stimulation leads in animal models of neurological disorders. *Journal of neuroscience methods* **142**, 11-16 (2005).
134. Kundishora, A.J., *et al.* Restoring Conscious Arousal During Focal Limbic Seizures with Deep Brain Stimulation. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)* **27**, 1964-1975 (2017).
135. Liu, H., Wang, C., Zhang, F. & Jia, H. An implantable device for neuropsychiatric rehabilitation by chronic deep brain stimulation in freely moving rats. *Neuroreport* **28**, 128-133 (2017).
136. Madsen, P.M., *et al.* Prolonged stimulation of a brainstem raphe region attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neuroscience* **346**, 395-402 (2017).
137. Xia, F., *et al.* Entorhinal Cortical Deep Brain Stimulation Rescues Memory Deficits in Both Young and Old Mice Genetically Engineered to Model Alzheimer's Disease. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* **42**, 2493-2503 (2017).
138. Yang, J., Liu, L., Li, T. & Li, C. Array Focal Cortical Stimulation Enhances Motor Function Recovery and Brain Remodeling in a Rat Model of Ischemia. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association* **26**, 658-665 (2017).
139. Batra, V., Guerin, G.F., Goeders, N.E. & Wilden, J.A. A General Method for Evaluating Deep Brain Stimulation Effects on Intravenous Methamphetamine Self-Administration. *Journal of visualized experiments : JoVE*, e53266 (2016).
140. Magdaleno-Madrigal, V.M., *et al.* Acute deep brain stimulation in the thalamic reticular nucleus protects against acute stress and modulates initial events of adult hippocampal neurogenesis. *Behavioural brain research* **314**, 65-76 (2016).
141. Luo, Z. & Ker, M.D. A High-Voltage-Tolerant and Precise Charge-Balanced Neuro-Stimulator in Low Voltage CMOS Process. *IEEE transactions on biomedical circuits and systems* **10**, 1087-1099 (2016).
142. Halpern, C.H., Attiah, M.A., Tekriwal, A. & Baltuch, G.H. A step-wise approach to deep brain stimulation in mice. *Acta Neurochir (Wien)* **156**, 1515-1521 (2014).
143. Irving, S., *et al.* Cochlear implantation for chronic electrical stimulation in the mouse. *Hearing research* **306**, 37-45 (2013).
144. Hentall, I.D. A long-lasting wireless stimulator for small mammals. *Frontiers in neuroengineering* **6**, 8 (2013).
145. Jeffrey, M., *et al.* A reliable method for intracranial electrode implantation and chronic electrical stimulation in the mouse brain. *BMC Neurosci* **14**, 82 (2013).
146. Quinkert, A.W. & Pfaff, D.W. Temporal patterns of deep brain stimulation generated with a true random number generator and the logistic equation: effects on CNS arousal in mice. *Behavioural brain research* **229**, 349-358 (2012).
147. Perry, D.W., Grayden, D.B., Shepherd, R.K. & Fallon, J.B. A fully implantable rodent neural stimulator. *Journal of neural engineering* **9**, 014001 (2012).

148. Semprini, M., Bennicelli, L. & Vato, A. A parametric study of intracortical microstimulation in behaving rats for the development of artificial sensory channels. *Conference proceedings : ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference* **2012**, 799-802 (2012).
149. Langevin, J.P., De Salles, A.A., Kosoyan, H.P. & Krahl, S.E. Deep brain stimulation of the amygdala alleviates post-traumatic stress disorder symptoms in a rat model. *J Psychiatr Res* **44**, 1241-1245 (2010).
150. Quinkert, A.W., Schiff, N.D. & Pfaff, D.W. Temporal patterning of pulses during deep brain stimulation affects central nervous system arousal. *Behavioural brain research* **214**, 377-385 (2010).
151. Ye, X., *et al.* A portable telemetry system for brain stimulation and neuronal activity recording in freely behaving small animals. *Journal of neuroscience methods* **174**, 186-193 (2008).
152. Butovas, S. & Schwarz, C. Detection psychophysics of intracortical microstimulation in rat primary somatosensory cortex. *The European journal of neuroscience* **25**, 2161-2169 (2007).
153. Liu, H.Y., *et al.* Chronic deep brain stimulation in the rat nucleus accumbens and its effect on morphine reinforcement. *Addiction biology* **13**, 40-46 (2008).
154. Millard, R.E. & Shepherd, R.K. A fully implantable stimulator for use in small laboratory animals. *Journal of neuroscience methods* **166**, 168-177 (2007).
155. Kouzani, A.Z., *et al.* Validation of a Portable Low-Power Deep Brain Stimulation Device Through Anxiolytic Effects in a Laboratory Rat Model. *IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering : a publication of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society* **25**, 1365-1374 (2017).
156. Lin, Y.P., *et al.* A Battery-Less, Implantable Neuro-Electronic Interface for Studying the Mechanisms of Deep Brain Stimulation in Rat Models. *IEEE transactions on biomedical circuits and systems* **10**, 98-112 (2016).
157. Pinnell, R.C., Dempster, J. & Pratt, J. Miniature wireless recording and stimulation system for rodent behavioural testing. *Journal of neural engineering* **12**, 066015 (2015).
158. Angotzi, G.N., Boi, F., Zordan, S., Bonfanti, A. & Vato, A. A programmable closed-loop recording and stimulating wireless system for behaving small laboratory animals. *Scientific reports* **4**, 5963 (2014).
159. Kolbl, F., *et al.* An Embedded Deep Brain Stimulator for Biphasic Chronic Experiments in Freely Moving Rodents. *IEEE transactions on biomedical circuits and systems* **10**, 72-84 (2016).
160. Ewing, S.G. & Grace, A.A. Long-term high frequency deep brain stimulation of the nucleus accumbens drives time-dependent changes in functional connectivity in the rodent limbic system. *Brain stimulation* **6**, 274-285 (2013).
161. Ewing, S.G., Lipski, W.J., Grace, A.A. & Winter, C. An inexpensive, charge-balanced rodent deep brain stimulation device: a step-by-step guide to its procurement and construction. *Journal of neuroscience methods* **219**, 324-330 (2013a).
162. Ewing, S.G., Porr, B., Riddell, J., Winter, C. & Grace, A.A. SaBer DBS: a fully programmable, rechargeable, bilateral, charge-balanced preclinical microstimulator

- for long-term neural stimulation. *Journal of neuroscience methods* **213**, 228-235 (2013b).
163. Kouzani, A.Z., Abulseoud, O.A., Tye, S.J., Hosain, M.D. & Berk, M. A Low Power Micro Deep Brain Stimulation Device for Murine Preclinical Research. *IEEE journal of translational engineering in health and medicine* **2**, 1500109 (2013).
  164. de Haas, R., *et al.* Wireless implantable micro-stimulation device for high frequency bilateral deep brain stimulation in freely moving mice. *Journal of neuroscience methods* **209**, 113-119 (2012).
  165. Forni, C., *et al.* Portable microstimulator for chronic deep brain stimulation in freely moving rats. *Journal of neuroscience methods* **209**, 50-57 (2012).
  166. Morimoto, T., *et al.* Striatal stimulation nurtures endogenous neurogenesis and angiogenesis in chronic-phase ischemic stroke rats. *Cell Transplant* **20**, 1049-1064 (2011).
  167. Paulat, R., Meissner, W., Morgenstern, R., Kupsch, A. & Harnack, D. Development of an implantable microstimulation system for chronic DBS in rodents. *Conference proceedings : ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference* **2011**, 660-662 (2011).
  168. Qian, X., Hao, H., Ma, B., Wen, X. & Li, L. Study on DBS device for small animals. *Conference proceedings : ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference* **2011**, 6773-6776 (2011).
  169. Lee, J., Rhew, H.G., Kipke, D.R. & Flynn, M.P. A 64 Channel Programmable Closed-Loop Neurostimulator With 8 Channel Neural Amplifier and Logarithmic ADC. *IEEE journal of solid-state circuits* **45**, 1935-1945 (2010).
  170. Rolston, J.D., Gross, R.E. & Potter, S.M. A low-cost multielectrode system for data acquisition enabling real-time closed-loop processing with rapid recovery from stimulation artifacts. *Frontiers in neuroengineering* **2**, 12 (2009).
  171. Venkatraman, S., Elkabany, K., Long, J.D., Yao, Y. & Carmena, J.M. A system for neural recording and closed-loop intracortical microstimulation in awake rodents. *IEEE transactions on bio-medical engineering* **56**, 15-22 (2009).
  172. Harnack, D., *et al.* Continuous high-frequency stimulation in freely moving rats: development of an implantable microstimulation system. *Journal of neuroscience methods* **167**, 278-291 (2008).
  173. Oueslati, A., *et al.* High-frequency stimulation of the subthalamic nucleus potentiates L-DOPA-induced neurochemical changes in the striatum in a rat model of Parkinson's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **27**, 2377-2386 (2007).
  174. Gubellini, P., *et al.* Chronic high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus and L-DOPA treatment in experimental parkinsonism: effects on motor behaviour and striatal glutamate transmission. *The European journal of neuroscience* **24**, 1802-1814 (2006).
  175. Xu, S., Talwar, S.K., Hawley, E.S., Li, L. & Chapin, J.K. A multi-channel telemetry system for brain microstimulation in freely roaming animals. *Journal of neuroscience methods* **133**, 57-63 (2004).

176. Sugiyama, K., *et al.* The present indication and future of deep brain stimulation. *Neurol Med Chir (Tokyo)* **55**, 416-421 (2015).
177. Parastarfeizabadi, M. & Kouzani, A.Z. Advances in closed-loop deep brain stimulation devices. *J Neuroeng Rehabil* **14**, 79 (2017).
178. Benabid, A.L., Chabardes, S., Mitrofanis, J. & Pollak, P. Deep brain stimulation of the subthalamic nucleus for the treatment of Parkinson's disease. *The Lancet. Neurology* **8**, 67-81 (2009).
179. Skidmore, F.M., *et al.* Lessons learned in deep brain stimulation for movement and neuropsychiatric disorders. *CNS spectrums* **11**, 521-536 (2006).
180. Schuepbach, W.M., *et al.* Neurostimulation for Parkinson's disease with early motor complications. *The New England journal of medicine* **368**, 610-622 (2013).
181. Schupbach, W.M., *et al.* Neurosurgery at an earlier stage of Parkinson disease: a randomized, controlled trial. *Neurology* **68**, 267-271 (2007).
182. Fundament, T., *et al.* Deep Brain Stimulation for Parkinson's Disease with Early Motor Complications: A UK Cost-Effectiveness Analysis. *PloS one* **11**, e0159340 (2016).
183. Franklin, K.B.J. & Paxinos, G. *The mouse brain in stereotaxic coordinates*, (Academic Press, 2008).
184. Buffel, I., *et al.* The effect of high and low frequency cortical stimulation with a fixed or a poisson distributed interpulse interval on cortical excitability in rats. *Int J Neural Syst* **24**, 1430005 (2014).
185. Piallat, B., *et al.* Monophasic but not biphasic pulses induce brain tissue damage during monopolar high-frequency deep brain stimulation. *Neurosurgery* **64**, 156-162; discussion 162-153 (2009).
186. Cappaert, N.L., Ramekers, D., Martens, H.C. & Wadman, W.J. Efficacy of a new charge-balanced biphasic electrical stimulus in the isolated sciatic nerve and the hippocampal slice. *Int J Neural Syst* **23**, 1250031 (2013).