

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

**Développement d'un système d'enregistrement des
neurones péri et intracardiaques et études préliminaires**

par

Simon Dubeau

Institut de génie biomédical
Faculté des études Supérieures

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès Sciences Appliquées en Génie Biomédical

Août 2007

© Simon Dubeau, 2007



Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Développement d'un système d'enregistrement des neurones péri et intracardiaques et
études préliminaires

présenté par :

Simon Dubeau

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Pierre Savard, président-rapporteur

Alain Vinet, directeur de recherche

Robert Guardo, co-directeur

Réjean Plamondon, membre du jury

Résumé

Les arythmies auriculaires sont l'une des pathologies cardiaques les plus courantes, et leur incidence tend à s'accroître avec le vieillissement de la population. Des travaux récents ont démontré que la stimulation électrique de neurones péri et intracardiaques déclenchait invariablement des fibrillations auriculaires dans des préparations *in-vivo* de chiens ne présentant aucune pathologie. Les mêmes travaux ont démontré qu'une stimulation ne touchant qu'une fibre nerveuse isolée déclenchait les arythmies beaucoup plus facilement que des stimulations centrales des nerfs sympathiques et parasympathiques. Cela suggère donc que certaines arythmies puissent être d'origine purement nerveuse, sans pathologie du substrat myocardique. Une intervention thérapeutique visant spécifiquement des éléments nerveux localisés pourrait être un traitement plus efficace que les approches cliniques courantes qui visent le tissu du muscle cardiaque. Des travaux cliniques ont d'ailleurs mené à la même hypothèse. Le projet s'est inscrit dans le cadre d'un programme de recherche sur les mécanismes nerveux contrôlant le déclenchement des arythmies cardiaques auriculaires mené par un groupe de chercheurs de l'Université de Montréal (Les docteurs A. Armour, R. Cardinal, P. Pagé, T. Kus et A. Vinet) au centre de recherche de l'hôpital du Sacré-Coeur et a impliqué la collaboration du Dr R. Guardo, de l'École Polytechnique de Montréal.

Le projet a consisté au développement de capteurs permettant une prise de mesure à l'aide de plusieurs électrodes sur une surface de un mm^2 à l'endocarde de préparations canines à cœur ouvert de même que sur les ganglions intra thoraciques. Ces capteurs ont été utilisés pour identifier et caractériser l'activité de diverses populations neuronales du système nerveux autonome cardiaque. Ensuite, nous avons étudié les liens entre les fluctuations de la pression, les fluctuations du rythme cardiaque et l'activité des différentes populations neuronales.

Dans un premier temps, les performances du système d'enregistrement ont été étudiées et ont démontré des caractéristiques suffisantes à l'enregistrement d'activité neuronale. Dans un deuxième temps, des enregistrements ont été effectués pour déterminer

la capacité du système à éliminer les artefacts d'enregistrement ne provenant pas de l'activité neuronale. Une attention particulière a été portée aux artefacts les plus importants, soit les artefacts de mouvement. Ceux-ci n'ont pas pu être éliminés totalement dans les enregistrements sur le substrat myocardique et nous ont empêchés d'effectuer des enregistrements adéquats dans ce milieu.

Dans un troisième temps, une étude préliminaire a été effectuée sur la présence de contrôle d'origine intracardiaque. Les relations entre la pression artérielle le rythme cardiaque et l'activité neuronale des ganglions stellaires ont été analysées. Ces relations ont été déterminées dans le domaine temporel et dans le domaine spectral, pour la fréquence de respiration ($\sim 0,25$ Hz) et pour les basses fréquences ($\sim 0,04$ Hz). Des méthodes statistiques ont été développées pour évaluer la présence de synchronisme entre les différents paramètres. Ces enregistrements ont été effectués en contrôle, après dénervation cervicale des nerfs vagues et enfin après dénervations vagale et sympathique.

Ces résultats n'ont pas encore permis d'enregistrer un comportement nerveux local indépendant du système nerveux central, mais plusieurs pistes d'études futures sont présentées pour pouvoir confirmer ou infirmer la présence de contrôle nerveux local.

Mots-clés : ganglion stellaire, système nerveux cardiaque autonome, enregistrements neuronaux

Abstract

The auricular arrhythmias are one of the most common cardiac pathologies, and their incidence tends to increase with the ageing of the population. Recent studies showed that electric stimulations of neurons (peri and intracardiac) invariably started auricular fibrillations in *in-vivo* preparations of dogs that did not present any pathology. The same studies showed that stimulation of an insulated nervous fibre started auricular arrhythmias much more easily than central stimulations of sympathetic or parasympathetic nerves. That suggests that certain arrhythmias can be of purely nervous origin, without pathology of the myocardic substrate. A therapeutic intervention aiming at localised nervous elements could be a more effective treatment than the current clinical approaches which aim at the cardiac muscle. Other clinical studies also led to the same assumption. This project lies within the scope of a research program on the nervous mechanisms triggering auricular arrhythmias carried out by a group of researchers of Université de Montréal (Dr. A. Armour, R. Cardinal, P. Pagé, T. Kus and A. Vinet) in the Centre de recherche de l'hôpital du Sacré-Coeur de Montréal and implies the collaboration of Dr. R. Guardo, of École Polytechnique de Montréal.

The project consisted in the development of sensors allowing recordings with several electrodes on a surface of 1 mm^2 on the endocardium of an open heart canine preparation and in intra thoracic ganglia. These sensors were used to identify and to characterize the activity of various neuronal populations of the cardiac autonomous nervous system. Then, the relationships between fluctuations of pressure and heart rate and the activity of the various neuronal populations were studied.

Firstly, the performance of the recording system was studied and showed sufficient characteristics to record neuronal activity. Secondly, recordings were carried out to determine the ability of the system to eliminate recording artefacts that did not originate from neuronal activity. A special attention was given to movement artefacts, which were the most important. Those could not be eliminated completely in the recordings on the

myocardic substrate and prevented us from carrying out adequate recordings in this medium.

Thirdly, a preliminary study was carried out on the presence of intracardiac control. The relationships between blood pressure, heart rate and neuronal activity of the stellate ganglia were analyzed. These relationships were analysed in time and frequency domains, for breathing frequency ($\sim 0,25$ Hz) and for low frequencies ($\sim 0,04$ Hz). Statistical methods were developed to evaluate the presence of synchronization between these parameters. These recordings were carried out in control, after cervical denervation of the vagi and finally after sympathetic and parasympathetic denervations.

These results did not allow recording of local nervous behaviour independent of the central nervous system, but several tracks for future studies are presented to confirm or invalidate the presence of local nervous control.

Keywords : Stellate ganglia, autonomic cardiac nervous system, neuronal recording

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	v
Table des matières.....	vii
Liste des tableaux.....	xi
Liste des figures.....	xii
Liste des abréviations.....	xix
Chapitre 1 Introduction.....	1
1.1 Output cardiaque.....	1
1.2 Contrôle local.....	2
1.3 Contrôle nerveux.....	2
1.3.1 Physiologie.....	3
1.3.2 Anatomie.....	4
1.3.3 Boucles de contrôle.....	8
1.4 Analyse spectrale.....	10
1.5 Contrôle nerveux local.....	10
1.5.1 Afférents.....	12
1.5.2 Interneurones.....	13
1.5.3 Causes de la vision alternative.....	13
Chapitre 2 Enregistrement neuronal.....	15
2.1 Interaction électrode-électrolyte.....	17
2.1.1 Circuit d'enregistrement équivalent.....	20
2.2 Distance électrodes – neurones.....	21
2.3 Taille des électrodes.....	23
2.3.1 Densité de neurones mesurés.....	24
2.3.2 Rapport signal / bruit.....	24
2.4 Densité neuronale.....	26
2.4.1 Ganglion stellaire.....	26
2.4.2 Intracardiaque.....	26

2.5 Multi électrodes.....	27
2.6 Enregistrement intracardiaque et thoracique.....	28
2.6.1 Analyse spectrale	29
Chapitre 3 Système d'enregistrement	32
3.1 Spécifications du système	32
3.2 Description du montage	34
3.2.1 Électrodes.....	34
3.2.2 Préamplificateur	36
3.2.3 Boîte de raccordement.....	36
3.2.4 Convertisseur analogue digital.....	38
3.2.5 Conversion bdf-edf et filtrage	38
3.2.6 Traitement de signal à l'aide du logiciel Spike.....	40
3.2.7 Détection des potentiels extracellulaires.....	41
3.3 Analyse des performances.....	42
3.3.1 Gain.....	42
3.3.2 Impédance d'entrée	44
3.3.3 Taux de rejet du mode commun.....	46
3.3.4 Caractéristiques théoriques du système	48
3.3.5 Niveau de bruit.....	48
3.3.6 Sources d'interférences.....	51
3.3.7 Détection de potentiels extracellulaires	52
Chapitre 4 Résultats, données brutes	54
4.1 Stellaire	54
4.2 Artefacts musculaires	55
4.3 Artefacts de mouvement	56
4.4 Artefacts du front d'activation électrique	59
4.5 Relation impédance des électrodes versus taux de décharge	60
Chapitre 5 Résultats, contrôle cardiaque local.....	62
5.1 Méthodologie	62
5.1.1 Préparation	62

5.1.2 Enregistrements neuronaux.....	63
5.1.3 Interventions sur les boucles de contrôle.....	64
5.1.4 Interventions pharmacologiques.....	65
5.1.5 Synthèse des interventions.....	72
5.2 Enregistrement contrôle.....	74
5.2.1 Modulation en contrôle.....	74
5.2.2 Analyse spectrale.....	75
5.2.3 Contrôle intra battement.....	81
5.2.4 Double modulation.....	85
5.2.5 Analyse concentration de norépinéphrine.....	88
5.2.6 Interventions pharmacologiques.....	90
5.2.7 Interventions physiques.....	97
5.3 Dénervation parasymphatique.....	99
5.3.1 Analyse spectrale.....	99
5.3.2 Interventions pharmacologiques.....	101
5.3.3 Interventions physiologiques.....	104
5.4 Dénervation sympathique.....	105
5.4.1 Effet de la dénervation.....	105
5.4.2 Intervention pharmacologique.....	107
5.4.3 Intervention physiologique.....	108
5.4.4 Synthèses des interventions.....	110
5.5 Dialogue inter électrodes.....	111
Chapitre 6 Analyse.....	113
6.1 Système d'enregistrement.....	113
6.1.1 Réponse aux exigences.....	113
6.1.2 Dépassement des exigences.....	113
6.1.3 Exigences partiellement réalisées.....	114
6.1.4 Améliorations possibles du montage.....	116
6.1.5 Reproductibilité des enregistrements, insertion des électrodes.....	119
6.2 Enregistrement du SNCl.....	120

6.2.1 Modulation des artefacts d'enregistrement	120
6.3 Rythmicité.....	121
6.3.1 Analyse spectrale	122
6.4 Interventions physiques et pharmacologiques	124
6.4.1 Dénervation centrale du système sympathique.....	124
6.4.2 Épinéphrine, dobutamine, phényléphrine	124
6.4.3 Nicotine.....	125
6.5 Vision hiérarchique du contrôle cardiaque	126
6.6 Expériences futures	127
6.6.1 Y a-t-il contrôle local sans innervation centrale?.....	128
6.6.2 Stimulations sympathiques.....	128
6.6.3 Stimulation de la moelle épinière.....	129
6.6.4 Stimulation d'un ganglion isolé	129
6.6.5 Remodelage.....	130
Conclusion	131
Bibliographie.....	133
Annexe 1. Format edf-bdf.....	I
Annexe 2. Connecteur du headstage	II
Annexe 3. Électrode.....	III
Annexe 4. Multiélectrode.....	IV

Liste des tableaux

Tableau I Effet du système sympathique et parasympathique sur le contrôle cardiaque.....	3
Tableau II Caractéristiques théoriques du système.....	48
Tableau III Bruit mesuré au niveau du préamplificateur	49
Tableau IV Résumé des chiens utilisés.....	72
Tableau V Résumé des interventions et effets recherchés.....	73
Tableau VI Cohérence maximale et phase pour les ondes de Mayer et de respiration. Enregistrements #1 à 11 : chien dans un période contrôle de 1200s. Enregistrements #12 à 23 : chien durant une expérience. Enregistrements #24 à 30 : contrôle sur sept chiens différents. (moyenne \pm écart-type, * : $p<0,05$, ** : $p<0,01$).....	81
Tableau VII Cohérence et phase intra battement (moyenne \pm écart-type, * : $p<0,05$, ** : $p<0,01$).....	84
Tableau VIII Activité neuronale enregistrée par quatre électrodes sur les ganglions d'un même chien à la suite de l'injection de nicotine pour différentes conditions d'innervation. Chaque colonne représente le nombre maximum de PED détectés par chacune des électrodes sur une fenêtre glissante de 5 s.....	107

Liste des figures

Figure 1 Schéma de l'innervation cardiaque par les voies sympathiques et parasymphatiques. Source : Netter, planche 223	5
Figure 2 Localisation des principaux ganglions du système nerveux cardiaque intrinsèque ^[4]	6
Figure 3 Innervation du ganglion stellaire et du GCM. Gauche : ^[7] , Droite: (GCM : ici appelé « caudal cervical ganglion ») ^{[8]p 147}	7
Figure 4 Innervation des barorécepteurs aortiques et carotidiens ^{[11] p677}	8
Figure 5 Différentes boucles de contrôle pouvant induire des oscillations du rythme cardiaque ^{[1] p92}	9
Figure 6 Interaction inter neuronale et intracellulaire entre les systèmes sympathique et parasymphatique impliqués dans le contrôle cardiaque ^[18]	11
Figure 7 Vision classique du contrôle nerveux cardiaque	11
Figure 8 Vision hiérarchique du contrôle nerveux cardiaque	12
Figure 9 Gauche : Potentiel d'action intracellulaire ^{[11] p489} . Droite : Courants formant un potentiel d'action extracellulaire ^[29]	15
Figure 10 Enregistrement d'un potentiel d'action sur une cellule pyramidale de l'hippocampe (les courbes sont obtenues en effectuant la moyenne de 849 potentiels d'action) . Haut : Potentiel intracellulaire. Bas : potentiel extracellulaire et dérivée du potentiel intracellulaire ^[31]	17
Figure 11 Interface électrode-électrolyte ^[32] . A) Modèle de la double couche électronique B) Circuit simple, C) circuit incluant le courant de Faraday D) Circuit d'enregistrement complet d'un potentiel membranaire	18
Figure 12 Impédance de plusieurs microélectrodes ^[32]	20
Figure 13 Modèle théorique des lignes isopotentielles mesurées à proximité d'un neurone ^[36]	22
Figure 14 Effet de la taille de l'électrode et de la distance sur l'amplitude du potentiel mesuré ^[37]	24

Figure 15 Enregistrement extracellulaire Haut : signal non filtré (1 Hz- 3kHz). Centre : signal filtré (300 Hz – 1 kHz). Bas signal intracellulaire. Flèche : potentiel extracellulaire non synchronisé avec l'enregistrement intracellulaire et provenant d'un neurone adjacent ^[31]	25
Figure 16 Vue d'un ganglion cardiaque épicaudique coloré par un procédé histochimique marquant l'acétylcholinestérase. Gauche : la flèche indique un ganglion contenant 985 neurones, trait = 0,5 mm. Droite : même ganglion, les flèches indiquent des noyaux de neurone, trait = 65 μm ^[43]	27
Figure 17 Schéma-bloc du système d'enregistrement	34
Figure 18 Préamplificateur avec électrodes fixes ou flottantes	35
Figure 19 Schéma du montage du système d'enregistrement neuronal	37
Figure 20 Spectre de puissance d'un bruit blanc gaussien après filtrage. Haut : filtre passe-haut Bessel 4 ^{ème} ordre du convertisseur « .bdf » à « .edf ». Bas : Filtrage final après le filtre de Bessel et le filtre passe-bande (FIR).....	40
Figure 21 Montage utilisé pour déterminer le gain et l'impédance d'entrée.	43
Figure 22 Gain expérimental et théorique du CAD et du système d'enregistrement en entier pour des fréquences comprises entre 1 Hz et 3 kHz.	44
Figure 23 Résistance d'entrée pour différents systèmes. Légende : \blacklozenge : préamplificateur (valeurs expérimentales), — — : préamplificateur (valeurs théoriques), Δ : CAD (valeurs expérimentales), —*— : un autre système d'enregistrement ^[50] , —□— : résistance d'une électrode de tungstène de 8 μm^2 (Figure 12).....	45
Figure 24 Schéma du montage, pour déterminer le TRMC. Gauche : montage pour déterminer le TRMC du préamplificateur, droite : montage pour déterminer le TRMC entre deux canaux soustraits numériquement	47
Figure 25 Taux de rejet du mode commun des préamplificateurs.	48
Figure 26 : Gauche : Potentiels mesurés aux bornes de résistances de 10 M Ω . Droite : Potentiels mesurés avec une électrode non isolée (A4) et une électrode FH-Co isolée de 10 M Ω (A11), plongées dans du liquide. Bas : spectre de puissance des deux électrodes de droite. *Les canaux débutant par fA sont filtrés de 300-2900 Hz. Les	

canaux débutant par A ne sont pas filtrés. Cette nomenclature est utilisée pour les graphiques subséquents.....	51
Figure 27 Potentiels détectés en fonction du seuil de détection.....	53
Figure 28 Activité neuronale enregistrée dans le ganglion stellaire gauche (A4) et droit (A12) après dénervation vagale. Marqueurs noirs sur les deux premiers signaux : portion du signal où des PED sont détectés avec un seuil de $\pm 6 \sigma_m$	55
Figure 29 Activité neuronale enregistrée dans le ganglion stellaire gauche. Même conditions que la Figure 28, mais après injection de 250 μg de nicotine intraveineuse.....	55
Figure 30 Artefacts produits pas les fibres musculaires lors d'un enregistrement effectué sur le ganglion stellaire droit. Flèches : artefacts musculaires. A13 et A14 sont les signaux bruts et fA13 et fA14 sont les signaux filtrés par un filtre passe-bande (300-2900.Hz).	56
Figure 31 Artefacts de mouvement sur une oreillette <i>ex-vivo</i> . Gauche : Mouvement lent. Centre : Mouvement rapide. Droite : agrandissement de la figure du centre. L'échelle de l'ordonnée (μV) est la même pour tous les graphiques.	57
Figure 32 Modulation des PED dans le PGAD. De haut en bas : a) Gris : artefacts de l'activation des oreillettes, noir : autres PED, b, c) d), signaux non filtrés et e) fréquence moyenne des PED noirs de la partie a) (sur une fenêtre glissante de 1 s)...	58
Figure 33 Artefacts observés à l'aide d'un autre appareil de mesure ^[50]	59
Figure 34 Relation entre l'activité neuronale et l'impédance des électrodes. L'impédance est donnée par la mesure du bruit (σ_m) tel que défini à l'Équation 9. Chaque série présente les résultats pour une série d'électrodes effectués simultanément dans un ganglion.....	61
Figure 35 Effet en contrôle de l' α -chloralose. Carré : injection d' α -chloralose. Légende : ECG / bpm : rythme cardiaque ventriculaire en battements par minute. fA5 et fA12 / Hz : Fréquence moyenne des PED sur une fenêtre glissante de 1 s, définie par le nombre de PED/1 s. Pression / mmHg : Pression fémorale. À moins d'indications contraires les termes bpm, Hz et mmHg représenteront les mêmes définitions dans les graphiques subséquents.....	67

- Figure 36 Modulation de l'activité neuronale du ganglion stellaire droit en contrôle.
Légende, de haut en bas : rythme cardiaque, activité neuronale dans le ganglion stellaire droit, pression fémorale..... 75
- Figure 37 Fonction de cohérence et spectre de puissance, mesurés pour l'intervalle R-R (période d'un cycle cardiaque), la pression maximale dans un cycle cardiaque et l'intervalle inter PED pour un chien. A) : Intervalle R-R - pression. B) : Intervalle R-R - intervalle PED, C) Pression - intervalle R-R. Les cercles indiquent les valeurs de cohérence maximale et les phases associées à ces maxima. D) Intervalle R-R - pression pour un autre chien où la cohérence ne montrait pas de maximum..... 76
- Figure 38 Relation entre les phases, le maximum des fréquences cardiaques et neuronales et le maximum de la pression systolique de la Figure 37 (graphiques A, B et C)..... 77
- Figure 39 Évolution de la phase entre le rythme cardiaque, la pression et l'activité neuronale après injection de α -chloralose. Haut : Évolution dans le temps. Fa5 : Activité neuronale dans le ganglion stellaire droit. Fa12 : Activité neuronale dans le ganglion stellaire gauche. Pression : pression mesurée dans l'artère fémorale. Carré, injection de α -chloralose. Bas : phase obtenue par co-spectre pour des fréquences de 0,04 Hz et 0,25 Hz (données extraites du Tableau VI)..... 79
- Figure 40. Modulation de l'activité neuronale des ganglions stellaires gauche et droit dans un cycle cardiaque (deux électrodes dans chaque ganglion) dans un enregistrement contrôle de 250 s (620 battements, 1590 PED). De haut en bas : ECG, pression fémorale (moyenne sur 610 battements cardiaques), histogramme de la probabilité (p_m) des PED en fonction de la position dans chaque battement cardiaque (voir texte, angle de référence, $\theta_{card}=0^\circ$:QRS cardiaque). La courbe continue est obtenue en appliquant l'équation 10 à l'histogramme..... 83
- Figure 41 Densité de probabilité (p_m) mesurée d'un PED selon la position dans le cycle respiratoire (10 intervalles, $\theta_{resp}=0^\circ$: maximum de pression fémorale) et selon la position dans le cycle cardiaque (10 intervalles, $\theta_{card}=0^\circ$: onde R). Expérience #24, 19443 PED mesurées pendant 1000 s sur 2325 battements cardiaques. Bas : Données extraites de la figure du haut. Gauche : données extraites pour des phases constantes

- de la respiration. Droite : données extraites pour des phases constantes du cycle cardiaque. 86
- Figure 42 Densité de probabilité mesurée d'un PED selon la position dans le cycle respiratoire (10 intervalles, $\theta_{resp}=0^\circ$: maximum de pression fémorale) et selon la position dans le cycle cardiaque (10 intervalles, $\theta_{card}=0^\circ$: onde R). Expérience #30, 17410 PED mesurées pendant 1000 s sur 2250 battements cardiaques. Bas : données extraites de la figure du haut. Gauche : données extraites pour des phases constantes de la respiration. Droite : données extraites pour des phases constantes du cycle cardiaque. 87
- Figure 43 Évolution de la pression fémorale. Haut : expérience #24, Figure 41. Bas : expérience #30, Figure 42 : 88
- Figure 44 Sigmoïde théorique utilisée pour modéliser la relation entre la norépinéphrine et le rythme cardiaque. 89
- Figure 45 Rythme cardiaque expérimental et valeur calculée à partir de l'activité neuronale (après dénervation vagale). Gauche : en contrôle. Droite : après ajout de 250 μg de nicotine. 90
- Figure 46 Activité neuronale après ajout de nicotine: Haut : Marqueur de maximum de pression artérielle causée par la respiration, WMK : activité neuronale totale en Hz de deux électrodes sur le ganglion stellaire gauche et deux électrodes sur le ganglion stellaire droit, ECG : rythme cardiaque en battements par minute, Press : pression fémorale. Carré : injection de 250 μg de nicotine. 91
- Figure 47 Synchronisme des enregistrements neuronaux. Légende : Gauche : activité neuronale après injection de nicotine (la fréquence des PED est mesurée sur une fenêtre glissante de 1 s). Droite : agrandissement de la figure de gauche (la fréquence des PED est mesurée sur une fenêtre glissante de 0.1 s). De haut en bas : Rythme cardiaque, activité neuronale sur deux électrodes du ganglion stellaire droit, pression fémorale. Carré : injection de 250 μg de nicotine. Les nerfs vagues sont intacts. 92
- Figure 48. Modulation de l'activité neuronale du ganglion stellaire gauche et droit dans un cycle cardiaque (deux électrodes dans chaque ganglion). Haut : ECG. Milieu : Pression fémorale. Bas : Histogramme de l'intervalle de temps entre l'onde R de

- l'ECG et les PED. Chaque intervalle représente la fréquence moyenne (en Hz) des PED dans un intervalle de 20 ms durant un battement cardiaque. Gauche : enregistrement contrôle de 250 s (620 battements, 2110 PED), Droite : Enregistrement de 10 s (13 battements, 2716 PED) après injection de 250 µg de nicotine intraveineuse. 94
- Figure 49 Effet de l'injection de phényléphrine intraveineuse. Légende de haut en bas: rythme sinusal, activité neuronale (stellaire gauche et droit), pression fémorale. Carré, injection de 250 µg de phényléphrine. 95
- Figure 50 Effet de l'injection de dobutamine intraveineuse. Légende de haut en bas : rythme cardiaque, temps de conduction AV (entre l'onde P et l'onde R sur l'ECG), activité neuronale (stellaire gauche et droit), pression fémorale. Carré, injection de 100 µg de dobutamine. 96
- Figure 51 Effet de l'injection d'épinéphrine en contrôle. Légende de haut en bas : rythme cardiaque, activité neuronale (stellaire droit), pression fémorale. Carré : Injection de 100 µg d'épinéphrine 97
- Figure 52 Effet de l'occlusion et de la désocclusion des carotides. Légende de haut en bas : rythme cardiaque, temps de conduction AV, activité neuronale (stellaire droit), pression fémorale. Premier carré : occlusion, deuxième carré : désocclusion..... 98
- Figure 53 Effet de la stimulation des vagues. Carré : stimulation du nerf vague droit (1,5 mA pendant 1 ms, 10 stimulations/s pendant 30s)..... 99
- Figure 54 Taux de cohérence et spectre de puissance mesurés entre la pression et l'intervalle des PED. Gauche : avant dénervation vagale (expérience#14). Droite : après dénervation vagale (expérience #15). Cercle : valeur de cohérence maximale et phase associée. 100
- Figure 55 Taux de cohérence et spectre de puissance mesurés entre la pression et le rythme cardiaque après dénervation du vague (expérience #18). Cercle : valeur de cohérence maximale et phase associée..... 100
- Figure 56 Activité neuronale après ajout de nicotine. Gauche: en contrôle. Droite : après dénervation vagale. De haut en bas : Marqueur de maximum de pression artérielle causé par la respiration, Activité neuronale mesurée sur deux électrodes sur le

- ganglion stellaire gauche et deux électrodes sur le ganglion stellaire droit, rythme cardiaque, pression fémorale. Carré : injection de 250 µg de nicotine..... 102
- Figure 57 Effet de l'injection d'épinéphrine. Gauche : en contrôle. Droite : après dénervation vagale. Droite, haut : signal non filtré d'une électrode. Carré : Injection de 100 µg d'épinéphrine. 103
- Figure 58 Effet de l'occlusion et de la désocclusion des carotides. Gauche : en contrôle, Centre : après dénervation vagale. Droite : Agrandissement de la figure du centre où deux battements manqués produisent une forte activité sympathique 104
- Figure 59 Effet de la stimulation des vagues. Gauche, avant dénervation vagale. Droite : après dénervation vagale, premier carré : stimulation du nerf vague droit caudal, deuxième carré : stimulation du nerf vague droit crânial..... 105
- Figure 60 Effet de la α -chloralose et de l'épidurale. WMK : Activité neuronale mesurée sur 2 électrodes du ganglion stellaire gauche après la dénervation vagale. AV : temps de conduction auriculo ventriculaire. Premier carré : injection de α -chloralose. Deuxième carré : épidurale..... 106
- Figure 61 Effet de l'occlusion des carotides. Gauche : en contrôle. Droite après épidurale. Premier carré : occlusion des carotides. Deuxième carré : dé-occlusion des carotides 108
- Figure 62 Effet de la stimulation des nerfs vagues. Gauche : carré : stimulation du nerf vague caudal (après dénervation vagale). Droit : Carré : stimulation du nerf vague droit caudal après dénervation vagale et épidurale 109
- Figure 63 Activité neuronale enregistrée par deux électrodes dans le GCM. Enregistrement après dénervation vagale. Bas : Pression systolique maximale d'un battement cardiaque 111
- Figure 64 Dialogue inter électrode. Gauche : Histogramme de l'intervalle de temps entre l'onde R et les PED. Droite : Histogramme de l'intervalle de temps des potentiels d'action extracellulaires de deux électrodes placées sur le ganglion stellaire droit... 112

Liste des abréviations

AV	: Auriculo-ventriculaire
ECG	: Électrocardiogramme
BPM	: Battements par minute
CAD	: Convertisseur analogue digital (tout le boîtier Biosemi)
DC	: Courant continu, (direct current)
ECG	: Électrocardiogramme
IV	: Injection intraveineuse dans la veine fémorale
HF	: Oscillation haute fréquence (0,15-0,5 Hz)
HRP	: peroxydase de raifort, Horseradish peroxidase
LF	: Oscillation basse fréquence, (0,04-0,14 Hz)
GCM	: Ganglion cervical moyen (mid cervical ganglion)
Onde P	: Activation des oreillettes, détectée sur l'ECG
Onde R	: Activation des ventricules, détectée sur l'ECG
PE	: Potentiel extracellulaire
PED	: Potentiel extracellulaire détecté par un neurone ou un faux positif produit par un artefact d'enregistrement
PGAD	: Plexus neuronal auriculaire droit (Right atrial ganglionated plexus)
RC	: Rythme cardiaque (battements par minute)
R-R	: Intervalle entre deux ondes R
SNA	: Système nerveux autonome
SNC	: Système nerveux central
SNCI	: Système nerveux cardiaque intrinsèque
TRMC	: Taux de rejet du mode commun (CMRR)
VLF	: Oscillation très basses fréquences (0-0,04 Hz)

*À tous ceux qui ont donné leur vie pour
l'avancement de la science*

*If one wishes to obtain a definite answer from
Nature one must attack the question from a
more general and less selfish point of view*

Max Karl Ernst Ludwig Planck

Remerciements

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à plusieurs personnes qui ont été présentes tout au long de ma maîtrise : John Andrew Armour pour son désir d'approfondir le contrôle cardiaque et son éternel optimisme, Michel Vermeulen pour ses conseils dans l'enregistrement et le traitement de l'activité neuronale, Denis Guérette pour la fabrication du module de raccordement et Caroline Bouchard pour ses doigts de fée lors de la préparation des expériences et du positionnement des électrodes.

Je tiens à remercier mon directeur et mon Co-directeur, Alain Vinet et Robert Guardo, pour leur disponibilité et leur aide tout au long de ma maîtrise et pour tout le temps qu'ils ont passé pour donner à ce mémoire sa forme actuelle.

Je remercie Anick Sirard pour les corrections de français et pour avoir lu en entier « Les rebondissements dans la vie d'un neurone ».

Merci à la fondation J-A DeSève, à la fondation des études supérieures (programme de génie biomédical) et au groupe de recherche en sciences et technologies biomédicales pour leur support financier fort apprécié.

J'adresse mes derniers remerciements à tous mes collègues, parents et amis qui m'ont encouragé et ont continué de me côtoyer dans les moments difficiles.

Chapitre 1 Introduction

1.1 Output cardiaque

Le système nerveux autonome est responsable de la majorité du contrôle du débit sanguin dans l'organisme par ses effets sur les systèmes vasculaires périphériques et cardiaques. La vasoconstriction des artérioles augmente la résistance périphérique, ce qui a pour effet d'accroître la pression artérielle et de réduire le volume de sang éjecté lors d'une contraction cardiaque. La vasoconstriction, du point de vue veineux, réduit le volume de sang emmagasiné dans les veines produisant ainsi une augmentation du retour veineux au cœur. L'accroissement du retour veineux est un des facteurs pouvant mener à une augmentation du débit cardiaque.

Le débit cardiaque est donné par le produit du rythme cardiaque et du volume sanguin éjecté lors d'une contraction. En régime régulier, le rythme cardiaque est contrôlé par le nœud sinusal. Une augmentation de la fréquence d'auto-excitation des cellules du nœud sinusal augmente le débit sanguin. Une augmentation du volume éjecté à chaque contraction produit le même résultat. Le volume éjecté sera contrôlé par la force de contraction du ventricule et par le volume du ventricule avant la contraction.

Ces différents mécanismes sont contrôlés : 1) de façon mécanique dans le cœur, 2) par le système nerveux autonome agissant sur le cœur, 3) par le système nerveux agissant sur le système périphérique, 4) à plus long terme, par une régulation hormonale et 5) par des voies de signalisation liées au métabolisme local.

Tous ces mécanismes de contrôle fonctionnent simultanément et selon des échelles de temps différentes. Une compréhension préalable des différents mécanismes est nécessaire avant de pouvoir étudier une boucle de contrôle spécifique.

1.2 Contrôle local

Avant le début de la contraction, le cœur se remplit de sang grâce au retour veineux de tout l'organisme. Un plus grand retour veineux augmente le volume des ventricules et étire les fibres musculaires du myocarde. Celles-ci se retrouvent dans un état d'interdigitation optimal produisant une contraction plus puissante. Ce contrôle entièrement mécanique permet d'expulser le surplus de sang présent au début de la contraction et est connu sous le nom de « mécanisme de Frank-Starling ».

Un plus grand retour veineux produit aussi une augmentation du rythme cardiaque par un mécanisme connu sous le nom de « réflexe de Bainbridge ». Une augmentation du retour veineux allonge des récepteurs sensibles à l'étirement situés sur les oreillettes. Ceux-ci produisent un signal neuronal afférent qui remonte vers le système nerveux central (SNC) par le nerf vague. Les deux branches du système nerveux autonome agissent ensuite sur le nœud sinusal afin d'augmenter le rythme cardiaque^[1]. Des expériences menées sur des cœurs de lapin isolés montrent qu'un accroissement du volume des oreillettes augmente le rythme cardiaque même s'il n'y a plus de boucle de contrôle avec le SNC^[2]. Les stimulations mécaniques peuvent aussi modifier la fréquence d'auto-excitation des cellules du nœud sinusal isolées (ne contenant pas de cellules nerveuses). Ce mécanisme de contrôle peut s'expliquer par la présence de canaux ioniques activés mécaniquement dans le nœud sinusal^[3].

1.3 Contrôle nerveux

Outre le contrôle mécanique, la majeure partie du contrôle cardiaque se fait grâce au système nerveux. C'est la partie contrôlant les fonctions viscérales (contrôle inconscient) appelée système nerveux autonome (SNA) qui régularise le système cardiovasculaire. Le SNA est activé principalement par les centres de contrôle situés dans le bulbe rachidien, l'hypothalamus et la moelle épinière.

1.3.1 Physiologie

Le SNA contrôle le débit sanguin et la pression par un équilibre entre le taux d'activité sympathique et parasympathique, appelé équilibre sympatho-vagal.

Le système parasympathique agit comme un frein sur le système cardiaque. Les effets principaux produits sont une bradycardie et une diminution de la force de contraction. L'action rapide du système parasympathique est principalement causée par la voie de signalisation stimulée par un neurotransmetteur (l'acétylcholine). Cette voie de signalisation agit directement sur le canal ionique potassique produisant une inhibition presque instantanée des cellules du nœud sinusal et des cellules cardiaques, donc du rythme cardiaque.

À l'opposé, le système sympathique agit comme un accélérateur sur le système cardiaque. Les stimulations sympathiques produisent une augmentation de la contractilité, du rythme cardiaque et de la pré-charge grâce à une augmentation du retour veineux. Le système sympathique produit aussi une vasoconstriction artérielle, ce qui a pour effet d'augmenter la pression.

Tableau I Effet du système sympathique et parasympathique sur le contrôle cardiaque

	Système sympathique	Système parasympathique
Rythme cardiaque	↑	↓
Force de contraction	↑	↓
Temps de conduction AV	↓	↑
Pression artérielle	↑	↓
Retour veineux	↑	-

1.3.2 Anatomie

1.3.2.1 Système parasympathique

À partir du bulbe rachidien, l'innervation parasympathique passe par les deux nerfs crâniens X (nerfs vagues, Figure 1). Les nerfs vagues passent près des carotides sans interaction avec des ganglions et synapser directement avec les neurones post-synaptiques sur les ganglions cardiaques^[1] (Figure 2). Ces ganglions sont répartis sur l'ensemble du cœur mais se retrouvent principalement à proximité du nœud sinusal et du nœud AV^[1; 4]. Du point de vue anatomique, le nerf vague gauche innerve principalement le nœud sinusal pour réduire le rythme cardiaque tandis que le nerf vague droit innerve le nœud AV et ralentit le rythme de conduction. Toutefois, il existe beaucoup de chevauchement entre l'innervation des deux nerfs vagues. Le principal neurotransmetteur libéré lors de l'activation parasympathique est l'acétylcholine. Celui-ci augmente la perméabilité au potassium des cellules cardiaques, ce qui produit une hyperpolarisation des cellules et une diminution de la fréquence cardiaque. Une voie de signalisation plus lente, impliquant l'inhibition de l'AMP-cyclique, diminue le courant calcique lent et contribue aussi à la bradycardie. Puisque ce neurotransmetteur est rapidement hydrolysé, l'effet sera rapide et éphémère. Du point de vue périphérique, le système parasympathique a tendance à réduire la résistance périphérique, mais cet effet est peu marqué puisque l'innervation est principalement concentrée dans les viscères.

VOIR AUSSI LES PLANCHES 120, 160

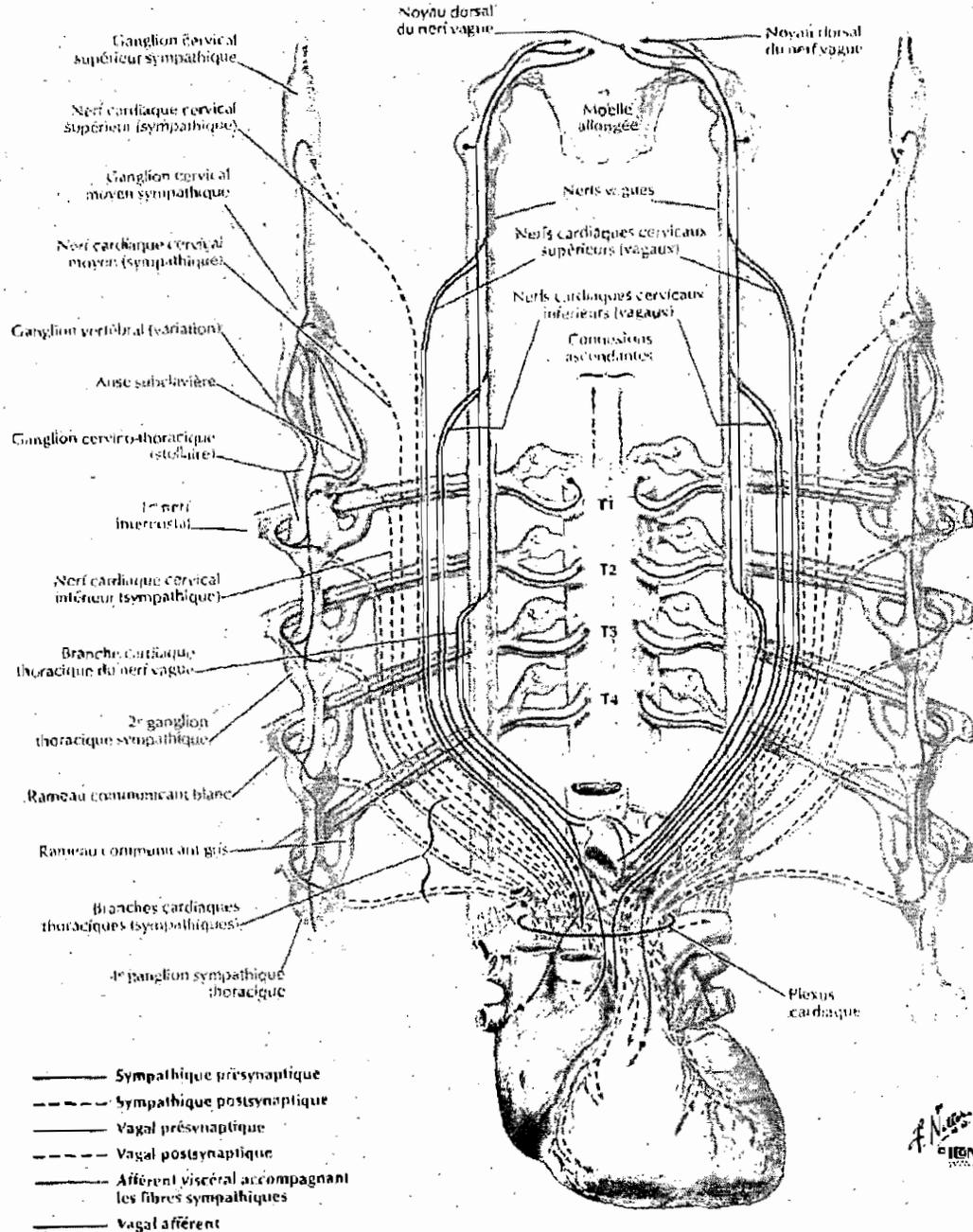


Figure 1 Schéma de l'innervation cardiaque par les voies sympathiques et parasympathiques. Source : Netter, planche 223

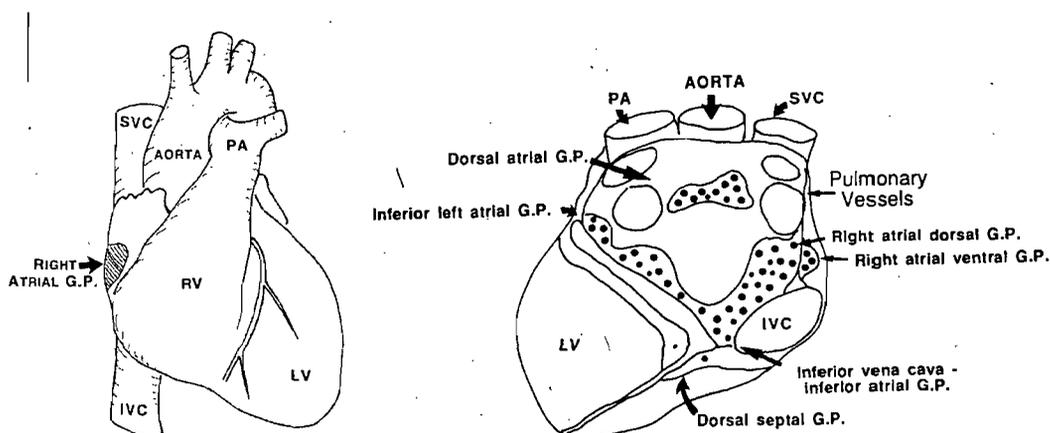


Figure 2 Localisation des principaux ganglions du système nerveux cardiaque intrinsèque^[4]

1.3.2.2 Système sympathique

À partir du bulbe rachidien, l'innervation sympathique contrôlant le cœur passe dans la colonne vertébrale et synapse dans la moelle épinière dans les deux derniers segments cervicaux et les 6 premiers segments thoraciques (Figure 1). Ces nerfs remontent vers le ganglion stellaire situé près de la colonne et de la première côte et passent ensuite dans les deux branches de la *ansa subclavia* pour rejoindre les ganglions caudaux cervicaux se trouvant à proximité du nerf vague (Figure 3). Les nerfs sympathiques se joignent alors à l'innervation parasympathique dans le système nerveux cardiaque intrinsèque. La partie droite du système sympathique a un effet prépondérant sur le rythme cardiaque tandis que la partie gauche a un effet prépondérant sur la force de contraction. Les principaux neurotransmetteurs du système sympathique sont l'épinéphrine et la norépinéphrine qui, pour contrôler le cœur, agissent suivant une cascade de signalisation ayant pour effet une augmentation des courants calciques membranaires et de la recapture du calcium dans les réticulums sarcoplasmiques. Différents récepteurs sont sensibles à l'action de la norépinéphrine, et sont appelés α_1 , α_2 , β_1 et β_2 selon les agonistes qui peuvent moduler ces récepteurs. La plus grande partie de la norépinéphrine est réabsorbée par les terminaisons nerveuses et le reste est emporté par le sang, ce qui donne un effet plus prolongé à l'action du système sympathique. Puisque l'effet est contrôlé par une cascade de signalisation impliquant des protéines G, il est aussi plus graduel que l'effet parasympathique^[5; 6].

Dans les deux cas, systèmes sympathique et parasympathique, d'autres sites du cerveau peuvent être impliqués dans le contrôle du rythme cardiaque, mais ne seront pas présentés ici.

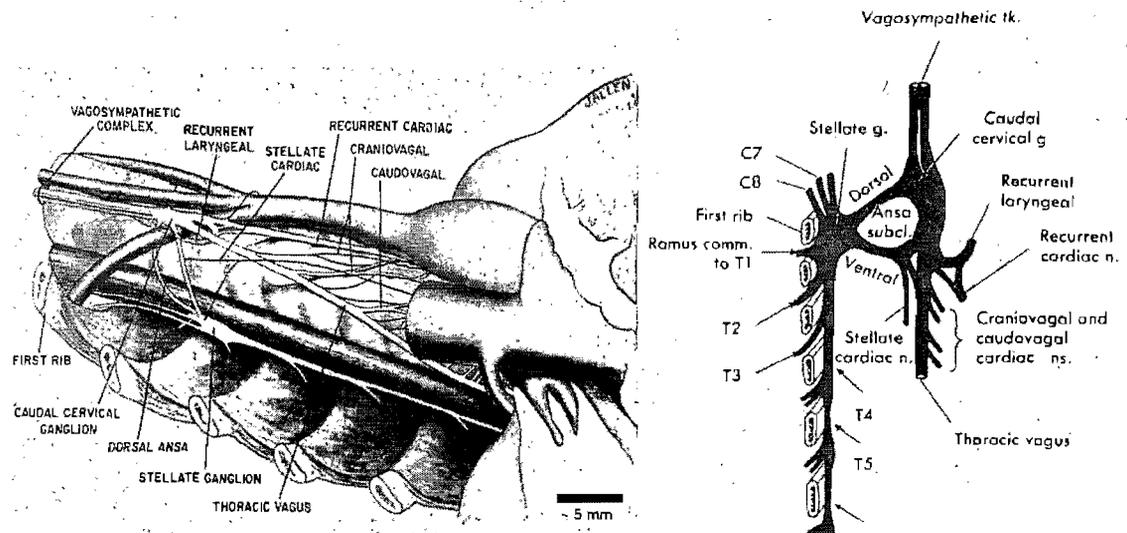


Figure 3 Innervation du ganglion stellaire et du GCM. Gauche :^[17], Droite: (GCM : ici appelé « caudal cervical ganglion »)^{[8]p 147}

1.3.2.3 Ganglions stellaires

Malgré les petites dimensions des ganglions stellaires, des études au HRP ont montré que l'injection d'HRP dans les nerfs, entre le cœur et le ganglion stellaire, colore seulement la région du ganglion à proximité de ces nerfs^[9; 10]. L'hétérogénéité des ganglions devrait donc donner des réponses neuronales différentes selon la position des électrodes.

1.3.2.4 Afférences

Le SNA a une grande quantité de barorécepteurs, de mécanorécepteurs et de chémorécepteurs dispersés dans le cœur et dans tout l'organisme. Ces neurones afférents remontent vers le système nerveux central par diverses voies, dont les nerfs sympathiques et parasympathiques, qui possèdent à la fois des nerfs afférents et efférents.

Les barorécepteurs qui sont responsables du baroréflexe jouent un rôle important dans le contrôle cardiaque. Ceux-ci se trouvent principalement sur les artères carotidiennes et de l'aorte (dont le signal afférent passe à travers les nerfs vagues).

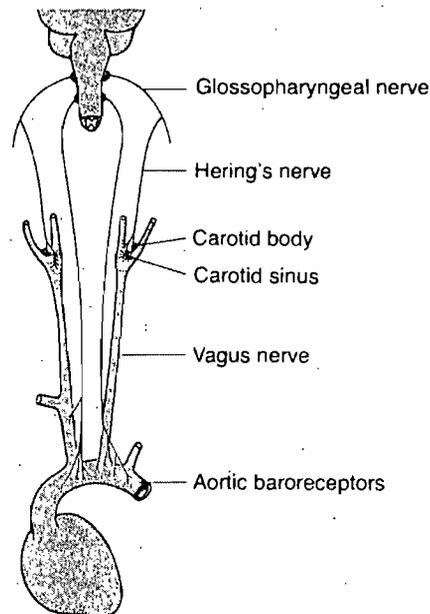


Figure 4 Innervation des barorécepteurs aortiques et carotidiens^{[11] p677}

1.3.3 Boucles de contrôle

L'action du SNA sur les composantes cardiovasculaires est visible dans les différentes boucles de contrôle présentes dans l'organisme. Le baroréflexe permet de contrôler la pression artérielle. Une augmentation de la pression étire les barorécepteurs artériels. Le signal remonte vers le bulbe rachidien et produit une inhibition du système sympathique et une activation du système parasympathique. Cela produit une diminution du rythme cardiaque, une vasodilatation périphérique et rétablit une pression adéquate. Cette boucle réflexe agit rapidement, permettant d'ajuster la pression en quelques secondes pour s'adapter aux changements brusques de position par exemple.

Les différentes boucles de contrôle agissent en permanence et selon différentes constantes de temps. Ainsi, l'inspiration provoque un étirement des mécanorécepteurs pulmonaires qui inhibent l'action des nerfs vagues, ce qui augmente le rythme cardiaque.

L'inspiration diminue aussi la pression thoracique, ce qui augmente le retour veineux dans l'oreillette droite et tend à augmenter le rythme cardiaque par le réflexe de Bainbridge. Il s'en suit un accroissement de la pression artérielle et une diminution du rythme cardiaque. Comme le montre la Figure 5, l'effet global est une oscillation du rythme cardiaque où le rythme cardiaque augmente lors de l'inspiration. Cette oscillation est le résultat de plusieurs boucles de contrôle agissant selon des dynamiques différentes. Une oscillation de période égale à environ 10 s (plus, si sous anesthésie^[11]) est aussi présente dans le tonus nerveux, le rythme cardiaque et la pression. Elle est appelée « onde de Mayer » en l'honneur de son découvreur. Une explication possible de ces ondes repose sur une oscillation des mécanismes de contrôle de la pression causée par des temps d'activation différents. Toutefois, il demeure une certaine confusion sur le sujet^[12].

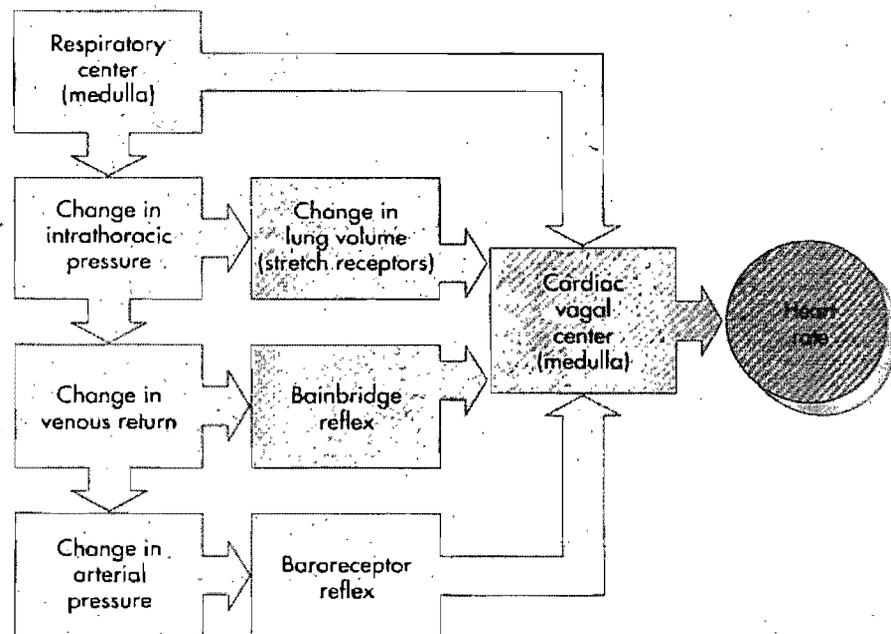


Figure 5 Différentes boucles de contrôle pouvant induire des oscillations du rythme cardiaque^{[11] p92}

1.4 Analyse spectrale

En 1981 Akselrod et al^[13] introduisent le concept d'une analyse des fluctuations du rythme cardiaque (intervalle R-R) comme technique de mesure quantitative des systèmes de commande cardiovasculaires. Puisque le rythme cardiaque oscille à différentes fréquences, une analyse du spectre de puissance du rythme cardiaque permet de déceler les effets des systèmes sympathique et parasympathique. Chez l'homme, les fluctuations du rythme cardiaque sont séparées en trois bandes de fréquences distinctes. Les très basses fréquences (VLF, 0-0,04 Hz) proviennent des mécanismes de régulation à long terme comme la thermorégulation. Les basses fréquences (LF, 0,04-0,14 Hz) proviennent d'une modulation de l'activité sympathique ou un mélange de l'activité sympathique et parasympathique au niveau cardiaque^[14]. Cette plage de fréquence est associée aux ondes de Mayer^[15]. Les hautes fréquences (HF, 0,15-0,5 Hz) sont liées principalement à la respiration et à l'influence des nerfs vagues sur le nœud sinusal^[16; 17].

1.5 Contrôle nerveux local

Le résultat du contrôle cardiaque décrit dans la dernière section est représenté par l'hypothèse de la balance sympatho-vagale. L'activation de la branche sympathique ou parasympathique est accompagnée par une inhibition de sa contrepartie. Une partie de cette interaction est produite par les terminaisons nerveuses sur le muscle cardiaque.

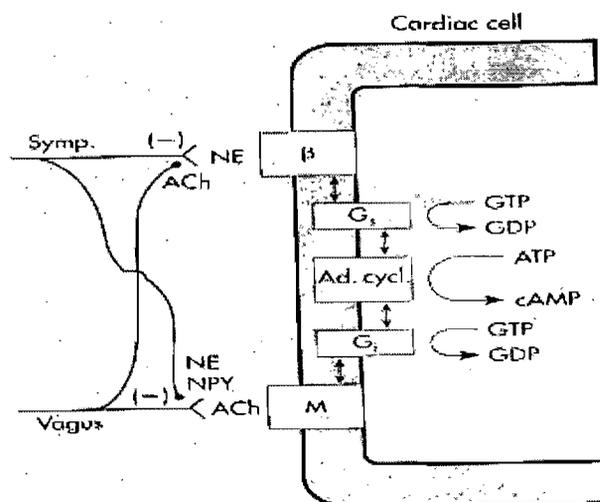


Figure 6 Interaction inter neuronale et intracellulaire entre les systèmes sympathique et parasympathique impliqués dans le contrôle cardiaque^[18]

La relation entre les deux systèmes est aussi contrôlée de façon centrale, en grande partie sous l'influence des barorécepteurs artériels. Dans cette vision classique, les synapses localisées dans les ganglions intra thoraciques et cardiaques intrinsèques servent seulement de relais entre le SNC et la sécrétion de neurotransmetteurs sur le cœur. La seule interaction entre les deux systèmes se produit sur le cœur^[19].

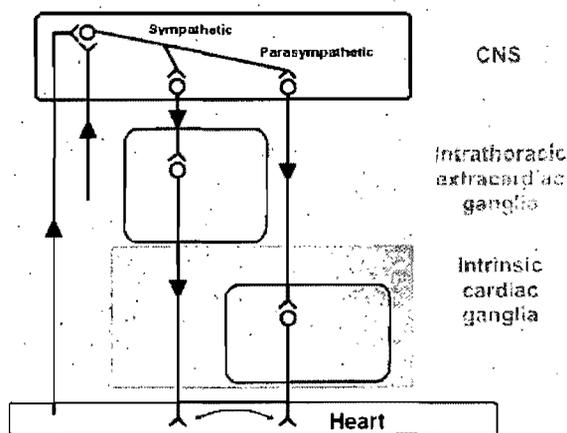


Figure 7 Vision classique du contrôle nerveux cardiaque

Plusieurs études suggèrent cependant que le contrôle nerveux cardiaque soit plutôt le résultat d'interactions entre plusieurs niveaux hiérarchiques allant des cellules nerveuses

du cortex cérébral jusqu'aux neurones du système nerveux cardiaque intrinsèque (SNCI)^[20]. Diverses boucles réflexes seraient produites grâce à l'intégration d'information à différents niveaux : le bulbe rachidien, la moelle épinière, les ganglions intra thoraciques et les ganglions cardiaques intrinsèques^[10; 21].

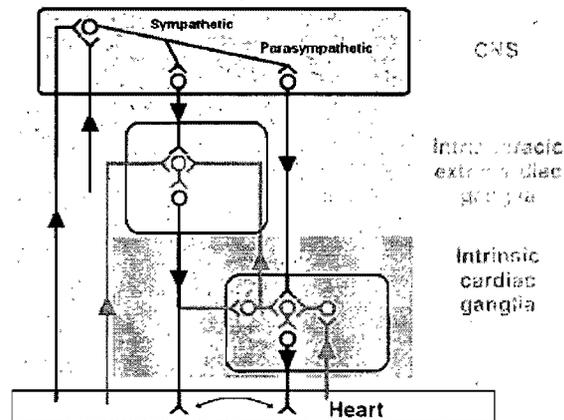


Figure 8 Vision hiérarchique du contrôle nerveux cardiaque

Les différentes boucles de contrôle se situeraient à plusieurs endroits (ganglions ou amas neuronaux) dans le réseau neuronal cardiaque. Dans chacun des ganglions, la vision classique, où les synapses entre les cellules nerveuses pré et post synaptiques n'ont qu'une fonction de relais de l'information, est remplacée par une fonction d'intégration de l'information occasionnée par l'interaction entre les cellules nerveuses afférentes, efférentes et les interneurons.

1.5.1 Afférents

Dans le thorax, on observe anatomiquement des neurones afférents dont les somas se trouvent à l'intérieur des ganglions, qu'ils soient thoraciques ou cardiaques^[10; 22]. Du point de vue physiologique, des stimuli mécaniques et électriques appliqués sur le thorax et le cœur provoquent une réponse neuronale dans les ganglions thoraciques. Dabrowski et al^[23] ont coupé l'innervation entre le SNC et le ganglion cervical moyen (GCM) pour éliminer tous les nerfs dont le corps cellulaire se situe dans le SNC. Plusieurs jours après l'opération, les neurones du GCM continuaient de répondre aux stimulations mécaniques.

Le même type de comportement a été observé sur des ganglions du système nerveux cardiaque intrinsèque^[24]. Ces résultats montrent que l'information peut atteindre le thorax sans passer à travers le SNC.

1.5.2 Interneurones

Dans les ganglions intracardiaques, la vision classique suppose que ces derniers contiennent seulement des neurones parasympathiques post ganglionnaires. Toutefois, des études ont montré la présence d'interneurones (« local circuit neurons ») dans ces ganglions^[25; 26]. Ces auteurs ont proposé que l'activité de ces neurones produirait certaines modifications locales du substrat cardiaque^[4].

1.5.3 Causes de la vision alternative

Le système nerveux cardiaque et les ganglions thoraciques comportent une quantité appréciable (centaines de milliers) de neurones afférents et d'interneurones. L'information afférente n'a donc pas à passer en totalité par le SNC, mais pourrait aussi être traitée localement dans chacun des ganglions ou par une interaction entre les divers ganglions:

Dans des expériences sur des cœurs dénervés centralement, le contrôle local du cœur permet de multiplier le débit cardiaque d'un facteur 4 chez le chien^[1]. Ce changement de débit peut être expliqué par les réflexes Frank-Starling ou de Bainbridge mais aussi par une modulation de l'activité neuronale. Plusieurs mois après une transplantation cardiaque, on observe une augmentation de la variabilité du rythme cardiaque^[27]. Cette dernière est explicable par une ré innervation du cœur ou bien par une modification du réseau des ganglions cardiaques.

Le contrôle local cardiaque, même s'il n'est pas le mécanisme de contrôle principal de la fonction cardiaque, peut avoir une grande importance. Certains problèmes cardiaques, tels les fibrillations auriculaires, peuvent être éliminés en détruisant certains ganglions cardiaques qui produisent une bradycardie lorsque stimulés électriquement^[28]. Une meilleure compréhension des différents mécanismes de contrôle (locaux et du SNA) ainsi

que de leur importance relative dans des modèles de cœurs sains ou malades permettrait d'étudier les causes neuronales de certaines pathologies et pourrait ouvrir la voie à des traitements thérapeutiques. La présence de plusieurs boucles de contrôle simultanées, qui peuvent difficilement être étudiées indépendamment, exige que l'on mesure plusieurs signaux neuronaux simultanément et sous différentes conditions pour déterminer l'interaction entre les différents répertoires neuronaux.

Pour étudier les boucles de contrôle cardiaques, nous avons étudié l'activité des neurones cardiaques. Nous allons maintenant décrire brièvement la formation des potentiels d'action par les cellules nerveuses ainsi que différentes techniques disponibles pour enregistrer ces potentiels.

Chapitre 2 Enregistrement neuronal

Au repos, les pompes et les échangeurs ioniques de la membrane maintiennent les gradients de concentrations ioniques entre le milieu intra et le milieu extracellulaire (intracellulaire : 14 mmol de Na^+ , 140 mmol de K^+ . Extracellulaire : 142 mmol de Na^+ , 4 mmol de K^+). Cette différence de concentration et le fait que la membrane au repos n'a pas la même conductivité pour différents ions produisent, dans une cellule nerveuse, un potentiel au repos d'environ -65 mV.

L'activité neuronale est produite par une dépolarisation de la membrane de la cellule nerveuse. Une excitation (électrique ou chimique) augmente le potentiel de la membrane (Figure 10). Passé un certain seuil (~ 45 mV), la conductance des canaux Na^+ augmente pour laisser entrer le sodium dans la cellule et augmenter le potentiel jusqu'à 20 mV. Plus tard, l'augmentation de la conductance des canaux potassiques permet au potassium de sortir de la cellule et conjointement à la fermeture des canaux sodiques, de rétablir le potentiel près de la valeur initiale. Cette suite d'évènements se produit sur une période d'environ 2 ms.

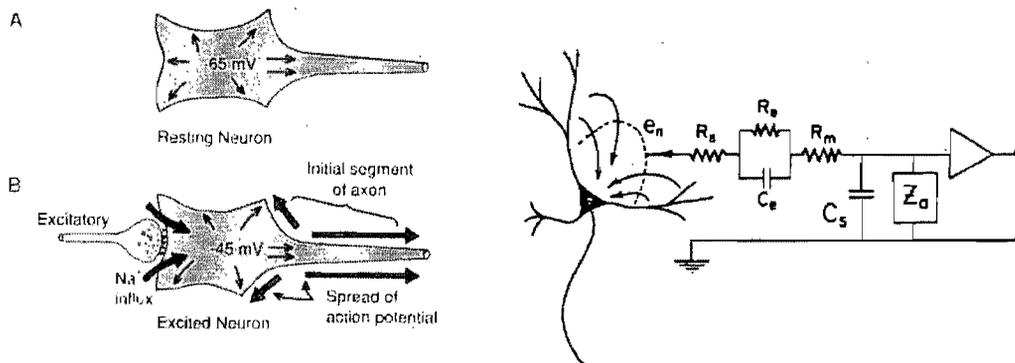


Figure 9 Gauche : Potentiel d'action intracellulaire^{[111] p489}. Droite : Courants formant un potentiel d'action extracellulaire^[29]

Cette activité neuronale peut être enregistrée par des techniques mises au point dans les années 1950^[30]. Des microélectrodes de verre permettent d'atteindre le centre d'un neurone pour mesurer la différence de potentiel entre l'intérieur de la cellule et une

électrode de référence placée dans un milieu salin entourant la préparation. Le signal obtenu est un potentiel DC d'amplitude relativement élevée (une centaine de mV). Le potentiel d'action peut être enregistré avec un assez bon rapport signal sur bruit. Toutefois, cette technique impose des conditions d'enregistrement non physiologiques (sur des tranches de tissus ou des neurones isolés)^[31] et devient très complexe à mettre en œuvre si l'on désire faire des enregistrements avec plusieurs microélectrodes.

L'enregistrement extracellulaire est effectué à l'aide de microélectrodes placées dans l'espace extracellulaire des neurones. Le potentiel d'action est initié par un changement de conductance des canaux Na^+ dans la région péri somatique (soma et segment initial de l'axone, voir Figure 9 droite)^[31]. Une fois le potentiel d'action initié, les changements de conductance de la membrane produisent des changements de courant à travers la membrane cellulaire qui se propagent de la région péri somatique jusque dans les axones. Les courants transmembranaires sont évidemment accompagnés de courants dans le milieu résistif extracellulaire. Ce sont les différences de potentiel produites par ces courants extracellulaires qui sont mesurées par les électrodes extracellulaires. Tandis que la variation de voltage intracellulaire associée à un potentiel d'action est de l'ordre de 50 mV, l'amplitude du signal enregistré par des électrodes placées dans le milieu extracellulaire sera environ 500 fois plus petite. Un modèle simple des potentiels extracellulaires propose que le potentiel mesuré soit proportionnel à la dérivée par rapport au temps du voltage intracellulaire. Ce modèle semble valable pour l'initiation du potentiel d'action, mais diverge par la suite (Figure 10)^[31].

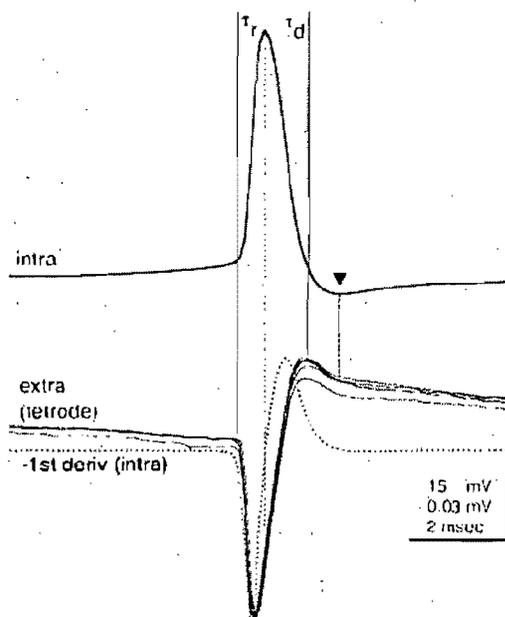


Figure 10- Enregistrement d'un potentiel d'action sur une cellule pyramidale de l'hippocampe (les courbes sont obtenues en effectuant la moyenne de 849 potentiels d'action) . Haut : Potentiel intracellulaire. Bas : potentiel extracellulaire et dérivée du potentiel intracellulaire^[31]

2.1 Interaction électrode-électrolyte

Lorsqu'une électrode métallique entre en contact avec un électrolyte, il se produit un déplacement de charges (de dimension ionique) à l'interface. Les ions métalliques de l'électrode tentent d'entrer en solution, et les ions de l'électrolyte tentent de se combiner avec l'électrode métallique. À la longue, un équilibre se forme, il en résulte un équilibre de charges à l'interface électrode-électrolyte, ce qu'on appelle une double couche électronique (Figure 11 A).

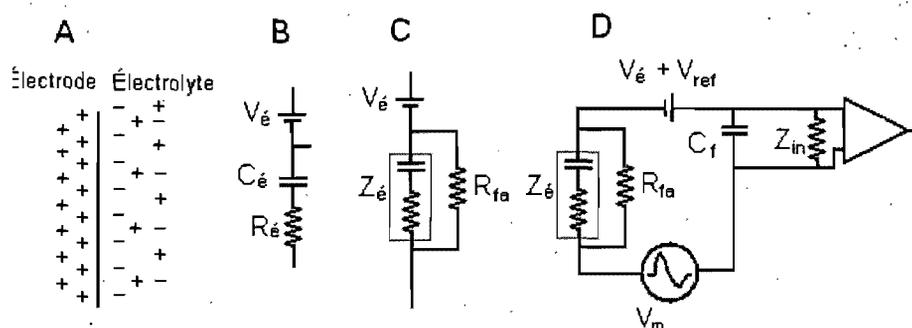


Figure 11 Interface électrode-électrolyte^[32]. A) Modèle de la double couche électronique B) Circuit simple, C) circuit incluant le courant de Faraday D) Circuit d'enregistrement complet d'un potentiel membranaire

On retrouve une étude détaillée des différents phénomènes en jeu dans plusieurs livres de référence^[32-34]. Nous n'en présentons ici qu'un bref résumé.

L'interface électrode-électrolyte peut être modélisée par une résistance (R_e), une capacitance (C_e) et le potentiel de l'électrode (V_e) (Figure 11 B). Les parties résistive et capacitive sont présentées comme deux composantes en série (modèle de Warburg). L'impédance de ces deux parties est donnée par :

$$Z_e = R + iX = R_e + \frac{1}{i2\pi \cdot f \cdot C_e}$$

Des tests ont montré que, sur une large gamme de fréquences (30 à 10000 Hz), la résistance (R) et la réactance (X) sont pratiquement les mêmes :

$$R_e \approx \frac{1}{2\pi \cdot f \cdot C_e}$$

Le module de l'impédance de l'interface électrode-électrolyte est donc donnée par :

$$|Z|_e (\Omega) \approx \frac{\sqrt{2}}{2\pi \cdot f \cdot C_e}$$

(Équation 1)

Des mesures expérimentales^[33] ont montré que la capacitance de l'interface électrode-électrolyte prend la forme :

$$C_e(f) = \frac{K}{f^\alpha} \quad (\text{Équation 2})$$

où K est la capacitance par unité de surface qui dépend du type de métal utilisé, f est la fréquence et α gouverne le taux de décroissance de la capacitance par rapport à la fréquence.

En combinant les équations 1 et 2, on obtient le module de l'impédance pour une électrode de surface « a », en contact avec l'électrolyte :

$$|Z|(\Omega) \approx \frac{\sqrt{2}}{2\pi \cdot f^{1-\alpha} \cdot K \cdot a} \quad (\text{Équation 3})$$

Un choix approprié de matériau pour l'électrode permettra de modifier le taux de décroissance et la capacitance par unité de surface. Pour un matériau donné, on pourra diminuer l'impédance et augmenter la surface de l'électrode (soit en augmentant la surface effective, soit en augmentant la rugosité de la surface). L'équation précédente est en accord avec des mesures d'impédance obtenues expérimentalement (Figure 12).

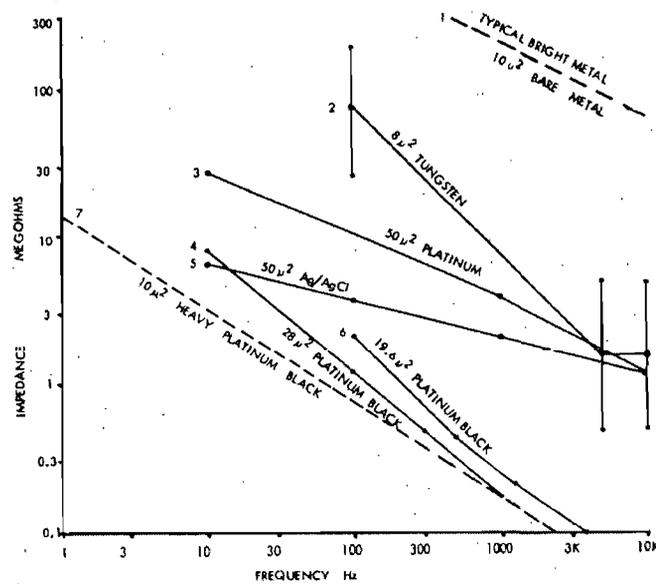


Figure 12 Impédance de plusieurs microélectrodes^[32]

2.1.1 Circuit d'enregistrement équivalent

Le circuit de la Figure 11B est valable pour un courant AC. Comme il est possible de faire passer un courant continu à travers l'interface électrode-électrolyte, on ajoute au modèle une résistance R_{fa} , correspondant au courant de fuite de Faraday. Le circuit équivalent de l'interface électrode-électrolyte est présenté à la Figure 11C.

Le circuit d'enregistrement (Figure 11D) est constitué d'un amplificateur, d'une électrode d'exploration et d'une électrode de référence en contact avec le tissu. Comme l'électrode de référence a une résistance et une réactance beaucoup plus faibles que l'électrode d'enregistrement, (en raison, principalement, de sa surface beaucoup plus grande) elle est simplement modélisée par une source de tension (V_{ref}).

C_f représente la capacité parasite des fils d'interconnexion alors que Z_{in} représente l'impédance d'entrée de l'amplificateur.

Le potentiel V_e est habituellement considéré comme constant. Toutefois, il a été démontré que la contamination des électrodes par divers métaux peut faire varier ce

potentiel^[35]. Chacun des matériaux de l'électrode voulant atteindre un potentiel d'électrode différent par rapport à l'électrolyte, il se produit un mouvement net de charges à l'interface. Ce mouvement de charges modifie l'équilibre de la double couche électronique, ce qui provoque une augmentation du bruit mesuré aux bornes des électrodes. Les résultats montrent qu'une électrode constituée de plusieurs matériaux peut avoir un niveau de bruit atteignant 500 mV (crête à crête), soit jusqu'à 30 fois supérieur à celui d'une électrode fabriquée d'un seul matériau.

Le mouvement de l'électrode relativement au tissu produit aussi une modification de la double couche électronique et provoque des changements de potentiel. Dans les enregistrements de surface de biopotentiels comme l'ECG et l'EEG, on utilise des électrodes dont l'interface avec le tissu se fait au moyen d'un gel conducteur, ce qui réduit considérablement les artefacts de mouvement. Pour les enregistrements avec des microélectrodes, on utilise habituellement un montage, souvent complexe, pour réduire au maximum le mouvement à l'interface électrode-électrolyte. Nous n'avons toutefois pas trouvé d'expériences étudiant le rapport entre le mouvement et le bruit mesuré avec des microélectrodes.

2.2 Distance électrodes – neurones

Les premières études théoriques incluant la propagation dans le soma et les dendrites dans les cellules nerveuses^[36] ont montré que l'amplitude d'un potentiel d'action diminue, approximativement, de façon inverse au carré de la distance du soma. Ces études donnent des lignes iso potentielles de 130 μV et 30 μV à des distances respectives de 50 μm et 100 μm du soma (Figure 13, soma : 25 μm de diamètre).

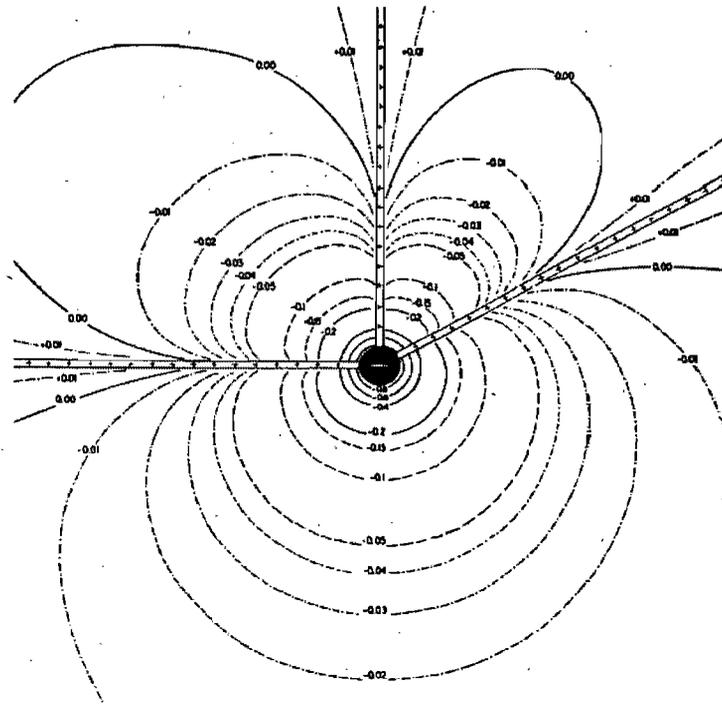


Figure 13 Modèle théorique des lignes isopotentielles mesurées à proximité d'un neurone^[36]

Plus récemment, un modèle par éléments finis^[37] développé pour les enregistrements corticaux avec des électrodes au silicium a donné des résultats semblables. En utilisant des électrodes ponctuelles, les auteurs obtiennent des potentiels de 230 μV et 60 μV pour, respectivement, des distances de 50 μm et 100 μm du soma. On observe encore une fois une diminution de potentiel proportionnelle à l'inverse du carré de la distance.

Des amplitudes plus faibles ont été mesurées expérimentalement avec des microfils de 13 μm et 60 μm ^[31]. Le signal mesuré atteint des amplitudes de 110 μV et 60 μV pour des distances respectives de 20 μm et 60 μm du soma. L'amplitude du signal ne diminue pas proportionnellement à l'inverse du carré de la distance, et l'amplitude des signaux mesurés est plus faible. Cela pourrait s'expliquer par la surface finie des électrodes utilisées, comparativement aux électrodes ponctuelles utilisées pour les simulations numériques.

2.3 Taille des électrodes

En passant d'une électrode ponctuelle à une électrode de dimension finie, la surface de l'électrode commence à modifier la distribution de courant extracellulaire. L'électrode constituant une surface isopotentielle, le potentiel mesuré représente une moyenne du potentiel extracellulaire sur toute la surface de l'électrode, ce qui diminue l'amplitude du signal mesuré. Ce phénomène a peu d'importance pour les électrodes de petites dimensions; en passant d'un diamètre de 1 μm à 5 μm le potentiel mesuré n'est réduit que d'environ 10%. Le phénomène prend de l'importance si on augmente la taille des électrodes^[29]. De plus, d'autres phénomènes peuvent affecter l'amplitude du signal mesuré, par exemple des dommages occasionnés aux cellules par des électrodes plus volumineuses.

Moffit et McIntyre^[37], à l'aide d'un modèle utilisé pour représenter des électrodes au silicium ont déterminé que l'amplitude du signal demeure presque constante pour des électrodes de petite dimension (0-1000 μm^2) et diminue de 50% pour des électrodes de 10 000 μm^2 . Ces données (Figure 14) indiquent que des électrodes de petite taille ont une plus grande zone de sensibilité (région où un potentiel d'action mesuré aura une amplitude plus grande qu'un seuil donné) et permettront d'enregistrer plus de neurones. De plus, la grande sensibilité à proximité de l'électrode permet d'isoler plus facilement les potentiels extracellulaires ayant une grande amplitude. Leurs résultats demeurent très similaires pour des électrodes de taille infinitésimale jusqu'à 1000 μm^2 , ce qui laisse une grande marge de manœuvre.

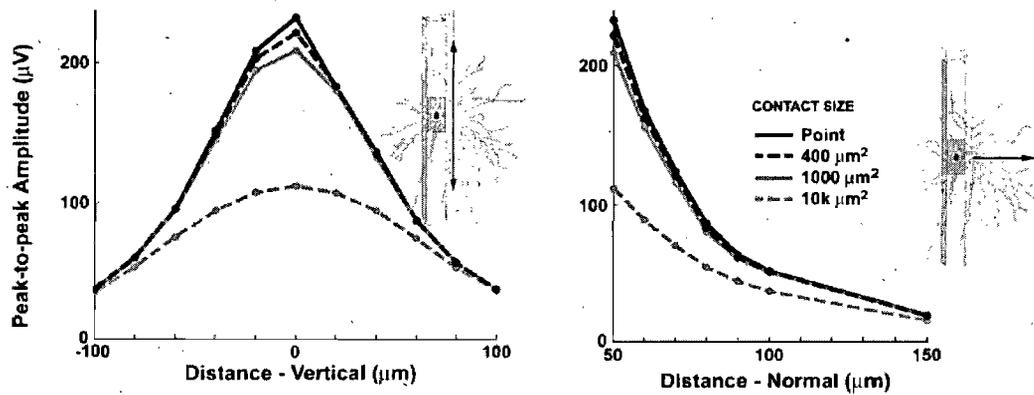


Figure 14 Effet de la taille de l'électrode et de la distance sur l'amplitude du potentiel mesuré^[37]

2.3.1 Densité de neurones mesurés

Déjà en 1968, Robinson^[29] soulignait qu'il enregistrerait beaucoup moins de neurones avec des électrodes extracellulaires que ce qui est prévu par calcul (un neurone avec arborescence dendritique)^[36]. Dans un article de revue, Shoham et al^[38] ont recensé plusieurs articles et concluent que plus de 90% des neurones (du cortex et du néocortex) demeureraient silencieux dans des enregistrements en contrôle. Pour arriver à de tels résultats, Henze et al^[31] ont déterminé que des électrodes se trouvant à une distance de moins de 50 µm d'un neurone permettaient d'enregistrer un potentiel extracellulaire de plus de 60 µV. Avec une densité de 300 000 neurones/mm³, on pourrait enregistrer jusqu'à 120 neurones, ce qui est loin du nombre moyen de six neurones qu'ils ont enregistré expérimentalement. Blanche et al^[39] ont pu enregistrer un neurone tandis que l'électrode s'éloignait ou se rapprochait du soma^[39], ce qui suggère que le neurone actif ou inactif, à un moment donné, reste dans le même état, même après une légère modification du milieu extracellulaire.

2.3.2 Rapport signal / bruit

Comme nous l'avons mentionné précédemment, une électrode de petite taille produira, toutes autres choses étant égales, un signal extracellulaire de plus grande

amplitude qu'une électrode plus grande. Toutefois, de petites électrodes auront une impédance plus élevée (équation 3), ce qui augmentera le bruit thermique des électrodes (chap. 3.3.5).

Le meilleur rapport signal / bruit sera obtenu avec des électrodes dont la taille permet d'obtenir un signal d'amplitude élevée et un faible niveau de bruit thermique. Pour une électrode au silicium, Lempka et al^[40] ont déterminé que le meilleur compromis est obtenu avec des électrodes de $380 \mu\text{m}^2$ (bruit : $6,74 \mu\text{V rms}$, calculé sur une largeur de bande de 450 à 5000 Hz). Toutefois, il est difficile de transposer ces résultats pour des électrodes de tungstène.

Il existe une autre source de bruit qui est d'origine biologique et qui provient de l'activité neuronale autour de l'électrode. La Figure 15 montre un enregistrement où à chaque potentiel intracellulaire est associé un potentiel extracellulaire. Toutefois, l'électrode enregistre aussi des potentiels extracellulaires de plus faible amplitude provenant d'un neurone adjacent (pas de potentiel intracellulaire). Dans ce cas, une électrode de petite taille devrait être plus sensible à la source à proximité de l'électrode et ne pas être trop affectée par les neurones plus éloignés.

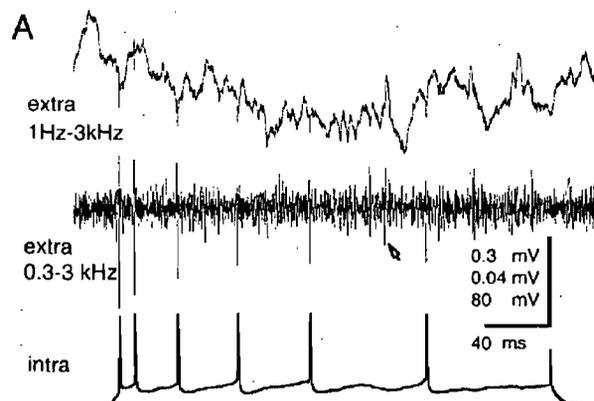


Figure 15 Enregistrement extracellulaire Haut : signal non filtré (1 Hz- 3kHz). Centre : signal filtré (300 Hz – 1 kHz). Bas signal intracellulaire. Flèche : potentiel extracellulaire non synchronisé avec l'enregistrement intracellulaire et provenant d'un neurone adjacent^[31]

2.4 Densité neuronale

2.4.1 Ganglion stellaire

Les ganglions stellaires chien sont formés par l'intersection de plusieurs nerfs provenant de la colonne vertébrale. Les neurones se trouvent dans une région (~3 mm * 4 mm * 3 mm) entourée d'une épaisse couche de tissu conjonctif. Peu d'études donnent des indications sur la densité neuronale chez le chien. Toutefois, chez le chat, on estime la densité neuronale à 17 000 neurones / mm³ [10] (par rapport à > 60 000 neurones / mm³ dans le cortex [11] et 300 000 neurones / mm³ dans l'hippocampe [41]).

2.4.2 Intracardiaque

Dans le système nerveux cardiaque intrinsèque, la densité neuronale est plus faible de plusieurs ordres de grandeur à la densité que l'on retrouve dans le cerveau. Une étude anatomique [4] effectuée en colorant les tissus avec du bleu de méthylène montre que la plupart des neurones se trouvent dans des ganglions sur une couche de gras de 1 à 4 mm d'épaisseur située entre les oreillettes et les ventricules (Figure 2). En moyenne, 260 ganglions pouvant contenir de un à plus de 200 neurones ont été identifiés, pour un total dépassant 20 000 neurones pour tout le cœur. Leur dimension varie d'un simple neurone à un ganglion de 1*3 mm² [4; 42]. On note aussi la présence de nerfs (jusqu'à 0,75 mm de diamètre) reliant les différents ganglions et pouvant faire des boucles complexes (5 à 20 mm de diamètre) [4].

En utilisant un procédé histochimique pour l'acétylcholinestérase, et en s'attardant aux ganglions innervant le nœud AV, une autre étude [43] a montré que plus de 54 000 neurones innervent le nœud AV. La plupart des ganglions mesuraient moins de 0,25 mm², mais certains atteignaient 1 mm².

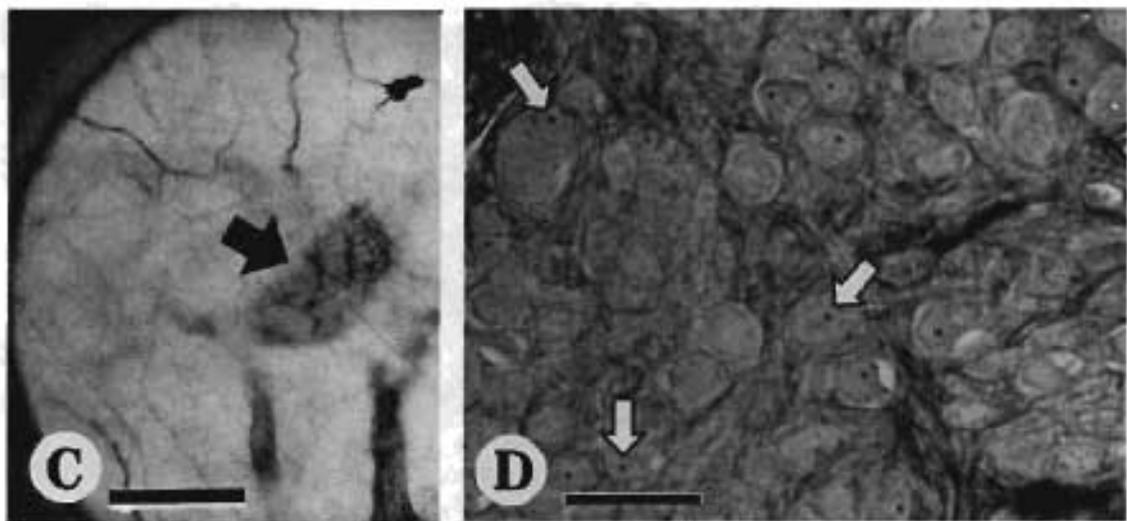


Figure 16 Vue d'un ganglion cardiaque épicaudique coloré par un procédé histochimique marquant l'acétylcholinestérase. Gauche : la flèche indique un ganglion contenant 985 neurones, trait = 0,5 mm. Droite : même ganglion, les flèches indiquent des noyaux de neurone, trait = 65 μm ^[43]

2.5 Multi électrodes

Depuis de nombreuses années, les neurophysiologistes enregistrent l'activité neuronale extracellulaire. L'avènement d'ordinateurs à haute performance et à faible coût permet d'enregistrer l'activité neuronale avec plusieurs électrodes simultanément. Plusieurs techniques ont été développées pour produire des électrodes multiples pour l'enregistrement dans le système nerveux central. Une des techniques les plus simples consiste à utiliser des fils isolés de petit diamètre dont seule la surface métallique à l'extrémité du fil est exposée. En 1958, Strumwasser^[44] a implanté 4 à 6 fils d'acier inoxydable de 80 μm de diamètre ce qui lui a permis d'enregistrer l'activité neuronale dans le cerveau d'un écureuil pendant plus d'une semaine.

D'autres techniques utilisent des fils de plus gros diamètre qui sont affilés de façon mécanique ou chimique^[45; 46] puis isolés pour ne laisser exposée que l'extrémité de l'électrode. La faible dimension de la pointe permet de minimiser les dommages causés aux cellules lors de l'insertion de l'électrode.

Plusieurs techniques existent pour la fabrication de microélectrodes et chacune répond aux contraintes spécifiques du site d'enregistrement. Pour augmenter la rigidité des électrodes, plusieurs chercheurs collent un groupe d'électrodes ensemble (on ne peut pas alors déplacer les électrodes). D'autres groupes se servent d'une aiguille épidermique à l'intérieur de laquelle sont insérés des fils de petit diamètre^[47].

Puisqu'il est difficile de comparer objectivement les performances d'électrodes réalisées avec différents matériaux, de diverses formes, dimensions et types d'isolants, une grande part du travail nécessaire à l'obtention des enregistrements de longue durée tient plus de l'art que de la science^[45]. Ainsi, Diana et al^[48] ont démontré que le nombre de neurones enregistrés augmente avec le diamètre des électrodes. Toutefois, la probabilité d'enregistrer un seul neurone par électrode augmentait quand ils utilisaient des fils de petit diamètre. Dans ce contexte, la diminution de l'impédance causée par une détérioration de l'isolation a pour effet de diminuer la probabilité d'enregistrer un seul neurone.

En utilisant des électrodes rigides de tungstène, Diana et al^[48] ont enregistré plus de neurones isolés en raison de la très petite surface des électrodes de tungstène, mais ils n'ont pas pu enregistrer pendant plus de quelques minutes puisque ces électrodes n'étaient pas optimales pour enregistrer dans des animaux en mouvement. L'utilisation d'électrodes en acier inoxydable ou en tungstène ne semblait pas faire de différence. Certaines équipes ont aussi montré que les fils de petit diamètre ne permettaient pas de faire de bons enregistrements à long terme^[45; 49].

2.6 Enregistrement intracardiaque et thoracique

L'activité neuronale cardiaque est encore peu étudiée. Armour et al^[50] ont enregistré l'activité neuronale dans le thorax sur des ganglions stellaires et médiastinaux avec des électrodes de tungstène insérées à l'aide de micromanipulateurs^[51]. L'impédance de contact de ces électrodes était de 9 à 12 M Ω @ 1 kHz. Le signal extracellulaire était amplifié par un amplificateur d'instrumentation suivi d'un filtre passe-bande de 300-3000 Hz puis d'un

deuxième amplificateur où le signal subissait un filtrage passe-bande supplémentaire entre 500-2000 Hz.

Des enregistrements intracardiaques ont été effectués avec le même système^[24; 52; 53]. Pour minimiser le mouvement du PGAD (right atrial ganglionated plexus), un fil de gros diamètre était utilisé pour immobiliser le ganglion. Puisqu'il était impossible d'éliminer complètement le mouvement du ganglion, l'électrode d'enregistrement était placée dans un anneau de caoutchouc pour lui permettre un mouvement latéral.

Thompson et al^[54] ont effectué le même type d'enregistrement, mais ont utilisé deux électrodes dans la même région, ce qui leur permettait de comparer les deux enregistrements.

Une autre technique consiste à isoler le nerf inférieur cardiaque gauche (contenu dans le thorax) et de faire des enregistrements à l'aide d'électrodes posées directement sur le nerf sans se soucier des diverses populations pouvant être responsables du signal^[55].

2.6.1 Analyse spectrale

L'analyse des fluctuations du rythme cardiaque permet l'étude des systèmes de contrôle cardiovasculaires (chapitre 1.4). Après enregistrement et numérisation des signaux, l'analyse des fluctuations est effectuée avec la représentation spectrale des signaux (domaine fréquentiel) plutôt qu'avec la représentation temporelle ce qui facilite grandement l'interprétation.

Grâce à l'intégrale de Fourier, des signaux (même non périodiques) peuvent être exprimés par une somme de fonctions trigonométriques ayant des phases et des fréquences différentes. Le transformée de Fourier permet de passer de la représentation temporelle d'un signal « $x(t)$ » à la représentation spectrale « $X(f)$ » d'un signal et inversement pour la transformée de Fourier inverse.

La transformée de Fourier discrète est une transformée de Fourier qui permet de travailler avec un signal temporel échantillonné uniformément dans le temps « x_k » pour en

obtenir une représentation spectrale discrète « X_n ». Pour un signal temporel discret « x_k » de « N » échantillons, la transformée de Fourier discrète permet de passer du domaine temporel au domaine spectral :

$$X_n = \sum_{k=0}^{N-1} x_k e^{-i2\pi nk/N} \quad n = 0, \dots, N-1$$

où : $i = \sqrt{-1}$

x_k , est le $k^{\text{ième}}$ coefficient de la série temporelle

X_n est le coefficient de la série spectrale donnant l'amplitude et la phase de la $n^{\text{ième}}$ composante trigonométrique.

La transformée de Fourier discrète inverse permet de revenir de la série spectrale à la série temporelle :

$$x_k = \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-1} X_n e^{i2\pi kn/N} \quad k = 0, \dots, N-1$$

La transformée de Fourier discrète produit un signal périodique de « N » échantillons. De plus, la propriété de symétrie d'un signal réel donne :

$$X_n^* = X_{-n} \quad \text{Où } X_n^* \text{ est la conjuguée complexe de } X_n.$$

Ainsi, un signal x_k réel de « N » échantillons échantillonné à une fréquence de « F » Hz aura comme équivalent dans le domaine spectral une série X_n allant de 0 à « $F/2$ » Hz.

$$F(x_k) = X_n = X(f) \quad f = 0, F/N, \dots, F/2$$

2.6.1.1 Analyse spectrale croisée

L'analyse spectrale croisée est basée sur la fonction de corrélation croisée de deux signaux et permet de faire ressortir les fréquences communes à deux signaux. Dans le domaine spectral la fonction de corrélation croisée est donnée par :

$$S_{xy}(f) = X(f) \cdot Y^*(f) = X_n \cdot Y_n^*$$

Où $Y^*(f)$ est la conjuguée complexe de $Y(f)$ et « \cdot » est un produit scalaire.

Le spectre de puissance d'un signal (l'énergie contenue pour chaque bande de fréquence) est donné par la corrélation d'un spectre avec lui-même :

$$S_{xx}(f) = X(f) \cdot X^*(f)$$

L'analyse spectrale croisée permet de calculer le taux de cohérence de deux fonctions. Celui-ci dépend de la fréquence et prend des valeurs comprises entre 0 (pas de cohérence) et 1 (cohérence maximale).

$$\Gamma_{xy}(f) = \left[\frac{|S_{xy}(f)|^2}{S_{xx}(f)S_{yy}(f)} \right]^{1/2}$$

L'analyse spectrale croisée permet aussi de déterminer la phase entre les deux signaux (un φ_{xy} positif, indique que l'onde x arrive φ_{xy} degrés avant l'onde y) :

$$\varphi_{xy}(f) = \angle S_{xy}(f)$$

Chapitre 3 Système d'enregistrement

Les enregistrements neuronaux cardiaques réalisés jusqu'à maintenant ont presque toujours été effectués à l'aide d'une seule électrode exploratrice. Des études ont déjà montré la corrélation entre deux populations de neurones du système nerveux cardiaque intrinsèque^[54]. Divers stimuli, tant mécaniques que chimiques, appliqués à diverses régions des ventricules ont généré de l'activité neuronale et suggèrent un processus d'intégration complexe dans les régions cardiaque et thoracique. Afin d'étudier les interactions entre les populations de neurones, nous avons développé un système permettant d'enregistrer différentes populations de neurones dans un même ganglion ou sur plusieurs ganglions pouvant être éloignés anatomiquement.

3.1 Spécifications du système

Deux régions connues pour contenir une grande quantité de neurones reliées au contrôle cardiaque ont été ciblées spécifiquement lors de l'élaboration du système d'enregistrement : les ganglions stellaires et les tissus adipeux (gras) autour des oreillettes.

Du côté du ganglion stellaire, les neurones se trouvent dans une région entourée d'une épaisse couche de tissu conjonctif. Les électrodes devront traverser cette barrière pour atteindre les neurones en endommageant le moins possible le tissu, les neurones et l'isolation de la pointe des électrodes lors de l'insertion.

Dans les enregistrements intracardiaques, on veut cibler les neurones dans le tissu adipeux à la surface de l'oreillette ou les neurones directement à la surface de l'épicaarde. L'enregistrement neuronal se fait en présence d'un très gros artefact provoqué par l'activation électrique du myocarde. Cet artefact, nécessaire pour initier la contraction, produit un grand potentiel électrique ainsi que la contraction subséquente du myocarde. De façon générale, plus les électrodes sont près du myocarde, plus cet artefact est élevé. Dans les enregistrements différentiels, plus les électrodes sont éloignées l'une de l'autre, plus l'artefact est important, celui-ci pouvant atteindre 3 mV par mm de séparation, selon la

position des électrodes. Le tissu adipeux est lui aussi protégé par une couche mince de tissu conjonctif et subit un mouvement important causé par la contraction des oreillettes.

Un enregistrement adéquat dans ces deux régions impose plusieurs contraintes:

1. Les amplificateurs doivent avoir une grande plage dynamique pour prévenir la saturation pouvant être causée par l'artefact d'activation du myocarde;
2. Les électrodes doivent être minces et rigides pour traverser la barrière de tissu conjonctif sans se déformer et pour minimiser le dommage causé par l'insertion;
3. On doit disposer d'un système d'enregistrement multi-canaux pour enregistrer les signaux de plusieurs neurones et/ou ganglions simultanément;
4. Chaque canal doit comprendre un préamplificateur; on ne peut pas multiplexer les signaux de plusieurs électrodes vers un seul préamplificateur;
5. Les fils de connexion entre les électrodes et les préamplificateurs doivent être très courts; ce qui nous oblige à placer les préamplificateurs le plus près possible des électrodes;
6. L'électrode de référence doit être placée près des électrodes d'enregistrement pour réduire les artefacts associés à l'activation et la contraction du myocarde;
7. Les électrodes doivent être conçues de façon à ne pas atteindre le myocarde sous le tissu adipeux des oreillettes;
8. L'assemblage physique électrodes / fils / préamplificateurs doit présenter une faible sensibilité au mouvement lors de l'enregistrement dans le myocarde;
9. On doit réaliser un filtrage adéquat (généralement, par des circuits analogiques après le préamplificateur) pour réduire les artefacts causés par l'activation et la contraction des oreillettes;
10. Le taux d'échantillonnage du signal doit être suffisant (bien au-delà du critère de Nyquist) pour permettre de différencier les formes d'onde associées aux différents neurones dont le potentiel d'action dure quelques ms seulement;
11. Le traitement « en ligne » du signal est nécessaire pour déterminer si les neurones sont reliés à la physiologie du système cardiaque et pour faciliter la compréhension de l'interaction entre les différentes populations de neurones;

12. L'enregistrement simultané de plusieurs signaux physiologiques (par exemple, l'ECG) est nécessaire pour déterminer le lien entre ces signaux et l'activité neuronale.

3.2 Description du montage

Le système d'acquisition de données que nous avons utilisé dans ce projet est constitué de plusieurs modules permettant l'enregistrement de l'activité neuronale. Ces modules sont présentés dans le schéma bloc suivant et sont décrits brièvement par la suite.

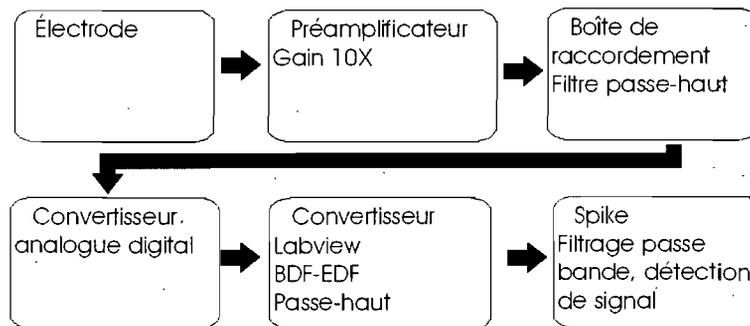


Figure 17 Schéma-bloc du système d'enregistrement

3.2.1 Électrodes

Les électrodes utilisées « Frederick Haer, ME, USA #UEWSFESMLM1M » sont en tungstène et mesurent 1,5 cm de long avec un diamètre initial de 200 μm et ont une pointe ayant un angle de 15 à 20°. Les électrodes sont couvertes d'une résine EpoxyLite© qui permet d'obtenir une surface non isolée de seulement quelques μm^2 à la pointe de l'électrode et ont une impédance initiale de 9 à 12 $\text{M}\Omega$ à 1 kHz. Les électrodes de tungstène ainsi construites ont une impédance très élevée aux basses fréquences et très faible aux hautes fréquences. Ces caractéristiques sont adéquates pour les enregistrements extracellulaires^[32; 35] puisque le contenu spectral du signal d'intérêt se situe entre 300 et 3000 Hz^[31; 56] (Chaque potentiel d'action dure moins de 2 ms, voir Figure 10). Pour une même surface exposée, leur impédance est plus élevée que les électrodes de platine. Par

contre, le tungstène est préférable au platine dans cette application puisque les électrodes doivent être rigides et solides pour traverser la barrière de tissu conjonctif des ganglions sans fléchir.

Deux configurations ont été principalement utilisées pour connecter les électrodes au préamplificateur. Dans un premier cas, les pointes non effilées des électrodes ont été trempées dans une laque conductrice (MG-Chemicals #8420) et serties à un connecteur (Mill-Max : 851-xx-1, voir annexe) adapté au préamplificateur. Les électrodes ont ensuite été pliées et collées avec de l'époxy pour exposer 1 mm de l'électrode. Les électrodes étant solidaires du préamplificateur, un micromanipulateur permet de les diriger vers le site d'enregistrement. Le système préamplificateur-électrodes peut être fixé solidement au manipulateur pour empêcher tout mouvement ou bien être laissé flottant afin de lui permettre de suivre les mouvements du cœur.

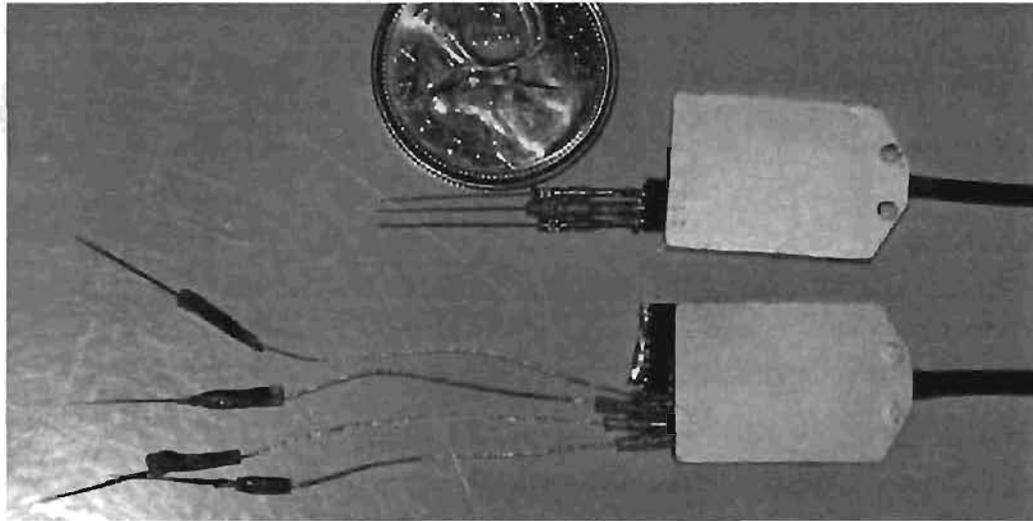


Figure 18 Préamplificateur avec électrodes fixes ou flottantes

Dans la deuxième configuration, l'électrode est sertie à un fil multibrin isolé (Cooner Biomed wire co, part#AS633, diamètre 0,3mm, longueur : 2-5 cm) à l'aide de laque et d'un connecteur. La jonction est ensuite isolée à l'aide d'un tube thermo-retractable pour limiter le mouvement entre le fil et l'électrode et empêcher le liquide d'atteindre la jonction. L'autre extrémité du fil est sertie à un connecteur avec de la laque

conductrice. Ce montage permet aux électrodes de suivre les mouvements du cœur pratiquement sans contrainte, mais requiert beaucoup plus de temps pour insérer les électrodes. Il permet un positionnement individuel des électrodes, mais risque de capter plus de bruit à cause des fils d'interconnexion plus longs.

L'électrode de référence est aussi faite de tungstène. La résine époxy qui isole l'électrode est enlevée sur une distance d'environ 0,5 mm pour diminuer son impédance de contact (et le bruit thermique). L'électrode de référence est fixée à l'extérieur du ganglion et sert à obtenir un signal différentiel pour chacune des autres électrodes.

3.2.2 Préamplificateur

Chaque série d'électrodes est connectée à un préamplificateur huit canaux (MPA-8, Multichannel System, De). Le signal de chaque canal est amplifié avec un gain de 10 V/V relativement au signal de référence commun à tous les canaux. Si un artefact est enregistré par l'électrode de référence, ce signal est présent sur tous les canaux et il faut l'éliminer ultérieurement. Cette configuration est toutefois nécessaire lorsqu'on enregistre sur le PGAD puisque l'enregistrement la proximité de l'électrode de référence permet d'éliminer l'ECG et de réduire grandement l'artefact causé par l'activation du myocarde (cet artefact peut atteindre 3 mV par mm de séparation entre les électrodes). L'électrode de référence doit donc être placée à proximité des électrodes d'enregistrement pour éliminer l'artefact d'activation, mais doit être assez loin des ganglions pour ne pas enregistrer l'activité neuronale. Puisque toutes les entrées du préamplificateur ont le même gain, il est possible de soustraire numériquement les signaux de deux canaux pour créer un nouveau signal différentiel ce qui permet d'éliminer le signal (les artefacts) de l'électrode de référence.

3.2.3 Boîte de raccordement

Les signaux provenant d'un ou deux préamplificateurs parviennent ensuite à une boîte de raccordement où les signaux subissent un filtrage passe-haut du premier ordre (fréquence de coupure à -3dB de 0,5 Hz) pour éliminer la composante DC qui pourrait

faire saturer les étages subséquents du système d'acquisition. La boîte de raccordement contient aussi trois entrées munies de connecteurs BNC qui permettent d'enregistrer d'autres signaux physiologiques. Enfin, la boîte de raccordement contient des sources de tension réglées de $\pm 5V$ pour alimenter les préamplificateurs. Ces tensions proviennent de batteries de 9 volt.

Pour que le système d'asservissement de la jambe droite puisse éliminer convenablement les interférences du secteur, l'électrode DRL doit être le seul point pour appliquer du courant entre le système d'acquisition de données et la préparation. Cette condition ne sera pas remplie si la masse d'un des signaux externes est connectée à un autre appareil alimenté par le secteur. Puisque les signaux externes proviennent habituellement de systèmes de ce type, des isolateurs optiques doivent être utilisés pour isoler ces canaux. Le système d'acquisition de données peut aussi fonctionner avec une boîte de raccordement isolée optiquement et permettant d'enregistrer des canaux différentiels, mais l'utilisation de cette boîte limite la fréquence d'échantillonnage à 2 kHz ce qui est insuffisant pour nos besoins.

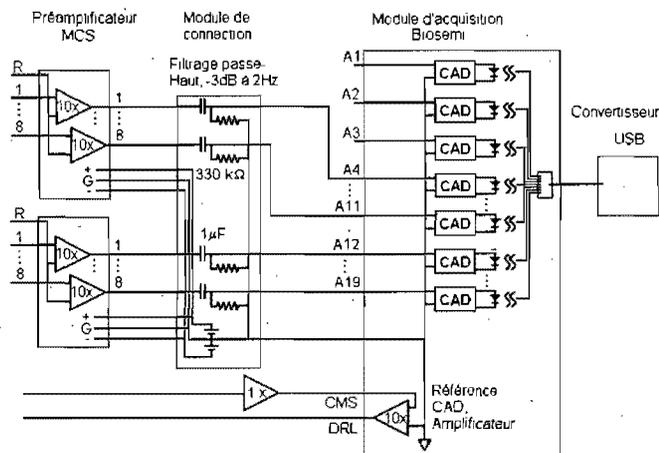


Figure 19 Schéma du montage du système d'enregistrement neuronal

3.2.4 Convertisseur analogue digital

Les signaux provenant des préamplificateurs ainsi que les trois signaux appliqués aux connecteurs BNC (entrées externes) sont numérisés à une fréquence de 16384 Hz par des convertisseurs analogique/numérique individuels qui font partie du système d'acquisition de données Active-Two (Biosemi NI). Pour abrégé, ce système est appelé CAD dans le reste du mémoire.

Pour éliminer le repli spectral (aliasing), chaque canal du CAD comporte un filtre passe-bas dont la réponse en fréquence a la forme d'un sinus cardinal de cinquième ordre, avec une fréquence de coupure à -3dB de 3334 Hz. L'équation du filtre est donnée à l'équation 4.

$$|h(f)| = \left| \frac{\sin \frac{f\pi}{2^{14}}}{\frac{f\pi}{2^{14}}} \right|^5 \quad (\text{Équation 4})$$

Lorsqu'il est utilisé avec une fréquence d'échantillonnage de 16384 Hz, le système permet d'enregistrer jusqu'à 32 canaux avec une plage dynamique de +/- 262 mV. La numérisation se fait avec une résolution de 24 bits, ce qui permet d'obtenir une discrétisation (théorique) de 0,031 $\mu\text{V/bit}$ pour les entrées du CAD et de 0,0031 $\mu\text{V/bit}$ aux entrées des préamplificateurs. Les données du CAD sont transmises par fibre optique à une interface qui les retransmet à un PC via un port USB. Les données sont sauvegardées en format « .bdf » qui est une version 24 bits du format « .edf » (European Data Format, Annexe 1.). Le CAD a un système d'asservissement de la jambe droite pour réduire les interférences dues au couplage parasite entre le système et le secteur.

3.2.5 Conversion bdf-edf et filtrage

Puisque le programme de traitement subséquent n'accepte pas de données en format « .bdf », un programme de conversion de format a été réalisé en Labview. À partir de n

canaux initiaux échantillonnés à 24 bits et enregistrés en format « .bdf », ce programme crée 2n canaux et enregistre les données en mots de 16 bits selon le format « .edf ».

Le traitement des données acquises exige l'isolement de deux composantes que nous désignerons ci-après par « signal haute fréquence » et « signal basse fréquence ». Pour obtenir le signal haute fréquence, le signal brut est traité par un filtre numérique passe haut de type Bessel du quatrième ordre (fréquence de coupure à -3dB de 150 Hz, voir Figure 20), et est sauvegardé avec une plage dynamique de +/- 33 mV. Ces spécifications permettent d'obtenir un signal filtré qui ne dépasse pas la plage dynamique d'enregistrement et donne une discrétisation de 1 μ V au niveau des entrées du CAD (0,1 μ V pour les électrodes).

Pour obtenir le signal basse fréquence à partir du signal initial à 16384 Hz, la moyenne de 8 points a été calculée pour ensuite être sauvegardée à 2048 Hz sur une plage dynamique de +/- 262 mV. Ce signal permet d'observer le comportement des signaux (fluctuation de la ligne de base sur les signaux neuronaux, évolution temporelle de l'ECG et du signal de pression) tout en limitant l'espace disque nécessaire. La moyenne de 8 points est équivalente à un filtre passe-bas avec une fréquence de coupure à -3 dB de 2000 Hz. Le théorème de Nyquist-Shannon stipulant que la fréquence d'échantillonnage doit être au minimum du double de la fréquence maximale du signal à échantillonner, il risque de se produire un certain repliement spectral. Le signal basse fréquence n'est pas utilisé pour étudier l'activité neuronale. Pour l'ECG et la pression, on ne considère que la fréquence d'activation cardiaque qui typiquement varie entre 1 et 4 Hz. Elle est déterminée par la détection des maxima du QRS et de la pression systolique. Le repliement spectral ne peut avoir que peu d'effet sur la position de ces maxima.

Pour éviter les problèmes potentiels de repliement spectral, les données sont maintenant traitées en ajoutant au programme de conversion « bdf-edf » un filtre de Bessel passe-bas de quatrième ordre avec une fréquence de coupure à -3dB de 750 Hz. Le gain ainsi obtenu est de -15 dB à la moitié de la fréquence d'échantillonnage ce qui diminue la possibilité d'avoir du repliement spectral.

Les caractéristiques des filtres et la plage dynamique des signaux haute et basse fréquences sont fixées par défaut, mais peuvent être changées par l'utilisateur au besoin.

3.2.6 Traitement de signal à l'aide du logiciel Spike

La dernière étape du traitement des données est effectuée à l'aide du logiciel Spike (CED, version 5,14, UK), un logiciel spécialement conçu pour le traitement de l'activité neuronale. Les signaux sont filtrés à l'aide d'un filtre passe-bande FIR (finite impulse response). Une fois les caractéristiques du filtre déterminées (gain et bande passante), une sous-routine de Spike fournit les coefficients du filtre. Le filtre utilisé est de type passe-bande avec des fréquences de coupure à -3 dB de 300 Hz et 2900 Hz. La réponse en fréquence de ce filtre est présentée à la Figure 20. Les valeurs de 300 Hz et 3000 Hz sont utilisées dans la littérature^[31; 56]. Nous avons utilisé une fréquence de coupure de 2900 Hz pour éliminer la possibilité d'interférence lorsqu'un capteur de pression fonctionnant à 3000 Hz se trouve à proximité du système d'acquisition.

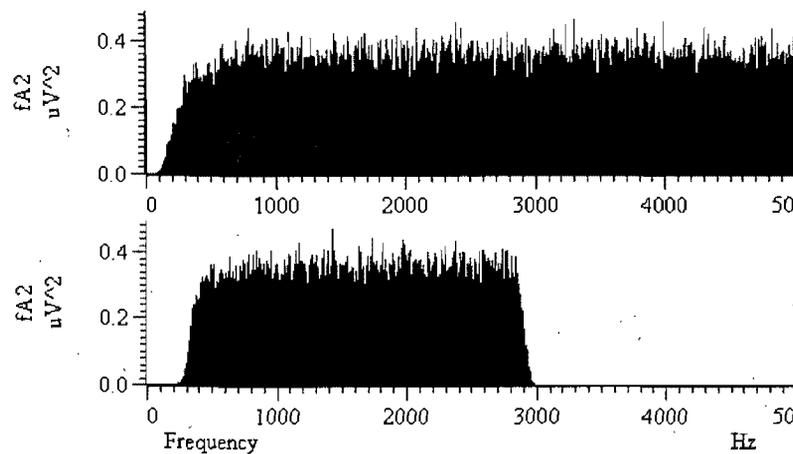


Figure 20 Spectre de puissance d'un bruit blanc gaussien après filtrage. Haut : filtre passe-haut Bessel 4^{ème} ordre du convertisseur « .bdf » à « .edf ». Bas : Filtrage final après le filtre de Bessel et le filtre passe-bande (FIR)

3.2.7 Détection des potentiels extracellulaires

La dernière partie du traitement numérique des données permet de faire la détection d'évènements correspondant à des décharges neuronales à partir des potentiels extracellulaires. Pour détecter ces évènements, le programme Spike requiert deux seuils différents, un positif et l'autre négatif. Si le signal mesuré traverse l'un de ces seuils, le programme trouve la valeur maximale ou minimale du signal dans un intervalle de +/- 2 ms autour du passage du seuil et sauvegarde l'onde se trouvant dans une fenêtre de 4 ms (64 points à 16384 Hz) centrée sur la valeur maximale ou minimale trouvée.

Les ondes ainsi obtenues sont classées par une technique d'analyse de formes d'onde (template matching) basée sur la méthode des composantes principales. La technique est incluse dans le programme Spike, mais n'a pas été utilisée dans ce mémoire à cause de la faible amplitude des PE et de la faible activité neuronale.

On appellera potentiel extracellulaire détecté (PED) chacune des détections faites par le système, peu importe si cette détection est due à un signal neuronal ou à un artefact d'enregistrement. La méthode de classification utilisée implique que si deux potentiels d'action (PE) se produisent sur un intervalle plus petit que 4 ms, les deux PE peuvent être enregistrés dans le même PED, ou bien que le deuxième PED ne sera pas nécessairement centré sur le maximum d'amplitude du PE.

Le seuil de détection est déterminé à l'aide de l'écart type du signal. Pour chacune des électrodes, l'écart type du signal est mesuré sur une période de 1 ms, et ce, à chaque seconde. Puisqu'une électrode enregistre seulement du bruit (aucun signal neuronal ou artefact électrique) durant la majeure partie d'un enregistrement, la valeur médiane de l'écart type (σ_m) représente une bonne approximation du niveau de bruit causé par les électrodes et le système d'enregistrement sans la présence de neurones.

Le seuil de détection des potentiels extracellulaires présentement utilisé est +/- $6\sigma_m$. Ce seuil nous assure que lorsque le système détecte un PED, ce dernier est causé par un neurone et non par une fluctuation du niveau de bruit. Ce seuil permet aussi d'obtenir un

rapport signal / bruit assez élevé pour que l'on puisse faire une bonne classification des formes d'onde.

3.3 Analyse des performances

Pour l'enregistrement des potentiels extracellulaires, on vise à obtenir un système aussi linéaire que possible dans la bande de fréquences d'intérêt. Nous avons donc étudié les variations du gain de notre montage à différentes fréquences. L'impédance des électrodes étant assez élevée (de l'ordre de $10\text{ M}\Omega$ à 1000 Hz) il faut s'assurer que l'impédance d'entrée des préamplificateurs soit plus grande que l'impédance des électrodes pour ne pas atténuer le signal mesuré par celles-ci. Le niveau de bruit du préamplificateur et des électrodes est aussi étudié pour éviter qu'il induise de fausses détections de PE.

3.3.1 Gain

Le gain de la chaîne d'acquisition a été déterminé en appliquant une onde sinusoïdale de 20 mV (crête) aux entrées du préamplificateur et du CAD (Figure 21). Le gain du CAD a été mesuré en appliquant le signal de test aux entrées externes (A1-A3). La fréquence a été variée entre 1 Hz et 3 kHz pour vérifier le gain du système dans la plage de fréquences utilisée. Comme on peut l'observer à la Figure 22, le gain du CAD était pratiquement constant dans la bande de fréquence $\sim 1\text{ Hz}$ à $\sim 500\text{ Hz}$. À plus haute fréquence, le gain théorique diminuait à cause du filtre passe-bas du CAD (équation 4) et le gain expérimental était légèrement inférieur au gain théorique.

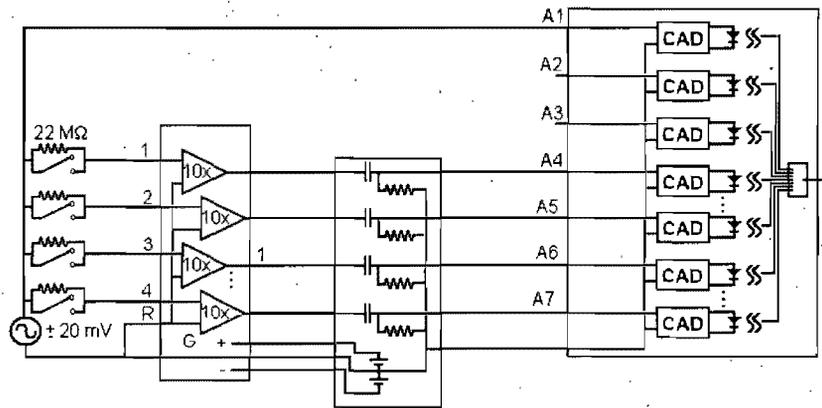


Figure 21 Montage utilisé pour déterminer le gain et l'impédance d'entrée.

Pour ce qui est du système d'enregistrement en entier (préamplificateur, boîte de raccordement et CAD), les mesures ont été effectuées avec les interrupteurs de la Figure 21 en position fermée. Chaque préamplificateur a un gain nominal de 10 V/V et une bande passante allant de 0 à 500 kHz. À haute fréquence, le système en entier a donc sensiblement la même réponse en fréquence que celle déterminée par le filtre passe-bas du CAD. À basse fréquence, le signal est filtré par le filtre passe-haut de premier ordre (-3 dB à 0,5 Hz) de la boîte de raccordement. Les mesures expérimentales donnent un gain de 19 dB, (donc légèrement sous 10 V/V) ce qui est conforme aux spécifications du préamplificateur et du filtre passe-haut. Le système a donc un gain pratiquement constant de 20 dB entre 3 Hz et 1 kHz et diminue à 15 dB autour de 3 kHz.

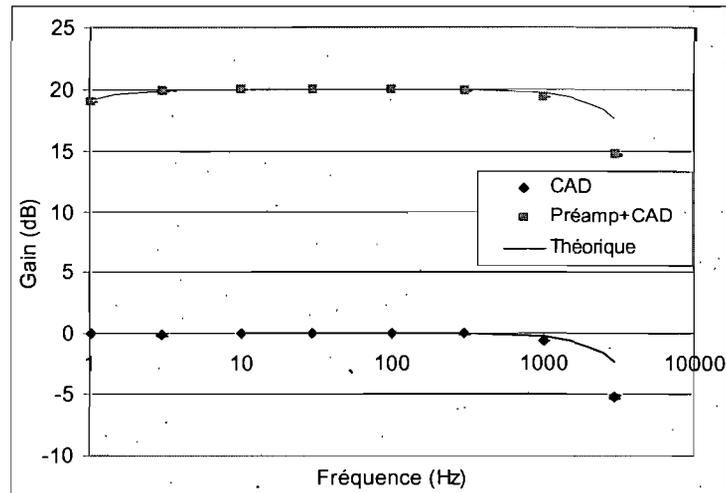


Figure 22 Gain expérimental et théorique du CAD et du système d'enregistrement en entier pour des fréquences comprises entre 1 Hz et 3 kHz.

3.3.2 Impédance d'entrée

Comme mentionné au Chapitre 2, l'impédance de contact d'électrodes de petit diamètre peut atteindre des valeurs très élevées. Il est nécessaire de s'assurer que l'impédance d'entrée des préamplificateurs sera beaucoup plus élevée que l'impédance des électrodes pour ne pas trop atténuer le signal mesuré.

Pour déterminer l'impédance d'entrée du préamplificateur, nous avons utilisé la technique dite de « perturbation » utilisant des résistances du même ordre de grandeur que la résistance attendue et des interrupteurs qui permettent de court-circuiter ou pas ces résistances. Le montage pour effectuer ce test est présenté à la Figure 21. Une onde sinusoïdale de 20 mV (crête) et de fréquence variable (3 Hz à 3000 Hz), provenant d'un générateur de fonction est utilisée. La masse du générateur de fonction est connectée à l'entrée de référence du préamplificateur. On effectue alors deux mesures pour chaque fréquence :

1. Avec l'interrupteur ouvert, le signal du générateur passe par une résistance de 22 M Ω et est atténué par l'impédance d'entrée du préamplificateur. Le signal mesuré à la sortie du préamplificateur est nommé V^{ouvert} .

2. En fermant l'interrupteur, la résistance de $22 \text{ M}\Omega$ est court-circuitée et il n'y a pas d'atténuation. Le signal de sortie (plus grand) est dénoté $V^{\text{fermé}}$. On obtient la valeur du module de l'impédance d'entrée du préamplificateur pour cette fréquence, au moyen de l'équation :

$$|Z_{in}|(f) = R \frac{V^{\text{ouvert}}(f)}{V^{\text{fermé}}(f) - V^{\text{ouvert}}(f)} \quad (\text{Équation 5})$$

Les mesures d'impédance obtenues expérimentalement concordent avec les données du manufacturier (Figure 23) qui caractérise l'impédance d'entrée des préamplificateurs comme une résistance équivalente (R) de $10^{12} \Omega$ en parallèle avec une capacitance (C) de 10 pF . L'impédance d'entrée « théorique » est alors obtenue avec l'équation :

$$|Z(f)| = \left| \frac{R}{1 + 2 \cdot \pi \cdot i \cdot f \cdot R \cdot C} \right| = \frac{10^{12}}{\sqrt{1 + (20\pi \cdot f)^2}} \quad (\text{Équation 6})$$

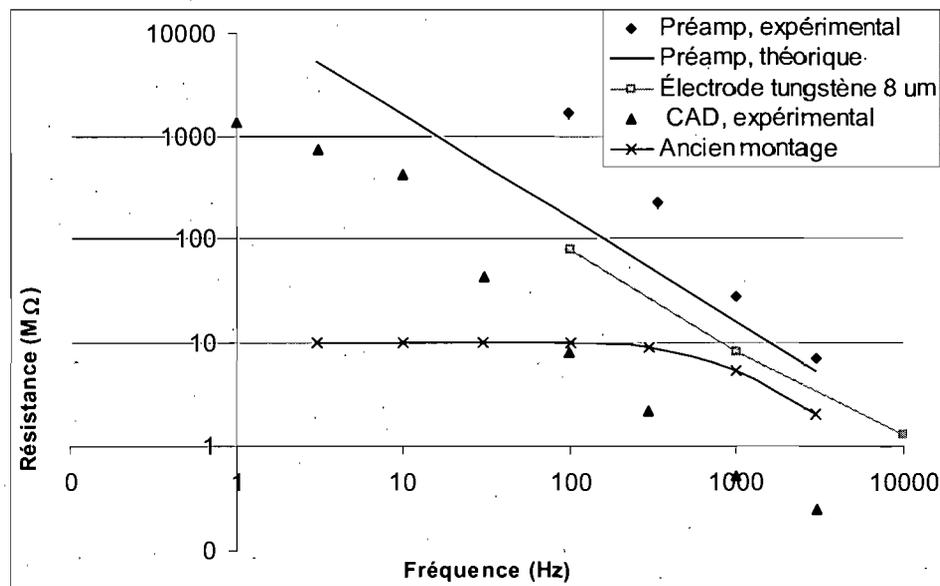


Figure 23 Résistance d'entrée pour différents systèmes. Légende : \blacklozenge : préamplificateur (valeurs expérimentales), — : préamplificateur (valeurs théoriques), \blacktriangle : CAD (valeurs expérimentales), \times : un autre système d'enregistrement^[50], \square : résistance d'une électrode de tungstène de $8 \mu\text{m}^2$ (Figure 12).

La Figure 23 montre le module de l'impédance d'entrée des préamplificateurs de même que la résistance d'une électrode de tungstène de $8 \mu\text{m}^2$. L'impédance d'entrée du préamplificateur est supérieure d'un facteur 2 ou plus à l'impédance d'une électrode sur toute la bande passante du signal. Dans le cas limite d'une électrode dont la résistance est de $10 \text{ M}\Omega$ à 1 kHz , le signal mesuré par le préamplificateur sera atténué d'un facteur 0,6 V/V. Toute opération qui réduirait l'impédance des électrodes diminuerait l'atténuation du signal par le préamplificateur. On note aussi que l'impédance de l'électrode et du préamplificateur suivent le même taux de décroissance avec la fréquence. Ceci suggère que le principal facteur responsable de l'atténuation du signal est la capacitance d'entrée C ($\sim 10 \text{ pF}$) des préamplificateurs.

3.3.3 Taux de rejet du mode commun

Le taux de rejet du mode commun (TRMC) des préamplificateurs a été mesuré avec le montage de la Figure 24 (gauche). Une onde sinusoïdale de 20 mV (crête) de fréquence variable, produite par un générateur de fonction, est appliquée aux entrées des préamplificateurs. Un interrupteur permet de relier l'entrée de référence du préamplificateur à chacune des bornes du générateur de fonction. Le TRMC à une fréquence donnée est déterminé à partir de l'équation suivante :

$$TRMC(dB) = 20 \log_{10} \left| \frac{A_d}{A_{CM}} \right| \quad TRMC(dB) = 20 \log_{10} \left| \frac{V_{A4,b} V_{in}}{V_{in} V_{A4,a}} \right| \quad (\text{Équation 7})$$

Où A_d est le gain en mode différentiel et A_{CM} le gain en mode commun.

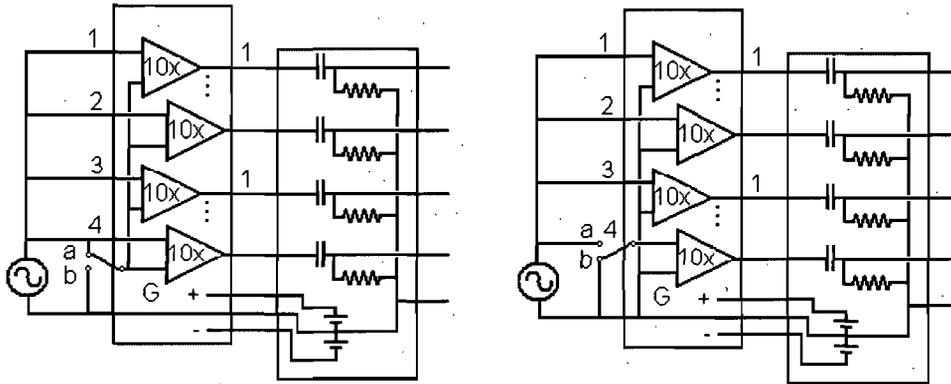


Figure 24 Schéma du montage, pour déterminer le TRMC. Gauche : montage pour déterminer le TRMC du préamplificateur, droite : montage pour déterminer le TRMC entre deux canaux soustraits numériquement

Les résultats de la Figure 25 montrent que le TRMC est relativement constant à ~ 70 dB entre 1 Hz et 300 Hz. À plus haute fréquence, le TRMC diminue graduellement pour atteindre ~ 50 dB à 3000 Hz.

Si on veut enlever un signal présent sur l'électrode de référence (R), il est possible de soustraire numériquement deux canaux pour produire un canal différentiel (ex : $V_4 - V_3$). Pour ce faire, on utilise le montage de la Figure 24(droite). Le TRMC est donné par :

$$TRMC(dB) = 20 \log_{10} \left| \frac{A_d}{A_{CM}} \right| = 20 \log_{10} \left(\frac{V_{A4,b} - V_{A3,b}}{V_{in}} \frac{V_{in}}{V_{A4,a} - V_{A3,a}} \right) \quad (\text{Équation 8})$$

Lorsqu'on soustrait numériquement deux canaux entre eux, le TRMC diminue d'environ 20 dB par rapport au TRMC du préamplificateur (voir Figure 25). Pour avoir le meilleur TRMC, il est donc préférable d'avoir un montage qui ne nécessite pas l'utilisation de canaux virtuels différentiels.

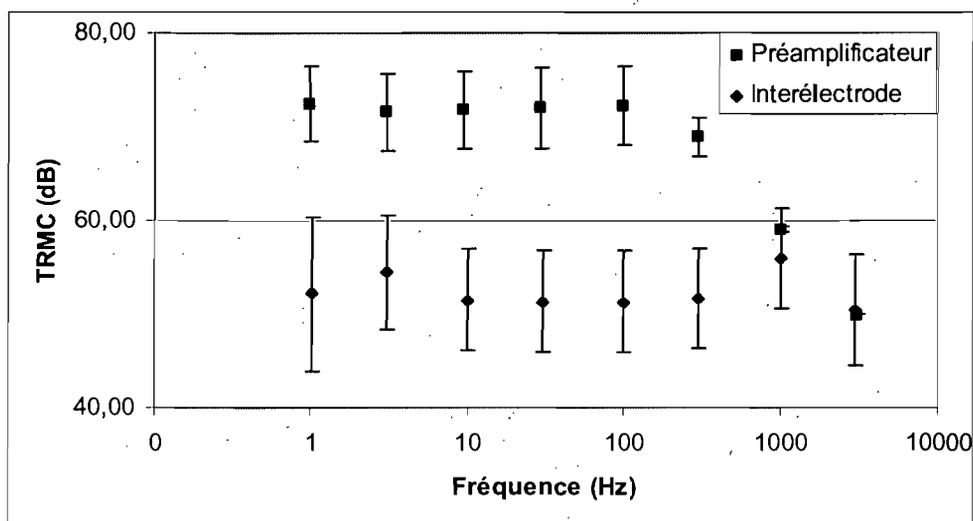


Figure 25 Taux de rejet du mode commun des préamplificateurs.

3.3.4 Caractéristiques théoriques du système

Tableau II Caractéristiques théoriques du système

	Préamplificateur	Biosemi
Impédance d'entrée	$10^{12} \Omega // 10 \text{ pF}$	
Impédance de sortie	0Ω	
Niveau de bruit	$< 1,5 \mu\text{V}_{\text{rms}}$ (1 à 5000 Hz)	
Densité de bruit	$10 \text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$	
Bande passante	0 à 500 kHz	0 à 3334 Hz (filtre sinus cardinal de 5 ^{ième} ordre, fréquence de coupure à -3 dB : 3334 Hz).

3.3.5 Niveau de bruit

Le niveau de bruit est mesuré :

1. En plaçant une résistance entre la borne R et les entrées du préamplificateur
2. En connectant une électrode FH-Co non isolée à la borne de référence et des électrodes de diverse impédance (non isolées jusqu'à $10 \text{ M}\Omega$) aux entrées du

préamplificateur. Et en plongeant toutes les électrodes dans une solution physiologique (0,9% Na).

Les signaux sont mesurés à la sortie du système d'acquisition. Pour tous les signaux, le signal est filtré numériquement par un passe-bande aux fréquences de coupure 300 Hz et 2900 Hz avant de calculer le niveau de bruit (σ_m). Ce filtrage est effectué pour éliminer la fluctuation du potentiel de polarisation (composante DC) présente lorsque les électrodes sont plongées dans un électrolyte. Les résultats sont présentés au Tableau III.

Tableau III Bruit mesuré au niveau du préamplificateur

	Valeur expérimentale (V_{rms}) 300-2900 Hz	Valeur théorique (V_{rms})
Résistance : 0 Ω	1,30 μV	< 1,5 μV , 1-5000 Hz
Résistance : 10 M Ω	14,2 μV	20,2 μV
R et A4, électrodes non isolées	1,800 μV	< 1,5 μV , 1-5000 Hz
R : électrodes non isolées. A4 :	11,3 μV	20,2 μV
électrode FHC, 10 M Ω à 1000 Hz	7,0 μV	20,2 μV

Le bruit théorique des électrodes est déterminé en mesurant le bruit thermique^[57] généré par des électrodes de 10 M Ω . Soit :

$$V(rms) = \sqrt{4kTBR} = 20.2 \mu V (rms) \quad (\text{Équation 9})$$

$k = 1,38 \cdot 10^{-23}$ J/K Boltzmann

T = température absolue ~ 293 K

B = Bande passante : 2900-300 = 2600 Hz

R = résistance = 10 M Ω

Le bruit mesuré pour les préamplificateurs est comparable aux valeurs données par le fabricant. En ajoutant une résistance de 10 M Ω , le niveau de bruit augmente mais n'atteint pas le bruit thermique théorique de 20,2 μV (rms), ce qui peut s'expliquer en partie par la faible impédance d'entrée des préamplificateurs qui agissent comme diviseurs de tension.

En utilisant des électrodes de tungstène non isolées dans du liquide, le niveau de bruit augmente très légèrement, ce qui est explicable par les interactions à l'interface électrode-électrolyte et par des électrodes plus longues qui agissent comme des antennes. En utilisant des électrodes neuves avec une impédance d'entrée élevée, le niveau de bruit est plus élevé à cause de l'augmentation du bruit thermique au niveau des électrodes. Même dans le cas de deux électrodes FH-Co neuves dont nous avons tenté de minimiser les manipulations, nous avons obtenu des niveaux de bruit assez différents d'une électrode à l'autre. Il semble que la manipulation des électrodes ait détérioré la couche d'isolant et ait diminué l'impédance des électrodes.

Dans une interface métal-liquide, le potentiel de l'électrode varie en fonction des échanges qui se produisent à l'interface. À la Figure 26, les signaux mesurés sur les électrodes plongées dans du liquide avaient une beaucoup plus grande fluctuation basse fréquence que les signaux mesurés aux bornes de résistances de $10\text{ M}\Omega$. Les électrodes de hautes impédances augmentaient la fluctuation de la ligne de base et l'amplitude du bruit haute fréquence (300-2900 Hz).

Les spectres de puissance des deux électrodes d'impédance différente (Figure 26, bas) montrent des spectres semblables, mais l'électrode à haute impédance a un spectre de puissance plus élevé causé par le bruit plus important. De plus, pour les électrodes à haute impédance, le couplage capacitif avec les fils du secteur (harmoniques de 60 Hz) a un effet plus important que pour les électrodes non isolées.

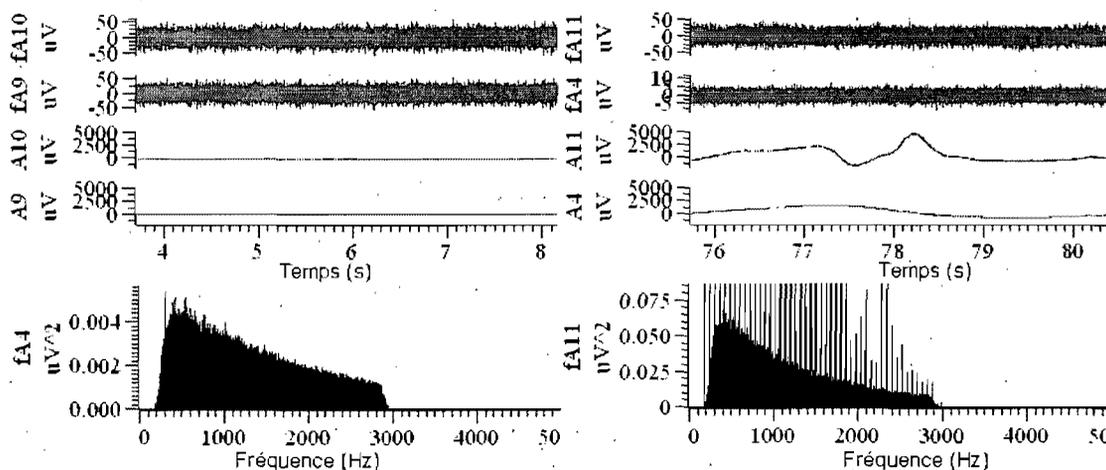


Figure 26 : Gauche : Potentiels mesurés aux bornes de résistances de 10 M Ω . Droite : Potentiels mesurés avec une électrode non isolée (A4) et une électrode FH-Co isolée de 10 M Ω (A11), plongées dans du liquide. Bas : spectre de puissance des deux électrodes de droite. *Les canaux débutant par fA sont filtrés de 300-2900 Hz. Les canaux débutant par A ne sont pas filtrés. Cette nomenclature est utilisée pour les graphiques subséquents

3.3.6 Sources d'interférences

Les caractéristiques du système permettent de réduire les effets des sources d'interférence extérieures (secteur ou instruments se trouvant à proximité) de façon suffisante pour qu'ils ne soient pas perceptibles dans la plupart des enregistrements. Ainsi la plupart des enregistrements effectués sur les ganglions stellaires du chien donnent un signal aussi stable que l'électrode de basse impédance de la Figure 26. Toutefois des précautions demeurent nécessaires.

Même si les préamplificateurs ont une impédance de sortie très faible, la longueur des fils de connexion allant des préamplificateurs au CAD rend le système sensible aux interférences électromagnétiques. Par exemple, lorsque ces fils sont à moins de 30 cm des sondes de pression fonctionnant avec un signal d'excitation de 3 kHz, un signal interférant de cette fréquence apparaissait dans les enregistrements. Pour cette raison, il a été nécessaire de régler la fréquence de coupure du filtre passe bas à 2900 Hz.

Des interférences très importantes étaient produites par le bloc d'alimentation d'un ordinateur portable utilisé à quelques reprises pour faire les enregistrements. Ces interférences, principalement de 60 Hz et ses harmoniques, ont été éliminées en faisant fonctionner le portable avec sa batterie interne et en l'éloignant à plus de 5 mètres de la préparation expérimentale.

Si le système d'asservissement n'est pas connecté à la préparation expérimentale, le CAD affiche ce problème à l'aide d'un voyant bleu. Toutefois, si le système est mal connecté à la préparation (par des contacts de haute impédance), le problème n'est pas affiché par le CAD mais le bruit mesuré par les préamplificateurs augmente significativement.

La plus grande source d'interférence peut être produite par un couplage capacitif des électrodes avec le secteur. Ce problème est présent lors d'enregistrements fait avec des électrodes placées sur le thorax d'un chien (à l'opposé d'un enregistrement intrathoracique), lorsque les fils reliant les électrodes au préamplificateur sont longs et que l'impédance des électrodes est élevée. Dans des enregistrements faits avec des électrodes situées dans la cage thoracique, il est possible d'obtenir un couplage capacitif avec le secteur (Figure 26 droite). Par contre, si le système est connecté correctement, le thorax du chien agit à la manière d'une cage de Faraday et réduit le couplage capacitif. Le spectre de puissance ressemble alors à celui d'électrodes à très faible impédance (Figure 26, tracé de gauche).

3.3.7 Détection de potentiels extracellulaires

Après avoir traité le signal pour réduire les interférences extérieures, on peut commencer le traitement visant à détecter des PE. À la Figure 27, nous présentons le nombre de PED détectés par le système en fonction du seuil de détection pour des enregistrements effectués 1) sur du tissu cardiaque mort, 2) à l'extérieur de ganglions stellaires en contrôle (voir Chapitre 5), 3) à l'intérieur de ganglions en contrôle et 4) pour un bruit blanc ayant une distribution normale.

Les enregistrements de 50 secondes effectués à l'extérieur du chien et à l'extérieur des ganglions, donnent des résultats semblables au bruit blanc. Pour un seuil plus grand que $\pm 5\sigma_n$, aucun potentiel d'action n'est détecté. Pour trois enregistrements effectués dans le ganglion stellaire de chiens, même avec un seuil élevé, le système détecte des PÉD. Ceci permet, dans ces trois enregistrements, d'obtenir une fréquence de décharge d'environ 10 potentiels par seconde, toutefois cette valeur varie d'un chien à l'autre et d'une électrode à l'autre.

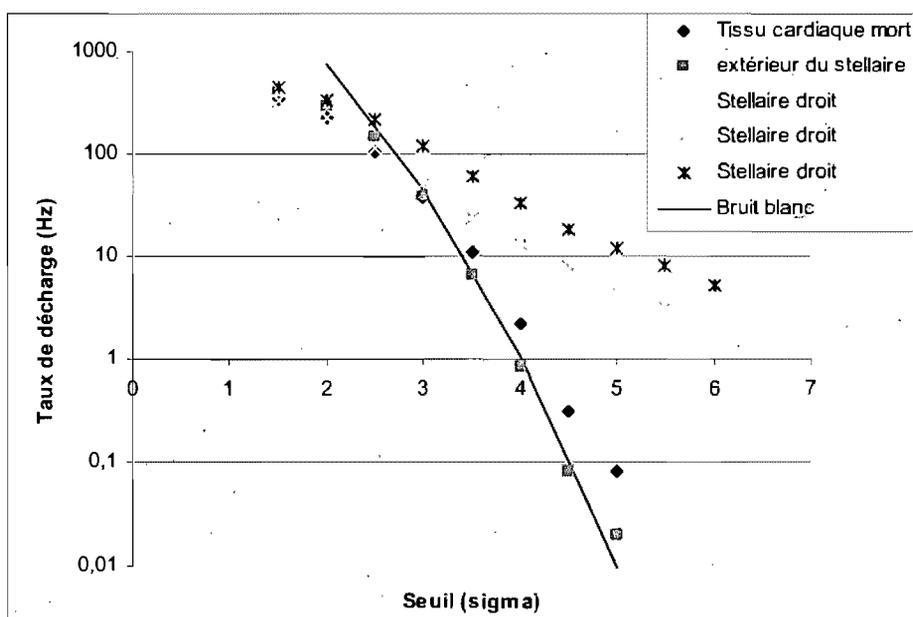


Figure 27 Potentiels détectés en fonction du seuil de détection.

Chapitre 4 Résultats, données brutes

Maintenant que le système est caractérisé et que nous savons qu'il a les caractéristiques nécessaires pour effectuer des enregistrements neuronaux, nous présentons les différents artefacts présents lors d'enregistrements neuronaux ainsi que les moyens d'identifier ces artefacts. Les signaux obtenus peuvent contenir entre autres : une fluctuation de la ligne de base, des artefacts musculaires, des artefacts de mouvement, des artefacts provenant de l'activation électrique du tissu cardiaque qui interfèrent avec les potentiels extracellulaires produits par l'activation de neurones. La reconnaissance des artefacts et les méthodes pour les éliminer est une étape nécessaire pour d'obtenir un signal permettant la détection de l'activité des neurones.

4.1 Stellaire

La Figure 28 montre un enregistrement typique effectué dans le ganglion stellaire avec les signaux hautes et basses fréquences (comparables à la Figure 15). Dans le tracé du bas, on observe une fluctuation basse fréquence produite par la variation du potentiel de polarisation de l'électrode. Dans le signal haute fréquence (fA12), le niveau de bruit a été déterminé comme étant $\sim 3,4 \mu\text{V}$ (rms). En fixant le seuil à $\pm 6 \sigma_m$ ($20,6 \mu\text{V}$), différents potentiels extracellulaires ont été détectés. À chaque fois qu'un potentiel a été détecté sur le signal haute fréquence (portion du signal en noir sur les traces filtrées), un petit pic d'amplitude semblable était présent sur le signal non filtré. L'activité neuronale peut être observée comme des PE individuels, mais aussi comme une série de PE rapprochés qui ressemblent plus à une augmentation soudaine du niveau de bruit qu'à de l'activité neuronale (Figure 29).

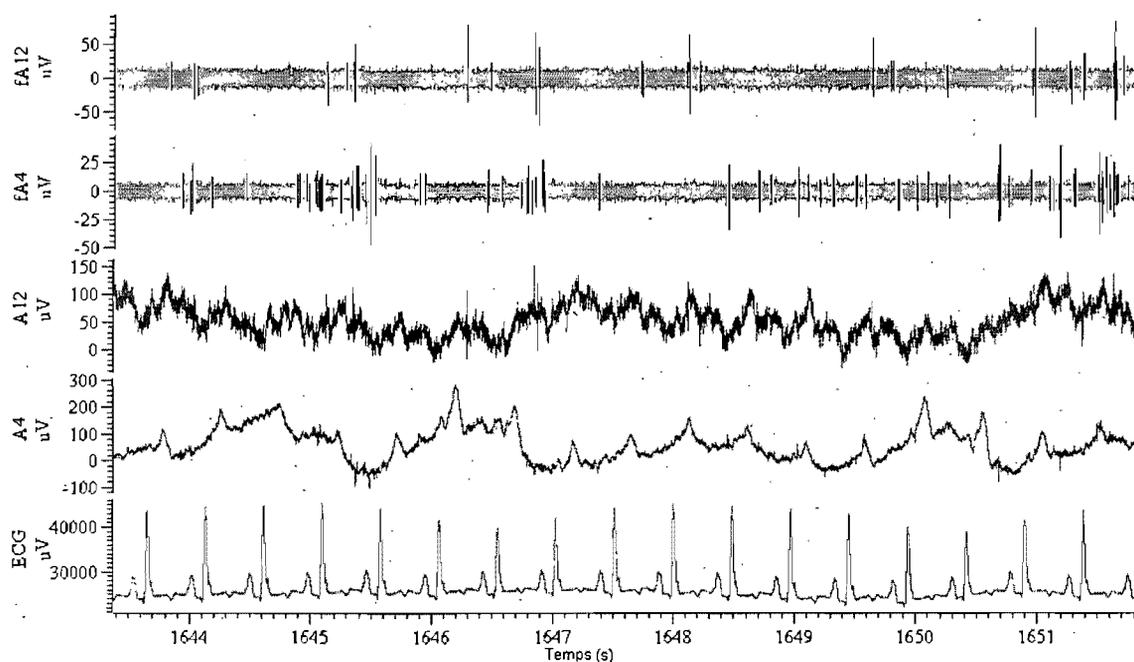


Figure 28 Activité neuronale enregistrée dans le ganglion stellaire gauche (A4) et droit (A12) après dénervation vagale. Marqueurs noirs sur les deux premiers signaux : portion du signal où des PED sont détectés avec un seuil de $\pm 6 \sigma_m$.

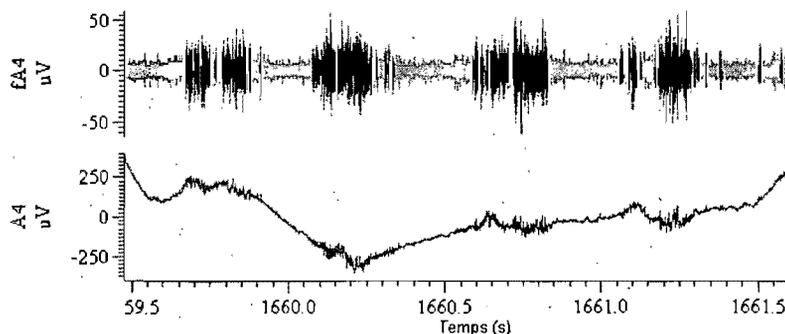


Figure 29 Activité neuronale enregistrée dans le ganglion stellaire gauche. Même conditions que la Figure 28, mais après injection de 250 μg de nicotine intraveineuse

4.2 Artefacts musculaires

Le signal myographique provient de l'activation des cellules musculaires. Dans le thorax, les ganglions stellaires sont situés près de plusieurs fibres musculaires. Ces fibres ne sont habituellement pas activées lors d'enregistrements, mais peuvent être activées dans

certaines conditions. L'application de l'épinéphrine a pour effet d'augmenter la pression et le rythme cardiaque et, lorsqu'elle est donnée en grande quantité, peut provoquer des spasmes musculaires thoraciques. Ces spasmes peuvent être assez importants pour changer la position des électrodes lorsque celles-ci sont fixées à un micromanipulateur. La stimulation électrique des nerfs sympathiques près des ganglions stellaires engendre aussi des contractions musculaires et empêche d'utiliser cette méthode pour induire une activité sympathique. Ces spasmes se produisant sur une grande surface éloignée des électrodes, les PED sont alors synchronisés et d'amplitudes similaires pour toutes les électrodes (Figure 30), ce qui permet d'identifier assez facilement ces artefacts et de les éliminer en post-traitement.

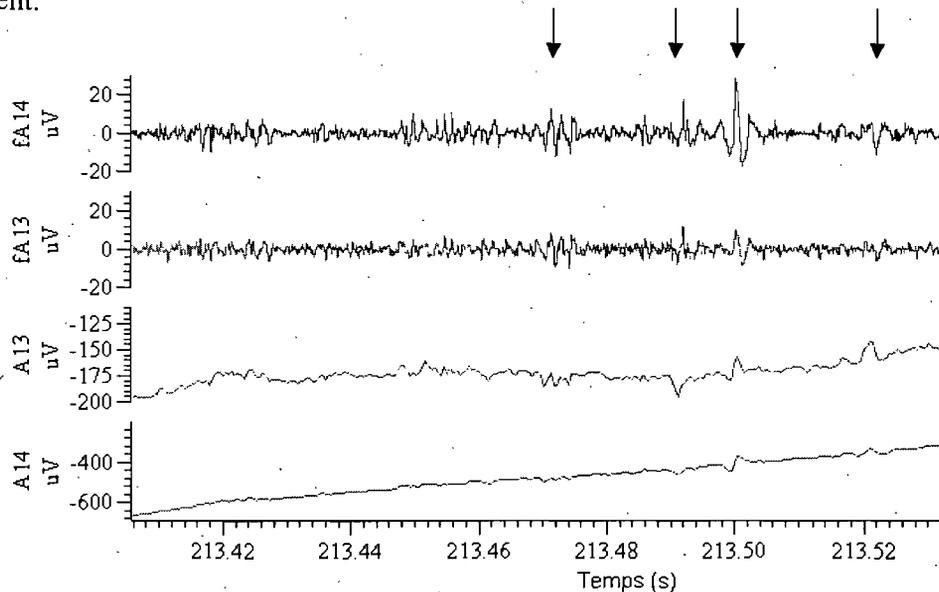


Figure 30 Artefacts produits pas les fibres musculaires lors d'un enregistrement effectué sur le ganglion stellaire droit. Flèches : artefacts musculaires. A13 et A14 sont les signaux bruts et fA13 et fA14 sont les signaux filtrés par un filtre passe-bande (300-2900 Hz).

4.3 Artefacts de mouvement

Pour simuler le mouvement présent lors d'enregistrements du SNCI dans le PGAD, trois électrodes de tungstène ont été connectées au préamplificateur et ont été installées à travers une oreillette (*ex-vivo*). À l'aide d'une pince, l'oreillette et les trois électrodes qui la

traversent ont été immobilisées. D'un côté de la pince, les électrodes ont été connectées au préamplificateur qui était ainsi immobilisé. De l'autre côté de la pince, une autre pince a été fixée au tissu et permettait de simuler un mouvement d'environ 2 mm tel qu'il peut se produire près des électrodes lors d'enregistrements du SNCI.

Le mouvement près des électrodes d'enregistrement produit un changement de potentiel des électrodes d'enregistrement. Un mouvement lent du tissu produit une variation lente du potentiel des électrodes (Figure 31 gauche). Par contre, un mouvement plus rapide produit de rapides sauts de potentiel (Figure 31 centre et droite) qui, une fois filtrés, ressemblent beaucoup à des PE. La présence de sauts de potentiel dans le signal basse fréquence permet d'identifier la majeure partie de ces artefacts.

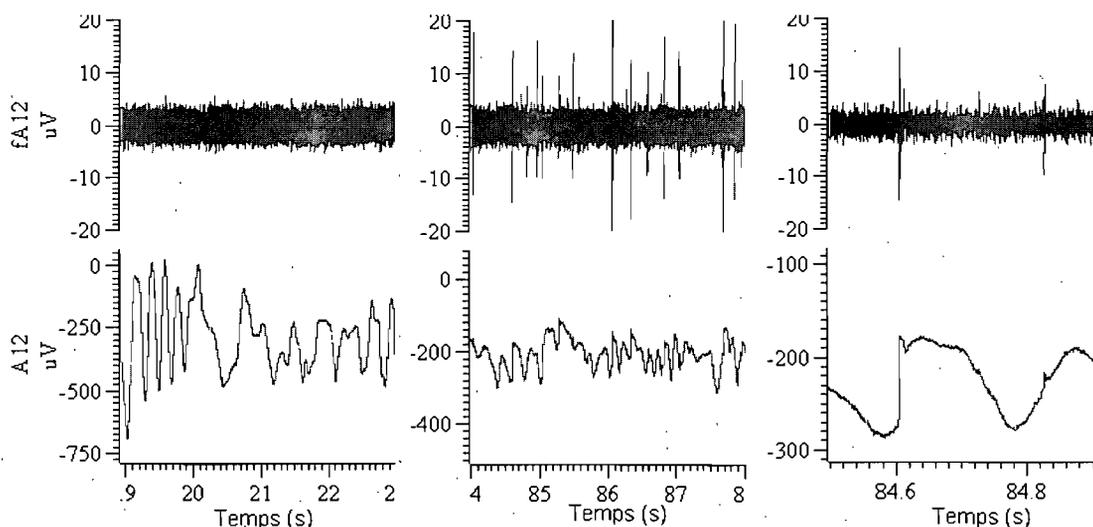


Figure 31 Artefacts de mouvement sur une oreillette *ex-vivo*. Gauche : Mouvement lent. Centre : Mouvement rapide. Droite : agrandissement de la figure du centre. L'échelle de l'ordonnée (μV) est la même pour tous les graphiques.

Lors d'enregistrements sur le cœur, on a obtenu très souvent des artefacts similaires aux artefacts de mouvement obtenus *ex-vivo*. Dans un enregistrement sur le PGAD (Figure 32), après avoir enlevé les artefacts du front d'activation (PED gris), plusieurs PED (noir) sont encore présents. Parmi ceux-ci, certains PED arrivent simultanément avec un saut de potentiel d'environ 2 mV dans le signal basse fréquence (flèche). Ces PED ont une

amplitude trop grande pour être causés par des PE et sont probablement des artefacts causés par le mouvement. Des signaux semblables ont été enregistrés dans l'anneau AV qui, en principe, devrait contenir un très petit nombre de neurones. Ceci suggère encore une fois la présence d'artefacts de mouvement et non de véritables PE.

La fréquence moyenne des PED noirs est présentée (Figure 32 partie e). Les artefacts de mouvement ont une période de 4s, ce qui signifie qu'ils sont présents dans une seule phase de la respiration. De plus, ces artefacts disparaissent à la suite de l'occlusion des deux carotides et réapparaissent après la désocclusion des carotides. Ces artefacts doivent donc être étudiés attentivement pour ne pas les confondre avec de l'activité neuronale activée par la respiration. Les raisons de ce comportement n'ont pas encore été déterminées.

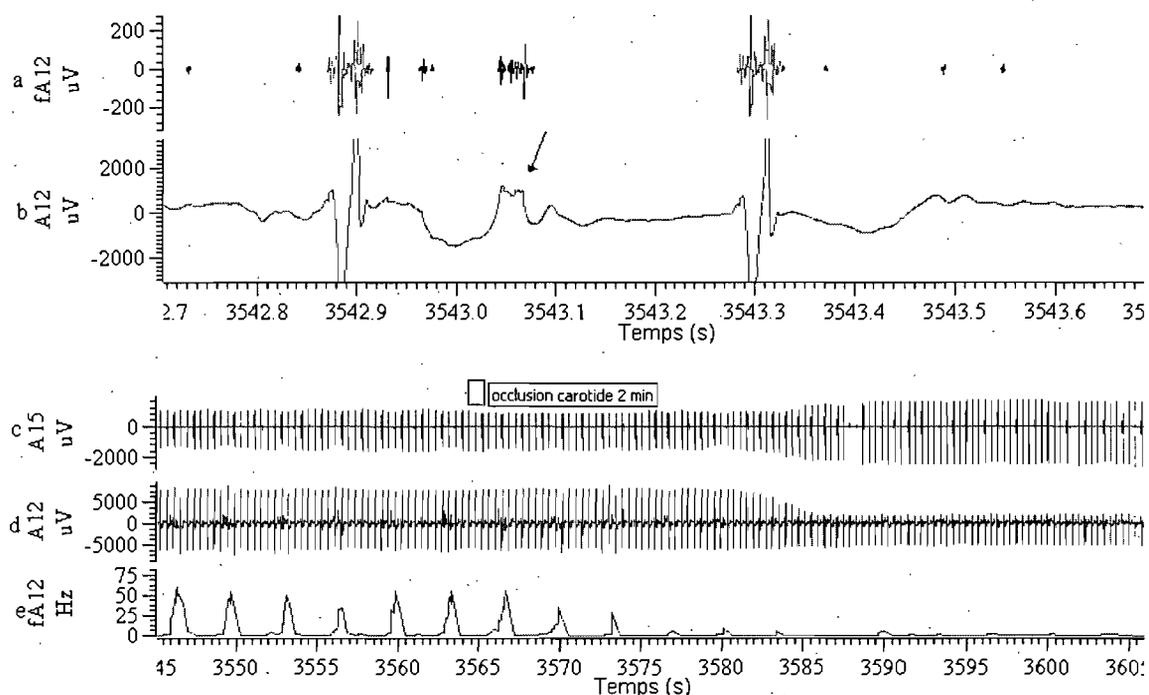


Figure 32 Modulation des PED dans le PGAD. De haut en bas : a) Gris : artefacts de l'activation des oreillettes, noir : autres PED, b, c) d), signaux non filtrés et e) fréquence moyenne des PED noirs de la partie a) (sur une fenêtre glissante de 1 s)

Des artefacts similaires provenant de sauts de potentiels ont aussi été mesurés à l'aide d'un autre montage (Figure 33) en suivant les méthodes d'enregistrement déjà présentées^[50; 51]. Des sauts de potentiels atteignant 20 mV présents dans le signal basse fréquence produisent des artefacts pouvant atteindre 500 μ V une fois filtrés. Ces artefacts peuvent encore une fois être confondus à des PE. Les amplitudes beaucoup plus importantes que celles obtenues avec notre système d'enregistrement peuvent s'expliquer par une très grande différence au niveau de l'impédance d'entrée des préamplificateurs et un filtrage différent des signaux.

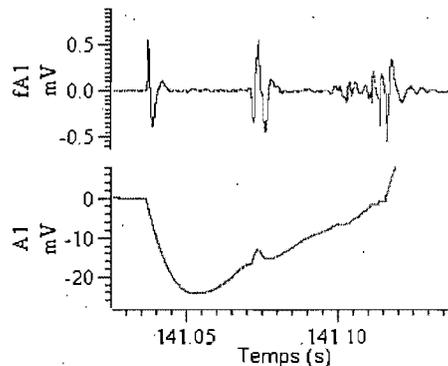


Figure 33 Artefacts observés à l'aide d'un autre appareil de mesure^[50]

4.4 Artefacts du front d'activation électrique

Dans la Figure 32 (a et b), les PED gris montrent l'artefact d'activation électrique des oreillettes. Une fois filtré, le signal conserve un artefact haute fréquence. Toutefois, dans nos enregistrements, la durée de l'artefact (~ 20 ms), l'amplitude du signal (> 2 mV) et son synchronisme avec l'onde P de l'ECG (activation des oreillettes) permettent d'identifier cet artefact avec beaucoup de précision.

La dépolarisation des oreillettes débute dans la région du nœud sinusal pour se propager dans les oreillettes à une vitesse variant de 0,3 à 1 m/s. Deux électrodes placées perpendiculairement au front d'activation mesurent une différence de potentiel pouvant atteindre 2mV/mm lors de la propagation du front d'activation sous les électrodes. Par contre, des électrodes placées parallèlement au front d'activation mesurent une différence

de potentiel beaucoup plus faible. Ainsi, une intervention pharmacologique ou physique modifiant la propagation du front d'activation peut moduler l'amplitude des artefacts. Dans un enregistrement sur le PGAD (Figure 32 c et d), à la suite de l'occlusion des deux carotides, une paire d'électrodes a mesuré une augmentation de l'artefact de dépolarisation, tandis qu'une autre paire a mesuré une diminution de cet artefact.

4.5 Relation impédance des électrodes versus taux de décharge

L'activité neuronale dépend du chien utilisé, du moment de l'enregistrement et de la position des électrodes. Pour déterminer la taille optimale des électrodes, il faut donc comparer une série d'électrodes lors d'un même enregistrement avec les électrodes placées le plus près l'une de l'autre. Dans la Figure 34, on observe une légère augmentation du nombre de PED lorsque l'écart-type du bruit mesuré (σ_m) augmente. On observe un bruit beaucoup plus faible que pour les résultats présentés au Tableau III, puisque l'insertion des électrodes diminue leur impédance.

Lors d'un enregistrement, des électrodes neuves et des électrodes réutilisées à plusieurs reprises ont été utilisées. Dans le cas des électrodes réutilisées, une inspection au microscope optique permettait de déterminer si l'isolant EpoxyLite[®] était toujours présent et si la pointe de l'électrode était courbée, ce qui risquait d'endommager le tissu. Malgré l'utilisation d'électrodes dans un état d'usure différent, il ne semblait pas y avoir de changement notable sur l'amplitude et la quantité des PED.

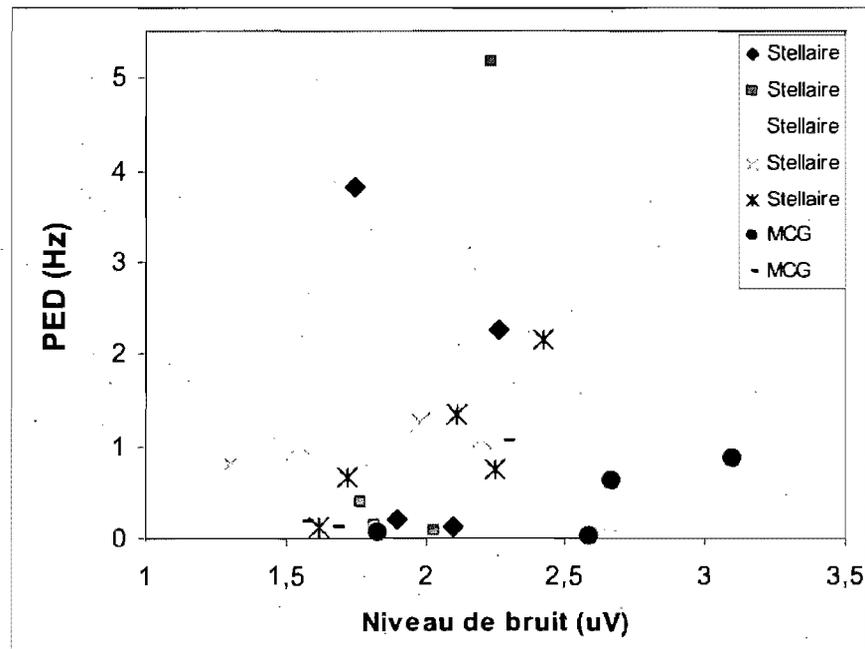


Figure 34 Relation entre l'activité neuronale et l'impédance des électrodes. L'impédance est donnée par la mesure du bruit (σ_m) tel que défini à l'Équation 9. Chaque série présente les résultats pour une série d'électrodes effectués simultanément dans un ganglion.

Chapitre 5 Résultats, contrôle cardiaque local

Dans les derniers chapitres, nous avons vu que le système enregistrait certains artefacts, mais qu'une fois ces artefacts enlevés, les PED étaient suffisants pour analyser l'activité neuronale des ganglions thoraciques. Ce chapitre présentera les premiers résultats obtenus à l'aide du système d'enregistrement.

Pour débiter, la méthodologie utilisée sera présentée suivie d'une description des effets escomptés par les principales interventions chimiques et physiologiques. Ensuite, des enregistrements contrôlés seront analysés et une attention particulière sera portée au synchronisme entre l'activité neuronale, la pression et le rythme cardiaque. L'effet des différentes stimulations chimiques et mécaniques sera étudié pour vérifier la réponse du modèle à différentes stimulations et les différents temps de réponse. Pour terminer, les modèles seront étudiés sous différentes conditions d'innervation du système nerveux cardiaque intrinsèque par le SNC dans le but de découpler les différentes boucles de contrôle cardiaque, soit après dénervation vagale, soit après dénervation vagale et sympathique.

5.1 Méthodologie

5.1.1 Préparation

Toutes les expériences ont été réalisées en accord avec le Conseil Canadien pour la Protection des Animaux et par le comité éthique du centre de recherche de l'hôpital du Sacré-Cœur de Montréal. Neuf chiens (males ou femelles, pas de race pure, voir Tableau IV) ont été anesthésiés avec du Na Thiopental (25 mg/kg IV, ajouté au besoin), intubés et ventilés sous pression positive à l'aide d'un ventilateur mécanique (Harvard Apparatus Co., Natick, Massachusetts). Après une thoracotomie bilatérale, les ganglions stellaires ont été exposés et une incision a été effectuée à leur surface pour percer l'enveloppe de protection du ganglion qui empêche la pénétration des électrodes. Le cœur a été exposé en effectuant une incision du péricarde. Après la chirurgie, l'anesthésiant a été changé pour de l' α -

chloralose (25-50 mg/kg IV, bol administré toutes les heures ou au besoin). Aucune intervention n'a été effectuée dans les 10 minutes suivant toute injection d' α -chloralose à cause de l'effet neurodépresseur de cet anesthésiant^[58].

Sur trois chiens, une épidurale a aussi été effectuée en injectant 1 mg/kg de bupivacaïne dans les segments médullaires T1 et T2, suivie d'un temps d'attente de 30 minutes.

5.1.2 Enregistrements neuronaux

L'insertion des électrodes dans les ganglions pour obtenir une activité neuronale suffisante reste un art plutôt qu'une technique complètement reproductible. Une fois les électrodes insérées dans un ganglion, un enregistrement contrôlé de 5 minutes a été effectué pour déterminer la stabilité de l'enregistrement. Si l'activité neuronale était trop faible, l'électrode était enlevée et réinsérée dans le ganglion. Lorsque les électrodes étaient insérées et que l'activité neuronale était très faible, un bol de nicotine de 250 μ g était injecté pour déterminer si les électrodes enregistraient une activité neuronale influencée par des interventions pharmacologiques ou s'il s'agissait seulement d'un bruit de fond. De façon très approximative, si après cinq insertions aucune activité neuronale d'amplitude importante n'avait été détectée, des insertions subséquentes ne permettaient pas, en général, d'augmenter l'activité neuronale mesurée.

Pour les enregistrements effectués sur le PGAD, le chien était tourné sur le côté gauche pour avoir accès à la couche de tissus adipeux contenant le PGAD. Un anneau formé de fil de gros calibre était placé autour de PGAD pour limiter le mouvement provoqué par la contraction cardiaque. Une incision était effectuée à la surface de la couche de gras pour percer l'enveloppe de protection et les électrodes étaient insérées dans le PGAD.

5.1.3 Interventions sur les boucles de contrôle

5.1.3.1 En contrôle

Pour analyser la contribution des différentes boucles réflexes sur le contrôle cardiaque, les enregistrements et les mêmes interventions pharmacologiques ont été effectués sur des chiens avant et après interruption de différentes boucles réflexes. Dans un premier temps, les enregistrements ont été effectués sans qu'aucun nerf ne soit sectionné, pour obtenir un système presque intact que nous avons considéré comme un état contrôle.

Certaines boucles de contrôle n'étaient toutefois pas présentes. Le chien étant sous respirateur, son cycle respiratoire demeurait constant tout au long de l'expérience. De plus, la thoracotomie éliminait une grande partie des mécanorécepteurs thoraciques reliés à la respiration puisque la cage thoracique ne changeait plus de volume. D'autre part, l'injection d' α -chloralose à toutes les heures induisait une perturbation dont il a fallu tenir compte.

5.1.3.2 Dénervation parasympathique

La deuxième série d'enregistrements a été réalisée après dénervation parasympathique. Au début de l'expérience, les nerfs vagues étaient attachés au niveau cervical avec du fil de soie, ce qui permettait d'y avoir accès ultérieurement et de les couper pour effectuer la dénervation vagale. Après la dénervation vagale, le système parasympathique ne pouvait pas agir directement sur le cœur. Le système parasympathique pourrait cependant encore agir sur le cœur par une interaction avec le système sympathique dans le bulbe rachidien.

5.1.3.3 Dénervation sympathique

La troisième série de données a été obtenue après avoir coupé les nerfs innervant les ganglions stellaires depuis la colonne vertébrale. En agissant ainsi, le cœur et les ganglions stellaires ne devraient plus recevoir d'information du SNC. L'activité nerveuse mesurée dans le ganglion stellaire pourrait cependant être modulée par des nerfs afférents, venant du

thorax et du cœur, qui se connectent directement au ganglion stellaire. Le système sympathique continuait malgré cela d'agir sur le système périphérique puisque les nerfs efférents sympathiques de la moelle épinière ne passent pas tous par les ganglions stellaires.

5.1.3.4 Épidurale

Dans les dernières séries d'expériences, plutôt que de dénervé les ganglions stellaires, une épidurale a été effectuée dans les segments médullaires T1 et T2. On espérait, en agissant de la sorte, éliminer toutes les boucles réflexes avec la moelle épinière et éliminer encore plus l'effet du système nerveux central sur le système périphérique.

5.1.4 Interventions pharmacologiques

Avant chaque intervention, un enregistrement contrôle d'au moins deux minutes a été effectué. Ensuite les interventions suivantes ont été effectuées :

- Une dose IV de 250 µg de nicotine injectée dans la veine fémorale, suivie de 5 minutes d'enregistrement,
- Une dose IV de 250 µg de phényléphrine injectée dans la veine fémorale, suivie de 10 minutes d'enregistrement,
- Une dose IV 100 µg de dobutamine injectée dans la veine fémorale, suivie de 5 minutes d'enregistrement,
- Une dose IV 100 µg d'épinéphrine injectée dans la veine fémorale, suivie de 10 minutes d'enregistrement,
- La stimulation électrique du nerf vague droit au niveau cervical (Stimulus de 1 ms, 1,5 mA, répétés toutes les 0,1 s durant 30 s),
- L'occlusion des carotides pendant 2 minutes, suivie de la désocclusion pendant 2 minutes (répétée 5 fois).

5.1.4.1 α-chloralose

L'α-chloralose, utilisé comme anesthésiant, a un effet inhibiteur assez faible sur le système nerveux autonome. Toutefois, le texte qui suit montre que les effets sur le système cardiovasculaire sont assez variés^[59].

SAZAWA (1938a, b) found that the mean arterial pressure fell temporarily and that the hypertensive action of splanchnic stimulation was not exaggerated with chloralose. Recently, MALMEJAC et al. (1950) reported

that chloralose temporarily inhibits the secretion of adrenaline and gave evidence that this action is the result of a dual mechanism, primarily central but, to some extent, a peripheral action upon the adrenal medulla. Parallel to this is the observation in rats that chloralose suppresses the hypertensive action of minimal doses of nicotine, reported by HAZARD and SAVINI (1954). [...] With regard to the effect of alpha chloralose on the sympathetic regulation of cardiovascular functions, studies by GAUTRELET et al. (1926), BARGY and GAUTRELET (1928) and TOURNADE and TOURNADE (1936) were interpreted as showing that this drug slightly increases the excitability of the sympathetic system by mild adrenergic action. For instance, they observed that in comparison with controls the injection of atropine produces less marked acceleration of the heart rate, while the injection of adrenalin produces a greater increase in blood pressure in chloralosed animals. [...] On the other hand, JOURDAN and GUILLET (1942) reported that chloralose slightly stimulates the vasomotor centers, while strongly suppressing peripheral vascular tone because it always lowers the arterial pressure of the rachianesthetized dog. On the contrary, more recent work by CIER (1951) has shown that chloralose abolishes the cardiac and vascular reflexes which accompany the sciatic stimulation of a spinal animal and also depresses centrally the cardiovascular functions. [...] Specifically, it was found that the animals which are most rapidly and deeply anesthetized were those which presented a marked vagotonia. They also showed that after inhibiting the excitability of the parasympathetic with atropine the animals were less sensitive to the anesthetic action of chloralose, while, on the contrary, when the vagal excitability was augmented with eserine the anesthesia was rapid and profound.

L'effet de l' α -chloralose est marqué durant les dix premières minutes suivant l'injection (Figure 35). Pour cette raison, au cours de toutes les expériences, aucune intervention n'a été effectuée durant ces dix premières minutes. Après les changements importants (de la pression et du rythme cardiaque) des dix premières minutes, les variables convergeaient lentement, et de façon monotone, vers leurs valeurs initiales (avant l'injection). Ce régime était assez stable. Toutefois il faut toujours être prudent quant à l'interprétation d'enregistrements effectués à des moments différents de l'expérience puisque l'effet de l'anesthésiant est toujours à prendre en considération.

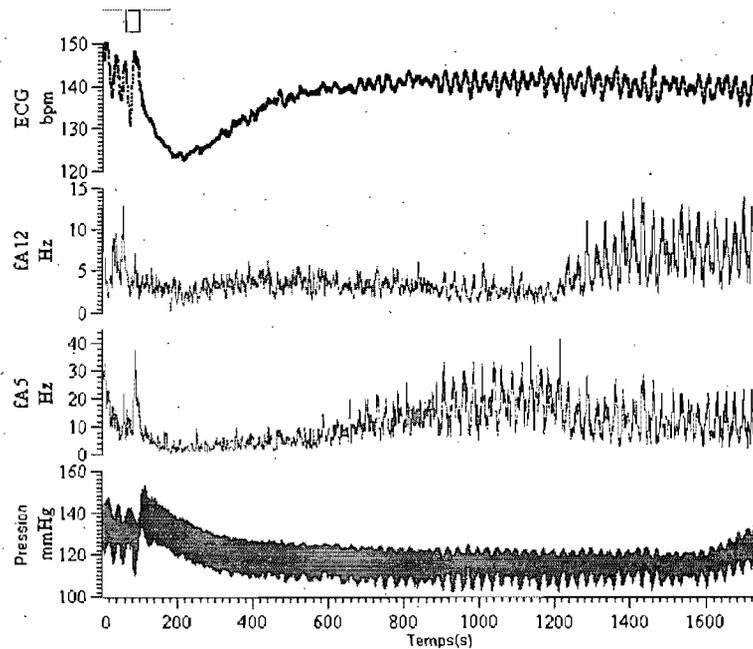


Figure 35 Effet en contrôle de l' α -chloralose. Carré : injection d' α -chloralose. Légende : ECG / bpm : rythme cardiaque ventriculaire en battements par minute. fa5 et fa12 / Hz : Fréquence moyenne des PED sur une fenêtre glissante de 1 s, définie par le nombre de PED/1 s. Pression / mmHg : Pression fémorale. À moins d'indications contraires les termes bpm, Hz et mmHg représenteront les mêmes définitions dans les graphiques subséquents.

5.1.4.2 Nicotine

L'acétylcholine est une molécule flexible qui peut à la fois se lier aux récepteurs nicotiques et muscariniques. La nicotine mime et module l'action de l'acétylcholine en se liant au récepteur nicotique, ce qui ouvre les canaux ioniques, laisse entrer le sodium à l'intérieur des neurones, produit une dépolarisation et génère des potentiels d'action. Une fois la cellule totalement dépolarisée, les potentiels d'action ne peuvent plus être produits puisque ceux-ci nécessitent la présence d'une membrane polarisée. La nicotine produit donc une stimulation suivie d'une inhibition des ganglions sympathiques et parasympathiques^[60]. De faibles doses engendrent simplement une stimulation puisque la membrane n'est pas suffisamment dépolarisée pour produire une inhibition. Chez les sujets

sains, la nicotine augmente la production de norépinéphrine par une stimulation des neurones post ganglionnaires et d'épinéphrine par une stimulation des glandes surrénales. Il en résulte une accélération du rythme cardiaque et une augmentation de la pression artérielle et du volume d'éjection^[61]. Un prétraitement par des α et β bloquants supprime les effets cardio-vasculaires et métaboliques de la nicotine indiquant que ces effets sont contrôlés par le système nerveux sympathique^[62]. Avec des doses extrêmes, telles qu'observées au cours d'un empoisonnement accidentel, la nicotine agit toujours sur le système sympathique. En plus, elle provoque une hypotension et une bradycardie soit par blocage ganglionnaire, par stimulation afférente vagale ou par un effet inhibiteur dû à une action directe sur le cerveau^[63]. Chez les lapins, l'injection de nicotine dans le sac péricardique (~50 à 400 μg) produit une chute de pression et une bradycardie qui se transforme en une tachycardie après dénervation des nerfs vagues^[64], ce qui indique que la nicotine agit aussi sur les neurones parasympathiques de l'épicarde. La nicotine affecte à la fois les systèmes sympathique et parasympathique, en agissant sur les ganglions sympathiques du thorax et sur les ganglions parasympathiques du SNCI.

Les doses de nicotine injectées (250 μg) sont considérées comme de fortes doses. En administrant une dose intraveineuse de nicotine, on vise à stimuler puis par la suite à inhiber les ganglions sympathiques. Selon l'état d'innervation du chien, on peut observer en plus l'effet de la nicotine sur le SNCI.

5.1.4.3 Phényléphrine

La phényléphrine mime l'action que provoque l'activation systémique des nerfs adrénergiques avec un fort effet sur les récepteurs α -adrénergiques et un faible effet sur les récepteurs β -adrénergiques. Une élévation de la pression artérielle se produit à la suite d'une constriction des artérioles et une constriction des veines qui augmente le retour veineux vers le cœur. La phényléphrine a un faible effet sympathique sur le cœur à travers les récepteurs β -adrénergiques et à travers une inhibition de la production d'acétylcholine des terminaisons parasympathiques par les récepteurs α -adrénergiques^[65]. Les autres effets

sur le cœur sont produits de façon indirecte par l'effet systémique de la phényléphrine. Par voie intraveineuse, la durée d'action est de 15 à 20 minutes^[66].

5.1.4.4 Dobutamine

La dobutamine agit principalement sur les récepteurs cardiaques β -adrénergiques, ce qui augmente la force de contraction et diminue le temps de conduction AV. La dobutamine peut entraîner une augmentation importante de la fréquence cardiaque ou de la pression artérielle, notamment de la pression systolique. La demi-vie sérique de la dobutamine est de 2 minutes chez l'homme et aucun effet spécifique sur le système vasculaire n'a été remarqué^[67].

Puisque la dobutamine agit de façon spécifique sur le cœur, elle permet d'obtenir une réponse cardiaque directe. Par boucle réflexe, les contrôles sympathique et parasympathique agissent sur les plans systémique et cardiaque pour rétablir les paramètres (fréquence cardiaque, pression artérielle, etc.) près des valeurs normales.

Du point de vue systémique, l'effet recherché de la dobutamine est l'inverse de celui de la phényléphrine. Les effets sur les ganglions stellaires et le cœur sont produits par l'effet des boucles de contrôle sympathique et parasympathique.

5.1.4.5 Épinéphrine

L'épinéphrine mime l'action que provoque l'excitation des nerfs adrénérgiques. Elle agit principalement sur les récepteurs β du système sympathique (cœur, vaisseaux et autres muscles lisses) et aussi sur les récepteurs α . Les injections rapides d'épinéphrine augmentent la pression artérielle, principalement la pression systolique, augmentent la force de contraction ventriculaire, ainsi que la fréquence cardiaque, et produisent une vasoconstriction périphérique. Lorsque administrée par injection lente, l'épinéphrine provoque habituellement une élévation modérée de la pression systolique et une chute de la pression diastolique^[68].

L'injection d'épinéphrine n'agit pas directement sur le système nerveux, mais simule plutôt l'effet de l'activation sympathique sur les cellules post synaptiques. Du point de vue nerveux, les mécanismes réflexes qui agissent en conséquence devraient diminuer l'activité nerveuse sympathique et augmenter l'activité nerveuse parasympathique. Notre idée préconçue et erronée que l'épinéphrine stimulerait l'activité neuronale sympathique nous a amené à l'utiliser en IRM fonctionnelle pour observer l'activité neuronale des ganglions stellaires.

5.1.4.6 Stimulation électrique des nerfs vagues

Dans un système intact, la stimulation vagale a pour effet de stimuler les efférents et les afférents parasympathiques. L'action efférente diminue le rythme cardiaque et la force de contraction, ces deux facteurs contribuant à réduire l'output cardiaque et la pression artérielle^[6]. Ces deux effets devraient par la suite entraîner une augmentation de l'activité sympathique par boucle réflexe. Toutefois, la stimulation des afférents parasympathiques a aussi un effet d'inhibition du système sympathique dans le tronc cérébral^[1; 21]. C'est pourquoi, une fois les nerfs vagues coupés, les stimulations électriques sont répétées sur les parties caudales (vers le cœur) et crânielles (vers le tronc cérébral) des nerfs vagues pour examiner l'effet des deux voies de modulation du tonus sympathique.

5.1.4.7 Occlusion des carotides

L'occlusion des carotides diminue le débit sanguin crânien, ce qui diminue la pression au niveau des barorécepteurs carotidiens, augmente la résistance périphérique et augmente la pression mesurée par les barorécepteurs aortiques. L'effet recherché est d'activer le baroréflexe. Le plus gros changement de pression survenant au niveau des carotides, on s'attend à une diminution de l'activité des barorécepteurs, à une augmentation de l'activité sympathique et à une inhibition de l'activité parasympathique. Lors de la dé-occlusion, l'effet inverse est recherché. Simultanément avec l'activation des barorécepteurs carotidiens, les barorécepteurs aortiques devraient être activés et pourraient s'opposer à l'effet recherché.

5.1.4.8 Analyse spectrale

Inter-battement

L'analyse spectrale a été effectuée sur trois paramètres différents : l'intervalle R-R, la pression systolique maximale de chaque battement ainsi que l'intervalle inter PED pour chaque PED détecté. Toutes les valeurs obtenues sont interpolées et ré-échantillonnées à 10 Hz et la ligne de base est éliminée par soustraction d'un polynôme de deuxième ordre. Par la suite, l'analyse spectrale (spectre et co-spectre) est effectuée sur deux fenêtres de 100 s et la valeur moyenne est calculée pour chaque fréquence.

Comparaison des enregistrements

Pour comparer les différents enregistrements, différentes valeurs ont été extraites des co-spectres. Les fréquences ayant la plus grande cohérence ont été déterminées pour les fréquences de 0,012 à 0,05 Hz (ondes de Mayer) et 0,24 à 0,26 Hz (respiration). Pour ces fréquences, la cohérence et la phase ont été extraites.

La signification statistique de la cohérence obtenue pour chaque enregistrement a été évaluée en utilisant la méthode des données de substitution^[69; 70]. Cette méthode a été utilisée pour étudier la cohérence entre d'une part la pression systolique et d'autre part le rythme cardiaque et l'activité du ganglion stellaire. Pour chaque enregistrement de 200 s, un ensemble de 500 séries temporelles ont été créées dans lesquelles les intervalles RR sont distribués selon une courbe normale ayant la même moyenne et le même écart-type que la distribution mesurée. Ces séries de substitution correspondent à l'hypothèse nulle puisqu'elles n'ont pas de cohérence avec la pression. De nouvelles séries de PED ont aussi été créées. Elles ont le même nombre PED que l'enregistrement initial, mais suivant une distribution temporelle uniforme. En calculant la cohérence entre la série temporelle de la pression et ces séries de substitution, une distribution de la valeur de cohérence caractérisant l'hypothèse nulle a été obtenue. En calculant le pourcentage des copies donnant une cohérence supérieure à celle mesurée expérimentalement, on a obtenu l'erreur

de type 1 associée au rejet de l'hypothèse nulle. Ce test statistique est utilisé pour déterminer si le pic de cohérence provient d'une fluctuation aléatoire.

5.1.5 Synthèse des interventions

Tableau IV Résumé des chiens utilisés

Groupe	Interventions	Commentaire
Groupe 1 (4 chiens)	<ul style="list-style-type: none"> - Nicotine - Phényléphrine - Dobutamine - Épinéphrine - Stimulation des nerfs vagues 	<p>Toutes les interventions sont faites avant et après dénervation vagale cervicale.</p> <p>Pour deux chiens, les interventions ont aussi été répétées après dénervation sympathique.</p>
Groupe 2 (5 chiens)	<ul style="list-style-type: none"> - Nicotine - Occlusion carotide - Stimulation des nerfs vagues 	<p>Toutes les interventions sont faites avant et après dénervation vagale cervicale.</p> <p>Pour trois chiens, les interventions ont aussi été répétées après une épidurale.</p>

Tableau V Résumé des interventions et effets recherchés

Interventions	Effets recherchés dans le ganglion stellaire
250 µg de nicotine injectée dans la veine fémorale	Stimulation de l'activité neuronale sympathique.
250 µg de phényléphrine injectée dans la veine fémorale	Augmentation systémique de la pression pour modifier l'activité sympathique.
100µg de dobutamine injectée dans la veine fémorale	Augmentation de l'output cardiaque pour modifier l'activité sympathique.
100 µg d'épinéphrine injectée dans la veine fémorale	Augmentation de l'output cardiaque pour modifier l'activité sympathique.
Stimulation électrique du nerf vague droit au niveau cervical	Bradycardie, stimulation de l'activité sympathique.
L'occlusion des carotides pendant 2 minutes, suivie 2 minutes après, de la désocclusion	Baisse de pression au niveau des barorécepteurs, augmentation de l'activité sympathique.
Injection de α-chloralose	Maintenir l'anesthésie.
Dénervation parasympathique	Éliminer l'effet du contrôle parasympathique provenant du SNC.
Dénervation sympathique	Éliminer l'activité des ganglions stellaires provoquée par le SNC.
Épidurale	Éliminer l'activité des ganglions stellaires provoquée par le SNC.

5.2 Enregistrement contrôle

5.2.1 Modulation en contrôle

Lors d'enregistrements contrôle, la pression artérielle, le rythme cardiaque et l'activité neuronale pouvaient osciller selon des rythmes lents. Ces oscillations pouvaient atteindre 5 % de la pression ou du rythme cardiaque et produire des oscillations encore plus importantes de l'activité neuronale (Figure 36). Un cycle de $\sim 0,25$ Hz était presque toujours présent et correspondait à la fréquence du respirateur et un autre cycle plus lent de 0,012-0,05 Hz était souvent présent. Chez les chiens conscients, le cycle de 0,1 Hz est souvent associé aux ondes de Mayer mais une fréquence d'oscillation plus lente peut apparaître lorsque les chiens sont dans un état inconscient^[12].

L'activité neuronale est maximale lorsque la pression fémorale est minimale et, inversement, l'activité neuronale est minimale lorsque la pression est maximale (deux marqueurs verticaux de la Figure 36). Dans le modèle classique, ces résultats peuvent être expliqués par le baroréflexe. Lorsque la pression est minimale, l'activité des barorécepteurs diminue. Ceci diminue aussi l'inhibition du système sympathique que ces derniers provoquent, avec pour résultat une augmentation du rythme cardiaque et de la pression artérielle.

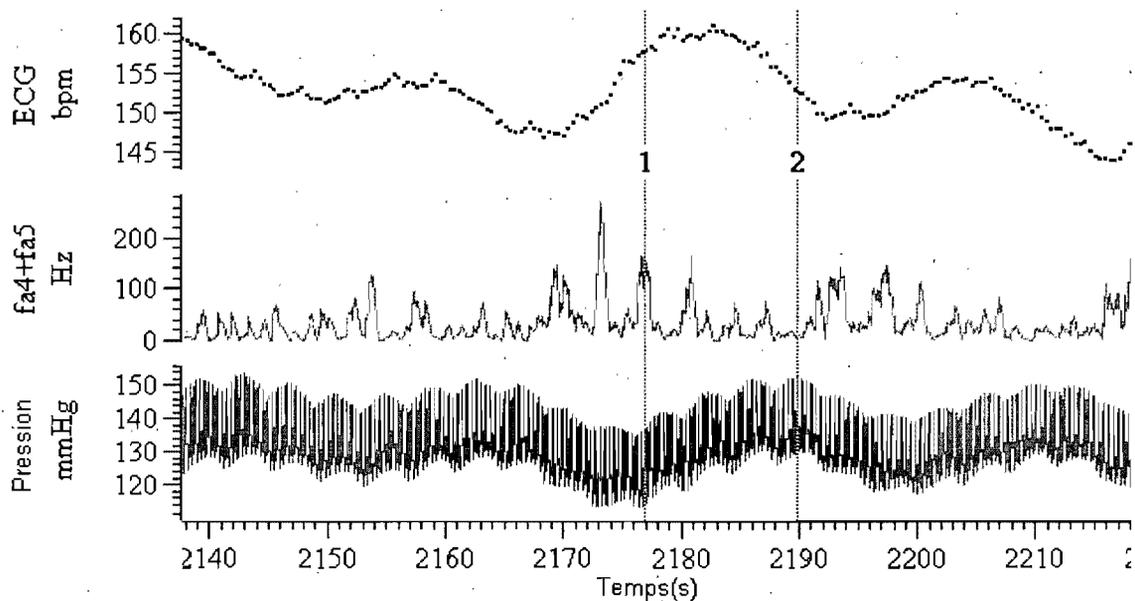


Figure 36 Modulation de l'activité neuronale du ganglion stellaire droit en contrôle.
Légende, de haut en bas : rythme cardiaque, activité neuronale dans le ganglion stellaire droit, pression fémorale.

5.2.2 Analyse spectrale

Les oscillations observées dans la Figure 36 se traduisent, dans le domaine spectral, par un pic à $\sim 0,25$ Hz (respiration) et un pic à $\sim 0,04$ Hz (période ~ 25 s) dans le spectre de puissance de l'intervalle R-R, de la pression maximale et de l'intervalle inter PED (voir méthodologie chapitre 5.1.4.8). Le co-spectre a permis de déterminer les fréquences pour lesquelles deux valeurs étaient les plus cohérentes. Dans le co-spectre entre l'intervalle R-R et la pression, on a obtenu un pic de cohérence pour une fréquence de $0,04$ Hz. À cette fréquence, la phase est de -71° , le maximum de l'intervalle R-R arrive donc $4,9$ s ($71^\circ/360^\circ \cdot 25$ s) après celui de la pression. La phase entre le rythme cardiaque et l'intervalle R-R étant de 180° , on peut aussi dire que l'augmentation du rythme cardiaque précède celle de la pression fémorale de $7,6$ s ($((180^\circ - 71^\circ)/360^\circ) \cdot 25$ s).

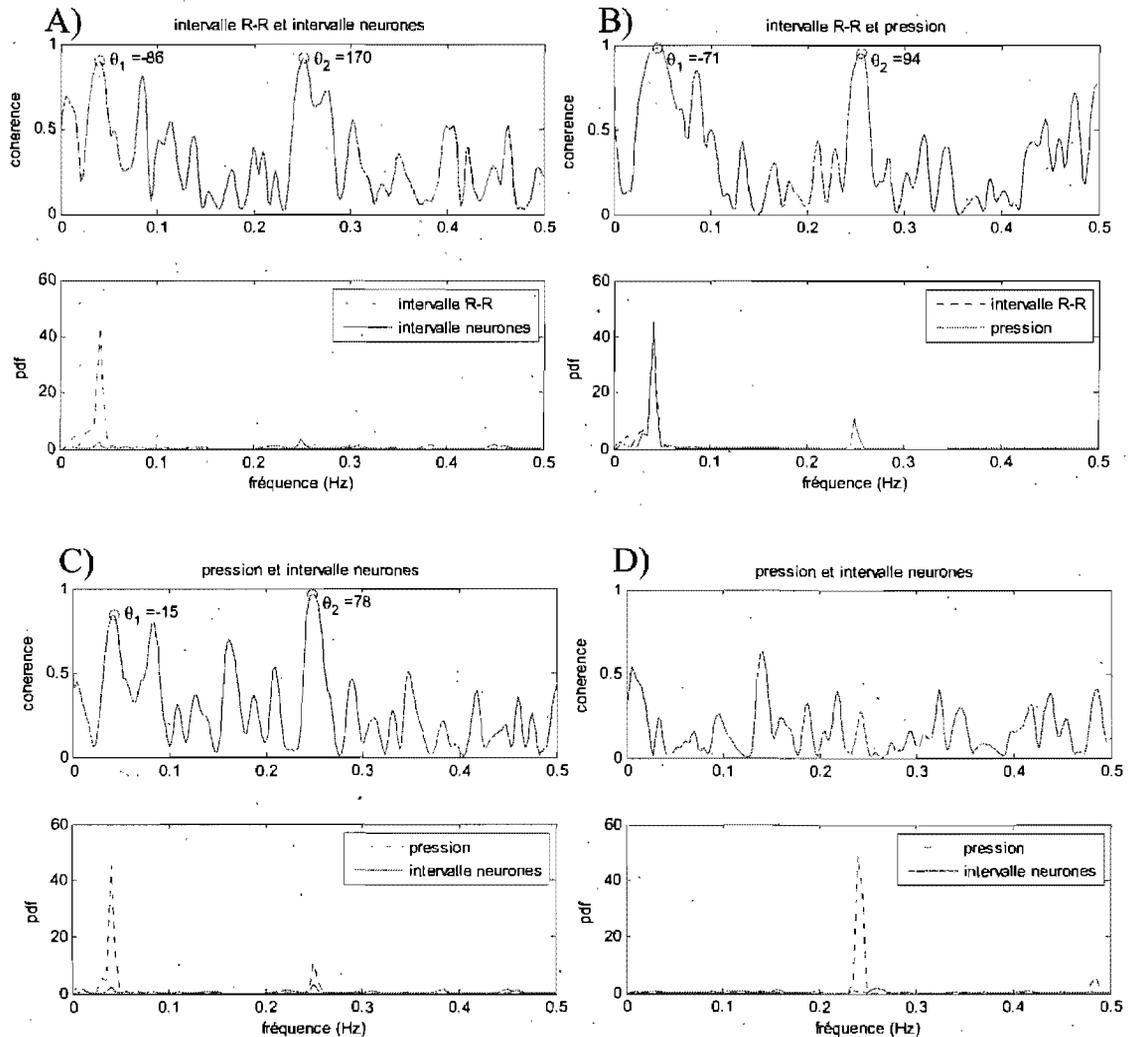


Figure 37 Fonction de cohérence et spectre de puissance, mesurés pour l'intervalle R-R (période d'un cycle cardiaque), la pression maximale dans un cycle cardiaque et l'intervalle inter PED pour un chien. A) : Intervalle R-R - pression. B) : Intervalle R-R - intervalle PED, C) Pression - intervalle R-R. Les cercles indiquent les valeurs de cohérence maximale et les phases associées à ces maxima. D) Intervalle R-R - pression pour un autre chien où la cohérence ne montrait pas de maximum.

Le maximum du rythme cardiaque arrive 6 s ($86^{\circ} \cdot 25$ s) après celui de l'activité neuronale, ce qui peut être associé à l'augmentation de l'activité sympathique qui produit une augmentation du rythme cardiaque suivant une lente cascade de signalisation. Quant à lui, le maximum de la pression arrive 165° ($-15^{\circ} + 180^{\circ}$) avant le maximum de l'activité

neuronale et est pratiquement en anti-phase avec l'activité neuronale. Ce comportement correspond au baroréflexe du modèle classique (note : la phase entre l'activité neuronale et l'intervalle inter PED est de 180°): Dans ce modèle, la baisse de pression devrait entraîner une augmentation de l'activité neuronale. Dans l'expérience, c'est cependant l'inverse qui s'est produit puisque le minimum de pression arrive 1 s ($(165-180)^\circ \cdot 25s$) après le maximum d'activité neuronale.

Pour une fréquence de 0,04 Hz, les relations entre les phases, les maxima des fréquences cardiaques et neuronales et le maximum de la pression systolique de la Figure 37 sont résumées dans le panneau gauche de la Figure 38.

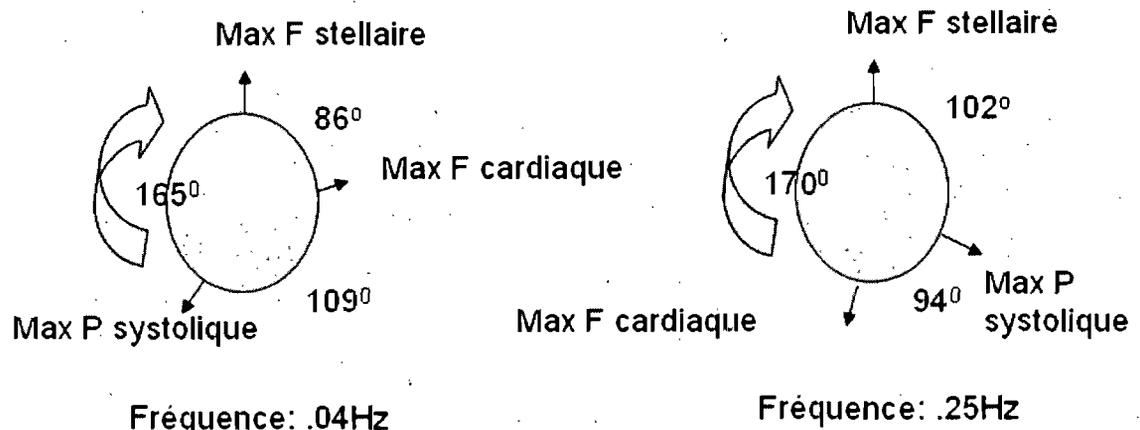


Figure 38 Relation entre les phases, le maximum des fréquences cardiaques et neuronales et le maximum de la pression systolique de la Figure 37 (graphiques A, B et C).

Dans le cycle relié à la respiration, l'augmentation du rythme cardiaque arrive 1 s ($94^\circ \cdot 4 s$) après l'augmentation de la pression. Le rythme cardiaque arrive 1,9 s ($170^\circ \cdot 4 s$) avant l'activité neuronale, ce qui signifie que le rythme cardiaque et l'activité neuronale sont en anti-phase. Le maximum de pression arrive 1,1 s ($102^\circ \cdot 4 s$) après l'activité neuronale maximale. Le panneau droit de la Figure 38 résume les relations de phase entre les différentes variables à la fréquence de la respiration.

Pour le cycle respiratoire et les ondes de Mayer, les différents paramètres ne suivent pas le même ordre. On peut, par exemple, postuler qu'il existe un délai constant entre l'activité neuronale et le rythme cardiaque. Pour une fréquence de 0,04 Hz, le délai entre l'activité neuronale et le rythme cardiaque est de 6 secondes. Reporté sur le cycle respiratoire de 0,25 Hz, cela correspond à un délai de 537° (ou 177°), ce qui est près de la valeur de 170° que nous avons mesurée. Toutefois pour vérifier cette hypothèse, il faudrait des enregistrements stables sur une plus longue période de temps afin d'obtenir des mesures de phase plus précises. De plus, il faudrait expliquer la relation de phase différente pour la pression aux deux fréquences, qui peut être liée au fait que les deux oscillations n'ont pas la même source. En fait, la source des ondes de Mayer reste encore controversée^[12]. Dans la presque totalité des chiens, une cohérence assez importante est observée entre les différents paramètres à la fréquence de respiration. La cohérence associée aux ondes de Mayer est toutefois beaucoup plus variable d'un animal à l'autre. Les panneaux inférieurs droits de la Figure 37 montrent les résultats venant d'un autre chien. Des oscillations à 0,25 Hz sont présentes, mais les oscillations à basse fréquence ne sont pas visibles dans le spectre de fréquence. De plus, la cohérence entre l'activité neuronale et la pression n'est pas statistiquement significative.

Nous avons montré (Figure 36 et Figure 37) que la modulation de la pression, du rythme cardiaque et de l'activité neuronale peuvent suivre des oscillations de $\sim 0,25$ s et de $\sim 0,04$ s. Ces valeurs ne sont malheureusement pas toujours stables dans le temps (Figure 39 et Tableau VI, #1 à 11). La stabilité des oscillations, de la phase et de la cohérence a été étudiée sur un enregistrement contrôle où la seule intervention a été l'administration d' α -chloralose comme anesthésique. Les cohérences restent stables et significatives, la valeur étant près de 1 pour tout l'intervalle. Cependant, la phase entre les différents paramètres n'est pas tout à fait stable et peut varier jusqu'à 50° sur une période de 1100 s. Il faut donc être prudent en analysant les phases et la cohérence à des moments différents de l'expérience puisque la différence peut être causée par une modification du contrôle et non par l'effet de l'intervention.

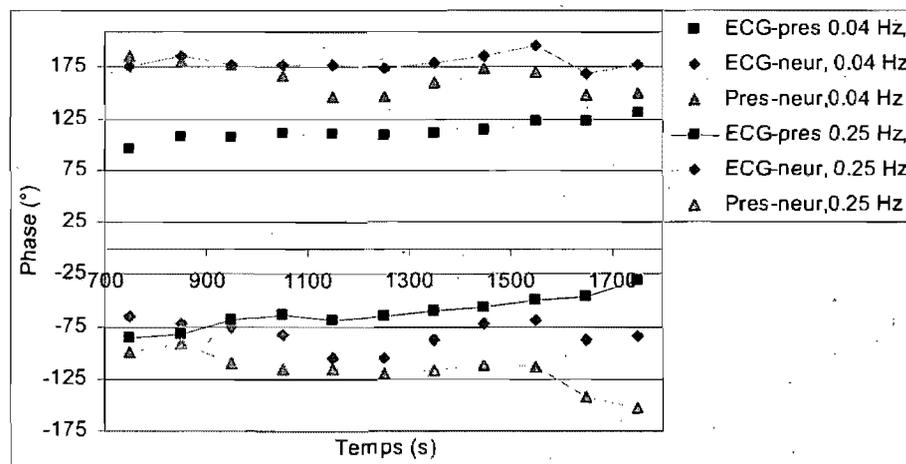
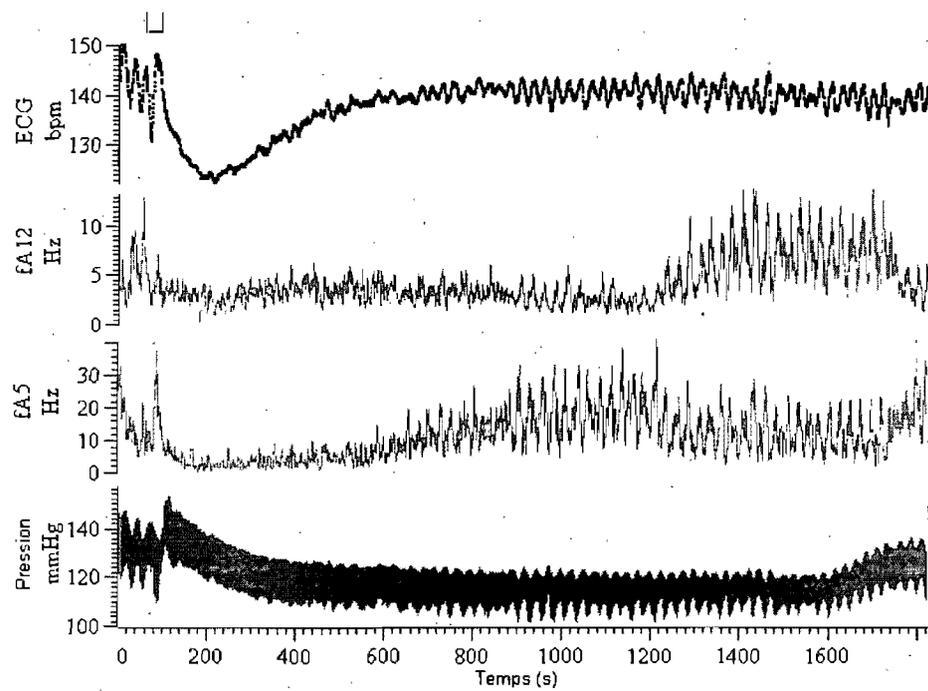


Figure 39 Évolution de la phase entre le rythme cardiaque, la pression et l'activité neuronale après injection de α -chloralose. Haut : Évolution dans le temps. Fa5 : Activité neuronale dans le ganglion stellaire droit. Fa12 : Activité neuronale dans le ganglion stellaire gauche. Pression : pression mesurée dans l'artère fémorale. Carré, injection de α -chloralose. Bas : phase obtenue par co-spectre pour des fréquences de 0,04 Hz et 0,25 Hz (données extraites du Tableau VI)

Le Tableau VI résume les résultats obtenus pour des enregistrements de 200 s. Une première série de données présente les résultats obtenus pendant une période contrôle continue de 1200 s sur un chien (enregistrements #1 à 11). Une deuxième série (enregistrements #12 à 23) présente les résultats obtenus tout au long d'une journée d'expériences sur ce même chien. Chaque enregistrement est effectué dans l'intervalle de 200 s à 400 s après l'injection de diverses substances pharmacologiques, ce qui permet d'éliminer en grande partie le régime transitoire. Les enregistrements #1 à 21 proviennent des deux ganglions stellaires, tandis que les enregistrements #22 et 23 proviennent du ganglion stellaire droit seulement pour montrer l'effet de la décentralisation du ganglion stellaire droit. La dernière série (enregistrements #24 à 30) présente des contrôles sur des chiens différents (l'enregistrement #24 est une copie du #11).

On constate que les enregistrements #25 à 30 ont des données beaucoup moins corrélées au niveau de la respiration et des ondes de Mayer que l'enregistrement #24. Pour l'enregistrement #25, la cohérence entre l'activité neuronale et la pression ne dépasse jamais 0,5. Un autre chien (enregistrement #29), a une activité neuronale qui est synchronisée avec la respiration, mais très peu avec les ondes de Mayer.

Dans une expérience, on cherche à obtenir une activité neuronale importante. Toutefois, même dans ce cas, il est possible que l'activité neuronale soit peu ou pas du tout modulée, ce qui empêche de déterminer la phase entre deux phénomènes par analyse spectrale.

Tableau VI Cohérence maximale et phase pour les ondes de Mayer et de respiration. Enregistrements #1 à 11 : chien dans un période contrôle de 1200s. Enregistrements #12 à 23 : chien durant une expérience. Enregistrements #24 à 30 : contrôle sur sept chiens différents. (moyenne \pm écart-type, * : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$)

Enregistrement	cohérence				phase				
	R-R- pression 0.04 Hz	R-R - pression 0.25 Hz	pression - neur 0.04, Hz	pression - neur 0.25 Hz	R-R - pression 0.04 Hz	RR - pression 0.25 Hz	pression - neur 0.04 Hz	pression - neur 0.25 Hz	
1	0,98**	0,98**	0,61	0,88**	-84	95	6	81	650-850 après chloralose
2	0,96**	0,96**	0,90**	0,96**	-72	98	2	88	750-950 après chloralose
3	0,99**	0,96**	0,91**	0,90**	-72	110	-3	69	850-1050 après chloralose
4	0,99**	0,94**	0,96**	0,85*	-70	117	-13	65	950-1150 après chloralose
5	0,98**	0,93**	0,95**	0,94**	-68	111	-34	65	1050-1250 après chloralose
6	0,99**	0,95**	0,90**	0,95**	-70	114	-33	60	1150-1350 après chloralose
7	0,99**	0,94**	0,90**	0,97**	-69	119	-19	63	1250-1450 après chloralose
8	0,99**	0,95**	0,97**	0,93**	-66	123	-7	68	1350-1550 après chloralose
9	0,99**	0,97**	0,84*	0,88**	-57	130	-9	66	1450-1650 après chloralose
10	0,99**	0,96**	0,90**	0,94**	-57	133	-31	38	1550-1750 après chloralose
11	0,95**	0,93**	0,95**	0,94**	-49	149	-30	27	1650-1850 après chloralose
12	0,88**	0,91**	0,35	0,88**	-48	146	-2	77	contrôle
13	0,97**	0,89**	0,17	0,62	-76	160	-35	57	après nicotine
14	0,98**	0,95**	0,84*	0,96**	-71	94	-15	78	après nicotine
15	0,99**	0,95**	0,93**	0,91**	-94	37	-28	80	Vagues coupés, après nicotine
16	0,52	0,86**	0,19	0,45	-177	-34	25	-24	après phényéphrine
17	0,38	0,98**	0,20	0,62	-153	-74	107	117	après phényéphrine
18	0,10	0,82*	0,30	0,47	-87	-158	40	-26	Vagues coupés, après phényéphrine
19	0,92**	0,95**	0,70	0,89**	-96	130	-6	14	après épinéphrine
20	0,48	0,80*	0,24	0,64	-93	59	35	18	après épinéphrine
21	0,19	0,49	0,22	0,26	56	101	-53	-16	Vagues coupés, après épinéphrine
22	0,94**	0,96**	0,81**	0,61	-89	-151	-50	-20	nicotine stellaire droit vague coupé
23	0,73*	0,85*	0,13	0,47	-41	127	-145	-80	nico stellaire droit et vague coupés
24	0,95**	0,93**	0,95**	0,94**	-49	149	-30	27	contrôle
25	0,51	0,92**	0,06	0,28	-170	162	62	-11	contrôle
26	0,33	0,30	0,27	0,76	-37	16	53	-119	contrôle
27	0,13	0,78**	0,10	0,69**	71	-152	-15	32	contrôle
28	0,71*	0,58	0,15	0,81*	-105	-41	-111	-94	contrôle
29	0,05	0,99**	0,04	0,58	-20	-176	58	102	contrôle
30	0,67	0,97**	0,62	0,86*	-155	157	59	45	contrôle

5.2.3 Contrôle intra battement

Après avoir étudié le contrôle battement à battement, nous allons nous attarder au contrôle intra battement qui est aussi présent au niveau de l'activité des ganglions stellaires. Pour ce faire, on détermine la phase de chaque PDE dans chaque battement cardiaque, en

prenant le QRS du battement comme référence temporelle et en normalisant la durée de chaque battement en divisant par sa période. Ensuite, on cumule les résultats de tous les battements pour obtenir la distribution en divisant la durée normalisée en 20 intervalles égaux (voir Figure 40). À partir de cet histogramme, on construit une onde sinusoïdale qui minimise l'erreur et qui prend la forme :

$$Y(\theta) = a \left(1 + \frac{c}{2} (\cos(\theta_{card} - \varphi) - 1) \right) \quad \text{(Équation 10)}$$

où φ est la phase, et c est la cohérence ($c=0$ pour une distribution aléatoire de neurones et $c=1$ pour des neurones totalement synchronisées avec le cycle cardiaque).

Dans le cas de la Figure 40, l'activité neuronale des ganglions stellaires trouve sa valeur maximale à un angle de $\sim 220^\circ$, soit ~ 250 ms après l'onde R pour un battement de 0,41s (voir Figure 40). L'activité neuronale maximale concorde presque avec la pression maximale mesurée au niveau fémoral. Donc, à chaque battement, un maximum d'activité neuronale est atteint quand la pression fémorale atteint son maximum, alors que globalement, selon la section précédente, l'activité est plus forte quand la pression systolique est basse. Nous examinerons dans la section 5.2.4 le lien entre ces deux phénomènes se produisant sur des échelles de temps différentes.

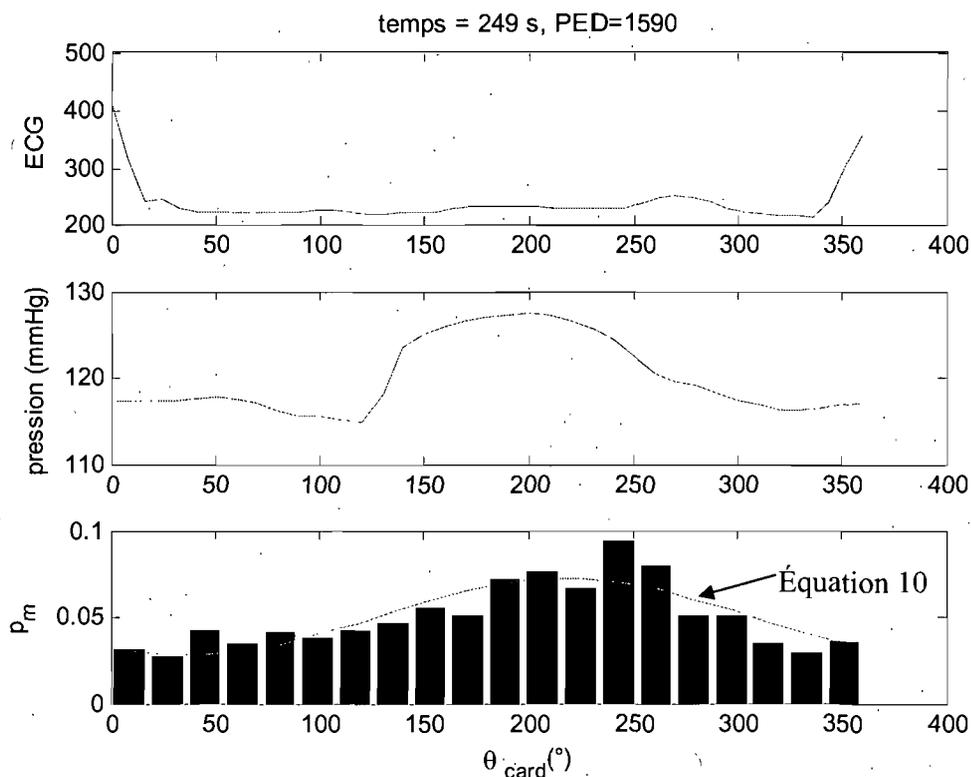


Figure 40. Modulation de l'activité neuronale des ganglions stellaires gauche et droit dans un cycle cardiaque (deux électrodes dans chaque ganglion) dans un enregistrement contrôle de 250 s (620 battements, 1590 PED). De haut en bas : ECG, pression fémorale (moyenne sur 610 battements cardiaques), histogramme de la probabilité (p_m) des PED en fonction de la position dans chaque battement cardiaque (voir texte, angle de référence, $\theta_{card}=0^\circ$:QRS cardiaque). La courbe continue est obtenue en appliquant l'équation 10 à l'histogramme.

La cohérence et la phase (Équation 10) sont déterminées pour les mêmes expériences que le Tableau VI et sont présentées dans le Tableau VII. La signification de la cohérence a encore été établie par la méthode des données de substitution : construction de copies où les PDE sont distribués uniformément à l'intérieur des battements pour obtenir la distribution de la cohérence (c) quand l'hypothèse nulle est vraie. Du point de vue intra battement, on constate que la phase varie très peu en contrôle et aussi tout au long de la journée sur un même chien. Entre les chiens, on observe une grande différence. Dans

l'expérience #25, le taux de décharge des neurones est élevé (11 PED / battement), cependant ces neurones ne sont pas synchronisés avec le cycle cardiaque ce qui empêche de déterminer la phase.

Tableau VII Cohérence et phase intra battement (moyenne \pm écart-type, * : $p<0,05$, ** : $p<0,01$)

expérience	RR (s)	pression (mmHg)	PED / battement	Cohérence intra battement	phase intra battement	
1	0,43 \pm 0,003	123, \pm 1,1	6,5 \pm 6,8	0,49**	214	650-850 après chloralose
2	0,43 \pm 0,003	122, \pm 1,0	7,8 \pm 7,2	0,58**	194	750-950 après chloralose
3	0,43 \pm 0,004	121, \pm 1,3	8,8 \pm 8,0	0,55**	185	850-1050 après chloralose
4	0,43 \pm 0,005	121, \pm 1,5	9,2 \pm 9,0	0,49**	208	950-1150 après chloralose
5	0,43 \pm 0,005	120, \pm 1,3	9,8 \pm 9,7	0,57**	212	1050-1250 après chloralose
6	0,43 \pm 0,005	120, \pm 1,3	9,7 \pm 9,4	0,63**	205	1150-1350 après chloralose
7	0,43 \pm 0,006	120, \pm 1,3	9,0 \pm 8,7	0,65**	207	1250-1450 après chloralose
8	0,43 \pm 0,006	120, \pm 1,4	9,4 \pm 9,4	0,67**	211	1350-1550 après chloralose
9	0,43 \pm 0,005	120, \pm 1,3	9,8 \pm 10,2	0,68**	210	1450-1650 après chloralose
10	0,43 \pm 0,005	121, \pm 2,3	9,5 \pm 10,0	0,70**	209	1550-1750 après chloralose
11	0,43 \pm 0,006	126, \pm 4,7	9,6 \pm 9,6	0,68**	206	1650-1850 après chloralose
12	0,40 \pm 0,003	130, \pm 0,9	3,2 \pm 3,2	0,65**	223	contrôle
13	0,43 \pm 0,006	165, \pm 4,1	6,4 \pm 6,6	0,54**	204	après nicotine
14	0,46 \pm 0,007	140, \pm 1,3	12,9 \pm 14,0	0,59**	204	après nicotine Vagues coupés, après nicotine
15	0,46 \pm 0,008	165, \pm 3,9	12,9 \pm 14,2	0,57**	206	après phényéprhine
16	0,57 \pm 0,017	197, \pm 8,7	6,1 \pm 7,3	0,15*	145	après phényéprhine
17	0,67 \pm 0,100	155, \pm 1,9	13,0 \pm 14,4	0,28**	85	après phényéprhine Vagues coupés, après phényéprhine
18	0,54 \pm 0,002	197, \pm 8,7	8,8 \pm 9,2	0,06	216	après phényéprhine
19	0,42 \pm 0,007	135, \pm 3,9	12,6 \pm 13,4	0,62**	216	après épinéphrine
20	0,46 \pm 0,010	115, \pm 1,9	12,5 \pm 7,0	0,16**	213	après épinéphrine Vagues coupés, après épinéphrine
21	0,41 \pm 0,019	142, \pm 16,5	9,0 \pm 12,6	0,53**	275	après épinéphrine nicotine stellaire droit vague coupé
22	0,40 \pm 0,003	124, \pm 1,7	6,6 \pm 6,7	0,64**	260	nicotine stellaire et vague coupés
23	0,52 \pm 0,009	127, \pm 0,6	1,9 \pm 1,2	0,20	130	contrôle
24	0,43 \pm 0,006	126, \pm 4,7	9,6 \pm 9,6	0,68**	206	contrôle
25	0,45 \pm 0,004	112, \pm 5,8	12,0 \pm 6,8	0,10*	49	contrôle
26	0,52 \pm 0,006	114, \pm 3,0	9,9 \pm 8,0	0,25**	189	contrôle
27	0,47 \pm 0,005	99, \pm 5,5	3,7 \pm 3,3	0,31**	218	contrôle
28	0,47 \pm 0,008	108, \pm 3,2	1,8 \pm 1,2	0,50**	267	contrôle
29	0,55 \pm 0,002	64, \pm 1,6	1,8 \pm 1,1	0,30	299	contrôle
30	0,45 \pm 0,009	104, \pm 2,8	6,5 \pm 6,2	0,23**	288	contrôle

5.2.4 Double modulation

Nous avons démontré que l'activité neuronale était liée d'une part aux modulations lentes de la pression et du cycle cardiaque inter battement (section 5.2.2) et, d'autre part, à la variation de la pression intra battement (section 5.2.3). Cependant, le comportement intra battement est obtenu en cumulant les données de tous les battements. Nous voulons maintenant examiner si la structure intra battement est effectivement la même pour tous les battements, ou si elle vient d'un sous-groupe de battements appartenant à une portion spécifique du cycle respiratoire. Pour ce faire, nous avons déterminé la phase de chaque battement dans le cycle respiratoire pour un intervalle de 1000 s. Nous avons ensuite divisé le cycle respiratoire en 10 intervalles égaux, et construit la distribution intra battement pour les battements appartenant à chaque intervalle.

Le résultat pour un premier chien est donné par le graphique supérieur de la Figure 41 (expérience #24). Dans ce cas, dans la partie du cycle respiratoire où la pression est maximale ($\theta_{\text{resp}}=18^\circ$), l'activité neuronale est très faible et n'est pas modulée par le cycle cardiaque. Dans la partie du cycle respiratoire où la pression est minimale ($\theta_{\text{resp}}=162^\circ$), le tonus de l'activité neuronale augmente de même que le synchronisme durant un battement cardiaque. Ce comportement semble indiquer que la modulation est liée à l'augmentation du tonus de base. Plus le tonus est haut, plus la modulation est importante. Le même phénomène est présent dans la partie de droite. Dans la partie du cycle cardiaque où l'activité neuronale est minimale ($\theta_{\text{card}}=18^\circ$), l'activité n'est pas modulée par le cycle respiratoire. Dans la partie du cycle cardiaque où l'activité neuronale est maximale ($\theta_{\text{card}}=234^\circ$), il y a une augmentation du tonus de base, de l'activité neuronale et du synchronisme avec le cycle respiratoire.

Par contre, la Figure 42 montre un autre chien (expérience #30) où l'activité neuronale était modulée par la respiration, mais très peu modulée dans chaque cycle cardiaque.

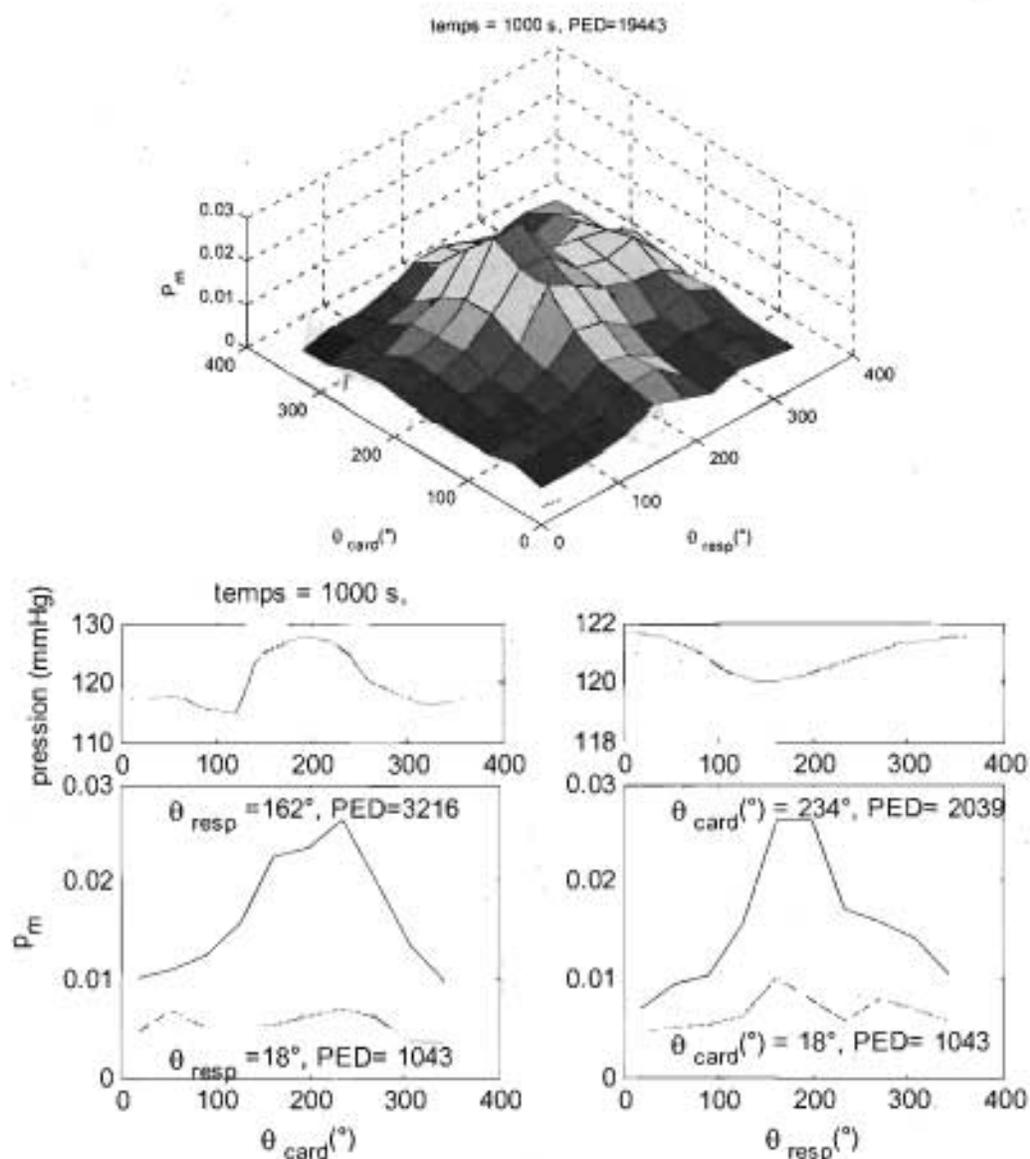


Figure 41 Densité de probabilité (p_m) mesurée d'un PED selon la position dans le cycle respiratoire (10 intervalles, $\theta_{resp}=0^\circ$: maximum de pression fémorale) et selon la position dans le cycle cardiaque (10 intervalles, $\theta_{card}=0^\circ$: onde R). Expérience #24, 19443 PED mesurées pendant 1000 s sur 2325 battements cardiaques. Bas : Données extraites de la figure du haut. Gauche : données extraites pour des phases constantes de la respiration. Droite : données extraites pour des phases constantes du cycle cardiaque.

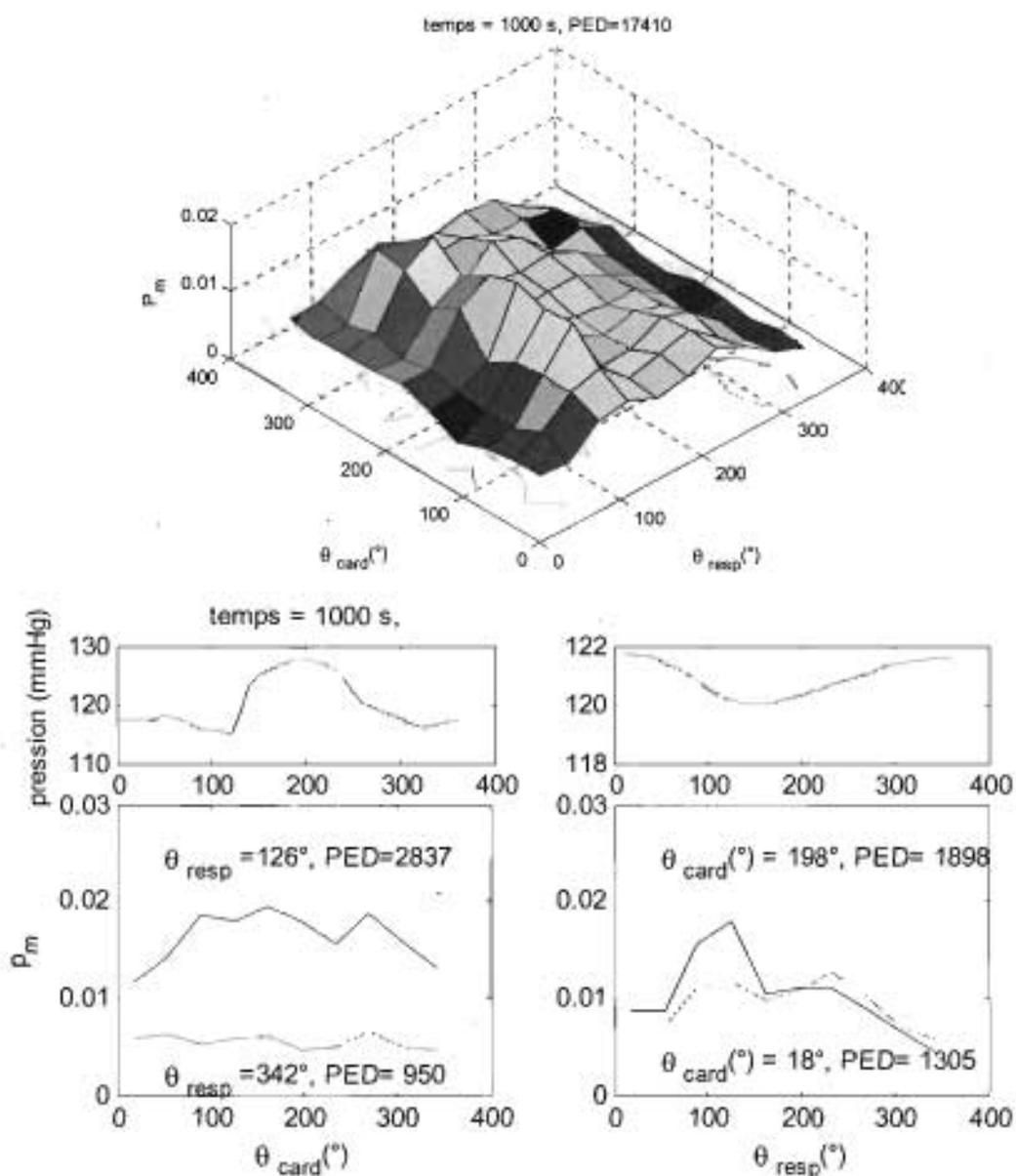


Figure 42 Densité de probabilité mesurée d'un PED selon la position dans le cycle respiratoire (10 intervalles, $\theta_{resp}=0^{\circ}$: maximum de pression fémorale) et selon la position dans le cycle cardiaque (10 intervalles, $\theta_{card}=0^{\circ}$: onde R). Expérience #30, 17410 PED mesurées pendant 1000 s sur 2250 battements cardiaques. Bas : données extraites de la figure du haut. Gauche : données extraites pour des phases constantes de la respiration. Droite : données extraites pour des phases constantes du cycle cardiaque.

D'un chien à l'autre, le cycle respiratoire peut influencer la pression de façon très variée (Figure 43). Puisque nous n'avons pas de marqueur de respiration, il est difficile de comparer la phase entre deux chiens puisque nous ne savons pas si la phase 0° (posée au maximum de la pression systolique) représente toujours la même position du cycle respiratoire. De plus, l'anatomie des chiens utilisés étant très différente, il n'est pas certain que les thoracotomies bilatérales produisent le même effet sur les poumons. Cela peut comprimer différemment le système sanguin pulmonaire et de ce fait la pression artérielle et le retour veineux.

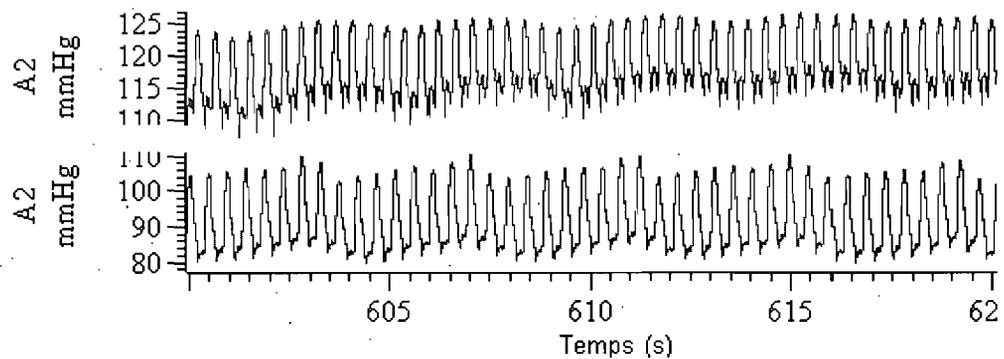


Figure 43 Évolution de la pression fémorale. Haut : expérience #24, Figure 41. Bas : expérience #30, Figure 42

5.2.5 Analyse concentration de norépinéphrine

Dans cette section, nous présentons l'ébauche d'une méthode qui pourrait être employée pour lier l'activité stellaire au changement de rythme cardiaque. L'analyse se base sur un modèle présenté par Mokrane et al [5; 6]. En bref, chaque potentiel d'action (PED(t)) produit au temps (t) stimule la libération d'une quantité fixe de norépinéphrine dans la cavité synaptique qui est dégradée avec une constante de temps τ . La concentration de norépinéphrine dans le tissu est donnée par l'équation :

$$Ne(T) = k \cdot \int_{-\infty}^T PED(t) e^{-(T-t)/\tau} dt \quad (\text{Équation 11})$$

La norépinéphrine produit ensuite son effet sur le rythme cardiaque après un délai temporel Δ . Mokrane et al ont stimulé le ganglion stellaire décentralisé et suivi la variation du rythme cardiaque « $L(t)$ » depuis une valeur de référence. Il faut noter que l'effet parasymphatique était inhibé par l'injection d'atropine. Ils décrivent cette variation de rythme cardiaque par l'expression :

$$\frac{dL}{dt} = -\alpha ([NE(t-\Delta)] - L(t))$$

Par comparaison avec les résultats expérimentaux sur des préparations canines décentralisées, Mokrane et al obtiennent des valeurs de $\Delta = 2,1$ s, $\tau = 9,1$ s, et $1/\alpha = 2,1$ s.

Nous avons examiné un modèle plus simple en représentant la relation entre le rythme cardiaque et la quantité de norépinéphrine par une sigmoïde :

$$RC(t) = k_1 + \frac{k_2}{1 + e^{-k_3([NE(t-\Delta)] - k_4)}} \quad (\text{Équation 12})$$

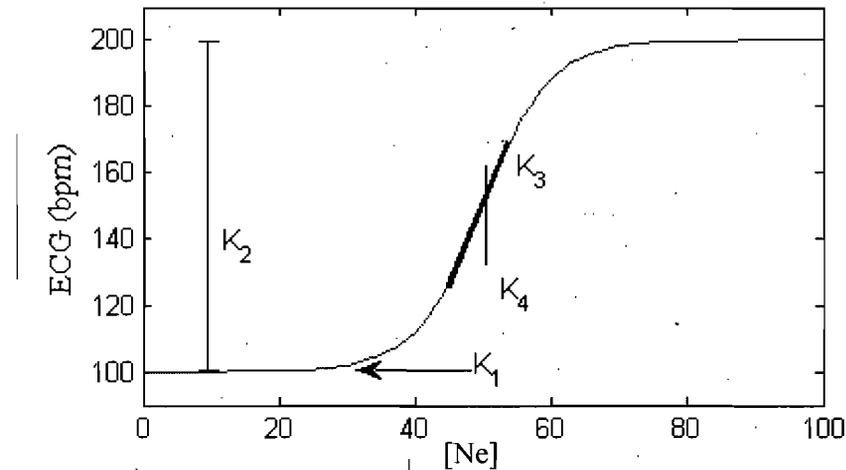


Figure 44 Sigmoïde théorique utilisée pour modéliser la relation entre la norépinéphrine et le rythme cardiaque.

En utilisant les paramètres Δ et τ et en faisant varier les quatre constantes « k » apparaissant dans l'Équation 11 et l'Équation 12, il est possible d'obtenir une bonne

correspondance entre le rythme cardiaque trouvé grâce à la concentration de norépinéphrine et le rythme cardiaque expérimental. Toutefois, cette relation ne reproduit pas bien la dynamique après des interventions pharmacologiques, simplement parce que d'autres phénomènes entrent en jeu dans le contrôle du rythme cardiaque. Quoiqu'il en soit, ceci est une première approche à la modélisation du phénomène.

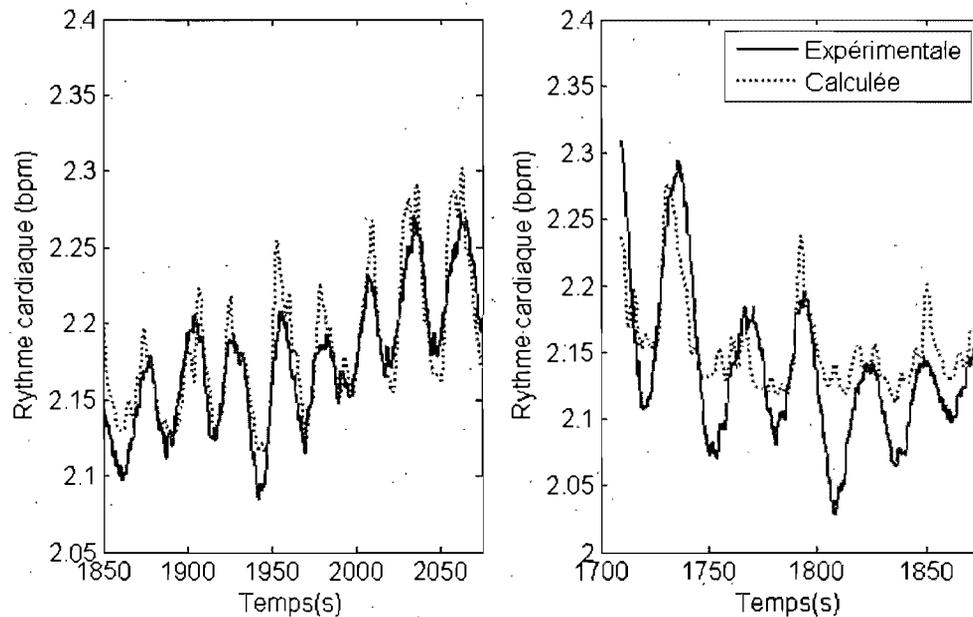


Figure 45 Rythme cardiaque expérimental et valeur calculée à partir de l'activité neuronale (après dénervation vagale). Gauche : en contrôle. Droite : après ajout de 250 μg de nicotine

5.2.6 Interventions pharmacologiques

5.2.6.1 Nicotine

La nicotine est un modulateur post synaptique agissant sur le système sympathique et parasympathique. Lorsque les nerfs vagues sont intacts, la nicotine produit une augmentation de l'activité sympathique (Figure 46) qui entraîne une vasoconstriction et une augmentation du rythme cardiaque^[63]. En présence des nerfs vagues, la nicotine a un fort effet parasympathique produisant une bradycardie importante et extrêmement irrégulière.

Des expériences effectuées chez les lapins ont montré que l'injection de nicotine dans le sac péricardique provoque une bradycardie^[64]. La nicotine modulerait donc l'effet parasympathique en stimulant les récepteurs nicotiques du SNCI. La baisse de pression, causées par la bradycardie, semble toutefois être compensée par les effets sympathiques (vasoconstriction et augmentation du rythme cardiaque^[63]) puisque la pression reste assez stable durant la bradycardie.

Malgré l'augmentation de l'activité neuronale des ganglions stellaires et les changements de rythme cardiaque, la modulation de l'activité neuronale par la respiration est toujours présente et même plus importante qu'en contrôle. En augmentant le tonus neuronal, la nicotine semble ainsi augmenter le synchronisme entre l'activité neuronale et la respiration. La Figure 46 indique aussi que l'effet de la nicotine sur le système parasympathique (bradycardie) agit à plus court terme que l'effet sympathique (augmentation de la pression).

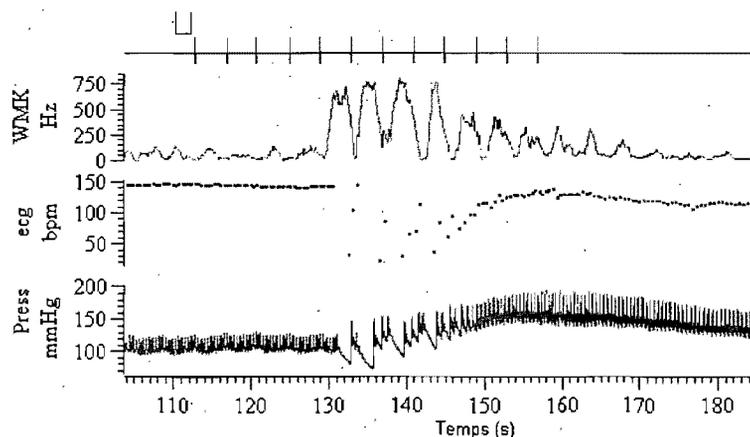


Figure 46 Activité neuronale après ajout de nicotine: Haut : Marqueur de maximum de pression artérielle causée par la respiration, WМК : activité neuronale totale en Hz de deux électrodes sur le ganglion stellaire gauche et deux électrodes sur le ganglion stellaire droit, ECG : rythme cardiaque en battements par minute, Press : pression fémorale. Carré : injection de 250 µg de nicotine.

La Figure 47 montre l'effet de l'injection de nicotine sur l'activité sympathique dans les deux ganglions stellaires et les effets produits sur le rythme cardiaque. L'activité

neuronale a un profil semblable pour deux ganglions. Toutefois, sur une plage de temps plus courte, on constate que l'activité mesurée sur les deux ganglions est très différente. De même, deux enregistrements dans le même ganglion ne seront pas activés au même moment.

L'injection de nicotine était effectuée manuellement dans la veine fémorale. Le taux d'injection de la dose peut ne pas être uniforme et, pour cette raison, nous n'avons pas pu comparer les résultats entre les chiens. De plus, les récepteurs nicotiques ont tendance à s'internaliser, il faudrait analyser cet effet sur l'intervalle de temps avant de pouvoir analyser plus en profondeur les résultats.

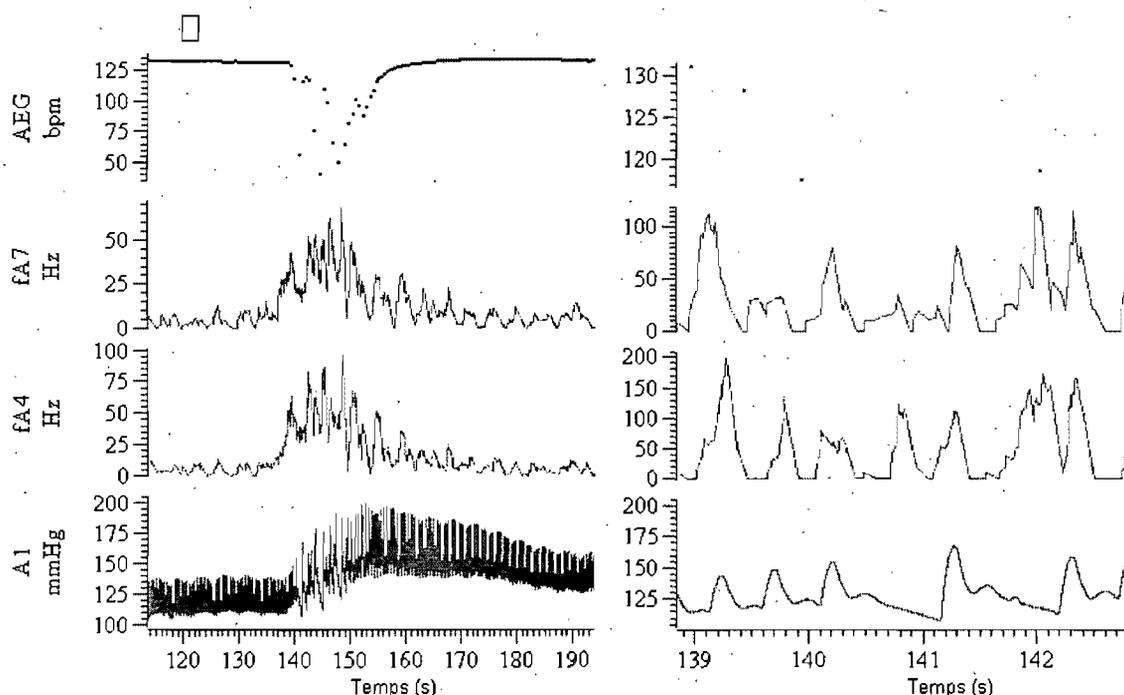


Figure 47 Synchronisme des enregistrements neuronaux. Légende : Gauche : activité neuronale après injection de nicotine (fréquence des PED mesurée sur une fenêtre glissante de 1 s). Droite : agrandissement de la figure de gauche (fréquence des PED mesurée sur une fenêtre glissante de 0.1 s). De haut en bas : Rythme cardiaque, activité neuronale sur deux électrodes du ganglion stellaire droit, pression fémorale. Carré : injection de 250 μ g de nicotine. Les nerfs vagues sont intacts.

En contrôle, l'activité neuronale, le taux de cohérence et la phase sont assez stables (Tableau VII), mais ces variables sont modifiées lors de certaines interventions pharmacologiques. Immédiatement après l'injection de nicotine, on obtient une forte augmentation de l'activité neuronale et une bradycardie irrégulière. Les analyses des phases intra battement, tels qu'à la Figure 40, ne sont plus possibles. On effectuera plutôt un histogramme de l'intervalle de temps entre l'onde R de l'ECG et les PED où chaque intervalle représente la fréquence moyenne (en Hz) des PED durant un intervalle de 20 ms (Figure 48). L'ajout de nicotine a très peu changé l'activité neuronale minimale (de 350 à 450 ms après l'onde R). Toutefois, l'activité neuronale maximale \sim 150 à 250 ms a augmenté de plus de dix fois et s'est décalée dans le temps en passant de 280 ms à 180 ms. La nicotine augmente donc l'activité neuronale suivant un délai d'environ 0,18 s après l'onde R et non dans une phase spécifique du rythme cardiaque (pour les données contrôle, la faible variation de rythme cardiaque ne donne pas de différences significatives entre la phase ou le délai constant). On sait que dans le système parasympathique, des stimulations à des temps différents d'un cycle cardiaque ont un effet différent sur le rythme cardiaque. Dans le système sympathique, la durée du délai entre l'activité neuronale et l'effet sur les myosites est trop long pour que la phase d'application ait un effet.

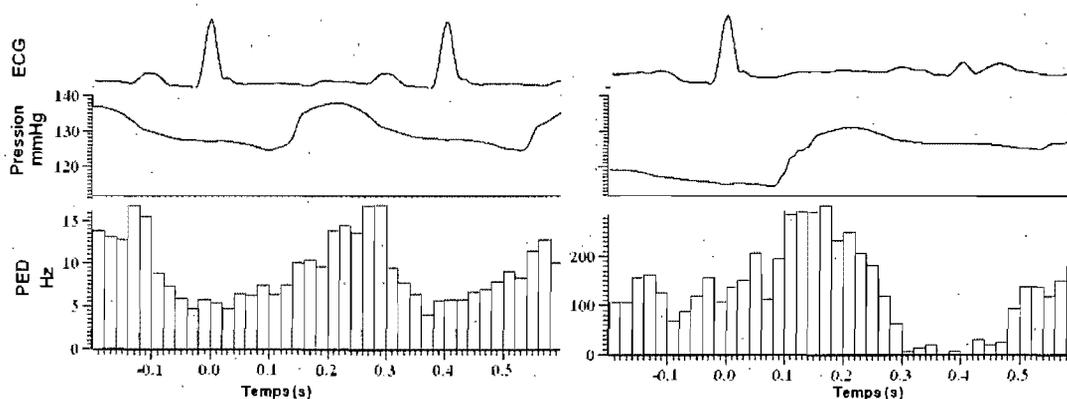


Figure 48. Modulation de l'activité neuronale du ganglion stellaire gauche et droit dans un cycle cardiaque (deux électrodes dans chaque ganglion). Haut : ECG. Milieu : Pression fémorale. Bas : Histogramme de l'intervalle de temps entre l'onde R de l'ECG et les PED. Chaque intervalle représente la fréquence moyenne (en Hz) des PED dans un intervalle de 20 ms durant un battement cardiaque. Gauche : enregistrement contrôle de 250 s (620 battements, 2110 PED), Droite : Enregistrement de 10 s (13 battements, 2716 PED) après injection de 250 µg de nicotine intraveineuse.

5.2.6.2 Phenyléphrine

La phenyléphrine produit une augmentation rapide de la pression grâce à une vasoconstriction périphérique. L'augmentation de pression semble produire une faible diminution de l'activité sympathique, mais l'effet est très minime. Le retour veineux devrait aussi augmenter, ce qui devrait provoquer une augmentation du rythme cardiaque (selon le réflexe de Bainbridge), mais cet effet n'est pas présent probablement à cause de l'effet prédominant du baroréflexe par rapport au réflexe de Bainbridge. Sur le canal de pression, on observe quelques chutes de pression, ces dernières sont causées par un échappement dans le nœud AV. Dans le Tableau VI et le Tableau VII, la phenyléphrine a aussi produit une grande perte de cohérence de l'activité neuronale tant du point de vue intra battement qu'inter battement tout en ayant une faible influence sur le tonus de l'activité neuronale. Ce comportement a aussi été remarqué sur les autres chiens.

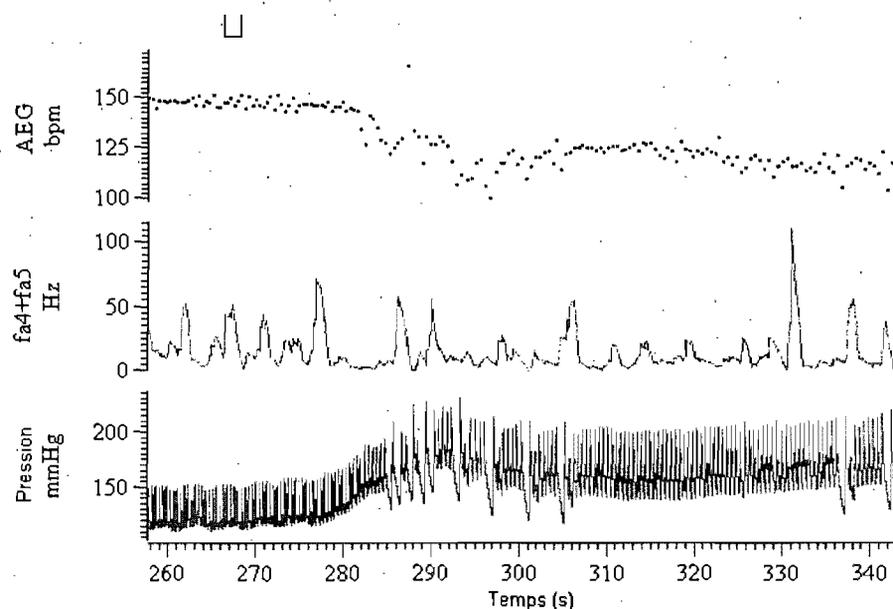


Figure 49 Effet de l'injection de phényléphrine intraveineuse. Légende de haut en bas: rythme sinusal, activité neuronale (stellaire gauche et droit), pression fémorale. Carré, injection de 250 μg de phényléphrine.

5.2.6.3 La dobutamine

La dobutamine agit directement sur les récepteurs β_2 . Les premiers effets observés sont une diminution du temps de conduction AV de façon presque simultanée à une augmentation du rythme cardiaque et de la pression artérielle (Figure 50). L'augmentation de la pression artérielle serait le résultat des effets de la dobutamine sur le rythme cardiaque et la force de contraction. Ces trois effets sont suivis ~ 5 s plus tard par une augmentation de l'activité neuronale dans les ganglions stellaires. Cette augmentation n'a pas été observée sur tous les chiens et la seule explication trouvée serait l'enregistrement d'un groupe de neurones inhibiteurs (afférents ou interneurones) du système sympathique^[71]. La dobutamine ne devrait pas avoir d'effet direct sur le système vasculaire. Toutefois, ~ 30 s après l'injection, la pression artérielle commence à revenir à des valeurs similaires à celles mesurées avant l'injection, et ce, même si le rythme cardiaque demeure élevé, ce qui impliquerait une vasodilatation périphérique.

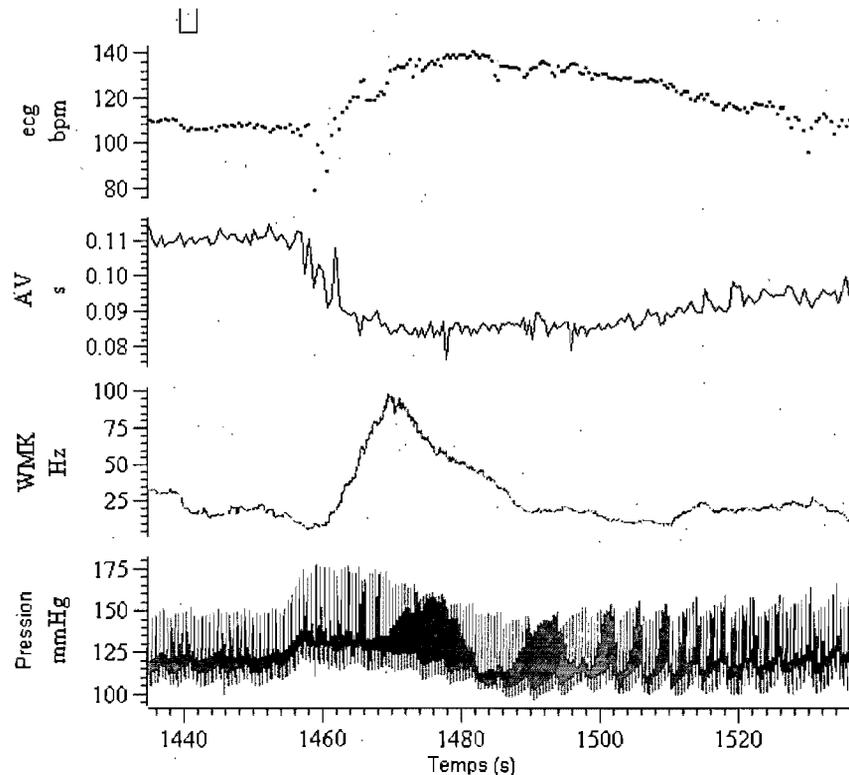


Figure 50 Effet de l'injection de dobutamine intraveineuse. Légende de haut en bas : rythme cardiaque, temps de conduction AV (entre l'onde P et l'onde R sur l'ECG), activité neuronale (stellaire gauche et droit), pression fémorale. Carré, injection de 100 μ g de dobutamine.

5.2.6.4 Épinéphrine

En simulant l'effet du système sympathique, l'épinéphrine devrait augmenter la pression et le rythme cardiaque. Toutefois, lors des enregistrements contrôle, l'épinéphrine produit plutôt une forte variabilité du rythme cardiaque en même temps qu'une augmentation de la pression. Dans la situation contrôle, la forte hausse de pression (causée par une vasoconstriction périphérique) peut produire une forte augmentation de l'activité parasympathique et une diminution de l'activité sympathique, ce qui aura pour effet de produire une forte diminution du rythme cardiaque. Le contrôle simultané des deux mécanismes expliquerait la grande variabilité du rythme cardiaque. Les résultats de

l'activité sympathique sont malgré tout cohérents, puisque l'activité du ganglion stellaire précède légèrement l'augmentation du rythme cardiaque.

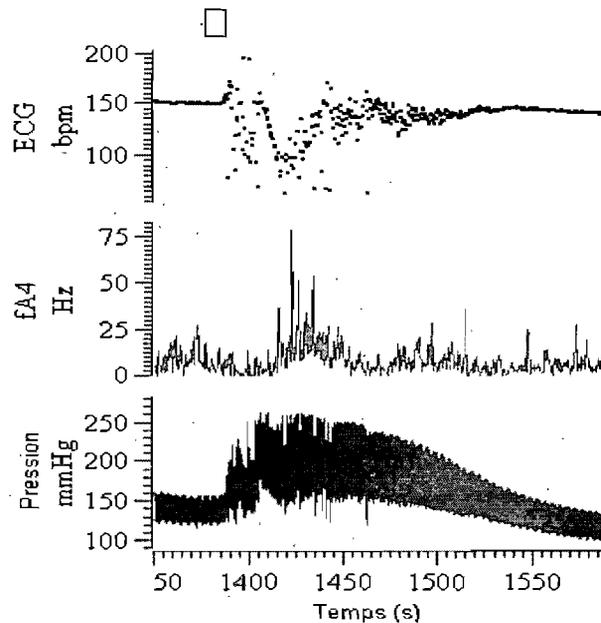


Figure 51 Effet de l'injection d'épinéphrine en contrôle. Légende de haut en bas : rythme cardiaque, activité neuronale (stellaire droit), pression fémorale. Carré : Injection de 100 μ g d'épinéphrine

5.2.7 Interventions physiques

5.2.7.1 Occlusion des carotides

Lors de l'occlusion des carotides en contrôle (Figure 52), les barorécepteurs carotidiens détectent une forte baisse de pression et déplacent la balance sympatho-vagale dans la direction sympathique. Cela produit une augmentation de la pression, du rythme cardiaque et de l'activité sympathique de même qu'une diminution du temps de conduction AV. Les principales variables changent sur une période de 20 s, ce qui correspond habituellement à un effet sympathique. L'effet rapide du parasympathique ne semble pas présent, ce qui pourrait peut-être s'expliquer par l'effet contradictoire entre l'augmentation

de pression au niveau aortique et la baisse de pression au niveau carotidien ou refléter un faible tonus sympathique avant l'intervention.

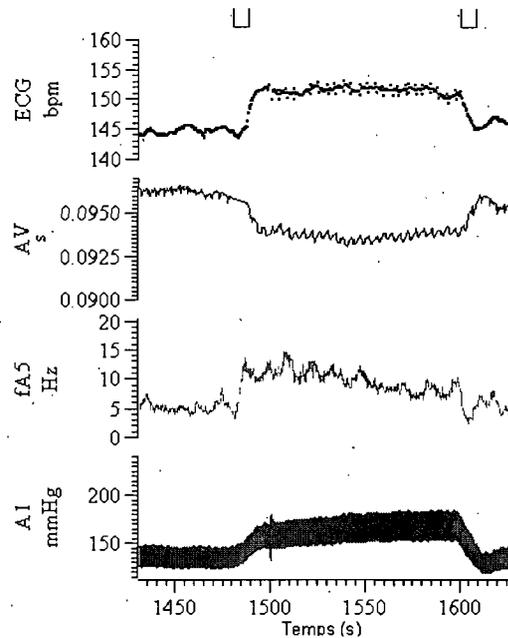


Figure 52 Effet de l'occlusion et de la désocclusion des carotides. Légende de haut en bas : rythme cardiaque, temps de conduction AV, activité neuronale (stellaire droit), pression fémorale. Premier carré : occlusion, deuxième carré : désocclusion.

5.2.7.2 Stimulation des nerfs vagues

La stimulation des nerfs vagues simule l'effet d'un fort contrôle parasympathique. Presque immédiatement après la stimulation caudale, on observe une bradycardie qui provoque un arrêt complet du rythme cardiaque pendant quelques secondes (Figure 53). Pendant le temps où le cœur est arrêté, l'activité sympathique augmente de façon graduelle pour ensuite se stabiliser après la fin de la stimulation.

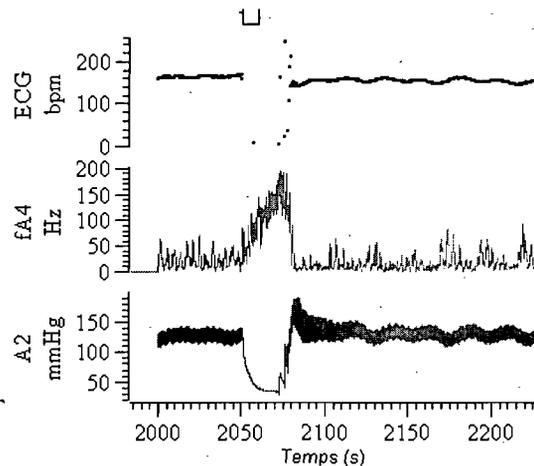


Figure 53 Effet de la stimulation des vagues. Carré : stimulation du nerf vague droit (1,5 mA pendant 1 ms, 10 stimulations/s pendant 30s).

5.3 Dénervation parasympathique

La dénervation des deux nerfs vagues dans la région cervicale devrait éliminer tout le contrôle parasympathique direct sur le cœur. Le contrôle rapide du cœur devrait donc disparaître de même que les oscillations HF (0,25 Hz) habituellement associées au système parasympathique.

5.3.1 Analyse spectrale

Dans la Figure 54, la cohérence entre la pression et l'activité neuronale varie très peu, et ce, peu importe si le système parasympathique est intact (Figure 54, gauche) ou dénervé (Figure 54, droit). Dans un autre cas (expérience #18), il n'y a pas de cohérence significative entre l'activité neuronale et la pression. Par contre, les spectres de puissance de la pression et du rythme cardiaque montrent une forte oscillation dans les HF même sans la présence du système parasympathique (Figure 55). Les résultats montreraient que les oscillations dans les HF ne sont pas exclusivement provoquées par le système parasympathique.

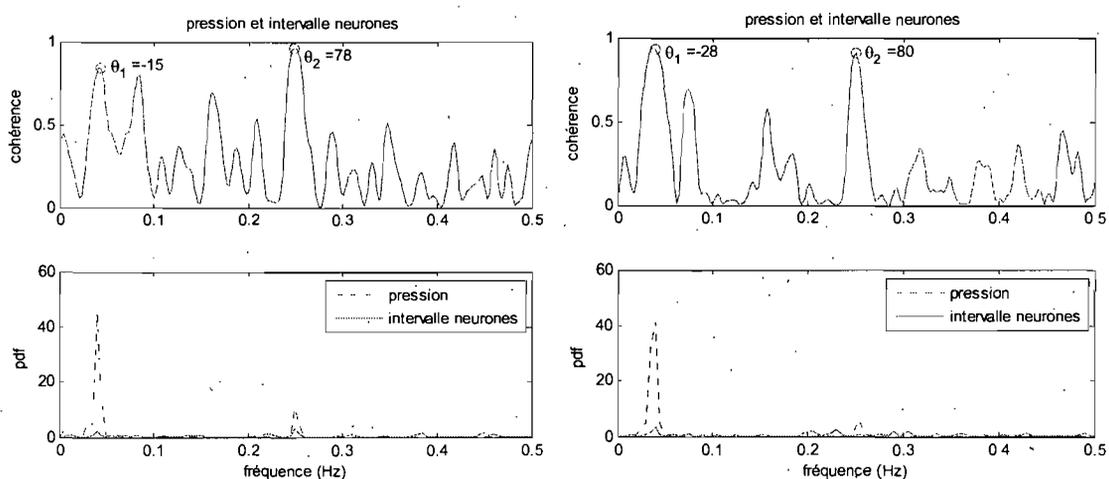


Figure 54 Taux de cohérence et spectre de puissance mesurés entre la pression et l'intervalle des PED. Gauche : avant dénervation vagale (expérience#14). Droite : après dénervation vagale (expérience #15). Cercle : valeur de cohérence maximale et phase associée.

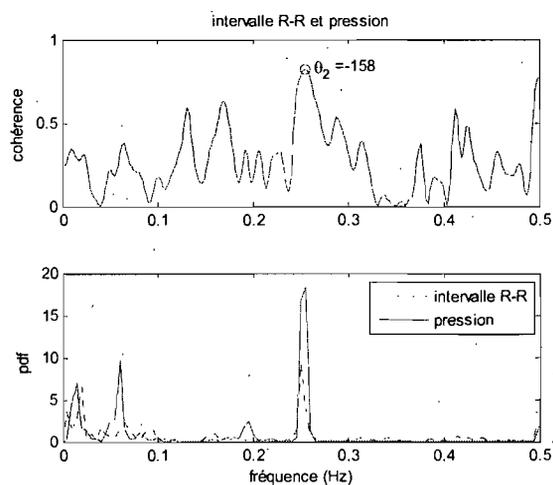


Figure 55 Taux de cohérence et spectre de puissance mesurés entre la pression et le rythme cardiaque après dénervation du vague (expérience #18). Cercle : valeur de cohérence maximale et phase associée.

5.3.2 Interventions pharmacologiques

5.3.2.1 Nicotine

Après dénervation vagale, la bradycardie associée au système parasympathique n'est plus présente (Figure 56). En principe, la nicotine devrait quand même provoquer une réponse parasympathique, par la stimulation des neurones post-ganglionnaires cardiaques. En fait, une telle réponse n'a pas été observée avec la dose habituelle de nicotine (250 µg), mais des doses de nicotine plus élevées (500, 1000 µg) produisaient des bradycardies chez certains chiens. Cela suggère qu'une dose régulière de nicotine n'est pas suffisante pour stimuler l'activité parasympathique en absence de tonus du SNC.

En coupant les nerfs vagues dans la région cervicale, on coupe l'innervation afférente et efférente. Il n'est donc pas possible de savoir si l'effet de la bradycardie est provoqué par la perte de stimulation du SNC, par les afférences vagues ou par un effet direct sur le cerveau. On sait cependant que l'effet n'est pas dû exclusivement aux neurones du SNCI. Il pourrait aussi y avoir un effet combiné où la nicotine agit comme modulateur du SNCI, mais dont l'effet n'est pas observé puisque aucun signal en provenance du cerveau ne peut être modulé. Ces observations peuvent être mises en perspective avec les expériences de Evans et al^[64] qui utilisaient 250 µg de nicotine dans le sac péricardique d'un lapin, ce qui donne probablement des concentrations plus importantes que chez le chien.

Lorsque les nerfs vagues sont intacts, l'activité des stellaires est fortement modulée par la respiration. Lorsque les nerfs vagues sont coupés, ce mécanisme diminue, mais reste tout de même présent tant du point de vue de la pression fémorale que de l'activité neuronale dans les ganglions stellaires.

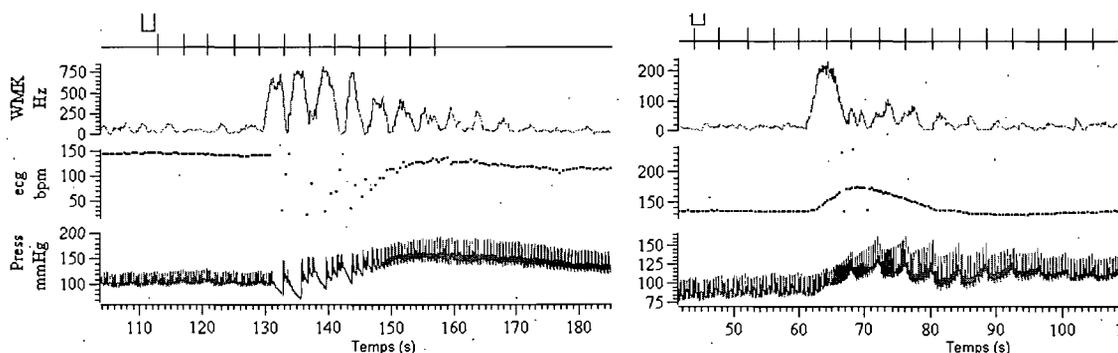


Figure 56 Activité neuronale après ajout de nicotine. Gauche: en contrôle. Droite : après dénervation vagale. De haut en bas : Marqueur de maximum de pression artérielle causé par la respiration, Activité neuronale mesurée sur deux électrodes sur le ganglion stellaire gauche et deux électrodes sur le ganglion stellaire droit, rythme cardiaque, pression fémorale. Carré : injection de 250 μg de nicotine.

5.3.2.2 Epinéphrine

Après dénervation vagale, on a toujours une augmentation de la pression, mais l'effet du parasympathique qui produisait un rythme cardiaque très irrégulier est totalement disparu (Figure 57). L'activité stellaire croît aussi, mais commence à augmenter après que les premiers effets sur la pression et le rythme cardiaque soient apparus. Cette réponse était présente sur plusieurs chiens et semble paradoxale, puisque l'augmentation de la pression devrait en principe provoquer une inhibition du système sympathique par les barorécepteurs. On peut encore supposer que l'on enregistrerait une population de neurones inhibiteurs (neurones afférents ou inter neurones).

À certaines occasions, l'administration d'épinéphrine produisait un ou deux spasmes de très forte amplitude faisant bouger le thorax du chien de plus de 5 cm, ce qui augmente les risques de déplacer les électrodes. Dans la majorité des cas, des spasmes musculaires de faible amplitude produisaient un mouvement de toute la cage thoracique à un rythme proche du rythme cardiaque. À la Figure 57, on voit l'effet de ces oscillations sur les enregistrements. Le signal non filtré subit une oscillation d'assez forte amplitude (2 mV). Ces oscillations de basse fréquence ne provoquaient cependant pas d'artefacts comme

ceux observés lors des sauts de potentiel causés par le mouvement du PGAD. La présence de fortes oscillations laisse planer un doute, à savoir si le mouvement au niveau des électrodes ne produit pas une stimulation mécanique des neurones.

L'augmentation de la pression artérielle par l'épinéphrine produit comme effet secondaire un fort suintement dans la cage thoracique, ce qui augmente la quantité de sang près des électrodes. Puisque les connecteurs des électrodes doivent être en tout temps exempts de liquide pour limiter les artefacts d'enregistrement, on doit souvent nettoyer la région d'enregistrement, ce qui implique un plus grand risque de déplacer les électrodes.

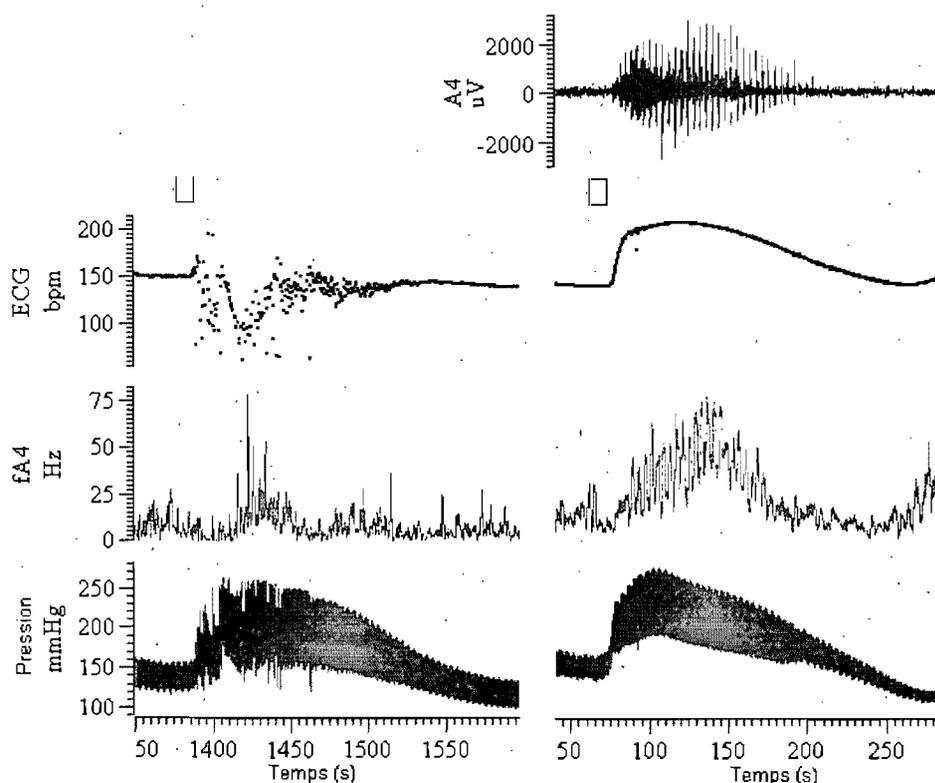


Figure 57 Effet de l'injection d'épinéphrine. Gauche : en contrôle. Droite : après dénervation vagale. Droite, haut : signal non filtré d'une électrode. Carré : Injection de 100 μg d'épinéphrine.

5.3.3 Interventions physiologiques

5.3.3.1 Occlusion des carotides

Après dénervation vagale, l'occlusion des carotides produit le même comportement que dans les enregistrements de contrôle. Dans le cas illustré par la Figure 58, l'occlusion après dénervation produisait une plus forte modulation des différentes variables. Toutefois dans d'autres chiens, il n'y avait pas de différences appréciables entre les enregistrements effectués avant ou après dénervation vagale. Dans la partie de droite, deux battements manqués (niveau ventriculaire ou sinusal) sont arrivés spontanément. Ces battements sont suivis d'une rapide augmentation de l'activité neuronale sympathique pour augmenter la pression artérielle.

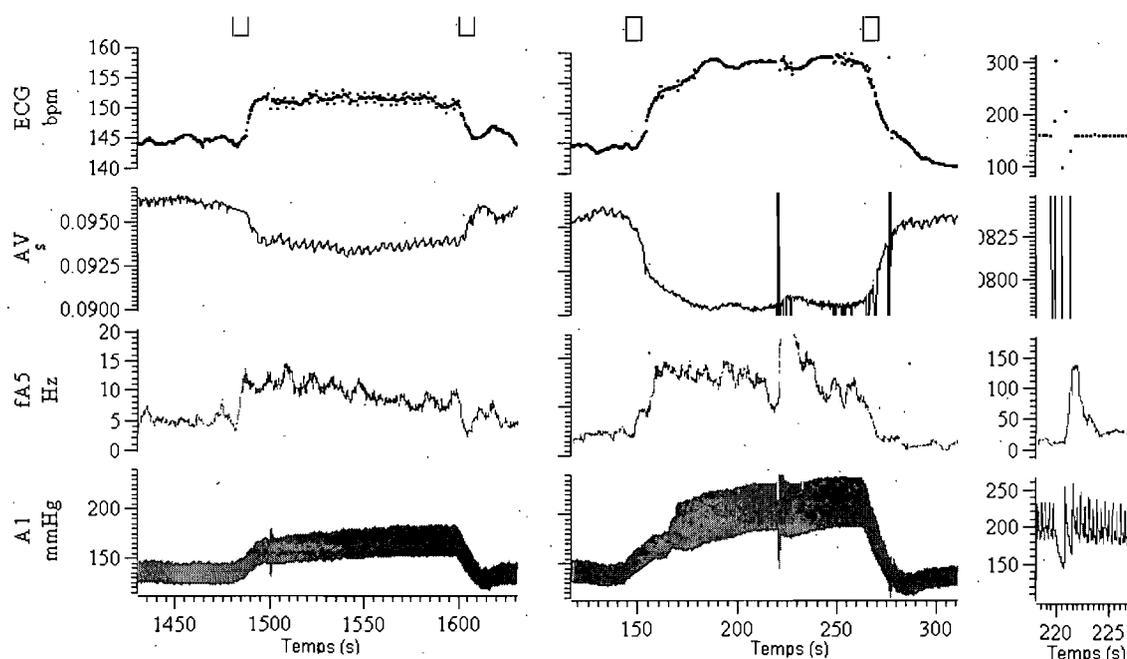


Figure 58 Effet de l'occlusion et de la désocclusion des carotides. Gauche : en contrôle, Centre : après dénervation vagale. Droite : Agrandissement de la figure du centre où deux battements manqués produisent une forte activité sympathique

5.3.3.2 Stimulation des nerfs vagues

La stimulation caudale des nerfs vagues produit un effet très semblable à la stimulation du nerf vague avant la dénervation vagale au niveau cervical (Figure 53).

La stimulation crâniale des nerfs vagues stimule toute la branche parasympathique au niveau du cerveau, ce qui produit une inhibition de la branche sympathique et, de ce fait, une vasodilatation (diminution de la pression sans changement de rythme cardiaque). Toutefois, cet effet était très peu marqué.

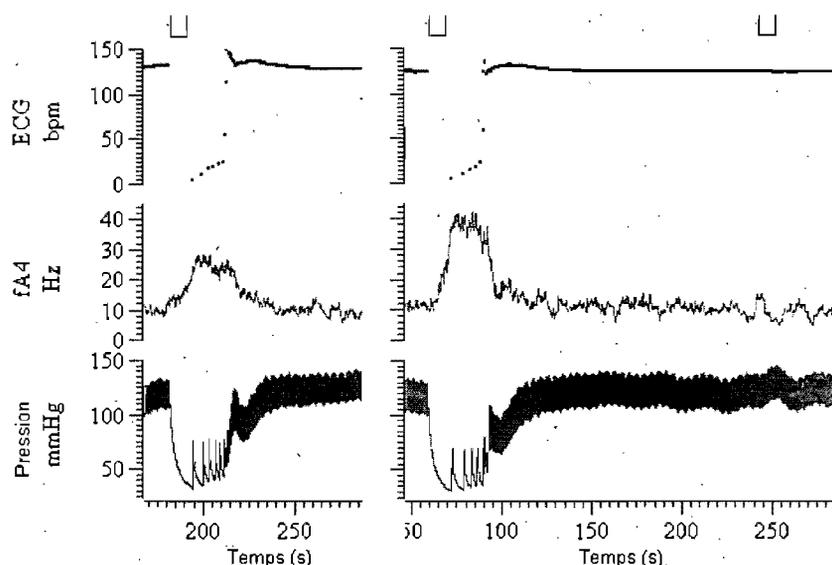


Figure 59 Effet de la stimulation des vagues. Gauche, avant dénervation vagale. Droite : après dénervation vagale, premier carré : stimulation du nerf vague droit caudal, deuxième carré : stimulation du nerf vague droit crânial

5.4 Dénervation sympathique

5.4.1 Effet de la dénervation

L'épidurale élimine l'innervation sympathique se rendant aux ganglions stellaires à partir de la moelle épinière. Du point de vue cardiaque, l'épidurale produit un effet semblable à la dénervation des ganglions stellaires, soit une diminution du rythme et une

augmentation de temps de conduction AV (Figure 60), et ce, même après dénervation vagale. L'épidurale éliminant une grande partie de l'innervation sympathique périphérique, une forte diminution de pression est observée indiquant soit une vasodilatation, soit une diminution de la force de contraction. La chute de la pression diastolique semble indiquer un effet principal sur le système vasculaire. Malgré l'épidurale, les oscillations de la pression sont toujours présentes, ce qui indiquerait que les oscillations sont causées de façon mécanique par la respiration et sans intervention du système nerveux. De plus, le peu d'activité neuronale mesurée dans les ganglions stellaires dénervés centralement ne semble plus être en phase avec l'ECG ni avec la respiration mais semble plutôt se produire de façon aléatoire (données non montrées).

L' α -chloralose est utilisée comme anesthésique en raison de son faible effet sur les variables hémodynamiques et son faible effet neurodéresseur. Malgré cela, l'injection produit un effet hémodynamique observable moins d'une minute après l'injection (Figure 60). L'épidurale aura un effet encore plus marqué que l' α -chloralose et éliminera presque toute l'activité mesurée dans les ganglions stellaires.

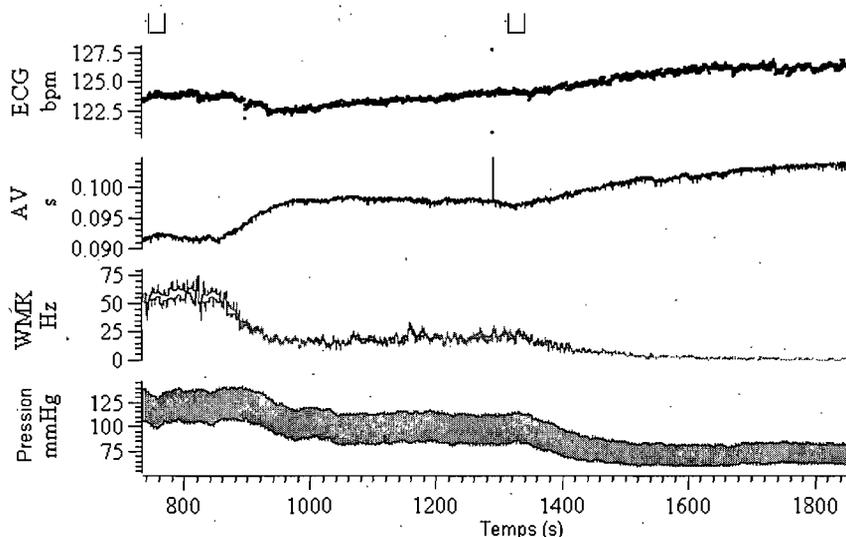


Figure 60 Effet de la α -chloralose et de l'épidurale. WMK : Activité neuronale mesurée sur 2 électrodes du ganglion stellaire gauche après la dénervation vagale. AV : temps de conduction auriculo ventriculaire. Premier carré : injection de α -chloralose. Deuxième carré : épidurale.

5.4.2 Intervention pharmacologique

5.4.2.1 Nicotine

La section des nerfs reliant les ganglions stellaires à la moelle donne des résultats très semblables aux résultats obtenus après l'épidurale. Dans les deux cas, on obtient une élimination presque totale de l'activité neuronale enregistrée dans les ganglions stellaires. Le Tableau VIII présente un résumé de l'activité neuronale mesurée dans le ganglion stellaire gauche et le ganglion stellaire droit avant et après que les nerfs reliant le ganglion stellaire droit au SNC aient été sectionnés.

Après la dénervation centrale, l'activité neuronale dans le ganglion stellaire droit est pratiquement disparue tandis qu'aucune modification n'est observée dans le ganglion stellaire gauche. L'injection d'une très forte dose de nicotine semble toutefois avoir activé les neurones du ganglion stellaire, ce qui indiquerait que les neurones peuvent toujours être excités, mais qu'ils ne reçoivent habituellement pas assez de stimuli pour se décharger.

Tableau VIII Activité neuronale enregistrée par quatre électrodes sur les ganglions d'un même chien à la suite de l'injection de nicotine pour différentes conditions d'innervation. Chaque colonne représente le nombre maximum de PED détectés par chacune des électrodes sur une fenêtre glissante de 5 s

	Stellaire gauche	Stellaire gauche	Stellaire droit	Stellaire droit
250 µg de nicotine, deux injections distinctes en contrôle	127	101	56	130
	78	4	185	224
250 µg de nicotine, deux injections distinctes après dénervation vagale	53	47	115	146
	108	88	155	167
250 µg de nicotine, stellaire droit décentralisé, dénervation vagale	72	64	5	5
500 µg de nicotine, stellaire droit décentralisé et dénervation vagale	71	87	8	7
1000 µg de nicotine, stellaire droit décentralisé et dénervation vagale	72	61	55	84

5.4.3 Intervention physiologique

5.4.3.1 Occlusion des carotides

Après dénervation sympathique et parasympathique, l'occlusion des carotides ne provoque plus aucune modulation au niveau cardiaque (Figure 61). On observe une faible augmentation de la pression fémorale, mais celle-ci est le résultat purement mécanique de l'occlusion des carotides qui, en augmentant le débit des veines fémorales, augmente la pression fémorale.

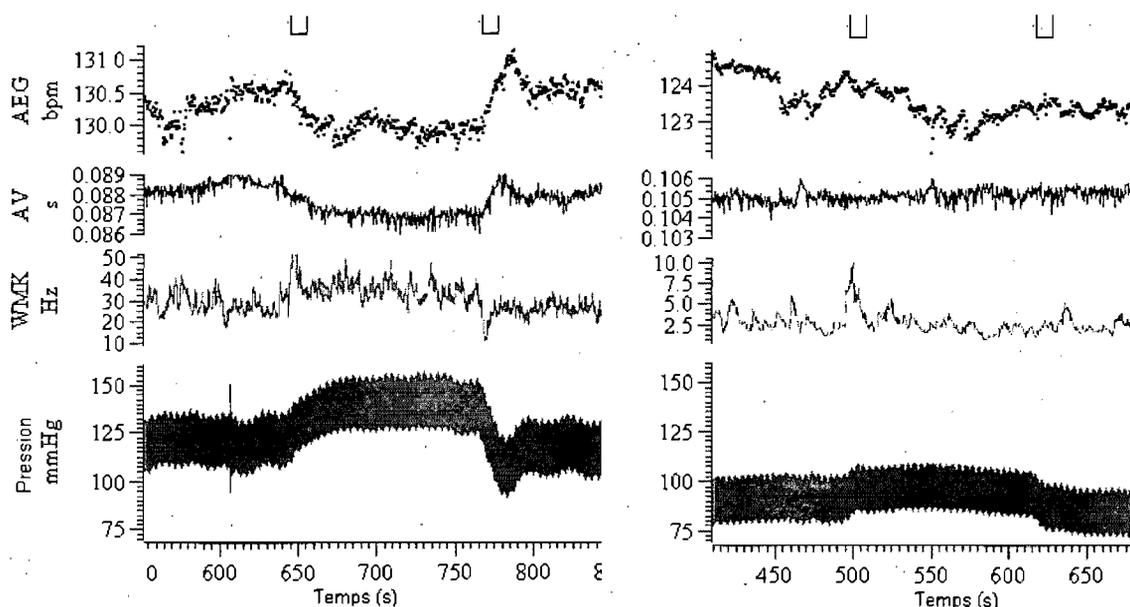


Figure 61 Effet de l'occlusion des carotides. Gauche : en contrôle. Droite après épidurale. Premier carré : occlusion des carotides. Deuxième carré : dé-occlusion des carotides

5.4.3.2 Stimulation des nerfs vagues

En contrôle, la stimulation des nerfs vagues produit une bradycardie très prononcée (Figure 62) de même qu'une augmentation de l'activité sympathique. La même stimulation est effectuée après l'épidurale, où dans ce cas la pression artérielle est beaucoup plus faible dû au manque de vasoconstriction périphérique. La stimulation du nerf vague caudal

produit encore une fois une bradycardie, mais sans augmentation de l'activité sympathique ce qui laisse supposer que l'activité sympathique du ganglion stellaire est modulée par les innervations de la colonne vertébrale. Après l'arrêt de la stimulation, la pression reprend une valeur similaire à la valeur avant stimulation, mais de manière beaucoup plus lente qu'avant l'épidurale.

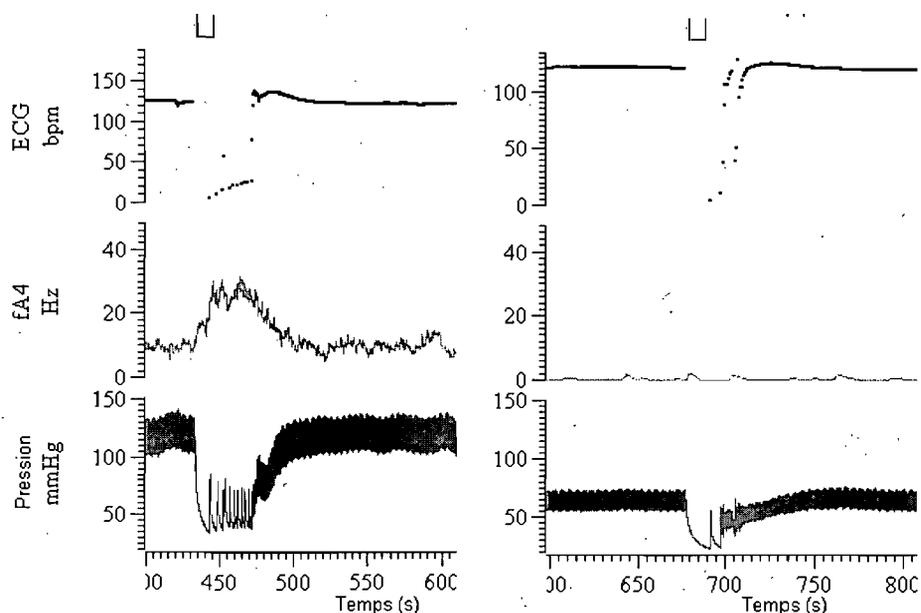


Figure 62 Effet de la stimulation des nerfs vagues. Gauche : carré : stimulation du nerf vague caudal (après dénervation vagale). Droit : Carré : stimulation du nerf vague droit caudal après dénervation vagale et épidurale

5.4.4 Synthèses des interventions

	Pression artérielle	Rythme cardiaque	Activité neuronale (sympathique)	Effet secondaire
Nicotine (avec nerfs vagues)	Augmentation	Bradycardie et rythme irrégulier	Augmentation rapide	
Nicotine (sans nerfs vagues)	Augmentation	Tachycardie	Augmentation rapide	
Phényléphérine	Augmentation	Bradycardie	Diminution	Perte de synchronisme entre l'activité neuronale et l'ECG
Dobutamine	Augmentation	Tachycardie	Augmentation	
Épinéphrine	Augmentation	Irrégulier	Augmentation	Gros spasmes musculaires
Occlusion des carotides	Augmentation	Tachycardie	Augmentation	
Stimulations des nerfs vagues	Diminution (causée par la bradycardie)	Bradycardie	Augmentation (causée par la bradycardie)	
Épidurale	Diminution		Diminution ou élimination complète	

5.5 Dialogue inter électrodes

En étudiant différentes populations de neurones, on peut imaginer différents scénarios de dialogues entre les électrodes.

- Deux populations entièrement distinctes
- Deux populations activées par le même stimulus
- Une population agissant sur l'autre population

À la Figure 63, on observe deux populations de neurones enregistrées avec deux électrodes sur le même ganglion. Les deux populations suivent les modulations caractéristiques d'une onde de Mayer (cycle de ~21 s), et ont une légère augmentation de l'activité neuronale lorsque la pression est minimale. Toutefois, une seule électrode enregistre une activité neuronale suivant la respiration (cycle de ~4s).

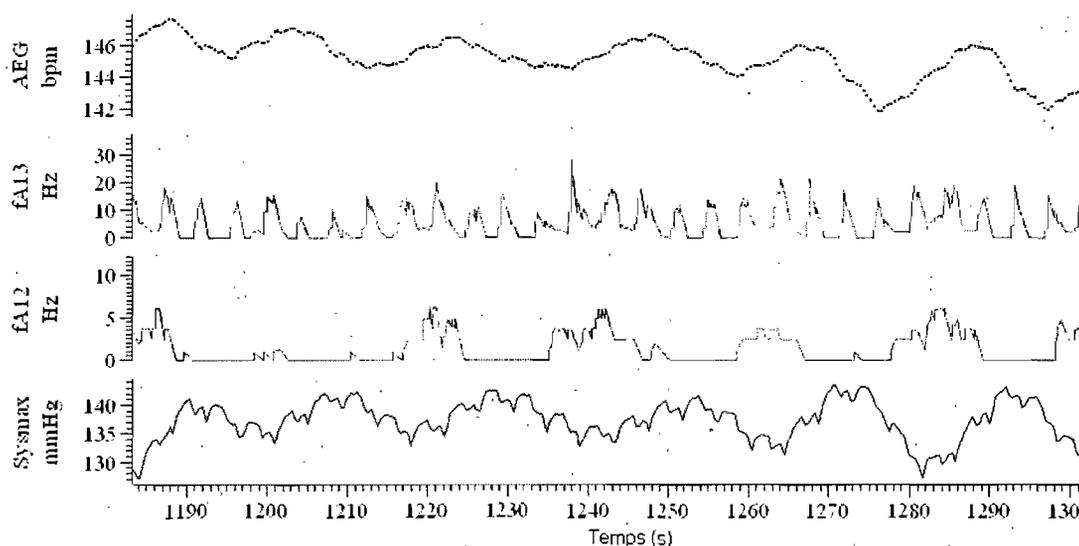


Figure 63 Activité neuronale enregistrée par deux électrodes dans le GCM. Enregistrement après dénervation vagale. Bas : Pression systolique maximale d'un battement cardiaque

Il est beaucoup plus difficile d'observer une population de neurones agissant directement sur une autre population. Ainsi le résultat sera pratiquement le même si deux populations sont activées par le même événement extérieur (deux populations

synchronisées avec l'ECG par exemple) ou si une population agit sur une autre population de neurones.

Dans une expérience, il est arrivé que deux populations de neurones soient synchronisées entre elles mais ne soient pas synchronisées avec l'ECG (Figure 64). Dans ce dernier cas, on observe que le délai entre les PED mesurés sur deux électrodes différentes est d'environ 30 ms. Cela suppose que l'activité neuronale de la première population ne stimule pas directement la deuxième population de neurones, mais module plutôt son activité sur un intervalle de temps relativement long.

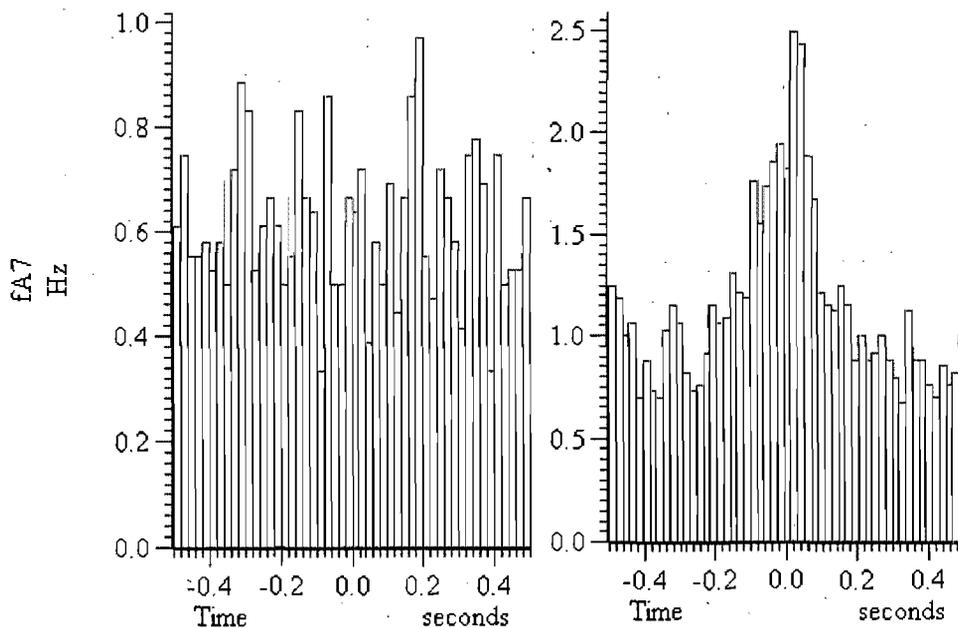


Figure 64 Dialogue inter électrode. Gauche : Histogramme de l'intervalle de temps entre l'onde R et les PED. Droite : Histogramme de l'intervalle de temps des potentiels d'action extracellulaires de deux électrodes placées sur le ganglion stellaire droit

Chapitre 6 Analyse

6.1 Système d'enregistrement

6.1.1 Réponse aux exigences

Le système d'enregistrement conçu répond en partie aux spécifications préalablement établies pour des enregistrements neuronaux multi électrodes. Le système multi électrodes est muni de huit préamplificateurs et permet d'enregistrer des signaux neuronaux en plusieurs endroits éloignés anatomiquement. De plus, trois entrées externes permettent d'acquérir des signaux physiologiques et de faire un lien entre ces signaux et l'activité neuronale. Le système possède une plage dynamique assez grande pour ne pas faire saturer les différents étages d'amplification et enregistre un signal qui n'est pas détérioré par les interférences électriques extérieures qui sont toujours présentes lors d'enregistrements dans une salle d'opération.

6.1.2 Dépassement des exigences

L'utilisation du CAD Biosemi et l'enregistrement des signaux sur 24 bits permettent de numériser les signaux pratiquement sans les filtrer (0,5-3000 Hz). Ce faisant, nous avons obtenu le comportement haute fréquence qui permet d'observer l'activité neuronale simultanément avec les fluctuations basse fréquence des électrodes. Ce montage a permis de constater que plusieurs PED ne sont pas causés par l'activité neuronale, mais proviennent de brusques sauts de tension des électrodes.

L'utilisation de plusieurs électrodes a permis de nombreuses améliorations dans le traitement de signal. Un artefact provenant d'une région éloignée est considéré comme un PE lors d'enregistrements avec une seule électrode. Avec plusieurs électrodes ayant le même gain, la présence d'artefacts semblables sur plusieurs électrodes permet une meilleure discrimination de ces artefacts.

6.1.3 Exigences partiellement réalisées

6.1.3.1 Électrodes

Lors des enregistrements, ce sont les électrodes qui ont causé les plus gros problèmes. La pointe des électrodes FH-Co utilisées est extrêmement fine et rigide, ce qui permet d'insérer les électrodes individuellement à travers la barrière de tissu conjonctif des ganglions stellaires. Toutefois, il s'est avéré difficile, voire impossible, d'insérer plus de trois électrodes simultanément dans le ganglion stellaire. Dans ces conditions, les électrodes déforment le tissu, mais ne le traversent pas.

Dans le PGAD, différents montages ont été utilisés, soit : 1) la matrice d'électrodes fixée au préamplificateur et au micromanipulateur, 2) la matrice d'électrodes fixée au préamplificateur et mobile par rapport au micromanipulateur ou 3) les électrodes flottantes. La matrice fixe ne semble pas beaucoup bouger par rapport au PGAD. Pour immobiliser la matrice lors d'une contraction, il faut utiliser une force assez importante. Les contractions cardiaques risquent ainsi de comprimer encore plus le PGAD contre la matrice d'électrodes et de déplacer le tissu par rapport à la pointe des électrodes, et ce, sans mouvement apparent. Lorsque le préamplificateur est flottant, les électrodes suivent bien le mouvement du PGAD, mais les PED associés à des sauts de potentiels sont encore présents sur les enregistrements *in-vivo* et sur du tissu *ex-vivo* subissant un mouvement. Pour les électrodes flottantes, on obtient le même genre de problèmes que pour le préamplificateur flottant tout en ajoutant le risque de produire des artefacts causés par le mouvement des fils raccordant les électrodes au préamplificateur.

Ainsi les trois méthodes n'ont pas permis d'éliminer les artefacts de mouvement. Les électrodes flottantes sont présentement utilisées puisqu'elles permettent une plus grande flexibilité pour le positionnement dans les ganglions stellaires. Dans le PGAD, l'activité électrique et le mouvement du cœur produisent un environnement instable et rendent les enregistrements de l'activité neuronale extrêmement difficiles à interpréter. Il

faudrait trouver une méthode pour réduire ces artefacts avant d'effectuer d'autres enregistrements pour une étude systématique du PGAD.

6.1.3.2 Bande passante et plage dynamique

Les enregistrements sont effectués dans la bande passante de 300-2900 Hz. Le gain du système commence à diminuer pour des fréquences supérieures à 1000 Hz. Pour une fréquence de 3000 Hz, le système atténue le signal d'un facteur de -5dB , ce qui déforme légèrement le signal mesuré, mais ne nous empêche pas d'effectuer une bonne analyse de l'activité neuronale. Les résultats expérimentaux montrent que l'atténuation se produit au niveau du CAD, ce qui laisse peu de place à l'amélioration puisque le filtrage passe-bas et la vitesse d'acquisition sont déjà fixés aux valeurs maximales permises par le CAD.

6.1.3.3 Impédance d'entrée du préamplificateur

L'impédance d'entrée des préamplificateurs n'est pas très supérieure à l'impédance des électrodes, ce qui a pour effet d'atténuer le signal. Pour les électrodes que nous avons utilisées (de $10\text{ M}\Omega$ à 1000 Hz), le signal peut perdre le tiers de son amplitude, ce qui n'est pas excessif. Dans les basses fréquences, l'impédance des électrodes augmente beaucoup, mais l'impédance du préamplificateur augmente aussi; de ce fait, le signal sera très peu déformé. L'impédance des électrodes est mesurée lorsque celles-ci sont neuves, et comme l'impédance diminue très rapidement lorsqu'elles sont insérées dans un tissu fibreux, l'impédance des électrodes se retrouve rapidement inférieure à l'impédance du préamplificateur et le signal n'est presque plus atténué. Il serait aussi possible d'acheter des électrodes avec une impédance d'entrée initiale plus faible, mais on risque de diminuer l'amplitude des signaux enregistrés.

L'impédance d'entrée du préamplificateur est une des plus élevées que l'on peut trouver sur le marché parmi les préamplificateurs neuronaux commerciaux multicanaux actuellement disponibles. De plus, dans des enregistrements neuronaux cardiaques effectués par d'autres chercheurs^[50; 51], ceux-ci utilisaient des amplificateurs d'instrumentation ayant une impédance d'entrée de $10^8\Omega // 25\text{ pF}$ et enregistraient tout de

même des signaux neuronaux. Toutefois, les résultats que nous avons présentés (Figure 32) nous laissent certains doutes quant à la validité des enregistrements du SNCI obtenus avec cette technique.

Dans les préamplificateurs, si l'impédance d'entrée est élevée, le courant de polarisation est habituellement très bas. Ces deux caractéristiques diminuent le courant pouvant circuler dans l'électrode. Les tests effectués avec un préamplificateur de plus faible impédance (Figure 32) ont montré des artefacts plus nombreux et plus importants et suggèrent d'augmenter l'impédance le plus possible pour diminuer le nombre d'artefacts. Un montage faisant varier l'impédance d'entrée du préamplificateur tout en conservant les autres parties du montage identiques permettrait de savoir si une augmentation de l'impédance diminue le nombre et l'amplitude des artefacts. Toutefois, les enregistrements *ex-vivo* n'ayant pas donné des artefacts tout à fait semblables aux enregistrements *in-vivo*, la relation entre l'impédance d'entrée et les artefacts demandera une étude plus approfondie.

6.1.3.4 Analyse en ligne

Une partie du travail a consisté à produire un système de traitement en ligne pour pouvoir nous aider à placer les électrodes sur deux populations de neurones communiquant entre elles durant l'exécution d'une expérience. Une partie du travail a été effectué mais n'a finalement pas été utilisé lors d'enregistrements. Il semble encore prématuré de poursuivre dans cette voie puisque, même lors de l'analyse en différé, il est toujours difficile d'observer une communication entre deux populations de neurones cardiaques.

6.1.4 Améliorations possibles du montage

6.1.4.1 Impédance optimale des électrodes

Bien que des études aient démontré que les électrodes de petite taille (ayant une impédance élevée) ont une plus grande sensibilité pour mesurer les PE, les résultats que nous avons obtenus jusqu'à maintenant (Figure 34) n'ont pas permis de déterminer de

relation évidente entre la taille des électrodes et l'activité neuronale mesurée. Puisque la position des électrodes influence beaucoup l'activité neuronale mesurée, il est très difficile de comparer *in-vivo* les résultats obtenus par deux électrodes d'impédance différente. Toutefois, en accumulant plus d'enregistrements où l'activité neuronale dans un ganglion est mesurée avec des électrodes d'impédances variées, on devrait être en mesure de trouver l'impédance optimale. L'utilisation d'électrodes extrêmement pointues demeure toutefois nécessaire pour faciliter l'entrée et le positionnement des électrodes afin d'enregistrer une activité neuronale élevée.

6.1.4.2 Augmentation du nombre d'électrodes

La matrice d'électrodes semblait très prometteuse comme moyen d'enregistrer plusieurs populations de neurones simultanément en effectuant un minimum de manipulations. Toutefois, même si la méthode des électrodes flottantes est beaucoup plus laborieuse, il est préférable d'insérer les électrodes une à une pour traverser la barrière de tissu conjonctif. Cette méthode permet aussi de déplacer une seule électrode à la fois pour obtenir un signal sur chaque électrode, mais élimine les informations sur la disposition spatiale des électrodes. Pour obtenir un bon enregistrement, aucun liquide ne doit se retrouver sur les connecteurs et les fils ne doivent pas se frotter les uns contre les autres, ce qui devient assez difficile lorsqu'on utilise plusieurs électrodes flottantes.

Un plus grand nombre d'électrodes a permis d'observer des comportements différents sur plusieurs électrodes, et aussi d'enregistrer plus d'activité neuronale simultanément, ce qui donne de meilleures statistiques. Les derniers enregistrements ont été effectués à l'aide de quatre électrodes et une électrode de référence. Chaque préamplificateur possédant huit entrées, il serait possible, suivant la dextérité du technicien d'insérer huit électrodes dans les ganglions.

D'autres groupes ont développé des matrices d'électrodes pour les enregistrements neuronaux. Par exemple, Thomas Recording produit une matrice où 32 disques (diamètre : 35 μm) sont espacés de 200 μm et placés sur une aiguille de 650 μm de diamètre (Annexe

IV), mais plusieurs autres modèles sont disponibles. L'électrode a un gros diamètre, mais elle réduirait les manipulations puisqu'une seule électrode doit être utilisée. Il ne faut pas oublier que ces électrodes sont développées pour le cerveau, il faudrait donc choisir un modèle qui permet de traverser le tissu conjonctif protégeant les ganglions et n'ayant pas une dimension trop importante pour ne pas endommager les ganglions.

6.1.4.3 Taux de décharge optimal

En contrôle, il est rare d'obtenir un taux de décharge supérieur à dix PED par seconde. À ce taux, on enregistre très peu de potentiels simultanés. Lorsque l'activité sympathique augmente, le taux de décharge des PED de forte amplitude et celui des PED de faible amplitude augmentent simultanément. Pour un certain niveau d'activité neuronale, il devient souvent difficile de différencier les neurones de forte amplitude observés en contrôle à travers l'activité des neurones environnants (ressemblant à une augmentation du niveau de bruit). Seule l'obtention en contrôle de PE de très grande amplitude permettrait de bien identifier les neurones.

Les mesures effectuées avec des électrodes placées de façon individuelle dans les ganglions ont donné une densité en contrôle de 1-2 PED/s et pouvant atteindre plus de 200 PED/s lors des interventions (Figure 46). Dans les enregistrements en contrôle, la faible activité neuronale pose un problème puisqu'il faut enregistrer longtemps pour obtenir de bonnes statistiques. Toutefois, lors d'interventions (injection de nicotine, par exemple), le système sympathique est très actif et plusieurs potentiels arrivent dans la durée d'une forme d'onde (2 ms). Il devient alors très difficile de compter précisément le nombre de PE et encore plus difficile de classifier les formes d'ondes. Dans les présentes analyses, puisque l'amplitude des signaux était souvent trop faible pour obtenir une bonne classification, la reconnaissance n'était pas utilisée. Si deux PE arrivaient en moins de 2 ms, ces deux PE étaient comptés comme un seul événement. Au lieu de déterminer le seuil de détection en fonction du niveau de bruit, le seuil de détection de chaque électrode pourrait être ajusté pour détecter une densité de PED précise. Ce seuil variable permettrait d'effectuer une

bonne reconnaissance de forme tout en ayant une densité neuronale suffisante pour effectuer de bonnes statistiques.

6.1.4.4 α -chloralose

L' α -chloralose produit une forte variation de l'activité neuronale tout au long de l'expérience. La perfusion d' α -chloralose permettrait d'éliminer une cause de fluctuation de l'activité neuronale. Cette méthode n'était pas employée pour éviter la cristallisation de l' α -chloralose. Puisque ce phénomène ne se produit plus, il serait facile d'injecter l' α -chloralose sous perfusion. L'utilisation d'un autre anesthésiant agissant très peu sur les variables hémodynamiques et le système nerveux autonome pourrait être plus appropriée que l' α -chloralose. Le propofol est quelquefois utilisé au centre de recherche et pourrait s'avérer plus efficace.

6.1.5 Reproductibilité des enregistrements, insertion des électrodes

Lors d'enregistrements sur les ganglions thoraciques (stellaires et GCM), il y a une très grande variabilité anatomique des ganglions tant du point de vue de la taille que du nombre de nerfs innervant les ganglions. Cette variabilité est aussi présente dans l'activité neuronale mesurée. Chez certains chiens, immédiatement après l'introduction d'électrodes, l'activité neuronale était mesurée sur plusieurs électrodes, tandis que sur d'autres chiens, l'activité neuronale restait très faible, voire inexistante, peu importe le type, la position ou la méthode utilisée pour insérer les électrodes.

De façon générale toutefois, si l'électrode ne semblait pas avoir traversé la couche de tissu conjonctif mais plutôt déformé le ganglion sans le pénétrer, une activité neuronale très faible était enregistrée, ce qui arrivait beaucoup plus souvent lorsque nous utilisions la matrice d'électrodes.

6.2 Enregistrement du SNCI

6.2.1 Modulation des artefacts d'enregistrement

Un PED est détecté au moment de l'activation électrique des oreillettes dans pratiquement tous les enregistrements effectués sur le PGAD (la Figure 32). D'autres groupes enregistrent aussi des PED qui concordent précisément avec l'activation des oreillettes^[24], mais ils sont plutôt interprétés comme étant en phase avec la pression diastolique. Contrairement à nos enregistrements, ces artefacts peuvent être pratiquement absents lors d'enregistrements^[52] et apparaître à la suite d'augmentation de la pression par isoprotérénol. Cette modulation est interprétée comme une modulation de l'activité neuronale, mais pourrait aussi être produite par un changement de la propagation électrique dans le myocarde.

Le filtrage utilisé (300-2900 Hz) pour enregistrer les neurones dans diverses structures anatomiques permet habituellement de différencier les neurones. L'enregistrement neuronal sur substrat cardiaque est effectué dans un environnement en mouvement et subissant une forte variation de potentiel qui n'est pas propice à la réalisation de bons enregistrements neuronaux. Les différents résultats présentés montrent des artefacts de nature électrique produits par l'activation des oreillettes, mais aussi des artefacts mécaniques produits par la respiration. Une fois ces artefacts enlevés, les neurones subissent toujours une pression mécanique régulière occasionnée par le mouvement des électrodes, ce qui peut modifier leur taux de décharge.

Le signal non filtré enregistré par les électrodes n'est pas régulier entre deux battements cardiaques, et ce, même si l'ECG semble stable (Figure 32). Ces changements de potentiel montrent que le myocarde n'est pas un environnement stable et que des enregistrements différentiels effectués à la surface peuvent produire des signaux très variés qui, une fois filtrés, peuvent ressembler à des PE.

Lors d'enregistrements dans le SNCI, de nombreuses études ont démontré la présence d'activité neuronale cardiaque^[4; 25; 26; 52]. Les résultats que nous avons obtenus

montrent que plusieurs artefacts pourraient être causés par les grandes fluctuations mécaniques et électriques du milieu. Certains artefacts se produisent de façon synchronisée avec la contraction cardiaque, ce qui rend facile leur classification. D'autres artefacts se produisent de façon aléatoire ou sont modulés par les interventions extérieures. Dans les conditions d'enregistrement actuelles, nous avons conclu que la majeure partie des PED provenait d'artefacts, et nous n'avons pas encore trouvé de moyen efficace pour différencier ces artefacts de l'activité neuronale. Ainsi, nous demeurons sceptiques face aux relations trouvées entre une intervention cardiaque ou systémique et l'augmentation de l'activité neuronale du SNCI. Le problème se pose beaucoup moins pour les enregistrements dans les ganglions extracardiaques où l'interférence électrique et mécanique du cœur est moins présente. Les sections ci-dessous concernent donc exclusivement les résultats obtenus dans les ganglions stellaires.

6.3 Rythmicité

De nombreuses études se sont penchées sur la rythmicité dans le système sympathique^[72]. À la Figure 40, l'activité neuronale oscille en phase avec le cycle cardiaque et l'explication la plus simple serait une inhibition de l'activité sympathique par les barorécepteurs. Des interventions pharmacologiques induisent aussi des changements de l'activité neuronale et de la phase avec l'ECG et la pression. Ces phénomènes sont facilement observables, mais leur cause est encore incertaine. L'implication des boucles de contrôle locales est possible, mais n'a pas été démontrée.

Plusieurs signaux présentés montraient des variations de l'activité dans les ganglions stellaires selon la respiration ou selon des cycles plus lents (ondes de Mayer). Lorsque ces oscillations étaient présentes sur l'activité neuronale elles l'étaient aussi sur des variables hémodynamiques (temps de conduction AV et rythme cardiaque). Dans d'autres cas, ces oscillations étaient seulement présentes sur les variables hémodynamiques. Les expériences effectuées n'ont donc pas permis de déterminer l'origine de ces oscillations. Ces ondes (présentes sur certains chiens et à des moments différents dans une

expérience), compliquent toutefois l'analyse des résultats en ajoutant une autre modulation des signaux mesurés.

6.3.1 Analyse spectrale

L'analyse spectrale a permis d'étudier les oscillations de l'activité neuronale dans la plage de fréquences de la respiration et des ondes de Mayer. Durant une période de contrôle de 1000 s, la phase entre l'activité neuronale, la pression ou le rythme cardiaque changeait d'au plus 50° . L'injection de substances pharmacologiques modulait l'amplitude des oscillations et influençait aussi la relation de phase de la cohérence. Puisque la phase peut se modifier en contrôle, il est important d'enregistrer sur une longue période après l'injection de substances pharmacologiques pour s'assurer que le système est revenu à un état stable. De cette façon, on peut estimer s'il y a eu une dérive de la ligne de base durant l'expérience. Cette méthode n'a pas pu être utilisée puisque les substances pharmacologiques étaient injectées à intervalles très rapprochés dans nos expériences. Cela est dû au fait que la cohérence (amplitude et phase) n'a jamais jusqu'ici été considérée pour juger si le système était revenu à l'état contrôle. De façon typique, les chercheurs considèrent que le système est revenu à l'état contrôle si la pression et le rythme cardiaque sont revenus dans des intervalles observés en contrôle. L'état de la synchronisation pourrait donc fournir une information supplémentaire.

Les oscillations de la pression, du rythme cardiaque et de l'activité neuronale sont très variables d'une préparation à une autre. Il est donc difficile de comparer les valeurs obtenues sur différents chiens puisque, dans certains cas, l'activité neuronale conservait un comportement presque aléatoire. Peut-être que cette variabilité est normale, considérant que plusieurs niveaux de contrôle sont toujours en interaction et qu'il est possible d'enregistrer différentes populations de neurones sur un même ganglion.

L'analyse intra battement a permis d'analyser la phase de l'activité stellaire à l'intérieur des battements. Cette phase est très stable durant l'enregistrement contrôle. Pour certains enregistrements, la modulation inter battement variait beaucoup avec le cycle

respiratoire, pour d'autres beaucoup moins ou pas du tout. Lors de l'ajout de nicotine et lorsque le rythme cardiaque subit de très fortes variations, une approche par délai constant s'est avérée plus appropriée qu'une approche par phase constante. Dans un enregistrement régulier, puisque la fréquence varie habituellement moins de 5% la méthode par phase constante simplifie l'interprétation et peut être utilisée.

Les périodes utilisées pour l'analyse spectrale ont toutes été de 200 s pour pouvoir comparer les expériences plus facilement. Cette période devrait cependant être ajustée en fonction de l'activité neuronale. Ainsi, en comparant les taux de cohérence intra battement, du Tableau VII, un taux de cohérence significatif $p < 0,05$ peut être atteint en 5 s (expérience #30) ou en plus de 200 s (expérience #31) selon le taux de cohérence et le taux de décharge. Il faudrait donc analyser préalablement le synchronisme d'une série de données en contrôle avant de déterminer l'intervalle sur lequel sera effectuée l'analyse. En d'autres termes, nous suggérons que le protocole expérimental soit ajustable pour tenter de pallier la variabilité physiologique entre les sujets, le critère étant la nécessité de construire une statistique significative pour chaque sujet.

Nous avons utilisé le co-spectre pour observer la rythmicité entre l'activité neuronale et les variables hémodynamiques. Le taux de cohérence et la phase ont été déterminés, pour plusieurs enregistrements. On peut observer un taux de cohérence très élevée ou pratiquement inexistante selon les expériences. La méthode des données de substitution est intéressante puisqu'elle permet de produire des tests statistiques sans contrainte a priori sur les distributions.

Pour obtenir un bon co-spectre, les signaux doivent être stationnaires sur une période de temps assez longue (plusieurs minutes) pour obtenir un signal peu bruité, ce qui n'était pas vraiment possible pour nos enregistrements aigus. L'analyse par co-spectre semble donc plus appropriée pour des enregistrements effectués de façon chronique. De plus, les interventions pharmacologiques sur le chien produisent un effet transitoire pour lequel l'analyse spectrale n'est pas très appropriée. Dans ces périodes de transition, la

corrélation dans le domaine temporel^[19] permet d'étudier le coefficient de corrélation de deux signaux, mais fait perdre la possibilité de d'effectuer l'analyse fréquentielle^[54].

L'analyse spectrale semble donc plus justifiée pour des enregistrements chroniques. Dans ce cas, des interventions tels l'application de α -chloralose ou la détérioration du modèle avec le temps et les interventions ne viendraient pas compromettre l'analyse des résultats.

6.4 Interventions physiques et pharmacologiques

6.4.1 Dénervation centrale du système sympathique

Lorsque le ganglion stellaire était totalement dénervé centralement (coupure des nerfs ou épidurale), l'injection de nicotine a produit très peu d'activité dans le ganglion stellaire. Par contre, l'injection d'une forte dose de nicotine a produit une stimulation importante du ganglion stellaire. La procédure n'a été effectuée qu'une seule fois puisque la coupure des nerfs autour du ganglion stellaire a de fortes chances de déplacer les électrodes et ne nous permet pas d'être certains de la cause de la perte d'activité sympathique. Dans les expériences récentes, de fortes doses de nicotine (500 –1000 μ g) injectées après une épidurale provoquaient une augmentation de l'activité des ganglions stellaires. La présence de synchronisme avec le cœur dans ces enregistrements indiquerait l'existence d'une boucle locale de contrôle, mais avec un faible gain. Cela soulève aussi la possibilité très intéressante d'une interaction entre le tonus et la signalisation.

6.4.2 Épinéphrine, dobutamine, phényléphrine

Ces trois substances pharmacologiques ont été utilisées pour moduler l'état cardiovasculaire. La phényléphrine agit principalement sur le système vasculaire, la dobutamine, principalement sur le système cardiaque alors que l'épinéphrine influence les deux systèmes. Ces substances ont été utilisées au départ pour modifier des paramètres cardiaques et moduler de ce fait l'activité des neurones afférents innervant les ganglions

dans le thorax. Toutefois, en même temps que l'innervation afférente, les changements hémodynamiques sont aussi détectés par le SNC qui module l'activité des ganglions thoraciques et cardiaques par les voies efférentes. Étant donné le temps d'action assez long de ces substances pharmacologiques, il n'est pas possible de déterminer si une modulation observée dans les ganglions provient d'une source afférente ou efférente. L'élimination des nerfs efférents innervant le ganglion aurait pu donner des informations à ce sujet, mais la trop faible activité neuronale mesurée après dénervation donne peu d'information si ce n'est que les ganglions stellaires sont principalement activés par les voies efférentes.

L'épinéphrine peut aussi produire de forts spasmes musculaires dans le thorax et provoquer des artefacts de mouvement si bien que l'effet global de l'épinéphrine sur les ganglions stellaires n'est pas certain. L'épinéphrine ne semble donc pas une substance adéquate pour moduler l'activité des ganglions stellaires (tel que supposé dans les expériences d'IRM-fonctionnelle).

6.4.3 Nicotine

La nicotine agit directement sur des terminaisons nerveuses, et ce, tant chez des récepteurs sympathiques que parasympathiques. L'augmentation de l'activité sympathique a été mesurée sur les ganglions stellaires, tandis que l'augmentation de l'activité parasympathique est déduite de la présence de bradycardies lorsque les nerfs vagues sont intacts. En augmentant l'activité sympathique, le synchronisme avec l'ECG et la pression se trouve normalement augmenté. De faibles concentrations de nicotine ne semblent toutefois pas avoir d'effet sur le système parasympathique^[63]. Une analyse plus poussée pourrait être effectuée pour mesurer l'effet de la nicotine à différentes concentrations et vérifier si on obtient des réponses différentes pour différentes populations neuronales. La nicotine est aussi connue pour produire une internalisation des récepteurs, mais cet effet n'a pas été étudié et devrait être pris en compte lors de l'analyse de nos résultats.

La nicotine agissant directement sur le système nerveux, elle produit une augmentation de l'activité sympathique avant l'apparition d'effets cardiaques ou

systémiques. Cet aspect est avantageux par rapport aux drogues mentionnées précédemment qui ne permettaient pas de savoir la cause du changement d'activité neuronale des ganglions. La nicotine permet aussi d'augmenter l'activité des ganglions sympathiques sans utiliser de stimulations électriques qui produisent souvent des artefacts dans les enregistrements.

Les injections ont toujours été effectuées dans la veine fémorale. Une injection dans les artères innervant directement les ganglions permettrait une action beaucoup plus rapide et localisée en diminuant l'effet que peut avoir la nicotine sur le SNC. Par ailleurs, l'utilisation simultanée d'un bloqueur muscarinique permettrait de mieux séparer l'action sympathique et parasymphatique.

6.5 Vision hiérarchique du contrôle cardiaque

On a observé que des stimulations électriques et mécaniques dans le thorax produisent des activations neuronales dans les ganglions thoraciques, et ce, sur des ganglions dénervés centralement^[23; 24]. L'activité neuronale afférente pourrait aussi moduler l'activité neuronale d'une autre population de neurones (stimulation ou inhibition d'un neurone.) Ce phénomène est présent dans les inter neurones du cerveau, mais a aussi été mesuré dans les ganglions thoraciques (nodose)^[73; 74] où la stimulation de neurones augmente l'activité des neurones avoisinants. Ces observations supposent donc des boucles de contrôle locales.

Dans des expériences semblables à celles que nous avons effectuées, les boucles de contrôle pourraient être observées si le PE d'un neurone afférent pouvait déclencher, après un délai de quelques ms, une activation ou une inhibition dans une autre population de neurones (Figure 64). Une fois cette suite d'événements observée en contrôle, il faudrait aussi l'observer après dénervation centrale pour éliminer la possibilité que l'inhibition ou la stimulation soit sous contrôle du SNC.

Dans les ganglions stellaires, la modulation de l'activité neuronale par des neurones afférents expliquerait pourquoi l'activité neuronale est mieux synchronisée avec l'ECG

lorsque l'activité sympathique est élevée. Toutefois, il faut toujours déterminer si cette modulation provient des neurones afférents ou directement du SNC.

Si les boucles locales agissent comme modulateur de l'activité neuronale (en provenance du SNC), l'absence d'activité à la suite de la dénervation des ganglions stellaires avec le SNC n'infirme pas la présence de boucles de contrôle locales de l'activité cardiaque. *Cela implique seulement que ce contrôle n'est pas visible lorsqu'il n'y a plus d'activité neuronale en provenance du SNC.* Dans ces conditions, il devient difficile de prouver la présence de contrôle local et encore plus difficile de déterminer si ce contrôle est important par rapport à celui exercé par le SNC.

La preuve d'un contrôle hiérarchique n'a pas encore été faite. En coupant l'innervation du SNC (par épидurale ou par dénervation des nerfs efférents des stellaires), l'activité neuronale mesurée dans les ganglions stellaires devient pratiquement inexistante et il est très difficile d'observer une modulation. Cela suggère que le contrôle hiérarchique n'est pas présent ou qu'il est de faible amplitude.

Toutefois, plusieurs semaines après une transplantation cardiaque, le cœur devrait avoir perdu toute innervation par le SNC, mais il recommence à être synchronisé aux variables hémodynamiques^[27]. Est-ce que ce contrôle provient seulement du contrôle mécanique du cœur, d'une réinnervation cardiaque ou est-ce le résultat de traitement d'information par le SNCI? La réponse n'est pas encore connue, mais elle pourrait être trouvée par une analyse approfondie de l'activité neuronale du SNCI. Toutefois, puisque notre protocole ne comportait pas d'enregistrement dans le SNCI, il n'a pas été possible de répondre à cette question.

6.6 Expériences futures

Le dialogue entre les populations de neurones semble difficile à enregistrer. Vu le nombre de neurones présents dans le ganglion, il est difficile d'observer un PE sur une électrode et son effet mesuré quelques ms plus tard sur une autre électrode. La difficulté de placer les électrodes avec une bonne précision rend cette analyse encore plus ardue. Les

expériences que nous envisageons pour le futur visent plutôt à vérifier si un contrôle local est bien présent dans les systèmes cardiaque et thoracique. Elles vérifieront aussi l'importance de ce contrôle local et sa capacité à induire des problèmes cardiaques tels la fibrillation.

6.6.1 Y a-t-il contrôle local sans innervation centrale?

Pour prouver la présence et l'importance des boucles de contrôle, nous avons déjà fait des études en éliminant plusieurs boucles de contrôle, que ce soit sur les nerfs vagues ou entre le ganglion stellaire et la moelle. Ces résultats ont montré que, même après dénervation, il reste toujours un certain contrôle des variables cardiaques hémodynamiques, mais de beaucoup plus faible amplitude. Il est difficile de déterminer si ce contrôle provient d'un contrôle neuronal ou mécanique cardiaque. Une expérience pourrait être élaborée dans laquelle un stimulus mécanique (occlusion d'une veine ou artère principale) est effectué à plusieurs reprises avec un degré d'innervation de moins en moins important : 1) en contrôle, 2) sans les nerfs vagues, 3) sans l'innervation de la moelle, 4) sans innervation thoracique et 5) après dénervation partielle et totale des ganglions du SNCI. On aurait ainsi une idée de la possibilité de contrôle du cœur de chacun des niveaux.

Si les différents niveaux hiérarchiques (thorax et SNCI) ne contrôlent pas directement le cœur mais ont plutôt un rôle de modulation de l'activité du SNC, l'élimination de l'innervation du SNC ne permettra pas de voir l'effet des niveaux inférieurs. Pour pallier ce problème, on pourrait, après dénervation, appliquer une stimulation électrique de type bruit blanc, et vérifier si l'amplitude du bruit appliqué fait apparaître une synchronisation. Cependant, comme discuté dans la prochaine section, la stimulation électrique peut amener certains problèmes.

6.6.2 Stimulations sympathiques

Des expériences effectuées avant le début de ce projet ont montré que les stimulations électriques du ganglion stellaire produisent des artefacts électriques, qui

peuvent se confondre avec les signaux neuronaux. De plus, les stimulations électriques produisent souvent des contractions musculaires chez le chien et risquent de déplacer les électrodes. Les stimulations sympathiques de différents nerfs se dirigeant vers le cœur ou dans les ganglions sympathiques auraient permis d'activer de façon répétée et contrôlée plusieurs populations de neurones. Le développement de cette technique permettrait de cibler beaucoup plus facilement des populations de neurones et mériterait d'être approfondie.

6.6.3 Stimulation de la moelle épinière

L'élimination de l'innervation provenant du SNC semble avoir supprimé presque toute l'activité des ganglions thoraciques, de même que la presque totalité du contrôle cardiaque. Au lieu d'éliminer cette boucle de contrôle et de perdre pratiquement toute l'activité neuronale, on pourrait stimuler électriquement dans la moelle épinière. L'effet serait similaire à la stimulation des efférents se rendant au ganglion stellaire, mais puisque la stimulation se fait à une plus grande distance des ganglions stellaires, la possibilité d'induire des artefacts musculaires serait moindre.

6.6.4 Stimulation d'un ganglion isolé

Pour avoir un contrôle sur toute l'information neuronale qui entre dans un ganglion thoracique, il serait avantageux d'extraire le ganglion du chien. Cela n'est pas possible sans provoquer la mort rapide du ganglion. Une expérience *in-vivo* où toute l'irrigation vasculaire est présente, mais où l'innervation est entièrement bloquée pourrait être un compromis acceptable. Les stimulations et les enregistrements électriques seraient effectués dans le ganglion et dans les nerfs innervant le ganglion, ce qui permettrait d'avoir un contrôle sur l'information entrant dans le ganglion et de constater l'importance du contrôle local.

6.6.5 Remodelage

Sous influence de l'innervation du SNC, il est possible que le contrôle soit fait presque exclusivement de façon centrale et que les boucles de contrôle locales apparaissent de façon graduelle lorsque le SNC n'effectue plus le travail adéquatement. Si c'est le cas, il est normal que nous n'enregistrions plus d'activité des ganglions stellaires à la suite d'une perte d'influx nerveux du SNC. Il faudrait éliminer l'innervation de ganglions stellaire par le SNA plusieurs jours avant une expérience pour laisser le temps aux boucles de contrôle thoraciques d'apparaître.

Un modèle de chien pourrait subir une dénervation (vagale ou entre le SNC et les ganglions thoraciques) et être mis en convalescence plusieurs jours. Après cela, il serait intéressant d'observer s'il y a un remodelage de l'activité neuronale thoracique pour compenser la perte de contrôle provenant du SNC, et si des boucles de contrôle sont toujours présentes.

Conclusion

Un système de mesure a été réalisé pour enregistrer l'activité neuronale cardiaque dans deux endroits précis, le ganglion stellaire et le PGAD. Les caractéristiques du système sont suffisantes pour enregistrer l'activité neuronale même si le gain du système n'est pas tout à fait constant aux hautes fréquences. L'interférence mesurée est négligeable dans les conditions normales d'utilisation dans le thorax d'un chien.

Dans les ganglions stellaires, une grande activité neuronale a été mesurée. Elle était modulée de façon importante selon différentes constantes de temps conformes avec l'activité cardiaque, la respiration de même que des oscillations lentes (période ~30 s) souvent associées aux ondes de Mayer.

Dans la mesure où le système est conçu pour étudier le dialogue entre deux populations de neurones du système cardiaque, nous avons observé à certaines occasions l'activité neuronale de différentes populations de neurones en contre phase. Cela laisse entrevoir des populations neuronales dans un ganglion cardiaque ayant différentes fonctions, mais aucun dialogue clair n'a encore été détecté.

Dans les enregistrements effectués dans le PGAD, le nombre d'artefacts et leur ressemblance avec des signaux neuronaux n'a pas permis d'isoler adéquatement une activité neuronale suffisante pour faire l'étude des résultats. La présence d'artefacts variés et leur modulation importante par des interventions systémiques montrent que le substrat cardiaque est en changement constant. La technique pour isoler l'activité neuronale de ces artefacts demande certaines améliorations avant de pouvoir mesurer adéquatement les neurones du SNCI.

Deux méthodes basées sur l'augmentation du flux sanguin local associée à l'activation des neurones ont aussi été utilisées pour observer l'activité neuronale cardiaque, soit l'IRM-fonctionnelle et la méthode par flux optique. Malheureusement, le mouvement, les artefacts électriques et la faible quantité de neurones (comparée à celle du cortex pour lequel ces méthodes ont d'abord été conçues) rendent difficiles la mesure et le

traitement des résultats obtenus. Par ailleurs, à l'activation de neurones sympathiques peut produire des changements hémodynamiques systémiques qui viennent compliquer la compréhension des changements hémodynamiques locaux sur lesquels ces techniques sont basées.

Dans la vision hiérarchique du système nerveux cardiaque, les ganglions servent de lieu d'intégration de l'information. Dans le thorax, des techniques permettant d'interrompre l'activité nerveuse de façon temporaire et répétitive (des cryosondes par exemple) pourraient être utilisées pour moduler l'activité de certains nerfs innervant les ganglions et voir l'effet sur les populations de neurones. En agissant de la sorte, une étude beaucoup plus systématique pourrait être effectuée grâce à l'effet temporaire de l'intervention.

Bibliographie

1. BERNE, R.M., LEVY, M.N. "Cardiovascular Physiology" . Anon. St-Louis : The C.V. Mosby Company. 1997.
2. BLINKS, J.R. 1956. "Positive chronotropic effect of increasing right atrial pressure in the isolated mammalian heart". *Am J Physiol.* 186:2. 299-303.
3. COOPER, P.J., LEI, M., CHENG, L.X., KOHL, P. 2000. "Selected contribution: axial stretch increases spontaneous pacemaker activity in rabbit isolated sinoatrial node cells". *J Appl Physiol.* 89:5. 2099-104.
4. YUAN, B.X., ARDELL, J.L., HOPKINS, D.A., LOSIER, A.M., ARMOUR, J.A. 1994 . "Gross and microscopic anatomy of the canine intrinsic cardiac nervous system". *Anat Rec.* 239:1. 75-87.
5. MOKRANE, A., NADEAU, R. 1998. "Dynamics of heart rate response to sympathetic nerve stimulation". *Am J Physiol.* 275:3 Pt 2. H995-1001.
6. MOKRANE, A., LEBLANC, A.R., NADEAU, R. 1995. "Transfer function analysis of vagal control of heart rate during synchronized vagal stimulation". *Am J Physiol.* 269:6 Pt 2. H1931-40.
7. MILLER, M.E., CHRISTENSEN GEORGE, EVANS, H.E. 1964. *Anatomy of the dog.* Philadelphie : W.B. Saunders Company.
8. BERNE, R.M., LEVY, M.N. "Cardiovascular Physiology" . Anon. St-Louis : The C.V. Mosby Company. 1981.
9. FATEEV, M.M., NOZDRACHEV, A.D. 1995. "Projections of stellate ganglion sympathetic neurons in cats". *J Auton Nerv Syst.* 51:2. 129-34.
10. NOZDRACHEV, A.D., JIMENEZ, B., MORALES, M.A., FATEEV, M.M. 2002. "Neuronal organization and cell interactions of the cat stellate ganglion". *Auton Neurosci.* 95:1-2. 43-56.
11. GUYTON, A.C. 1991. *Textbook of Medical Physiology.* Philadelphie : W.B. Saunders Company.
12. JULIEN, C. 2006. "The enigma of Mayer waves: Facts and models". *Cardiovasc Res.* 70:1. 12-21.

13. AKSELROD, S., GORDON, D., UBEL, F.A., SHANNON, D.C., BERGER, A.C., COHEN, R.J. 1981. "Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control". *Science*. 213:4504. 220-2.
14. HOPF, H.B., SKYSCHALLY, A., HEUSCH, G., PETERS, J. 1995. "Low-frequency spectral power of heart rate variability is not a specific marker of cardiac sympathetic modulation". *Anesthesiology*. 82:3: 609-19.
15. PARATI, G., SAUL, J.P., DI RIENZO, M., MANCIA, G. 1995. "Spectral analysis of blood pressure and heart rate variability in evaluating cardiovascular regulation. A critical appraisal". *Hypertension*. 25:6. 1276-86.
16. PAGANI, M., MONTANO, N., PORTA, A., MALLIANI, A., ABOUD, F.M., BIRKETT, C. et al. 1997. "Relationship between spectral components of cardiovascular variabilities and direct measures of muscle sympathetic nerve activity in humans". *Circulation*. 95:6. 1441-8.
17. CEVESE, A., GULLI, G., POLATI, E., GOTTIN, L., GRASSO, R. 2001. "Baroreflex and oscillation of heart period at 0.1 Hz studied by alpha-blockade and cross-spectral analysis in healthy humans". *J Physiol*. 531:Pt 1. 235-44.
18. LEVY MN 1988. "Sympathetic-parasympathetic interaction in the heart.". *Neurocardiology*. Sous la direction de KULBERTUS HE AND FRANCK G . Mount Kisco, New York : Futura,Publishing Co. P. 85-98.
19. ARMOUR, J.A., COLLIER, K., KEMBER, G., ARDELL, J.L. 1998. "Differential selectivity of cardiac neurons in separate intrathoracic autonomic ganglia". *Am J Physiol*. 274:4 Pt 2. R939-49.
20. HORACKOVA, M., ARMOUR, J.A. 1995. "Role of peripheral autonomic neurones in maintaining adequate cardiac function ". *Cardiovasc Res*. 30:3. 326-35.
21. ARMOUR, J.A. 2004. "Cardiac neuronal hierarchy in health and disease". *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 287:2. R262-71.

22. HOPKINS, D.A., ARMOUR, J.A. 1989. "Ganglionic distribution of afferent neurons innervating the canine heart and cardiopulmonary nerves". *J Auton Nerv Syst.* 26:3. 213-22.
23. DABROWSKI, W., GRYBOS, P., HOTTOWY, P., SKOCZEN, A., SWIENIEK, K., GRILLO, A.A. et al. 2005. "Development of front-end ASICs for imaging neuronal activity in live tissue". *Development and Application of semiconductor Tracking Detectors, Jun 14-17 2004*. Elsevier, Amsterdam, 1000 AE, Netherlands. 541, P. 405-411.
24. ARDELL, J.L., BUTLER, C.K., SMITH, F.M., HOPKINS, D.A., ARMOUR, J.A. 1991. "Activity of in vivo atrial and ventricular neurons in chronically decentralized canine hearts". *Am J Physiol.* 260:3 Pt 2. H713-21.
25. ARMOUR, J.A., HOPKINS, D.A. 1990. "Activity of canine in situ left atrial ganglion neurons". *Am J Physiol.* 259:4 Pt 2. H1207-15.
26. ARMOUR, J.A., HOPKINS, D.A. 1990. "Activity of in vivo canine ventricular neurons". *Am J Physiol.* 258:2 Pt 2. H326-36.
27. LOVRIC, S.S., AVBELJ, V., TROBEC, R., ZORMAN, D., RAKOVEC, P., HOJKER, S. et al. 2004. "Sympathetic reinnervation after heart transplantation, assessed by iodine-123 metaiodobenzylguanidine imaging, and heart rate variability". *Eur J Cardiothorac Surg.* 26:4. 736-41.
28. SCHAUERTE, P., SCHERLAG, B.J., PITHA, J., SCHERLAG, M.A., REYNOLDS, D., LAZZARA, R. et al. 2000. "Catheter ablation of cardiac autonomic nerves for prevention of vagal atrial fibrillation". *Circulation.* 102:22. 2774-80.
29. ROBINSON, D.A. 1968. "The electrical properties of metal microelectrodes". *Proceedings of the IEEE.* 56:6. 1065-1071.
30. JOHNSTON, D., MAGEE, J.C., COLBERT, C.M., CRISTIE, B.R. 1996. "Active properties of neuronal dendrites". *Annu Rev Neurosci.* 19:165-86.
31. HENZE, D.A., BORHEGYI, Z., CSICSVARI, J., MAMIYA, A., HARRIS, K.D., BUZSAKI, G. 2000. "Intracellular features predicted by extracellular recordings in the hippocampus in vivo". *J Neurophysiol.* 84:1. 390-400.

32. GEDDES, L.A., BAKER, L.E. 1989. *Principles of Applied biomedical Instrumentation*. New York : John Wiley & Sons Inc.
33. GEDDES, L.A. 1972. *Electrodes and the measurement of bioelectrics events*. New York : John Wiley & Sons, Inc.
34. NEUMAN, M.R. 1998. "Biopotential electrodes". *Medical instrumentation*. J.G. WEBSTER éditeur. John Wiley & Sons Inc. P. 692.
35. S. ARONSON, L. A. GEDDES 1985. "Electrode Potential Stability". *Transactions on Biomedical Engineering, IEEE*. BME-32:11. 987-988.
36. RALL, W. 1962. "Electrophysiology of a dendritic neuron model". *Biophys J*. 2:2 Pt 2. 145-67.
37. MOFFITT, M.A., MCINTYRE, C.C. 2005. "Model-based analysis of cortical recording with silicon microelectrodes". *Clin Neurophysiol*. 116:9. 2240-50.
38. SHOHAM, S., O'CONNOR, D.H., SÈGEV, R. 2006. "How silent is the brain: is there a "dark matter" problem in neuroscience?". *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*. 192:8. 777-84.
39. BLANCHE, T.J., SPACEK, M.A., HETKE, J.F., SWINDALE, N.V. 2005. "Polytrodes: high-density silicon electrode arrays for large-scale multiunit recording". *J Neurophysiol*. 93:5. 2987-3000.
40. LEMPKA, S.F. , JOHNSON, M.D., BARNETT, D.W., MOFFITT, M.A., OTTO, K.J., KIPKE, D.R. et al. 2006. "Optimization of Microelectrode Design for Cortical Recording Based on Thermal Noise Considerations". *Engineering in Medicine and Biology Society, 2006. EMBS '06. 28th Annual International Conference of the IEEE*. P. 3361-3364.
41. AIKA Y, REN JQ, KOSAKA K, KOSAKA T "Quantitative analysis of GABA-like-immunoreactive and parvalbumin-containing neurons in the CA1 region of the rat hippocampus using a stereological method, the disector.". 0014-4819 (Print).
42. ARMOUR, J.A., MURPHY, D.A., YUAN, B.X., MACDONALD, S., HOPKINS, D.A. 1997. "Gross and microscopic anatomy of the human intrinsic cardiac nervous system". *Anat Rec*. 247:2. 289-98.

43. PAUZA, D.H., SKRIPKA, V., PAUZIENE, N., STROPUS, R. 1999. "Anatomical study of the neural ganglionated plexus in the canine right atrium: implications for selective denervation and electrophysiology of the sinoatrial node in dog". *Anat Rec.* 255:3. 271-94.
44. STRUMWASSER, F. 1958. "Long-term recording' from single neurons in brain of unrestrained mammals". *Science.* 127:3296. 469-70.
45. SCHMIDT, E.M. 1999. "Electrodes for many single neuron recordings". *Methods for Neural Ensemble Recordings* . M.A.L. NICOLELIS éditeur. Boca Raton, London, New York, Washington D.C. P. 257.
46. KRUGER, J. 1983. "Simultaneous individual recordings from many cerebral neurons: techniques and results". *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 98:177-233.
47. O'KEEFE, J., BOUMA, H. 1969. "Complex sensory properties of certain amygdala units in the freely moving cat". *Exp Neurol.* 23:3. 384-98.
48. DIANA, M., GARCIA-MUNOZ, M., FREED, C.R. 1987. "Wire electrodes for chronic single unit recording of dopamine cells in substantia nigra pars compacta of awake rats". *J Neurosci Methods.* 21:1. 71-9.
49. NICOLELIS, M.A., GHAZANFAR, A.A., FAGGIN, B.M., VOTAW, S., OLIVEIRA, L.M. 1997. "Reconstructing the engram: simultaneous, multisite, many single neuron recordings". *Neuron.* 18:4. 529-37.
50. ARMOUR, J.A., JANES, R.D. 1988. "Neuronal activity recorded extracellularly from in situ canine mediastinal ganglia". *Can J Physiol Pharmacol.* 66:2. 119-27.
51. ARMOUR, J.A. 1986. "Neuronal activity recorded extracellularly in chronically decentralized in situ canine middle cervical ganglia". *Can J Physiol Pharmacol.* 64:7. 1038-46.
52. GAGLIARDI, M., RANDALL, W.C., BIEGER, D., WURSTER, R.D., HOPKINS, D.A., ARMOUR, J.A. 1988. "Activity of in vivo canine cardiac plexus neurons". *Am J Physiol.* 255:4 Pt 2. H789-800.
53. FOREMAN, R.D., LINDEROTH, B., ARDELL, J.L., BARRON, K.W., CHANDLER, M.J., HULLJR., S.S. et al. 2000. "Modulation of intrinsic cardiac

- neurons by spinal cord stimulation: implications for its therapeutic use in angina pectoris". *Cardiovascular Research*. 47:2. 367-375.
54. THOMPSON, G.W., COLLIER, K., ARDELL, J.L., KEMBER, G., ARMOUR, J.A. 2000. "Functional interdependence of neurons in a single canine intrinsic cardiac ganglionated plexus". *J Physiol*. 528:Pt 3. 561-71.
 55. TSUCHIMOCCHI, H., MATSUKAWA, K., KOMINE, H., MURATA, J. 2002. "Direct measurement of cardiac sympathetic efferent nerve activity during dynamic exercise". *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 283:5. H1896-906.
 56. SICA, A.L., RUGGIERO, D.A., HUNDLEY, B.W. 2005. "The cardiac-related rhythm in preganglionic sympathetic activities of developing piglets". *Brain Res*. 1042:2. 205-13.
 57. NYQUIST, H. 1928. "Thermal Agitation of Electric Charge in Conductors". 32:1. 110.
 58. THOMPSON, G.W., HOOVER, D.B., ARDELL, J.L., ARMOUR, J.A. 1998. "Canine intrinsic cardiac neurons involved in cardiac regulation possess NK1, NK2, and NK3 receptors". *Am J Physiol*. 275:5 Pt 2. R1683-9.
 59. BALIS, G.U., MONROE, R.R. 1964. "The pharmacology of chloralose. A review". *Psychopharmacologia*. 6:1. 1-30.
 60. - 1975. "Nicotine". *Remington's Pharmaceutical Sciences*. Easton: Mack Publishing Co.
 61. HAASS, M., KUBLER, W. 1997. "Nicotine and sympathetic neurotransmission". *Cardiovasc Drugs Ther*. 10:6. 657-65.
 62. CRYER, P.E., HAYMOND, M.W., SANTIAGO, J.V., SHAH, S.D. 1976. "Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking-associated hemodynamic and metabolic events". *N Engl J Med*. 295:11. 573-7.
 63. LE HOUZEZEC, J. 1998. "Nicotine: abused substance and therapeutic agent". *J Psychiatry Neurosci*. 23:2. 95-108.
 64. EVANS, R.G., LUDBROOK, J., MICHALICEK, J. 1991. "Use of nicotine, bradykinin and veratridine to elicit cardiovascular chemoreflexes in unanaesthetized rabbits". *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 18:4. 245-54.

65. LEVY, M.N. 1990. "Autonomic interactions in cardiac control". *Ann N Y Acad Sci.* 601:209-21.
66. - 1975. "Phenylephrine Hydrochloride USP". *Remington's Pharmaceutical Sciences*. Sous la direction de -Easton: Mack Publishing Co.
67. - 2004. "Dobutrex, Dobutamine". *Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques, CPS*. Toronto : Association pharmaceutique canadienne.
68. - 2004. "Épinéphrine". *Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques, CPS*. Toronto : Association pharmaceutique canadienne.
69. THEILER James, EUBANK Stephen, LONGTIN Andre, GALDRIKIAN Bryan, DOYNE FARMER, J.
70. GOOD, P. 1994. *Permutation Tests: A Practical Guide to Resampling Methods for Testing Hypothesis*. Springer-Verlag.
71. ARMOUR, J.A. , KEMBER, G.C. 2004. " Cardiac sensory neurons". *Basic and Clinical Neurocardiology*. Sous la direction de J.A. ARMOUR, J.L. ARDELL. N.Y. Oxford University Press. P. 79-117.
72. MALPAS, S.C. 1998. "The rhythmicity of sympathetic nerve activity". *Prog Neurobiol.* 56:1. 65-96.
73. BROWNING, K.N., MENDELOWITZ, D. 2003. "Musings on the wanderer: what's new in our understanding of vago-vagal reflexes?: II. Integration of afferent signaling from the viscera by the nodose ganglia". *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 284:1. G8-14.
74. OH, E.J., WEINREICH, D. 2002. "Chemical communication between vagal afferent somata in nodose Ganglia of the rat and the Guinea pig in vitro". *J Neurophysiol.* 87:6. 2801-7.

Annexe 1. Format edf-bdf

http://www.biosemi.com/faq/file_format.htm

Length in bytes	BDF Header:	EDF Header:	Description
8 bytes	Byte 1: "255" (non ascii)	Byte 1: "0" (ASCII)	Identification code
	Bytes 2-8 : "BIOSEMI" (ASCII)	Bytes 2-8 : "(ASCII)	
80 bytes	User text input (ASCII)		Local subject identification
80 bytes	User text input (ASCII)		Local recording identification
8 bytes	dd.mm.yy (ASCII)		Startdate of recording
8 bytes	hh.mm.ss (ASCII)		Starttime of recording
8 bytes	(ASCII)		Number of bytes in header record
44 bytes	"24BIT" (ASCII)	"BIOSEMI" (ASCII)	Version of data format.
8 bytes	(ASCII)		Number of data records "-1" if unknown
8 bytes	e.g.: "1" (ASCII)		Duration of a data record, in seconds
4 bytes	e.g.: "257" or "128" (ASCII)		Number of channels (N) in data record
N x 16 bytes	e.g.: "Fp1", "Fpz", "Fp2", etc (ASCII)		Labels of the channels
N x 80 bytes	e.g.: "active electrode", "respiration belt" (ASCII)		Transducer type
N x 8 bytes	e.g.: "uV", "Ohm" (ASCII)		Physical dimension of channels
N x 8 bytes	e.g.: "-262144" (ASCII)	e.g.: "-32768" (ASCII)	Physical minimum in units of physical dimension
N x 8 bytes	e.g.: "262143" (ASCII)	e.g.: "32767" (ASCII)	Physical maximum in units of physical dimension
N x 8 bytes	e.g.: "-8388608" (ASCII)	e.g.: "-32768" (ASCII)	Digital minimum
N x 8 bytes	e.g.: "8388607" (ASCII)	e.g.: "32767" (ASCII)	Digital maximum
N x 80 bytes	e.g.: "HP:DC; LP:410"	e.g.: "HP:0,16; LP:500"	Prefiltering
N x 8 bytes	For example: "2048" (ASCII)		Number of samples in each data record (Sample-rate if Duration of data record = "1")
N x 32 bytes	(ASCII)		Reserved

Annexe 2. Connecteur du headstage



INTERCONNECTS 1,27 Grid Single and Double Row

Series 850, 851
852, 853

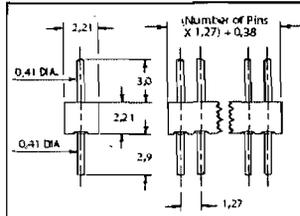


Fig. 1

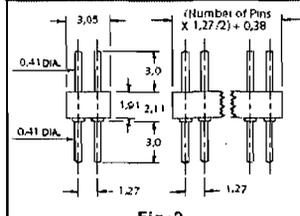


Fig. 2

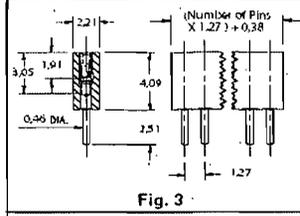


Fig. 3

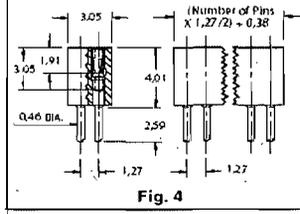


Fig. 4

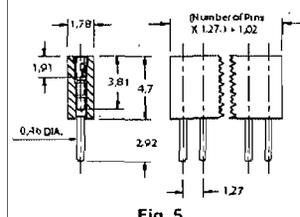
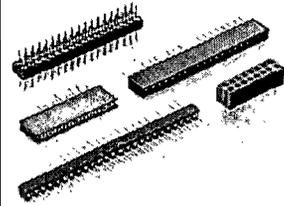


Fig. 5

- Series 850 single and double row interconnects have 1,27 pin spacing and permit board stacking as low as 6,3.
- Pin headers have 0,41 dia. pins. (MM# 4006-0 see page 166 for details).
- MM# 4890-0 and 0467 receptacles use M-M#11 Hi-Rel, 3-finger beryllium copper contacts rated at 3 amps. (#11 contact accepts pin diameters from 0,38 - 0,51)
- Insulators are high temp. thermo-plastic, suitable for all soldering operations.



Ordering Information

Fig. 1	Single Row	2,21 Profile Pin Header
	850-XX-0_-10-001000	
Specify # of pins		01-50
Fig. 2	Double Row	1,91 Profile Pin Header
	852-XX-_-10-001000	
Specify # of pins		002-100

RoHS 2002/95/EC	XX= Plating Code See Below		
SPECIFY PLATING CODE XX=	10 ◊	90	40 ◊
Pin Plating	0,25µm Au	5,08µm Sn/Pb	5,08µm Sn

Fig. 3	Single Row	4,09 Profile Socket
	851-XX-0_-10-001000	
Specify # of pins		01-50
Fig. 4	Double Row	4,09 Profile Socket
	853-XX-_-10-001000	
Specify # of pins		002-100
Fig. 5	Single Row	4,7 Profile Socket
	851-XX-0_-10-002000	
Specify # of pins		01-77

RoHS 2002/95/EC	XX= Plating Code See Below				
SPECIFY PLATING CODE XX=	13 ◊	93	99	43 ◊	44 ◊
Sleeve (Pin)	0,25µm Au	5,08µm Sn/Pb	5,08µm Sn/Pb	5,08µm Sn	5,08µm Sn
Contact (Clip)	0,78µm Au	0,76µm Au	5,08µm Sn/Pb	0,76µm Au	5,08µm Sn

Annexe 3. Électrode

TO SPECIFY FHC METAL MICROELECTRODES:
 CATALOG# **UE 1234567890 n/n/n...**

Metal micro-electrode Base Electrode Finishing Options Modifier(s)

1 Material:
 W: Tungsten
 S: Stainless Steel
 P: Platinum/Iridium
 80% / 20%
 X: Special / Specify

2 Length Range:
 Total Electrode Length will be range maximum (+/- 5mm) plus termination option unless length is specified in step 9
 S: = up to 60mm
 M: = 61mm to 70mm
 L: = 71mm to 145mm
 V: = 146mm to 295mm

3 Shank Diameter:
 C: 003" / 75µm
 D: 004" / 100µm
 E: 005" / 125µm
 F: 008" / 200µm
 G: 010" / 250µm
 H: 020" / 500µm
 X: Special / Specify

4 Final Taper Angle:
 The last 120 microns

A: Extra Blunt: 30°-25°
 B: Rounded Extra Blunt
 C: Standard Blunt (1): 25°-20°
 D: Rounded Blunt
 E: Standard Medium (2): 20°-15°
 F: Rounded Medium
 G: Standard Fine (3): 15°-10°
 H: Rounded Fine
 J: Standard Ultra-fine (4): 10°-5°
 K: Rounded Ultra-fine
 Note: Fine and Ultra-fine tapers (G, H, J, K) not available with Glass/Tungsten.
 X: Special / Specify

5 Microelectrode Profile:
 Specialty Profiles
 S: Standard Profile
 V: Short Convex
 C: Short Concave
 T: Short Thinned
 L: Long Thinned
 Note: Profile T and L not available with Glass Insulation
 X: Special / Specify

6 Insulation Options:
 E: Epoxy/ite Insulation
 M: Max dips: Epoxy/ite
 G: Glass, immersed tip (P/Ir or W, only)
 Standard Insulation Length: 15mm from tip
 See Shank Modification Note
 S: Glass, exposed tip (P/Ir, only)
 Standard Insulation Length: 15mm from tip
 See Shank Modification Note
 N: No Insulation
 X: Special / Specify

7 Impedance:
 Measured at 1000Hz
 A: 50k Ω 100k Ω 1: 1M Ω +/- 2M Ω
 B: 300k Ω 500k Ω 2: 2M Ω +/- 4M Ω
 C: 800k Ω 1.2M Ω 3: 3M Ω +/- 6M Ω
 D: 2M Ω 4M Ω 4: 4M Ω +/- 8M Ω
 E: 5M Ω 7M Ω 5: 5M Ω +/- 1M Ω
 F: 8M Ω 10M Ω 6: 6M Ω +/- 1M Ω
 G: 13M Ω 15M Ω 7: 7M Ω +/- 1M Ω
 H: 18M Ω 20M Ω 8: 8M Ω +/- 1M Ω
 J: 22M Ω 25M Ω 9: 9M Ω +/- 1M Ω
 K: 24M Ω 34M Ω 0: 10M Ω +/- 1M Ω
 L: 9M Ω 12M Ω X: Special / Specify
 N: No Zap (High)

8 Tip Conditioning:
 N: None, Standard
 P: Platinum Black after setting impedance
 T: Platinum Black with a final impedance specified
 X: Special / Specify

9 Shank Modifications:
 Please provide required specifications for any shank modifications

Note: For glass insulated electrodes a shank modification of #4 Shank Enlargement with Polyimide Tubing is the default. Modifications #3, 5, and 6 also available. Standard extension (glass insulation) is 15mm. Other lengths may be specified between 5 and 20mm. Polyimide length will be total length minus the extension and termination.

N: None, standard
 1: Cut electrode to a specified length +/- 2mm. (specify electrode length in mm)
 NOTE: If pin termination is specified in 10, total electrode length will be specified length + pin addition. (see UEWVGSESNIM.65mm example below)

2: Heatshrink over Termination. Specify either dimension shown below in diagram

3: Shank Enlargement with Polyimide and Stainless Steel Tubing. Specify dimensions shown below in diagram. Tubing sizes are indicated on the chart unless otherwise specified

4: Shank Enlargement with Polyimide Tubing Only. Specify dimensions shown below in diagram w/ exception of SS Tube length. Tubing sizes are indicated on the chart unless otherwise specified

5: Shank Extension up to 150mm, specify dimensions shown in diagram below. Tubing sizes are indicated on the chart unless otherwise specified

6: Shank Extension from 151mm to 300mm, specify dimensions in diagram below. Tubing sizes are indicated on the chart unless otherwise specified

X: Special / Specify

10 Termination Options:
 Special terminations available upon request, see Microelectrography Needle Data sheet for additional options, specify X

D: No pin. Insulation not stripped

E: No Pin, Insulation stripped 5mm

G: No Pin, Insulation stripped 10mm

H: No Pin, Insulation stripped 15mm

J: No Pin, Insulation stripped 20mm

M: Male 220-PC2 (Standard) 2.4mm

F: Female 220-S02

A: Male Microtek

B: Female Microtek

C: Chronic termination, see diagram

L: Floating termination, see diagram

X: Special (not listed)

IC3-73B March 22, 2006 DRAFT

Annexe 4. Multiélectrode

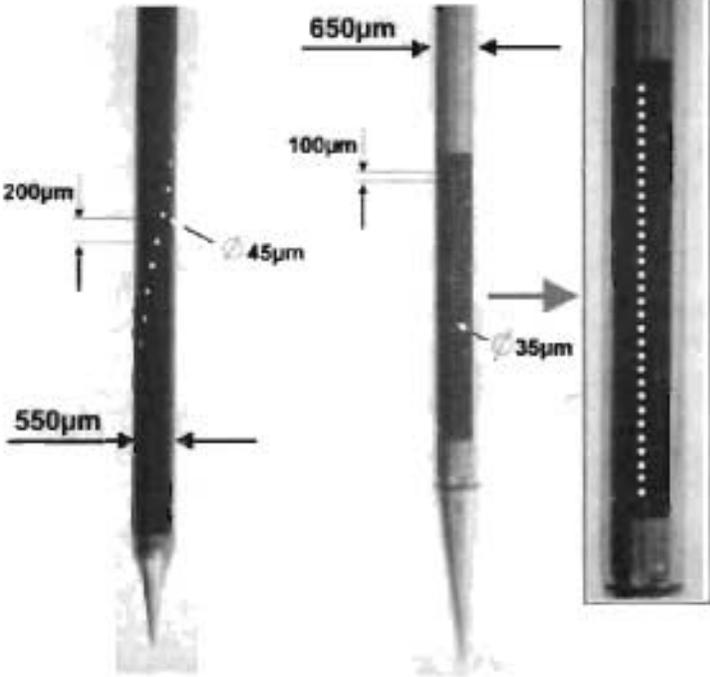


32-Channel Probes

Product Information

Helical

Linear



Electrode array length=6mm

Electrode array length=3mm

Thomas RECORDING GmbH – Giessen – GERMANY

Email: info@ThomasRecording.com

Web: www.ThomasRecording.com