
TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	3
Résumé	6
Abstract	7
Listes des figures	12
Listes des tableaux	13
Liste des abréviations	14
I. INTRODUCTION	15
II. ÉTAT DES CONNAISSANCES	17
2-1. Épidémiologie	17
2-2. Sémiologie.....	17
2-2-1. Formes de début spinal	18
Syndromes des neurones moteurs supérieurs	18
Syndromes des neurones moteurs inférieurs	18
2-2-2. Formes de début bulbaires et pseudo-bulbaires	18
Syndromes bulbaires	18
Syndromes pseudo-bulbaires	19
2-2-3. Formes de début axiales/respiratoires	19
2-3. Neuropathologie & Rappels neurophysiologiques	19
2-3-1. Voies motrices.....	19
Cellules pyramidales & cortex moteur	19
Tractus corticospinal	20
Motoneurones	20
2-3-2. Voies sensibles.....	23
a. Afférences sensibles.....	23
Afférences du groupe I	23
Afférences du groupe II	24
Afférences cutanées ($A\beta$)	24
Cortex somesthésique	24
b. Interneurones.....	26
Interneurones corticaux	26
Interneurones Ib	26
Cellules de Renshaw	26
Système propriospinal	27
c. Voies extrapyramidales.....	28

2-4. Physiopathologie	29
2-4-1. Excitotoxicité	29
a. Hyperexcitabilité.....	30
b. Hyperexcitation	31
Récepteurs glutamatergiques	31
Récepteurs GABAergiques et glycinergiques	32
Co-transporteurs cation-chloride	33
Courants entrants persistants	33
Canaux voltage-dépendants	34
Défaut de clairance du glutamate	35
Afférences corticospinales	35
Afférences somesthésiques	35
Interneurones	36
Interneurones spinaux	36
Interneurones corticaux	37
Modifications morphométriques	38
c. L'hyperexcitabilité comme neuroprotection.....	39
d. Traitement anti-excitotoxicité	40
2-4-2. Stress cellulaire	41
Stress oxydant	41
Stress mitochondrial	41
Stress du réticulum endoplasmique	42
Toxicité calcique	42
III. MATÉRIELS & MÉTHODES	44
3-1. Principes généraux	44
Stimulations électriques périphériques	44
Stimulations magnétiques transcrâniennes	45
Activité électromyographique	45
Activité électroencéphalographique	46
Imagerie par résonance magnétique, tenseur de diffusion et transfert de magnétisation	47
3-2. Rappels méthodologiques.....	48
3-2-1. La courbe de recrutement.....	48
Réflexe H & Réponse M	48
PEM	49
Points d'intérêt	49
Recrutement des motoneurones et normalisation	49
3-2-2. Les réponses conditionnées	50

Réflexe H conditionné	50
PEM conditionné	50
Repos vs. Contraction volontaire	50
3-2-3. Potentiels évoqués somesthésiques	50
Périphérique, spinal, sous-cortical	51
Cortical précoce	51
Cortical tardif	52
Relation intensité/réponse	52
3-2-4. IRM	53
3-3. Principes expérimentaux	53
Éthiques et participants	54
Installation	54
3-4. Analyse des données	54
EMG	55
EEG	55
Métriques d'IRM anatomiques	55
Test de Student	55
Analyse de la variance	56
Test de corrélation de Pearson et Analyse de régressions multiples	56
IV. RÉSULTATS	57
4-1. Altérations des afférences sensitives	57
4-1-1. Altérations anatomo-fonctionnelles	57
Atteintes anatomiques	57
Atteintes fonctionnelles	57
Corrélations	58
Conclusion	58
4-1-2. Altérations des PES précoces et tardifs	59
Conclusion	60
4-1-3. Évolution des PES selon l'intensité de stimulation	60
Conclusion	61
4-2. Altérations des intégrations sensorimotrices au niveau spinal	61
4-2-1. Atteintes de la connexion la-motoneurones	61
État des motoneurones du triceps	62
Excitabilité corticale	62
Convergence des volées périphériques et corticospinales sur les motoneurones du triceps	62
Conclusion	63

4-2-2. Atteintes des interneurons spinaux cervicaux et lombaires	64
État des motoneurons du triceps	64
État des motoneurons du quadriceps	65
Activité du système propriospinal excitateur C3-C4 et ses interneurons inhibiteurs	65
Activité du système propriospinal excitateur L2-L3	66
Activité des cellules de Renshaw du membre inférieur	67
Conclusion	68
V. DISCUSSION GÉNÉRALE	69
5-1. Atteintes des voies sensitives	69
5-1-1. Origine des volées périphériques altérées	69
5-1-2. Caractérisation de l'atteinte sensitive	70
Latence	70
Amplitude	71
5-2. Atteintes des voies motrices	75
5-2-1. Projections corticospinales sur les motoneurons	75
Seuil moteur cortical et inhibition intra-corticale	76
Pente et plateau	78
5-3. Atteintes sensorimotrices.....	79
5-3-1. Connexions monosynaptiques.....	80
5-3-2. Connexions non-monosynaptiques.....	82
Système propriospinal cervical C3-C4	82
Système propriospinal lombaire L2-L3	83
5-4. Cellules de Renshaw	84
VI. CONCLUSIONS & PERSPECTIVES	86
6-1. Pourquoi les neurones moteurs sont-ils préférentiellement atteints?.....	86
Hypothèse du vieillissement	86
Hypothèse de la fatigabilité	87
Hypothèse des propriétés intrinsèques	87
6-2. Propagation des atteintes	88
Hypothèse de la propagation rétrograde (« dying-back »)	88
Hypothèse de la propagation antérograde (« dying-forward »)	88
Hypothèse de l'atteinte indépendante (« prion-like »)	88
6-3. Propriétés de réseau.....	89
Annexe 1	91
Annexe 2	102
Bibliographie	113

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Organisation des projections corticospinales et périphériques directes et indirectes aux motoneurones.....	26
Figure 2 : Principaux mécanismes autonomes cellulaires et non-cellulaires impliqués dans la pathogénèse de la SLA.....	29
Figure 3 : Rappels méthodologiques	48
Figure 4 : Signal EEG moyen exprimé en pourcentage de 2SD pré-stimulus.....	59
Figure 5 : Réduction de surface des PES chez les patients SLA exprimée en pourcentage de la surface du potentiel N20 moyen des participants sains.....	59
Figure 6 : Evolution de la surface des potentiels N9, N20 et N60 en fonction de l'intensité de stimulation et exprimée en pourcentage de la surface du potentiel respectif à 1,5xPT	60
Figure 7 : Courbe de recrutement et données relatives.....	65
Figure 8 : Facilitation et inhibition du PEM du muscle triceps à travers le système propriospinal C3-C4 et leur interneurones inhibiteurs par stimulation des nerfs ulnaire au coude et radial superficiel (respectivement), exprimé en pourcentage du PEM _{test} chez un patient SLA et un participant sains.....	66
Figure 9 : Facilitation et inhibition du PEM du muscle triceps à travers le système propriospinal C3-C4 et leur interneurones inhibiteurs par stimulation des nerfs ulnaire au coude et radial superficiel (respectivement), exprimé en pourcentage du PEM _{test} et données relatives.....	66
Figure 10 : Variation du réflexe H du muscle quadriceps au repos et sous contraction volontaire (20% MVC) à travers le système propriospinal L2-L3 et les interneurones Ib (respectivement) par stimulation des afférence du groupe II du nerf fibulaire, exprimée en pourcentage du H _{test} et données relatives.....	67
Figure 11 : Inhibition récurrente du réflexe H du muscle quadriceps à travers les cellules de Renshaw par la stimulation du nerf tibial postérieur, exprimée en pourcentage du H _{test} et données relatives	68
Figure 12 : Niveau tonique d'inhibition pré-synaptique de la terminaison du groupe Ia.....	81

LISTES DES TABLEAUX

Tableau I : Latence des PES et activité EEG pré-stimulus moyenne59

Tableau II : Latence des PES et activité EEG pré-stimulus moyenne chez les participants sains.60

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AHP	« <i>after-hyperpolarization</i> », post-hyperpolarisation
ATP	adénosine triphosphate
DM	diffusivité moyenne
DTI	« <i>diffusion tensor imaging</i> », imagerie du tenseur de diffusion
EAAT	« <i>excitatory amino-acide transporter</i> »
EEG	électroencéphalogramme
EMG	électromyogramme
F-I	gain fréquence de décharge/courant injecté
FA	fraction d'anisotropie
FF	« <i>fast-fatigable</i> », rapide et fatigable
FR	« <i>fast-resistant</i> », rapide et résistant
I50	intensité à la médiane
IRM	imagerie par résonnance magnétique
Is	intensité seuil
ISI	interstimulus intervalle
M1	aire motrice primaire
MSO	« <i>maximum stimulator output</i> », champ magnétique maximal
MT	« <i>motor threshold</i> », seuil moteur
MTR	« <i>magnetization transfer imaging</i> », imagerie du transfert de magnétisation
MVC	« <i>maximal voluntary contraction</i> », contraction musculaire volontaire maximale
PEM	potentiel évoqué moteur
PES	potentiel évoqué somesthésique
PIC	« <i>persistant inward current</i> », courant entrant persistant
PPSE	potentiel post-synaptique excitateur
PPSI	potentiel post-synaptique inhibiteur
PT	« <i>perceptual threshold</i> », seuil de perception
RE	réticulum endoplasmique
ROI	« <i>region of interest</i> », région d'intérêt
S	« <i>slow</i> », lente
S1	aire somesthésique primaire
S2	aire somesthésique secondaire
SD	« <i>standard deviation</i> », déviation standard
SLA	sclérose latérale amyotrophique
SLAf	sclérose latérale amyotrophique familiale
SLAs	sclérose latérale amyotrophique sporadique
TMS	« <i>transcranial magnetic stimulation</i> », stimulation magnétique transcrânienne
Δ_{\parallel}	diffusivité axiale
Δ_{\perp}	diffusivité radiale

I. INTRODUCTION

La sclérose latérale amyotrophique (SLA) a été décrite pour la première fois en 1869. Bien qu'elle soit définie par la combinaison d'atteintes des neurones moteurs corticaux (cellules pyramidales) et spinaux (motoneurones), des formes partielles restreintes aux neurones moteurs corticaux (paralysie pseudobulbaire et sclérose latérale primaire) ou spinaux (paralysie bulbaire progressive et atrophie musculaire progressive) sont également observées. Ces pathologies sont actuellement considérées comme des variantes d'une seule entité clinique, définie en 1962 par le terme de Maladie des Neurones Moteurs (MND, « *Motor Neuron Diseases* ») [Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; de Carvalho et al. 2014].

Depuis les premiers cas cliniques étudiés au XIX^e siècle et malgré l'évolution des outils de recherche (autopsie, imagerie, électrophysiologie, génétique, immunohistologie) et des modèles d'étude (*in vivo*, *in vitro*, *in silico*), l'étiologie de la maladie reste à ce jour encore inconnue. Néanmoins, certains mécanismes physiopathologiques ont été identifiés au niveau des cellules neuronales mais également non-neuronales (glie [Philips & Rothstein 2014], myofibrille [Wong & Martin 2010]) impliquant des mutations génétiques menant à la production de protéines toxiques [Van Den Bosch 2011; Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014], le stress cellulaire (oxydant [Ferraiuolo et al. 2011], mitochondrial [Vehviläinen, Koistinaho, & Gundars 2014], du réticulum endoplasmique [Lautenschlaeger, Prell, & Grosskreutz 2012]), le transport axonal [Shi et al. 2010] et les fonctions cellulaires (protéasiques [Ilieva, Polymenidou, & Cleveland 2009], autophagiques [Damme et al. 2015], apoptotiques [Murdock et al. 2015], neuro-inflammatoires [Hooten et al. 2015]). La SLA apparaît ainsi comme une maladie multifactorielle [Eisen 1995], initialement considérée comme restreinte à l'atteinte des voies motrices [Feller, Jones, & Netsky 1966] à travers une neuronopathie (atteinte du soma) [Bradley et al. 1983] puis une neuropathie (atteinte de l'axone et de la jonction neuromusculaire) [Kawamura et al. 1981] ; elle tend aujourd'hui à être considérée comme une atteinte multisystémique impliquant notamment l'altération des voies sensitives [Heads et al. 1991] et des interneurones [Turner & Kiernan 2012].

Les symptômes de la maladie sont la conséquence de la dégénérescence des neurones moteurs à travers des mécanismes excitotoxiques [King et al. 2016] résultant de l'hyperexcitabilité des neurones suite à leur hyperexcitation [Leroy & Zytnicki 2015; Clark, Blizzard, & Dickson 2015]. Des études chez des patients et des modèles animaux de la maladie ont ainsi rapporté des preuves de l'atteinte parallèle des afférences sensitives d'un point de vue anatomique [Kawamura et al. 1981; Hammad et al. 2007; Cohen-Adad et al. 2013; Vaughan et al. 2015] et fonctionnel [Zanette et al. 1990; Georgesco et al. 1994; Pugh et al. 2006] bien que leur implication dans l'altération fonctionnelle des neurones moteurs n'ait jamais été étudiée. *Au cours de ma thèse, nous avons dans un premier temps caractérisé à l'étage spinal et cortical les atteintes anatomo-fonctionnelles des voies sensitives issues de musculature distale cliniquement atteinte, en couplant pour la première fois l'imagerie tenseur de diffusion spinale et l'électrophysiologie indirecte sur l'Homme. Dans un second*

temps, nous avons caractérisé l'effet induit par ces afférences périphériques sur l'excitabilité des motoneurones suppléant des musculatures proximales cliniquement non-affectées.

Il a également été rapporté des preuves de l'atteinte des interneurons d'un point de vue anatomique [Morrison et al. 1998; Maekawa 2004; Stephens et al. 2006] et fonctionnel [Stephens et al. 2006; Jiang et al. 2009; Turner & Kiernan 2012] dans des modèles animaux de la maladie et chez des patients, mais les données restent très limitées. Il a par ailleurs été proposé que l'atteinte des interneurons serait un événement précoce conduisant à l'altération des motoneurones [McGown et al. 2013]. *Au cours de ma thèse, nous avons caractérisé l'altération fonctionnelle de divers interneurons spinaux excitateurs et inhibiteurs afin d'envisager leur implication dans le processus pathogénique des motoneurones suppléant des musculatures proximales cliniquement non-affectées.*

En s'intéressant aux rôles des afférences somatosensorielles dans la pathogenèse de la SLA, mon projet de thèse a permis d'apporter de nouveaux éléments relatifs aux mécanismes de propagation de la maladie. En effet, les afférences sensibles issues des premiers muscles atteints semblent modifier l'excitabilité des neurones moteurs au travers d'un dysfonctionnement précoce des interneurons. Il pourra ainsi être envisagé de nouvelles pistes thérapeutiques visant à enrayer les processus neuro-dégénératifs, non pas directement sur les neurones moteurs, mais sur les interneurons.

Dans cette thèse, je vais présenter successivement l'état des connaissances concernant la SLA ainsi que quelques rappels neurophysiologiques, les matériels et méthodes utilisés ainsi que leurs principes généraux et les résultats obtenus. Pour finir, je discuterai et repositionnerai ces derniers dans le contexte général de la recherche sur la SLA, avant de conclure à travers quelques interrogations et perspectives.

II. ÉTAT DES CONNAISSANCES

Plus connue sous le nom de « maladie de Charcot », du nom du neurologue français Jean-Martin CHARCOT (1825-1893) qui l'a pour la première fois décrite en 1869, la sclérose latérale amyotrophique est une maladie neurodégénérative évolutive menant à la dégradation (sclérose) des voies motrices spinales (cordons latéraux) et à l'atrophie musculaire (amyotrophie) consécutive à l'atteinte des neurones moteurs. D'un point de vue phénotypique, elle se traduit par des faiblesses musculaires, puis des paralysies, menant progressivement et le plus souvent au décès par insuffisance respiratoire. La SLA constitue la troisième maladie neurodégénérative de l'adulte la plus fréquente après les maladies d'Alzheimer et de Parkinson [Martin et al. 2013; Renton, Chiò, & Traynor 2013].

2-1. ÉPIDÉMIOLOGIE

Au niveau mondial (regroupant essentiellement l'Europe et les USA), l'incidence¹ de la SLA est évaluée autour de 2/100 000 [Turner & Talbot 2008; Marin 2011; Kiernan et al. 2011; Tan, Pasinelli, & Trotti 2014] avec une prévalence² de 4-5/100 000 [Turner & Talbot 2008; Tan, Pasinelli, & Trotti 2014]. La SLA existe sous 2 formes : sporadique (SLAs) représentant 90% des cas et héréditaire (ou familiale, SLAf) représentant 10% des cas [Turner & Talbot 2008; Pradat et al. 2009; Dadon-Nachum, Melamed, & Offen 2011; Kiernan et al. 2011; Tan, Pasinelli, & Trotti 2014; Casci & Pandey 2015]. Il a été estimé qu'environ 60% des patients SLAf et 20% des patients SLAs présentent une mutation génétique identifiée [Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014; Ravits 2014]. En effet, plus de 20 gènes sont impliqués dans la maladie dont les 4 principaux sont SOD1, C9orf72, FUS et TARDBP [Patten et al. 2014] impliqués dans la surexpression ectopique de protéines mal-configurées [Blokhuys et al. 2013]. Néanmoins, quelques différences subsistent entre les 2 formes. D'une part, l'âge d'apparition des premiers symptômes est compris entre 60 et 85 ans pour la SLAs [Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; Marin 2011; Casci & Pandey 2015], alors qu'elle se manifeste plus tôt (47-52 ans) pour la SLAf [Kiernan et al. 2011]. D'autre part, il y a plus d'hommes que de femmes atteints³ de la SLAs, avec un ratio homme/femme compris entre 1,3 et 1,5 [Turner & Talbot 2008; Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; Couratier et al. 2016] alors que ce ratio est identique pour la SLAf [Kiernan et al. 2011]. L'espérance de vie est en moyenne de 3-5 ans après le début des premiers symptômes [Turner & Talbot 2008; Dadon-Nachum, Melamed, & Offen 2011; Casci & Pandey 2015].

2-2. SÉMIOLOGIE

En raison de l'hétérogénéité phénotypique de la maladie et de l'absence de biomarqueur spécifique, le diagnostic de la SLA est souvent difficile et retardé ; la médiane du délai entre

¹ Représente le nombre de nouveaux cas par an sur 100 000 personnes.

² Représente le nombre de personnes atteintes par an sur 100 000 personnes.

³ L'atteinte préférentielle des hommes serait liée à la présence d'androgènes car la densité de leurs récepteurs a été rapportée augmentée sur les neurones moteurs affectés [Eisen 1995].

l'apparition des premiers symptômes et le diagnostic est d'environ 9-13 mois [Swinnen & Robberecht 2014]. Le site de début de la maladie est variable, sachant que l'évolution est caractérisée par une extension progressive des déficits moteurs conduisant à une atteinte motrice diffuse [Pradat et al. 2009].

2-2-1. FORMES DE DÉBUT SPINAL

Elles représentent 70% des cas [Kiernan et al. 2011; Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014; Casci & Pandey 2015] et sont responsables de deux types de syndromes selon l'étage affecté.

SYNDROMES DES NEURONES MOTEURS SUPÉRIEURS

Ils résultent de l'atteinte des cellules pyramidales de l'aire motrice primaire et sont caractérisés par l'apparition d'une spasticité⁴, de réflexes ostéo-tendineux vifs et diffusés, ainsi que des signes de Babinski⁵ et de Hoffmann⁶ [Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014].

SYNDROMES DES NEURONES MOTEURS INFÉRIEURS

Ils résultent de l'atteinte des motoneurones et sont caractérisés par l'apparition de faiblesses musculaires, de crampes, de fasciculations et d'atrophies musculaires [Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014]. Les déficits moteurs se manifestent progressivement et de manière asymétrique, pouvant affecter initialement le membre supérieur (40%), le membre inférieur (20%) ou les deux niveaux (10%) [Charles & Swash 2001; Pradat et al. 2009]. Par ailleurs, quel que soit le membre initialement affecté, l'atteinte est souvent distale et progresse ensuite selon un gradient disto-proximal [Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014].

2-2-2. FORMES DE DÉBUT BULBAIRES ET PSEUDO-BULBAIRES

Elles représentent 25% des cas et sont plus fréquentes chez les femmes. Ces formes sont associées à l'atteinte des neurones moteurs du tronc cérébral (bulbe rachidien, nerfs crâniens inférieurs) [Charles & Swash 2001; Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014; Casci & Pandey 2015].

SYNDROMES BULBAIRES

Ils se traduisent par une dysarthrie⁷, une hyper-salivation, ainsi que des troubles de la déglutition liés à l'atteinte des muscles masticateurs, de la langue, du pharynx et du larynx [Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014].

⁴ Augmentation du tonus musculaire menant à des réponses musculaires exagérées [Dentel et al. 2013].

⁵ Réflexe pathologique caractérisé par l'extension du gros orteil lors d'une stimulation tactile de la voûte plantaire.

⁶ Réflexe pathologique caractérisé par une flexion brève des doigts lors du relâchement brusque de la dernière phalange de l'index placée au préalable en flexion forcée.

⁷ Troubles de la parole.

SYNDROMES PSEUDO-BULBAIRES

Ils se présentent sous la forme d'une hypersensibilité émotionnelle caractérisée par des rires et pleurs sporadiques [Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014].

2-2-3. FORMES DE DÉBUT AXIALES/RESPIRATOIRES

C'est une forme plus rare qui représente 5% des cas, affectant les muscles du tronc, du cou, ainsi que les muscles respiratoires [Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; Casci & Pandey 2015]. Par ailleurs, quelle que soit la forme initiale de la maladie, les troubles respiratoires apparaissent au cours de l'évolution à des stades plus ou moins tardifs de la maladie [Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011].

2-3. NEUROPATHOLOGIE & RAPPELS NEUROPHYSIOLOGIQUES

Les études de cas cliniques et le développement progressif de modèles animaux transgéniques de la maladie ont permis d'approfondir nos connaissances mais également de faire évoluer le statut de la maladie.

2-3-1. VOIES MOTRICES

Comme nous avons pu le constater précédemment, la SLA est une maladie dont les symptômes cliniques résultent de l'atteinte des voies motrices. Celles-ci s'organisent autour des cellules pyramidales du cortex moteur et des motoneurones de la corne ventrale de la moelle épinière et du tronc cérébral.

CELLULES PYRAMIDALES & CORTEX MOTEUR

Les cellules pyramidales sont des neurones excitateurs (neurotransmetteur glutamate et/ou aspartate) localisées dans les couches II à VI du cortex cérébral. Elles s'orientent radialement à la surface du cortex et reçoivent leurs afférences d'autres cellules pyramidales ainsi que des noyaux sous-corticaux [Nieuwenhuys 1994; Markram et al. 2004; Moore et al. 2010; Harris & Mrsic-Flogel 2013; Chu & Anderson 2015]. Le cortex moteur (localisé sur le lobe frontal) est quant à lui composé de plusieurs aires impliquées dans la planification/préparation du mouvement à travers les aires motrice supplémentaire (aire 6 de Brodmann) [Roland et al. 1980; Fried et al. 1991; Halsband et al. 1993], prémotrice (aire 44 de Brodmann) [Fried et al. 1991; Halsband et al. 1993; Münchau et al. 2002] et le cortex cingulaire (aire 24 de Brodmann) [Dum & Strick dans Vogt & Gabriel 1993; Nguyen, Breakspear, & Cunnington 2014]. Quant aux projections de la commande motrice à l'étage spinal, elles s'effectuent à partir de l'aire motrice primaire (M1) composée de l'aire 4 de Brodmann [Roland et al. 1980; Fried et al. 1991; Purves 2013]. Le cortex moteur participe également aux intégrations sensorimotrices avec le cortex pariétal (cortex somesthésique) à travers l'aire associative préfrontale, jouant un rôle dans la cognition, la planification et l'attention [Roland et al. 1980; Rizzolatti, Luppino, & Matelli 1998].

Il a été rapporté lors d'études post-mortem et d'imagerie *in vivo* chez des patients, une atrophie du cortex moteur [Smith 1960] affectant l'aire M1 [Filippini et al. 2010; Verstraete et al. 2010; Canu et al. 2011; Chiò et al. 2014] et associée à la perte des cellules pyramidales [Nihei, McKee, & Kowall 1993; Graham et al. 2004; Mochizuki et al. 2011], mais également une atrophie des aires motrice supplémentaire, prémotrice et du cortex cingulaire [Maekawa 2004; Thivard et al. 2007; Filippini et al. 2010; Verstraete et al. 2010; Verstraete et al. 2011; Chiò et al. 2014]. Une atrophie du thalamus et des ganglions de la base a également été observée [Smith 1960; Sasaki et al. 1992; Kato, Oda, & Tanabe 1993; Sach 2004; Thivard et al. 2007; Wittstock, Wolters, & Benecke 2007; Bede et al. 2013; Chapman et al. 2014; Pradat & El Mendili 2014; Verstraete et al. 2014; Westeneng et al. 2015].

TRACTUS CORTICOSPINAL

Les cellules pyramidales de la couche V de l'aire M1 projettent un éventail de fibres sous-corticales constituant la corona radiata qui se regroupe ensuite pour former la capsule interne et donner naissance au tractus corticospinal. Les cellules pyramidales de la couche III de l'aire M1 projettent, quant à elles, sur les aires corticales de l'autre hémisphère cérébral à travers le corps calleux constitué selon l'axe antéro-postérieur du genou (interconnectant les cortex frontaux), du tronc (interconnectant les cortex frontaux, pariétaux et temporaux) et du splénium (interconnectant les cortex temporaux, pariétaux et occipitaux) [Hofer & Frahm 2006; Purves 2013].

Il a été rapporté lors d'études post-mortem et d'imagerie *in vivo* chez des patients, une atrophie résultant de la dégénérescence et de la démyélinisation des fibres au niveau de la capsule interne et de la corona radiata [Smith 1960; Graham et al. 2004; Sach 2004; Canu et al. 2011; Li et al. 2012; Chapman et al. 2014; Pradat & El Mendili 2014], des colonnes latérales du tractus corticospinal [Smith 1960; Sach 2004; Wittstock, Wolters, & Benecke 2007; Canu et al. 2011; Cohen-Adad, Zhao, et al. 2013], du corps calleux à travers une atteinte plus importante du tronc et du splénium que du genou [Smith 1960; Yamauchi et al. 1995; Sach 2004; Wittstock, Wolters, & Benecke 2007; Filippini et al. 2010; Canu et al. 2011; Caiazzo et al. 2014; Chapman et al. 2014] et des fibres de la matière blanche interconnectant ou transitant à travers diverses régions corticales et des noyaux sous-corticaux [Smith 1960; Thivard et al. 2007; Canu et al. 2011; Li et al. 2012; Pradat & El Mendili 2014].

MOTONEURONES

Les motoneurones sont organisés en 3 grandes familles : γ (petit diamètre) innervant les fibres musculaires intra-fusales des fuseaux neuromusculaires et contrôlant ainsi leur sensibilité à l'étirement musculaire ; α (grand diamètre) innervant les fibres musculaires extra-fusales et participant aux contractions musculaires ; β (diamètre intermédiaire aux précédents) innervant à la fois les fibres musculaires intra- et extra-fusales en assistant la fonction des motoneurones précédents [Kanning, Kaplan, & Henderson 2010; Manuel & Zytnicki 2011; Pierrot-Desseilligny & Burke 2012]. La contraction musculaire des muscles striés squelettiques est ainsi sous le contrôle des motoneurones- α de la corne ventrale de la moelle épinière et des neurones moteurs du tronc

cérébral. Les motoneurones innervant un muscle donné s'organisent en noyaux moteurs selon un gradient médio-latéral, suppléant les musculatures proximo-distales. Les motoneurones forment des unités motrices avec les fibres musculaires qu'ils innervent (synapse cholinergique) et dont on distingue 3 types : lentes (S, « *slow* ») constituées de petits motoneurones- α innervant les fibres musculaires de type I à contraction lente et développant une force relativement faible mais résistantes à la fatigue, rapides et fatigables (FF, « *fast-fatigable* ») constituées de gros motoneurones- α innervant les fibres musculaires de type IIb et développant une grande force mais fatigables, et rapides et résistantes à la fatigue (FR, « *fast-resistant* ») présentant des propriétés intermédiaires aux précédents et innervant les fibres musculaires de type IIa [Kanning, Kaplan, & Henderson 2010; Manuel & Zytnicki 2011; Pierrot-Desseilligny & Burke 2012; Purves 2013]. Lors d'une contraction volontaire, la régulation de la force musculaire est obtenue par l'augmentation ou la diminution du recrutement des unités motrices et de leur fréquence de décharge. Le recrutement différentiel des unités motrices obéit au principe de la taille établie par Elwood HENNEMAN qui est fonction de la résistance membranaire ou de la conductance d'entrée⁸. Ainsi, lors d'une contraction de force croissante, les unités motrices seront recrutées des plus petites aux plus grandes, soit les S puis les FR et finalement FF [Kanning, Kaplan, & Henderson 2010; Manuel & Zytnicki 2011; Pierrot-Desseilligny & Burke 2012; Purves 2013].

Bien qu'environ 50-80% des motoneurones- α sont perdus avant que les premières faiblesses et pertes musculaires ne se manifestent [Brown 1973; Sandyk 2006], il a été constaté que les unités motrices ne sont pas équitablement affectées par les processus pathologiques. En effet, le modèle murin pré-symptomatique de la maladie a rapporté la dégénérescence préférentielle des unités motrices de type FF suivie des types FR et la relative conservation des types S [Pun et al. 2006]. Une dégénérescence différentielle similaire a également été rapportée chez les patients [Dengler et al. 1990; Theys, Peeters, & Robberecht 1999] au niveau spinal [Kawamura et al. 1981; Sobue et al. 1981] et cortical [Sobue et al. 1987; Eisen, Kim, & Pant 1992]. De plus, il a été constaté une modification du phénotype des unités motrices de type FF en FR avant la dégénérescence des motoneurones composant les unités motrices de type FF [Kawamura et al. 1981; Kanning, Kaplan, & Henderson 2010], reflétant probablement un mécanisme visant à maintenir le nombre d'unités motrices fonctionnelles à travers un changement de taille mais aussi de fonction.

Il est établi qu'au-delà de 60 ans, la perte des unités motrices est un mécanisme physiologique associé au vieillissement, conduisant à la dénervation des fibres musculaires. Il existe des mécanismes de ré-innervation compensatrice permettant de maintenir les propriétés fonctionnelles du muscle⁹ à travers un *sprouting* collatéral originaire des axones d'unités motrices conservées. Cette compensation reste effective tant que le nombre d'unités motrices n'est pas inférieur à 10-20% de l'effectif initial [Brown 1973]. Il a ainsi été observé dans le modèle murin pré-

⁸ La conductance d'entrée est l'inverse de la résistance membranaire et dépend du nombre de canaux ioniques par unité de surface. Ainsi, plus le soma est petit, plus la conductance d'entrée est petite, plus la résistance membranaire est grande et plus le neurone est facilement excitable.

⁹ L'hypertrophie des fibres musculaires des unités motrices survivantes pourrait aussi compenser la dénervation, mais des études effectuées sur des muscles de souris partiellement dénervés montrent une récupération fonctionnelle presque complète sans augmentation du diamètre des fibres musculaires [Brown 1973; Dengler et al. 1990].

symptomatique de la maladie, que certaines unités motrices de type FR sont capables d'une ré-innervation partielle mais instable, menant à une seconde dénervation au début de la phase symptomatique. En revanche, les unités motrices de type S sont relativement résistantes aux phénomènes de dénervation à travers un *sprouting* et une ré-innervation du muscle, et elles sont seulement partiellement déconnectées de leurs cibles musculaires au stade final de la maladie [Pun et al. 2006]. Ainsi, il a été suggéré que les capacités de ré-innervation sont réduites et déclinent avec la progression de la maladie. Par conséquent, les faiblesses et pertes musculaires apparaissent dès lors que le processus de *sprouting* devient insuffisant pour ré-innervier toutes les fibres musculaires [Brown 1973; de Carvalho, Pinto, & Swash 2008]. Ce mécanisme de ré-innervation est en outre associé au stade précoce de la maladie, à un élargissement des unités motrices survivantes menant à la production de grands potentiels d'unité motrice et à une augmentation de la force de contraction¹⁰ [Brown 1973; Dengler et al. 1990] afin de compenser la perte des motoneurones. Mais à des stades plus avancés, le déclin de la force produite par les unités motrices survivantes semble contribuer aux faiblesses musculaires progressives, en complément de la dégénérescence corticospinale et de la réduction du nombre de motoneurones [Dengler et al. 1990]. Il a ainsi été suggéré que les fasciculations observées chez les patients reflèteraient des tentatives de ré-innervation avortées [de Carvalho, Pinto, & Swash 2008]. D'un autre côté, il est établi que les fibres musculaires ré-innervées par les nouvelles collatérales issues du *sprouting* sont converties dans le sous-type associé aux motoneurones ré-innervant [Pun et al. 2006]. Par conséquent, du fait de la relative conservation des unités motrices de type S au cours de la maladie, il est probable que les patients présentent plus de fibres musculaires de type I.

En complément de l'atteinte des motoneurones- α , certains auteurs ont rapporté lors d'études post-mortem, la conservation des motoneurones- γ [Kawamura et al. 1981; Sobue et al. 1981], également retrouvée chez la souris mutante [Chang & Martin 2011; Chang & Martin 2011; Yasvoina et al. 2013; Vaughan et al. 2015], alors que d'autres ont rapporté leur atteinte [J. Ravits et al. 2007] en particulier lors d'une atrophie musculaire marquée [Swash & Fox 1974]. Quant aux motoneurones- β , ils ont été trouvés atteints chez les patients [Swash 2012]. Il a également été rapporté l'atteinte des fonctions motrices faciales et bucco-linguales à travers la dégénérescence des noyaux moteurs hypoglosses (XII), trijumeaux (V), faciaux (VII), glossopharyngiens (IX) et vagues (X) [Sandyk 2006; Martin & Chang 2012], ainsi que de la formation réticulaire [Smith 1960] du tronc cérébral. Bien que la SLA soit caractérisée par la dégénérescence des neurones moteurs, des études post-mortem [Eisen, Entezari-Taher, & Stewart 1996; Charles & Swash 2001; Sandyk 2006; Kato 2007; Pradat et al. 2009; Kanning, Kaplan, & Henderson 2010; Martin & Chang 2012; Bae et al. 2013] ont montré que certains sont épargnés même au stade tardif de la maladie. En effet, les fonctions : oculomotrices (sous contrôle des noyaux crâniens oculomoteurs (III), trochléaires (IV) et abducens (VI)), sphinctériennes (sous contrôle des noyaux Onuf du segment médullaire sacral), et sexuelles (sous contrôle du système nerveux végétatif) ne sont pas/peu atteints au cours de la maladie.

¹⁰ Les gros motoneurones dégénérant préférentiellement dans la SLA, ils ne peuvent donc pas être responsables de l'augmentation compensatrice de la force [Dengler et al. 1990].

2-3-2. VOIES SENSITIVES

Bien que la présence d'atteintes sensibles ait longtemps été considérée comme excluant la SLA du diagnostic ou comme une conséquence des atteintes motrices [Fincham & Van Allen 1964; Feller, Jones, & Netsky 1966; Schulte-Mattler, Jakob, & Zierz 1999], de nombreuses preuves appuient une atteinte sensitive précoce dans la maladie. En effet, il a été rapporté que celle-ci apparaît tôt dans la maladie et en parallèle¹¹ des atteintes motrices [Mulder et al. 1983; Cosi et al. 1984; Heads et al. 1991; Gregory, Mills, & Donaghy 1993; Mondelli et al. 1993; Hammad et al. 2007; Cohen-Adad, El Mendili, et al. 2013] mais elle progresse peu/pas [Heads et al. 1991; Shefner, Tyler, & Krarup 1991; Mondelli et al. 1993; Theys, Peeters, & Robberecht 1999] et s'exprime à un moindre degré que les troubles moteurs [Kawamura et al. 1981; Mulder et al. 1983; Cosi et al. 1984; Zanette et al. 1990; Heads et al. 1991; Mondelli et al. 1993; Hammad et al. 2007].

A. AFFÉRENCES SENSITIVES

Le système somesthésique regroupe les systèmes sensitifs chargés de recueillir les modalités cutanées, nociceptives, thermoceptives et proprioceptives. Celles-ci sont véhiculées à travers différentes fibres sensibles : cutanées ($A\beta$) pour les modalités tactiles, $A\delta$ et C pour les modalités thermoceptives et nociceptives, groupe I & II pour les modalités proprioceptives et dont le rôle est de moduler l'activité des motoneurones- α [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012; Purves 2013].

AFFÉRENCES DU GROUPE I

Les afférences du groupe I sont véhiculées par les fibres de type Ia et Ib. Les fibres Ia sont issues des fuseaux neuromusculaires, localisés au sein du muscle strié squelettique et codant les variations dynamiques de longueur de ce dernier. Ces afférences projettent directement (synapse glutamatergique) sur les motoneurones homonymes¹² mais également hétéronymes¹³. Ces derniers concernent en particulier les muscles synergistes du membre supérieur dont les projections Ia monosynaptiques sont distribuées selon un gradient disto-proximal c'est-à-dire depuis les musculatures distales vers les muscles plus proximaux [Marchand-Pauvert, Nicolas, & Pierrot-Desseilligny 2000; Lourenço, Iglesias, & Marchand-Pauvert 2007]. En revanche, au niveau du membre inférieur, les projections Ia monosynaptiques ont été observées dans les deux sens (disto-proximal et proximo-distal) [Meunier, Pierrot-Desseilligny, & Simonetta 1993; Marque et al. 2001]. Par ailleurs, les afférences Ia sont également capables d'exercer une inhibition sur les motoneurones, soit de façon post-synaptique à travers l'inhibition réciproque¹⁴ et l'inhibition Ib (interneurone glycinergique [Jankowska 1992]), soit de façon pré-synaptique à travers l'inhibition pré-synaptique¹⁵ (interneurone

¹¹ Les modèles murins de la maladie ont montré que l'atteinte des motoneurones précède celle des neurones sensitifs et qu'au cours de l'évolution de la maladie, la quantité de motoneurones affectés est toujours plus importante [Sábado et al. 2014].

¹² Est dit des motoneurones innervant le muscle d'où proviennent les afférences sensibles.

¹³ Est dit des motoneurones innervant un muscle différent de celui d'où proviennent les afférences sensibles.

¹⁴ Inhibition di-synaptique transmise par les afférences du groupe Ia issue d'un muscle agoniste à travers un interneurone Ia projetant sur les motoneurones de muscle antagoniste [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

¹⁵ Inhibition oligo-synaptique transmise par les collatérales des afférences du groupe Ia à travers un interneurone de premier et de second ordre respectivement excitateur et inhibiteur, dont ce dernier module la synapse Ia-motoneurones à travers une connexion axo-axonique [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

de second ordre GABAergique [Jankowska 1992]) [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012]. Les fibres Ib sont quant à elles issues des organes tendineux de Golgi, localisés dans les tendons et codant les variations de force de la contraction musculaire. Ces afférences exercent une inhibition di-synaptique des motoneurones à travers l'activation d'interneurones Ib. Étant donné la similitude de leurs propriétés (seuil d'activation, vitesse de conduction et projection) avec les fibres Ia, l'inhibition Ib homonyme est difficile à étudier, alors que l'inhibition Ib hétéronyme peut l'être, excepté entre muscles antagonistes [Cavallari & Katz 1989; Jami 1992; Marchand-Pauvert, Nicolas, & Pierrot-Desseilligny 2000; Marque et al. 2001].

AFFÉRENCES DU GROUPE II

Les afférences du groupe II sont issues d'une part des fuseaux neuromusculaires codant la longueur statique du muscle, et d'autre part des récepteurs articulaires codant l'angle articulaire entre les membres. Ces afférences projettent sur les motoneurones à travers l'activation d'interneurones. Les projections homonymes ont seulement été étudiées dans les muscles du membre inférieur, alors que les projections hétéronymes s'étendent selon un gradient disto-proximal au membre inférieur mais également supérieur (comparable aux afférences du groupe Ia) [Simonetta-Moreau et al. 1999; Marque et al. 2005; Lourenço, Iglesias, & Marchand-Pauvert 2007].

AFFÉRENCES CUTANÉES (Aβ)

Les afférences cutanées de type Aβ sont issues des mécanorécepteurs cutanés, codant la sensibilité extéroceptive (tact épicritique et protopathique) et exercent leurs effets sur les motoneurones au travers d'interneurones communs aux afférences du groupe I et II [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

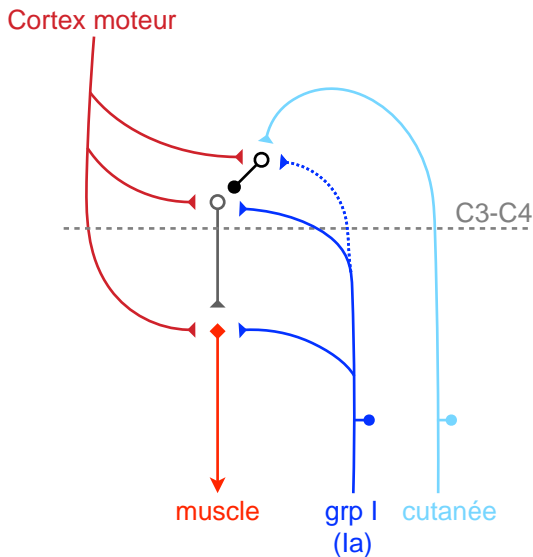
CORTEX SOMESTHÉSIQUE

En complément de l'intégration à l'étage spinal, les afférences somesthésiques projettent également à l'étage cortical en empruntant les colonnes dorsales de la moelle épinière, les noyaux de la colonne dorsale du tronc cérébral et les noyaux latéraux du thalamus. Ce dernier projette directement sur les cellules pyramidales de la couche IV du cortex somesthésique (localisé sur le lobe pariétal) [Purves 2013] et en particulier sur l'aire somesthésique primaire (S1) composée des aires 1, 2, 3a et 3b de Brodmann [Geyer, Schleicher, & Zilles 1999; Geyer et al. 2000; Grefkes et al. 2001]. Il est établi que l'aire 3a reçoit ces influx principalement des fuseaux neuromusculaires, l'aire 3b des récepteurs cutanés et l'aire 1 des récepteurs cutanés et articulaires [Grefkes et al. 2001; Ruben et al. 2001; Qi, Preuss & Kaas dans Basbaum 2008]. Ces aires sont impliquées dans la discrimination de l'intensité et de la localisation de l'information sensitive [Torquati et al. 2002; Lim, Kim, & Chung 2012]. L'aire 2 est quant à elle impliquée dans le traitement de l'information d'ordre supérieur en discriminant la direction et l'orientation de stimulus cutané [Grefkes et al. 2001]. Bien moins étudié que l'aire S1, l'aire somesthésique secondaire (S2) est localisée en profondeur du sillon latéral (sur le bord inférieur du cortex pariétal) et est composée des aires operculaires pariétales 1, 3 et 4 [Ruben et al. 2001; Eickhoff, Heim, et al. 2006; Eickhoff, Lotze, et al. 2006]. Elle présente une organisation somatotopique en miroir de S1 (le membre inférieur en profondeur, suivi de la main et de la face au

bord supérieur du lobe temporal) mais moins détaillée [Hari & Forss 1999; Disbrow, Roberts, & Krubitzer 2000; Ruben et al. 2001]. Elle est impliquée dans des fonctions d'ordre supérieur comme la discrimination des textures et des formes [Hari & Forss 1999], ainsi que des fonctions cognitives [Hari & Forss 1999; Torquati et al. 2002; Papadelis et al. 2011; Lim, Kim, & Chung 2012] et limbiques [Ruben et al. 2001; Eickhoff, Lotze, et al. 2006; Eickhoff, Heim, et al. 2006] comme l'attention, l'apprentissage, la mémorisation, la prise de décision et l'intégration d'informations nociceptives et non-nociceptives. Le cortex somesthésique participe également aux intégrations sensorimotrices avec le cortex frontal (cortex moteur) à travers l'aire associative pariétale (aires 5 et 7 de Brodmann), jouant un rôle dans les comportements d'exploration à travers l'analyse du signal tactile et l'adaptation du mouvement [Hari & Forss 1999; Disbrow, Roberts, & Krubitzer 2000; Ruben et al. 2001; Qi, Preuss & Kaas dans Basbaum 2008].

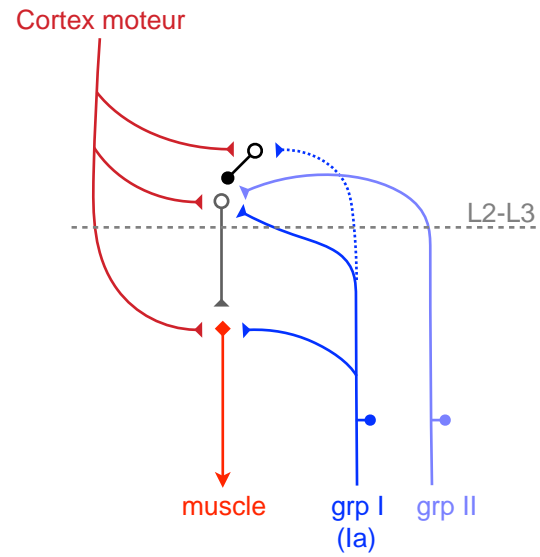
Il a été rapporté chez les patients une atrophie du cortex pariétal (aire S1) [Kew et al. 1994; Zanette et al. 1996; Filippini et al. 2010; Verstraete et al. 2014; Devine et al. 2015], des aires operculaires (aire S2) [Smith 1960; Filippini et al. 2010; Verstraete et al. 2014], des noyaux latéraux du thalamus [Smith 1960; Bede et al. 2013; Chapman et al. 2014] et des projections thalamo-corticales [Smith 1960; Canu et al. 2011; Li et al. 2012]. Les anomalies des colonnes dorsales lombaires sont d'ailleurs une caractéristique des patients SLAf liées à la mutation du gène SOD1, présentes dans 70% des cas contre 10% des cas de SLAs [Cosi et al. 1984; Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Radtke, Erwin, & Erwin 1986; Subramaniam & Yiannikas 1990; Theys, Peeters, & Robberecht 1999]. Il a ainsi été rapporté lors d'études post-mortem et d'imagerie *in vivo*, une atrophie des colonnes dorsales lombaires [Feller, Jones, & Netsky 1966; Kawamura et al. 1981] et cervicales (à un stade précoce de la maladie [Cohen-Adad, El Mendili, et al. 2013]) à travers une perte axonale et une démyélinisation. De plus, des études histologiques du nerf sural (nerf cutané) ont rapporté la perte aiguë de fibres myélinisées, affectant toutes les fibres mais principalement celles de plus gros diamètre [Dyck et al. 1975; Tohgi, Tsukagoshi, & Toyokura 1977; Kawamura et al. 1981; Bradley et al. 1983; di Trapani et al. 1986; Heads et al. 1991; Shefner, Tyler, & Krarup 1991; Hammad et al. 2007]. Par analogie aux neurones moteurs, des phénomènes de démyélinisation/re-myélinisation sensibles ont également été observées [Dyck et al. 1975; Kawamura et al. 1981; di Trapani et al. 1986; Heads et al. 1991] afin de prévenir un déficit fonctionnel précoce [Mulder et al. 1983]. Il a par ailleurs été rapporté dans des modèles animaux de la maladie, une perte d'environ 50% des axones de la racine dorsale au stade pré-symptomatique tardif bien que les lésions aient déjà débuté au stade pré-symptomatique précoce [Fischer et al. 2005; Sábado et al. 2014]. Par conséquent, l'atteinte des voies sensibles, en parallèle des atteintes motrices [Mulder et al. 1983; Cosi et al. 1984; Heads et al. 1991; Gregory, Mills, & Donaghy 1993; Mondelli et al. 1993; Hammad et al. 2007; Cohen-Adad, El Mendili, et al. 2013], pourrait s'expliquer par le lien direct à la maladie et non comme une atteinte secondaire aux atteintes motrices [Mondelli et al. 1993].

Etant donné la similitude entre le gradient de progression disto-proximal des atteintes cliniques, qui est fréquemment observé, et celui des projections hétéronymes des afférences Ia, et compte tenu des preuves de l'atteinte des afférences périphériques dans la SLA, nous nous sommes



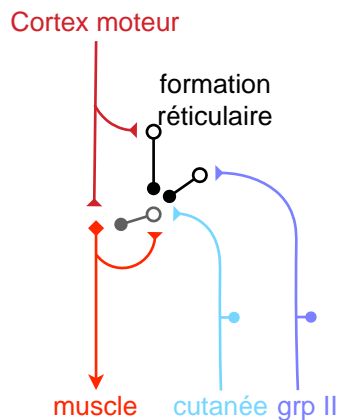
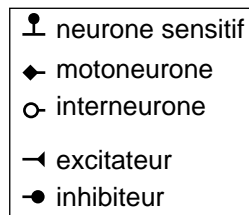
Le système propriospinal cervical (C3-C4)

Les interneurons propriospinaux excitateurs (gris) dont le soma est localisé dans les segments médullaires C3-C4, projettent sur les motoneurons situés plus caudalement. Ils reçoivent d'une part, une excitation monosynaptique issue des afférences du groupe I (majoritairement Ia) et d'autre part, une inhibition di-synaptique à travers un interneurone inhibiteur (noir), cible des afférences du groupe I (marginal, en pointillés) et cutanées. Par ailleurs, les projections corticospinales potentialisent les effets évoqués par les afférences périphériques sur ce système.



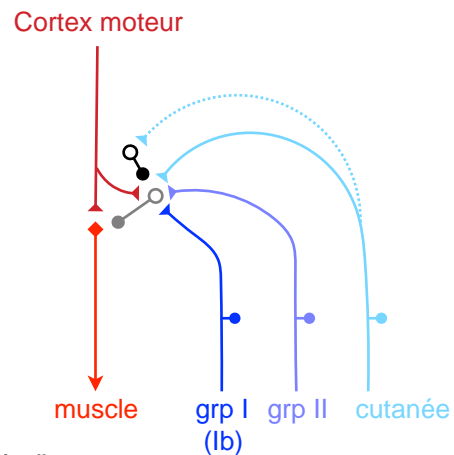
Le système propriospinal lombaire (L2-L3)

Les interneurons propriospinaux excitateurs (gris) dont le soma est localisé dans les segments médullaires L2-L3, projettent sur des motoneurons situés plus caudalement. Ils reçoivent d'une part, une excitation monosynaptique principalement des afférences du groupe II ainsi que du groupe I (Ia) et d'autre part, une inhibition di-synaptique à travers un interneurone inhibiteur (noir), cible des afférences du groupe I. Bien que l'effet de ce dernier soit marginal (en pointillés), il peut être potentialisé par les projections corticospinales.



Inhibition récurrente

L'axone des motoneurons peut émettre des collatérales et exercer une inhibition récurrente di-synaptique à travers les cellules de Renshaw (gris). Cette inhibition peut être facilitée par les afférences cutanées ou inhibée à travers un interneurons inhibiteur par les afférences du groupe II et les projections corticospinales (à travers la formation réticulée).



Inhibition Ib

Les afférences du groupe I (majoritairement Ib) et du groupe II exercent une inhibition di-synaptique des motoneurons à travers les interneurons Ib (gris). Cette effet peut être potentialisé par les projections corticospinales. Les afférences cutanées sont capables de faciliter les interneurons Ib lors d'une faible contraction, alors qu'elles disfacilitent l'inhibition Ib au repos (en pointillés).

figure. 1 : Organisation des projections corticospinales et périphériques directes et indirectes aux motoneurons.

interrogés sur l'implication de ces dernières dans les processus pathogéniques menant à la dégénérescence des motoneurones.

B. INTERNEURONES

Comme nous venons de le voir, les intégrations sensorimotrices sont étroitement associées à l'implication des interneurones. Le cortex moteur qui projette majoritairement de manière monosynaptique sur les motoneurones peut également emprunter des voies di- ou poly-synaptiques à travers l'activation d'interneurones communs aux afférences périphériques [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012]. Le rôle des interneurones est de moduler l'activité des motoneurones en régulant, mais également en transmettant la commande motrice à ces derniers.

INTERNEURONES CORTICAUX

Les interneurones corticaux sont orientés axialement à la surface du cortex et projettent au sein de la même couche corticale ou sur des couches adjacentes proches [Faux et al. 2012]. Ils reçoivent leurs afférences du thalamus, des cellules pyramidales, ainsi que d'autres interneurones et projettent sur des cellules pyramidales et des interneurones [Nieuwenhuys 1994; Markram et al. 2004; Moore et al. 2010; Harris & Mrsic-Flogel 2013; Chu & Anderson 2015]. La majorité des interneurones corticaux sont inhibiteurs (neurotransmetteur GABA [Markram et al. 2004]), certains peuvent être excitateurs (neurotransmetteur glutamate [Nieuwenhuys 1994; Markram et al. 2004] ou GABA¹⁶ [Moore et al. 2010]), ou à la fois excitateur (neurotransmetteur peptidique) et inhibiteur (neurotransmetteur GABA) [Nieuwenhuys 1994; Markram et al. 2004].

INTERNEURONES Ib

Ce sont des interneurones inhibiteurs (neurotransmetteur glycine/GABA [Jankowska 1992]) dont l'activité peut être facilitée principalement par les afférences du groupe Ib, ainsi que des afférences du groupe Ia et II (**Cf. figure 1**). L'inhibition Ib peut également être facilitée par des projections corticospinales de faible intensité alors qu'à forte intensité, elles bloquent leur activité par un mécanisme d'occlusion. Les afférences cutanées exercent quant à elles 2 effets sur les interneurones Ib : une facilitation potentialisée sous contraction par les projections corticospinales ou une inhibition au repos [Marchand-Pauvert et al. 2002; Pierrot-Desseilligny & Burke 2012]. Les interneurones Ib ont pour rôle d'inhiber les motoneurones, favorisant la coordination d'activité de muscles agissant sur différentes articulations et participant ainsi au développement de synergie musculaire [Jankowska 1992].

CELLULES DE RENSCHAW

Ce sont des interneurones inhibiteurs (neurotransmetteur GABA/glycine [Jankowska 1992; Ramírez-Jarquín et al. 2014]) activés directement par les collatérales émises par les axones des motoneurones (à la différence des autres interneurones qui sont activés par des afférences sensitives). Les cellules de Renshaw exercent l'inhibition récurrente (**Cf. figure 1**) des motoneurones homonymes

¹⁶ L'activation du récepteur GABA mène à l'ouverture de canaux perméables aux anions chlorure. La dépolarisation résulte d'un potentiel de repos plus négatif que le potentiel d'inversion des courants induits par le GABA, alors qu'elle est moins négative lors de l'hyperpolarisation. A noter que l'effet dépolarisant du GABA ne concerne que les interneurones du cortex et de l'amygdale de cerveau adulte [Marty & Llano 2005].

et hétéronymes, mais il n'existe pas d'inhibition récurrente sur les motoneurones des muscles intrinsèques de la main et du pied. Par ailleurs, ces interneurones reçoivent d'une part des afférences corticospinales à travers la formation réticulaire, disfacilitant l'inhibition récurrente homonyme et hétéronyme et, d'autre part, des afférences cutanées et articulaires facilitant et disfacilitant respectivement l'inhibition récurrente homonyme [Meunier et al. 1990; Katz et al. 1993; Mazzocchio, Rossi, & Rothwell 1994; Meunier, Pierrot-Deseilligny, & Simonetta-Moreau 1994; Pierrot-Deseilligny & Burke 2012]. Les cellules de Renshaw sont impliquées dans l'inhibition des motoneurones suppléant des muscles trans-articulaires et synergiques, régulant ainsi la commande motrice avant leur transmission au muscle cible [Hultborn et al. 2004].

SYSTÈME PROPRIOSPINAL

À la différence des interneurones segmentaires qui projettent sur les motoneurones localisés au même segment médullaire, les neurones propriospinaux (*Cf. figure 1*) sont localisés dans des segments médullaires plus rostraux par rapport aux motoneurones sur lesquels ils projettent. On distingue d'une part le système propriospinal cervical C3-C4 qui projette sur les motoneurones des muscles du membre supérieur. Les neurones propriospinaux excitateurs reçoivent une excitation monosynaptique originaire des afférences du groupe I (principalement Ia). Ces mêmes afférences, ainsi que les afférences cutanées exercent une inhibition di-synaptique à travers un interneurone inhibiteur (neurotransmetteur probablement glycine par analogie au chat [Alstermark et al. 2007]). Les afférences corticospinales projettent également sur ce système et potentialisent l'effet induit par les afférences périphériques [Gracies et al. 1991; Nielsen & Pierrot-Deseilligny 1991; Pauvert, Pierrot-Deseilligny, & Rothwell 1998; Nicolas et al. 2001; Pierrot-Deseilligny & Marchand-Pauvert 2002]. D'autre part, le système propriospinal lombaire L2-L3 projette sur les motoneurones des muscles du membre inférieur. Les neurones propriospinaux excitateurs reçoivent une excitation monosynaptique originaire principalement des afférences du groupe II, ainsi que du groupe I (Ia). Une inhibition di-synaptique peut être évoquée par ces mêmes afférences mais reste marginale et peut être potentialisée par les projections corticospinales [Chaix et al. 1997; Marchand-Pauvert, Simonetta-Moreau, & Pierrot-Deseilligny 1999; Pierrot-Deseilligny & Burke 2012]. Le système propriospinal joue un rôle important de soutien des commandes motrices provenant des structures supérieures et permet ainsi de transmettre et corriger la commande descendante en parallèle de celle transmise directement aux motoneurones [Giboin et al. 2012].

L'implication des interneurones dans la SLA a été étudiée de façon très limitée. Il a ainsi été rapporté chez les patients l'absence de modification de l'inhibition réciproque s'exerçant au membre inférieur [Soliven & Maselli 1992], un défaut/réduction de l'inhibition pré-synaptique au membre inférieur lié à l'atteinte des interneurones [Morin & Pierrot-Deseilligny 1988; Drory, Kovach, & Groozman 2001] ou à la réduction de leurs afférences cortico-rubro-spinales (facilitant normalement l'inhibition pré-synaptique) [Schieppati, Poloni, & Nardone 1985; Schieppati, Nardone, & Poloni 1987], une réduction de l'inhibition récurrente au membre supérieur [Shefner & Logigian 1998] et inférieur [Drory, Kovach, & Groozman 2001; Raynor & Shefner 1994] probablement due à une réduction du nombre de cellules de Renshaw [Raynor & Shefner 1994]. A noter que les conclusions

de Drory, Kovach, & Groozman 2001 et Shefner & Logigian 1998 sont erronées étant donné qu'ils rapportent l'altération de l'inhibition récurrente de motoneurones n'en possédant pas (motoneurones suppléant les muscles du pied et de la main, respectivement). À l'étage cortical, il a été rapporté une perte des interneurones GABAergiques des couches V et VI de l'aire M1 lors d'une étude post-mortem [Maekawa 2004], ainsi que l'altération de l'inhibition inter-hémisphérique transmise à travers le corps calleux [Wittstock, Wolters, & Benecke 2007]. En complément, certains signes cliniques de la maladie confirment également l'implication des interneurones à travers une régulation aberrante de l'activité des motoneurones. En effet, le signe de Babinski est une réponse poly-synaptique cutanéomotrice reflétant l'atteinte des voies inhibitrices cortico-réticulo-spinales ainsi qu'une désorganisation des connexions des motoneurones- α , - γ et des interneurones, menant à l'évocation de réflexes aberrants [Swash 2012].

Étant donné leur étroite interaction avec la voie corticospinale, les afférences sensitives et les motoneurones, et compte-tenu de leur possible implication dans la maladie, nous nous sommes interrogés sur la participation des interneurones aux processus pathogéniques menant à la dégénérescence des motoneurones.

C. VOIES EXTRAPYRAMIDALES

Les ganglions de la base et plusieurs noyaux du tronc cérébral constituent avec les voies pyramidales, un réseau de circuit en boucle régulant le contrôle moteur en amont de l'exécution du mouvement, mais également diverses fonctions cognitives et limbiques [Purves 2013; Nelson & Kreitzer 2014]. En effet, la substance noire (neurotransmetteur dopamine), l'aire tegmentale ventrale (neurotransmetteur dopamine), le locus coeruleus (neurotransmetteur noradrénaline) et les noyaux du raphé (neurotransmetteur sérotonine) constituent des sources monoaminergiques dont le rôle est de neuromoduler l'activité des motoneurones et interneurones à travers leurs propriétés intrinsèques (conductance de repos, courant dépolarisant, courant entrant persistant, post-hyperpolarisation) [ElBasiouny, Schuster, & Heckman 2010; Miles & Sillar 2011]. Les monoamines modulent ainsi positivement les motoneurones et négativement les interneurones [ElBasiouny, Schuster, & Heckman 2010]. Par analogie au chat, il a été rapporté que la sérotonine et la noradrénaline facilitent l'excitabilité des motoneurones (en inhibant la post-hyperpolarisation et en augmentant les courants entrants persistants) et des synapses du groupe I, et elles inhibent les synapses du groupe II ainsi que les cellules de Renshaw ; la noradrénaline inhibe en plus les interneurones Ib [Jankowska et al. 2000; ElBasiouny, Schuster, & Heckman 2010; Pierrot-Desseilligny & Burke 2012; Dentel et al. 2013].

Des études post-mortem et d'imagerie *in vivo* ont décrit une atrophie des ganglions de la base chez des patients [Sasaki et al. 1992; Kato, Oda, & Tanabe 1993; Bede et al. 2013; Westeneng et al. 2015]. Il a également été observé une réduction du nombre de neurones sérotoninergiques des noyaux du raphé et de leurs projections sur la moelle épinière [Sandyk 2006; Dentel et al. 2013], confirmé par des études sérologiques et tomographiques à travers la réduction du taux de sérotonine et de leurs récepteurs aux niveaux cérébral et spinal [Turner 2005; Sandyk 2006; Dupuis et al. 2010].

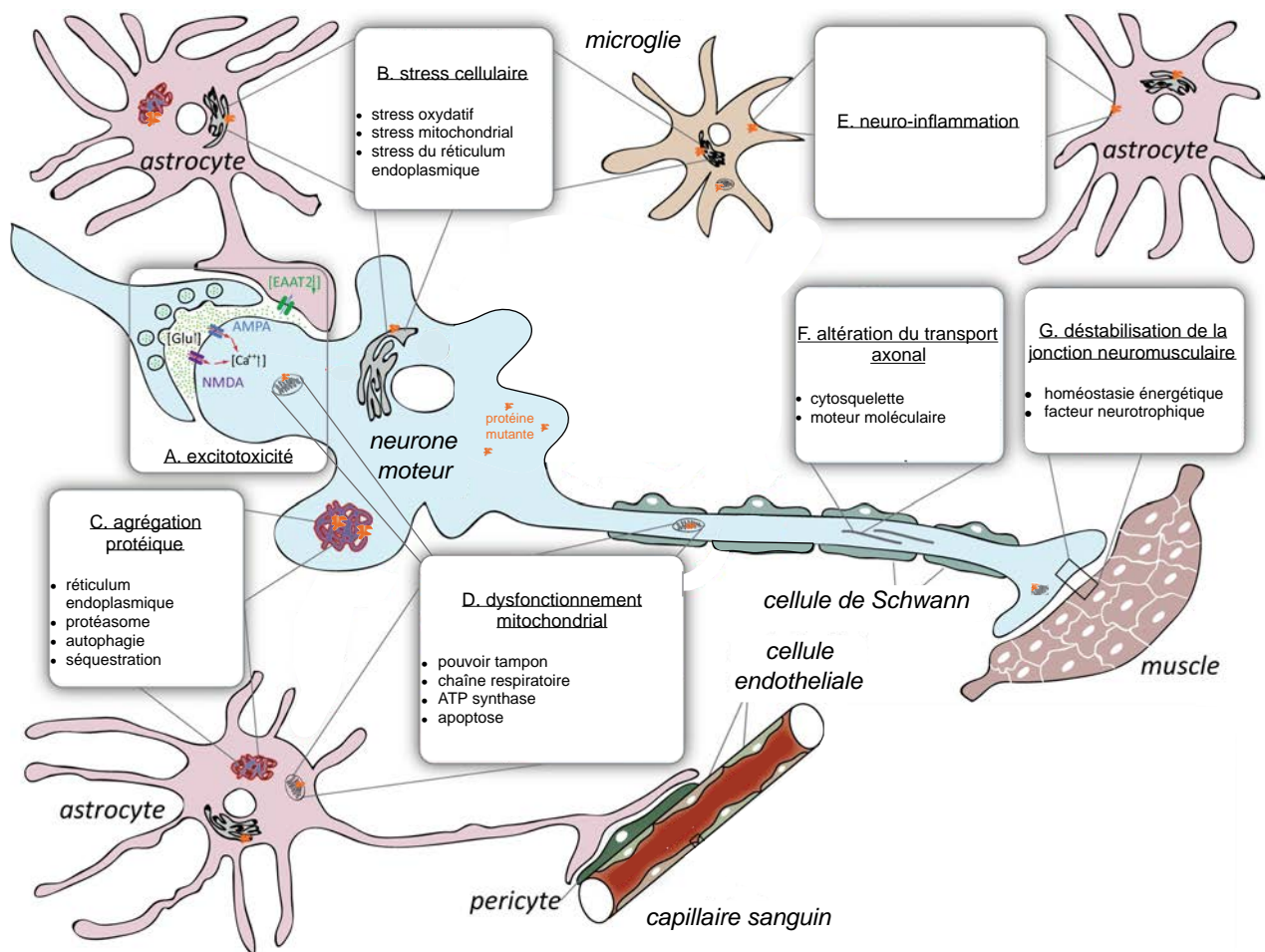


figure. 2 : Principaux mécanismes autonomes cellulaires et non-cellulaires impliqués dans la pathogénèse de la SLA.

La dégénérescence des neurones moteurs résulte d'un ensemble d'événements complexes comprenant : (A) l'excitotoxicité calcium-dépendant, résultant de l'hyperexcitabilité des neurones moteurs à travers leur hyperexcitation et impliquant un déséquilibre excitation/inhibition pré-synaptique, un défaut de clairance du glutamate de la fente synaptique et la modification fonctionnelle des récepteurs post-synaptiques ; (B) le stress cellulaire, résultant du stress oxydatif, mitochondrial et du réticulum endoplasmique, menant à leurs altérations fonctionnelles et à la production de radicaux libres ; (C) l'agrégation protéique, résultant de leurs mauvaises conformations par le réticulum endoplasmique et menant à l'altération fonctionnelle des systèmes de dégradation protéasique et autophagique, ainsi qu'à la séquestration d'autres molécules (protéine, ARN) ; (D) le dysfonctionnement mitochondrial, impliquant un défaut de réduction de la toxicité calcique par perte de leur pouvoir tampon, un défaut de production d'ATP et l'induction de l'apoptose ; (E) les cellules gliales, amplifiant les dommages neuronaux à travers la production d'une neuro-inflammation ; (F) l'altération du transport axonal, résultant de l'agrégation du cytosquelette et d'un dysfonctionnement des moteurs moléculaires ; (G) la déstabilisation de la jonction neuromusculaire, résultant d'un défaut de l'homéostasie énergétique et des facteurs neurotrophiques des cellules musculaires. Modifié d'après Ilieva, Polymenidou, & Cleveland 2009.

Il a par ailleurs été montré dans un modèle murin de la maladie que la perte des neurones sérotoninergiques a lieu au stade pré-symptomatique [Dentel et al. 2013]. Il a ainsi été suggéré l'existence d'un mécanisme compensateur participant au maintien des fonctions motrices en augmentant l'excitabilité des motoneurones suite à la perte des modulations sérotoninergiques [Sandyk 2006; Dentel et al. 2013]. A l'opposé, il a été rapporté dans un modèle murin de la maladie, une augmentation du nombre de projections sérotoninergiques sur les motoneurones de la moelle lombaire, couplée à un défaut d'inhibition de ces derniers [Saxena et al. 2013; Mòdol et al. 2014]. Concernant les autres monoamines, il a été rapporté d'une part lors d'études post-mortem ainsi que tomographiques, une réduction de la production de dopamine par les neurones de la substance noire [Takahashi et al. 1993; Borasio et al. 1998], associée à une réduction du nombre de neurones dopaminergique [Kato, Oda, & Tanabe 1993] et d'autre part, une étude post-mortem a montré que la production de noradrénaline par les neurones du locus coeruleus semblait être augmentée [Bertel et al. 1991; Milan et al. 2014].

2-4. PHYSIOPATHOLOGIE

Bien que l'étiologie de la SLA soit à ce jour méconnue, il est généralement considéré que les formes sporadiques et héréditaires partagent des mécanismes physiopathologiques communs [Dadon-Nachum, Melamed, & Offen 2011; Ajroud-Driss & Siddique 2015], altérant l'homéostasie cellulaire et menant à la genèse d'une activité excitotoxique [Van Den Bosch et al. 2006; King et al. 2016]. Cette dernière implique des cellules neuronales mais également non-neuronales à travers l'induction d'une neuro-inflammation [Philips & Rothstein 2014; Hooten et al. 2015; Murdock et al. 2015], menant à considérer la SLA comme une maladie multifactorielle (**Cf. figure 2**) [Ferraiuolo et al. 2011; Philips & Rothstein 2014]. Grâce à l'étude des modèles animaux, trois phases distinctes dans la mise en place de la maladie ont été rapportées : une phase pré-symptomatique durant laquelle des altérations cellulaires, moléculaires et fonctionnelles s'opèrent ; une phase symptomatique initiée par la dégénérescence des neurones moteurs et l'apparition des premières faiblesses ; et une phase de propagation des processus physiopathologiques [Bendotti & Carri 2009].

2-4-1. EXCITOTOXICITÉ

L'augmentation pathologique de l'excitabilité des neurones moteurs peut conduire à une cascade d'événements toxiques calcium-dépendants, menant à leur dégénérescence et définie par le terme général d'excitotoxicité. L'excitabilité des neurones moteurs étant dépendante de leurs propriétés électriques intrinsèques et extrinsèques, l'augmentation de l'excitabilité peut ainsi résulter d'une hyperexcitabilité ou d'une hyperexcitation [Ilieva, Polymenidou, & Cleveland 2009; Leroy & Zytnicki 2015; King et al. 2016].

A. HYPEREXCITABILITÉ

L'hyperexcitabilité est définie comme une réponse exagérée, évoquée par un stimulus donné, qui habituellement induit une réponse stéréotypée. Elle résulte de la modification des propriétés intrinsèques des neurones à travers leurs propriétés électriques membranaires [Ilieva, Polymenidou, & Cleveland 2009; Leroy & Zytnicki 2015; King et al. 2016]. On distingue d'une part, les propriétés passives responsables du potentiel de membrane au repos et d'autre part, les propriétés actives responsables des caractéristiques du potentiel d'action à travers la rhéobase¹⁷, le seuil de décharge et d'arrêt de décharge, l'amplitude et la durée du potentiel d'action, l'amplitude et la durée de la post-hyperpolarisation (AHP¹⁸, « *after-hyperpolarisation* »), la fréquence de décharge et la mesure globale de l'excitabilité neuronale à l'équilibre (définie par le gain « fréquence de décharge/courant injecté » (F-I)).

Il a été rapporté que les propriétés passives ne sont pas modifiées dans les modèles *ex vivo* et *in vivo* de motoneurones de souris mutantes embryonnaires [Kuo et al. 2005], néonatales [Bories et al. 2007; van Zundert et al. 2008] et adultes pré-symptomatiques [Meehan et al. 2010; Delestrée et al. 2014], de neurones moteurs dérivés de cellules souches pluripotentes de patients SLA [Wainger et al. 2014; Devlin et al. 2015], et de cellules pyramidales de souris mutantes pré-symptomatiques [Pieri et al. 2009; Saba et al. 2015].

A l'opposé, bien que selon le stade étudié (embryonnaire, néonatal, adulte pré-symptomatique) certains auteurs trouvent des résultats différents, l'ensemble des données rapportent une modification des propriétés actives en faveur d'une hyperexcitabilité, que ce soit au niveau des motoneurones [Kuo et al. 2005; Bories et al. 2007; van Zundert et al. 2008; Meehan et al. 2010] ou des cellules pyramidales [Pieri et al. 2009]. En effet, il a été montré dans les motoneurones de souris mutantes, la réduction de la rhéobase [Kuo et al. 2005; Martin et al. 2013; Leroy et al. 2014], l'absence de modification du seuil de décharge [Kuo et al. 2005; Bories et al. 2007; van Zundert et al. 2008], de l'amplitude et de la durée du potentiel d'action et de l'AHP [Kuo et al. 2005; Bories et al. 2007; van Zundert et al. 2008; Meehan et al. 2010; Martin et al. 2013; Leroy et al. 2014], et enfin, l'augmentation de la fréquence de décharge [van Zundert et al. 2008] et du gain F-I [Kuo et al. 2005; van Zundert et al. 2008]. Il a également été décrit dans les cellules pyramidales, la réduction de la rhéobase et du seuil de décharge associés à l'augmentation de la fréquence de décharge et du gain F-I [Pieri et al. 2009; Saba et al. 2015]. Des modifications similaires ont par ailleurs été retrouvées dans les neurones moteurs dérivés de cellules souches pluripotentes de patients [Wainger et al. 2014; Devlin et al. 2015]. Par conséquent, l'hyperexcitabilité des neurones moteurs affectés par la maladie résulte de l'altération de leurs propriétés électriques actives. Ces dernières peuvent être associées à la modification des conductances ioniques des récepteurs et canaux ioniques et/ou d'un déséquilibre des influx nerveux menant ainsi à leur hyperexcitation.

¹⁷ Quantité minimale de courant nécessaire pour déclencher un potentiel d'action.

¹⁸ L'AHP régule la fréquence de décharge à travers des propriétés de réfractorité rendant temporairement impossible toute décharge succédant un potentiel d'action. Celle-ci étant fonction de la taille, les gros motoneurones présentent une AHP courte associée à une fréquence de décharge élevée, alors que les petits motoneurones présentent une AHP longue associée à une fréquence de décharge basse.

B. HYPEREXCITATION

L'hyperexcitation est définie comme le résultat d'un déséquilibre numérique et/ou fonctionnel des projections synaptiques excitatrices et inhibitrices. Elle résulte de la modification des propriétés extrinsèques des neurones [Ilieva, Polymenidou, & Cleveland 2009; Leroy & Zytnicki 2015; King et al. 2016].

RÉCEPTEURS GLUTAMATERGIQUES

Le glutamate exerce son action excitatrice en générant des potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE) à travers l'activation de récepteurs ionotropes (NMDA, AMPA/kaïnate) et métabotropes (mGluR). A la différence des récepteurs NMDA qui en plus d'être perméables au sodium et au potassium, font entrer le calcium, les récepteurs AMPA sont imperméables à ce dernier grâce à l'expression d'une sous-unité GluR2 [Purves 2013]. Les astrocytes influencent d'ailleurs le niveau d'expression du gène codant GluR2 dans les neurones moteurs à travers la libération d'un facteur¹⁹ soluble régulant positivement sa transcription [Ilieva, Polymenidou, & Cleveland 2009; Grosskreutz, Van Den Bosch, & Keller 2010].

Des données expérimentales ont montré que les neurones moteurs sont extrêmement vulnérables à l'excitotoxicité dépendante des récepteurs AMPA. En effet, il a été montré que leur sur-activation conduit à la dégénérescence des neurones moteurs en culture, alors que ces derniers sont relativement résistants à la sur-activation des récepteurs NMDA. Il a ainsi été suggéré que cette vulnérabilité résulterait d'un nombre important de récepteurs AMPA associés à la faible capacité du neurone à tamponner le calcium. En ce sens, il a été rapporté chez des patients et des modèles animaux de la maladie que les neurones moteurs présentent une haute densité de récepteurs AMPA, qui plus est, anormalement perméables au calcium [Van Den Bosch et al. 2006; Grosskreutz, Van Den Bosch, & Keller 2010]. Il a été suggéré que la présence du mutant SOD1 dans les astrocytes interférerait avec la production de GluR2 en réduisant son expression ou en la séquestrant, entraînant ainsi la modification de perméabilité des récepteurs AMPA [Boillée, Vande Velde, & Cleveland 2006; Van Den Bosch et al. 2006; Ilieva, Polymenidou, & Cleveland 2009; Grosskreutz, Van Den Bosch, & Keller 2010; Lasiene & Yamanaka 2011; Ghavami et al. 2014].

L'implication des récepteurs NMDA dans la SLA a été moins étudiée, bien que leur grande perméabilité au calcium et leur cinétique d'activation/désactivation lente en font de bons candidats pour l'excitotoxicité. Le faible intérêt porté à ces récepteurs s'explique simplement par l'absence d'effet neuroprotecteur suite à l'application d'antagonistes à la différence des récepteurs AMPA [Spalloni, Nutini, & Longone 2013]. Il a été rapporté *in vitro* que les interneurones de moelle sacrée de souris mutantes présentent des récepteurs NMDA fonctionnels, impliqués dans leur propre hyperexcitation et menant à l'augmentation des décharges des motoneurones au moment de l'apparition des symptômes [Jiang et al. 2009]. Il est par ailleurs important de préciser que les récepteurs NMDA présentent une complexité fonctionnelle à travers une activation maximale

¹⁹ Bien que ce facteur ne soit pas encore connu, il a récemment été découvert que certains facteurs trophiques sécrétés par les cellules gliales régulent positivement la production de GluR2 [Grosskreutz, Van Den Bosch, & Keller 2010]. L'expression des facteurs trophiques a par ailleurs été rapportée réduite chez les patients [Gould & Oppenheim 2011; Tovar-y-Romo et al. 2014].

dépendante des co-agonistes glycine/sérine et une modulation positive par le zinc et les polyamines. En ce sens, il a été montré dans des cultures de motoneurones de souris mutantes que l'altération de ces acteurs mène avec plus ou moins d'efficacité à l'excitotoxicité des motoneurones [Spalloni, Nutini, & Longone 2013].

Quant aux récepteurs métabotropes du glutamate, leur rôle précis reste encore inconnu. En effet, il a été montré d'une part leur régulation positive dans les astrocytes réactifs de moelle épinière de patients et, d'autre part, leur rôle atténuant l'excitotoxicité des neurones moteurs dans un modèle *in vitro* [Van Den Bosch et al. 2006].

RÉCEPTEURS GABAERGIQUES ET GLYCINERGIQUES

Le GABA et la glycine exercent leur action inhibitrice en générant des potentiels post-synaptiques inhibiteurs (PPSI) à travers l'activation de récepteurs GABAergiques (ionotropes GABAA, GABAC et métabotropes GABAB) et de récepteurs glycinergiques (ionotropes GlyR), respectivement [Purves 2013].

A l'étage spinal (corne antérieure), il a été rapporté à l'issue d'une étude post-mortem, la réduction du nombre de récepteurs glycinergiques sans modification des récepteurs GABAergiques [Hayashi et al. 1981], associée à la réduction des concentrations en glycine mais pas en GABA [Malessa et al. 1991]. Bien que ces résultats peuvent autant concerner les motoneurones que les interneurones, des études ont confirmé ces observations sur des cultures de motoneurones issues d'embryons de souris mutantes, présentant en plus une réduction d'expression des récepteurs glycinergiques au niveau des somi et des dendrites proximales, menant à une réduction des courants inhibiteurs associés. Il a également été rapporté que ces modifications affectent préférentiellement les motoneurones de gros diamètre (type F) car elles n'ont pas été observées sur les motoneurones de petite/moyenne taille (type S) [Chang & Martin 2011; Chang & Martin 2011; Martin & Chang 2012]. En complément, il a été constaté au stade pré-symptomatique, une réduction du nombre de boutons glycinergiques des somi et des dendrites proximales des gros motoneurones innervant les musculatures distales, alors que cette réduction se manifeste aux stades tardifs pour les motoneurones innervant les musculatures proximales. Ces réductions différentielles reflètent vraisemblablement une propagation progressive des altérations, concomitante de la progression disto-proximale des atteintes cliniques. Bien que la réduction des boutons glycinergiques s'exacerbe avec la progression de la maladie, aucune modification n'a été observée concernant les boutons glutamatergiques et GABAergiques [Chang & Martin 2009]. Ces résultats suggèrent donc que les motoneurones vulnérables de type F présenteraient un déficit d'inhibition glycinergique, menant probablement à l'augmentation de leur excitabilité.

A l'étage cérébral, des études tomographiques ont rapporté une réduction des récepteurs GABA des neurones et/ou interneurones du cortex moteur [Lloyd et al. 2000; Foerster et al. 2012], associée à une réduction de leur expression [Martin & Chang 2012]. Ces résultats suggèrent donc qu'un déficit d'inhibition GABAergique mènerait à l'augmentation de l'excitabilité des neurones corticaux.

CO-TRANSPORTEURS CATION-CHLORIDE

Les PPSI évoqués par le GABA et la glycine résultent du passage intracellulaire du chlore à travers leurs récepteurs respectifs. Afin de rétablir le gradient électrochimique de ce dernier, celui-ci est pris en charge par des co-transporteurs cation-chlorure tel le co-transporteur potassium-chlorure (KCC2) et le co-transporteur sodium-potassium-chlorure (NKCC1). L'expression de KCC2 est restreint aux neurones du système nerveux et participe à la sortie du chlore, alors que NKCC1 est exprimé de manière ubiquitaire dans les neurones et les cellules gliales, et participe à l'entrée du chlore. Au cours du développement neuronal, la glycine et le GABA ont initialement un effet excitateur du fait de la surexpression de NKCC1, mais durant la phase de maturation ils deviennent inhibiteurs du fait de l'augmentation d'expression des KCC2 et de la réduction de celle des NKCC1. Les motoneurones sont ainsi parmi les premiers neurones du système nerveux central à subir ce changement fonctionnel [Fuchs et al. 2010; Klomjai et al. 2014; Mòdol et al. 2014].

La réduction d'expression ou la perte de fonction des KCC2 et/ou la surexpression des NKCC1 peut mener à l'action dépolarisante du GABA et de la glycine, résultant en une augmentation de l'excitabilité et une réduction des effets inhibiteurs, comme cela a été observé dans les épilepsies du lobe temporal, les douleurs neuropathiques ou la spasticité après lésion spinale et périphérique chez l'animal [Fuchs et al. 2010; Klomjai et al. 2014; Mòdol et al. 2014]. Dans un modèle murin de la maladie, il a été rapporté au stade pré-symptomatique, la réduction d'expression de KCC2 ainsi que sa délocalisation de la membrane plasmique vers le cytoplasme des gros motoneurones vulnérables (type F). En revanche, les petits motoneurones résistants (type S) continuent à exprimer le KCC2 de manière normale jusqu'au stade final de la maladie. Cependant, aucune modification de l'expression du NKCC1 n'a été observée dans ces motoneurones. Ces résultats suggèrent que la réduction sélective d'expression de KCC2 participerait à la dégénérescence des neurones moteurs à travers un excès d'excitation et un défaut d'inhibition [Fuchs et al. 2010]. A l'opposé, une autre étude a rapporté l'absence de modification d'expression et de délocalisation des KCC2 au stade pré-symptomatique/symptomatique précoce de la maladie malgré la déconnexion des afférences corticales et périphériques aux motoneurones, suggérant ainsi l'incapacité des motoneurones à répondre aux lésions [Mòdol et al. 2014].

COURANTS ENTRANTS PERSISTANTS

Observés au niveau des dendrites des motoneurones, mais également des neurones sensitifs et des interneurones [Tazerart et al. 2007; Zhong, Masino, & Harris-Warrick 2007; Ziskind-Conhaim, Wu, & Wiesner 2008], les courants entrants persistants (PIC, « *persistent inward current* ») ont un rôle important dans le traitement des influx synaptiques [Heckman, Hyngstrom, & Johnson 2008; ElBasiouny, Schuster, & Heckman 2010]. On distingue 2 grandes familles de PIC, associés à plusieurs isoformes de canaux. D'une part, les PIC sodiques à activation rapide (PIC- Na^+) sur le soma/cône d'émergence de l'axone et les dendrites proximales. Ils sont activés par des stimuli infraliminaires et jouent un rôle essentiel dans l'initiation du potentiel d'action. D'autre part, les PIC calciques à activation lente (PIC- Ca^{2+}) sur le soma et les dendrites. Ils sont activés à différents seuils (liminaire, supra- ou infra-liminaire) et jouent un rôle d'amplification des potentiels post-synaptiques. Par

conséquent, les PIC sont activés par des stimuli proches du seuil de décharge et vont amplifier et prolonger l'effet des influx synaptiques. En effet, la phase de prolongation est caractérisée par un long courant persistant bien après que le stimulus se soit arrêté, alors que la phase d'amplification se produit pendant que le stimulus est actif ; l'amplification est d'autant plus importante que les influx monoaminergiques sont importants. La sérotonine et la noradrénaline modulent ainsi l'activité des PIC en permettant la genèse d'un courant dendritique bien plus important que le courant entrant produit par la synapse, conférant ainsi une haute excitabilité aux motoneurones [Heckman, Hyngstrom, & Johnson 2008; ElBasiouny, Schuster, & Heckman 2010]. Il est par ailleurs établi que la persistance de ces courants est plus longue dans les unités motrices de type S que de type F [Manuel & Zytnicki 2011].

Des cultures de motoneurones embryonnaires de souris mutantes ont permis de mettre en évidence l'augmentation d'excitabilité des motoneurones de type F à travers l'augmentation d'amplitude des PIC- Na^+ , à la différence des motoneurones de type S [Kuo et al. 2005]. Il a par ailleurs été montré *in vivo* que l'augmentation des PIC- Na^+ était conservée chez les souris adultes pré-symptomatiques [Meehan et al. 2010; Delestrée et al. 2014] et même amplifiée dans des neurones corticaux en culture [Pieri et al. 2009]. L'augmentation des PIC- Ca^{2+} a également été rapportée dans des motoneurones néonataux [Quinlan et al. 2011]. Il a été montré au stade néonatal, sur des coupes de moelle lombaire de souris mutantes que l'augmentation d'excitabilité des motoneurones n'est pas associée à l'augmentation du nombre de canaux à l'origine des PIC- Na^+ , mais plutôt à une augmentation de leur fréquence. En effet, il est établi que les isoformes embryonnaires des canaux produisent des PIC faibles et sont remplacés au stade post-natal par d'autres isoformes produisant des PIC élevés. Il est donc possible qu'un phénomène pathologique mènerait à l'apparition précoce des isoformes post-nataux des canaux et à l'augmentation de l'excitabilité sous-jacente. D'un autre côté, il est possible d'augmenter la durée d'ouverture des canaux à l'origine des PIC- Na^+ notamment à travers leur phosphorylation par la protéine kinase C. Or l'activité de cette dernière (dépendante du calcium) a été trouvée augmentée dans la moelle épinière de patients et de modèles murins de la maladie [van Zundert et al. 2008], probablement concomitante à l'augmentation des taux calciques intracellulaires. En ce sens, il a été suggéré que l'augmentation de l'entrée du sodium due aux PIC- Na^+ mènerait à l'activation accrue d'échangeur sodium/calcium afin de rétablir l'homéostasie sodique, bien que cela mène à amplifier l'entrée du calcium [Bae et al. 2013]. Les données concernant l'implication des PIC chez les patients sont plus limitées étant donné l'utilisation de méthodes d'électrophysiologie indirecte. Quelques études ont rapporté la régulation positive des PIC- Na^+ des neurones moteurs corticaux et spinaux à partir du stade symptomatique, bien qu'aucune modification n'ait été observée chez les patients SLAf pré-symptomatiques [Kanai 2006; Vucic & Kiernan 2006; Vucic, Cheah, & Kiernan 2009; Vucic & Kiernan 2010].

CANAUX VOLTAGE-DÉPENDANTS

A la différence des PIC, les canaux voltage-dépendants ont un seuil d'activation et une amplitude plus forte [Pieri et al. 2009].

Il a été rapporté sur des cultures de motoneurones embryonnaires [Zona, Pieri, & Carunchio 2006] et corticales néonatales de souris mutantes [Pieri et al. 2009], l'absence de modification fonctionnelle (seuil et cinétique d'activation/inactivation) des canaux sodiques voltage-dépendants. Cependant, leur temps de repolarisation est plus rapide, probablement due à une période réfractaire plus courte, pouvant mener à l'augmentation de la fréquence de décharge [Zona, Pieri, & Carunchio 2006], bien qu'aucune modification de l'AHP n'ait été rapportée (Cf. 2-4-1.a). De manière alternative, il a été montré que les motoneurones dérivés de cellules souches pluripotentes de patients SLA déchargent également à haute fréquence, bien que cela semble résulter de la réduction des courants potassiques voltage-dépendants (normalement impliqués dans la repolarisation du potentiel de membrane suite au potentiel d'action) [Wainger et al. 2014]. En ce sens, il a été rapporté lors d'une étude post-mortem, la réduction d'expression des canaux potassiques dans la racine ventrale mais pas dorsale de la moelle épinière [Shibuya et al. 2011]. Par conséquent, en plus de l'augmentation des PIC- Na^+ , il existerait une réduction des courants potassiques, participant conjointement à exacerber l'excitabilité des neurones moteurs [Kanai 2006; Vucic & Kiernan 2006].

DÉFAUT DE CLAIRANCE DU GLUTAMATE

Après la transmission synaptique, la recapture du glutamate présent dans la fente synaptique est effectuée par des transporteurs au glutamate sodium-dépendant (EAAT, « *excitatory amino-acide transporter* »). Bien que ces transporteurs soient présents sur les éléments pré- et post-synaptique, 90% de la recapture du glutamate est effectué par les astrocytes [Shigeri, Seal, & Shimamoto 2004].

Il a été rapporté un défaut de clairance du glutamate des neurones moteurs corticaux et spinaux de patients, associé à une perte sélective du transporteur EAAT2 astroglial [Boillée, Vande Velde, & Cleveland 2006; Van Den Bosch et al. 2006; Grosskreutz, Van Den Bosch, & Keller 2010; Lasienne & Yamanaka 2011; Philips & Rothstein 2014; Hooten et al. 2015]. De plus, l'augmentation de la concentration en glutamate observée dans le plasma et le liquide cébrospinal, associée à la réduction de leur concentration dans la moelle épinière [Malessa et al. 1991; Spalloni, Nutini, & Longone 2013], suggèrent que la libération excessive de glutamate mènerait à l'augmentation de l'excitabilité des motoneurones. De manière alternative, il a été décrit l'existence d'anomalies dans l'expression du transporteur EAAT2 [Van Den Bosch et al. 2006] suggérant un déficit numérique et/ou fonctionnel. Cependant, une autre étude a rapporté une réduction de la vitesse de recapture du glutamate en l'absence d'altération fonctionnelle, suggérant une saturation du transporteur par excès de glutamate [Rothstein, Martin, & Kuncl 1992].

AFFÉRENCES CORTICOSPINALES

Comme nous l'avons vu précédemment, les cellules pyramidales sont également hyperexcitables et peuvent donc participer à l'hyperexcitabilité des motoneurones.

AFFÉRENCES SOMESTHÉSIQUES

A la différence des neurones moteurs, aucune anomalie des PIC- Na^+ , ni de modification de leur rhéobase n'ont été observées dans les neurones sensitifs de patients [Mogyoros et al. 1998]. Des études menées sur des coupes de moelle sacrée [Jiang et al. 2009] et lombaire [Bories et al. 2007] de

souris mutantes aux stades pré-symptomatiques, symptomatiques précoces et tardifs ont d'ailleurs rapporté l'absence d'augmentation des influx sensitifs avec la progression de la maladie, confirmée chez des patients par la réduction d'amplitude des volées afférentes [Anziska & Cracco 1983; Cosi et al. 1984; Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Dasheiff et al. 1985; Georgesco et al. 1994]. Par conséquent, l'implication des afférences somesthésiques comme source d'hyperexcitation des neurones moteurs semble exclue.

INTERNEURONES

Par comparaison aux neurones moteurs, les interneurones sont plus excitables car ils présentent une plus grande résistance d'entrée et un soma plus petit, bien qu'ils possèdent une fréquence de décharge plus faible résultant de potentiels d'action et d'une AHP plus longs. De plus, l'amplitude de leur PIC- Na^+ est plus faible [Tazerart et al. 2007].

Il a été rapporté sur des coupes de tronc cérébral de souris mutantes néonatales que l'hyperexcitabilité précoce des interneurones peut contribuer à leur perte et induire celle des motoneurones plus tardivement [van Zundert et al. 2008]. Par ailleurs, lors d'une étude consistant à évaluer la dépendance des interneurones à leurs cibles, la section des racines ventrales de moelle épinière de rat sauvage a été effectuée au stade néonatal afin d'induire la dégénérescence des motoneurones. Bien que 80% de ces derniers aient été perdus, aucune perte significative d'interneurones n'a été observée [Lim, Guiloff, & Navarrete 2000]. En extrapolant ces résultats au cas de la SLA, il est possible que l'atteinte des interneurones soit indépendante, précédant et induisant celle des motoneurones [Martin & Chang 2012]. Mais des études post-mortem réalisées chez des patients et des modèles murins de la maladie ont rapporté des résultats très hétérogènes : une relative préservation des interneurones en parallèle de la perte des motoneurones [Terao et al. 1994; Morrison et al. 1996; Avossa et al. 2006; Martin et al. 2007] ou une perte comparable augmentant avec la durée de la maladie [Morrison et al. 1998; Stephens et al. 2006] ou encore une dégénérescence des interneurones succédant à celle des motoneurones [Morrison et al. 1998; Hossaini et al. 2011]. D'un autre côté, il a été décrit sur des coupes de moelle épinière de poissons zèbres mutants, que l'accumulation de la protéine mutante dans les interneurones glycinergiques y induit un stress au stade embryonnaire. Le défaut d'inhibition sous-jacente mène, au stade symptomatique, au développement d'un stress secondaire dans les motoneurones, conduisant à déstabiliser les jonctions neuromusculaires [McGown et al. 2013]. Bien que le mutant SOD1 soit exprimé de façon ubiquitaire, il a été postulé que son accumulation induirait des dysfonctionnements préférentiellement dans les interneurones, suggérant que les motoneurones nécessiteraient plusieurs conditions avant d'être atteints : une accumulation de la protéine mutante et un défaut d'inhibition (par exemple) [Morrison et al. 1998; Chang & Martin 2011; McGown et al. 2013].

INTERNEURONES SPINAUX

Il a été rapporté sur des coupes de moelle épinière de souris mutantes que l'activité des interneurones augmente au début du stade symptomatique, et qu'elle devient même spontanée aux stades tardifs de la maladie [Jiang et al. 2009]. Cette hyperactivité est caractérisée par une augmentation de leur décharge probablement due aux PIC- Na^+ [van Zundert et al. 2008; Jiang et al.

2009] et pouvant mener à l'hyperexcitation des neurones moteurs. Suite à diverses observations, il a été suggéré que celle-ci résulterait d'un déséquilibre excitation/inhibition à travers l'atteinte préférentielle des interneurons inhibiteurs au niveau cortical, mais également spinal [Stephens et al. 2006; Turner & Kiernan 2012]. En effet, en complément de l'atteinte des récepteurs de l'inhibition (Cf. 2-4-1.b), il a été rapporté au stade pré-symptomatique, la perte des projections glycinergiques sur les motoneurons, bien que l'inhibition transmise par le GABA soit relativement épargnée [Lorenzo et al. 2006; Chang & Martin 2009; Chang & Martin 2011; Chang & Martin 2011; Martin & Chang 2012]. Par ailleurs, ce déséquilibre semble évoluer au cours de la progression de la maladie. Il a ainsi été mis en évidence sur des cultures de moelle épinière d'embryons, l'augmentation des synapses inhibitrices et la réduction des synapses excitatrices sur les motoneurons [Avossa et al. 2006], menant probablement à réduire leur excitabilité, alors qu'au début du stade symptomatique, il a été observé une réduction des synapses inhibitrices et de leur activité, associée à l'augmentation des synapses excitatrices [Sunico et al. 2011] menant probablement à leur hyperexcitabilité.

Chez la souris mutante, il a été rapporté sur des coupes spinales que les cellules de Renshaw survivent jusqu'au stade tardif de la maladie [Wootz et al. 2013], alors que d'autres ont décrit leur réduction débutant au stade pré-symptomatique et marqué avant la perte des motoneurons [Chang & Martin 2009; Mòdol et al. 2014]. D'un point de vue fonctionnel, il a été montré au stade pré-symptomatique que les cellules de Renshaw reçoivent moins d'influx pré-synaptique. En effet, le retrait des collatérales issues des motoneurons (concomitant à la dénervation des jonctions neuromusculaires), associé à la réduction des vésicules pré-synaptiques d'acétylcholine et des récepteurs cholinergiques (nicotinique) post-synaptiques, a été observé. Malgré cette réduction, il a été constaté que les cellules de Renshaw présentent une activité conservée voire renforcée au stade symptomatique. Il a ainsi été suggéré qu'un mécanisme compensateur s'effectuerait à travers un *sprouting* des axones des cellules de Renshaw ou des afférences motoneuronales sur ces dernières (comparable au mécanisme de dénervation/ré-innervation de la jonction neuromusculaire) [Chang & Martin 2009; Wootz et al. 2013].

INTERNEURONES CORTICAUX

Il a été rapporté un renforcement de l'inhibition intra-corticale (interneurone GABAergique) durant les premières années qui suivent le début de la maladie chez des patients [Yokota et al. 1996; Attarian, Pouget, & Schmied 2009], bien que d'autres aient observé sa réduction [Ziemann et al. 1997; Vucic, Nicholson, & Kiernan 2008; Vucic, Cheah, & Kiernan 2009; Vucic, Ziemann, et al. 2013; Menon, Kiernan, & Vucic 2015]. Il a également été montré que celle-ci évolue avec la progression de la maladie, se réduisant en parallèle de l'atteinte musculaire [Mills & Nithi 1997; Zanette et al. 2002a; Zanette et al. 2002b]. Il a d'ailleurs été rapporté lors d'une étude post-mortem, que la réduction de l'inhibition intra-corticale résulte de la perte des interneurons GABAergiques des couches V et VI de l'aire M1 [Maekawa 2004]. De même, il a été montré sur des coupes cérébrales de souris mutantes pré-symptomatiques, que l'hyperexcitabilité des cellules pyramidales de la couche V était associée à la réduction des PPSI GABAergiques ainsi qu'à la réduction du nombre d'interneurons inhibiteurs [Nieto-Gonzalez et al. 2011]. Cependant, d'autres ont rapporté au stade

pré-symptomatique, l'absence de perte d'interneurones malgré la perte des neurones corticospinaux [Ozdinler et al. 2011; Fogarty, Noakes, & Bellingham 2015]. De manière étonnante, il a été décrit sur des biopsies de cerveaux de souris mutantes, une augmentation du nombre d'interneurones GABAergiques dans les cortex moteur (30%) et somesthésique (20%) aux stades pré-symptomatique et symptomatique [Minciacchi et al. 2009]. Il est possible que cette augmentation s'effectuerait au travers de foyers de cellules souches neurales des zones sous-ventriculaires et de l'hippocampe [Davis-Dusenbery et al. 2014], renforçant l'inhibition des cellules pyramidales afin de compenser leur hyperexcitabilité.

En complément de l'atteinte de l'inhibition, d'autres auteurs ont observé la perte des dendrites apicales (localisées dans les couches II/III) des cellules pyramidales de la couche V au stade symptomatique [Jara et al. 2012]. Or, il est établi que les cellules pyramidales de la couche V reçoivent des influx excitateurs inter-corticaux sur leurs dendrites apicales et des influx excitateurs intra-corticaux sur leurs dendrites basales [Saba et al. 2015]. Ces résultats suggèrent ainsi l'existence d'un défaut d'excitation inter-corticale des cellules pyramidales [Jara et al. 2012], confirmé par une étude indiquant que les neurones des couches II/III transmettent moins d'influx excitateurs aux neurones de la couche V [Yasvoina et al. 2013].

MODIFICATIONS MORPHOMÉTRIQUES

Il est établi que la taille et la complexité de l'arborisation des dendrites et des synapses terminales sont corrélées à la taille des motoneurones [Kanning, Kaplan, & Henderson 2010]. Cependant, il a été constaté qu'en parallèle de l'hyperexcitabilité, des modifications morphométriques des neurones moteurs s'opèrent dans la maladie.

A l'étage spinal, il a été rapporté au stade embryonnaire [Martin et al. 2013] et néonatal [Leroy et al. 2014] de souris mutantes, que les motoneurones hyperexcitables présentent une réduction de la longueur de leurs dendrites bien que l'arborisation dendritique et la taille du soma ne soient pas modifiées [Martin et al. 2013; Leroy et al. 2014]. A l'étage cortical, il a également été rapporté chez des patients, la réduction de la longueur de leurs dendrites ainsi qu'un gonflement de leur soma [Fogarty, Noakes, & Bellingham 2015]. Or, il a été montré dans un modèle *in silico*, d'une part, que la réduction des longueurs dendritiques est responsable de l'hyperexcitabilité du motoneurone et, d'autre part, que l'augmentation de l'activité pré-synaptique induit une réduction de l'étendue de l'arborisation dendritique des neurones post-synaptiques, soutenant ainsi que celle-ci résulterait d'une activité pré-synaptique exacerbée [Martin et al. 2013]. A l'opposé, il a été montré sur des cultures de motoneurones néonataux de souris mutantes, que l'hyperexcitabilité des motoneurones est associée à l'augmentation de leur surface membranaire, due à une augmentation de la taille du soma ou du nombre de dendrites [Bories et al. 2007]. Ces modifications phénotypiques ont également été observées au stade pré-symptomatique sur les cellules pyramidales [Saba et al. 2015]. Ceci suggère que l'augmentation de la surface membranaire des neurones participe à réduire leur résistance d'entrée et par conséquent à augmenter leur excitabilité.

C. L'HYPEREXCITABILITÉ COMME NEUROPROTECTION

Etant donné les modifications morphométriques et l'évolution de l'équilibre inhibition/excitation interneuronale au cours de la progression de la maladie (Cf. 2-4-1.b), l'hyperexcitabilité des neurones moteurs apparaît comme un phénomène transitoire, évoluant au cours de la maladie et pouvant participer à retarder la dégénérescence. En effet, il a été montré dans un modèle murin pré-symptomatique que l'hyperexcitabilité promeut un effet protecteur et reverse l'accumulation de protéines mutantes mal-conformées [Saxena et al. 2013]. Il a par ailleurs été montré au stade néonatal l'absence de modification de l'excitabilité des motoneurones de type F alors que les types S sont hyperexcitables. Comme ces derniers sont relativement résistants à la dégénérescence, il a été proposé que cette hyperexcitabilité puisse avoir un rôle neuroprotecteur [Leroy et al. 2014]. Il a ainsi été suggéré qu'au sein d'un même noyau moteur, l'excitabilité/homéostasie différentielle dicterait la survie ou la dégénérescence [Venugopal et al. 2015].

Il a été rapporté que l'augmentation des PIC- Na^+ des motoneurones des stades embryonnaire à adulte pré-symptomatique précède la dénervation musculaire dans un modèle *in vivo* de souris mutante, suggérant que l'hyperexcitabilité résultante agirait comme un mécanisme compensant l'augmentation des influx synaptiques et permettrait de maintenir l'excitabilité nette des motoneurones. En effet, avant la perte de leurs jonctions neuromusculaires et de leur dégénérescence sous-jacente, certains motoneurones sont incapables de produire une telle activité compensatrice, perdant leur capacité à décharger de manière répétée mais conservant leur capacité à décharger ponctuellement. Cette hypoexcitabilité serait associée à une réduction des PIC- Na^+ car leur déficit prévient les décharges répétées mais n'empêche pas les décharges ponctuelles. Il est donc probable que l'hyperexcitabilité précoce puisse aider les neurones moteurs à préserver leurs fonctions suite à l'augmentation des influx synaptiques mais suite à l'incapacité de maintenir cette hyperexcitabilité (liée au vieillissement, à la fatigabilité, à l'excès croissant d'excitation ou afin de réduire l'excitotoxicité) ; cette hyperexcitabilité évoluerait en hypoexcitabilité, menant à la dégénérescence des motoneurones [Delestrée et al. 2014]. Des études menées sur des neurones moteurs dérivés de cellules souches pluripotentes de patients ont également rapporté l'hyperexcitabilité comme un phénomène transitoire précoce. En effet, l'hyperexcitabilité a été observée sur des neurones ensemencés²⁰ à 4 semaines [Wainger et al. 2014; Devlin et al. 2015], alors qu'ils sont hypoexcitables s'ils sont ensemencés à 7-8 semaines [Sareen et al. 2013; Devlin et al. 2015]. Il a par ailleurs été spécifié que cette réduction de capacité à décharger précède la dégénérescence des neurones moteurs, associée à la réduction progressive des courants sodiques voltage-dépendants mais également des courants potassiques [Devlin et al. 2015]. Par analogie, il a été montré chez des patients que l'hyperexcitabilité corticale observée au stade précoce de la maladie progresse en une excitabilité normale puis une hypoexcitabilité au stade symptomatique [Mills & Nithi 1997; Eisen & Swash 2001; Zanette et al. 2002a; Zanette et al. 2002b; Menon et al. 2015; Bae et al. 2013]. De manière alternative, il a été proposé que l'hyperexcitabilité soit induite afin de compenser la réduction de l'activité synaptique [Delestrée et al. 2014; Leroy et al. 2014]. En effet, il a été montré

²⁰ Les neurones dérivés de cellules souches pluripotentes sont considérés matures environ 3 semaines après ensemencement [Devlin et al. 2015].

dans le cas d'atrophie musculaire spinale²¹ (SMA, « *spinal muscular atrophy* »), qu'une réduction des influx proprioceptifs monosynaptiques au niveau des motoneurones est associée à une réduction numérique et fonctionnelle des synapses au stade précoce de la maladie. Bien que l'on s'attende à l'hypoexcitabilité des motoneurones, ceux-ci sont au contraire hyperexcitables et suggèrent l'implication d'un phénomène compensateur participant à maintenir leur activité [Mentis et al. 2011].

D. TRAITEMENT ANTI-EXCITOTOXICITÉ

Le riluzole (2-amino-6-trifluorométhoxy benzothiazole) est le principe actif du Rilutek®, médicament originalement utilisé dans les années 1950 comme un myorelaxant à action centrale puis dans les années 1980 comme un anticonvulsivant et un agent neuroprotecteur. En 1995, il devient l'unique médicament approuvé par la FDA (« *United States Food and Drug Administration* ») et l'EMA (« *European Medicine Agency* ») pour le traitement de la SLA suite à deux essais thérapeutiques contre placebo [Lacomblez et al. 1996; Bensimon, Lacomblez, & Meininger 1994] qui ont démontré une prolongation de la médiane de survie de 2 à 3 mois.

Les mécanismes par lesquels le riluzole ralentit la progression de la maladie restent mal connus, mais il semble agir à la fois sur le système nerveux central et périphérique [Cheah et al. 2010; Bellingham 2011; Vucic, Lin, et al. 2013; Mitsumoto, Brooks, & Silani 2014]. Il a ainsi été rapporté qu'il promeut la survie neuronale en amplifiant la production de divers facteurs de croissance et influence l'activité neurale à travers l'inhibition des PIC (sodique et calcique), la potentialisation des courants potassiques dépendants du calcium, l'inhibition de la libération de neurotransmetteurs, l'inhibition des courants sodiques voltage-dépendants, l'inhibition des courants calciques voltage-dépendants et l'inhibition des courants potassiques voltage-dépendants. Bien que ces différents effets soient obtenus à posologie croissante, seuls les 4 premiers sont communément observés aux concentrations utilisés en thérapeutique (100 mg/jour), participant ainsi à réduire les décharges répétées et l'amplitude des potentiels d'action mais également à augmenter la rhéobase ainsi que le gain F-I. En revanche, aucune modification des propriétés membranaires au repos (potentiel de membrane, résistance d'entrée) n'a été observée [Kuo et al. 2005; Zhong, Masino, & Harris-Warrick 2007; Pieri et al. 2009; Cheah et al. 2010; Bellingham 2011]. Il a de plus été rapporté que le riluzole réduit l'excitation glutamatergique à travers l'inhibition directe des récepteurs non-NMDA et l'augmentation de sa recapture astrocytaire par augmentation de l'expression du transporteur EAAT. Il a également été suggéré qu'il puisse inhiber la libération du glutamate à la terminaison pré-synaptique en inhibant les courants ioniques impliqués (calciques notamment) [Cheah et al. 2010; Bellingham 2011; Dall'Igna et al. 2013]. En complément, il a été montré que le riluzole inhibe la libération d'acétylcholine, de dopamine et, dans une moindre mesure, de sérotonine mais également les récepteurs sérotoninergiques et dopaminergiques menant probablement à la réduction de la neuromodulation des neurones [Cheah et al. 2010; Bellingham 2011; Deflorio et al. 2012].

²¹ Maladie neurodégénérative des motoneurones menant à une atrophie musculaire selon un gradient proximo-distal [Mentis et al. 2011].

2-4-2. STRESS CELLULAIRE

Les cellules d'un organisme sont capables de croître et de se développer dans un environnement physiologique. Lorsque cet environnement devient hostile, la cellule est alors soumise à des agressions aiguës ou chroniques produisant un stress. Celui-ci résulte notamment de l'augmentation intracellulaire en calcium, participant à l'excitotoxicité sous-jacente. Malgré l'existence de mécanismes de survie, si le stress devient trop important ou si les capacités de la cellule sont dépassées, celui-ci mènera à la mort cellulaire.

STRESS OXYDANT

La chaîne respiratoire mitochondriale ainsi que les processus inflammatoires sont capables de produire des espèces réactives de l'oxygène et du nitrogène, plus communément appelés radicaux libres. Les cellules sont capables d'éliminer les radicaux libres et de maintenir l'homéostasie de l'oxydoréduction à travers la production d'antioxydants. Il est d'ailleurs établi qu'à faible concentration, les radicaux libres jouent un rôle physiologique dans les réponses cellulaires, mais qu'à forte concentration et/ou associés à un déficit d'antioxydants, ils provoquent des dommages biologiques (lipidique, protéique, nucléotidique) appelés stress oxydant [Valko et al. 2007].

Le gène SOD1 code l'enzyme anti-oxydante superoxyde dismutase 1 dont les mutations associées à la maladie mènent à un gain de fonction toxique associé à l'élévation des dommages oxydant des protéines, des lipides, de l'ADN et de l'ARN. Il est considéré que le stress oxydant est un mécanisme central dans la maladie, affectant autant les neurones moteurs [Ferraiuolo et al. 2011] que les neurones sensitifs [di Trapani et al. 1986; Fischer et al. 2005; Guo et al. 2009; Sábado et al. 2014] et les interneurones [Morrison et al. 1996; Morrison et al. 1998; Stephens et al. 2006; Martin et al. 2007; Chang & Martin 2009; Hossaini et al. 2011], reflétant ainsi l'implication de mécanismes pathologiques communs.

STRESS MITOCHONDRIAL

La mitochondrie est un organite intracellulaire impliqué dans la production d'énergie sous forme d'ATP (adénosine triphosphate) grâce au couplage de la chaîne respiratoire et de l'ATP synthase, dans la régulation de l'homéostasie calcique en tamponnant le calcium et dans le contrôle de l'apoptose [Ferraiuolo et al. 2011].

Il a été rapporté chez les patients et les modèles animaux de la maladie que l'agrégation de la protéine mutée dans la mitochondrie [Shi et al. 2010; Ferraiuolo et al. 2011; Vehviläinen, Koistinaho, & Gundars 2014] mène à l'altération des fonctions mitochondriales à travers la réduction du pouvoir tampon [Van Den Bosch et al. 2006; Shi et al. 2010; Ferraiuolo et al. 2011; Tadic et al. 2014; Tan, Pasinelli, & Trotti 2014], l'altération fonctionnelle des complexes de la chaîne respiratoire réduisant la production d'ATP, la production de radicaux libres [Shaw 2005; Grosskreutz, Van Den Bosch, & Keller 2010; Tadic et al. 2014; Tan, Pasinelli, & Trotti 2014] et l'entrée en apoptose du neurone [Shi et al. 2010; Tan, Pasinelli, & Trotti 2014; Murdock et al. 2015]. Il a par ailleurs été montré dans un modèle *in silico* que l'activité des unités motrices de type FF requiert de grands besoins énergétiques

en ATP, comparativement aux unités motrices de type S. Par conséquent, un défaut de production d'ATP rendrait les unités motrices de type FF plus vulnérables à la maladie et induirait également l'accumulation du calcium et la dépolarisation accrue des neurones en raison d'un défaut de transport ionique ATP-dépendant [Le Masson, Przedborski, & Abbott 2014].

STRESS DU RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE

Le réticulum endoplasmique (RE) est impliqué dans la conformation et la sécrétion des protéines et lipides, ainsi que dans la régulation des concentrations calciques cytosoliques. Lors de l'accumulation excessive de protéines mal-conformées, le RE peut déclencher une réponse aux protéines mal-conformées (UPR, « *unfolded protein response* ») autrement appelée stress du réticulum endoplasmique. Celle-ci implique la reconnaissance des protéines aberrantes par des protéines chaperonnes qui corrigent leur repliement à travers un mécanisme calcium-dépendant. Mais cette réponse à l'origine cytoprotectrice peut conduire à l'apoptose et à l'autophagie si elle est activée de manière prolongée [Kanning, Kaplan, & Henderson 2010; Ferraiuolo et al. 2011; Lautenschlaeger, Prell, & Grosskreutz 2012; Tadic et al. 2014].

Le stress du RE a été rapporté chez des patients et dans des modèles animaux de la maladie [Kanning, Kaplan, & Henderson 2010; Ferraiuolo et al. 2011; Prell et al. 2012], menant à l'accumulation de protéines mal-conformées et à la séquestration des protéines chaperonnes [Kanning, Kaplan, & Henderson 2010; Ferraiuolo et al. 2011; Lautenschlaeger, Prell, & Grosskreutz 2012]. Par ailleurs, l'activité des systèmes ubiquitines-protéasomes et autophagiques, normalement impliqués dans la dégradation des protéines anormalement conformées et des agrégats [Sasaki 2011; Chen et al. 2012; Blokhuis et al. 2013; Ghavami et al. 2014; Damme et al. 2015], est réduite dans la maladie [Chou & Norris 1993; Hirano 1996; Ilieva, Polymenidou, & Cleveland 2009; Sasaki 2011; Chen et al. 2012; Yasvoina et al. 2013; Ghavami et al. 2014; Damme et al. 2015].

TOXICITÉ CALCIQUE

Le calcium est un second messager ubiquitaire impliqué dans de nombreuses voies de signalisation intracellulaire et dont la concentration normalement faible peut être temporairement augmentée lors de la transduction d'un signal. L'augmentation de la concentration cytosolique en calcium s'effectue au travers des canaux calciques voltage-dépendants et des récepteurs présents sur la membrane plasmique, ainsi que par la libération des réserves calciques contenues dans le RE et les mitochondries. La réduction de la concentration calcique s'effectue, quant à elle, au travers des pompes et échangeurs de la membrane plasmique ainsi que par la recapture des mitochondries et du RE où il sera tamponné [Purves 2013]. Le couplage mitochondrie-RE est responsable d'un cycle calcique nécessaire à la chaîne respiratoire, à la production d'ATP et à la conformation des protéines. Le calcium est ainsi libéré des stocks du RE, récupéré par les mitochondries pour y être tamponné et de nouveau libéré afin d'être recapturé par le RE [Grosskreutz, Van Den Bosch, & Keller 2010].

Il a été rapporté une augmentation de la concentration intracellulaire en calcium à la jonction neuromusculaire de patients [Ghavami et al. 2014] et dans les neurones corticaux et spinaux issus de modèles expérimentaux de la maladie [Van Den Bosch et al. 2006; Grosskreutz, Van Den Bosch, &

Keller 2010]. Celle-ci peut résulter de la modification fonctionnelle des récepteurs AMPA (Cf. **2-4-1.b**) et de la réduction du pouvoir tampon de la mitochondrie et du RE, menant à un cycle calcique anormal à travers la déplétion des réserves du RE et la saturation de celles des mitochondries [Grosskreutz, Van Den Bosch, & Keller 2010; Ghavami et al. 2014; Tadic et al. 2014; Tan, Pasinelli, & Trotti 2014]. Il a ainsi été rapporté dans des cultures de neurones moteurs de souris mutantes, que l'élévation de la concentration calcique débute précocement dans les mitochondries, menant à son altération fonctionnelle et suivie par une augmentation du niveau calcique du RE puis du cytosol en même temps que l'apparition d'agrégats cytoplasmique, l'induction de stress ainsi que l'augmentation de la production de radicaux libres [Grosskreutz, Van Den Bosch, & Keller 2010; Shi et al. 2010; Tradewell et al. 2011; Ghavami et al. 2014].

Mon projet de thèse avait pour but de caractériser l'atteinte sensitive au niveau spinal et cortical, et d'étudier les interactions sensorimotrices directes et indirectes aux motoneurones chez des patients SLA. Etant donné la similitude entre le gradient disto-proximal de progression des atteintes cliniques, qui est fréquemment observé, et celle des projections afférentes hétéronymes, nous avons élaboré une stratégie permettant d'étudier l'activité des motoneurones suppléant des musculatures proximales cliniquement non-atteintes et recevant des afférences périphériques de musculatures distales cliniquement atteintes. Nous avons ainsi évalué d'une part les altérations fonctionnelles des afférences périphériques et d'autre part, leurs effets sur l'excitabilité des motoneurones « pré-symptomatiques » et des interneurones spinaux.

III. MATÉRIELS & MÉTHODES

Afin d'évaluer l'implication des atteintes sensorimotrices dans la pathogenèse de la SLA, nous avons employé au cours de cette thèse des techniques d'électrophysiologie non-invasives sur l'Homme, incluant des stimulations électriques périphériques et magnétiques transcrâniennes, l'enregistrement de l'activité électromyographique et électroencéphalographique, que nous avons couplés à l'acquisition d'image par résonance magnétique.

3-1. PRINCIPES GÉNÉRAUX

STIMULATIONS ÉLECTRIQUES PÉRIPHÉRIQUES

Des stimuli électriques percutanés appliqués en regard du trajet nerveux permettent d'évoquer des volées dans les fibres du groupe I et II, les fibres cutanées ainsi que dans les fibres motrices issues des neurones moteurs. L'intensité de stimulation est ajustée en fonction du seuil de perception (PT, « *perceptual threshold* ») ou du seuil moteur (MT, « *motor threshold* »), définis comme l'intensité minimale provoquant respectivement la perception du stimulus ou une réponse motrice dans l'électromyogramme du muscle innervé par le nerf stimulé. Par ailleurs, lors de l'application de stimuli électriques d'intensité croissante, le recrutement des fibres nerveuses débute par l'activation des axones de gros diamètre qui ont une rhéobase faible et une vitesse de conduction élevée, suivis par les axones de petit diamètre qui ont une rhéobase élevée et une vitesse de conduction plus faible [Manuel & Zytnicki 2011]. On active ainsi les fibres du groupe I (Ia, Ib) à des intensités inférieures au MT puis les fibres motrices à partir de MT et finalement les fibres du groupe II à des intensités supérieures à 1xMT [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

Des stimulations électriques (choc rectangulaire de 1 ms) ont été délivrées par des stimulateurs (DS7H, Digitimer Ltd, Hertfordshire, UK) au travers d'électrodes bipolaires cutanées (0,5 cm² séparées de 1 cm) placées le long du trajet nerveux. Nous avons ainsi stimulé les nerfs :

- Médian et Ulnaire au niveau du poignet, innervant les muscles intrinsèques de la main (notamment *l'abductor pollicis brevis* et *l'abductor digiti minimi*, respectivement)
- Radial Superficiel au niveau de la tabatière anatomique (nerf cutané)
- Ulnaire au niveau du coude entre l'épicondyle et l'olécrane, innervant le muscle *flexor carpi ulnaris*
- Radial Profond au niveau du creux axillaire, innervant le muscle *triceps brachii* (triceps)
- Fémoral au niveau du creux de l'aîne, innervant le muscle *quadriceps vastus lateralis* (quadriceps)
- Fibulaire au niveau de l'articulation tibio-péronière, innervant le muscle *tibialis anterior* (tibial antérieur)
- Tibial Postérieur au niveau du creux poplité, innervant le muscle *soleus* (soléaire).

STIMULATIONS MAGNÉTIQUES TRANSCRÂNIENNES

La stimulation magnétique transcrânienne (TMS, « *transcranial magnetic stimulation* ») est générée par un condensateur à travers une bobine placée à la surface du crâne. Lorsque le condensateur décharge, un courant électrique transitoire traverse la bobine et génère un champ magnétique perpendiculaire au scalp, induisant un bref courant électrique parallèle dans les structures conductrices avoisinantes. Bien que l'on ne sache pas exactement quels éléments sont activés, il est admis que les stimuli activent probablement l'axone ou son cône d'émergence, mais pas leur soma. Il n'est par ailleurs pas possible, même à forte intensité, d'activer des fibres corticospinales en dehors de la substance grise, étant donné que la puissance du champ magnétique diminue à travers la substance blanche qui présente une résistance plus importante à la propagation du courant. Les axones corticospinaux étant orientés perpendiculairement à la surface du crâne sont plus difficiles à dépolariser par un champ électrique parallèle, à la différence des afférences cortico-corticales aux cellules pyramidales, de leurs collatérales et des interneurons corticaux qui sont orientés parallèlement à la surface du crâne. Par conséquent, la TMS appliquée en regard de l'aire motrice primaire évoque des volées corticospinales composées de la volée directe (D) de courte latence (résultant de l'activation du cône d'émergence des cellules pyramidales) et de plusieurs ondes indirectes (I) de longue latence (résultant de l'activation trans-synaptique des cellules pyramidales). Les volées I apparaissent généralement avec des intensités de stimulation inférieures à celle évoquant la volée D. Les multiples volées ainsi évoquées par un unique stimulus vont ensuite se sommer temporellement, évoquant un potentiel composite dans l'activité électromyographique du muscle cible à travers l'activation des motoneurons et appelé potentiel évoqué moteur (PEM). L'influence corticospinale sur les motoneurons dépend à la fois des projections corticospinales monosynaptiques et oligo-synaptiques, recrutant les motoneurons selon le principe d'Henneman [Rothwell 1997; Di Lazzaro & Ziemann 2013].

Les TMS ont été délivrées par un stimulateur Magstim Rapid (Magstim, Whitland, UK) au travers d'une bobine simple (90mm, Magstim, Whitland, UK) et en cône (Magstim, Whitland, UK) placée à la surface du crâne en regard du cortex moteur, afin d'évoquer un PEM dans les muscles triceps et quadriceps, respectivement. Les intensités de stimulation sont exprimées en pourcentage du champ magnétique maximal (MSO, « *maximal stimulator output* »).

ACTIVITÉ ÉLECTROMYOGRAPHIQUE

Les motoneurons constituent la voie finale commune des influx périphériques et centraux impliqués dans le contrôle moteur. Par conséquent, les modifications de l'activité synaptique au niveau d'un réseau neuronal impliqué dans le contrôle moteur, quel que soit sa localisation (spinale ou supra-spinale), modifient l'excitabilité des motoneurons. Par ailleurs, comme les motoneurons forment avec les fibres musculaires qu'ils innervent des unités motrices, l'excitabilité des motoneurons peut donc être reflétée par l'activité du muscle à travers les propriétés de la jonction neuromusculaire. En effet, lors de l'arrivée d'un potentiel d'action au niveau de la plaque motrice, le potentiel post-synaptique engendre une différence de potentiel à l'origine d'un potentiel d'action musculaire, se propageant tout le long des fibres musculaires et provoquant leur contraction.

L'ensemble des potentiels d'action d'unités motrices peut ainsi être enregistré au niveau du muscle et constitue le signal électromyographique (EMG), reflétant par conséquent le nombre de motoneurones recrutés [McNeil et al. 2013].

L'activité EMG a été enregistrée avec des électrodes de surface (Neurocom 2, Comepa, France) placées en regard du corps musculaire du muscle étudié. Le signal électrophysiologique a été filtré (bande passante 100-1000 Hz) et amplifié ($\times 10\,000$; D360 8-Channel Patient Amplifier, Digitimer Ltd, Hertfordshire, UK) avant d'être digitalisé (fréquence d'échantillonnage de 2 kHz; Power 1401, CED, Cambridge, UK) et enregistré pour l'analyse a posteriori.

ACTIVITÉ ÉLECTROENCÉPHALOGRAPHIQUE

Les volées afférentes projetant sur les cellules pyramidales de la couche IV induisent un potentiel post-synaptique se propageant de façon bidirectionnelle le long des dendrites et génère un champ électromagnétique. Ce dernier est composé d'un champ magnétique appelé courant primaire, s'atténuant rapidement avec la distance et non détectable à travers le scalp. Ce courant engendre un champ électrique appelé courant secondaire, circulant à la surface du crâne. L'électroencéphalogramme (EEG) mesure la différence de potentiel entre le courant secondaire émis par une région corticale et une référence généralement extra-céphalique [Garnero 2001; Speckmann dans Niedermeyer, Schomer, & Lopes da Silva 2011]. Cette différence de potentiel appelée potentiel de champ est donc générée par un dipôle correspondant à la région dendritique des cellules pyramidales. On distingue les dipôles radiaux (perpendiculaires au scalp) émis depuis les gyri²² du cortex et générant un potentiel EEG monophasique, et les dipôles tangentiels (parallèles au scalp) émis depuis les sillons²³ du cortex et générant un potentiel EEG bi-phasique. A noter que seuls les potentiels de champ produits par un dipôle radial donnent une indication sur la localisation du générateur [Garnero 2001]. De part ces propriétés, l'EEG présente une bonne résolution temporelle mais une faible résolution spatiale, ne permettant pas la localisation précise des générateurs ainsi que l'enregistrement de signaux produits en profondeur de l'encéphale. Par ailleurs, à cause des propriétés atténuantes du crâne, la sommation spatio-temporelle de l'activité corticale est nécessaire pour produire un potentiel de champ enregistrable à travers le scalp, permettant ainsi de différencier le signal d'intérêt des activités spontanées du cerveau et des artefacts musculaires [Garnero 2001; Olejniczak 2006].

Les potentiels évoqués somesthésiques (PES) ont été enregistrés au niveau périphérique par une électrode de surface (Neurocom 2, Comepa, France) placée dans la fosse supra-claviculaire (point d'Erb) ipsilatérale à la stimulation et au niveau cortical par une électrode sous-cutanée (aiguille EEG, Comepa, France) placée en regard du cortex somesthésique (localisé 4 cm latéral et 2 cm postérieur au vertex [American Clinical Neurophysiology Society guidelines. (en ligne)] controlatéral à la stimulation. Leurs références respectives ont été enregistrées à l'aide d'électrodes de surface placées au point d'Erb controlatéral et sur les deux lobes d'oreilles, respectivement. Les signaux EEG ont été filtrés (bande passante 30-3000 Hz) et amplifiés ($\times 10\,000$; D360 8-Channel Patient Amplifier,

²² Partie superficielle des circonvolutions du cortex.

²³ Partie profonde des circonvolutions du cortex.

Digitimer Ltd, Hertfordshire, UK) avant d'être digitalisés (fréquence d'échantillonnage de 2 kHz; Power 1401, CED, Cambridge, UK) et enregistrés pour l'analyse a posteriori.

IMAGERIE PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE, TENSEUR DE DIFFUSION ET TRANSFERT DE MAGNÉTISATION

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est basée sur l'acquisition du signal émis par le noyau d'hydrogène (^1H). Dans l'organisme, ces noyaux sont principalement localisés dans les molécules d'eau (H_2O) et les molécules organiques tels les lipides de la gaine de myéline [Mori & Zhang 2006]. En IRM conventionnelle, le signal acquis est émis par les protons mobiles de l'eau, soumis à un champ magnétique exciteur transitoire alterné avec des temps de relaxation. Les contrastes obtenus sur les images sont la traduction en niveau de gris du signal émis lors de la relaxation. Ce signal dépend ainsi de la densité en protons : le blanc correspond à un signal élevé (hyper-signal) alors que le noir correspond à un faible signal (hypo-signal) [Henkelman, Stanisz, & Graham 2001; Mori & Zhang 2006].

En complément, l'IRM de diffusion est capable de rendre compte des micromouvements des molécules d'eau. Dans un environnement non-restreint (matière grise et fluide cérébrospinal), les molécules d'eau diffusent de façon isotrope en se déplaçant de manière aléatoire et identique dans toutes les directions. En présence d'obstacle, les molécules d'eau se déplacent dans une direction préférentielle, on parle alors de diffusion anisotrope [Clarisse 2008]. Ainsi, le long des faisceaux d'axones délimités par leur membrane cellulaire et la gaine de myéline, les molécules d'eau se déplacent de façon anisotrope dans l'axe longitudinal [Mori & Zhang 2006]. En ajoutant successivement des gradients de diffusion dans les 6 directions de l'espace, il est possible de mesurer un coefficient de diffusion (reflétant la rapidité de diffusion) et de définir un tenseur de diffusion (reflétant le sens de diffusion). L'imagerie du tenseur de diffusion (DTI, « *diffusion tensor imaging* ») permet ainsi d'apprécier l'état structurel des tissus dans une région d'intérêt (ROI, « *region of interest* ») définie voxel par voxel²⁴ à l'aide de divers métriques : 1) la fraction d'anisotropie (FA) qui traduit l'amplitude des variations du déplacement des molécules d'eau dans un espace contraint par la présence d'obstacle, 2) la diffusivité axiale (Δ_{\parallel}) c'est-à-dire dans l'axe longitudinal de l'axone, 3) la diffusivité radiale (Δ_{\perp}) c'est-à-dire dans l'axe transversal de l'axone et 4) la diffusivité moyenne (DM) qui est définie comme la moyenne de Δ_{\parallel} et Δ_{\perp} , caractérisant le déplacement global des molécules d'eau au sein d'un voxel [Mori & Zhang 2006; Clarisse 2008]. Afin de résoudre les problèmes de géométrie complexe au sein d'un voxel résultant notamment du croisement des fibres ou de la séparation d'un tractus, il est possible d'augmenter le nombre de directions des gradients de diffusion grâce à la technique HARDI (« *high angular resolution diffusion imaging* ») [Clarisse 2008].

Pour finir, l'IRM de transfert de magnétisation (MTR, « *magnetization transfer imaging* ») détecte quant à elle le signal des protons non-mobiles des macromolécules lors d'un échange d'excitation de ces protons vers celle de l'eau. La MTR permet ainsi de caractériser l'état de la matière blanche en fournissant une estimation de son contenu en myéline [Henkelman, Stanisz, &

²⁴ Le voxel correspond à un volume de tissu représenté par un pixel sur l'image et sur laquelle un test statistique est appliqué afin d'estimer si ce volume est actif ou non [Eickhoff et al. 2006].

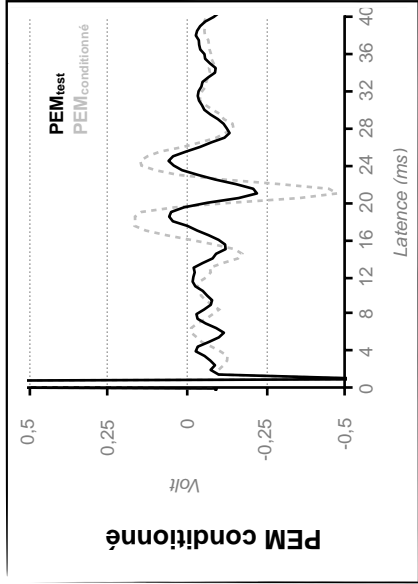
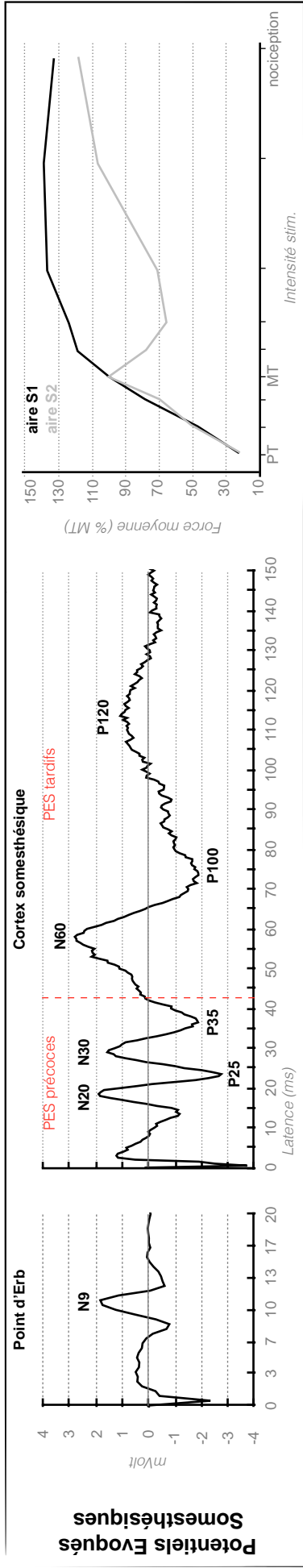
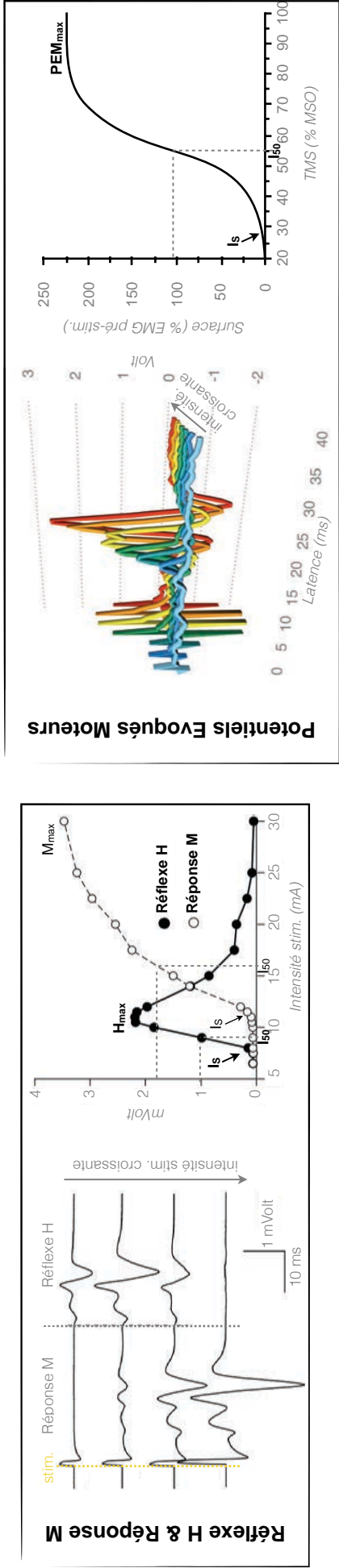


figure 3 : Rappels méthodologiques.

Réflexes H & réponses M du muscle soléaire évoqués par stimulation électrique du nerf tibial postérieur à des intensités croissantes. Sont représentés le signal EMG (gauche) et les courbes de recrutement (droite). Modifié d'après Pierrot-Desselligny & Burke 2012. **Potentiels évoqués moteurs** du muscle triceps brachial induits par TMS appliquée en regard de l'aire M1 à des intensités croissantes. Sont représentés le signal EMG (gauche) et la courbe de recrutement (droite). **Potentiels évoqués somesthésiques** induits par stimulation électrique du nerf médian au niveau du poignet. Sont représentés les potentiels au point d'Erb (gauche) et au cortex somesthésique (centre), ainsi que la force moyenne des potentiels précoces (aire S1) et tardifs (aire S2) évoqués à des stimuli d'intensités croissantes. Modifié d'après Torquati et al. 2002. **PEM conditionné** évoqué dans le muscle triceps brachial. La TMS appliquée en regard de l'aire M1 a été conditionnée par la stimulation du nerf médian au niveau du poignet.

Is : intensité seuil ; I50 : intensité à la médiane ; H/M/PEMmax : réponse maximale ; PT : seuil de perception ; MT : seuil moteur ; nociception : seuil de douleur.

Graham 2001; Cohen-Adad et al. 2011; Cohen-Adad, Zhao, et al. 2013; Cohen-Adad, El Mendili, et al. 2013]. Par conséquent, combiner la DTI et la MTR permet d'augmenter la spécificité et la sensibilité de l'imagerie aux pathologies de la matière blanche [Cohen-Adad et al. 2011; Cohen-Adad, Zhao, et al. 2013; Cohen-Adad, El Mendili, et al. 2013].

Nos images ont été obtenues avec une IRM 3T (TIM Trio, Siemens healthcare, Erlangen, Germany) associée à une antenne cou/moelle épinière. La DTI synchronisée sur le rythme cardiaque a été effectuée sur une séquence EPI (« *echo-planar imaging* ») simple pulse avec un encodage monopolaire. Huit coupes axiales ont été obtenues entre les vertèbres C2-T2 mais l'acquisition avait été optimisée pour les niveaux C5-T1. Les paramètres étaient : FOV 128 mm, TR/TE 700/96 ms, voxel $1 \times 1 \times 5 \text{ mm}^2$, $R = 2$, $b\text{-value}$ 1000 s/mm^2 , 64 directions, 4 répétitions, temps d'acquisition de 10 min.

3-2. RAPPELS MÉTHODOLOGIQUES

3-2-1. LA COURBE DE RECRUTEMENT

La courbe de recrutement est une courbe représentant l'amplitude des réponses en fonction de l'intensité de stimulation.

RÉFLEXE H & RÉPONSE M

Le réflexe H (*Cf. figure 3*) est une réponse EMG obtenue à travers l'activation de l'arc réflexe monosynaptique entre les afférences du groupe Ia issues des fuseaux neuromusculaires et les motoneurones- α innervant les muscles homonymes. Cette réponse peut être évoquée suite à des stimulations mécaniques tendineuses activant les fuseaux neuromusculaires (principe du réflexe myotatique) ou des stimulations électriques sur le trajet de nerf mixte, outrepassant la sensibilité des mécanorécepteurs. Lors de l'application de stimulus électrique de faible intensité, les afférences Ia sont préférentiellement activées car leur diamètre est légèrement plus grand et leur rhéobase plus basse (inférieur à MT) que ceux des axones moteurs. Le réflexe H correspond ainsi à la réponse motrice évoquée à travers l'activation monosynaptique des motoneurones- α par les volées orthodromiques des afférences Ia. A intensité de stimulation croissante, l'amplitude du réflexe H augmente en raison d'une plus forte volée afférente recrutant plus de motoneurones- α (selon le principe de Henneman). Quand l'intensité du stimulus atteint MT, une réponse motrice directe (réponse M) de courte latence et précédant le réflexe H apparaît en raison des volées orthodromiques produites par stimulation directe des axones moteurs. Au-delà de MT, l'augmentation d'amplitude de la réponse M jusqu'à son niveau maximal (M_{\max}) est associée à la réduction du réflexe H. Celle-ci résulte de la collision antidromique consécutive à l'interaction entre les volées afférentes orthodromiques et motrices antidromiques mais pas seulement. En effet, étant donné que la genèse de la réponse M est associée à l'activation des axones moteurs de gros diamètre, celles-ci ne sont pas activées par les afférences Ia et n'interfèrent donc pas avec le réflexe H. D'autres mécanismes peuvent ainsi modifier le recrutement des motoneurones et l'amplitude du réflexe H telles l'inhibition pré-synaptique, l'inhibition Ib et l'inhibition récurrente [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

La courbe de recrutement du réflexe H et de la réponse M reflète ainsi l'excitabilité des afférences périphériques et des motoneurones : celle du réflexe H prenant l'allure d'une parabole et celle de la réponse M suivant un modèle sigmoïde. Il a par ailleurs été montré que la phase ascendante de la courbe de recrutement du réflexe H suit également un modèle sigmoïde [Klimstra & Zehr 2008].

PEM

De manière comparable, il est possible d'obtenir une courbe de recrutement du PEM (**Cf. figure 3**) suite à l'application de TMS en regard de l'aire motrice primaire, et reflétant ainsi l'excitabilité de la voie corticospinale. Cette courbe suit également un modèle sigmoïde [Devanne, Lavoie, & Capaday 1997].

POINTS D'INTÉRÊT

Quelle que soit la courbe de recrutement considérée, le modèle sigmoïde permet de modéliser à la fois la phase linéaire du rapport stimulus/réponse, mais également le comportement de la courbe aux extrémités (début de la phase supraliminaire, phase infraliminaire) [Klimstra & Zehr 2008]. On distingue alors plusieurs points d'intérêt (**Cf. figure 3**) : l'intensité seuil (I_s) correspondant à l'intensité permettant la genèse d'une réponse (H, M, PEM) dans l'EMG du muscle cible, la valeur au plateau (H_{max} , M_{max} , PEM_{max}) correspondant à la réponse maximale, et l'intensité à la médiane (I_{50}) correspondant à l'intensité permettant d'atteindre 50% de la réponse maximale.

RECRUTEMENT DES MOTONEURONES ET NORMALISATION

La courbe de recrutement du réflexe H permet de mesurer le degré d'excitation des motoneurones- α par les afférences périphériques. En effet, pour des intensités de stimulation inférieures à MT (correspondant à la phase linéaire de la sigmoïde [Klimstra & Zehr 2008]), les afférences la recrutent les unités motrices selon le principe de Henneman. De manière similaire, la courbe de recrutement du PEM permet de mesurer le degré d'excitation des motoneurones- α par les projections corticospinales [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012]. L' I_s est, quant à elle, associée à l'activation des motoneurones et/ou neurones corticospinaux les plus excitables [Devanne, Lavoie, & Capaday 1997].

La M_{max} évoquée par la stimulation de tous les axones moteurs d'un nerf fournit quant à elle une estimation de la réponse du noyau moteur. Mais celle-ci est surestimée car les fortes stimulations vont également évoquer une activité EMG dans les muscles avoisinant le muscle cible. Si on ignore ce point, la M_{max} procure plusieurs avantages. Premièrement, le ratio d'une réponse (H ou PEM) et de M_{max} fournit une estimation de la proportion de motoneurones déchargeant au sein du noyau moteur. Deuxièmement, exprimer une réponse (H ou PEM) en pourcentage de M_{max} permet de réduire les variations inter- et intra-individus inhérentes aux sujets (peau, muscle, etc.) et aux conditions de recueils (matériel, position des électrodes, etc.), permettant des comparaisons inter-individus plus fiables [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

3-2-2. LES RÉPONSES CONDITIONNÉES

Ajuster la taille du réflexe H ou du PEM à la médiane de la phase linéaire de la courbe de recrutement des motoneurones, permet d'apprécier les effets amplifiant ou réduisant leur enrôlement suite à la stimulation d'autres voies projetant directement ou indirectement sur ces derniers (**Cf. figure 3**). Ainsi, la taille de la réponse est comparée en l'absence (réponse test) et en présence (réponse conditionnée) de volées conditionnantes d'origines diverses (stimulation périphérique, TMS), évoquées à des intervalles interstimuli (ISI) permettant la convergence spatio-temporelle des deux volées sur le noyau moteur cible ou à un niveau pré-motoneuronal [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

RÉFLEXE H CONDITIONNÉ

Dans une situation contrôle, les volées la évoquées par des stimuli d'intensités constantes induisent la décharge de quelques motoneurones, produisant ainsi un réflexe H test. Si les motoneurones sont au préalable dépolarisés par un PPSE conditionnant, la sommation des volées la test et des PPSE va alors faire décharger les motoneurones précédemment excités en complément de ceux recrutés lors du réflexe test. La taille du réflexe conditionné est par conséquent augmentée. De manière alternative, si les motoneurones reçoivent un PPSI conditionnant, la même volée la test n'est alors plus capable de faire décharger les motoneurones recrutés en dernier lors du réflexe test. La taille du réflexe conditionné est par conséquent réduite [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

PEM CONDITIONNÉ

De manière comparable, le PEM peut être utilisé comme une réponse test afin d'évaluer l'effet de volées conditionnantes.

REPOS VS. CONTRACTION VOLONTAIRE

Au repos, le réflexe H peut être enregistré au niveau de quelques muscles seulement. Une légère contraction volontaire permet de potentialiser le réflexe par les volées descendantes, augmentant ainsi l'excitabilité des motoneurones proches du seuil de décharge et supprimant l'inhibition Ib. Le réflexe H peut alors être virtuellement enregistré dans tous les muscles. Tout comme le réflexe H, le PEM peut être enregistré au repos et sous faible contraction volontaire, permettant ainsi d'élever l'excitabilité des motoneurones actifs au seuil de décharge, potentialisant la réponse et focalisant les volées induites par la TMS sur les motoneurones suppléant le muscle cible. A noter que le recrutement des motoneurones au cours d'une contraction volontaire est similaire pour les influx corticospinaux et Ia. Le réflexe H et le PEM peuvent donc être modifiés de manière similaire par un stimulus conditionnant [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

3-2-3. POTENTIELS ÉVOQUÉS SOMESTHÉSIQUES

Les PES sont définis par divers paramètres : polarité, latence, topographie corticale, comportement [Halgren, Marinkovic, & Chauvel 1998]. L'identification des PES se fait selon une nomenclature « polarité-latence » où la polarité réfère à l'électrode active (négative (P), positive (N))

et la latence au point culminant moyen (en milliseconde post-stimulus) [Léger 2000]. A noter que selon la référence d'enregistrement choisie (cérébrale ou extra-cérébrale) et la position de l'électrode active par rapport à la source du potentiel (potentiel de champ proche ou lointain), cette nomenclature peut être inversée [American Clinical Neurophysiology Society guidelines. (en ligne)]. L'utilisation de l'EEG, de la magnétoencéphalographie (MEG²⁵), d'enregistrements intracérébraux, ainsi que de diverses techniques d'imagerie (IRM fonctionnelle et tomographie par émission de positons) ont permis la localisation des générateurs des PES. La stimulation électrique du nerf médian au niveau du poignet est à l'origine de divers PES aux niveaux périphérique, spinal, sous-cortical (avant 20 ms) et cortical (après 20 ms) [Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005].

PÉRIPHÉRIQUE, SPINAL, SOUS-CORTICAL

Le potentiel N9 enregistré au point d'Erb reflète l'activité du plexus brachial (**Cf. figure 3**) [Small dans Barber 1980; Anziska & Cracco 1983; Mauguière et al. 1999; Léger 2000; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005]. En plaçant une électrode au niveau des épines vertébrales cervicales, il est possible d'enregistrer les potentiels spinaux N11 originaires des ganglions rachidiens dorsaux ou de la colonne dorsale, N13 et N14 originaires du tronc cérébral [Anziska & Cracco 1983; Mauguière et al. 1999; Léger 2000; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005].

CORTICAL PRÉCOCE

Les PES précoces sont associés à la perception sensorielle du stimulus [Halgren, Marinkovic, & Chauvel 1998; Léger 2000]. Ils sont caractérisés par des potentiels bi-phasiques de courte durée apparaissant entre 20 et 35 ms, et sont générés au niveau de l'aire S1 et du cortex frontal [Giblin 1964; Drechsler et Shahani dans Barber 1980; Mauguière et al. 1997; Urbano et al. 1997; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005; Papadelis et al. 2011; Aspell, Palluel, & Blanke 2012; Saradjian et al. 2013]. La latence des PES précoces peut être modifiée selon les phases du sommeil [Houzé et al. 2011]. On distingue les potentiels (**Cf. figure 3**) :

- N20 généré par les projections thalamo-corticales sur l'aire S1 [Small dans Barber 1980; Anziska & Cracco 1983; Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Urbano et al. 1997; Mauguière et al. 1999; Hoshiyama & Kakigi 2001; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005; Papadelis et al. 2011]
- P25 généré par les aires motrices/prémotrices [Urbano et al. 1997; Mauguière et al. 1999; Hoshiyama & Kakigi 2001; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005; Papadelis et al. 2011]
- N30 généré par les aires M1 ou motrice supplémentaire [Urbano et al. 1997; Hoshiyama & Kakigi 2001; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005] et pouvant résulter de projections thalamo-corticales [Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Hoshiyama & Kakigi 2001]. Il a également été suggéré qu'il soit associé à une inhibition intra-corticale GABAérgique [Hari & Forss 1999; Papadelis et al. 2011; Lim, Kim, & Chung 2012]
- P35 généré par le cortex précentral [Hari & Forss 1999]

²⁵ A la différence de l'EEG, la MEG enregistre le champ magnétique (courant primaire) émis par les synapses corticales et n'est pas sensible aux propriétés atténuantes du crâne, permettant ainsi une localisation plus focale des générateurs de potentiels [Hari et al. 1984; Hari & Forss 1999].

CORTICAL TARDIF

Les PES tardifs sont associés à une intégration cognitive en faisant intervenir d'autres structures comme le cortex associatif et l'hippocampe [Halgren, Marinkovic, & Chauvel 1998; Léger 2000]. Ils dépendent des mécanismes mis en jeu dans l'attention sélective, la mémorisation, la comparaison à une information antérieure et le choix d'une réponse comportementale adaptée [Léger 2000]. Ils sont caractérisés par des potentiels poly-phasiques de durée et d'amplitude plus grande que les PES précoces, apparaissant après 40 ms et associés à une transmission plus diffuse et poly-synaptique de la réponse primaire à l'aire S2 et à l'aire associative (notamment entre 40 et 70 ms) [Giblin 1964; Woolsey, Erickson, & Gilson 1979; Drechsler et Shahani Barber 1980; Mauguière et al. 1997; Torquati et al. 2002; Aspell, Palluel, & Blanke 2012; Saradjian et al. 2013]. Les comportements attentionnels (niveau de vigilance et attention portée au stimulus), cognitifs [Hari & Forss 1999; Halgren, Marinkovic, & Chauvel 1998; Léger 2000; Torquati et al. 2002; Nelson et al. 2004; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005; Houzé et al. 2011; Saradjian et al. 2013] et la fréquence de stimulation [Munte et al. 1996; Salinas et al. 2000; Nelson et al. 2004; Chapman & Meftah 2005] renforcent les décharges neuronales de S2 et augmentent l'amplitude des PES tardifs, alors que le sommeil déprime ces effets [Houzé et al. 2011]. On distingue les potentiels (**Cf. figure 3**) :

- P45 généré par l'aire S2 et associative pariétale [Small dans Barber 1980; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005]
- N60 généré par l'aire S2 bilatéralement [Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005]
- P100 et N120 générés par les régions centrales et temporales [Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005]

RELATION INTENSITÉ/RÉPONSE

Aucun PES n'est évoqué en-dessous de PT du nerf médian [Torquati et al. 2002; Lim, Kim, & Chung 2012]. De PT à MT, l'amplitude du potentiel N9 et des PES précoces augmente [Treede et al. 1988; Huttunen 1995]. A MT, l'amplitude du potentiel N20 avoisine les 90% de son maximum, alors que celui du potentiel N9 n'atteint que 35-50% du sien [Lesser, Koehle, & Lueders 1979; Gandevia & Burke 1984; Huttunen 1995]. Au-dessus de 2xMT, l'amplitude du potentiel N9 continue à augmenter alors que celle de la N20 atteint un plateau [Lesser, Koehle, & Lueders 1979; Huttunen 1995; Torquati et al. 2002; Lim, Kim, & Chung 2012]. Par comparaison à l'amplitude du potentiel N9 qui augmente de façon linéaire probablement à travers le recrutement croissant des fibres nerveuses [Lesser, Koehle, & Lueders 1979; Gandevia & Burke 1984], l'augmentation non-linéaire de l'amplitude du potentiel N20 s'expliquerait par un recrutement différentiel des fibres nerveuses [Parain & Delapierre 1991; Torquati et al. 2002] ou par une synchronisation/amplification centrale [Parain & Delapierre 1991; Huttunen 1995; Torquati et al. 2002]. Quant à la saturation, elle résulterait soit de la convergence des volées afférentes aux relais centraux, provoquant une occlusion associée à la période réfractaire des neurones relais [Lesser, Koehle, & Lueders 1979; Gandevia & Burke 1984; Huttunen 1995; Lim, Kim,

& Chung 2012], soit d'un phénomène d'inhibition récurrente [Lesser, Koehle, & Lueders 1979; Gandevia & Burke 1984; Huttunen 1995].

Les PES tardifs se comportent de manière similaire aux PES précoces jusqu'à MT. Au-delà, ils continuent d'augmenter sans saturer [Torquati et al. 2002; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005; Lim, Kim, & Chung 2012] bien que leur amplitude varie très peu à partir de 1,5-2xMT [Huttunen 1995; Nelson et al. 2004]. Au-delà de 2xMT, l'amplitude des PES tardifs amorce une réduction, mais ré-augmente aux intensités proches de la douleur [Torquati et al. 2002]. Il a été suggéré que la différence de saturation entre les aires S1 et S2 résulterait du recrutement différentiel des fibres A β myélinisées non-nociceptives pour l'aire S1 et des fibres A δ et C non-myélinisées nociceptives pour l'aire S2 [Lee, Kim, & Chung 1986; Huttunen 1995; Torquati et al. 2002]. Par analogie au rat, il a également été suggéré que la diminution et la ré-augmentation d'amplitude des PES tardifs résulterait de l'activation différentielle de deux sous-populations de neurones corticaux : l'une traitant les influx non-nociceptifs pour des stimuli inférieurs au seuil douloureux, et l'autre traitant les influx nociceptifs pour des stimuli proches de la douleur [Torquati et al. 2002; Stienen et al. 2005; Lim, Kim, & Chung 2012]. De manière alternative, la focalisation de l'attention sur les stimulations douloureuses pourrait également renforcer les décharges de l'aire S2 et ré-augmenter l'amplitude des PES tardifs [Torquati et al. 2002].

3-2-4. IRM

La FA est un marqueur de l'intégrité des faisceaux de fibres situés dans la matière blanche. La réduction de la FA reflète donc la dégénérescence des faisceaux de fibres pouvant résulter de l'augmentation de la $\Delta\perp$ (reflétant une démyélinisation), ou de la réduction de $\Delta\parallel$ (reflétant une lésion axonale), ou bien encore de la combinaison des deux. En effet, la démyélinisation provoque moins de restriction à la $\Delta\perp$ alors que les lésions axonales provoquent la désorganisation de l'axone qui réduit la $\Delta\parallel$ [Mori & Zhang 2006; Cohen-Adad et al. 2011]. A la différence de la FA qui mesure la direction de la diffusion de l'eau, la DM mesure l'amplitude de la diffusion [Canu et al. 2011]. La DM est donc plus grande si elle est moins contrainte, reflétant ainsi la démyélinisation ou la dégénérescence de l'axone. Seule la réduction de la MTR est spécifique à la démyélinisation [Cohen-Adad et al. 2011].

3-3. PRINCIPES EXPÉRIMENTAUX

Au cours de cette thèse, nous avons élaboré des protocoles afin d'étudier l'activité électrophysiologique « pré-symptomatique » des motoneurones chez des patients SLA. Nous avons ainsi exploré à l'étage cervical et lombaire l'activité EMG des motoneurones suppléant des musculatures proximales cliniquement non-atteintes (muscles triceps et quadriceps), recevant des afférences sensitives issues de musculatures distales cliniquement atteintes (muscles intrinsèques de la main, *flexor carpi ulnaris*, tibial antérieur, soléaire). En complément, l'implication d'interneurones spinaux a également été explorée. Au préalable, nous avons en outre étudié les PES évoqués à travers

les afférences sensibles issues des muscles intrinsèques de la main (cliniquement atteints). L'étude des PES a été couplée à l'analyse des images d'IRM-DTI et de MTR. Les protocoles expérimentaux seront développés dans le chapitre Résultats.

ÉTHIQUES ET PARTICIPANTS

Les études ont été menées sur des participants sains et patients SLA ayant donné au préalable leur consentement écrit aux protocoles expérimentaux. Ces derniers ont été élaborés en accord avec les dernières modifications des lois bioéthiques françaises ainsi que la Déclaration d'Helsinki et ont été approuvés par le comité de protection des personnes (CPP Ile-de-France VI – Pitié-Salpêtrière) et l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). Les critères d'inclusion étaient : SLA probable ou définie selon les critères El Escorial, absence de symptôme ou de signe d'atteinte sensible (tact normal, proprioception, nociception), absence de condition médicale associée à une neuropathie périphérique (diabète, alcoolisme, neurotoxine, neuropathie, compression nerveuse), évaluation clinique normale des muscles proximaux (test moteur, réflexe, absence d'atrophie ou de fasciculation) et atteinte clinique des muscles distaux.

INSTALLATION

Au cours des investigations, les participants étaient confortablement installés dans un fauteuil. Lors de l'exploration EEG, les participants étaient en position semi-allongée, les yeux fermés. Lors de l'exploration EMG du muscle triceps, l'épaule était en légère abduction (60°), le coude semi-fléchi (110°) et l'avant-bras en supination, supporté par l'accoudoir du fauteuil. Pour l'exploration EMG du muscle quadriceps, la hanche était semi-fléchie (120°), le genou légèrement fléchi (160°) et la cheville en position neutre (100°). A chaque investigation ont été définis au préalable : 1) le membre à explorer, du côté dominant (selon le test de latéralité d'Edinburgh) et/ou du côté de l'atteinte clinique distale chez les patients, 2) les MT et PT des nerfs médian et ulnaire (au poignet et au coude), radial superficiel et fibulaire, 3) l'EMG développé lors de la contraction musculaire volontaire maximale (MVC, « *maximal voluntary contraction* ») des muscles triceps et quadriceps, 4) la M_{\max} des muscles triceps, quadriceps et soléaire.

3-4. ANALYSE DES DONNÉES

Les données ont été analysées a posteriori (Signal Software, CED, Cambridge, UK) afin d'extraire l'amplitude ou la surface des réponses. L'amplitude d'une réponse bi-phasique est définie comme la différence entre le point le plus haut et le plus bas des pics constituant cette réponse. Si cette réponse est monophasique, l'amplitude est définie comme la différence entre le point culminant du pic et la ligne de base. La surface d'une réponse est quant à elle définie comme l'aire comprise entre la ligne de base et la courbe du signal redressé, permettant notamment d'apprécier la complexité d'un signal poly-phasique. A noter que la ligne de base est définie sur l'activité moyenne pré-stimulus.

EMG

La surface des PEM issus d'une même série a été extraite en gardant toujours la même fenêtre d'analyse (abscisses encadrant le début et la fin du PEM défini quand celui-ci croise la ligne de base) après que le signal EMG a été redressé et moyenné. Lors de la réalisation des courbes de recrutement, chaque surface de PEM a été soustraite à la surface moyenne pré-stimulus et exprimée en pourcentage de la surface moyenne pré-stimulus, puis moyennée. Pour les PEM conditionnés, chaque surface de PEM conditionné a été exprimée en pourcentage de la surface moyenne du PEM test, puis moyennée.

L'amplitude des réflexes H et des réponses M issues d'une même série a été extraite, de même que la valeur de M_{\max} . Pour étudier les courbes de recrutement, l'amplitude de chacune des réponses a été exprimée en pourcentage de l'amplitude de M_{\max} , puis moyennée. Pour les réflexes H conditionnés, chaque amplitude du réflexe H conditionné a été exprimée en pourcentage de l'amplitude moyenne du réflexe H test, puis moyennée. Les moyennes arithmétiques sont indiquées \pm l'écart-type de la moyenne (SEM, « *standard error of the mean* »).

EEG

Tous les tracés EEG issus d'une même série ont été moyennés afin de différencier le signal d'intérêt de l'activité basale. Les latences des PES à leur point culminant, ainsi qu'à leur début (défini quand ils croisent la ligne de base) ont été définies pour chaque tracé moyen. La déviation standard (SD, « *standard deviation* ») de l'activité moyenne pré-stimulus ayant été définie au préalable, la surface ou l'amplitude des PES de chaque tracé moyen a été exprimée en pourcentage de $2 \times SD$. La vitesse de conduction périphérique a été calculée selon le ratio de la distance entre les électrodes de stimulation et le point d'Erb, et la latence du potentiel N9. La vitesse de conduction centrale a été calculée selon le ratio de la distance entre le point d'Erb et le cortex pariétal, et la différence de latence entre les potentiels N9 et N20.

MÉTRIQUES D'IRM ANATOMIQUES

Les ROI, limitées à la région hémi-dorsale ipsilatérale au membre étudié, ont été manuellement définies sur chaque coupe, chez chaque sujet, en utilisant des paramètres basés sur la géométrie des codons de la moelle épinière. Les tenseurs de diffusion et les métriques associées (FA, $\Delta\parallel$, $\Delta\perp$, DM) ont été estimés voxel par voxel dans ces régions, puis moyennés.

TEST DE STUDENT

Le test de Student (test-t) bidirectionnel est un test paramétrique permettant de comparer deux échantillons indépendants ou appariés. Il est préalablement vérifié que la distribution des données suit la loi normale et que les variances sont homogènes, sinon un test non-paramétrique de Mann-Whitney est effectué. L'hypothèse H1 postulant qu'il existe une différence significative entre les deux échantillons, est rejetée lorsque la valeur p est supérieure à 0,05 (représentant un intervalle de confiance de 95% avec un risque d'erreur inférieur à 5%).

ANALYSE DE LA VARIANCE

L'analyse de la variance (ANOVA, « *analysis of variance* ») est un test paramétrique permettant de comparer les variations d'une variable (dite dépendante) sous influence d'autres variables (dites indépendantes), pouvant éventuellement être appliquées de manières répétées (ANOVA-MR, sur mesures répétées). Il est préalablement vérifié que la distribution des données suit la loi normale et que les variances soient homogènes, sinon un test non-paramétrique de Kruskal-Wallis est effectué. L'hypothèse H1 postulant qu'il existe une différence significative et/ou une interaction entre les variables dépendantes et indépendantes, est rejetée lorsque la valeur p est supérieure à 0,05 (représentant un intervalle de confiance de 95% avec un risque d'erreur inférieur à 5%). Dans le cas où l'hypothèse H1 est acceptée, il est alors possible d'effectuer des tests de comparaisons multiples. Ces tests (dits post-hoc) se différencient par leur degré de conservation. Un test conservateur rend moins probable la détermination d'une différence de données comme statistiquement significative. Ainsi, le test de Bonferroni est plus conservateur que le test de Tukey. Un test de Dunn peut également être effectué uniquement dans le cas d'échantillon non-homogène (présentant des données manquantes).

TEST DE CORRÉLATION DE PEARSON ET ANALYSE DE RÉGRESSIONS MULTIPLES

Le test de corrélation de Pearson est un test paramétrique permettant de mesurer la force d'association entre deux variables. Il est préalablement vérifié que la distribution des données suit la loi normale et que les variances soient homogènes, sinon un test non-paramétrique de Spearman est effectué. L'hypothèse H1 postulant qu'il existe une association significative entre ces variables, est rejetée lorsque la valeur p est supérieure à 0,05 (représentant un intervalle de confiance de 95% avec un risque d'erreur inférieur à 5%). De manière comparable, l'analyse de régressions multiples est un test paramétrique permettant de mesurer la force d'association entre une variable dépendante et plusieurs variables indépendantes. Il est possible de quantifier la force d'association des variables grâce aux coefficients de corrélation (R) ou de régression ajustée (R^2_{ajt}) qui tient compte du nombre de variable indépendant (degré de liberté). Ces coefficients fluctuent entre +1 et -1 indiquant une parfaite association entre les variables qui varient dans le même sens ou de manière opposée, respectivement. En revanche un coefficient égal à 0 indique qu'il n'existe pas d'association entre les variables selon le modèle testé. En effet, bien que le modèle de corrélation et de régression choisi par défaut soit le modèle linéaire, il est possible d'utiliser d'autres modèles (notamment logarithme népérien) afin de mieux expliquer l'association des variables.

IV. RÉSULTATS

Le projet avait pour but d'étudier les intégrations sensibles au niveau cortical et les intégrations sensorimotrices au niveau spinal entre des afférences sensibles issues de musculatures distales cliniquement atteintes, connues pour projeter de manière hétéronyme sur les motoneurons de musculatures proximales cliniquement non-atteintes.

4-1. ALTÉRATIONS DES AFFÉRENCES SENSITIVES

Dans un premier temps, nous avons étudié l'état des volées afférentes issues des muscles intrinsèques de la main (cliniquement atteints).

4-1-1. ALTÉRATIONS ANATOMO-FONCTIONNELLES

L'étude consistait à évaluer les propriétés anatomiques et fonctionnelles des voies sensibles, en combinant l'imagerie IRM-DTI et les PES. Vingt et un patients SLA (dont 5 femmes) dont la durée de la maladie était de $26,6 \pm 3,6$ mois depuis l'apparition des premiers symptômes ont été comparés à 21 participants neurologiquement sains, appariés en genre et en âge (patients : $56,3 \pm 2$ ans compris entre 37 et 76 ans ; témoins : $56,6 \pm 2,1$ ans compris entre 33 et 73 ans). Pour plus de détails, se rapporter à l'article « *Electrophysiological and spinal imaging evidences for sensory dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis* » (Cf. annexe 1).

ATTEINTES ANATOMIQUES

Dans la région correspondant à la colonne postérieure de la moelle épinière, nous avons observé chez les patients une augmentation significative des métriques $\Delta\perp$ et DM (test t : $p < 0,05$) et l'absence de modification significative des métriques FA et $\Delta\parallel$ (test t : $p = 0,29$ et $0,06$, respectivement). Par ailleurs, dans la région correspondant au tractus corticospinal latéral, nous avons également observé chez les patients, une augmentation significative des métriques $\Delta\perp$ et DM (test t : $p < 0,01$ et $0,05$, respectivement), ainsi qu'une réduction significative de la FA (test t : $p < 0,05$) associée à l'absence de modification significative de la $\Delta\parallel$ (test t : $p = 0,42$).

Ces résultats révèlent l'existence d'altérations anatomiques de la moelle épinière chez les patients à travers une démyélinisation et/ou une dégénérescence des tractus fibreux sensitifs et moteurs.

ATTEINTES FONCTIONNELLES

Les nerfs médian et ulnaire ont été stimulés au poignet à une intensité ajustée à 9xPT afin d'évoquer des volées dans les afférences issues de la main, et enregistrés au point d'Erb et dans l'EEG en regard de l'aire S1. Trois sessions d'enregistrement ont été effectuées, chacune consistant en 200 stimuli du nerf médian et 200 stimuli du nerf ulnaire (2 Hz), alternés au hasard.

Le PT des nerfs médian et ulnaire était comparable entre les groupes (test t : $p = 0,93$ et $0,73$, respectivement) alors que le MT était significativement augmenté chez les patients et uniquement pour le nerf ulnaire (test t : $p < 0,05$ et $p = 0,12$ pour le nerf médian). L'amplitude brute des potentiels N9 et N20 qui tendait à être réduite chez les patients l'est significativement après la normalisation par rapport à 2SD (test t : N9 $p < 0,01$ et $0,001$ pour les nerfs médian et ulnaire, respectivement ; N20 $p < 0,05$). Aucune corrélation n'a été observée entre l'amplitude des potentiels N9 et N20 (Pearson : $p = 0,67$). La latence au point culminant des potentiels N9 et N20 était similaire entre les groupes (test t : $0,25 < p < 0,93$), tout comme la vitesse de conduction périphérique (test t : $p = 0,56$ et $0,32$ pour les nerfs médian et ulnaire, respectivement). En revanche, la vitesse de conduction centrale a été trouvée significativement réduite chez les patients, uniquement pour le nerf médian (test t : $p < 0,05$ et $p = 0,08$ pour le nerf ulnaire).

Ces résultats révèlent l'existence d'altérations fonctionnelles des voies sensibles périphériques et centrales, à travers une atteinte des afférences et/ou des noyaux relais.

CORRÉLATIONS

Il a été montré à travers l'analyse de régression multiple une relation significative entre le potentiel N9 des nerfs médian et ulnaire et les métriques d'IRM-DTI ($\Delta\perp$, $p = 0,05$ pour le nerf médian mais $p = 0,10$ pour le nerf ulnaire ; DM $0,02 < p < 0,03$), mais pas avec le potentiel N20 ($0,06 < p < 0,24$). Par ailleurs, une relation significative a été observée pour le nerf médian entre la vitesse de conduction centrale et $\Delta\perp$ ($p < 0,05$) et DM ($p < 0,01$). Aucune relation n'a été constatée entre les métriques anatomiques ($\Delta\perp$, DM), électrophysiologiques (potentiels N9, N20) et les données cliniques associées aux performances motrices manuelles (score clinique, test musculaire et *nine hole peg test* ; $0,27 < p < 0,79$). L'analyse de corrélation de Pearson a révélé que l'amplitude du potentiel N20 des nerfs médian et ulnaire était significativement réduite avec la durée de la maladie ($R^2 = 0,15$ et $0,17$, respectivement ; $p < 0,05$), alors que celle du potentiel N9 l'était uniquement avec le nerf médian ($R^2 = 0,19$, $p < 0,05$; $R^2 = -0,05$, $p = 0,74$ pour le nerf ulnaire). En revanche, aucune relation significative n'a été observée entre la durée de la maladie et les métriques IRM-DTI ($p > 0,3$).

Ces résultats révèlent, d'une part, l'existence d'atteintes anatomo-fonctionnelles des afférences périphériques cheminant à travers la moelle épinière avant toute connexion synaptique sur les neurones des noyaux relais et, d'autre part, que les atteintes sensibles sont associées à la durée de la maladie. Par ailleurs, l'absence de corrélation entre les atteintes sensibles et motrices suggère leur altération indépendante et/ou asynchrone.

CONCLUSION

Nos résultats indiquent que les volées évoquées dans les fibres sensibles issues de la main sont altérées chez les patients, et caractérisées par une atteinte précoce mais moindre par rapport à celle des voies motrices, et progressant avec l'évolution de la maladie. En effet, les modifications des métriques anatomiques dans la colonne dorsale sont moindres, comparées à celles de la colonne latérale. De plus, la réduction des PES étant corrélée avec la durée de la maladie, elle reflète l'évolution progressive des atteintes sensibles.

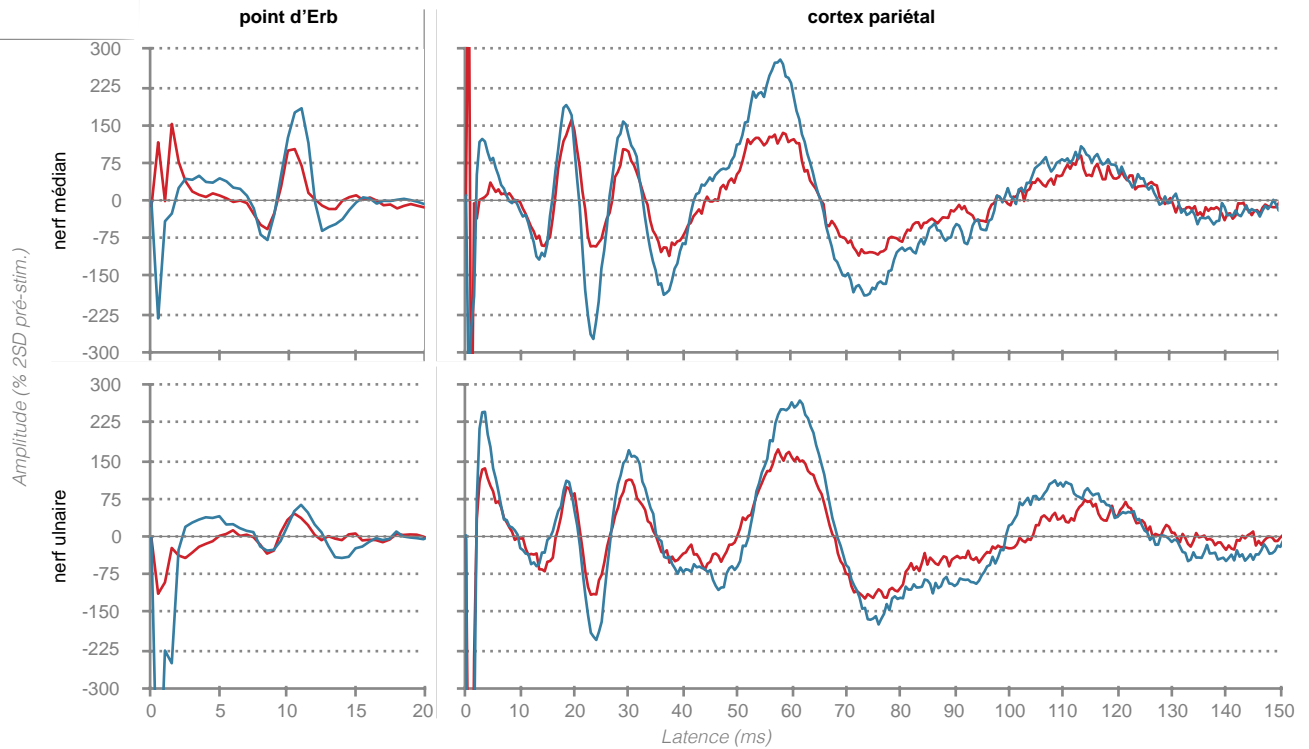
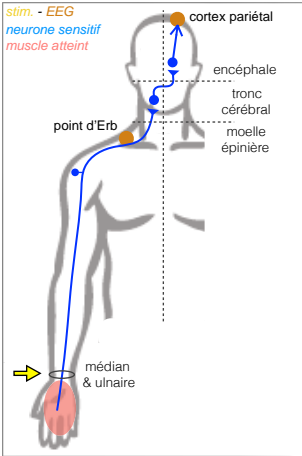


figure 4 : Signal EEG moyen exprimé en pourcentage de 2SD pré-stimulus. participants sains ; patients SLA

tableau I : Latence des PES et activité EEG pré-stimulus moyenne. Aucune différence significative n'a été constatée dans les latences de début et du point culminant (pic) des PES, ni dans l'activité EEG pré-stimulus entre les groupes. participants sains ; patients SLA

		Latence (ms)										EEG pré-stim. (mV)	
		N9	fin N9	N20	P25	N30	P35	N60	P100	P120	fin P120	point d'Erb	cortex pariétal
nerf médian	début	9,1±0,2 9,2±0,2	12,4±0,2 12,7±0,3	16,0±0,2 16,4±0,2	21,2±0,3 21,9±0,3	26,6±0,4 27,2±0,6	33,0±0,5 33,3±0,4	43,8±0,9 46,3±1,2	65,7±0,9 65,5±1,0	100,7±1,2 99,8±1,5	127,0±1,6 128,5±2,0	1,3E-03±1,8E-04 2,1E-03±4,2E-04	4,0E-04±3,2E-05 5,0E-04±5,0E-05
	pic	10,7±0,2 10,7±0,2		19,0±0,4 19,4±0,3	23,5±0,4 24,0±0,4	29,1±0,4 30,2±0,5	37,8±0,8 39,1±0,1	55,0±1,2 55,7±1,1	76,3±1,9 79,0±1,8	113,5±2,8 111,4±1,9			
nerf ulnaire	début	9,6±0,2 9,7±0,2	12,9±0,3 12,9±0,3	16,2±0,3 16,7±0,3	21,2±0,4 22,2±0,4	27,0±0,5 27,5±0,5	35,7±0,7 35,1±0,7	51,8±0,7 50,0±1,2	68,7±0,8 67,9±0,6	102,3±1,4 103,3±1,5	127,9±1,4 128,1±2,0	1,2E-03±1,6E-04 2,5E-03±6,7E-04	4,1E-04±2,9E-05 5,0E-04±4,4E-05
	pic	11,2±0,2 11,0±0,2		18,7±0,4 19,1±0,4	23,5±0,4 23,9±0,5	30,1±0,6 30,6±0,7	42,7±1,2 42,5±1,6	60,8±0,9 60,0±1,0	78,3±1,7 77,9±1,3	113,1±1,8 117,7±2,0			

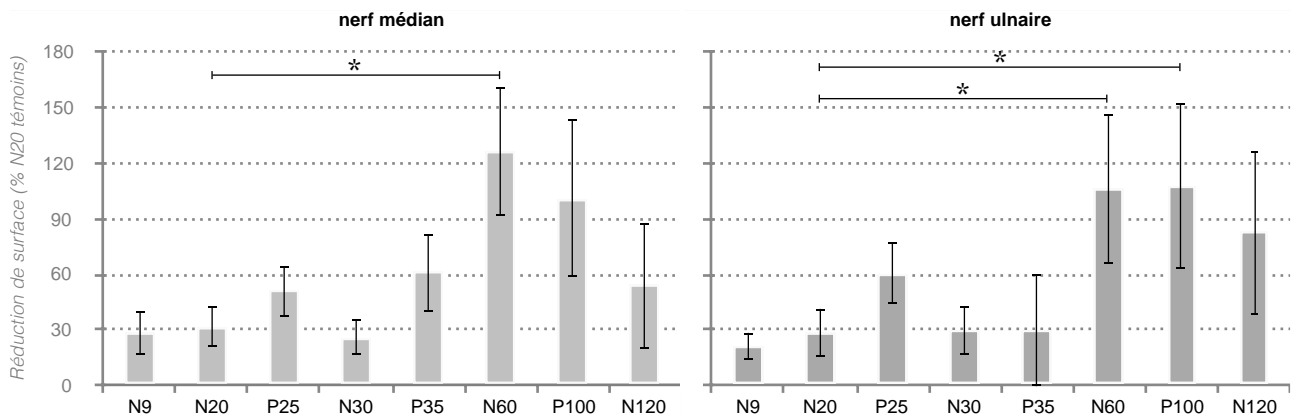


figure 5 : Réduction de surface des PES chez les patients SLA exprimée en pourcentage de la surface du potentiel N20 moyen des participants sains. Bien que la réduction de chaque potentiel ait été observée chez les patients SLA, celle-ci est comparable à la réduction du potentiel N20 pour les PES précoces alors que la réduction est renforcée pour les PES tardifs. * p < 0,05

L'altération des voies sensibles est caractérisée par une perte axonale (probablement ceux à vitesse de conduction lente) et l'absence de démyélinisation. En effet, la réduction d'amplitude des potentiels N9 et N20 n'est pas associée à une modification de leur latence. Ainsi, la réduction en myéline de la colonne dorsale observée par IRM-DTI (entre les vertèbres C2-T2) et sa corrélation avec le potentiel N9 mais pas N20, peut directement résulter d'une perte axonale et non d'une démyélinisation des fibres périphériques cheminant dans la colonne dorsale²⁶. De plus, compte-tenu de l'absence de modification de la latence des potentiels, la réduction de la vitesse de conduction centrale²⁷ résulterait d'une atteinte au travers des afférences périphériques de la moelle épinière et/ou des relais pontiques et thalamiques et de leurs projections. Etant donné que la vitesse de conduction périphérique²⁸ qui reflète la vitesse de conduction uniquement des afférences périphériques n'a pas été trouvée modifiée, la réduction de la vitesse de conduction centrale résulte probablement d'une atteinte des neurones relais. Pour conclure, bien qu'aucune corrélation n'ait été trouvée entre la réduction des potentiels N9 et N20, il est légitime de penser que la réduction du potentiel N20 résulterait de la réduction du potentiel N9 à travers la perte axonale des afférences périphériques et/ou l'atteinte des neurones relais.

Quant aux seuils nerveux, l'augmentation du MT chez les patients peut traduire une perte motrice à travers l'atteinte nerveuse et/ou musculaire alors que l'absence de modification du PT traduit l'absence de perte de la sensibilité.

4-1-2. ALTÉRATIONS DES PES PRÉCOCES ET TARDIFS

L'étude consistait à évaluer l'ensemble des PES précoces et tardifs. Cette investigation a été réalisée à partir des données EEG normalisées par rapport à 2SD acquises chez les patients SLA et participants sains de l'étude **4-1-1**.

Aucune différence significative de l'activité EEG pré-stimulus n'a été constatée entre les groupes pour les nerfs médian et ulnaire (**Cf. figure 4**, test t : point d'Erb $0,06 < p < 0,08$; cortex pariétal $0,08 < p < 0,12$). L'absence d'interaction entre la latence des potentiels (à leur début et à leur point culminant) et le groupe, que ce soit pour les nerfs médian et ulnaire (ANOVA 2-facteurs : groupe $0,15 < p < 0,99$; potentiel $p < 0,001$; interaction $0,32 < p < 0,88$), permet d'effectuer l'analyse de la surface des potentiels sur des fenêtres communes aux 2 groupes et définies à partir des latences moyennes de chaque nerf (**Cf. tableau 1**). La différence de surface entre les groupes, exprimée en fonction du potentiel N20 des témoins, a révélé une réduction significative des PES pour chaque nerf chez les patients (**Cf. figure 5**, Kruskal-Wallis : $p < 0,001$). De plus, des comparaisons multiples ont révélé que la réduction de surface des potentiels N9 et des PES précoces était similaire

²⁶ La stimulation des nerfs médian et ulnaire cheminant au niveau du poignet évoque des volées dans les afférences sensibles issues de la main. Ces volées vont ainsi remonter le long des nerfs du bras jusqu'au point d'Erb où sera enregistré le potentiel périphérique N9. Au-delà de ce point, les afférences nerveuses vont pénétrer dans la moelle épinière et continuer leur ascension au tronc cérébral où elles feront synapse sur les noyaux de la colonne dorsale. Ces derniers vont ensuite décussier et projeter aux noyaux thalamiques qui projeteront à leur tour sur les cellules pyramidales de la couche IV de l'aire S1 où sera enregistré le potentiel central N20. Par conséquent, la portion spinale traversée par les volées afférentes jusqu'aux noyaux relais du tronc cérébral véhiculent un influx purement périphérique (équivalent par extension au potentiel N9), alors que le potentiel N20 résulte du passage de l'influx périphérique dans la moelle épinière et au travers les deux noyaux relais.

²⁷ Définie selon la distance entre la vertèbre C7 et le cortex pariétal, et la différence entre la latence des potentiels N9 et N20.

²⁸ Définie selon la distance entre les électrodes de stimulation et la vertèbre C7, et la latence du potentiel N9.

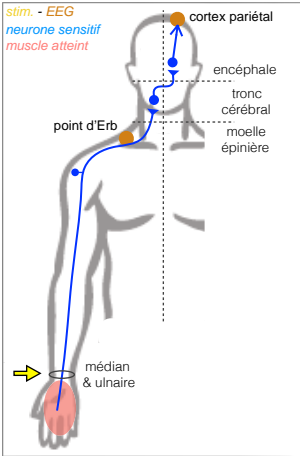


tableau II : Latence des PES et activité EEG pré-stimulus moyenne chez les participants sains.

Aucune différence significative de l'activité EEG pré-stimulus n'a été observée ente les intensités. En revanche, la latence des PES à leur point culminant (pic) ainsi qu'à leur début a été trouvée modifiée entre les intensités. **1,5xPT** ; **3xPT** ; **6xPT** ; **9xPT**

		Latence (ms)										EEG pré-stim. (mV)	
		N9	fin N9	N20	P25	N30	P35	N60	P100	N120	fin N120	point d'Erb	cortex pariétal
nerf médian	début	9,2±0,3	12,8±0,4	17,8±0,6	21,3±0,4	27,4±0,5	34,2±1,1	47,5±1,6	63,5±1,4	91,0±3,1	116,2±3,8	1,0E-03±1,4E-04	5,5E-04±3,8E-05
		9,3±0,2	12,7±0,2	16,7±0,3	20,4±0,3	26,0±0,4	34,2±1,1	48,0±1,6	65,6±1,0	95,3±2,9	117,6±3,6		
		9,0±0,2	12,1±0,2	16,2±0,2	20,3±0,3	26,0±0,5	32,6±0,7	45,3±1,4	64,3±0,9	99,2±2,4	128,6±1,5		
		8,8±0,2	12,0±0,2	16,0±0,2	20,1±0,3	25,4±0,5	32,4±0,6	42,6±0,9	62,9±0,8	97,0±2,2	128,1±2,0		
	pic	11,3±0,3		19,0±0,4	23,2±0,6	30,2±0,9	38,9±1,0	54,1±2,1	74,7±1,3	89,6±2,1		9,9E-04±1,2E-04	5,5E-04±3,4E-05
		10,8±0,2		18,5±0,4	23,0±0,5	29,6±0,7	39,1±1,4	57,0±1,9	73,0±1,4	89,4±2,6			
		10,5±0,1		18,3±0,3	21,9±0,3	28,4±0,5	37,9±1,2	56,5±1,2	73,9±1,9	113,4±2,3			
		10,2±0,1		17,9±0,4	22,4±0,4	28,4±0,7	37,1±0,7	50,8±1,9	76,0±3,0	113,2±2,8			
nerf ulnaire	début	8,2±0,5	11,0±0,4	18,7±0,8	23,4±1,0	30,6±0,9	42,0±1,5	58,0±1,2	71,3±0,8	101,1±4,5	120,8±5,0	9,2E-04±9,2E-05	5,7E-04±4,4E-05
		10,0±0,2	13,2±0,5	17,7±0,4	21,1±0,4	28,8±1,0	36,9±1,3	52,5±1,2	69,1±0,8	98,6±3,7	121,6±3,6		
		9,6±0,2	13,2±0,2	17,2±0,3	21,1±0,4	26,7±0,5	35,4±1,0	50,0±1,4	67,2±1,1	98,9±2,6	122,2±2,0		
		9,6±0,2	13,2±0,2	17,5±0,3	21,0±0,3	26,7±0,6	34,0±0,6	42,8±1,3	65,8±0,9	98,4±2,3	126,4±2,8		
	pic	10,6±0,4		20,7±0,9	25,6±1,0	34,7±1,2	50,9±2,2	64,6±1,6	79,3±1,1	92,8±2,3		9,7E-04±9,4E-05	5,9E-04±3,2E-05
		11,4±0,3		19,0±0,3	23,4±0,6	32,6±1,1	46,3±1,6	63,0±1,1	74,1±0,9	95,7±3,3			
		11,2±0,2		19,4±0,4	23,1±0,4	30,7±0,6	42,8±1,7	60,1±1,0	77,6±1,9	110,5±3,2			
		11,2±0,2		19,2±0,3	22,8±0,5	30,8±0,7	38,1±0,9	57,2±1,5	76,4±2,9	110,8±2,2			

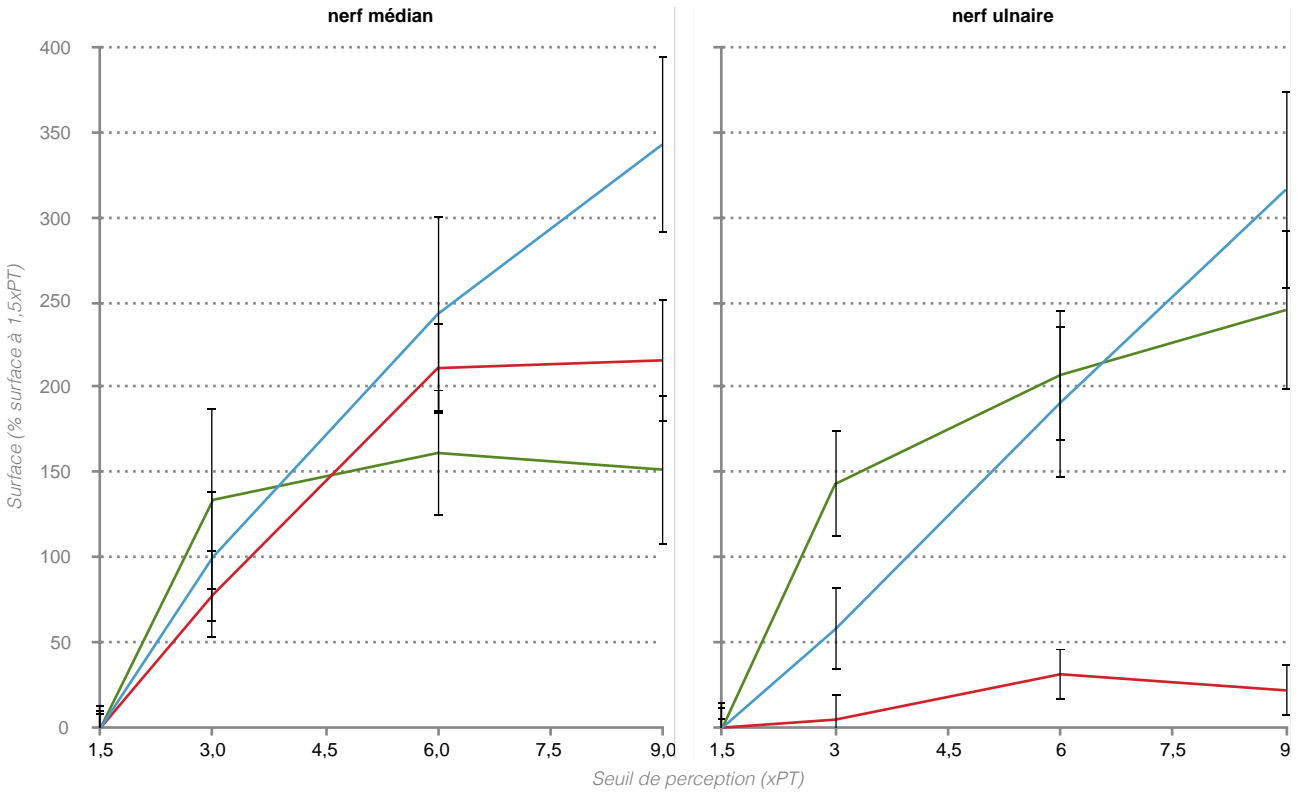


figure 6 : Evolution de la surface des potentiels N9, N20 et N60 en fonction de l'intensité de stimulation et exprimée en pourcentage de la surface du potentiel respectif à 1,5xPT.

Les modèles de régression indiquent que le potentiel N9 suit un modèle linaire et que les potentiels N20 (uniquement pour le nerf médian) et N60 suivent un modèle logarithme népérien. **N9** ; **N20** ; **N60**

à celle du potentiel N20 pour les 2 nerfs (Tukey : $p > 0,05$), alors que la surface des PES tardifs N60 pour les 2 nerfs et P100 uniquement pour le nerf ulnaire était significativement plus réduite (Tukey : $p < 0,05$).

Ces résultats révèlent l'existence d'une altération de l'ensemble des PES chez les patients en l'absence de démyélinisation. De plus, la réduction des PES tardifs apparaît plus importante que celle de du potentiel N9 et des PES précoces.

CONCLUSION

En complément des résultats de l'étude **4-1-1**, nous montrons ici que les PES précoces et tardifs sont également altérés chez les patients dès le stade précoce de la maladie. Cette réduction exprimée en fonction du premier potentiel cortical N20 a permis de mettre en évidence une similitude dans la réduction des volées afférentes (N9) et des PES précoces de l'aire S1, alors que la réduction des PES tardifs de l'aire S2 est amplifiée en comparaison à ces derniers. Nos résultats suggèrent que la réduction des PES précoces semble être dépendante de la réduction des volées afférentes, alors que celle des PES tardifs semble impliquer des atteintes supplémentaires. Il est donc légitime de s'interroger sur la relation entre la taille des volées afférentes et celle des PES afin de clarifier si la réduction des PES observée chez les patients est uniquement le fait de la réduction du potentiel N9 et/ou de l'implication d'atteintes cortico-sous-corticales.

4-1-3. ÉVOLUTION DES PES SELON L'INTENSITÉ DE STIMULATION

L'étude consistait à étudier la relation entre l'intensité de stimulation et la taille des PES. Quinze participants neurologiquement sains (dont 6 femmes) d'âge moyen $31,7 \pm 2,3$ ans, compris entre 22 et 49 ans ont participé à cette étude. Lors de l'investigation, les nerfs médian et ulnaire ont été stimulés au poignet à une intensité ajustée à 1,5, 3, 6 et 9xPT afin d'évoquer des volées dans les afférences issues de la main, et enregistrées au point d'Erb et dans l'EEG en regard de l'aire S1. Trois sessions d'enregistrement ont été effectuées par intensité, chacune incluant 200 stimuli du nerf médian et 200 stimuli du nerf ulnaire (2 Hz), alternés au hasard.

Aucune différence significative de l'activité EEG pré-stimulus n'a été constatée pour les 2 nerfs (ANOVA 1-facteur MR : point d'Erb $0,31 < p < 0,59$; cortex pariétal $0,45 < p < 0,84$). L'existence d'une interaction significative entre la latence des potentiels (à leur point culminant et à leur début) et l'intensité de stimulation, que ce soit pour les nerfs médian et ulnaire (ANOVA 2-facteurs MR : sujet $0,006 < p < 0,21$; intensité $0,001 < p < 0,34$; potentiel $p < 0,001$; interaction $p < 0,001$), permet d'effectuer l'analyse de la surface des potentiels sur des fenêtres adaptées à chaque intensité et définie à partir des latences moyennes de chaque nerf (**Cf. tableau II**). La comparaison de la surface des potentiels, exprimée en fonction de leur surface à 1,5xPT, a montré une interaction significative entre les potentiels et l'intensité de stimulation pour les 2 nerfs (ANOVA 2-facteur MR : intensité $p < 0,001$; potentiel $p < 0,001$; interaction $p < 0,001$). De plus, le modèle de régression linéaire multiple a révélé que (**Cf. figure 6**) le potentiel N9 suit un modèle linéaire ($p < 0,001$, $R^2_{ajt} = 0,38$ et $0,40$ pour les nerf médian et ulnaire respectivement), le potentiel N20 suit un modèle logarithmique

népérien uniquement pour le nerf médian ($p < 0,001$, $R^2_{\text{aj}} = 0,43$ et $p = 0,33$ pour le nerf ulnaire), le potentiel N60 suit également un modèle logarithmique népérien ($p = 0,007$, $R^2_{\text{aj}} = 0,13$ et $p < 0,001$, $R^2_{\text{aj}} = 0,31$ pour les nerfs médian et ulnaire, respectivement).

Ces résultats révèlent l'existence d'une relation intensité/réponse différente pour les potentiels N9, N20 et N60.

CONCLUSION

Nos résultats révèlent qu'à une intensité de stimulation ajustée à 9xPT, le potentiel N9 continue de croître linéairement, alors que les potentiels N20 et N60 ont déjà atteint un plateau vers 6xPT et 3xPT, respectivement. Ainsi, bien que les potentiels N20 et N60 aient en théorie un lien avec le potentiel N9, il semble que les PES corticaux ne dépendent pas uniquement de la volée afférente périphérique, mais aussi des structures sous-corticales (noyaux de la colonne dorsale et thalamique) et cortico-corticales (projections entre aires corticales). Par ailleurs, l'évolution des potentiels est quelque peu différente pour le nerf ulnaire avec un potentiel N20 plus faible et un potentiel N60 plus grand que ceux du nerf médian.

En complément des résultats de l'étude **4-1-3**, nous confirmons que la réduction du potentiel N9 résulte de l'atteinte des afférences périphériques, et que la réduction des PES précoces et tardifs est associée à l'atteinte des structures corticales et sous-corticales chez les patients. En effet, étant donné que le potentiel N9 suit un modèle linéaire, si les volées afférentes diminuent, le potentiel N9 diminue également. Par conséquent, la réduction du potentiel N9 observé chez les patients à 9xPT reflète une réduction des volées afférentes à travers une perte axonale. Les potentiels N20 et N60 suivent, pour leur part, un modèle logarithmique et ont atteint un plateau à 9xPT. Ils sont donc moins sensibles à la diminution des volées afférentes. Par conséquent, la réduction des potentiels N20 et N60 observée chez les patients à 9xPT reflète une atteinte des relais pontique et/ou thalamique et/ou des aires corticales. Par ailleurs, nous avons montré précédemment que la réduction des PES tardifs est plus importante que celle du potentiel N20. Ceci suggère une amplification de la réduction entre les aires S1 et S2 (bien que la réduction des PES précoce soit comparable à celle de la N20, elles tendent à augmenter) et/ou une atteinte plus importante de l'aire S2.

4-2. ALTÉRATIONS DES INTÉGRATIONS SENSORIMOTRICES AU NIVEAU SPINAL

Dans un second temps, nous avons étudié l'excitabilité des motoneurones du triceps (cliniquement non-atteint) sur lesquels projettent les afférences du groupe la issues des muscles intrinsèques de la main (cliniquement atteints).

4-2-1. ATTEINTES DE LA CONNEXION IA-MOTONEURONES

L'étude consistait à évaluer les intégrations sensorimotrices à travers la connexion monosynaptique la-motoneurone. Cette investigation a été réalisée le même jour et sur les mêmes patients SLA et participants sains de l'étude **4-1-1**. Pour plus de détails, se rapporter à l'article

« *Impairment of sensory-motor integration at spinal level in amyotrophic lateral sclerosis* » (Cf. annexe 2).

ÉTAT DES MOTONEURONES DU TRICEPS

La TMS a été appliquée en regard de l'aire M1 afin d'évoquer des PEM dans l'EMG du muscle triceps lors d'une contraction tonique équivalente à 10-15% MVC. Dix TMS (0,33 Hz) ont été délivrées à des intensités successives selon un pas de 2% MSO afin de produire une courbe de recrutement du PEM.

Aucune modification de l'activité EMG pré-stimulus n'a été observée entre les groupes (test t : $p = 0,16$). La latence et la durée des PEM étaient similaires entre les groupes (Mann-Whitney : $p = 0,73$ et test t : $p = 0,78$, respectivement). Les courbes de recrutement du PEM (surface exprimée en fonction de l'EMG pré-stimulus) ont montré chez les patients une augmentation significative de l'AMT et de l' I_{50} (test t : $p < 0,001$), alors que la pente et le PEM_{max} étaient comparables entre les groupes (Mann-Withney : $p = 0,64$ et $0,11$, respectivement). Par ailleurs, un test de corrélation n'a pas révélé de lien entre l'AMT et les métriques d'IRM-DTI (Pearson : $0,12 < p < 0,87$).

Ces résultats indiquent que les motoneurones d'un muscle cliniquement non-atteint sont recrutés par la voie corticospinale de manière comparable aux témoins, bien que le décalage de la courbe de recrutement des patients vers la droite suggère une augmentation du seuil d'excitation du cortex moteur afin d'évoquer un PEM comparable aux témoins. De plus, le tractus corticospinal ne présente pas de démyélinisation.

EXCITABILITÉ CORTICALE

Il est établi que la TMS sous-liminaire pour évoquer un PEM a pour effet de supprimer l'activité EMG à travers l'activation d'interneurones corticaux inhibiteurs. Cette phase est suivie d'une facilitation rétablissant l'activité EMG [Kujirai et al. 1993; Davey et al. 1994; Rothwell 1997; Di Lazzaro et al. 1998; Radhu et al. 2012; Di Lazzaro & Ziemann 2013].

Nous avons observé chez les patients une augmentation significative de la suppression par la TMS sous-liminaire pour évoquer un EMG, sans modification de la facilitation qui suit (test t : $p < 0,001$ et $p = 0,27$, respectivement). Par ailleurs, aucune modification n'a été constatée concernant le seuil évoquant cette dépression (Mann-Withney : $p = 0,71$), la latence de ces effets (test t : inhibition $p = 0,08$: facilitation $p = 0,23$) et la durée de la facilitation (Mann-Withney : $p = 0,51$) chez les patients.

Ces résultats révèlent l'existence d'une hypoexcitabilité à l'étage cortical associée à un renforcement de l'inhibition à travers les interneurones corticaux inhibiteurs.

CONVERGENCE DES VOLÉES PÉRIPHÉRIQUES ET CORTICOSPINALES SUR LES MOTONEURONES DU TRICEPS

La TMS, ajustée afin d'évoquer un PEM équivalent à 50% du PEM_{max} dans l'EMG du muscle triceps, a été conditionnée par la stimulation des nerfs médian et ulnaire au poignet, à une intensité ajustée à 6xPT afin d'évoquer des volées dans les afférences du groupe la issues des muscles

intrinsèques de la main. L'ISI théorique de convergence des volées du groupe la et corticospinales sur les motoneurones du triceps a été estimé en calculant la différence entre les temps de conduction périphérique et centrale, préalablement définie par la mesure des distances chez chaque sujet et des vitesses de conduction nerveuse. Les ISI expérimentaux ont ensuite été choisis selon ces estimations, démarrant entre 6 et 8 ms et réduits selon un pas de 0,5-1 ms afin de déterminer l'ISI optimal le plus court afin de produire un PEM_{conditionné} résultant de la sommation des volées corticospinales et périphériques sur les motoneurones du triceps. Pour chaque ISI testé, 20 TMS appliquées seules, 20 TMS combinées à la stimulation du nerf médian et 20 TMS combinées à la stimulation du nerf ulnaire ont été délivrés (0,33 Hz) et alternés au hasard lors d'une contraction tonique du muscle triceps équivalente à 10-15% MVC.

Malgré le fait que le PEM_{test} (ajusté à I₅₀) était plus petit chez les patients (test t : $p < 0,05$), la facilitation totale et le maximum de facilitation ont été trouvés renforcés, mais de manière significative seulement pour le nerf ulnaire (test t : $p < 0,05$ et $0,18 < p < 0,27$ pour le nerf médian). Aucune corrélation n'a été trouvée entre la taille du PEM_{test} et le niveau de facilitation (Pearson : $p = 0,24$ et $0,39$ pour les nerfs médian et ulnaire, respectivement). Par ailleurs, nous avons constaté que l'ISI théorique de facilitation du PEM était similaire entre les groupes (ISI_{moyen} = $6,8 \pm 0,1$ ms ; test t : $p = 0,43$) tout comme l'ISI expérimental, plus précoce mais de durée similaire ($-2,2 \pm 0,2$ ms ; test t : $0,28 < p < 0,71$). La Mmax a été trouvée significativement réduite chez les patients (test t : $p < 0,001$).

Ces résultats révèlent l'existence d'une hyperactivité de la connexion la-motoneurones du triceps à travers les volées afférentes périphérique qu'ils reçoivent.

CONCLUSION

Nos résultats révèlent chez les patients que le recrutement des motoneurones d'un muscle cliniquement non-affecté par les volées corticospinales est similaire aux témoins. En effet, l'absence de modification de la pente et du PEM_{max} de la courbe de recrutement du PEM indique que l'excitabilité et le nombre total de motoneurones recrutés sont comparables, respectivement. De plus, l'absence de modification des latences et durées des PEM suggère l'absence d'atteinte du tractus corticospinal (du moins concernant le tractus projetant aux motoneurones du triceps, puisque l'altération des métriques d'IRM-DTI concerne le cordon latéral global). En revanche, l'augmentation de l'AMT et de l'I₅₀ chez les patients indique une hypoexcitabilité corticospinale. L'absence de corrélation entre l'AMT et les métriques d'IRM-DTI suggère que l'augmentation de l'AMT n'est pas associée à l'atteinte du tractus corticospinal. Nous apportons en plus la preuve d'un renforcement de l'inhibition corticale à travers les interneurones inhibiteurs corticaux, expliquant ainsi la nécessité de stimuler plus fort le cortex moteur pour évoquer un PEM comparable aux témoins.

Etant donné le recrutement normal des motoneurones du triceps chez les patients, l'étude des PEM conditionnés par des volées afférentes périphériques altérées issues des muscles intrinsèques de la main (Cf. 4-1-1) révèle l'hyperactivité des motoneurones à travers la connexion monosynaptique la-motoneurone. L'absence de modification des ISI théoriques et expérimentaux entre les groupes révèle l'absence de démyélinisation et/ou d'altération de la transmission synaptique. Par ailleurs, bien

que le PEM_{test} soit plus petit chez les patients, l'absence de corrélation entre le PEM_{test} et la facilitation du $PEM_{conditionné}$ indique que cette hyperactivité a probablement été sous-estimée.

Bien que l'absence de modification du PEM_{max} chez les patients suggère l'absence de perte des motoneurones, la réduction du M_{max} du muscle triceps suggère l'inverse. De manière alternative, cette dernière peut également refléter une perte musculaire, bien que ce ne soit pas le cas ici (évaluation clinique positive). La modification du M_{max} doit être interprétée avec précaution étant donné que les stimuli supra-maximaux peuvent induire des courants pouvant se propager aux rameaux nerveux avoisinants, parasitant ainsi l'EMG du muscle cible par la contraction des muscles proches.

Pour conclure, nos résultats révèlent une hyperactivité des motoneurones à travers la connexion la-motoneurone malgré la réduction des volées périphériques issues d'un muscle cliniquement atteint. Cette hyperactivité peut résulter d'une hyperexcitabilité ou d'une hyperexcitation des motoneurones. L'hyperexcitabilité (intrinsèque) semble improbable étant donné l'absence d'hyperactivité des motoneurones en réponse aux volées corticospinales (celle-ci se traduirait par une pente plus abrupte de la courbe de recrutement du PEM). L'hyperexcitation (extrinsèque) en réponses aux afférences périphériques semble plus probable, à travers une hyperactivité de la synapse la-motoneurone mais également du système propriospinal contrôlant l'activité de celle-ci.

4-2-2. ATTEINTES DES INTERNEURONES SPINAUX CERVICAUX ET LOMBAIRES

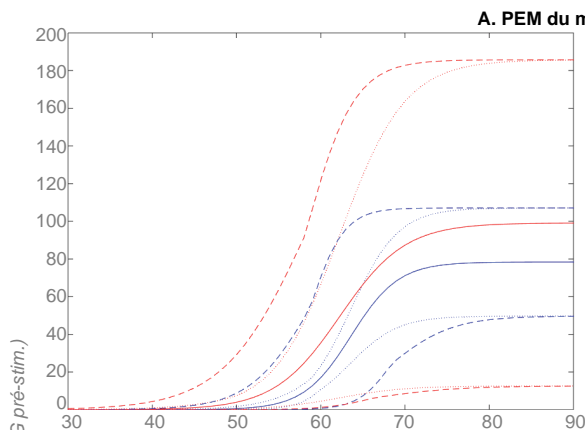
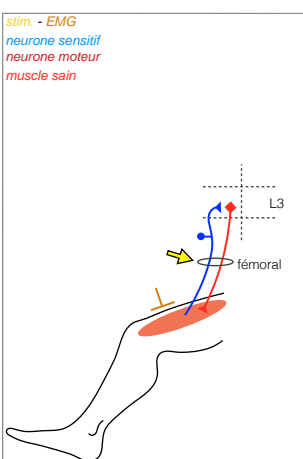
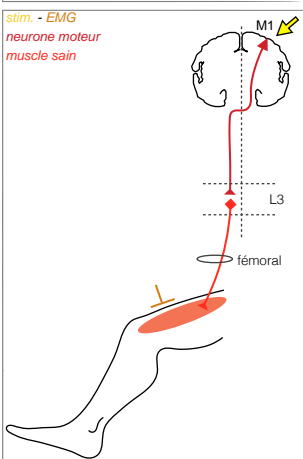
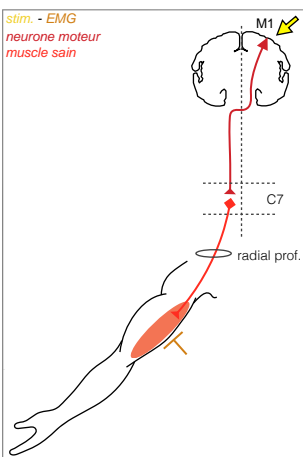
Dans un troisième temps, nous avons évalué l'excitabilité des motoneurones du triceps et du quadriceps (cliniquement non-atteints) sur lesquels projettent diverses afférences périphériques issues des muscle distaux (cliniquement atteints) des membres supérieurs et inférieurs.

L'étude consistait à étudier l'activité d'interneurones excitateurs et inhibiteurs localisés entre les afférences périphériques et les motoneurones, à l'étage cervical et lombaire. Vingt-six patients SLA (dont 4 femmes) dont la durée de la maladie était de $18,8 \pm 2,6$ mois depuis l'apparition des premiers symptômes ont été comparés à 22 participants neurologiquement sains appariés en genre et en âge (patients : $62,2 \pm 1,8$ ans compris entre 47 et 78 ans ; témoins : $61,4 \pm 1,6$ ans compris entre 44 et 75 ans). Tous les patients, sauf 7 étaient traités au riluzole. Les derniers sujets de cette étude seront inclus avant la soutenance.

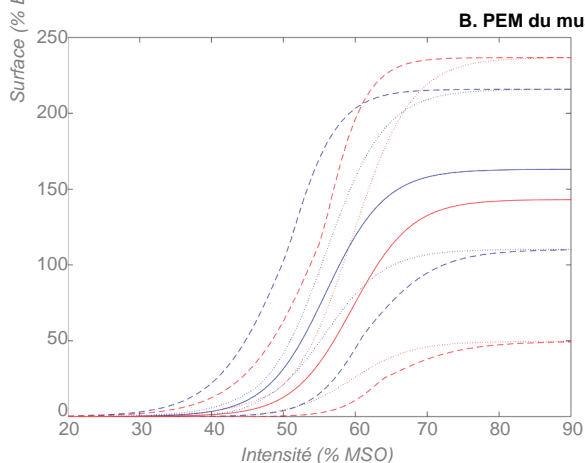
ÉTAT DES MOTONEURONES DU TRICEPS

La TMS a été appliquée en regard de l'aire M1 afin d'évoquer des PEM dans l'EMG du muscle triceps lors d'une contraction tonique équivalente à 10-15% MVC. Dix TMS (0,33 Hz) ont été délivrées à des intensités successives selon un pas de 2% MSO afin de produire une courbe de recrutement du PEM.

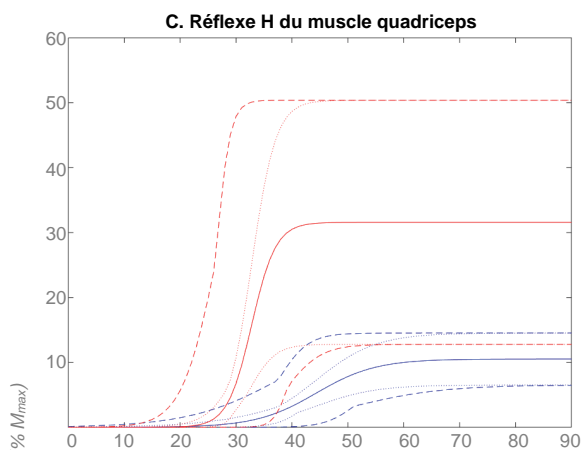
L'EMG pré-stimulus et la MVC étaient similaires entre les groupes (Mann-Whitney : $p = 0,93$ et $0,81$, respectivement). De plus, aucune modification de la latence et de la durée des PEM n'a été constatée (test t : $p = 0,57$ et $0,31$, respectivement). Les courbes de recrutements du PEM (surface



AMT (% MSO)	53,6±3,3	53,1±2,6
surface PEM _{max}	78,4±14,6	99,1±44,1
pente	2,8±0,4	3,9±0,5
I ₅₀ (% MSO)	63,6±2,5	62,3±2,1
latence (ms)	16,6±3,9	16,9±5,1
durée (ms)	11,3±0,6	12,3±0,8
surface pré-stim.	1,7E-03±2,5E-04	1,4E-03±1,8E-04
MVC (mV)	0,1±0,01	0,1±0,01
M _{max} (mV)	3,5±0,4	3,3±0,4



AMT (% MSO)	43,4±2,5	48,4±2,2
surface PEM _{max}	163,1±26,9	143,2±47,8
pente	4,1±0,4	4,1±0,6
I ₅₀ (% MSO)	55,9±2,7	59,6±2,1
latence (ms)	27,0±8,0	26,4±7,0
durée (ms)	18,2±0,5	18,0±1,0
surface pré-stim.	1,1E-03±1,3E-04	1,1E-03±1,6E-04
MVC (mV)	0,06±0,01	0,06±0,01
M _{max} (mV)	1,3±0,3	1,6±0,2



	Réflexe H	Réponse M
seuil (% MSO)	32,8±2,7 31,1±2,8	33,3±2,3 30,7±2,6
réponse max. (mV)	0,2±0,03 0,5±0,2*	1,3±0,3 1,6±0,2
pente	5,3±1,3 2,2±0,4*	5,9±0,8 5,3±0,8
I ₅₀ (% MSO)	40,3±3,5 32,8±3,3	51,9±4,8 44,2±4,2
H _{max} (% M _{max})	10,5±0,02 31,6±0,09*	
latence (ms)	22,7±9,3 24,9±6,1	11,8±6,6 10,8±5,9
EMG pré-stim. (mV)	1,5E-02±2,0E-03 2,4E-02±7,4E-03	

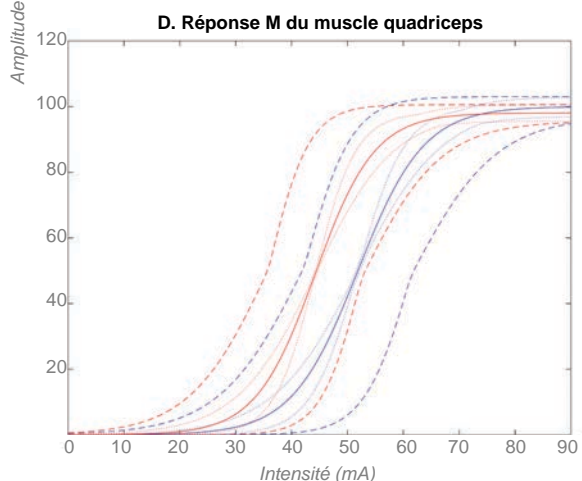


figure 7 : Courbe de recrutement et données relatives.

Les courbes de recrutement du PEM et du réflexe H/réponse M ont été exprimées en pourcentage de l'EMG pré-stimulus et de M_{max}, respectivement. Le trait plein représente la courbe moyenne définie à partir de la moyenne des 3 paramètres (pente, I₅₀, plateau) de la fonction sigmoïde. Les bandes de confiance ont été estimées en calculant l'intervalle de confiance à 95% pour chaque paramètre de la fonction sigmoïde. Sont ainsi représentés l'intervalle de confiance à 95% si l'un des paramètres change (pointillées) ou si tous les paramètres sont modifiés simultanément (traits discontinus). Les tableaux présentent les données moyennes relatives aux courbes pour chaque groupe.

participants sains ; patients SLA ; * p < 0,05

exprimée en fonction de l'EMG pré-stimulus) ont montré une absence de modification de l'AMT (test t : $p = 0,90$), du PEM_{max} (Mann-Whitney : $p = 0,73$), de la pente (test t : $p = 0,12$) et de l' I_{50} (test t : $p = 0,69$) chez les patients (**Cf. figure 7-A**, 16 patients/20 témoins). Par ailleurs, aucune modification de M_{max} n'a été observée entre les groupes (Mann-Whitney : $p = 0,52$).

Ces résultats indiquent que les motoneurones d'un muscle cliniquement non-atteint sont recrutés par la voie corticospinale de manière comparable aux témoins.

ÉTAT DES MOTONEURONES DU QUADRICEPS

La TMS a été appliquée en regard de l'aire M1 afin d'évoquer des PEM dans l'EMG du muscle quadriceps lors d'une contraction tonique équivalente à 10-15% MVC. Dix TMS (0,33 Hz) ont été délivrées à des intensités successives selon un pas de 2% MSO afin d'étudier la courbe de recrutement du PEM. Par ailleurs, le nerf fémoral a été stimulé dans le creux de l'aîne afin d'évoquer un réflexe H et une réponse M dans l'EMG du muscle quadriceps au repos. Dix stimulations (0,33 Hz) ont été délivrées à des intensités successives afin d'étudier la courbe de recrutement du réflexe H et de la réponse M.

L'EMG pré-stimulus sous contraction et au repos, ainsi que la MVC étaient similaires entre les groupes (Mann-Whitney : $p = 0,84$; $0,97$ et $0,72$, respectivement). De plus, aucune modification de la latence et de la durée des PEM a été constatée (test t : $p = 0,59$ et Mann-Whitney : $p = 0,66$, respectivement), ni de la latence du réflexe H et de la réponse M (Mann-Whitney : $p = 0,36$ et test t : $p = 0,05$, respectivement). Les courbes de recrutement du PEM (surface exprimée en fonction de l'EMG pré-stimulus) ont révélé l'absence de modification de l'AMT (test t : $p = 0,15$), du PEM_{max} (Mann-Whitney : $p = 0,13$), de la pente (Mann-Whitney : $p = 0,61$) et de l' I_{50} (test t : $p = 0,30$) chez les patients (**Cf. figure 7-B**, 17 patients/20 témoins). Les courbes de recrutement de la réponse M ont révélé (**Cf. figure 7-D**) l'absence de modification du seuil (test t : $p = 0,46$), du M_{max} (Mann-Whitney : $p = 0,29$), de la pente (Mann-Whitney : $p = 0,48$) et de l' I_{50} (test t : $p = 0,24$). Quand au réflexe H (**Cf. figure 7-C**), il a été observé l'absence de modification du seuil (test t : $p = 0,65$) et de l' I_{50} (Mann-Whitney : $p = 0,08$) mais une augmentation significative du H_{max} (Mann-Whitney : $p = 0,01$), ainsi qu'une réduction significative de la pente (Mann-Whitney : $p = 0,02$). De plus, le ratio H_{max}/M_{max} a été trouvé significativement augmenté (Mann-Whitney : $p = 0,02$) chez les patients (19 patients/17 témoins).

Ces résultats révèlent que les motoneurones suppléant un muscle cliniquement non-affecté sont recrutés par la voie corticospinale de manière comparable aux témoins, alors que leur recrutement par les volées périphériques est altéré.

ACTIVITÉ DU SYSTÈME PROPRIOSPINAL EXCITATEUR C3-C4 ET SES INTERNEURONES INHIBITEURS

La TMS, ajustée afin d'évoquer un PEM équivalent à 50% du PEM_{max} dans l'EMG du muscle triceps, a été conditionnée par la stimulation des nerfs ulnaire au coude et radial superficiel à une intensité ajustée à $0,75 \times MT$ et $8 \times PT$, respectivement. La stimulation du nerf ulnaire au coude permet ainsi d'évoquer des volées afférentes du groupe la issues du muscle *flexor carpi ulnaris* et projetant sur

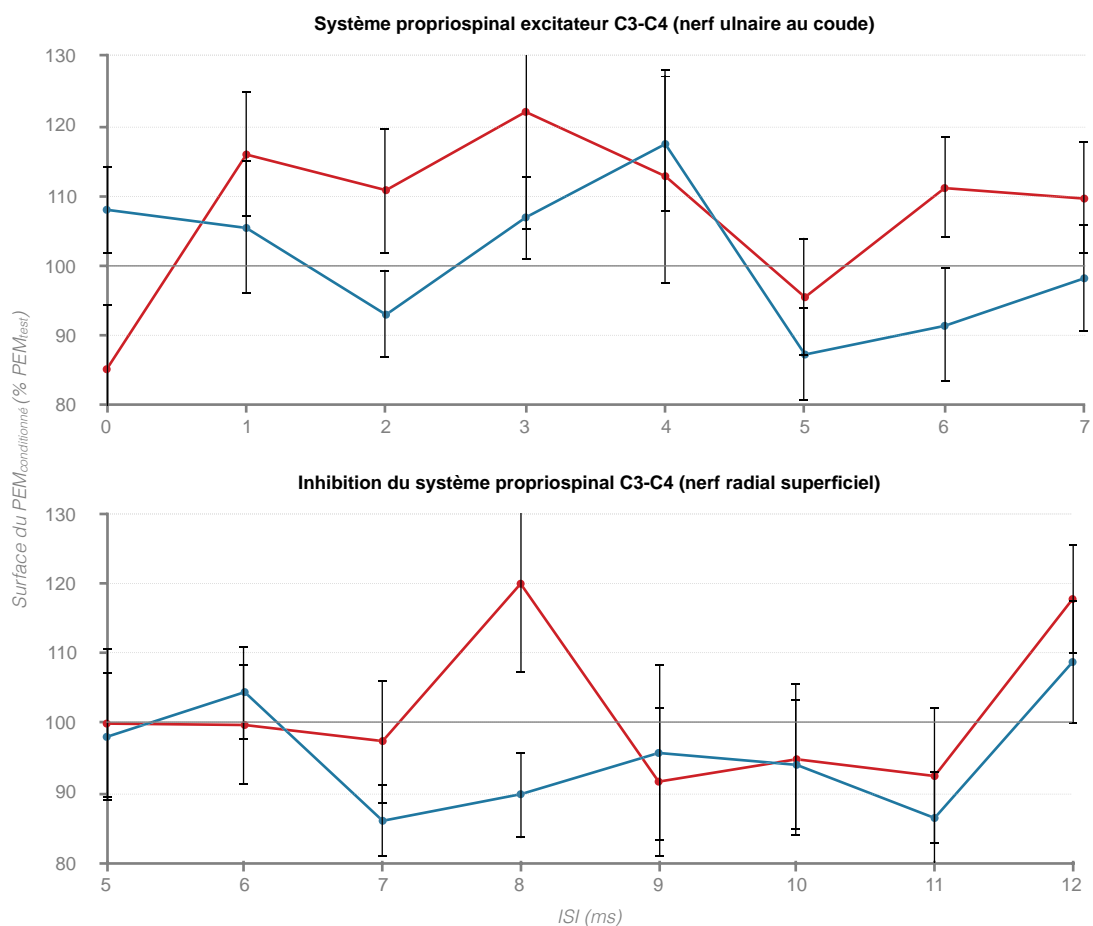
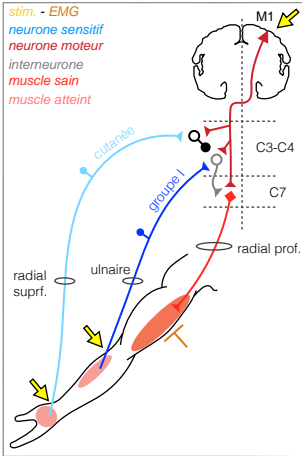
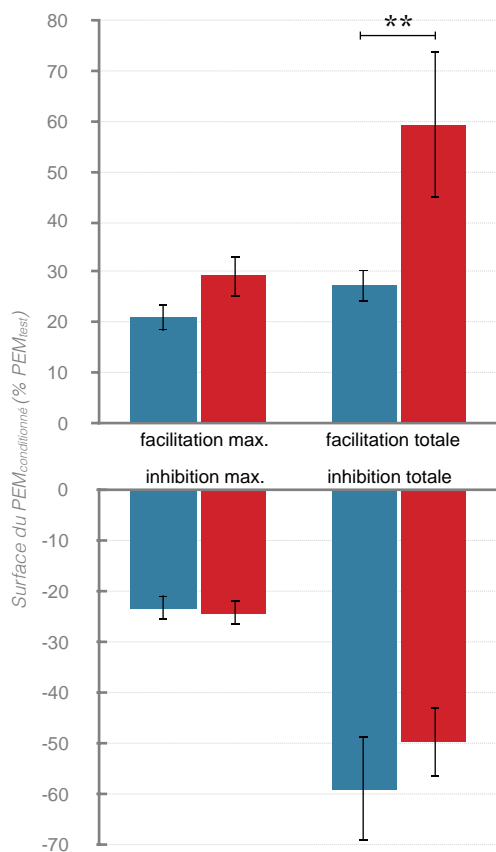


figure 8 : Facilitation et inhibition du PEM du muscle triceps à travers le système propriospinal C3-C4 et leur interneurons inhibiteurs par stimulation des nerfs ulnaire au coude et radial superficiel (respectivement), exprimée en pourcentage du PEM_{test} chez un patients SLA et un participant sain. participant sain ; patient SLA



	facilitation	inhibition
ISI théorique (ms)	3,3±0,1 3,3±0,1	7,3±0,4 7,3±0,2
ISI effet max. (ms)	3,4±0,5 3,5±0,6	8,1±0,5 9,1±0,5
ISI début effet (ms)	2,8±0,5 2,6±0,6	6,9±0,4 8,4±0,5*
durée (ms)	2,0±0,2 3,3±0,7*	3,8±0,5 3,4±0,4
PT (mA)	2,7±0,4 2,1±0,5	3,3±0,5 2,5±0,5
MT (mA)	8,8±1,1 6,1±0,6	29,7±2,5 26,3±3,4
TMS moyenne (% MSO)	63,7±2,2 63,9±2,4	
surface PEM_{test} moyen (% EMG pré-stim.)	236,5±25,4 232,3±30,4	

figure 9 : Facilitation et inhibition du PEM du muscle triceps à travers le système propriospinal C3-C4 et leur interneurons inhibiteurs par stimulation des nerfs ulnaire au coude et radial superficiel (respectivement), exprimée en pourcentage du PEM_{test} et données relatives.

Le tableau présente les données moyennes relatives pour chaque groupe. L'ISI théorique représente celui de la convergence monosynaptique.

participants sains ; patients SLA ; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

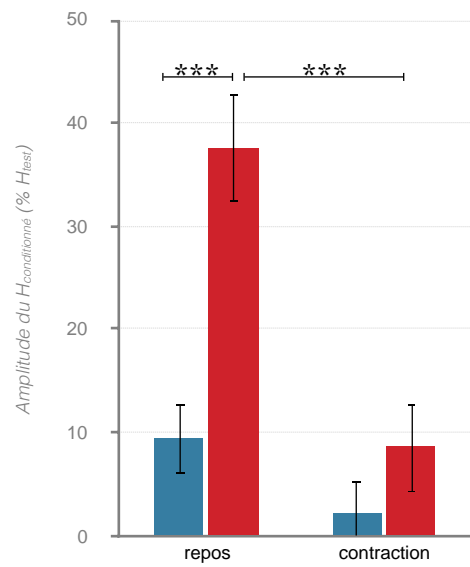
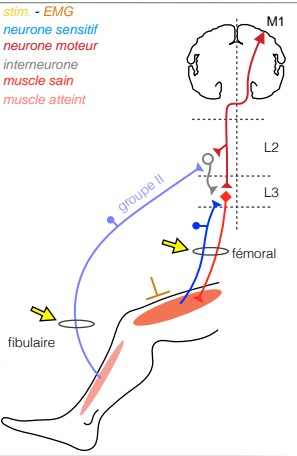
le système propriospinal excitateur. La stimulation du nerf radial superficiel permet quant à elle d'évoquer des volées afférentes cutanées et projetant sur les interneurons inhibant le système propriospinal. Les ISI théoriques de convergence des volées du groupe Ia, cutanées et corticospinales sur les motoneurons du triceps ont été estimés en calculant la différence entre les temps de conduction périphérique (du coude et de la tabatière anatomique à la vertèbre C7) et centrale (du cortex moteur à la vertèbre C7), en mesurant ces distances chez chaque sujet et tenant compte des vitesses de conduction périphérique (69 m/s) et centrale (70 m/s). Plusieurs ISI expérimentaux ont été testés d'après les latences théoriques de facilitation à travers le système propriospinal (compris entre 0-7 ms) et d'inhibition à travers leurs interneurons inhibiteurs (compris entre 5-12 ms) selon un pas de 1 ms [Pauvert, Pierrot-Deseilligny, & Rothwell 1998; Nicolas et al. 2001]. Pour chaque ISI testé, 20 TMS appliquées seules, 20 TMS combinées à la stimulation du nerf ulnaire au coude et 20 TMS combinées à la stimulation du nerf radial superficiel ont été délivrées (0,66 Hz) et alternées au hasard lors d'une contraction tonique du muscle triceps équivalente à 10-15% MVC.

Le PT et MT ont été trouvés similaires entre les groupes pour les nerfs ulnaire au coude (tests t : $p = 0,32$ et Mann-Withney : $p = 0,08$; respectivement) et radial superficiel (Mann-Withney : $p = 0,12$ et $0,52$; respectivement). De même, aucune différence significative n'a été constatée dans l'intensité de TMS (test t : $p = 0,93$) et la taille du PEM_{test} (test t : $p = 0,90$). Les ISI théoriques de convergence sur les motoneurons du triceps étaient également similaires entre les groupes (ulnaire au coude : $ISI_{moyen} = 3,3 \pm 0,07$ ms, test t : $p = 0,68$ et radial superficiel : $ISI_{moyen} = 7,3 \pm 0,11$ ms, test t : $p = 0,96$), tout comme les ISI expérimentaux de la facilitation et de inhibition du PEM les plus fortes (facilitation : $ISI_{moyen} = 3,45 \pm 0,4$ ms, Mann-Withney : $p = 0,83$ et inhibition : $ISI_{moyen} = 8,51 \pm 0,4$ ms, Mann-Withney : $p = 0,14$). La facilitation et l'inhibition maximale du PEM n'ont pas été trouvées significativement différentes entre les groupes (Mann-Withney : $p = 0,11$ et test t : $p = 0,77$; respectivement). En revanche, la facilitation totale a été trouvée significativement renforcée (Mann-Withney : $p = 0,01$) et prolongée ($+1,40 \pm 0,5$ ms, Mann-Withney : $p = 0,02$) chez les patients, bien que l'ISI de début de facilitation soit similaire entre les groupes ($ISI_{moyen} = 2,74 \pm 0,4$ ms, Mann-Withney : $p = 0,86$). En comparaison, bien qu'elle tendait à être réduite, l'inhibition totale a été trouvée similaire entre les groupes (Mann-Withney : $p = 0,70$) tout comme sa durée (Mann-Withney : $p = 0,74$), bien que l'ISI de début de l'inhibition soit significativement retardée ($+1,53 \pm 0,5$ ms, Mann-Withney : $p = 0,02$) chez les patients (**Cf. figure 8 et 9**, 17 patients/21 témoins).

Ces résultats révèlent un renforcement de l'activité du système propriospinal excitateur à travers un prolongement de son effet, sans modification de l'inhibition qui s'exerce sur les interneurons propriospinaux excitateurs.

ACTIVITÉ DU SYSTÈME PROPRIOSPINAL EXCITEUR L2-L3

La stimulation du nerf fémoral, ajustée afin d'évoquer un réflexe H équivalent à 20% de M_{max} dans l'EMG du muscle quadriceps, a été conditionnée par la stimulation du nerf fibulaire à une intensité ajustée à 2xMT. Trois ISI compris entre 14 et 17 ms ont été testés selon un pas de 1 ms afin d'évoquer la plus forte facilitation du réflexe H dans l'EMG du muscle quadriceps au repos, à travers l'activation du système propriospinal par les afférences du groupe II. L'ISI induisant la facilitation



ISI (ms)	15,3±0,2	15,2±0,3
PT (mA)	3,3±0,5	2,7±0,4
MT (mA)	9,9±1,0	11,4±1,2
H _{test} moyen (% M _{max}) au repos	20,6±4,8	21,2±4,2
H _{test} moyen (% M _{max}) sous contraction	39,7±13,4	31,3±6,1

figure 10 : Variation du réflexe H du muscle quadriceps au repos et sous contraction volontaire (20% MVC) à travers le système propriospinal L2-L3 et les interneurones Ib (respectivement) par stimulation des afférences du groupe II du nerf fibulaire, exprimée en pourcentage du H_{test} et données relatives.

Le tableau présente les données moyennes relatives pour chaque groupe. participants sains ; patients SLA ; *** p < 0,001

maximale a ensuite été testé lors d'une contraction tonique du muscle quadriceps équivalente à 20% MVC, produisant ainsi une inhibition du réflexe H à travers la convergence des volées périphériques et corticospinales sur les interneurons Ib [Marchand-Pauvert et al. 2002]. Pour chaque ISI testé, 20 stimuli du nerf fémoral appliqués seuls et 20 stimuli du nerf fémoral combinés à la stimulation du nerf fibulaire ont été délivrés (0,33 Hz), alternés au hasard.

Le PT et MT du nerf fibulaire ont été trouvés similaires entre les groupes (Mann-Withney : $p = 0,25$ et test t : $p = 0,35$; respectivement). De plus, aucune différence n'a été constatée concernant la taille moyenne du H_{test} (exprimé en fonction de M_{max}) au repos et sous contraction (Mann-Withney : $p = 0,56$ et $0,70$, respectivement). L'ISI de la plus forte facilitation était similaire entre les groupes (Mann-Withney : $p = 0,69$). Nous avons observé une interaction significative de l'amplitude du $H_{\text{conditionné}}$ (exprimé en fonction du H_{test}) entre les groupes et la condition (repos ou contraction) (ANOVA 2-facteurs : groupe $p = 0,001$; condition $p < 0,001$; interaction $p = 0,04$; **Cf. figure 10**, 17 patients/19 témoins). De plus, le post-hoc a indiqué la réduction significative de l'amplitude du $H_{\text{conditionné}}$ entre les conditions repos et sous contraction chez les patients (Bonferroni : $p < 0,001$).

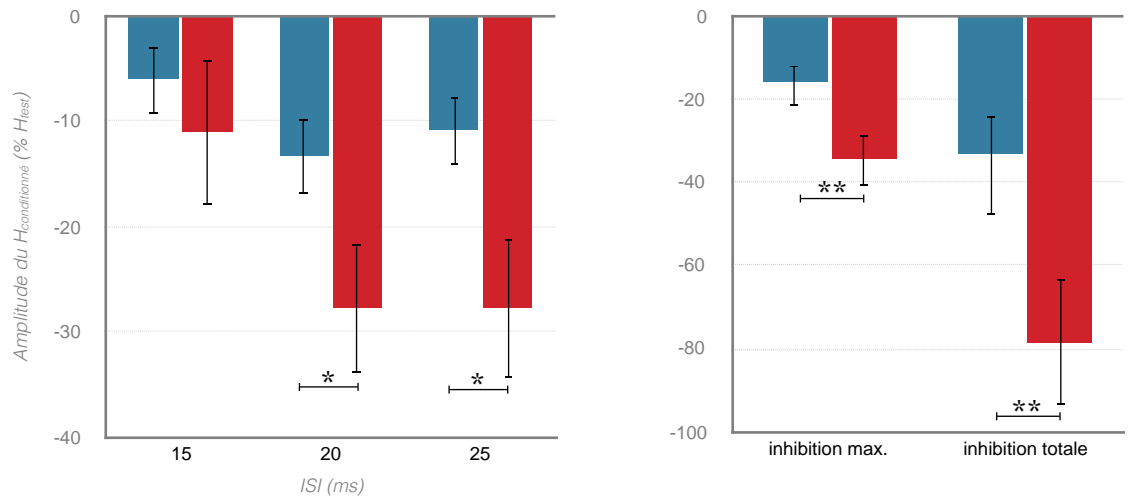
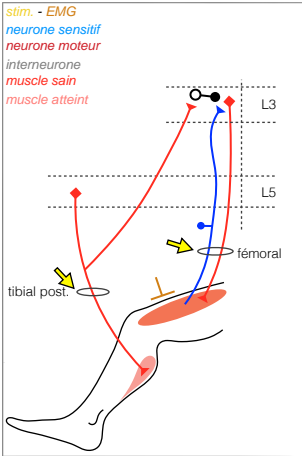
Ces résultats révèlent l'existence d'un renforcement de la facilitation propriospinale chez les patients à travers les afférences du groupe II, mais pas de modification de l'activité des interneurons inhibiteurs Ib.

ACTIVITÉ DES CELLULES DE RENSCHAW DU MEMBRE INFÉRIEUR

La stimulation du nerf fémoral, ajustée afin d'évoquer un réflexe H équivalent à 20% de M_{max} dans l'EMG du muscle quadriceps au repos, a été conditionnée par la stimulation du nerf tibial postérieur à une intensité évoquant M_{max} dans l'EMG du muscle soléaire. La stimulation du nerf tibial postérieur permet ainsi d'évoquer des volées antidromiques dans les axones moteurs du muscle soléaire, projetant sur les cellules de Renshaw et exerçant une inhibition récurrente des motoneurons du quadriceps. Trois ISI (15, 25, 35 ms) ont été testés afin d'évaluer l'inhibition du réflexe H du muscle quadriceps [Meunier et al. 1990; Meunier, Pierrot-Deseilligny, & Simonetta-Moreau 1994]. Pour chaque ISI testé, 20 stimuli du nerf fémoral appliqués seuls et 20 stimuli du nerf fémoral combinés à la stimulation du nerf tibial postérieur ont été délivrés (0,33 Hz), alternés au hasard.

La M_{max} du muscle soléaire a été trouvée significativement réduite chez les patients (test t : $p = 0,006$). Aucune différence n'a été constatée concernant la taille moyenne du H_{test} (exprimée en fonction de M_{max}) (Mann-Withney : $p = 0,56$). Le taux d'inhibition était comparable entre les groupes à l'ISI = 15 ms (test t : $p = 0,49$), mais a été trouvé renforcé aux ISI = 20 et 25ms chez les patients (test t : $p = 0,04$ et $0,02$; respectivement). L'inhibition maximale ainsi que l'inhibition totale ont été trouvées renforcées chez les patients (Mann-Withney : $p = 0,005$ et $0,006$; respectivement ; **Cf. figure 11**, 16 patients/19 témoins.).

Ces résultats révèlent l'existence d'un renforcement de l'inhibition récurrente transmise par les motoneurons d'un muscle fonctionnellement atteint.



M _{max} soléaire (mV)	5,1±0,6	2,8±0,5**
H _{test} moyen (% M _{max})	25,4±7,3	37,1±16,7

figure 11 : Inhibition récurrente du réflexe H du muscle quadriceps à travers les cellules de Renshaw par la stimulation du nerf tibial postérieur, exprimée en pourcentage du H_{test} et données relatives.

Le tableau présente les données moyennes relatives pour chaque groupe. participants sains ; patients SLA ; * p < 0,05 ; ** p < 0,01

CONCLUSION

Les résultats acquis chez des patients à un stade plus précoce que l'étude précédente révèle l'existence d'un déséquilibre dans les influx excitateurs et inhibiteurs projetant sur les motoneurones cervicaux et lombaires de muscles cliniquement non-atteints.

Nous confirmons que le recrutement des motoneurones de muscles cliniquement non-affectés par les volées corticospinales est comparable à ceux des témoins. En effet, l'excitabilité et le nombre total de motoneurones recrutés sont comparables, confirmés par l'absence de modification de M_{\max} . En revanche, le recrutement des motoneurones par les afférences périphériques la monosynaptique suggère l'existence d'une hyperexcitation menant à une pente plus abrupte. Cela confirme l'existence d'une hyperexcitation (extrinsèque) à travers la connexion monosynaptique la-motoneurones, mais apporte en plus la preuve que la synapse même est altérée indépendamment de l'altération des afférences périphériques. En effet, le reflexe H est ici évoqué par les afférences homonymes issues du muscle quadriceps cliniquement non-atteint.

A l'étage cervical, nous apportons la preuve d'un renforcement et d'un prolongement de l'activité du système propriospinal excitateur C3-C4 chez les patients, bien qu'aucune modification de l'activité de leurs interneurons inhibiteurs n'ait été observée (excepté un retard dans la latence de l'inhibition pouvant suggérer une démyélinisation/perte des afférences cutanées les plus rapides). A l'étage lombaire, nos résultats révèlent également un renforcement de l'activité du système propriospinal excitateur L2-L3.

Pour finir, malgré la réduction de M_{\max} du muscle soléaire reflétant son atteinte fonctionnelle à travers une réduction de ses motoneurones, on observe un renforcement de l'inhibition récurrente transmise par les cellules de Renshaw chez les patients. Celle-ci peut résulter d'une augmentation compensatrice de leur activité à travers leurs projections (renforçant ainsi le nombre de projections inhibitrices par motoneurone) ou leurs afférences (via des mécanismes de ré-innervation).

Pour conclure, étant donné les résultats de l'étude précédente concernant la réduction des afférences périphériques issues d'un muscle cliniquement atteint, il est légitime de se demander si les modifications d'activité des interneurons se fait en compensation de cette réduction, ou si elle implique l'existence d'atteinte fonctionnelle intrinsèque aux interneurons.

V. DISCUSSION GÉNÉRALE

5-1. ATTEINTES DES VOIES SENSITIVES

Nous avons observé l'altération anatomique et fonctionnelle des afférences sensitives issues des muscles intrinsèques de la main (cliniquement atteints) au stade précoce de la maladie. Cette altération est caractérisée d'une part par une réduction des PES résultant de l'atteinte des afférences périphériques mais aussi des structures sous-corticales et cortico-corticales et, d'autre part, l'inexistence de modification de la latence des PES reflétant l'absence de démyélinisation.

5-1-1. ORIGINE DES VOLÉES PÉRIPHÉRIQUES ALTÉRÉES

En l'absence d'études systématiques dans des populations importantes de patients SLA, il est estimé que les troubles subjectifs de la sensibilité ne sont présents que chez moins de 10% des patients SLA et sont décrits comme discrets (paresthésies et douleurs neuropathiques modérées) [Feller, Jones, & Netsky 1966; Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Gregory, Mills, & Donaghy 1993]. A l'opposé, il a été rapporté que jusqu'à 60% des patients pouvaient présenter au moins une anomalie de la sensibilité à travers un test clinique objectif [Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Gregory, Mills, & Donaghy 1993; Theys, Peeters, & Robberecht 1999; Hammad et al. 2007]. Ces derniers, principalement observés aux membres inférieurs, sont caractérisés par une augmentation du seuil vibratoire [Mulder et al. 1983; Hammad et al. 2007; Isak et al. 2016], un seuil thermique normal au froid mais élevé au chaud [Theys, Peeters, & Robberecht 1999; Isak et al. 2016], des paresthésies et une anomalie du seuil de sensation cutanée [Dyck et al. 1975; Kawamura et al. 1981; Isak et al. 2016], suggérant ainsi l'atteinte des afférences du groupe I/II, A δ et A β , respectivement. Lors de notre étude, nous avons stimulé les nerfs médian et ulnaire à une intensité ajustée à 9xPT, évoquant ainsi des volées orthodromiques dans l'ensemble des afférences proprioceptives (groupe I et II), cutanées de bas seuil (A β), ainsi que des volées antidromiques dans les efférences motrices. Or, il a été rapporté lors de stimulations du nerf médian chez l'Homme, que seules les volées afférentes orthodromiques participent à la genèse des PES [el-Negamy & Sedgwick 1978; Lueders et al. 1983; Jones & Power 1984; Allison et al. 1991; Insola et al. 2004; Sonoo et al. 2004]. Nos résultats suggèrent par ailleurs l'atteinte préférentielle des afférences proprioceptives étant donné que l'atteinte des afférences cutanées de bas seuil aurait mené à une modification du seuil de perception chez les patients. Cependant, l'atteinte des afférences cutanées de bas seuil n'est pas à exclure pour autant. En effet, il a été montré d'une part, lors d'études post-mortem, une perte des fibres myélinisées du nerf sural (nerf cutané) affectant toutes les fibres, mais principalement celles de plus gros diamètre [Dyck et al. 1975; Tohgi, Tsukagoshi, & Toyokura 1977; Kawamura et al. 1981; Bradley et al. 1983; di Trapani et al. 1986; Heads et al. 1991; Shefner, Tyler, & Krarup 1991; Hammad et al. 2007]. D'autre part, il a été rapporté chez des patients, l'altération distale des afférences cutanées A β du nerf sural bien que celles-ci présentent une relative préservation probablement associée à leur petit diamètre [Isak et al. 2016]. Etant donné l'absence de modification de latence des PES dans notre étude, il peut

également être suggéré la perte préférentielle des axones à vitesse de conduction lente tel que les afférences proprioceptives de petit diamètre et dans une moindre mesure des afférences cutanées. Concernant l'atteinte proprioceptive et compte tenu de l'atteinte clinique des muscles intrinsèques de la main, il peut également être soutenu que l'atteinte préférentielle des afférences proprioceptives résulte de l'atteinte des fuseaux neuromusculaires (afférences de type Ia et II) et organes tendineux de Golgi (afférences de type Ib). En effet, des études post-mortem ont rapporté chez des patients un amincissement des fuseaux neuromusculaires, bien qu'aucune altération des afférences du groupe I et II n'ait été constatée [Swash & Fox 1974; Swash 2012]. Récemment, il a été rapporté dans un modèle murin de la maladie, l'existence dès le stade pré-symptomatique d'atteintes structurales des terminaisons nerveuses de type Ia/II menant à une réduction du nombre de neurones proprioceptifs au stade symptomatique, mais peu/pas de modification des terminaisons de type Ib [Vaughan et al. 2015]. D'un autre côté, puisque les fuseaux neuromusculaires s'amincissent avec le vieillissement, il a été suggéré par analogie au chat que cet amincissement serait exacerbé lors d'une réduction de l'innervation motrice et de l'atrophie sous-jacente. La contribution de l'innervation sensitive peut également être impliquée en raison du rôle important de leurs facteurs trophiques dans la maturation des fuseaux neuromusculaires chez l'Homme [Swash & Fox 1974; Swash 2012]. Une autre preuve confirmant l'implication préférentielle des afférences proprioceptives et dans une moindre mesure des afférences cutanées, repose sur leur proportion au sein d'un nerf mixte, expliquant ainsi les différents effets observés au cours de nos investigations. Le nerf médian fournit 25% de l'innervation motrice des muscles de la main et est par conséquent principalement impliqué dans l'innervation sensitive à travers les afférences cutanées de type A β . Le nerf ulnaire fournit, quant à lui, 75% de l'innervation motrice des muscles de la main ; l'innervation sensitive étant principalement proprioceptive à travers les afférences du groupe I et II [Tanosaki et al. 1999; Purves 2013]. Par conséquent, cette distribution différentielle expliquerait les effets plus marqués obtenus chez les patients, à travers la stimulation du nerf ulnaire (réduction significativement plus importante des PES, hyperactivation significative des motoneurones du triceps), mais aussi du nerf ulnaire au coude (renforcement de la facilitation propriospinale C3-C4), du nerf fémoral (augmentation du réflexe H) et du nerf fibulaire (renforcement de la facilitation propriospinale L2-L3) en comparaison au nerf radial superficiel qui est un nerf cutané (pas de modification significative de l'inhibition du système propriospinal C3-C4). Afin de vérifier cette hypothèse, il serait intéressant de comparer les PES évoqués par stimulations électriques de nerfs mixtes, à ceux évoqués par des stimulations purement cutanées et des stimulations mécaniques du tendon (activant les fibres du groupe Ia). Si cette hypothèse se vérifie, on s'attend à observer chez les patients, une réduction des PES issus de nerfs mixtes et de stimulations mécaniques du tendon mais pas des stimulations cutanées.

5-1-2. CARACTÉRISATION DE L'ATTEINTE SENSITIVE

LATENCE

L'étude des PES chez les patients, bien que limitée au potentiel périphérique (N9) et au premier potentiel cortical (N20), a révélé l'existence d'anomalies plus marquées au membre inférieur, représentant 60% des cas contre 35% au membre supérieur [Matheson, Harrington, & Hallett 1986;

Radtke, Erwin, & Erwin 1986; Constantinovici 1993]. Ces anomalies sont caractérisées par une réduction de la vitesse de conduction chez 50% des patients [Pugdahl et al. 2006; Hammad et al. 2007] associée à une réduction de la conduction nerveuse d'origine centrale dans 40% des cas contre 20% d'origine périphérique [Anziska & Cracco 1983; Cosi et al. 1984; Dasheiff et al. 1985; Matheson, Harrington, & Hallett 1986; Subramaniam & Yiannikas 1990; Zanette et al. 1990; Shefner, Tyler, & Krarup 1991; Georgesco et al. 1994; Gregory, Mills, & Donaghy 1993; Maugière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005]. Il est établi que la latence des PES au point culminant dépend de la vitesse de conduction moyenne des afférences périphériques, alors que la latence de début du potentiel dépend uniquement du recrutement des fibres à vitesse de conduction les plus rapides [Parain & Delapierre 1991; Tanosaki et al. 1999; Shiga et al. 2001]. Il a également été rapporté que l'augmentation de l'intensité des stimuli modifie la latence des PES à travers une réduction de la latence à leur point culminant et à leur début [Parain & Delapierre 1991; Shiga et al. 2001; Torquati et al. 2002]. Lors de notre étude de la relation intensité/PES chez des participants sains, nous avons observé la réduction des latences à leurs points culminants et à leur début que ce soit pour les potentiels périphériques et centraux, étayant ainsi le recrutement progressif des fibres sensibles à conduction rapide. Chez les patients, nous n'avons pas observé de modification de la latence des PES à leur point culminant ni à leur début, reflétant une bonne conservation des afférences de gros diamètre à vitesse de conduction rapide. Par ailleurs, il est établi que les vitesses de conduction nerveuse sensitive sont corrélées à la taille du sujet et sont affectées par le vieillissement dans les voies périphériques et centrales, se traduisant par un temps de conduction au point culminant plus réduit qu'à son début, probablement à travers une démyélinisation ou une dégénérescence axonale des afférences périphériques [Tanosaki et al. 1999]. Nous avons observé chez les patients que la vitesse de conduction nerveuse périphérique était inchangée alors que la vitesse de conduction nerveuse centrale était réduite. Etant donné la réduction d'amplitude des potentiels, nos résultats soutiennent que celle-ci résulterait d'une perte axonale des afférences de petit diamètre en l'absence de démyélinisation (affectant les latences dans une moindre mesure en comparaison aux fibres à vitesse de conduction rapide), mais aussi une atteinte des structures sous-corticales contribuant à la réduction de la vitesse de conduction centrale.

AMPLITUDE

À la différence de la forte implication des anomalies de latence, la réduction d'amplitude des PES a été observée chez 20% des patients [Pugdahl et al. 2006; Hammad et al. 2007]. Bien que l'amplitude du potentiel N9 n'ait pas été trouvée modifiée [Cosi et al. 1984], il a été rapporté la perte des potentiels N32 et N60 [Bosch, Yamada, & Kimura 1985] et l'absence d'altération des potentiels précoces (<35ms) évoqués par stimulation du membre supérieur [Cosi et al. 1984; Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Dasheiff et al. 1985]. Il a également été rapporté la réduction des PES évoqués par stimulation du membre inférieur [Anziska & Cracco 1983; Cosi et al. 1984; Georgesco et al. 1994]. Cependant, il existe une hétérogénéité des résultats selon les auteurs : amplitude plus ou moins altérée, associée ou non à l'altération des vitesses de conduction [Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Facco et al. 1989; Mondelli et al. 1993; Gregory, Mills, & Donaghy 1993; Theys, Peeters, & Robberecht 1999; de Carvalho & Swash 2000]. En comparaison, nos résultats indiquent une

réduction systématique de l'ensemble des PES chez les patients. Ces différents résultats peuvent s'expliquer d'une part, par le choix de la référence. En effet, l'EEG mesure la différence de potentiel entre une région corticale d'intérêt et une référence dont le signal se rapproche de l'amplitude zéro [Essl & Rappelsberger 1998; Hu et al. 2012]. Deux références sont généralement utilisées : l'une céphalique (cortex frontal) et l'autre extra-céphalique (lobes d'oreilles). A la différence de la référence extra-céphalique qui peut enregistrer l'activité cardiaque (bien que celle-ci peut être annulée si les deux lobes sont connectés ensemble [Stephenson & Gibbs 1951]), la référence céphalique enregistre l'activité du cortex cérébral et des muscles oculaires et faciaux, distordant ainsi l'EEG de la région d'intérêt et rendant variable les études d'amplitude et de latence des PES [Facco et al. 1989; Essl & Rappelsberger 1998; Hu et al. 2012]. D'autre part, en plus des variabilités inter- et intra-individuelles, il a été rapporté que l'activité corticale basale contribue également aux fluctuations d'amplitude des PES [Arieli et al. 1996; Klistorner & Graham 2001; You et al. 2012]. Par conséquent, afin de limiter cette dernière nous avons normalisé les PES par rapport à 2SD de l'activité pré-stimulus, permettant ainsi d'évaluer quand le signal EEG post-stimulus s'écarte significativement de l'activité EEG basale. Nous avons ainsi montré que les tendances observées sur les données EEG brutes étaient renforcées par la normalisation, rendant compte d'une sous-estimation des données non-normalisées et par conséquent d'une sous-estimation de l'implication de l'altération des volées afférentes chez les patients.

Nos résultats révèlent que la réduction du potentiel N9 résulte vraisemblablement de la perte axonale des afférences périphériques, également confirmée par la modification des métriques anatomiques de la colonne dorsale cervicale. L'atteinte des colonnes dorsales est une caractéristique des patients SLAf représentant 70% des cas contre 10% pour les patients SLAs [Cosi et al. 1984; Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Radtke, Erwin, & Erwin 1986; Subramaniam & Yiannikas 1990; Theys, Peeters, & Robberecht 1999]. Cette dernière est histologiquement caractérisée par son atrophie [Feller, Jones, & Netsky 1966; Kawamura et al. 1981], également confirmée par l'IRM-DTI au stade précoce de la maladie [Cohen-Adad, El Mendili, et al. 2013]. L'atrophie semble d'ailleurs résulter d'une perte axonale car des études histologiques menées sur le nerf sural de patients ont rapporté une perte aiguë des fibres myélinisées, affectant toutes les fibres mais principalement celles de plus gros diamètre [Dyck et al. 1975; Tohgi, Tsukagoshi, & Toyokura 1977; Kawamura et al. 1981; Bradley et al. 1983; di Trapani et al. 1986; Heads et al. 1991; Shefner, Tyler, & Krarup 1991; Hammad et al. 2007]. Une réduction du nombre de neurones proprioceptifs Ia/II a également été observée chez des souris mutantes au stade symptomatique, en parallèle de la dénervation motrice [Vaughan et al. 2015]. Il a ainsi été suggéré que l'altération préférentiellement des neurones sensitifs de plus gros diamètre résulterait d'une neuropathie des ganglions rachidiens dorsaux, consécutive à une atrophie axonale progressive et suivie d'une démyélinisation-remyélinisation secondaire menant au final à leur dégénérescence [Kawamura et al. 1981; Heads et al. 1991; Pugdahl et al. 2006].

Nos résultats suggèrent non seulement la réduction des PES corticaux associée à la perte axonale des afférences périphériques, mais également l'existence d'atteintes sous-corticales et/ou cortico-corticales chez les patients. Des études post-mortem ont d'ailleurs rapporté chez les patients,

l'atrophie du thalamus [Smith 1960] confirmée par des données d'imagerie [Chapman et al. 2012; Bede et al. 2013; Pradat & El Mendili 2014], l'atrophie du cortex pariétal [Filippini et al. 2010; Verstraete et al. 2014] associée notamment à une réduction du nombre de neurones de l'aire S1 [Kew et al. 1994; Zanette et al. 1996; Devine et al. 2015] et l'atrophie des aires operculaires [Smith 1960; Filippini et al. 2010] résultant probablement d'une réduction du nombre de neurones de l'aire S2. Il a également été rapporté une perte des fibres nerveuses interconnectant ou transitant à travers diverses régions corticales (cortex temporal, pariétal, frontal) et noyaux sous-corticaux (thalamus et ganglions de la base, également atrophiés [Sasaki et al. 1992; Kato, Oda, & Tanabe 1993; Bede et al. 2013; Westeneng et al. 2015]) [Smith 1960; Thivard et al. 2007; Canu et al. 2011; Li et al. 2012; Pradat & El Mendili 2014]. Par conséquent, toutes ces atteintes peuvent mener à la réduction des PES précoces et tardifs que nous avons observée.

Nous avons également mis en évidence que la réduction des PES précoces et du potentiel N9 est comparable à celle du potentiel N20, alors que les PES tardifs présentent une réduction plus importante. Or, il est établi que l'activité de l'aire S1 reflète essentiellement l'activité de l'aire 3b, recevant la majorité des afférences thalamo-corticales et projetant à son tour sur les aires 1 et 2, constituant ainsi une première étape dans le traitement de l'information sensitive [Hari & Forss 1999; Kaas 2004; Papadelis et al. 2011; Purves 2013] et la genèse du potentiel N20 [Small dans Barber 1980; Anziska & Cracco 1983; Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Urbano et al. 1997; Mauguière et al. 1999; Hoshiyama & Kakigi 2001; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005; Papadelis et al. 2011]. L'aire S1 projette ensuite par l'intermédiaire du thalamus sur les aires 5a et 7b de l'aire associative pariétale et dont les projections au cortex frontal participent aux interactions sensorimotrices [Hari et al. 1984; Mauguière et al. 1997; Hari & Forss 1999; Sutherland & Tang 2006; Purves 2013] et à la genèse des potentiels P25, N30, P35 du cortex moteur [Bosch, Yamada, & Kimura 1985; Urbano et al. 1997; Hari & Forss 1999; Mauguière et al. 1999; Hoshiyama & Kakigi 2001; Mauguière dans Niedermeyer & Lopes da Silva 2005; Papadelis et al. 2011]. Par conséquent, cette interaction en série entre les volées afférentes, le thalamus, l'aire S1 et le cortex moteur pourrait expliquer pourquoi le potentiel N9 et les PES précoces sont réduits de manière similaire chez les patients, bien qu'on pourrait s'attendre à une réduction plus importante des PES précoces en raison de l'atteinte des structures corticales et/ou sous-corticales. Trois explications peuvent alors être envisagées. Premièrement, ces structures pourraient ne pas être altérées, bien que nos résultats intensité/PES suggèrent le contraire (**Cf. 4-1-3**). Deuxièmement, la réduction des volées afférentes ne permettrait pas au potentiel N20 d'atteindre son plateau, rendant sa réduction dépendante de celle du potentiel N9. Or, la surface exprimée par rapport à 2SD pré-stimulus des patients au point d'Erb est de $0,4 \pm 0,1$ % et $0,2 \pm 0,03$ % pour les nerfs médian et ulnaire (respectivement), ce qui correspond à une intensité de 6xPT sur la courbe intensité/PES normalisée par rapport à 2SD des participants sains, prouvant ainsi que le potentiel N20 est au plateau et par conséquent que les structures corticales et/ou sous-corticales sont bien altérées. Troisièmement, l'atteinte de ces structures pourrait être une conséquence secondaire à la réduction des volées afférentes, menant ainsi à leur atrophie mais influençant peu la réduction des PES précoces. En ce sens, il a été montré à

travers l'utilisation de l'IRM fonctionnelle²⁹, l'existence de clusters d'activation cérébrale impliquant des régions corticales plus étendues et reflétant une réorganisation des réseaux cérébraux suite à la perte des cellules pyramidales [Prell & Grosskreutz 2013; Chiò et al. 2014; Pradat & El Mendili 2014]. En effet, au cours de l'évolution de la maladie, l'atrophie de l'aire M1 [de Carvalho et al. 1999; Filippini et al. 2010; Verstraete et al. 2010; Canu et al. 2011; Chiò et al. 2014], résultant de la perte des cellules pyramidales [Nihei, McKee, & Kowall 1993; Graham et al. 2004; Mochizuki et al. 2011], peut mener à l'atteinte des régions interconnectées à travers une augmentation de leurs connectivités fonctionnelles, reflétant probablement la perte d'efficacité des neurones corticaux inhibiteurs (GABAergiques) puisque que leur réduction a été observée [Lloyd et al. 2000; Maekawa 2004; Verstraete et al. 2010; Prell & Grosskreutz 2013]. Par analogie, il a d'ailleurs été suggéré que la réduction du nombre de neurones de l'aire S1 [Kew et al. 1994; Zanette et al. 1996; Devine et al. 2015] était interdépendante et proportionnelle à celle de l'aire M1 [Mochizuki et al. 2011]. On peut donc imaginer qu'un tel mécanisme ait lieu à travers les structures traversées par les afférences sensibles, menant ainsi à une réduction similaire des volées afférentes et des PES précoces, et à l'atteinte secondaire du thalamus et du cortex.

Concernant les PES tardifs, il est établi que les projections de l'aire S1 vers l'aire S2 sont indispensables au bon fonctionnement de ce dernier car il a été montré que les lésions de l'aire S1 abolissent toute réponse de l'aire S2 [Papadelis et al. 2011; Purves 2013]. Bien que ces aires semblent être activées séquentiellement, leur activation parallèle n'est pas exclue pour autant. En effet, il a été montré chez le primate qu'en plus des afférences originaires de l'aire S1, l'aire S2 reçoit également des projections thalamo-corticales directes [Woolsey, Erickson, & Gilson 1979; Hari et al. 1984; Mauguier et al. 1997; Hari & Forss 1999; Kaas 2004; Qi dans Basbaum 2008; Purves 2013]. Bien que l'existence de ces dernières reste incertaine chez l'Homme, il a été rapporté que l'activité de l'aire S2 est maintenue chez des patients ne présentant plus d'aire S1 [Woolsey, Erickson, & Gilson 1979; Lee, Kim, & Chung 1986; Hari & Forss 1999], mais n'exclut pas l'implication d'une plasticité compensatrice. Il a également été montré que l'aire S2 peut recevoir des influx directs nociceptifs et non-nociceptifs sans passer par l'aire S1 [Lee, Kim, & Chung 1986; Hari & Forss 1999]. En comparaison aux mécanismes pouvant être impliqués dans la réduction des PES précoces cités précédemment, et compte tenu de la saturation physiologique du potentiel N60 (Cf. 4-1-3), l'amplification de la réduction des PES tardifs que nous avons observée chez les patients peut par conséquent résulter d'une atteinte de l'aire S2 indépendante de celle de l'aire S1 et de la réduction des volées afférentes. Bien que l'aire S1 soit impliquée dans les aspects de discrimination de l'intensité et de localisation de l'information sensitive [Torquati et al. 2002; Lim, Kim, & Chung 2012], l'aire S2 est impliquée dans des fonctions d'ordre supérieur comme la discrimination des textures et des formes [Hari & Forss 1999]. L'activité de cette dernière associée à celle de l'insula est également impliquée dans des fonctions cognitives comme l'attention, l'apprentissage, la mémorisation, la prise de décision et l'intégration d'informations nociceptives et non-nociceptives [Hari & Forss 1999; Torquati et al. 2002; Eickhoff, Lotze, et al. 2006; Eickhoff, Heim, et al. 2006;

²⁹ Mesurer les variations hémodynamiques des neurones entre une condition de repos et une condition d'activité induite.

Papadelis et al. 2011; Lim, Kim, & Chung 2012]. De plus, à travers ces projections aux structures limbiques tels l'amygdale et l'hippocampe, l'aire S2 joue un rôle dans l'apprentissage et la mémoire tactile [Mauguiere et al. 1997; Purves 2013]. On peut donc supposer que l'atteinte de l'aire S2 chez les patients SLA peut mener à l'apparition de troubles cognitifs (fonctions exécutives, langage, mémoire) et limbique (émotion, comportement). En effet, en plus de l'atrophie de l'hippocampe (non associée à une perte de mémoire) observée lors d'une étude post-mortem [Takeda et al. 2009] et confirmée par imagerie [Bede et al. 2013; Pradat & El Mendili 2014; Westeneng et al. 2015], l'utilisation de tests neuropsychologiques a mis en évidence l'existence de troubles cognitifs chez environ 50% des patients parmi lesquels 20-30% présentent des démences fronto-temporales caractérisées par des troubles du comportement, de la personnalité et du langage [Charles & Swash 2001; Pradat et al. 2009; Kiernan et al. 2011; Bede et al. 2013; Ravits 2014; Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014]. De plus, étant donné que le système limbique influence les fonctions autonomes (cardiovasculaire, salivaire, lacrymale, gastro-intestinale, pupillaire, sudative et respiratoire) et somatomotrices (excitabilité du système moteur et notamment de l'arc réflexe spinal) [Gloor 1975], il peut être postulé que l'atteinte de l'aire S2 mène également à leur altération [Baltadzhieva, Gurevich, & Korczyn 2005].

5-2. ATTEINTES DES VOIES MOTRICES

Nous avons montré que le recrutement des motoneurones des muscles triceps et quadriceps (cliniquement non-atteints chez les patients testés) par les volées corticospinales est comparable aux participants sains, reflétant la relative conservation du noyau moteur et de leur excitabilité. De plus, nous avons observé l'existence d'une hypoexcitabilité corticale transmise par les interneurons inhibiteurs corticaux. Nous avons également rapporté la preuve que l'excitabilité des motoneurones est modifiée à travers les volées périphériques qu'ils reçoivent.

5-2-1. PROJECTIONS CORTICOSPINALES SUR LES MOTONEURONES

L'atteinte motrice des patients SLA est caractérisée à l'étage cérébral par l'atrophie de l'aire M1 [Filippini et al. 2010; Verstraete et al. 2010; Canu et al. 2011; Chiò et al. 2014] résultant de la dégénérescence des cellules pyramidales [Nihei, McKee, & Kowall 1993; Graham et al. 2004; Mochizuki et al. 2011]. L'atrophie des colonnes latérales a également été rapportée lors d'études post-mortem à travers l'atteinte des fibres myélinisées de gros diamètre [Smith 1960] et lors d'études d'imagerie au stade précoce de la maladie à travers une dégénérescence et une démyélinisation du tractus corticospinal émanant des cortex moteurs et prémoteurs [Sach 2004; Wittstock, Wolters, & Benecke 2007; Canu et al. 2011; Cohen-Adad, Zhao, et al. 2013]. Etant donné l'absence de modification du temps de conduction motrice centrale (reflétant le temps de conduction des volées corticospinales et d'activation synaptique des motoneurones [Vucic, Ziemann, et al. 2013]) et de la latence des PEM [Yokota et al. 1996; Eisen & Swash 2001; de Carvalho, Turkman, & Swash 2003; Mills 2003; Wittstock, Wolters, & Benecke 2007; Vucic, Nicholson, & Kiernan 2008; Floyd et al. 2009; Vucic, Cheah, & Kiernan 2009; Vucic, Lin, et al. 2013; Menon, Kiernan, & Vucic 2015; Menon

et al. 2015], il a été suggéré que la perte de myéline résulterait probablement d'une perte axonale plutôt que d'une démyélinisation [Eisen & Swash 2001]. En ce sens, les métriques anatomiques que nous avons obtenues révèlent l'atteinte générale du tractus corticospinal au stade précoce de la maladie. Bien qu'il soit difficile de déterminer si celle-ci résulte d'une perte axonale et/ou d'une démyélinisation, l'absence de modification du PEM_{max} (reflétant l'état de l'axe corticospinal [Devanne, Lavoie, & Capaday 1997]) et de la latence des PEM suggèrent du moins l'absence d'atteinte des fibres corticospinales projetant sur les motoneurones du triceps et du quadriceps.

SEUIL MOTEUR CORTICAL ET INHIBITION INTRA-CORTICALE

Il est établi que le seuil moteur cortical est associé à l'excitabilité des éléments corticospinaux les plus excitables : segment initial des cellules pyramidales et/ou les projections cortico-corticales excitatrices sur ces derniers [Devanne, Lavoie, & Capaday 1997; Rothwell 1997; Ziemann et al. 2015]. Le seuil moteur est également sensible au niveau d'inhibitions corticales parmi lesquelles on distingue d'une part l'inhibition intra-corticale de court intervalle mesurée par TMS double-pulse et évoquée suite à l'application d'un stimulus conditionnant infra-liminaire (au PEM) et d'un stimulus test supra-liminaire (au PEM) à des intervalles de temps courts (ISI 1-5 ms). La stimulation conditionnante mène ainsi à l'inhibition nette du PEM test à travers l'activation d'interneurones corticaux inhibiteurs. Par ailleurs, une facilitation intra-corticale peut être évoquée à des intervalles de temps plus longs (ISI 7-30 ms) [Kujirai et al. 1993; Di Lazzaro et al. 1998; Hanajima et al. 1998; Radhu et al. 2012; Ziemann et al. 2015]. D'autre part, bien qu'un PEM évoqué par une TMS liminaire/supra-liminaire soit suivi d'une période de silence cortical impliquant des mécanismes inhibiteurs spinaux précoces et corticaux tardifs [Ziemann et al. 2015], il est également possible d'évoquer une période de silence cortical par une TMS infra-liminaire (au PEM). Celle-ci induit alors l'interruption de l'activité EMG d'un muscle cible lors d'une légère contraction à travers l'activation d'interneurones corticaux inhibiteurs, suivie par une facilitation de l'EMG à travers un mécanisme encore inconnu [Kujirai et al. 1993; Davey et al. 1994; Hanajima et al. 1998; Radhu et al. 2012; Di Lazzaro & Ziemann 2013]. Etant donné que l'inhibition intra-corticale de courte latence reflète l'inhibition nette à travers l'activation d'interneurones corticaux inhibiteurs et excitateurs, il est difficile de dissocier leurs effets respectifs. Il en est de même concernant l'origine corticale ou spinale de la période de silence post-PEM. Par conséquent, seule la période de silence cortical évoquée par TMS infra-liminaire (au PEM) renseigne spécifiquement de l'activité des interneurones corticaux inhibiteurs. Malheureusement, de nombreuses études se sont focalisées sur la modification des deux premières inhibitions citées, rendant alors difficile leur interprétation. Il a ainsi été rapporté chez les patients SLA que le seuil moteur mesuré au repos était :

- comparable à celui des témoins et associé à une réduction de l'inhibition intra-corticale de courte latence et de la durée de la période de silence corticale post-PEM [Wittstock, Wolters, & Benecke 2007; Vucic, Lin, et al. 2013; Bae et al. 2014], bien que d'autres trouvent cette dernière comparable aux témoins [Ziemann et al. 1997])
- réduit, reflétant une hyperexcitabilité corticale associée à la réduction de l'inhibition intra-corticale de courte latence [Eisen, Entezari-Taher, & Stewart 1996; Yokota et al. 1996; Eisen, Nakajima, &

Weber 1998; Weber et al. 2000; Weber & Eisen 2000; Stewart et al. 2006; Vucic, Cheah, & Kiernan 2009]. Par ailleurs, il a été rapporté lors d'une étude post-mortem la réduction du nombre d'interneurones inhibiteurs du cortex moteur [Maekawa 2004], confirmée par des études de spectroscopie et de tomographie à travers la réduction en GABA [Lloyd et al. 2000; Foerster et al. 2012], bien qu'elle puisse résulter de la perte d'interneurones GABAergiques ou d'une réduction de la production en GABA. Il a ainsi été montré au stade pré-symptomatique sur des coupes cérébrales de modèle murin mutant, que l'augmentation d'excitabilité des cellules pyramidales est associée à la perte des interneurones GABAergiques et à la réduction des PPSI sous-jacents [Nieto-Gonzalez et al. 2011; Saba et al. 2015]

- augmenté, reflétant une hypoexcitabilité corticale [Eisen, Kim, & Pant 1992] associée à un renforcement de l'inhibition intra-corticale évoquée par TMS infraliminaire (au PEM) à travers un renforcement des PPSI [Schmied & Attarian 2008; Attarian, Pouget, & Schmied 2009]. Par ailleurs, une étude menée au stade pré-symptomatique sur des cultures de neurones corticaux issus de souris mutantes a rapporté l'absence de perte d'interneurones corticaux malgré la perte des neurones corticospinaux [Ozdinler et al. 2011]. De plus, l'altération fonctionnelle des récepteurs GABAergiques menant à une amplification de leur effet inhibiteur a été observée au niveau cortical mais pas spinal (l'affinité du récepteur pour son ligand étant inchangée) [Caioli et al. 2013]

En complément des modifications du seuil moteur et de l'inhibition intra-corticale, aucune modification de la facilitation intra-corticale n'a été rapportée [Eisen, Entezari-Taher, & Stewart 1996; Yokota et al. 1996; Ziemann et al. 1997; Eisen, Nakajima, & Weber 1998; Weber & Eisen 2000; Weber et al. 2000; Stewart et al. 2006; Wittstock, Wolters, & Benecke 2007; Vucic, Cheah, & Kiernan 2009; Vucic, Lin, et al. 2013; Bae et al. 2014]. Afin de comprendre l'hétérogénéité de ces paramètres, il est important de tenir compte du fait que ces études ont été menées à différents stades de la maladie, ainsi que sur des musculatures cliniquement atteintes et par conséquent associées à une perte motoneuronale. Il est donc plus difficile de rendre compte des modifications à l'étage cortical. Quelques études longitudinales se sont intéressées à décrire l'évolution de ces paramètres en fonction de la progression de la maladie. Il a ainsi été rapporté chez les patients pré-symptomatiques, un seuil moteur comparable à celui des témoins, associé à une réduction de la durée de la période de silence cortical post-PEM et de l'inhibition intra-corticale de courte latence [Zanette et al. 2002b; Mills 2003; Vucic, Nicholson, & Kiernan 2008; Menon et al. 2015; Menon, Kiernan, & Vucic 2015]. Lors de l'apparition des symptômes, il a été rapporté une réduction du seuil moteur [Vucic, Nicholson, & Kiernan 2008; Menon, Kiernan, & Vucic 2015; Menon et al. 2015] ou son augmentation [Eisen & Swash 2001; Zanette et al. 2002b; Floyd et al. 2009], associées à une augmentation de la durée de la période de silence cortical post-PEM et une réduction de l'inhibition intra-corticale de courte latence. D'autres ont rapporté que le seuil moteur était réduit chez les patients pré-symptomatiques mais qu'il augmente avec l'apparition des symptômes [Mills & Nithi 1997; Zanette et al. 2002a; de Carvalho, Turkman, & Swash 2003], précisant que l'augmentation du seuil moteur était associée à la perte des cellules pyramidales et non des motoneurones [de Carvalho et al. 1999]. Ces données suggèrent que l'excitabilité corticale (à travers le seuil cortical) évolue de l'hyper- vers l'hypo-excitabilité avec l'apparition des symptômes, sans réelle modification de l'inhibition intra-corticale. Notre étude des

courbes de recrutement du PEM de muscles cliniquement non-atteints chez les patients a été effectuée sur 2 groupes dont la durée de la maladie était de $18,8 \pm 2,6$ mois et de $26,6 \pm 3,6$ mois depuis l'apparition des premières faiblesses. Dans le premier groupe nous avons constaté l'absence de modification du seuil moteur cortical sous contraction volontaire et du PEM_{max} des muscles triceps et quadriceps, alors que dans le second groupe (mené uniquement sur le muscle triceps) nous avons montré que seul le seuil moteur cortical sous contraction volontaire était modifié. En effet, nous avons rapporté que son augmentation résulterait d'un renforcement de l'inhibition intra-corticale évoquée par une TMS sous-liminaire (au PEM). Nos résultats confirment ainsi que l'excitabilité corticale évolue avec la progression de la maladie en direction d'une hypoexcitabilité à travers l'augmentation du seuil cortical et de l'inhibition intra-corticale, afin de réduire leur activité. Comme nous allons le voir dans la partie suivante, ces modifications d'excitabilité corticale ont été observées en l'absence de toute modification des motoneurones (nombre, excitabilité) d'un muscle cliniquement non-atteint, suggérant ainsi que l'atteinte corticospinale serait caractérisée par une altération corticale précoce, précédant celle des motoneurones. Par extension, on peut supposer que celle-ci participerait à l'atteinte des motoneurones et à l'apparition des symptômes cliniques dans ces muscles avec l'évolution de la maladie.

PENTE ET PLATEAU

Il est établi que la pente de la courbe de recrutement est associée au niveau d'excitabilité corticospinale, ainsi une réduction de la pente (conduisant à une pente abrupte) représente une augmentation du gain [Devanne, Lavoie, & Capaday 1997]. Le plateau résulte quant à lui de l'équilibre entre les éléments excitateurs et inhibiteurs des volées corticospinales, incluant l'inhibition récurrente des derniers motoneurones recrutés par les volées corticospinales et induite par les premiers motoneurones recrutés par ces mêmes volées corticospinales [Devanne, Lavoie, & Capaday 1997]. Afin d'apprécier la proportion de neurones moteurs activés par une volée corticale (ou périphérique), les PEM (et le réflexe H) sont habituellement normalisés par rapport à M_{max} qui reflète la réponse du noyau moteur entier (Cf. 3-2-1). Mais dans le cas de la SLA où un muscle cliniquement atteint est associé à des motoneurones altérés, il en résulte une réduction de M_{max} et par conséquent un biais de normalisation. En effet, si le numérateur et le dénominateur de ce ratio sont modifiés dans le même sens, celui-ci apparaît comme non modifié, pouvant être comparable aux témoins. De manière alternative, si le numérateur varie dans un sens opposé au dénominateur, il est alors difficile d'interpréter les raisons menant à une telle modification. Il apparaît donc important de considérer les variations de chaque élément indépendamment afin de comprendre le résultat du ratio. Or, de nombreuses études ont omis ce biais de normalisation, menant ainsi à des conclusions erronées malgré des données indépendamment informatives. Ainsi, afin d'échapper à ce problème, nous avons d'une part normalisé les PEM par rapport à l'activité EMG pré-stimulus (de manière analogue aux PES, Cf. 5-1-2) et, d'autre part, nous avons comparé les données brutes et normalisées du réflexe H et de M_{max} .

En tenant compte de ce qui a été dit précédemment, il a été rapporté chez les patients, dans un muscle cliniquement atteint et dont la réponse M était réduite, une augmentation [de Carvalho,

Turkman, & Swash 2003; Vucic, Cheah, & Kiernan 2009; Vucic, Lin, et al. 2013; Bae et al. 2014], une réduction [Eisen, Entezari-Taher, & Stewart 1996; Eisen, Nakajima, & Weber 1998; Weber & Eisen 2000; Weber et al. 2000; Stewart et al. 2006], ou un ratio PEM/M comparable à celui des témoins [Yokota et al. 1996], bien que le PEM ait été rapporté comme augmenté par certains [Vucic, Cheah, & Kiernan 2009; Vucic, Lin, et al. 2013; Bae et al. 2014] et réduit par d'autres [Eisen, Entezari-Taher, & Stewart 1996; Yokota et al. 1996; Ziemann et al. 1997; Eisen, Nakajima, & Weber 1998; Weber & Eisen 2000; Weber et al. 2000; Eisen & Swash 2001; Stewart et al. 2006; Schmied & Attarian 2008; Floyd et al. 2009]. De même, la pente de la courbe de recrutement du PEM exprimée en fonction de M_{\max} a été trouvée réduite (pente abrupte) [Vucic, Ziemann, et al. 2013]. Quelques études longitudinales ont rapporté l'évolution de ces paramètres avec la progression de la maladie. En effet, il a été montré chez des patients pré-symptomatiques ne présentant pas d'atteinte du muscle étudié (associée à une réponse M comparable à celle des témoins) soit un PEM et une pente comparable aux témoins [Vucic, Nicholson, & Kiernan 2008; Menon, Kiernan, & Vucic 2015; Menon et al. 2015], soit une augmentation du PEM et une réduction de la pente [Zanette et al. 2002a]. Alors qu'avec l'évolution de la maladie et l'apparition des symptômes (associée à une réduction de la réponse M) il a été rapporté soit une augmentation du ratio PEM/M (donc une augmentation du PEM) et une réduction de la pente [Vucic, Nicholson, & Kiernan 2008; Menon, Kiernan, & Vucic 2015; Menon et al. 2015], soit une pente moins abrupte associée à une réduction du PEM [Zanette et al. 2002a]. Ces données suggèrent que le gain de recrutement corticospinal évolue de l'hyper- vers l'hypo-excitabilité avec l'apparition des symptômes, associée à une réduction du PEM. Au cours de notre étude des courbes de recrutement du PEM de muscles cliniquement non-atteints chez les patients, nous n'avons pas constaté de modification de la pente, ni du PEM_{\max} , ni de M_{\max} à l'exception d'une étude (Cf. 4-2-1). Bien qu'il puisse être suggéré que la réduction de M_{\max} reflète la dégénérescence des motoneurones, la réduction de M_{\max} peut résulter du fait que les stimuli supra-maximaux évoquant cette réponse peuvent se propager aux rameaux nerveux avoisinants, parasitant ainsi l'EMG du muscle cible par la contraction des muscles proches, et ce d'autant plus fréquemment chez les patients SLA du fait de leur perte musculaire [Mazzini & Balzarini 2000]. En comparaison aux études précédentes, nos résultats suggèrent le stade précoce de l'investigation à travers l'absence de modification de l'excitabilité et du nombre de motoneurones suppléant un muscle cliniquement non-atteint.

5-3. ATTEINTES SENSORIMOTRICES

Nous avons montré que les motoneurones des muscles triceps et quadriceps (cliniquement non-atteints) sont hyperexcités par les afférences périphériques. Plus spécifiquement, nous apportons non seulement la preuve que l'activité de la connexion monosynaptique est modifiée indépendamment de la réduction des volées périphériques, mais également la preuve que l'altération d'activité de certains interneurones précède l'atteinte des motoneurones.

5-3-1. CONNEXIONS MONOSYNAPTIQUES

Nous avons montré chez les patients, l'hyperactivation des motoneurones du triceps à travers des volées afférentes périphériques réduites issues des muscles intrinsèques de la main cliniquement atteints. Cette hyperactivation ne résulte pas d'une hyperexcitabilité intrinsèque des noyaux moteurs étant donné l'absence d'une telle activité à travers les volées corticospinales. Par conséquent, nous suggérons que cette hyperactivation résulte d'une hyperexcitation à travers une modification d'activité de la synapse la-motoneurones. Bien que les ISI théoriques et expérimentaux de convergence des volées périphériques et corticospinales sur les motoneurones du triceps ne soient pas différents entre les groupes, nous avons constaté que l'ISI expérimental est plus précoce. Or, il est établi que l'ISI de convergence spatio-temporelle à travers une connexion monosynaptique est relativement plus court que l'ISI théorique calculé, en raison de la mesure approximative de la distance et de la vitesse de conduction, et/ou que la sommation spatio-temporelle au niveau des motoneurones produise un PPSE présentant un temps de montée réduit pouvant activer les motoneurones à conduction rapide et de haut seuil qui étaient seulement dépolarisés par les stimuli appliqués séparément, et/ou une interaction des volées périphériques avec les volées corticospinales tardives qui se manifeste à un ISI plus précoce que celui attendu avec les volées corticospinales directes [Pauvert, Pierrot-Deseilligny, & Rothwell 1998; Marchand-Pauvert, Simonetta-Moreau, & Pierrot-Deseilligny 1999]. D'un autre côté, notre étude de l'arc réflexe monosynaptique à travers les courbes de recrutement du réflexe H et de la réponse M du quadriceps (cliniquement non-atteint) chez les patients a également rapporté l'hyperexcitation des motoneurones par les volées afférentes périphériques à travers une pente abrupte et une augmentation du H_{max} . L'absence de modification de la réponse M reflète quant à elle l'absence d'altération des noyaux moteurs dont l'excitabilité intrinsèque ne semble pas être modifiée (confirmée par la courbe de recrutement du PEM).

Les études du réflexe H et de la réponse M ont montré une réponse M réduite dans les muscles cliniquement atteints [Weber et al. 2000; Drory, Kovach, & Groozman 2001; Christensen, Nielsen, & Sinkjaer 2003; Argyriou et al. 2006; Noto et al. 2011; Simon et al. 2015], associée à un réflexe H réduit [Drory, Kovach, & Groozman 2001; Simon et al. 2015]. Par analogie au biais de normalisation du PEM, la mesure du ratio H/M rapporte également des résultats hétérogènes : ratio comparable à celui des témoins (bien que le réflexe H et la réponse M aient été rapportées réduites) [Drory, Kovach, & Groozman 2001; Simon et al. 2015], ou augmenté (mais les modifications indépendantes du réflexe H et de la réponse M ne sont pas précisées) [Raynor & Shefner 1994]. De même, la pente de la réponse M a été rapportée réduite (abrupte) alors que la pente du H était comparable à celle des témoins, menant à un ratio de la pente H/M augmenté [Simon et al. 2015]. Des études longitudinales ont montré qu'avec la progression de la maladie, la force musculaire est réduite et par conséquent la réponse M également, alors que le réflexe H (comparable à celui des témoins) est augmenté (probablement à travers une désinhibition des motoneurones), alors qu'il est réduit aux stades avancés de la maladie [Mazzini et al. 1997; Mazzini & Balzarini 2000]. Ces données suggèrent que l'excitabilité des motoneurones évolue de l'hyper- vers l'hypo-excitabilité avec l'apparition des symptômes et l'atteinte des noyaux moteurs. Il a par ailleurs été montré que

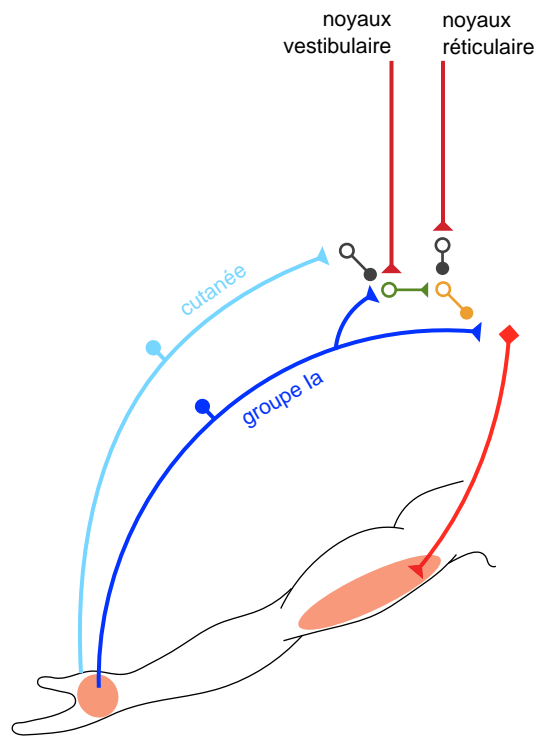


figure. 12 : Niveau tonique d'inhibition pré-synaptique de la terminaison du groupe Ia.

Il existe un niveau d'inhibition pré-synaptique basal résultant du maintien de l'inhibition tonique de l'interneurone de second ordre (orange) par les noyaux de la formation réticulaire, ou une excitation de l'interneurone de premier ordre (vert) par les noyaux vestibulaires, ou encore d'une inhibition tonique des interneurons inhibiteurs transmettant l'inhibition cutanée à l'interneurone de premier ordre.

l'augmentation du réflexe H est associée à un meilleur pronostic pour les patients [Mazzini et al. 1997; Mazzini & Balzarini 2000] et que celui-ci peut parfois être évoqué chez les patients dans des muscles où il est normalement difficile de l'évoquer (muscles intrinsèques de la main par exemple) [Mazzini et al. 1997; Swash 2012], suggérant que l'hyperexcitabilité des motoneurones participe à leur maintien (**Cf. 2-4-1.c**). Bien que la vitesse de conduction motrice périphérique ait été trouvée normale [Noto et al. 2011], celle-ci est légèrement réduite aux stades avancés de la maladie, reflétant la perte préférentielle des axones de gros diamètre [Eisen & Swash 2001; Argyriou et al. 2006; Simon et al. 2015]. Par analogie, il a également été rapporté dans les modèles animaux de la maladie, une réduction de la réponse M et une augmentation du réflexe monosynaptique au stade pré-symptomatique [Mancuso et al. 2011], bien que ce dernier diminue avec l'apparition des symptômes [Jiang et al. 2009], supportant ainsi que l'hypoexcitabilité précède la dégénérescence des motoneurones et que l'hyperexcitabilité semble avoir un effet protecteur (**Cf. 2-4-1.c**). En comparaison, l'hyperexcitation des motoneurones que nous avons mise en évidence, en l'absence d'atteinte du noyau moteur et de modification de la latence des réponses, indique le stade précoce de l'investigation.

L'étude des potentiels d'unités motrices, permettant d'étudier les fonctions synaptiques sur les motoneurones en contournant l'effet du noyau moteur lié à la sommation des réponses [Mazzini & Balzarini 2000; Pierrot-Desseilligny & Burke 2012], a rapporté que les potentiels post-synaptiques n'étaient pas différents des témoins chez les patients [Soliven & Maselli 1992; Nakajima et al. 1996] et les modèles animaux de la maladie [Jiang et al. 2009]. Ainsi, les effets que nous avons observés à travers la connexion la-motoneurones ne peuvent s'expliquer par une augmentation de l'excitabilité de la synapse la-motoneurones. Cependant, celle-ci peut être modulée par divers circuits d'interneurones inhibiteurs. A l'étage cervical, l'inhibition récurrente ne semble pas envisageable étant donné que les afférences issues des muscles intrinsèques de la main projetant aux motoneurones du triceps en sont dépourvus [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012]. Bien que l'implication de l'inhibition Ib ne soit pas exclue, l'inhibition pré-synaptique apparaît plus probable en raison de l'absence de modification de l'activité du noyau moteur par les afférences corticospinales (**Cf. 5-2-1**). En effet, une inhibition post-synaptique s'exerçant directement au niveau des motoneurones aurait pour conséquence de produire une hyperpolarisation qui limiterait leur réponse aux volées corticospinales et aurait donc une influence sur les PEM. Il est établi qu'il existe un niveau d'inhibition pré-synaptique basal résultant du maintien de l'inhibition tonique de l'interneurone de second ordre par les noyaux de la formation réticulaire, ou d'une excitation de l'interneurone de premier ordre par les noyaux vestibulaires [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012], ou encore d'une inhibition tonique des interneurones inhibiteurs transmettant l'inhibition cutanée à l'interneurone de premier ordre (**Cf. figure 12**) [Nakashima et al. 1990; Aimonetti et al. 2000]. Étant donné la possible préservation des afférences cutanées (**Cf. 5-1-1**), il apparaît peu probable qu'une modification de l'inhibition cutanée puisse être à l'origine d'une modification de l'inhibition pré-synaptique. En revanche, il a été rapporté dans une étude post-mortem que la formation réticulaire du tronc cérébral était atteinte dans la maladie [Smith 1960]. Par conséquent, un défaut d'influx périphériques proprioceptifs (reflété par la réduction du potentiel N9) et/ou reticulospinal serait à

l'origine d'une réduction de l'inhibition pré-synaptique [Faist, Dietz, & Pierrot-Deseilligny 1996], menant à l'augmentation d'activité de la connexion la-motoneurone et à l'hyperexcitation sous-jacente des motoneurones. Par analogie, à l'étage lombaire il peut être envisagé l'implication de l'inhibition pré-synaptique, récurrente, ou Ib, ainsi que par la dépression homo-synaptique [Faist, Dietz, & Pierrot-Deseilligny 1996; Lundbye-Jensen & Nielsen 2008; Pierrot-Deseilligny & Burke 2012]. Bien que cette dernière soit produite à des fréquences de stimulation supérieure à 10 Hz [Pierrot-Deseilligny & Burke 2012], elle peut être exclue étant donnée la fréquence de stimulation que nous avons utilisée (0,33 Hz). A la différence de l'étage cervical, l'inhibition pré-synaptique est déprimée par les volées réticospinales au membre inférieur [Pierrot-Deseilligny & Burke 2012], tout comme l'inhibition récurrente [Mazzocchio, Rossi, & Rothwell 1994]. Bien que l'inhibition récurrente et l'inhibition Ib ne peuvent pas être totalement exclues, les résultats préliminaires que j'ai obtenus au cours d'une collaboration de 2 mois avec le Pr. Kiernan à l'Université de Sydney (Australie), indique une réduction de l'inhibition pré-synaptique (et de l'inhibition réciproque) s'exerçant sur les motoneurones du muscle soléaire de patients SLA. Bien que cette étude soit encore en cours d'acquisition, elle soutient le défaut de l'inhibition pré-synaptique, comme suggéré par d'autres auteurs [Schieppati, Poloni, & Nardone 1985; Schieppati, Nardone, & Poloni 1987; Morin & Pierrot-Deseilligny 1988; Drory, Kovach, & Groozman 2001], et nécessiterait d'être vérifiée au membre supérieur également. Si celle-ci ne peut s'expliquer par une réduction des volées rubrospinales comme à la moelle cervicale, il peut être suggéré que les interneurones de premier et second ordre soient intrinsèquement affectés. En effet, même s'il n'est pas totalement exclu que les fuseaux neuromusculaires soient affectés au stade pré-symptomatique (comme chez la souris [Vaughan et al. 2015]), il apparaît peu probable que les afférences périphériques d'un muscle cliniquement non-atteint soient altérées avant leurs motoneurones (**Cf. 2-4-1.b**). Par conséquent, il peut être suggéré que l'activité des interneurones soit altérée avant celle des motoneurones, indépendamment de toute réduction des volées périphériques, et menant ainsi à l'atteinte secondaire des motoneurones comme il l'a été montré dans des modèles animaux de la maladie (**Cf. 2-4-1.b**).

5-3-2. CONNEXIONS NON-MONOSYNAPTQUES

Bien que quelques études aient rapporté l'atteinte des interneurones chez l'Homme et les modèles animaux de la maladie, ces données restent très limitées (**Cf. 2-3-2.b**). En plus de l'éventuelle altération de l'inhibition pré-synaptique suggérée précédemment, nous avons observé une augmentation de l'activité du système propriospinal excitateur cervical et lombaire, ainsi que celle des cellules de Renshaw chez les patients.

SYSTÈME PROPRIOSPINAL CERVICAL C3-C4

La stimulation des nerfs ulnaire au coude et radial superficiel a pour effet d'évoquer des volées dans les afférences du groupe I (essentiellement Ia) et cutanée ($A\beta$), respectivement. Ces afférences étant dépourvues de connexions monosynaptiques hétéronymes aux motoneurones du triceps, elles nous permettent de confirmer que la facilitation et l'inhibition du PEM par les nerfs

ulnaire au coude et radial superficiel (respectivement) se font à travers le système propriospinal et leurs interneurons inhibiteurs [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

Nos résultats montrent que l'hyperexcitation des motoneurons (qui plus est d'un muscle cliniquement non-atteint) résulterait de l'augmentation d'excitabilité des neurones propriospinaux excitateurs, soutenant l'hypothèse selon laquelle l'altération d'activité des interneurons précéderait et conduirait à celle des motoneurons. Par ailleurs, nous avons observé que la facilitation propriospinale était renforcée chez les patients à travers une augmentation de sa durée mais pas de son amplitude. Il est probable que cet allongement d'activité est associé à une augmentation d'activité des PIC- Na^+ comme suggéré par van Zundert et al. 2008 et Jiang et al. 2009 dans les interneurons de modèles animaux de la maladie. De manière alternative, nous n'avons pas trouvé de modification de l'inhibition transmise par les interneurons inhibiteurs du système propriospinal à travers les afférences cutanées non-atteintes (**Cf. 5-1-1**), reflétant l'absence d'altération de l'activité de ces interneurons. Il peut alors être suggéré que le prolongement de la facilitation propriospinale résulterait d'un défaut d'excitation de leurs interneurons inhibiteurs par les afférences du groupe I (qui sont réduites par analogie au potentiel N9, **Cf. 5-1-1**). En effet, il est établi que les afférences du groupe I projettent sur les neurones propriospinaux excitateurs (à bas seuil d'activation) et leurs interneurons inhibiteurs (à haut seuil d'activation). Ainsi, en augmentant la stimulation du nerf ulnaire au coude de $0,75 \times \text{MT}$ à $1 \times \text{MT}$, l'activité propriospinale nette passe d'une facilitation à une inhibition par leur interneurone inhibiteur, disfacilitant l'activité des motoneurons [Malmgren & Pierrot-Desseilligny 1988]. Il serait ainsi intéressant de tester cette hypothèse chez les patients, la stimulation à $1 \times \text{MT}$ du nerf ulnaire au coude pourrait mener à une disfacilitation du PEM suggérant un défaut d'activation des interneurons inhibiteurs par les afférences du groupe I à $0,75 \times \text{MT}$, ou à un renforcement de la facilitation du PEM suggérant l'hyperactivité intrinsèque des neurones propriospinaux excitateurs (associé au PIC).

SYSTÈME PROPRIOSPINAL LOMBAIRE L2-L3

La stimulation du nerf fibulaire a pour effet d'évoquer des volées dans les afférences du groupe I (essentiellement Ia), II et cutanées. Etant donnée la différence de vitesse de conduction à travers les afférences du groupe I (69 m/s) et II (40-45 m/s), les ISI longs que nous avons testé reflètent la transmission des volées périphériques à travers les afférences du groupe II qui constituent la source principale d'excitation du système propriospinal excitateur [Marchand-Pauvert et al. 2002; Pierrot-Desseilligny & Burke 2012]. En complément de l'étage cervical, nous avons observé un renforcement de la facilitation propriospinale lombaire, appuyant l'hypothèse selon laquelle l'hyperexcitation des motoneurons résulterait de l'augmentation d'excitabilité des neurones propriospinaux excitateurs, pouvant précéder et conduire à celle des motoneurons.

Bien qu'en condition de repos les afférences du groupe II sont connues pour produire une facilitation du réflexe H à travers l'activation du système propriospinal excitateur ; sous contraction volontaire supérieure à 15% MVC, le réflexe H est inhibé à travers la convergence des volées des nerfs fibulaire, fémoral et des volées corticospinales sur les interneurons Ib projetant sur les motoneurons du muscle quadriceps et abolissant la facilitation du groupe II [Marchand-Pauvert et al.

2002]. Bien qu'il ait été demandé à nos participants sains d'effectuer une contraction du muscle quadriceps d'environ 20% MVC, nous n'avons pas observé d'inhibition du réflexe H mais une disfacilitation (non significative). Il peut être postulé que la réduction de la force de l'inhibition exercée par les interneurons Ib serait liée à l'âge avancé de nos participants sains [Earles, Vardaxis, & Koceja 2001; Jiang et al. 2009; Baudry, Collignon, & Duchateau 2015] par comparaison à l'étude de Marchand-Pauvert et al. 2002. Par extension, nous avons observé une disfacilitation significative du réflexe H chez les patients, mais non différente de celle des participants sains, suggérant que l'inhibition Ib n'est pas altérée dans la maladie, bien que nous l'ayons testée ici de façon indirecte. Pour le vérifier, il serait intéressant de tester directement l'inhibition Ib s'exerçant entre les afférences issues du muscle *gastrocnemius medialis* et les motoneurons du soléaire ou du quadriceps [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012].

L'existence d'atteintes des sources monoaminergiques, principalement à travers une réduction en sérotonine a été rapportée dans la SLA [Sandyk 2006; Dentel et al. 2013], menant par conséquent à de possibles modifications d'activité des motoneurons, des projections afférentes et de certains interneurons (Cf. 2-3-2.c). En effet, la réduction en sérotonine peut induire une réduction d'inhibition des afférences du groupe II (renforçant leur effet excitateur) [Jankowska et al. 2000; ElBasiouny, Schuster, & Heckman 2010; Pierrot-Desseilligny & Burke 2012] et pourrait alors expliquer le renforcement de la facilitation propriospinale lombaire que nous avons observé.

5-4. CELLULES DE RENSHAW

En stimulant le nerf tibial postérieur à une intensité maximale, nous avons évoqué de fortes volées antidromiques dans les efférences motrices issues des motoneurons du soléaire, ayant pour effet d'activer les cellules de Renshaw qui exercent une inhibition récurrente sur les motoneurons du quadriceps et durant 30 ms [Meunier et al. 1990]. Nous avons montré que les cellules de Renshaw activées par les volées périphériques issues d'un muscle cliniquement atteint (étant donné la réduction de M_{\max} du muscle soléaire) induisent une forte inhibition récurrente sur les motoneurons d'un muscle cliniquement non-atteint chez les patients. La modification de l'inhibition récurrente a également été rapportée chez la souris mutante à travers un *sprouting* compensateur des cellules de Renshaw visant à augmenter les influx inhibiteurs sur les motoneurons [Chang & Martin 2009; Wootz et al. 2013], bien qu'il ne soit pas précisé si celle-ci s'effectue à travers une modification de l'activité intrinsèque des cellules de Renshaw ou de modifications morphologiques. Il est établi que les cellules de Renshaw reçoivent leurs influx majoritairement des unités motrices de type FF mais la force des projections est plus importante à partir des unités motrices de type S [Hultborn, Lipski, & Mackel 1988; Hultborn, Katz, & Mackel 1988]. De plus, la dégénérescence préférentielle des unités motrices de type F est suivie d'un phénomène de ré-innervation de la jonction neuromusculaire par les unités motrices de type S, relativement résistantes aux processus pathologiques (Cf. 2-3-1). Il n'est donc pas exclu que les cellules de Renshaw soient également soumises à une ré-innervation par les unités motrices de type S, menant par conséquent au renforcement de leur activité. D'un autre côté, il est établi que les cellules de Renshaw exercent une inhibition récurrente plus importante sur les

motoneurones de type S [Hultborn, Lipski, & Mackel 1988; Hultborn, Katz, & Mackel 1988]. Par conséquent, un tel renforcement de l'inhibition récurrente chez les patients pourrait participer à la conservation des noyaux moteurs en réduisant leur excitabilité. En complément, un défaut de sérotonine peut également mener à une réduction de l'inhibition des cellules de Renshaw, renforçant ainsi leur activité inhibitrice [Jankowska et al. 2000; ElBasiouny, Schuster, & Heckman 2010; Pierrot-Desseilligny & Burke 2012]. Etant donné la progression stéréotypée des atteintes musculaires selon un gradient disto-proximal chez les patients [Vucic, Rothstein, & Kiernan 2014] et l'inexistence de projections récurrentes sur les motoneurones des muscles intrinsèques de la main et du pied [Pierrot-Desseilligny & Burke 2012], il semblerait que cette absence d'inhibition participerait à l'atteinte préférentielle des musculatures distales et à la relative résistance des musculatures proximales. Il a par ailleurs été récemment rapporté que l'atteinte précoce des musculatures distales résulte d'une vulnérabilité dépendante de la longueur axonale et débutant à la jonction neuromusculaire [Noto et al. 2011; Isak et al. 2016; Tallon et al. 2016]. L'atteinte des musculatures proximales avec la progression de la maladie reflète probablement l'insuffisance de l'inhibition récurrente face aux mécanismes menant à l'hyperexcitabilité des motoneurones. En complément de l'inhibition récurrente des motoneurones suppléant le muscle quadriceps par le nerf tibial postérieur, il serait intéressant de tester l'inhibition récurrente des motoneurones suppléant le muscle soléaire par le nerf fémoral afin de tester si une telle activité des cellules de Renshaw s'applique sur des muscles cliniquement atteints (ou en devenir) à partir de noyaux moteur non-affectés.

Il est également établi que les cellules de Renshaw projettent sur les motoneurones- γ et inhibent leur activité consistant à réguler la sensibilité des fuseaux neuromusculaires à l'étirement du muscle (les afférences du groupe II et leur interneurones exercent, quant à eux, une excitation sur les motoneurones- γ) [Pierrot-Desseilligny & Marchand-Pauvert 2002; Manuel & Zytnicki 2011]. Il peut alors être suggéré qu'un excès d'inhibition par les cellules de Renshaw peut mener à réduire la sensibilité des fuseaux neuromusculaires, participant ainsi à réduire les volées afférentes proprioceptives à travers l'altération des fuseaux neuromusculaires, comme discutés à la partie **5-1-1**.

VI. CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

Afin de conclure cette thèse et dans la continuité des résultats que nous avons mis en évidence au cours de celle-ci, il apparaît opportun de souligner l'importance des propriétés de réseau dans les mécanismes pathologiques menant au développement de la SLA, mais également de tout autre maladie neurodégénérative. En effet, étant donné que les symptômes cliniques de la maladie apparaissent à la suite de l'atteinte des neurones moteurs, les recherches se sont légitimement focalisées sur les mécanismes pathologiques participant à déstabiliser et entraîner leur dégénérescence, ainsi qu'à tenter de déterminer les potentielles voies de propagation. Malheureusement, cette approche consiste généralement à considérer l'atteinte de chaque élément indépendamment, en tentant de dessiner les liens les unissant. Or, les neurones, les interneurons et les cellules gliales appartiennent à un système complexe constituant un réseau dans lequel chacun interagit étroitement avec l'autre, modulant et participant conjointement à leur activité. Par conséquent, l'altération fonctionnelle d'un seul élément va avoir des répercussions sur l'ensemble du système. En ce sens, il apparaît intéressant de s'interroger sur les mécanismes prenant place en amont de l'atteinte des neurones moteurs, ainsi que sur les raisons menant à l'atteinte préférentielle de ces derniers et à la propagation de la maladie.

6-1. POURQUOI LES NEURONES MOTEURS SONT-ILS PRÉFÉRENTIELLEMENT ATTEINTS?

Dans la mesure où les protéines mutées sont exprimées tout au long de la vie du patient et de manière ubiquitaire (neurones moteurs [Ferraiuolo et al. 2011], neurones sensitifs [Sábado et al. 2014], interneurons [Hossaini et al. 2011], glies [Philips & Rothstein 2014], myocytes [Dobrowolny et al. 2008]), il est légitime de se demander pourquoi les neurones moteurs dégénèrent préférentiellement (et en particulier les unités motrices de type F) et pourquoi les symptômes n'apparaissent qu'à un âge avancé [Saxena, Cabuy, & Caroni 2009] ?

HYPOTHÈSE DU VIEILLISSEMENT

L'âge doit probablement jouer un rôle dans l'initiation de la maladie à travers une réduction progressive de l'efficacité des mécanismes génétiques et métaboliques protecteurs (homéostasie, pouvoir tampon, stress, protéasome, autophagie, protéines chaperonnes, etc.) menant par conséquent à l'accumulation d'altération et déclenchant la dégénérescence après avoir atteint un certain seuil [Eisen 1995; Morrison et al. 1998; Soto 2003; Hedlund et al. 2010; Polymenidou & Cleveland 2011; Gama Sosa, De Gasperi, & Elder 2012; Comley et al. 2015]. Mais le vieillissement affectant en principe toutes les cellules, cela n'explique pas l'atteinte préférentielle des neurones moteurs. De manière alternative, il a alors été proposé que la dégénérescence des neurones moteurs résulterait d'un environnement hostile ne leur permettant pas de maintenir leur fonction [Sica 2012]. En ce sens, les atteintes autonomes non-cellulaires à travers notamment la glie, pourraient expliquer pourquoi les neurones moteurs dégénèrent préférentiellement [Boillée, Vande Velde, & Cleveland 2006]. Par

ailleurs, les neurones étant des cellules post-mitotiques avec de grandes demandes métaboliques/énergétiques liées à leur activité, il est probable qu'ils soient exposés à un plus grand degré de stress et présentent un faible potentiel régénératoire menant à leur grande sensibilité par rapport à d'autres cellules [Bradley et al. 2009; Harwood, McDermott, & Shaw 2009; ElBasiouny, Schuster, & Heckman 2010; Le Masson, Przedborski, & Abbott 2014].

HYPOTHÈSE DE LA FATIGABILITÉ

Bien que cela ne concerne que les motoneurones du membre supérieur, il a été montré que la dominance manuelle influence le début et la propagation des faiblesses. Celle-ci reflèterait alors un stress résultant de l'utilisation excessive des motoneurones cervicaux pour les demandes physiques routinières, étant donné que la fonction bipède utilise équitablement les motoneurones lombaires, expliquant ainsi leur atteinte simultanée [Turner et al. 2011; Bae et al. 2014; Devine et al. 2014]. L'étendue des représentations corticales et la force des projections corticospinales ont également été postulées. En effet, il a été montré qu'il n'existe pas de projection corticospinale directe sur les noyaux crâniens oculaires et Onuf (résistants à la maladie), alors que ces projections sont fortes sur les motoneurones suppléant les muscles de la main et de l'avant-bras, pouvant mener à leur utilisation excessive [Eisen, Entezari-Taher, & Stewart 1996; Kiernan et al. 2011; de Carvalho et al. 2014]. De plus, il a été montré que la longueur axonale participe également à l'instabilité des jonctions neuromusculaires et à l'atteinte préférentielle des muscles distaux [Noto et al. 2011; Isak et al. 2016; Tallon et al. 2016]. En complément, il a été suggéré que l'atteinte pré-symptomatique des afférences sensibles proprioceptives Ia/II dans le modèle murin de la maladie pourrait être associée aux similitudes qu'elles partagent avec les axones moteurs : gros neurone, long axone, connexions mono- ou oligo-synaptiques aux motoneurones, dépendance aux facteurs trophiques musculaires et relation étroite avec la glie. Il a d'ailleurs été proposé que la relative résistance des afférences Ib pourrait être dépendante de l'absence d'interaction directe avec le muscle, compte tenu du fait qu'elles innervent les fibres de collagène du tendon [Vaughan et al. 2015].

HYPOTHÈSE DES PROPRIÉTÉS INTRINSÈQUES

Au sein même des noyaux moteurs vulnérables, il a été observé que leur excitabilité différentielle dicte leur survie (hypoexcitable) ou leur mort (hyperexcitable) [Delestrée et al. 2014; Venugopal et al. 2015]. Il a ainsi été proposé que les unités motrices de type S sont relativement résistantes au processus dégénératif étant donné qu'elles présentent une excitabilité réduite à travers une AHP longue, de grands PIC [Manuel & Zytnicki 2011], une grande résistance d'entrée [Bories et al. 2007] et un mode de décharge tonique, menant probablement à une meilleure efficacité des mécanismes régulant l'homéostasie ionique et énergétique [Pun et al. 2006]. À l'opposé, les unités motrices de type F présentent une AHP courte, de petits PIC [Manuel & Zytnicki 2011], une faible résistance d'entrée [Bories et al. 2007] et un mode de décharge phasique [Pun et al. 2006; Zona, Pieri, & Carunchio 2006]. Par ailleurs, bien qu'il ait été rapporté *in vitro*, au stade embryonnaire, l'augmentation des PIC-Na⁺ dans les unités motrices de type F et S issues de modèles murins de la maladie, les types S présentent également un courant supplémentaire probablement transmis à travers l'augmentation des courants sortant potassiques ou d'une réduction des PIC-Ca²⁺ (bien qu'il ait été

suggéré que ces derniers ne sont pas présents dans la majorité des cellules au stade embryonnaire), participant ainsi à compenser l'entrée de sodium et l'excitabilité sous-jacente [Kuo et al. 2005]. En complément, il a été rapporté un défaut des courants inhibiteurs associé à une réduction d'expression des récepteurs glycinergiques et GABAergiques [Lorenzo et al. 2006; Chang & Martin 2011; Chang & Martin 2011; Martin & Chang 2012], des protéines tampon du calcium [Morrison et al. 1996; Van Den Bosch et al. 2006; Grosskreutz, Van Den Bosch, & Keller 2010] et une régulation/expression différentielle des gènes et protéines impliqués dans diverses fonctions cellulaires et métaboliques [Hedlund et al. 2010; Comley et al. 2015] dans les unités motrices de type F comparativement au type S.

6-2. PROPAGATION DES ATTEINTES

Les premiers déficits moteurs étant focaux, ils progressent au cours de l'évolution de la maladie pour devenir diffus et complexes [Ravits, Paul, & Jorg 2007; Ravits 2014]. Plusieurs modèles de propagation ont alors été proposés afin de définir le lieu où débute la maladie et le mode de transmission de l'atteinte aux motoneurones à travers le réseau.

HYPOTHÈSE DE LA PROPAGATION RÉTROGRADE (« DYING-BACK »)

Elle propose que la maladie serait initiée à la terminaison nerveuse, étant donné qu'il a été rapporté que la dégénérescence de la jonction neuromusculaire précède celle des motoneurones [Pun et al. 2006]. L'atteinte du soma résulterait par conséquent de la propagation rétrograde du « pathogène » [Dadon-Nachum, Melamed, & Offen 2011; Kiernan et al. 2011]. Mais une expérience de ré-innervation croisée menée sur le modèle murin de la maladie a rapporté que la dénervation reflète une vulnérabilité sélective des propriétés de l'axone moteur et non du muscle cible ou de la jonction neuromusculaire [Pun et al. 2006].

HYPOTHÈSE DE LA PROPAGATION ANTÉROGRADE (« DYING-FORWARD »)

Elle suggère que l'atteinte des cellules pyramidales mènerait à l'atteinte des motoneurones [Kiernan et al. 2011], à travers le fait qu'une seule cellule pyramidale connecte plusieurs motoneurones, menant ainsi à leur perte accrue [Eisen, Kim, & Pant 1992; Thomsen et al. 2014; Fogarty, Noakes, & Bellingham 2015]. Mais une étude *ex vivo* menée sur les motoneurones de souris mutante au stade embryonnaire a rapporté leur hyperexcitabilité, précédant toute activité et toute connectivité des cellules pyramidales [Martin et al. 2013]. En effet, il est établi que l'activité spontanée des motoneurones se met en place au stade embryonnaire, alors que celle des cellules pyramidales ainsi que leurs projections aux motoneurones se mettent en place en post-natal [Woodworth et al. 2012; Martin et al. 2013].

HYPOTHÈSE DE L'ATTEINTE INDÉPENDANTE (« PRION-LIKE »)

Etant donné qu'il apparaît difficile de pouvoir définir quel élément est affecté en premier, il a été postulé que la SLA serait une maladie à dégénérescence trans-synaptique pouvant se propager autant dans un sens rétrograde qu'antérograde. La propagation pourrait ainsi s'effectuer de neurone à

neurone, mais également à distance à travers le sang, le liquide cébrospinal ou la glie (formant un syncytium) [Stephens et al. 2006; Kiernan et al. 2011; Pradat, Kabashi, & Desnuelle 2015]. Une transmission semblable au mécanisme du prion (également retrouvé dans les maladies d'Alzheimer (protéine tau), Parkinson (protéine α -synucléine) et Huntington (protéine huntingtine) [Münch, O'Brien, & Bertolotti 2011; Polymenidou & Cleveland 2011]) a ainsi été proposée, compte-tenues des similitudes entre ce dernier et les protéines mutantes SOD1, TDP-43 et FUS/TLS. En effet, l'agent infectieux est l'isoforme mal-conformée d'une protéine normalement inoffensive pouvant se répliquer de manière autonome ou en forçant la conformation des protéines natives, s'agréger et exercer leur potentiel délétère en résistant aux activités protéasiques, se propager à travers des mécanismes d'endo/exocytose et menant ainsi à l'atteinte graduelle des neurones moteurs [Soto 2003; Grad et al. 2011; Münch, O'Brien, & Bertolotti 2011; Polymenidou & Cleveland 2011; Sica 2012; Verma 2013; Grad & Cashman 2014], à travers les interneurones [Hossaini et al. 2011] et neurones sensitifs [Sábado et al. 2014].

6-3. PROPRIÉTÉS DE RÉSEAU

Comme nous avons pu le voir au cours de cette thèse, l'atteinte des neurones moteurs ne résulte probablement pas d'une vulnérabilité sélective, mais plutôt de la convergence simultanée de multiples altérations, provoquant des dommages non seulement dans les neurones (moteurs, sensitifs, interneurones) mais également dans les cellules avoisinantes (glies, myocytes) [Morrison et al. 1998; Ilieva, Polymenidou, & Cleveland 2009; Chang & Martin 2011; Chang & Martin 2011; McGown et al. 2013]. En effet, il a été montré que la dégénérescence autonome non-cellulaire n'initie pas les atteintes, mais participe à les amplifier et les propager [Dobrowolny et al. 2008; Shi et al. 2010; Wong & Martin 2010; Zhou et al. 2010; Mancuso et al. 2011; Hooten et al. 2015; Murdock et al. 2015]. Etant donnée l'étroite interconnexion entre les éléments de ce réseau, il n'est donc pas surprenant de constater leur atteinte au cours de la maladie et leur participation à l'hyperexcitabilité des motoneurones. Nos résultats révèlent ainsi que l'atteinte des afférences sensitives et des interneurones précède et participe à la propagation des atteintes aux motoneurones.

Il apparaît donc primordial de considérer l'atteinte du système nerveux dans son ensemble afin de mieux appréhender les processus pathologiques mis en œuvre dans la maladie, en vue de développer une thérapie adaptée multifactorielle et non focalisée uniquement sur les défaillances fonctionnelles des neurones moteurs. En ce sens, nos résultats montrent que les afférences sensitives issues des premiers muscles atteints semblent modifier l'excitabilité des neurones moteurs au travers d'un dysfonctionnement précoce des interneurones. Il pourra ainsi être envisagé le développement de nouvelles pistes thérapeutiques ciblant spécifiquement les interneurones et visant à réduire l'activité des interneurones excitateurs et de renforcer celles des interneurones inhibiteurs. Il apparaît d'ailleurs de plus en plus évident qu'une unique approche thérapeutique est insuffisante pour traiter la maladie. En effet, malgré l'existence d'un phénotype similaire entre patients, différents mécanismes pathologiques cellulaires et moléculaires sous-jacents sont impliqués. Cette hétérogénéité mène ainsi à considérer que certains composés chimiques peuvent être bénéfiques uniquement pour une sous-

catégorie de patients et qu'une médication personnalisée serait alors requise selon les besoins [Bendotti & Carri 2009; Ozdinler et al. 2011]. Par conséquent, les futures avancées thérapeutiques ne viseront probablement pas à traiter la SLA mais plutôt une forme de SLA à travers l'action de plusieurs médicaments à effet synergique ou complémentaire [Bellingham 2011; Mitsumoto, Brooks, & Silani 2014].

Pour finir, malgré l'apport incontestable des modèles animaux dans l'approfondissement de nos connaissances concernant les mécanismes pathologiques de la maladie, et notamment au stade pré-symptomatique, l'efficacité différentielle des composés pharmacologiques (bénéfiques chez l'animal et sans effet ou délétères chez l'Homme [Turner & Talbot 2008; Dupuis & Loeffler 2009; Gordon, Corcia, & Meiningner 2013; Perrin 2014]) reflète que ces modèles ne permettent pas d'étudier l'ensemble des mécanismes moléculaires et cellulaires en jeu dans la pathologie humaine. Il apparaît donc nécessaire d'accroître les investigations sur les patients SLA en vue de compléter nos connaissances, conjointement avec l'apport des modèles animaux afin de développer des thérapies adaptées qui soient efficaces chez l'Homme.

ANNEXE 1

IGLESIAS*, **SANGARI***, EL MENDILI, BENALI, MARCHAND-PAUVERT, & PRADAT

(* : co-premier auteurs)

2015

Electrophysiological and Spinal Imaging Evidences for Sensory Dysfunction in
Amyotrophic Lateral Sclerosis

BMJ Open.

BMJ Open Electrophysiological and spinal imaging evidences for sensory dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis

Caroline Iglesias,¹ Sina Sangari,¹ Mohamed-Mounir El Mendili,¹ Habib Benali,¹ Véronique Marchand-Pauvert,¹ Pierre-François Pradat^{1,2}

To cite: Iglesias C, Sangari S, El Mendili M-M, *et al.* Electrophysiological and spinal imaging evidences for sensory dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *BMJ Open* 2015;5:e007659. doi:10.1136/bmjopen-2015-007659

► Prepublication history for this paper is available online. To view these files please visit the journal online (<http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2015-007659>).

CI and SS are co-first authors; VM-P and P-FP are co-last authors.

Received 13 January 2015
Revised 29 January 2015
Accepted 2 February 2015



For numbered affiliations see end of article.

Correspondence to
Dr Véronique Marchand-Pauvert;
veronique.marchand@upmc.fr

ABSTRACT

Objectives: The prevalence of sensory impairment at an early stage of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is still debated. The study aim was to investigate the anatomofunctional properties of sensory pathways in patients with ALS, combining spinal diffusion tensor imaging (DTI) and somatosensory evoked potentials (SEPs).

Design: Case-control study.

Settings: ALS referral centre and laboratory of biomedical imaging (Paris, France).

Participants: Well-characterised group of 21 patients with ALS with moderate disability (mean amyotrophic lateral sclerosis Functional Rating Scale (ALSFRS) score 39.3±1.0) and no clinical sensory signs and control group of 21 gender and age-matched healthy subjects.

Outcome measures: Fractional anisotropy and diffusivity of the dorsal columns at C5-T1 levels (DTI metrics) and SEPs after median and ulnar nerve stimulations (latency and amplitude of N9 and N20 components).

Results: Abnormal DTI metrics indicated anatomical damages of ascending sensory fibres in ~60% of patients ($p<0.05$). Raw SEPs (μV) were smaller in ~40% of patients but the difference with healthy subjects was not significant ($p>0.16$). Their normalisation to prestimulus activity strengthened the difference between groups ($p<0.05$) and allowed identification of ~60% of patients with abnormal values. According to N9 latency, the peripheral conduction time was normal in patients ($p>0.32$) but based on N20 latency, the central conduction time (between spinal cord and parietal cortex) was found to be slower ($p<0.05$). Significant correlation was found between DTI metrics and N9 amplitude ($p<0.05$). Altered SEPs were also correlated with the disease duration ($p<0.05$). Taken together, spinal imaging and electrophysiology helped to identify ~85% of patients with subclinical sensory defect while separated methods revealed abnormal values in ~60%.

Conclusions: Sensory impairments have been underestimated at early stages of ALS. These results show for the first time the interest to combine electrophysiology and imaging to assess non-motor system involvement in ALS.

Trial registration number: IDRCB2012-A00016-37.

Strengths and limitations of this study

- For the first time, spinal diffusion tensor imaging (DTI) and electrophysiological recordings were coupled to evaluate the anatomofunctional properties of sensory pathways in humans. This combined approach and the normalisation of somatosensory evoked potentials revealed subclinical sensory defects in 85% patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS).
- The anatomical damages of dorsal columns revealed by spinal DTI were correlated to the depression of the peripheral afferent volley revealed by the lower amplitude of N9 which further supports the fact that sensory defects can occur at an early stage of ALS.
- Subclinical sensory impairments can manifest in ALS and should no longer cause doubt on the diagnosis. The defect was correlated to the disease duration but a follow-up study would confirm the progressive sensory affection.

INTRODUCTION

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is the most common motor neuron disease characterised by degeneration of upper as well as lower motor neurons. Postmortem anatomopathology has also revealed degeneration of sensory fibres but to a lesser extent than motor axons, and it has been suggested that the sensory system might be similarly affected as the motor system, but the degeneration is less advanced at the time of death.¹⁻³ Peripheral and central degeneration of sensory pathways have also been reported in presymptomatic ALS mice, suggesting that the sensory defect occurs at a very early stage of the degenerative process.⁴⁻⁶ Accordingly, sensory nerve biopsy⁷ and multiparametric spinal imaging of the dorsal column⁸ have revealed subclinical anatomical damage in patients, including those at an early disease stage after diagnosis. From a pathophysiological perspective, the role of sensory

Open Access



involvement in the degenerative process in ALS is still unknown. From a clinical perspective, while discreet sensory clinical impairment does not exclude ALS diagnosis, it is declared atypical or even excluded when sensory abnormalities are major.^{9 10} Because of these uncertainties, better characterisation of the sensory involvement in well-characterised populations of ALS is needed.

Sensory nerve action potentials (SNAPs) and somatosensory evoked potentials (SEPs), routinely used to assess sensory pathways, have been investigated extensively in patients with ALS. Except in three studies,^{11–13} abnormal SEPs were reported, on average, in about 1/3 patients without clinical sensory deficits.^{7 14–22} The abnormality increases with disease severity,^{20 23–28} and is more common when stimulating lower limb peripheral nerves than those of upper limbs.^{16 17 25 29} However, the anatomical substrate of altered SEPs demonstrated in previous studies remains disputed. Indeed, altered cortical SEPs were not always associated with abnormal SNAPs and/or cervicobrachial SEPs (N9). Moreover, altered SNAPs were most often observed in patients exhibiting sensory signs or symptoms, or were sometimes related to associated medical conditions (polyneuropathy, median or ulnar nerve entrapment neuropathies).^{12 20 25 27–30} In line with this, the various components of cortical SEPs are not altered unequally, whether in amplitude and/or latency, and given the multiple origins of the SEP components,³¹ some authors have suggested that abnormal SEPs in ALS are not due to sensory defects but to abnormal cortico-cortical interactions.^{24 32}

Until now, it has therefore been difficult to establish a link between anatomical and functional alterations of sensory pathways in ALS, given that the latter are based on SEPs, that depends on peripheral afferent inputs and cortico-subcortical excitability.³¹ Moreover, the origin of the neural sources, discrimination of which is based on the latency of SEP components, becomes uncertain when SEPs are delayed. Thus, the aim of the present work was to test, in typical patients with ALS with distal motor dysfunctions in upper limbs and no sensory symptoms, whether abnormal metrics of dorsal column imaging are associated with altered SEPs, with a focus on N9 and N20 components, which depend mainly on the peripheral afferent volley.³¹ In addition, to control for experiment-dependent variability of electrophysiological measurements, a limitation for the interpretation of previous studies, we propose to normalise SEP amplitude to improve evaluation of interindividual differences, as performed when studying muscular recordings.³³

METHODS

Participants

Inclusion criteria were: (1) probable or definite ALS according to the El Escorial criteria, (2) absence of sensory symptoms or signs (normal touch,

proprioception and nociception), (3) motor weakness in hand muscles (median and ulnar nerve territories) on the electrophysiologically explored side and (4) absence of medical conditions associated with peripheral neuropathy (eg, diabetes, alcoholism, neurotoxic drugs, nerve entrapment, neuropathy). Twenty one patients with ALS were enrolled in the study (all but one sporadic; 5 females, 56.3±2 years old, range 37–76) and 21 aged- and gender-matched neurologically intact participants (controls; 5 females, 56.6±2.1 years old, range 33–73). The disease duration from the onset of weakness was 26.6±3.6 months. All patients but one were treated with riluzole (100 mg/day) and α -tocopherol (1000 mg/day). Clinical measures included manual muscle testing, total Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale (ALSFRS)-R and assessment of hand motor performance by the ALSFRS-R subscore for handwriting, hand muscles testing and the nine hole peg test (table 1).

Spinal diffusion tensor imaging

Image acquisitions were performed using a 3 T MRI system (TIM Trio, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) and neck/spine coil. Cardiac-gated diffusion tensor imaging (DTI) was performed using a single shot echo-planar imaging (EPI) sequence with monopolar scheme. The axial slice was positioned perpendicular to the spinal cord, in the middle of each vertebral level between C2-T2 vertebral levels (8 slices) but the acquisition was optimised for C5-T1 (figure 1A). Imaging parameters were: field of view =128 mm, TR/TE=700/96 ms, voxel size =1×1×5 mm³, parallel acquisition: R=2, b-value 1000 s/mm², 64 directions, 2 repetitions, acquisition time 10 min. For a comprehensive description of the MRI acquisition parameters, the readers are invited to refer to a previous paper.³⁴

Electrophysiology

Electrophysiological investigations were performed the same day as the MRI in each participant. Median and ulnar nerves were stimulated (1 ms rectangular electrical stimulation; DS7A, Digitimer Ltd, Hertfordshire, UK) at the wrist level using bipolar surface electrodes (0.5 cm², 1 cm apart). All controls were stimulated on the dominant side, according to The Edinburgh handedness inventory;³⁵ right side in 20 participants and left side in 1. Patients with ALS were stimulated on the most affected side (distal hand weakness) or on the dominant side when both sides were equally affected: 17 patients were stimulated on the dominant right side, 1 patient on the dominant left side and 3 patients on the left non-dominant but more affected side. Perceptual and motor thresholds (PT and MT, respectively; figure 2) were estimated in both nerves. Stimulus intensity was then adjusted at 9×PT in each subject. A recording surface electrode was stuck in the supraclavicular fossa (Erb's point) ipsilateral to the stimulations with a reference electrode on the contralateral supraclavicular fossa. A needle electrode was inserted in the scalp, 4 cm lateral and 2 cm

Table 1 Clinical data

Patient	Onset	Duration (months)	El Escorial criteria	Atrophy	ALSFR-S		Muscular testing		
					Total (/48)	Hand (/4)	Total (/150)	UL (/45)	Hand (/10)
1.M.68	UL	74	Probable	+	42	1	148	43	8
2.M.50	UL	28	Probable	+	42	1	145	40	5
3.M.54	LL	28	Probable	+	41	4	120	41	8
4.M.59	LL	24	Probable	+	34	3	102	39	7
5.M.62	B	12	Probable	+	43	3	147	44	9
6.M.48	UL	23	Probable	+	39	2	145	42	8
7.M.61	LL	33	Probable	+	39	4	105	43	8
8.M.44	LL	21	Probable	–	40	4	131	44	9
9.F.76	LL	26	Lab-supported	–	34	4	105	41	8
10.M.66	UL	34	Probable	+	37	2	144	41	6
11.M.45	B	15	Definite	+	31	1	137	41	8
12.M.55	LL	58	Probable	+	30	2	79	38	6
13.F.37	UL	39	Probable	+	41	3	140	39	6
14.M.51	UL	10	Probable	+	45	4	134	43	8
15.M.52	UL	15	Lab-supported	+	46	4	145	40	8
16.F.50	UL	14	Probable	+	44	4	145	44	9
17.F.56	UL	15	Probable	+	40	3	144	42	7
18.M.58	LL	43	Probable	+	33	3	114	42	8
19.F.62	LL	8	Probable	–	40	3	145	42	8
20.M.65	UL	17	Probable	+	45	3	145	40	8
21.M.63	LL	19	Lab-supported	+	40	3	129	43	8

Patient: rank.gender (F, female; M, male).age (years old); *Onset*: first clinical signs manifested in upper limb (UL) or lower limb (LL) or bulbar (B); *Duration* of the disease in months; *El Escorial criteria* for amyotrophic lateral sclerosis (ALS): definite ALS (Definite), clinically probable ALS (Probable), Clinically probable—laboratory supported ALS (Lab-supported); *Atrophy* observed (+) or not (–) on the side explored during the electrophysiological investigations; *ALSFR-S*: total score of the revised ALS functional resting scale (Total/maximal score 48) and for handwriting (Hand/4); *Muscular testing*: in upper and lower limbs and in the neck (Total/150), on the side explored during the electrophysiological investigations (UL/45) and in intrinsic hand muscles (Hand/10).

posterior from Cz, in front of the primary somatosensory cortex (S1) contralateral to the stimulations with a surface electrode for a reference on the ipsilateral ear lobe. Electrophysiological signals were filtered (bandwidth 30–3000 Hz) and amplified ($\times 10\,000$; D360 8-Channel Patient Amplifier, Digitimer Ltd, Hertfordshire, UK) before being digitally stored (2 kHz sampling rate) on a personal computer for offline analysis (Power 1401 and Signal Software, CED, Cambridge, UK). Each recording session consisted of 200 ulnar nerve and 200 median nerve stimuli alternated randomly (2 Hz). Three recording sessions were performed for each participant.

Data analysis

DTI

Motion correction was applied slice-by-slice using FSL FLIRT with three degrees of freedom (Tx, Ty, Rz). Diffusion tensor and its related metrics, fractional anisotropy (FA), axial (λ_{\parallel}) and radial (λ_{\perp}) and mean diffusivity (MD), were estimated on a voxel-wise basis. The region of interest (ROI), limited to the hemidorsal region ipsilateral to the electrical stimulations, was manually defined on each slice using geometry-based information. To avoid any user bias, the ROI was defined on the mean diffusion weighted images by an experienced segmentation operator (MMEM; figure 1A).^{8–34} Furthermore, during ROIs

classification, the operator opted for a conservative approach by excluding pixels that were at the cord/corticospinal fluid or white matter/grey matter interfaces.

Electrophysiology

Peak latencies of N9 (Erb's point) and N20 (parietal) were evaluated in each subject. The peripheral conduction velocity (Cvp) was calculated according to the distance between stimulating electrodes and C7 vertebra and N9 latency. The central conduction velocity (Cvc) was calculated according to the distance between C7 and parietal cortex and the difference between N9 and N20 latencies. Peak-to-peak amplitude of N9 (figure 3A, B) and amplitude of the first positivity of N20 (figure 3C, D) were measured and normalised to the prestimulus activity (calculated over a 100 ms period, excluding the stimulus artefact). Given the variability of prestimulus activity, the SD of prestimulus activity was calculated and multiplied by 2 ($2\times\text{SD}$) to define the positive and negative limits of background activity (dotted lines in figure 3A, D). This procedure is commonly used to determine when the activity significantly changes from background activity after stimuli. Because these limits give a good estimation of prestimulus activity amplitude, we used the procedure to normalise the amplitude of SEPs.

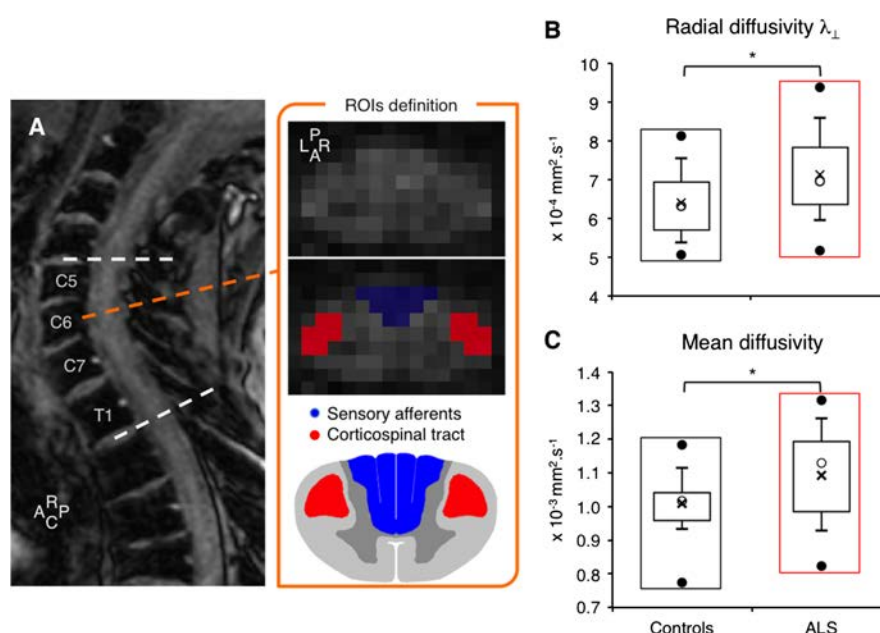


Figure 1 Spinal diffusion tensor imaging metrics. (A) T2-weighted MRI sagittal slice (rostror (R)—caudal (C) axis) and mean diffusion-weighted images (C6 vertebra level) in one patient with amyotrophic lateral sclerosis (ALS). For each level between C5 and T1 (dashed white lines), the posterior (P, in blue) and left (L) and right (R, in red) region of interests (ROIs) were drawn manually on the mean diffusion-weighted images to include most of the posterior column-medial lemniscus pathway (sensory pathways) and lateral corticospinal tracts (motor pathways), respectively. The posterior ROI was split in two parts for the right and left side of the spinal cord, according to the antero (A)—posterior axis and the slice centre of mass. Box plot charts showing distribution of data for the radial (B) and mean diffusivity (C) in controls (black rectangles) and in patients with ALS (red rectangles): the top and bottom line of the box correspond to the 75th centile (top quartile) and 25th centile (bottom quartile), respectively, and the open circle in the box, to the 50th centile (median). The two bars extend from the 10th centile (bottom centile) to the 90th centile (top centile). The bar caps delimit outliers. The top and bottom filled circles indicate the maximum and minimum values, respectively. The cross within the box indicates the arithmetical mean. * $p < 0.05$.

Statistics

First, each DTI and electrophysiological metric was independently compared between groups using unpaired t tests. Then, the metrics found to be significantly modified in patients were retained for further analyses to test the relationships between these metrics and clinical features for the group of participants. Thus, multiple regression analyses were performed to test the link between λ_{\perp} , MD, N9, N20 and CVC according to the subject groups. In addition, Pearson correlation analyses were performed to investigate the relationships between clinical features and λ_{\perp} , MD, N9 and N20. The 95% CI of control data was calculated for DTI and electrophysiological metrics. These intervals were used to fix the limits of normal values in order to identify the patients exhibiting abnormal data with a risk of error less than 5%. Statistical analysis was conducted using StatEL software (<http://www.adscience.eu>) and the significance level was set at p value < 0.05 . Arithmetical means are indicated ± 1 SEM.

RESULTS

Spinal DTI metrics

The box plot charts in [figure 1B, C](#) show the distribution of λ_{\perp} and MD, respectively, in the hemidorsal region of the spinal cord, corresponding to the posterior column-

medial lemniscus pathway ipsilateral to electrical stimuli delivered when investigating SEPs (see below), in 20 controls and 19 patients (due to artefacts, 1 control and 2 patients were excluded). On average, both metrics were significantly higher in patients than in controls (unpaired t test, $p < 0.05$). Abnormal values of λ_{\perp} and MD were observed in 11/19 patients (57.9%). The differences in λ_{\perp} and MD were not accompanied by a significant change in FA or λ_{\parallel} ($p = 0.29$ and 0.06 , respectively).

Similar analyses were also performed on the lateral region corresponding to the lateral corticospinal tract. On average, λ_{\perp} and MD were also higher in patients than in controls ($p < 0.01$ and 0.05 , respectively) and FA was smaller ($p < 0.05$); λ_{\parallel} was not significantly different between groups ($p = 0.42$).

Electrophysiological measurements

[Figure 2](#) shows the mean PT and MT for median and ulnar nerves in controls and patients. While PT for both nerves was similar between controls and patients ($p = 0.93$ and 0.73 for median and ulnar nerves, respectively; [figure 2A](#)), MT was higher in patients, reaching the statistically significant level for the ulnar nerve ($p < 0.05$ and 0.12 for the median nerve; [figure 2B](#)). The stimulus

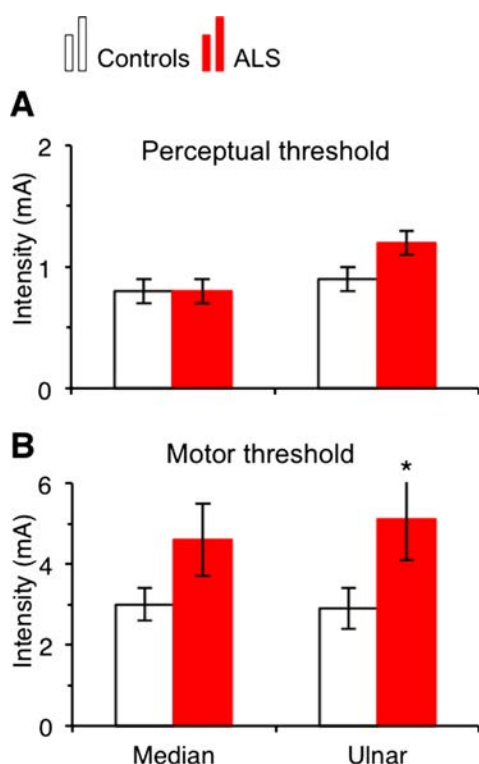


Figure 2 Perceptual and motor threshold for median and ulnar nerve stimuli. Mean perceptual (A) and motor (B) thresholds for median nerve (left columns) and for ulnar nerve (right columns) estimated in the group of controls (open columns) and of patients with amyotrophic lateral sclerosis (red columns). Vertical bars are ± 1 SEM. * $p < 0.05$.

intensity used for evoking SEPs ($9 \times PT$) was above MT for both nerves in all controls and in 16/21 patients for the median nerve and in 18/21 patients for the ulnar nerve.

Significant difference between groups was not observed in peak latency for N9 (for which one patient was excluded because of artefacts) nor for N20 (table 2; $0.25 < p < 0.93$). N9 latency only depended on the peripheral conduction time (between stimulating electrodes and Erb's point) and was thus used to estimate the CVp. For both nerves, the CVp was found to be similar in patients and controls ($p = 0.56$ and 0.32 , in median and ulnar nerve, respectively). The CVc (between spinal cord and parietal cortex) was estimated by subtracting N20 and N9 latencies. It was slower in patients than in controls, reaching statistical significance for the median nerve only ($p < 0.05$, and 0.08 for the ulnar nerve).

Figure 3A, D shows the raw signals in one control (AC) and 1 patient (BD). Both N9 (AB) and N20 (CD) were smaller in the patient compared to the control. On average, the raw amplitude (in μV) of both N9 and N20 was smaller in patients than in controls, but the difference did not reach statistical significance ($0.16 < p < 0.42$; table 2). When normalised, the difference between groups became significant ($p < 0.01$ and 0.001 for N9 in

median and ulnar nerve, respectively, and $p < 0.05$ for N20; figure 3E, F), which confirmed that the peripheral volley (N9) and the first component of early cortical SEP (N20) were smaller in the patient group. No significant correlation was observed between the amplitudes of N9 and N20 (Pearson, $p = 0.67$).

Abnormal N9 was observed in 17/20 patients (85%) for the ulnar nerve and in 9/20 patients (45%) for the median nerve. Abnormal N20 was observed in 11/21 patients (52.4%) for the ulnar nerve and in 10/21 patients (47.6%) for the median nerve. On average, the SEP normalisation helped to identify 57.5% of patients with abnormal values while 41.3% exhibited abnormal raw data (in μV).

Relationships between DTI and electrophysiological metrics

The scatter plots in figure 4 show the dispersion of N9 and N20 amplitudes according to MD (dorsal column ipsilateral to stimulation site) for controls and patients, for median as well as ulnar nerves (Dixon test did not detect any aberrant values). Multiple regression analyses further confirmed the significant difference between groups, in N9 and N20 amplitudes. In addition, significant relationships were found between DTI metrics and N9 (except for λ_{\perp} and N9 from ulnar) but not with N20 (see statistics in table 3). Similarly, significant relationships were observed between the CVc and λ_{\perp} ($p < 0.05$) and MD ($p < 0.01$) for the median nerve.

Figure 5 shows that a larger proportion of patients exhibited abnormal DTI metrics and/or evoked potentials ($84.7 \pm 3.8\%$ on average; red portion) compared to patients having normal metrics (white portion). Among the patients exhibiting at least one abnormal metric, $44.4 \pm 7.1\%$ have both abnormal DTI and evoked potentials (purple subportions). Similar proportions were found when comparing the DTI metrics and the CVc.

Correlation with clinical features

Multiple regression analyses were performed to investigate the relationships between DTI and electrophysiological metrics and clinical features. λ_{\perp} , MD, N9 and N20 were not correlated with any clinical features related to hand motor performance (ALSFRS-R subscore for handwriting, hand muscle testing, nine hole peg test; $0.27 < p < 0.79$).

Pearson correlation analyses revealed a significant depression of N20 according to the disease duration ($R^2 = 0.17$ and 0.15 for ulnar and median nerve, respectively; $p < 0.05$). N9 significantly decreased with disease duration for median nerve only ($R^2 = 0.19$, $p < 0.05$; $R^2 = -0.05$, $p = 0.74$ for ulnar nerve). No significant relationship was found between disease duration and spinal DTI metrics ($p > 0.3$).

DISCUSSION

The main result of the present study is that by coupling spinal DTI and electrophysiology, almost 85% patients with ALS with subclinical sensory defect in an upper

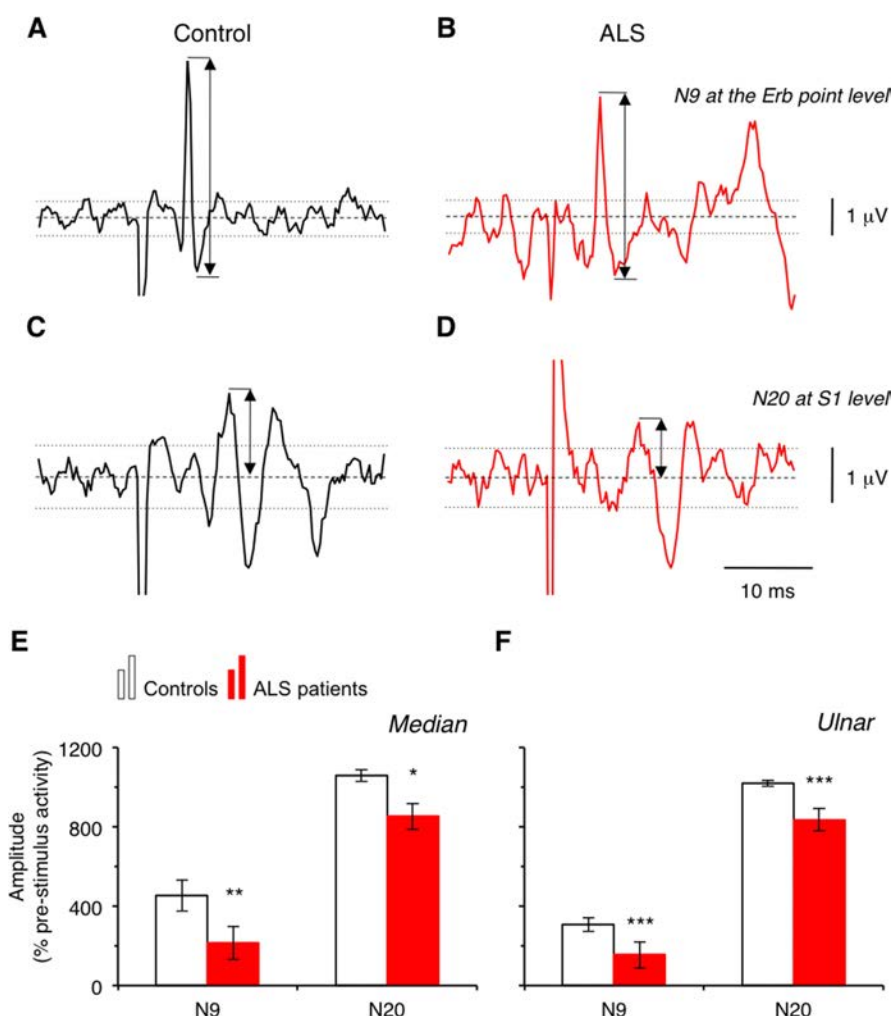


Figure 3 N9 and N20 amplitude. Raw signal (in μV) from recordings at the Erb point level (A and B) and at cortical level (in front of S1, C and D) in one healthy subject (control, A and C; black lines) and in one patient with amyotrophic lateral sclerosis (ALS, B and D; red lines). Dashed lines indicate the 0 level. Upper and lower dotted lines indicate $+2 \times \text{SD}$ and $-2 \times \text{SD}$ levels, respectively. Group data showing the mean amplitude of N9 (left) and of N20 (right) normalised to prestimulus activity in controls (open columns) and in patients with ALS (red columns) after median (E) and ulnar nerve stimulation (F). Vertical bars are ± 1 SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$.

limb could be identified. Considered separately, each technique revealed abnormal values in less than 60% patients. The second novelty of this study is that normalisation helped to identify more patients with abnormal SEP from a 40% detection rate when expressed in μV , to 60% when taking into account the level of prestimulus activity. This study has also shown a significant relationship between DTI metrics and N9, and a significant depression of evoked potentials with disease duration.

Reliability of spinal DTI

Spinal DTI metrics were found to be significantly altered in patients, which gives further support for early anatomical damage of the dorsal columns in ALS. Compared to our previous study,⁸ the patients in the present study

exhibited less motor weakness especially in proximal upper limb muscles. Accordingly, λ_{\perp} for the lateral corticospinal tracts was lower in the present study compared to the previous one, which supports a less severe impairment of the motor pathways in the patients investigated here. Moreover, while the relationship between motor and sensory deficits has not been characterised so far, some studies have reported increased SEP alteration with the disease severity.^{20 23–28} Given that the degeneration is likely to be slower in sensory pathways than in motor pathways,² one would expect a smaller λ_{\perp} for the dorsal columns in the present study, compared to the previous one,⁸ which was the case. Thus, the comparison between the two studies indicates that spinal DTI is a reliable and very sensitive method for detecting anatomical tract defects at spinal level.

Table 2 N9 and N20 characteristics

	Median		Ulnar	
	Controls	ALS	Controls	ALS
N9				
Latency	10.7±0.2	10.8±0.2	11.4±0.2	11.3±0.2
CVp	65.9±0.9	66.6±0.7	62.1±0.9	63.5±1.1
Amplitude	6.1±0.5	5.1±0.5	5.3±0.8	4.2±0.4
N20				
Latency	19.0±0.4	19.5±0.3	19.2±0.3	19.6±0.3
CVc	31.5±1.2	28.3±1.0*	33.4±1.4	30.3±1.2
Amplitude	7.4±0.2	7.2±0.2	7.4±0.2	7.0±0.2

Latency: mean peak latency (ms±1 SEM) of N9 recorded at the Erb point, and of N20 recorded at the level of primary somatosensory cortex (S1) for median and ulnar nerves, in controls and patients with amyotrophic lateral sclerosis. *CVp:* peripheral conduction velocity (m/s±1 SEM) according to N9 peak latency and the distance between stimulation site and C7 vertebra. *CVc:* central conduction velocity (m/s±1 SEM) according to the difference between N20 and N9 peak latencies and the distance between C7 vertebra and recording site, in front of S1. *Amplitude:* peak-to-peak amplitude of N9 and peak amplitude of N20 (μV). *p<0.05.

Normalisation of electrophysiological measurements

The amplitude of SNAPs and SEPs produced by mixed nerve stimulation are usually compared using the raw signals expressed in μV. However, it is well known in electrophysiology that intrinsic (background activity, individual bioelectrical characteristics) and extrinsic factors (single-use electrodes, whose properties and position can slightly differ across experiments) can influence the

signals, which accounts for the huge interindividual and intraindividual variability of EEG recordings.³⁶ Some studies on visual evoked potentials in humans have revealed the influence of the level of prestimulus EEG activity on the size of the evoked potentials and reported better reliability with normalised data.^{37 38} Here, SEPs were normalised to 2×SD of prestimulus activity, which is commonly used to evaluate the level of activity before conditioning, and to determine when the poststimulus signal deviates significantly from background activity. Normalisation of evoked potentials to this value allowed the basal activity to be taken into account and reduced the variability due to noise. Comparison of normalised data strengthened the differences between groups, helped to identify more patients with abnormal values and indicated a greater mean suppression from 20% (in raw data) to 50% (when normalised) for N9 and <5% to 20% for N20 (according to the mean values in controls). The comparison of raw and normalised data suggests that abnormal SNAPs and SEPs in ALS might have been previously underestimated.

Alteration of peripheral volleys

Histological evidence for sensory nerve degeneration has only been found in lower limbs with sural nerve biopsies.³ In upper limbs, abnormal SNAPs were found mainly in patients with clinical sensory signs.^{7 12 20 25 27 29 30} To some extent, we found analogous results because the characteristics of N9 (Erb's

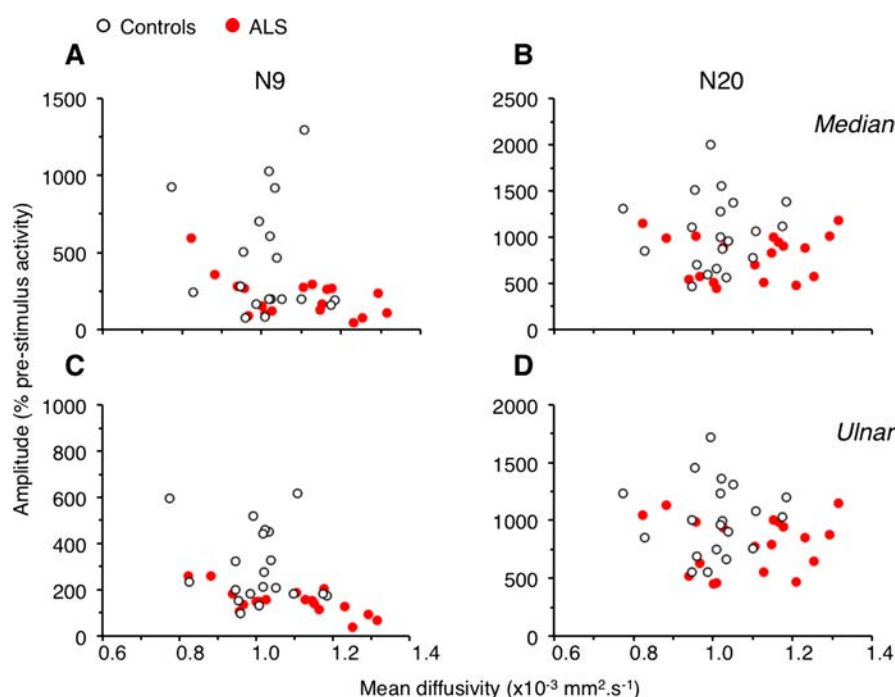


Figure 4 Relationships between diffusion tensor imaging and electrophysiological metrics. N9 (A and C) and N20 (B and D) amplitude (% 2×SD of the prestimulus activity) plotted against the mean diffusivity ($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) for median nerve (A and B) and for ulnar nerve (C and D). Each open circle represents one control and each red circle, one patient with amyotrophic lateral sclerosis.

**Table 3** Results of multiple regression analyses

	Regression	Group	λ_{\perp}	MD	Residuals
Median					
N9	0.27	212.3	2.04×10^{-6}	-1.96×10^{-6}	673.4
	0.013*	0.025*	0.05*	0.024*	0.14
N20	0.13	290.8	1.87×10^{-6}	-1.21×10^{-6}	491.4
	<0.05*	<0.014*	0.14	0.24	0.38
Ulnar					
N9	0.39	136.4	7.51×10^{-5}	-8.40×10^{-5}	392.0
	<0.001***	<0.01**	0.1	0.028*	0.06
N20	0.21	241.8	1.96×10^{-6}	-1.34×10^{-6}	629.9
	<0.034*	<0.014*	0.06	0.12	0.18

Regression: R^2 and p value of multiple regression for N9 and N20 produced by median or ulnar nerve stimuli. *Group:* effect of the group of participants (amyotrophic lateral sclerosis vs controls), coefficient and p value. λ_{\perp} : Effect of the radial diffusivity, coefficient and p value. *MD:* effect of the mean diffusivity, coefficient and p value. *Residuals:* coefficient and p value of the constant.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$.

point) were as in controls: similar peak latency and similar CVp with no significant change in the mean raw amplitude (in μV). However, abnormal raw values were observed in 20–50% of patients and the normalisation strengthened the difference between groups, which further supports subclinical peripheral abnormalities.²⁷ Our group of patients was very homogenous in regard to hand muscle weakness in the median and ulnar nerve territories, which might account for the higher proportion of patients exhibiting abnormal N9 compared to previous studies.^{21–23} Alternatively, a reduced antidromic volley in motor axons may account for N9 depression. However, a study performed in patients with pronounced or complete loss of motor axons in the median nerve failed to reveal any change in N9.³⁹ According to

hand motor weakness, we found a higher MT in patients and, in some, the conditioning stimuli used to evoke SEPs were below MT. However, these patients did not exhibit the smallest N9 and there was no link between abnormal N9 values and MT. Lastly, the relationship between spinal DTI and N9 further supports the fact that the latter depends mainly on the peripheral sensory afferent volley³¹ and its alteration in ALS.

Origin of the impairments along the sensory pathways

The present changes in spinal DTI metrics give further evidence for anatomical impairments of sensory pathways in ALS. The alteration of N9 amplitude, without changes in peripheral conduction velocity, suggests loss of peripheral sensory axons.^{3–6}

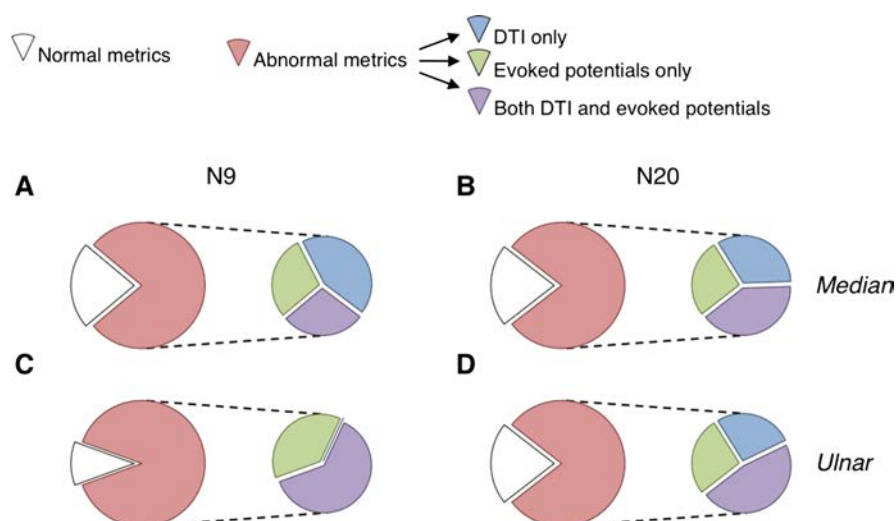


Figure 5 Patient data distribution. Proportion of patients exhibiting normal (white portion) and abnormal diffusion tensor imaging (DTI) metrics and/or abnormal amplitude of N9 (A and B) or N20 (C and D; red portion) for the median (A and B) and ulnar nerve (C and D). Among the patients with abnormal metrics (red portion), the proportion of patients with abnormal DTI metrics only (and thus normal evoked potentials) is illustrated by the blue subportion, the proportion of patients with abnormal evoked potential only (and thus normal DTI) is illustrated by the green subportion, and the proportion of patients with abnormal DTI metrics and abnormal evoked potentials is illustrated by the purple subportion.

The first cortical component N20 was delayed and depressed to a lesser extent than N9. The absence of correlation between the alterations of N9 and N20 can be explained by the fact that at a stimulus intensity producing maximal N20, N9 reached half its maximal size, and this intensity can be at or slightly above MT.⁴⁰ Therefore, at the stimulus intensity we used (9×PT, which was above MT in most participants), N20 was likely to be maximal and, because of saturation, the measurements might have been less sensitive at a cortical level than at a peripheral level. However, N20 not only depends on the sensory afferent inputs, but also to central processing.⁴⁰ Accordingly, a recent cerebral MRI study has shown atrophy in the thalamus,⁴¹ suggesting that the thalamocortical relay for sensory information may be altered in ALS. In line with this, we found a slower CVC in patients than in controls, without any change in CVp. Therefore, abnormal N9 and N20, together with impaired spinal DTI reported here, give strong evidence for subclinical sensory defects in ALS at peripheral as well as central levels.

Comparing median nerve and skin stimuli suggests that N20 mainly depends on cutaneous inputs to the 3b area.^{31 42–44} Thus, altered N20 from median nerve stimulation could suggest impaired cutaneous fibres. However, if low-threshold cutaneous afferents were affected, this would have influenced PT, which was found unchanged. Alternatively, changes could be due to proprioceptive afferents. Cutaneous fields innervated by median nerve are larger than those innervated by ulnar nerve but 75% intrinsic hand muscles are innervated by ulnar nerve. Additionally, SEPs from mixed nerves in lower limbs, probably more motor than the median nerve (such as ulnar nerve), are mainly produced by proprioceptive afferents.⁴⁵ Therefore, impaired proprioceptive inputs would affect SEPs produced by ulnar nerve more than those produced by median nerve, which was the case.

The absence of clinical sensory signs, of correlation between sensory defect and motor symptoms and the fact that DTI metrics for the lateral corticospinal tract were more affected than those for the dorsal columns suggest that the impairment of sensory pathways was less than that of motor systems. However, the correlation with disease duration suggests that the degeneration of sensory pathways is progressive.

CONCLUSIONS

The combination of normalised electrophysiological measurements and spinal DTI metrics suggest that sensory deficits in ALS have been previously underestimated and gives further evidence for early degeneration in sensory pathways at peripheral as well as central levels. These results show, for the first time, the benefit of combining electrophysiology and biomedical imaging to assess non-motor system involvement in ALS.

Author affiliations

¹Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, INSERM, Laboratoire d'Imagerie Biomédicale, Paris, France

²Département des Maladies du Système Nerveux, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Acknowledgements The authors thank Dr N Leforestier, Dr T Lenglet, Dr F Salachas, Dr G Bruneteau and Dr V Meininger for their help in patient recruitment, and Dr R Morizot-Koutlidis for her help in the experimental design for SEP recordings. They also thank C Macia, K Nigaud, F Humbert and R Valabrègue for their valuable technical assistance during MRI acquisitions, which were performed at CENIR-ICM Hôpital Pitié-Salpêtrière. Their gratitude also goes to S Blancho for her help to obtain the approval of the local ethics committee and for monitoring the project. At last, they deeply thank Dr Anna Hudson (Neuroscience Research Australia) for scrutinising the English.

Contributors VM-P and P-FP were involved in conception and design of research and P-FP in patient selection. CI, SS and VM-P were responsible for acquisition and analysis of electrophysiological data, CI and M-MEM for MRI acquisitions, and M-MEM for DTI analysis. CI, SS, M-MEM and VM-P was responsible for statistical analysis; HB for supervision of MRI and statistical analysis; CI, SS, M-MEM, VM-P and P-FP for interpretation of the data; and CI, M-MEM and VM-P for drafting of the manuscript and figures. All authors have approved the final version of the manuscript.

Funding This work was supported by IRME (ID RCB 2012-A00016-37) and ANR (ANR-12-JSV4-0007-01). CI was supported by a grant from FRM, M-MEM by IHU-A-ICM Pitié-Salpêtrière (ANR-10-IAIHU-06), and SS by a grant from UPMC.

Competing interests None.

Patient consent Obtained.

Ethics approval The study conformed to the standards set by the latest revision of the Declaration of Helsinki and has been approved by the ethics committee of Pitié-Salpêtrière Hospital (CPP-Ile-de-France VI).

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

Data sharing statement No additional data are available.

Open Access This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

REFERENCES

1. Kawamura Y, Dyck PJ, Shiono M, *et al*. Morphometric comparison of the vulnerability of peripheral motor and sensory neurons in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1981;40:667–75.
2. Averback P, Crocker P. Regular involvement of Clarke's nucleus in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol* 1982;39:155–6.
3. Bradley WG, Good P, Rasool CG, *et al*. Morphometric and biochemical studies of peripheral nerves in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 1983;14:267–77.
4. Guo YS, Wu DX, Wu HR, *et al*. Sensory involvement in the SOD1-G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Mol Med* 2009;41:140–50.
5. King AE, Blizzard CA, Southam KA, *et al*. Degeneration of axons in spinal white matter in G93A mSOD1 mouse characterized by NFL and alpha-internexin immunoreactivity. *Brain Res* 2012;1465:90–100.
6. Sabado J, Bado J, Casanovas A, *et al*. Accumulation of misfolded SOD1 in dorsal root ganglion degenerating proprioceptive sensory neurons of transgenic mice with amyotrophic lateral sclerosis. *BioMed Res Int* 2014;2014:e852163.
7. Hammad M, Silva A, Glass J, *et al*. Clinical, electrophysiologic, and pathologic evidence for sensory abnormalities in ALS. *Neurology* 2007;69:2236–42.
8. Cohen-Adad J, Mendili MME, Morizot-Koutlidis R, *et al*. Involvement of spinal sensory pathway in ALS and specificity of cord atrophy to lower motor neuron degeneration. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* 2013;14:30–8.

Open Access



9. De Carvalho M, Dengler R, Eisen A, *et al.* Electrodiagnostic criteria for diagnosis of ALS. *Clin Neurophysiol* 2008;119:497–503.
10. Pouget J. Critères électro-neuro-myographiques de la sclérose latérale amyotrophique. *Rev Neurol Paris* 2008;162:4S34–42.
11. Wirguin I, Brenner T, Argov Z, *et al.* Multifocal motor nerve conduction abnormalities in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 1992;112:199–203.
12. De Carvalho M, Swash M. Nerve conduction studies in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 2000;23:344–52.
13. Machii K, Ugawa Y, Kokubo Y, *et al.* Somatosensory evoked potential recovery in Kii amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism–dementia complex (Kii ALS/PDC). *Clin Neurophysiol* 2003;114:564–8.
14. Anziska BJ, Cracco RQ. Short-latency somatosensory evoked potentials to median nerve stimulation in patients with diffuse neurologic disease. *Neurology* 1983;33:989–93.
15. Bosch EP, Yamada T, Kimura J. Somatosensory evoked potentials in motor neuron disease. *Muscle Nerve* 1985;8:556–62.
16. Matheson JK, Harrington HJ, Hallett M. Abnormalities of multimodality evoked potentials in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol* 1986;43:338–40.
17. Radtke RA, Erwin A, Erwin CW. Abnormal sensory evoked potentials in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 1986;36:796–801.
18. Zanette G, Polo A, Gasperini M, *et al.* Far-field and cortical somatosensory evoked potentials in motor neuron disease. *Muscle Nerve* 1990;13:47–55.
19. Shefner JM, Tyler HR, Krarup C. Abnormalities in the sensory action potential in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 1991;14:1242–6.
20. Constantinovici A. Abnormal somatosensory evoked potentials in amyotrophic lateral sclerosis. *Romanian J Neurol Psychiatry Rev Roum Neurol Psychiatr* 1993;31:273–8.
21. Georgesco M, Salerno A, Carlander B, *et al.* [Somatosensory evoked potentials in amyotrophic lateral sclerosis and primary lateral sclerosis]. *Rev Neurol (Paris)* 1994;150:292–8.
22. Ogata K, Tobimatsu S, Furuya H, *et al.* Sporadic amyotrophic lateral sclerosis showing abnormal somatosensory evoked potentials: a report of three cases. *Fukuoka Igaku Zasshi* 2001;92:242–50.
23. Lawyer T Jr, Netsky MG. Amyotrophic lateral sclerosis. *AMA Arch Neurol Psychiatry* 1953;69:171–92.
24. Dustman RE, Snyder EW, Callner DA, *et al.* The evoked response as a measure of cerebral dysfunction. In: Begleiter H, ed. *Evoked brain potentials and behavior*. New York: Plenum Press, 1979:321–63.
25. Così V, Poloni M, Mazzini L, *et al.* Somatosensory evoked potentials in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1984;47:857–61.
26. Gregory R, Mills K, Donaghy M. Progressive sensory nerve dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis: a prospective clinical and neurophysiological study. *J Neurol* 1993;240:309–14.
27. Mondelli M, Rossi A, Passero S, *et al.* Involvement of peripheral sensory fibers in amyotrophic lateral sclerosis: electrophysiological study of 64 cases. *Muscle Nerve* 1993;16:166–72.
28. Hamada M, Hanajima R, Terao Y, *et al.* Median nerve somatosensory evoked potentials and their high-frequency oscillations in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurophysiol* 2007;118:877–86.
29. Georgesco M, Salerno A, Camu W. Somatosensory evoked potentials elicited by stimulation of lower-limb nerves in amyotrophic lateral sclerosis. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1997;104:333–42.
30. Schulte-Mattler WJ, Jakob M, Zierz S. Focal sensory nerve abnormalities in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 1999;162:189–93.
31. Mauguire F. Somatosensory evoked potentials: normal responses, abnormal waveforms, and clinical applications in neurological diseases. In: Niedermeyer E, Lopez da Silva F. eds. *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2005:54.1–54.53.
32. Palma V, Guadagnino M, Brescia Morra V, *et al.* Multimodality evoked potentials in sporadic amyotrophic lateral sclerosis: a statistical approach. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 1993;33:167–71.
33. De Luca CJ. A practicum on the use of sEMG signals in movement sciences. 2008. <http://www.delsys.com/KnowledgeCenter/Practicum.html>.
34. Cohen-Adad J, El Mendili MM, Lehericy S, *et al.* Demyelination and degeneration in the injured human spinal cord detected with diffusion and magnetization transfer MRI. *NeuroImage* 2011;55:1024–33.
35. Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 1971;9:97–113.
36. Arieli A, Sterkin A, Grinvald A, *et al.* Dynamics of ongoing activity: explanation of the large variability in evoked cortical responses. *Science* 1996;273:1868–71.
37. Klistorner AI, Graham SL. Electroencephalogram-based scaling of multifocal visual evoked potentials: effect on intersubject amplitude variability. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2145–52.
38. You Y, Thie J, Klistorner A, *et al.* Normalization of visual evoked potentials using underlying electroencephalogram levels improves amplitude reproducibility in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:1473–8.
39. Sonoo M, Hatanaka Y, Tsukamoto H, *et al.* N10 component in median nerve somatosensory evoked potentials (SEPs) is not an antidromic motor potential. *Clin Neurophysiol* 2004;115:2645–9.
40. Gandevia SC, Burke D. Saturation in human somatosensory pathways. *Exp Brain Res* 1984;54:582–5.
41. Bede P, Elamin M, Byrne S, *et al.* Basal ganglia involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 2013;81:2107–15.
42. Gandevia SC, Burke D. Projection of the thenar muscle afferents to frontal and parietal cortex of human subjects. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1990;77:353–61.
43. Allison T, McCarthy G, Wood CC, *et al.* Potentials evoked in human and monkey cerebral cortex by stimulation of the median nerve: a review of scalp and intracranial recordings. *Brain* 1991;114:2465–503.
44. Kunesch E, Knecht S, Schnitzler A, *et al.* Somatosensory evoked potentials elicited by intraneural microstimulation of afferent nerve fibers. *J Clin Neurophysiol* 1995;12:476–87.
45. Gandevia S, Burke D, McKeon B. The relationship between the size of a muscle afferent volley and the cerebral potential it produces. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1982;45:705–10.

ANNEXE 2

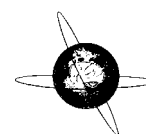
SANGARI*, IGLESIAS*, EL MENDILI, BENALI, PRADAT, & MARCHAND-PAUVERT

(* : co-premier auteurs)

2016

Impairment of Sensory-Motor Integration at Spinal Level in Amyotrophic Lateral
Sclerosis

Clinical Neurophysiology.



Impairment of sensory-motor integration at spinal level in amyotrophic lateral sclerosis

Sina Sangari^{a,1}, Caroline Iglesias^{a,1}, Mohamed-Mounir El Mendili^a, Habib Benali^a,
Pierre-François Pradat^{a,b,2}, Véronique Marchand-Pauvert^{a,2,*}

^a Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Inserm, Laboratoire d'Imagerie Biomédicale, F-75013 Paris, France

^b Département des maladies du système nerveux, AP-HP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, F-75013 Paris, France

ARTICLE INFO

Article history:

Accepted 16 January 2016

Available online 29 January 2016

Keywords:

Amyotrophic lateral sclerosis

Motor neurons

TMS

Spinal cord

Muscle spindle afferents

Humans

HIGHLIGHTS

- Abnormal sensory inputs would perturb sensory-motor integrations in ALS.
- Compensatory mechanisms at spinal level amplify motoneuron response to sensory inputs.
- Enhanced motoneuron response to sensory inputs may contribute to excitotoxicity.

ABSTRACT

Objective: Subclinical sensory defect can be detected early in ALS. Its impact on spinal excitability was assessed by testing the effects produced by intrinsic hand muscle afferents in triceps brachii motoneurons of patients with distal motor weakness.

Methods: TMS was applied over the motor cortex to produce MEP in contralateral triceps during tonic contraction. The intensity varied to compare the full MEP recruitment curve in ALS patients and controls. Then, median and ulnar nerve stimulations at wrist level were combined to TMS to compare the resulting changes in MEP size in both groups.

Results: MEP recruitment curves were similar in both groups but MEP threshold was significantly higher in ALS. At sub-threshold intensity for MEP, TMS depressed more EMG activity in ALS than in controls. Nerve stimuli increased MEP size in both groups with similar temporal characteristics but the level of facilitation was stronger in ALS.

Conclusion: Cortical hypo-excitability in ALS was accompanied with stronger intra-cortical inhibition in triceps area. While the corticospinal and peripheral inputs were likely depressed, spinal motoneuron response to combined inputs was particularly enhanced in ALS.

Significance: Spinal network properties likely compensate for depression of afferent inputs leading to motoneuron hyper-excitability, which may contribute to excitotoxicity.

© 2016 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is the most common motor neuron disease characterized by the degeneration of upper and lower motor neurons. We have recently shown a correlation between altered diffusion imaging of dorsal columns at cervical

level and the depression of peripheral afferent volleys produced by mixed nerve stimulations in ALS patients without clinical sensory signs (Iglesias et al., 2015). This study confirmed that subclinical sensory impairment can manifest early in ALS and we suggested a particular defect in proprioceptive afferents. This hypothesis is further supported by a recent study reporting specific degeneration of muscle spindle group I and group II afferents in presymptomatic ALS mouse model (Vaughan et al., 2015). At spinal level, muscle spindle group Ia afferents have diffuse monosynaptic projections onto various upper limb motoneurons, especially from distal muscles to motoneurons supplying proximal muscles (Pierrot-Deseilligny and Burke, 2012). This pattern corresponds to the classical forms of progression of motor dysfunctions in

* Corresponding author at: U1146 Inserm, UPMC, UMR7371 CNRS, Laboratoire d'Imagerie Biomédicale (LIB), Faculté de Médecine UPMC, 91, boulevard de l'hôpital, 75013 Paris, France. Tel.: +33 1 42 16 11 20; fax: +33 1 42 16 11 02.

E-mail address: veronique.marchand@upmc.fr (V. Marchand-Pauvert).

¹ S. Sangari and C. Iglesias were equally involved and they are co-first authors.

² P.-F. Pradat and V. Marchand-Pauvert were equally involved and they are co-last authors.

ALS. We therefore addressed the question on how sensory inputs from clinically affected hand muscles are integrated by motoneurons controlling proximal muscle without weakness.

The monosynaptic Hoffmann reflex (H-reflex), produced in a muscle by its own group Ia afferents, has been found reduced in ALS to the same extent as the maximal size of the direct motor response (Mmax; similar Hmax/Mmax ratios), likely due to peripheral motor denervation (Drory et al., 2001; Simon et al., 2015). Studies on single motor units gave rise to confusing results showing either no changes or alterations of group Ia monosynaptic excitation (Soliven and Maselli, 1992; Nakajima et al., 1996). Moreover, these studies were performed on clinically affected muscles. The aim of the present study was to investigate excitation produced in asymptomatic triceps brachii in patients with hand motor weakness, assuming that triceps motoneurons are not or at least less affected than those innervating muscle groups with clinical signs (weakness, atrophy). This combination corresponds to an experimental paradigm to assess heteronymous monosynaptic group Ia excitation (Lourenço et al., 2007). Because it is not possible to investigate the change in triceps H-reflex, the effects produced by median and ulnar nerve stimulation were tested on motor evoked potential (MEP) produced in triceps EMG by transcranial magnetic stimulation (TMS).

The MEP size being dependent on the excitability of motor cortex and spinal motoneurons, the recruitment curve was first investigated on the triceps MEP. Indeed, cortical hyper-excitability and consequently a possible change in the corticospinal control has been claimed as an early feature of ALS. Evidence relies on larger MEPs normalized to Mmax, depressed short intra-cortical inhibition and shorter silent period in ALS patients compared to controls (Zanette et al., 2002a; de Carvalho et al., 2003; Vucic et al., 2013b). On the contrary, studies on single motor units revealed no change or reduction of TMS-induced peaks in peri-stimulus time histograms and lengthened inter-spike intervals, which suggest depressed corticospinal excitation and enhanced cortical inhibition (Eisen et al., 1996; Nakajima et al., 1996; Kohara et al., 1999; Schmied and Attarian, 2008).

As a consequence, some uncertainties remain on the control of spinal motoneurons by motor cortex and group Ia afferents in ALS. Moreover, most of the previous studies focused on affected muscles whose electromyogram (EMG) modulation may be difficult to interpret given the changes at peripheral level (denervation and motor axonal sprouting; Gordon et al., 2004). Therefore, we firstly investigated the excitability of the corticospinal pathway to triceps motoneurons in ALS patients with normal clinical evaluation of triceps (force, EMG), to avoid any bias in EMG analysis and to evaluate the corticospinal excitability in a presymptomatic muscle group. The electrophysiological investigations were combined with spinal diffusion imaging to evaluate the anatomical integrity of the corticospinal tract. Then, we investigated the effects of median and ulnar stimulation on triceps MEP, expecting a greater MEP size on combined stimuli due to convergence of peripheral and corticospinal inputs at motoneuron level. This experimental design allowed us to investigate the integration of afferent inputs from affected muscles by motoneurons supplying presymptomatic muscle group. The triceps MEP recruitment curves, the diffusivity in the corticospinal fibres and the effects of ulnar and median nerve stimulation on triceps MEP in ALS patients were compared to a matched group of healthy subjects.

2. Methods

2.1. Ethics and participants

The study conformed to the standards set by the latest revision of the Declaration of Helsinki and has been approved by the ethics

committee of Pitié-Salpêtrière Hospital (CPP-Ile-de-France VI, ID RCB 2012-A00016-37). All participants gave informed written consent to the experimental procedures.

Inclusion criteria were: (1) probable or definite ALS according to the El Escorial criteria, (2) absence of sensory symptoms or signs (normal touch, proprioception and nociception), (3) motor weakness in hand muscles (median and ulnar nerve territories) on the electrophysiologically explored side, (4) normal clinical evaluation (motor testing, reflex and absence of atrophy or fasciculation) and normal EMG in triceps brachii, (5) absence of medical conditions associated with peripheral neuropathy (for example, diabetes, alcoholism, neurotoxic drugs, nerve entrapment, neuropathy). Twenty-one ALS patients were enrolled in the study (all but one sporadic; 5 females, 56.3 ± 2.0 years old, range 37–76) and 21 age and gender-matched neurologically intact subjects (controls; 5 females, 56.6 ± 2.1 , range 33–73). The disease duration from the onset of weakness was 26.6 ± 3.6 months. All patients but one were treated with riluzole (100 mg/day) and alpha tocopherol (1000 mg/day). The predominance of upper (UMN) or lower motor neuron (LMN) signs considering the 4 body regions (bulbar, cervical, dorsal and lumbosacral) was determined in each patient (UMN or LMN predominant). Clinical measures included manual muscle testing (Medical Research Council MRC testing), total ALSFRS-R and assessment of hand motor performance by the ALSFRS-R sub-score for handwriting and the 9-hole peg test (Table 1).

2.2. Electrophysiology

Electrophysiological investigations were performed the same day as MRI in each participant. During the electrophysiological investigations, the patients were seated in an armchair comfortably. The shoulder was in slight abduction (20°), the elbow was semi extended (120°) with the forearm resting on the arm of the chair, and the hand was in prone position.

2.2.1. EMG recordings

Triceps brachii EMG activity was recorded with bipolar surface electrodes (foam disposable electrodes with solid gel, 2-cm apart; FIAB, Florence, Italy). EMG activity was amplified ($\times 10,000$) and filtered (0.1–1-kHz bandpass; D360 8-Channel Patient Amplifier, Digitimer Ltd, Hertfordshire, UK) before being digitally stored on a personal computer (2-kHz sampling rate; Power 1401 and Signal Software, CED, Cambridge, UK). The mean level of EMG activity produced during the maximal voluntary contraction (MVC) of triceps was evaluated in each participant. Then, all the EMG recordings were performed during tonic voluntary contraction of triceps at 10–15% MVC, with the help of visual feedback (the mean EMG activity was displayed on an oscilloscope).

2.2.2. Electrical stimulations

Median and ulnar nerves were stimulated (1-ms rectangular electrical stimulation; DS7A, Digitimer Ltd, Hertfordshire, UK) at the wrist level using bipolar surface electrodes (0.5 cm^2 , 1-cm apart). All controls were stimulated on the dominant side, according to the Edinburgh handedness inventory (Oldfield, 1971); right side in 20 subjects and left side in 1. The ALS patients were stimulated on the most affected side (distal hand weakness) or on the dominant side when both sides were equally affected: 17 patients were stimulated on the dominant-right side, 1 patient on the dominant-left side and 3 patients on the left-non-dominant but more affected side. Perceptual threshold (PT) was estimated in both nerves. The radial nerve was stimulated in the arm pit using a 5-cm^2 brass electrode (cathode) and a 35-cm^2 brass plaque (anode) placed on the deltoid. The electrodes were positioned to produce a twitch in triceps and the intensity was increased to evoke Mmax in triceps EMG.

1970

S. Sangari et al./Clinical Neurophysiology 127 (2016) 1968–1977

Table 1
Clinical data.

Patient	Onset	Months	ALS	Atrophy	UMN vs. LMN	ALSFR-S (/48)	Muscular testing				
							Total (/150)	Hand (/10)	Ext. (/5)	Flex. (/5)	Abd. (/5)
1. M.68	UL	74	P	+	UMN	42	148	8	5	5	5
2. M.50	UL	28	P	+	LMN	42	145	5	5	5	5
3. M.54	LL	28	P	+	UMN	41	120	8	5	5	5
4. M.59	LL	24	P	+	UMN	34	102	7	5	4	5
5. M.62	B	12	P	+	UMN	43	147	9	5	5	5
6. M.48	UL	23	P	+	UMN	39	145	8	5	5	5
7. M.61	LL	33	P	+	LMN	39	105	8	5	5	3
8. M.44	LL	21	P	—	LMN	40	131	9	5	5	5
9. F.76	LL	26	LS	—	UMN	34	105	8	5	5	5
10. M.66	UL	34	P	+	UMN	37	144	6	5	5	5
11. M.45	B	15	D	+	UMN	31	137	8	5	4	3
12. M.55	LL	58	P	+	LMN	30	79	6	5	5	5
13. F.37	UL	39	P	+	UMN	41	140	6	5	5	5
14. M.51	UL	10	P	+	UMN	45	134	8	5	3	3
15. M.52	UL	15	LS	+	LMN	46	145	8	5	5	5
16. F.50	UL	14	P	+	LMN	44	145	9	5	5	5
17. F.56	UL	15	P	+	LMN	40	144	7	5	5	5
18. M.58	LL	43	P	+	LMN	33	114	8	5	5	5
19. F.62	LL	8	P	—	UMN	40	145	8	5	5	5
20. M.65	UL	17	P	+	LMN	45	145	8	5	3	5
21. M.63	LL	19	LS	+	LMN	40	129	8	5	5	5

Patient: rank,gender (F = female–M = male),age (years old); Onset: first clinical signs manifested in upper limb (UL) or lower limb (LL) or bulbar (B); Months: duration of the disease in months; ALS: El Escorial criteria for ALS: Definite ALS (D), Clinically probable ALS (P), Clinically probable – laboratory supported ALS (LS); Atrophy observed (+) or not (–) on the side explored during the electrophysiological investigations; UMN vs. LMN: patient exhibiting lower of upper motor neuron syndrome; ALSFR-S: total score of the revised ALS functional resting scale (maximal score 48); Muscular testing: for upper and lower limbs and the neck (Total/150) and the sub-scores for hand muscles (hand/10), elbow extensors (Ext./5), elbow flexors (Flex./5) and shoulder abductors (Abd./5) on the side explored during the electrophysiological investigations.

Peripheral (Erb's point) and cortical somato-sensory evoked potentials (SEPs) were collected to investigate the conduction of sensory pathways. The results collected in the same groups of subjects are reported in Iglesias et al. (2015).

2.2.3. Transcranial magnetic stimulation

TMS was delivered over the primary motor cortex using a Magstim Rapid (Magstim Co Ltd, Whitland, UK) and a single 90-mm circular winding coil. The face B of the coil was visible (clockwise inducing current) for stimulating the right upper limb, and face A for the left side (Hess et al., 1987). The coil was positioned over the longitudinal fissure, slightly tilted towards the target hemisphere, at the optimal site for producing an MEP in the contralateral triceps EMG during tonic contraction at 10–15% MVC. The participants wore a cap on which the position of the coil was marked to ensure the stability of TMS across the experiment. The TMS intensity was ranged randomly with 2% maximal stimulator output (MSO) stepwise, between intensities around the active MEP threshold (AMT) and the intensity producing maximal MEP; we also tested intensities 4–6% MSO higher than that producing maximal MEP. Ten stimuli (0.33 Hz stimulation rate) were delivered at each intensity, to plot the mean MEP size against TMS intensity in each subject (MEP recruitment curve). The EMG modulations after subthreshold TMS (for MEP) were analyzed to assess the cortical inhibition (Davey et al., 1994).

2.2.4. Combined TMS and peripheral nerve stimulations

The effects produced in triceps motoneurons by median and ulnar nerve stimuli were estimated by comparing the size of MEP produced by isolated TMS and the size of MEP produced by combined TMS and peripheral nerve stimulation. Based on the MEP recruitment curve, TMS intensity was adjusted at the intensity for evoking an MEP at about half its maximal size (I_{50}). The stimulus intensity of ulnar and median nerves was adjusted at $6 \times PT$; we did not find any significant differences in PT between controls and ALS patients (Iglesias et al., 2015). One recording session consisted in 20 isolated TMS, 20 TMS combined with ulnar nerve

stimuli, and 20 TMS combined with median nerve stimuli, randomly alternated (0.33 Hz). One interval between peripheral nerve stimulation and TMS (inter-stimulus interval, ISI) was investigated during one recording session. The theoretical ISI for convergence of group Ia and corticospinal inputs at motoneuron level was estimated by calculating the difference between peripheral (from the wrist to triceps motoneurons) and central (from motor cortex to triceps motoneurons) conduction times (see the general methodology in Pierrot-Deseilligny and Burke, 2012). The peripheral afferent conduction time was estimated using the mean conduction velocity in group Ia fibers stimulated at the wrist level (69 m s^{-1} ; Marchand-Pauvert et al., 2000) and the distance between stimulation site and C7 vertebra in each participant. The central conduction time was estimated using the fastest conduction velocity estimated in pyramidal tract after TMS in humans (70 m s^{-1} ; Boyd et al., 1986; Inghilleri et al., 1989; Fujiki et al., 1996) and the distance between motor cortex and C7. Experimental ISIs were chosen according to this estimation, starting between 6 and 8 ms depending on the estimation in the subject and decreasing the interval with 0.5–1-ms stepwise to determine the shortest and optimal ISI for producing a larger MEP in EMG on combined stimuli (conditioned MEP) than the MEP produced by isolated TMS (test MEP), due to summation of corticospinal and peripheral inputs at spinal level.

2.3. Spinal diffusion tensor imaging

Image acquisitions were performed using a 3T magnetic resonance imaging (MRI) system (TIM Trio, Siemens healthcare, Erlangen, Germany) and neck/spine coil. Cardiac-gated diffusion tensor imaging (DTI) was performed using a single-shot EPI sequence with monopolar scheme. The axial slice was positioned perpendicular to the spinal cord, in the middle of each vertebral level between C2–T2 vertebral levels (8 slices) but the acquisition was optimized for C5–T1. Imaging parameters were: FOV = 128 mm, TR/TE = 700/96 ms, voxel size = $1 \times 1 \times 5 \text{ mm}^3$, parallel acquisition: $R = 2$, b -value 1000 s/mm^2 , 64 directions, 2 repetitions,

acquisition time 10 min (Cohen-Adad et al., 2011, 2013; Mendili et al., 2014; Iglesias et al., 2015).

2.4. Data analysis

2.4.1. EMG recordings

EMG activity was full-wave rectified for averaging. The mean surface of pre-stimulus EMG activity was calculated over a 100-ms period, excluding the stimulus artifact. Then, the mean area of pre-stimulus activity was estimated over the same duration as the post-stimulus responses (background EMG). The MEP latency and duration were visually determined and the MEP area was evaluated within this time window. The areas of EMG suppression and facilitation induced by sub-threshold TMS were also evaluated within a window of analysis delineated by their latency and duration. The differences between post-stimulus responses (MEP, EMG suppression and facilitation) were normalized to the background EMG, and background EMG to EMG during MVC, for inter-individual comparisons.

2.4.2. MEP recruitment curves

The mean area of MEP was evaluated at each intensity, and plotted against the TMS intensity. The experimental data were fitted with the following 3-parameter sigmoid function (Devanne et al., 1997; Carroll et al., 2001), shown in Eq. (1):

$$\text{MEP} = \frac{\text{maxMEP}}{1 + e^{\frac{\log_2 I_0 - I}{k}}} \quad (1)$$

where maxMEP is the maximal size of MEP, I_0 is the TMS intensity producing half maxMEP and k is the Boltzmann slope parameter.

The peak slope of the function was calculated to provide an indication of the maximal rate of increase in MEP magnitude with stimulus intensity (Carroll et al., 2001), shown in Eq. (2):

$$\text{Peak slope} = \frac{\left(\frac{1}{k}\right) \text{maxMEP}}{4} \quad (2)$$

Sigmoid fit and evaluation of peak slope were performed in each subject, individually. The estimated values of each parameter of the sigmoid (maxMEP, I_0 and k) were extracted in each subject and we calculated the mean of each parameter and the 95% confidence intervals (CI) in control and ALS group. The mean estimated maxMEP, the mean estimated I_0 and the mean k were used to draw the mean estimated sigmoid curve in each group. The 95% CI of each parameter were used to draw the confidence bands around curve: the thinnest band was based on the 95% CI of each parameter around the mean of the other parameters and the largest band, by changing all the parameters in their 95% CI, simultaneously (script developed with Matlab, Natick, MA, USA). Each band indicates, respectively, the variability depending on non-simultaneous and simultaneous changes in the 3 parameters of the sigmoid function.

2.4.3. Conditioned MEP

For each subject, at each ISI investigated, the areas of test (TMS alone) and conditioned MEP (TMS + peripheral nerve stimulation) were evaluated within the same window of analysis and the conditioned MEPs were normalized to the corresponding mean test MEP size. This ratio was used to estimate the effect of median and ulnar nerve stimuli on triceps MEP.

2.4.4. Diffusion tensor imaging

Motion correction was applied slice-by-slice using FSL FLIRT with 3° of freedom (Tx, Ty, Rz). Diffusion tensor and its related metrics, fractional anisotropy (FA), axial (λ_{\parallel}) and radial (λ_{\perp}) and mean diffusivity (MD), were estimated on a voxel-wise basis. The

region of interest (ROI), limited to the hemi-lateral region including the lateral corticospinal tract, ipsilateral to the electrical stimulations, was manually defined on each slice using geometry-based information. To avoid any user bias, the ROI was defined on the mean diffusion weighted images by an experienced segmentation operator. Furthermore, during ROIs classification, the pixels that were at the cord/corticospinal fluid or white matter/gray matter interfaces were excluded.

2.5. Statistics

Conditioned and test MEPs were compared in each individual using paired t tests. The group data were compared using parametric and non-parametric tests depending on the data distribution and the variances. For the comparisons of two means, t test or Mann-Whitney test were used. Dixon test was performed to identify the outliers. Pearson product moment correlations were performed to test the relationships between two quantitative values and multiple regression analyses were done for multiple factor analyses. To facilitate the reading, the tests used are indicated in the text. The statistical analysis was conducted using SigmaPlot (Systat Software, Inc, San Jose, CA, USA) and the significance level was set at P value < 0.05 . Arithmetical means are indicated ± 1 standard error of the mean (SEM).

3. Results

3.1. Corticospinal control onto triceps motoneurons

One patient stopped the electrophysiological protocol because he disliked peripheral nerve stimulation (12.M.55; Table 1). In 2 other patients (13.F.37 and 19.F.62; Table 1), it was not possible to evoke any MEP in triceps EMG. Therefore, the following reported results were obtained from 21 controls and 18 patients.

Fig. 1AB shows the mean MEPs produced in triceps EMG in one control and one ALS patient with increasing TMS intensity. While MEPs were similar in shape and duration in both subjects, the threshold intensity was higher in the patient (52–54% MSO) than in the control (38–40% MSO). On average, AMT was significantly higher in ALS patients compared to controls (61.9 ± 2.6 vs. $46.3 \pm 2.3\%$ MSO; t test, $P < 0.001$; Fig. 1C). On the other hand, there was no difference between groups in MEP latency (the mean shortest latency was 11.8 ± 0.3 in ALS vs. 11.9 ± 0.4 ms in controls; Mann-Whitney, $P = 0.73$) and duration (15.2 ± 0.9 in ALS vs. 16.6 ± 1.0 ms in controls; t test, $P = 0.78$). Pearson correlation analysis did not reveal any significant correlation between MEP threshold and DTI metrics ($0.12 < P < 0.87$).

The box plot charts in Fig. 1D indicate that the raw maxMEP in most ALS patients (15/18) was within the same range as controls. Accordingly, the mean raw maxMEP was not significantly different between groups (7.9 ± 0.9 in ALS vs. 8.5 ± 1.2 $\mu\text{V}/\text{ms}$ in controls; Mann-Whitney $P = 0.64$). Dixon tests revealed that the highest values in both groups were significant outliers ($P < 0.05$) but comparing the 2 groups without them did not change the results. Similar analyses were undertaken to compare the size of Mmax in both groups (no significant outliers, Dixon $0.9 < P < 0.6$), which was found significantly smaller in ALS patients than in controls (1.8 ± 0.3 vs. 3.5 ± 0.5 mV; t test $P < 0.01$; Fig. 1E). As a result, the ratio (maxMEP area/Mmax area) was significantly higher in patients (18.7 ± 3.0 vs. $10.6 \pm 1.4\%$ Mmax; t test $P < 0.05$).

EMG recordings were performed during tonic voluntary triceps contraction at 10–15% MVC, and the mean level of pre-stimulus EMG activity was similar in patients and controls (13.5 ± 1.7 vs. 12.7 ± 1.5 mV, respectively; t test, $P = 0.16$). For a valid inter-individual comparison and avoid any bias due to the recording

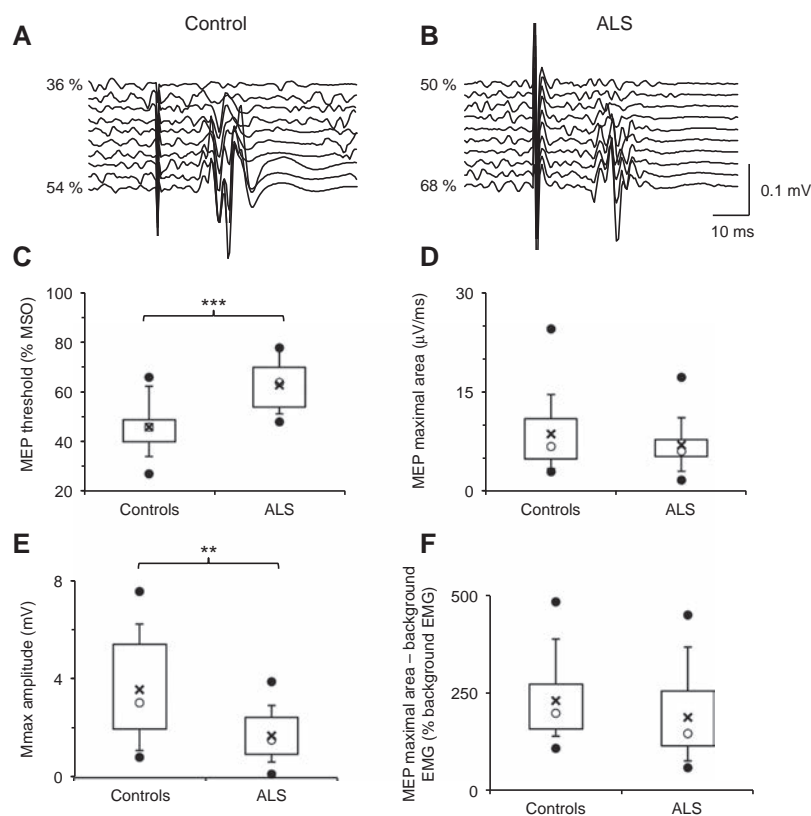


Fig. 1. Triceps MEP and Mmax. AB, mean EMG activity ($N = 10$) around TMS delivery in one control subject (A) and in one ALS patient (B). Each trace corresponds to the result of a given intensity with 2% MSO stepwise: from 36% to 54% MSO in the control subject (A) and from 50% to 68% MSO in the ALS patient (B). CDEF, Box plot charts showing the data distribution for the MEP threshold (% MSO, C), the MEP maximal area ($\mu\text{V}/\text{ms}$, D), Mmax amplitude (mV, E), and the maximal area of the MEP above the EMG baseline (% background EMG, F), in controls (left boxes) and in ALS patients (right boxes): the top and bottom line of the box correspond to the 75th percentile (top quartile) and 25th percentile (bottom quartile), respectively, and the open circle in the box, to the 50th percentile (median). The two bars extend from the 10th percentile (bottom centile) and to the 90th percentile (top centile). The bar caps delimit the outliers. The top and bottom filled circle indicate the maximum and minimum value, respectively. The cross within the box indicates the arithmetical mean.

conditions (De Luca, 2008), MEPs were normalized to the background activity. Fig. 1F shows the distribution of normalized maxMEP, which was not significantly different between groups (190.0 ± 26.5 in ALS vs. $231.0 \pm 22.0\%$ background EMG in controls; Mann–Whitney, $P = 0.08$).

For each subject, the normalized MEPs were plotted against TMS intensity and the data were fitted with the 3-parameter sigmoid function. Then, we compared between groups the adjusted coefficient of determination (R^2), the peak slope and the 3 parameters of the sigmoid function (k , I_{50} and plateau level = estimated maxMEP). On average, we found no significant difference between R^2 in patients and controls (0.74 ± 0.03 vs. 0.79 ± 0.02 , respectively; t test, $P = 0.22$) and the peak slope was similar in both groups (12.9 ± 2.9 vs. 12.5 ± 2.0 in controls; Mann–Whitney, $P = 0.64$). The only significant differences included a higher I_{50} in patients (69.2 ± 2.0 vs. $56.3 \pm 2.6\%$ MSO in controls; t test, $P < 0.001$) and a smaller plateau level (170.6 ± 26.9 vs. $224.4 \pm 22.8\%$ background EMG; Mann–Whitney, $P < 0.05$). Based on the mean of the 3 parameters of the sigmoid function and their 95% CI, we plotted the mean estimated MEP recruitment curve and confidence bands in each group (Fig. 2A). Then, we calculated the X-axis intercept of each curve and the difference between groups. The difference for X-axis intercept (16.5% MSO) was similar than the difference between the MEP thresholds observed experimentally (15.6% MSO).

The minimal size of maxMEP recorded in the group of controls was 110.3% and only 3 patients exhibited much smaller MEPs

(60.7 – 79.9% ; 4.M.59, 11.M.45 and 20.M.65 in Table 1). The plateau level without these 3 patients reached $213.5 \pm 28.0\%$ and was not different from the controls (Mann–Whitney, $P = 0.11$). Fig. 2B shows the mean estimated sigmoid in the 21 controls and the 15 patients (i.e. without the 3 outliers in ALS group). The main result was that the recruitment curve shifted on the right in the ALS group, due to a higher MEP threshold than in controls.

Multiple regression analyses between MRI and TMS results did not reveal any significant relationships between maxMEP or MEP threshold and DTI metrics in controls and ALS patients ($P = 0.13$ and 0.32 , respectively). Among the 5 patients in whom we could not evoke any MEP or who exhibited the smallest maxMEPs, one was the one with MRI artifact. The 4 remaining patients were not those who exhibited the most altered MRI metrics (mean FA was 0.52 ± 0.02 and mean MD was $1.01 \pm 0.03 \times 10^{-3} \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$). In the ALS group, multiple regression analyses did not reveal any significant relationships between maxMEPs or MEP threshold with MRI metrics and clinical data ($P = 0.28$ and 0.20 , respectively). We did not find any differences between patients according to the predominance of upper or lower motor neuron signs (t test, $P = 0.48$ and 0.77 for maxMEP and MEP threshold, respectively).

3.2. Anatomical evidences for corticospinal tract alteration

Because of artefacts, 1 control and 2 patients (11.M.45 and 21.M.63; Table 1) were excluded from the grouped data reported (20 controls and 19 patients). FA, $\lambda_{//}$, λ_{\perp} and MD of the lateral

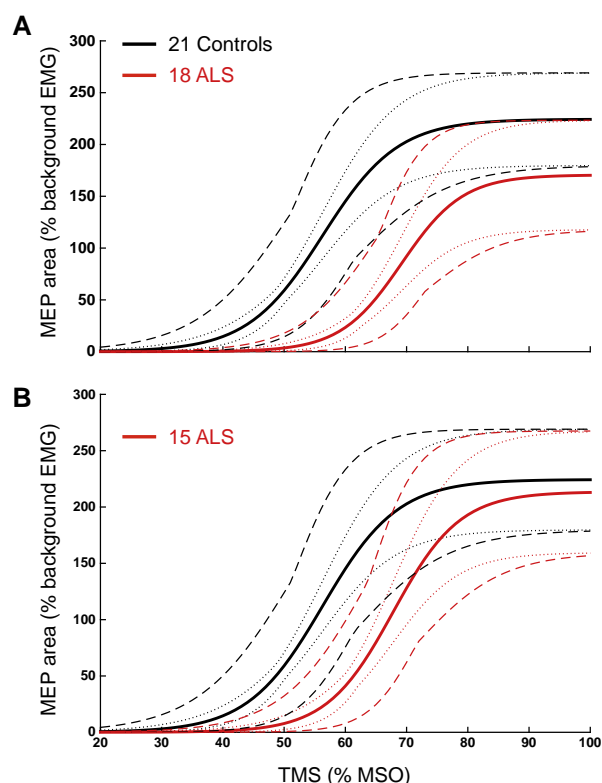


Fig. 2. Triceps MEP recruitment curves. Mean estimated MEP recruitment curves calculated using the mean of the 3 parameters (k , I_{50} and plateau level) of the sigmoid function (see Section 2.4.2) in the 21 controls (black line in A), in the full group of ALS patients ($N = 18$ ALS, red line in A), and in the sub-group of ALS patients without the 3 outliers ($N = 15$ ALS, red line in B). The confidence bands have been estimated using the 95% CI of each parameter of the sigmoid function, estimated in each group: the thinnest band (dotted lines) was based on the 95% CI of each parameter around the mean of the other parameters and the largest band (interrupted lines), by changing all the parameters in their 95% CI simultaneously. The Y-axis indicates the size of the normalized MEPs (MEP area – background EMG) and the X-axis indicates the TMS input % MSO.

corticospinal tract were evaluated on the side explored electrophysiologically and each metric has been compared between controls and patients. FA was significantly depressed in ALS (0.52 ± 0.02 vs. 0.55 ± 0.02 $\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$; Mann–Whitney, $P < 0.05$). λ_{\parallel} was higher in ALS but the difference with controls was not significant ($1.69 \pm 0.04 \times 10^{-3}$ vs. $1.57 \pm 0.04 \times 10^{-3}$ $\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$; Mann–Whitney, $P = 0.08$). λ_{\perp} and MD were significantly higher in ALS (λ_{\perp} : $0.71 \pm 0.02 \times 10^{-3}$ vs. $0.63 \pm 0.02 \times 10^{-3}$ $\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$; Mann–Whitney, $P < 0.01$ – MD: $1.05 \pm 0.03 \times 10^{-3}$ vs. $0.94 \pm 0.02 \times 10^{-3}$ $\text{mm}^2 \text{s}^{-1}$; t test, $P < 0.01$). Multiple regression analyses failed to reveal any significant correlation between DTI metrics and clinical data (muscular testing, ALSFR-S and 9-hole peg test: $0.22 < P < 0.88$).

3.3. Cortical excitability

Sub-threshold TMS (for MEP) is known to suppress EMG activity due to the activation of cortical inhibitory interneurons (Davey et al., 1994). Therefore, we compared the effects produced by sub-threshold TMS (for MEP) on the ongoing EMG in both groups. Significant EMG suppression was observed in 19/21 controls and 18/18 patients. On average, the TMS-induced EMG depression was deeper in ALS patients than in controls (Fig. 3A). Fig. 3B shows

the mean level of inhibition, which was significantly stronger in ALS patients (50.1 ± 3.3 vs. $35.1 \pm 4.2\%$ background EMG; t test, $P < 0.01$). We also tested the level of facilitation, following EMG depression, and we did not find any significant differences between groups (Fig. 3C: 12.8 ± 12.8 in ALS vs. $30.3 \pm 9.0\%$ in controls; t test, $P = 0.27$). The relative TMS intensity at which significant EMG depression was produced was similar in both groups (96.7 ± 2.7 in ALS vs. $94.0 \pm 0.7\%$ AMT in controls; Mann–Whitney, $P = 0.71$). The latencies of inhibition and facilitation were also similar in both groups (inhibition: 24.5 ± 1.0 in ALS vs. 21.8 ± 1.0 ms in controls; t test, $P = 0.08$ – facilitation: 64.6 ± 2.6 in ALS vs. 59.6 ± 3.1 ms in controls; t test, $P = 0.23$), as the duration of facilitation (22.5 ± 2.0 in ALS vs. 25.2 ± 2.6 ms in controls; Mann–Whitney, $P = 0.51$). Thus, the EMG suppression occurred ~ 10 ms later than the MEP observed at higher TMS intensities in both groups. We did not find any significant differences between patients exhibiting upper or lower motor neuron signs (t test, $P = 0.10$).

3.4. Convergence of peripheral and corticospinal inputs at motoneuron level

Figs. 4A and B show the difference between conditioned (by ulnar nerve) and test MEP in one control and one ALS patient, respectively. In both subjects, the ulnar nerve stimulation enhanced the MEP size at 4–5 ms ISI, as illustrated with the raw data on the right part of each figure. The main differences included a stronger and longer facilitation in the ALS patient than in the control. Grouped data analysis (21 controls and 18 patients) revealed that the total amount of facilitation, and its maximum, were significantly greater in ALS patients than in controls (Fig. 4B and Table 2; t test, $P < 0.05$). The level of median-induced facilitation tended also to be stronger in the ALS group but the difference with controls was not significant (t test, $0.18 < P < 0.27$).

The fact that controls and patients had similar MEP (cf. 3.1) and N9 latencies (Iglesias et al., 2015) allowed us to use the mean conduction velocities previously reported in corticospinal and group Ia fibers for calculating the theoretical ISI (see Section 2). On average, we found that the peripheral afferent conduction time was 10.3 ± 0.1 ms and the central conduction time, 3.6 ± 0.04 ms. Therefore, the mean theoretical ISI for convergence of group Ia afferents and corticospinal inputs at motoneuron level was estimated at 6.8 ± 0.1 ms. To facilitate the reading, we only reported here the mean results in the full group of participants (ALS + controls), but we compared the estimations in each group and we did not find any significant differences between ALS and controls (t test, $P = 0.43$). On average, MEP facilitations occurred at ISI 2.2 ± 0.2 ms shorter than the theoretical ISI in both groups, with similar durations (Table 2; t test, $0.28 < P < 0.71$).

TMS intensity was adjusted at I_{50} in all participants, and according to the recruitment curve investigations, it was significantly higher (t test, $P < 0.001$) and the test MEP was smaller in ALS than in controls (t test, $P < 0.05$; see Table 2). We therefore investigated the relationships between the test MEP size and the level of facilitation but we did not find any significant correlation (Pearson, $P = 0.39$ and 0.24 for ulnar and median nerve, respectively). Nevertheless, because we had 3 patients who exhibited much smaller maximal MEPs than the controls (see Section 3.1 and Fig. 2B), we compared the level of ulnar-induced facilitation in the sub-group of patients without the 3 outliers and we found again MEP facilitation significantly stronger in ALS than in controls ($37.3 \pm 9.4\%$ mean test MEP; t test, $P < 0.05$).

Pearson correlation analyses were undertaken to test the relationships between the enhanced ulnar nerve induced facilitation and other alterations. We did not find any significant correlations with the MEP threshold ($P = 0.14$), with the amplitude of the afferent peripheral volley (data are reported in Iglesias et al., 2015;

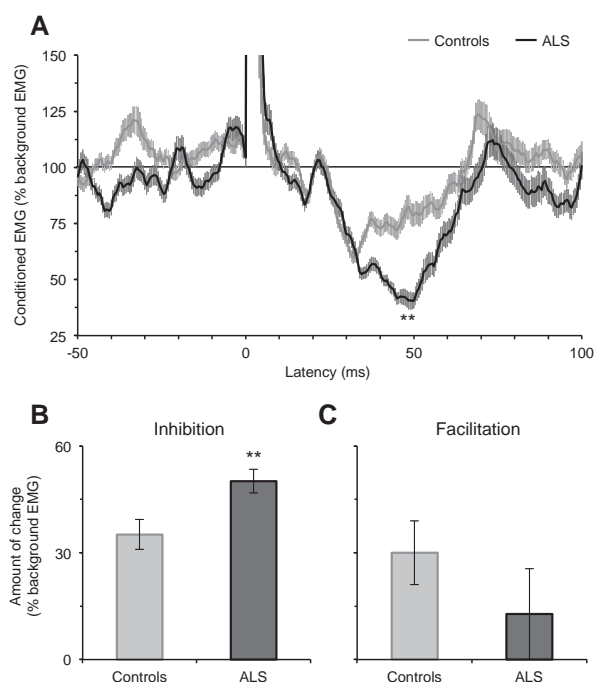


Fig. 3. Ongoing EMG modulations after sub-threshold TMS. (A) Grand average of the mean ongoing EMG activity in controls ($N = 21$ subjects, grey line) and in ALS ($N = 18$ patients, black line) ± 1 SEM. The Y-axis indicates the mean level of rectified EMG activity (% background EMG) and the X-axis indicates the latency (ms) around TMS delivery. (BC) Mean amount of EMG suppression (B) and facilitation (C) ± 1 SEM, in controls (grey columns) and in ALS patients (dark columns). $^{*}P < 0.01$.

$P < 0.48$) and with the level of TMS-induced EMG depression ($P < 0.76$). We also investigated the link with the predominant syndrome and we did not find any difference between patients exhibiting upper or lower motor neuron signs (t test, $P = 0.93$).

4. Discussion

This study has shown that, concomitantly with altered diffusion metrics of the lateral columns at cervical level, the MEP recruitment curves in asymptomatic triceps shifted to the right in ALS patients. This can be attributed to the increase of the active MEP threshold, which was observed together with a greater EMG suppression after sub-threshold TMS (for MEP). While we found in the same series of subjects that the afferent volley was depressed in patients (Iglesias et al., 2015), the combined stimulation of peripheral nerve and motor cortex gave rise to a greater MEP facilitation in ALS, especially when TMS was coupled with ulnar nerve stimulation. We did not find any correlations between these observations nor with the clinical data, including the predominance of upper or lower motor neuron signs.

4.1. Evaluation of the corticospinal inputs

Spinal DTI detected anatomical alterations of the corticospinal tract fibers in ALS, even at an early stage of the disease, in patients exhibiting little motor dysfunctions. In previous studies, significant correlations were reported between clinical data, MEP threshold and DTI metrics in the corticospinal tract at spinal and cortical levels (Sach, 2004; Cohen-Adad et al., 2013; Mendili et al., 2014; Grapponi et al., 2014). In the present study, no correlations were found probably because the patients were less affected, with motor

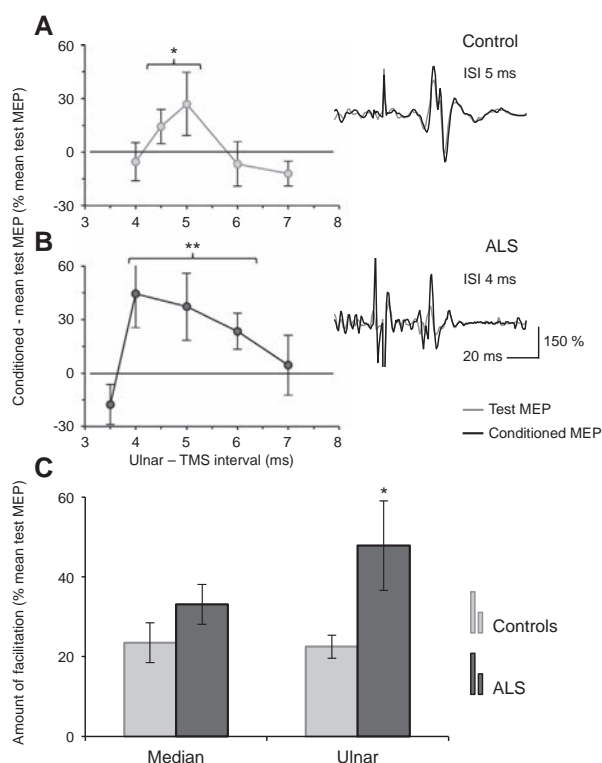


Fig. 4. Median and ulnar nerve induced MEP facilitation. AB, Ulnar-induced MEP facilitation in one control subject (grey dots and line, A) and in one ALS patient (black dots and line, B). The Y-axis indicates the difference between conditioned and mean test MEP ± 1 SEM (% mean test MEP) and the X-axis indicates the interval (ms) between ulnar nerve stimulation and TMS. On the right part, mean EMG activity ($N = 20$) showing the test (grey line) and conditioned MEPs (black line) observed in the control subject at ISI 5 ms and in the ALS patient at ISI 4 ms. C, mean amount of MEP facilitation (conditioned MEP – mean test MEP % mean test MEP) ± 1 SEM produced by median (left columns) and ulnar (right columns) nerve stimulations in the group of controls (grey columns) and in the ALS group (dark columns). $^{*}P < 0.05$. $^{**}P < 0.01$.

Table 2

Result summary of experiments with combined TMS and peripheral nerve stimulations.

		Controls	ALS
Median nerve	TMS	58.1 \pm 2.1	72.3 \pm 2.5 ^{***}
	Test MEP	98.3 \pm 13.4	71.0 \pm 2.5 [*]
	ISI	4.9 \pm 0.4	4.3 \pm 0.4
	Duration	1.2 \pm 0.1	1.6 \pm 0.3
	Maximal facilitation	19.6 \pm 4.2	26.3 \pm 4.3
Ulnar nerve	Total amount of facilitation	23.5 \pm 5.0	33.1 \pm 5.0
	ISI	4.7 \pm 0.4	4.4 \pm 0.3
	Duration	1.3 \pm 0.1	1.6 \pm 0.3
	Maximal facilitation	18.4 \pm 2.5	30.2 \pm 5.5 [*]
	Total amount of facilitation	22.4 \pm 2.9	47.8 \pm 11.2

TMS: intensity of TMS% MSO; test MEP: amplitude of the test MEP% background EMG; Median and ulnar nerves: ISI = the shortest interval (ms) between peripheral nerve stimulation and TMS at which occurred the MEP facilitation; Duration = duration (ms) of the facilitation calculating by adding the ISIs (ex.: ISIs 4, 5 and 6 ms = 3 ms in Fig. 3B); Maximal facilitation = the largest MEP facilitation observed (ex.: level of facilitation at ISI 4 ms in Fig. 3B; %background EMG); Total amount of facilitation = summation of the facilitations (%background EMG) observed in consecutive ISIs (ex.: summation of the MEP facilitation observed at ISIs 4, 5 and 6 ms in Fig. 3B). Controls and ALS: mean value ± 1 SEM.

^{*} $P < 0.05$.

^{***} $P < 0.001$.

dysfunctions in upper limb mostly affecting the extremities. Moreover, the TMS study was limited to the triceps, which was clinically

unaffected in all patients, while the anatomical evaluation of the corticospinal tract with spinal DTI could be global only, including corticospinal fibers projecting on cervical motoneurons and more caudal ones, with those innervating the lower limbs. For specific evaluation of a given muscle group, TMS investigations are necessary because it allows a focal estimation of the corticospinal transmission onto the target motoneurons.

MaxMEP has been found larger in ALS, suggesting cortical hyper-excitability (Zanette et al., 2002a; de Carvalho et al., 2003; Vucic et al., 2013b). In these studies, maxMEP was normalized to Mmax, which was depressed and thus distorted the ratio maxMEP/Mmax. In other papers comparing the raw MEP amplitude in mV, maxMEP was found smaller or unchanged in ALS (Zanette et al., 2002b; Khedr et al., 2011). Our study focused on triceps while previous studies investigated distal muscles but the distorting effect of normalization is common, whatever the muscle group. Accordingly, here we observed similar increased in maxMEP only when normalized to Mmax. This trivial point has never been discussed previously. Moreover, the changes in Mmax must be interpreted with caution due to the current spread to close nerve branches and due to EMG cross-talk. The normalization to background activity, which level was comparable in both groups and could not thus produce any arithmetic bias, allowed limiting the variability due to recording conditions. With this method of normalization, the comparisons of raw and normalized MEPs were consistent, revealing no significant change in MEP size. If anything, the tendency was rather to smaller MEPs in patients, suggesting that the corticospinal influence could be slightly depressed in patients. This hypothesis is supported by the depression of the first corticospinal peak observed in the peri-stimulus time histograms of single motor units, which was attributed to the degeneration of fast corticospinal fibers (Mills, 1995; Eisen et al., 1996; Enterzari-Taher et al., 1997; Kohara et al., 1999).

Changes in MEP threshold have been attributed to cortical mechanisms (Delvendahl et al., 2012; Ziemann et al., 2015), including motor and premotor areas which both could have been activated using the non-focal circular coil. Therefore, the higher MEP threshold in ALS suggests that their motor cortex was less excitable than controls, which is supported by the deeper EMG suppression after sub-threshold TMS (for MEP). Similar TMS-induced EMG suppression has been described in other muscle groups and was attributed to cortical mechanisms (Davey et al., 1994; Di Lazzaro et al., 1998; Petersen et al., 2001; Barthelemy and Nielsen, 2010; Iglesias et al., 2012). Indeed, the level of EMG suppression depends on both pyramidal cell activity and intra-cortical inhibition, and the right shift of MEP recruitment curve in ALS is consistent with enhanced cortical inhibition, as suggested previously (Schmied and Attarian, 2008; Attarian et al., 2009; Khedr et al., 2011). However, the intra-cortical inhibition produced by paired pulse TMS was found depressed in ALS (Yokota et al., 1996; Ziemann et al., 1997; Zanette et al., 2002b; Menon et al., 2015). Apart the target motoneurons, several other factors might have influenced the level of cortical inhibition. First, the riluzole therapy might have interfered with the electrophysiological evaluation of cortical inhibition (Vucic et al., 2013a). However, riluzole did not have acute effect on MEP threshold and intra-cortical excitability (Sommer et al., 1999). Moreover, a stronger cortical inhibition has been reported while patients received riluzole (Schmied and Attarian, 2008; Attarian et al., 2009). Second, cortical hyper-excitability would be an early feature of ALS, which progresses to normal excitability and then hypo-excitability (Menon et al., 2015). It is rather difficult to compare the patient groups from one study to another but this might have influenced the results. Lastly, paired pulse paradigm has been tested at rest while our study and previous ones also revealing enhanced cortical inhibition, were performed during tonic contraction (Schmied and Attarian, 2008; Attarian et al., 2009). The level of

intra-cortical inhibition is known to decrease during voluntary contraction above 10% MVC (Ortu et al., 2008). To our knowledge, the modulation of cortical excitability during movement has not been studied in ALS.

4.2. Altered sensori-motor integrations at spinal level

In Iglesias et al. (2015), we reported the results on SEPs and spinal DTI of dorsal columns in the same group of patients and controls: changes in diffusion were correlated to the reduction of peripheral potential N9, which suggests that the afferent volleys after median and ulnar nerve stimulation were reduced in ALS group. While it is difficult to determine the type of sensory afferents involved in N9, we discussed the possibility that proprioceptive afferents might be particularly affected in ALS (Gandevia et al., 1982; Iglesias et al., 2015), which is supported by a recent study in asymptomatic ALS mice (Vaughan et al., 2015).

The effects produced in motoneurons supplying upper limb muscles by median and ulnar nerve stimulation at wrist level, have been evaluated previously by investigating the change in single motor unit discharge and reflex amplitude. Both stimuli produced group Ia monosynaptic excitations, which could be followed by spinal non-monosynaptic group I and group II excitations. These excitations were not reproduced by purely cutaneous stimuli (especially those produced by ulnar nerve stimuli); cutaneous stimuli activating mainly inhibitory spinal pathways (Marchand-Pauvert et al., 2000; Lourenço et al., 2007; Pierrot-Deseilligny and Burke, 2012). To our knowledge, median and ulnar nerve stimuli have only been combined to TMS to explore the contribution of non-monosynaptic spinal pathways to motor control during movements, which occurred at longer ISIs than those reported in the present study (Iglesias et al., 2007; Roberts et al., 2008; Giboin et al., 2012). Indeed, the ulnar and median nerve stimulations increased the MEP size at ISIs even shorter than those expected for convergence at motoneuron level. The difference can be explained by the approximate estimation of conduction time in peripheral and corticospinal fibres and in distances. However, an error of 5 cm (distance between stimulation sites and spinal motoneurons) and 10 m s^{-1} (in conduction velocities) would lead to a difference of 0.5 ms only. In addition, (i) the summation of corticospinal and peripheral inputs at motoneuron level likely produced post-synaptic potentials with shorter rising phases, which could have activated higher-threshold and fast conducting motoneurons only depolarized in the subliminal fringe by isolated pulses, and (ii) the interaction of peripheral inputs with late corticospinal volleys could manifest at shorter ISI than that expected for the direct corticospinal volley (Pauvert et al., 1998; Marchand-Pauvert et al., 1999). Therefore, we assumed that the MEP facilitation produced by ulnar and median nerve stimulation was likely due to the summation of group Ia and corticospinal inputs at triceps motoneuron level.

MEP facilitation occurred at similar ISI in controls and ALS, suggesting no differences in the origin of the corticospinal volleys interacting with group Ia afferents between groups. The level of MEP facilitation produced by the stimulation of both nerves was greater in ALS than in controls, but the difference between groups was significant only for the ulnar nerve. This is in accordance with the change in peripheral afferent volley (N9) in the ALS group, which was found greater for ulnar nerve than for median nerve (results reported in Iglesias et al., 2015).

4.3. Possible mechanisms for compensation at spinal level

MEP depends on both cortical and spinal excitability. There are clinical (muscular fasciculation) and electrophysiological

evidences from direct cellular recordings in animals (Jiang et al., 2009) and humans (Devlin et al., 2015) that spinal motoneurons can exhibit exaggerated responses to synaptic inputs (hyper-excitability). This spinal hyper-excitability may compensate for cortical hypo-excitability, and thus for the resulting weaker corticospinal inputs. Under this condition, one would expect an increase in the peak slope, which was not the case. Indeed, the comparison of MEP input/output curves indicates that the recruitment in the corticospinal pathway was similar in both groups, reaching the same plateau level, i.e. the same proportion of motoneuron pool, but at higher intensity in ALS than in controls due to cortical hypo-excitability. However, the motor axon sprouting, which compensates for the peripheral denervation (Gordon et al., 2004), results in larger motor unit potentials in ALS (Schmied and Attarian, 2008). Therefore, the interpretation of compound muscle action potentials produced in EMG activity can be distorted in ALS. Moreover, at I_{50} , the test MEP was smaller in ALS than in controls. Nevertheless, we did not find any significant correlations between the size of test MEP and the level of ulnar-induced MEP facilitation, and this facilitation was still larger in the ALS subgroup, without the patients exhibiting the smallest MEPs. These results suggest that the larger MEP facilitation in ALS was likely independent of motoneuron targets (i.e. those innervating slow vs. fast motor units).

The excitability of monosynaptic synapses between group Ia afferents and motoneurons has been extensively investigated in ALS, by testing the H-reflex in soleus muscle (Drory et al., 2001; Mazzini and Balzarini, 2000; Simon et al., 2015). The main result to retain is that the H-reflex and Mmax were similarly reduced in ALS, leading to comparable Hmax/Mmax ratios as in controls. Results on single motor units in humans (Soliven and Maselli, 1992; Nakajima et al., 1996) and in mouse model (Jiang et al., 2009; Schomburg et al., 2011) further confirm that the post-synaptic potentials produced by group Ia afferents in motoneurons are not modified in ALS. Lastly, the slope of the ascending part of the H-reflex recruitment curve was comparable in controls and ALS (Simon et al., 2015), which further supports that the recruitment gain in the motoneuron pool was likely unchanged in ALS. Therefore, the enhanced motoneuron response to combined group Ia and corticospinal inputs might be due to mechanisms extrinsic to motoneurons, which might explain the absence of correlation with clinical data, including the predominance of upper or lower motor neuron syndrome.

The peripheral and corticospinal inputs facilitated motoneuron discharge at very short ISI, compatible with summation at motoneuron level. However, the contribution of spinal interneurons to the corticospinal transmission being likely greater for the control of proximal muscles (Petersen et al., 2003), changes in their excitability would have affected the conditioned MEP. Interneuron dysfunctions have been suggested in ALS mouse model (Jiang et al., 2009), and the possibility of interneuronopathy at cortical and spinal levels has been recently raised in humans (Turner and Kiernan, 2012). However, spinal interneurons acting at post-synaptic level would have compensated for the depression of both peripheral and corticospinal inputs, and thus would have increased the peak slope of MEP recruitment curve. In contrast, presynaptic inhibitory interneurons would have influenced the size of conditioned MEP only since group Ia inputs are modulated presynaptically but not the corticospinal inputs (Nielsen et al., 1999). Nevertheless, presynaptic inhibition of group Ia terminals at cervical level is strongly reinforced by stimulation of motor cortex (Meunier and Pierrot-Deseilligny, 1998). Provided that group Ia and/or corticospinal inputs might be less efficient in ALS, this would decrease the level of presynaptic inhibition and would thus reinforce the monosynaptic group Ia excitation. Accordingly, presynaptic inhibition has been found depressed in ALS patients'

lower limbs (Schieppati et al., 1985; Morin and Pierrot-Deseilligny, 1988).

4.4. Implications in the ALS pathophysiology and patient evaluation

The clinical and EMG evaluations of triceps were normal in the group of ALS patients. However, the investigation of MEP recruitment curves suggests that subclinical changes already occurred, especially at cortical level with enhanced cortical inhibition concomitant with higher MEP threshold. Changes also occurred at spinal level, with enhanced group Ia facilitation of motoneuron discharge while the opposite was expected due to the depression of peripheral afferent inputs (Iglesias et al., 2015). However, the properties of the complex spinal network, including spinal interneurons, allow compensatory mechanisms to maintain motoneuron discharge. This resulted in enhanced motoneuron activity, which might contribute to motoneuron excitotoxicity. In addition to the complex cellular and molecular mechanisms (Vucic et al., 2014), the organization of spinal and corticospinal networks can participate to the propagation of the disease, which has to be further examined.

Acknowledgments

The authors thank Drs. N. Le Forestier, T. Lenglet, F. Salachas, G. Bruneteau, M.D.M. Amador and V. Meininger for their help in patient recruitment. They also thank C. Macia, K. Nigaud, F. Humbert and R. Valabrègue for their valuable technical assistance during MRI acquisitions performed at CENIR-ICM Hôpital Pitié-Salpêtrière. Their gratitude also goes to S. Blanco for her help to obtain the approval of the local ethic committee and for monitoring the project. They also thank A. Giron and S. Vahdat for their help in statistical analyses. This work was supported by IRME (ID RCB 2012-A00016-37) and ANR (ANR-12-JSV4-0007-01). S. Sangari was supported by grants from UPMC and AFM-Téléthon, C. Iglesias by a grant from FRM and M.M. El Mendili by IHU-A-ICM Pitié-Salpêtrière (ANR-10-IAIHU-06).

Conflict of interest: None.

References

- Attarian S, Pouget J, Schmied A. Changes in cortically induced inhibition in amyotrophic lateral sclerosis with time. *Muscle Nerve* 2009;39:310–7.
- Barthelemy D, Nielsen JB. Corticospinal contribution to arm muscle activity during human walking. *J Physiol* 2010;588:967–79.
- Boyd SG, Rothwell JC, Cowan JM, Webb PJ, Morley T, Asselman P, Marsden CD. A method of monitoring function in corticospinal pathways during scoliosis surgery with a note on motor conduction velocities. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1986;49:251–7.
- Carroll TJ, Riek S, Carson RG. Reliability of the input–output properties of the cortico–spinal pathway obtained from transcranial magnetic and electrical stimulation. *J Neurosci Methods* 2001;112:193–202.
- Cohen-Adad J, Mendili M-M El, Lehericy S, Pradat P-F, Blanco S, Rossignol S, Benali H. Demyelination and degeneration in the injured human spinal cord detected with diffusion and magnetization transfer MRI. *NeuroImage* 2011;55:1024–33.
- Cohen-Adad J, Mendili M-M El, Morizot-Koutlidis R, Lehericy S, Meininger V, Blanco S, Rossignol S, Benali H, Pradat P-F. Involvement of spinal sensory pathway in ALS and specificity of cord atrophy to lower motor neuron degeneration. *Amyotroph Lateral Scler Front Degener* 2013;14:30–8.
- Davey NJ, Romaiguère P, Maskill DW, Ellaway PH. Suppression of voluntary motor activity revealed using transcranial magnetic stimulation of the motor cortex in man. *J Physiol* 1994;477:223–35.
- de Carvalho M, Turkman A, Swash M. Motor responses evoked by transcranial magnetic stimulation and peripheral nerve stimulation in the ulnar innervation in amyotrophic lateral sclerosis: the effect of upper and lower motor neuron lesion. *J Neurol Sci* 2003;210:83–90.
- De Luca CJ. A practicum on the use of sEMG signals in movement sciences, 2008. <http://www.delsys.com/KnowledgeCenter/Practicum.html>.
- Delvendahl I, Jung NH, Kuhnke NG, Ziemann U, Mall V. Plasticity of motor threshold and motor-evoked potential amplitude – a model of intrinsic and synaptic plasticity in human motor cortex? *Brain Stimul* 2012;5:586–93.
- Devanne H, Lavoie BA, Capaday C. Input–output properties and gain changes in the human corticospinal pathway. *Exp Brain Res* 1997;114:329–38.

- Devlin A-C, Burr K, Boroah S, Foster JD, Cleary EM, Geti I, Vallier L, Shaw CE, Chandran S, Miles GB. Human iPSC-derived motoneurons harbouring TARDBP or C9ORF72 ALS mutations are dysfunctional despite maintaining viability. *Nat Commun* 2015;6:5999.
- Di Lazzaro V, Restuccia D, Oliviero A, Profice P, Ferrara L, Insola A, Mazzone P, Tonali P, Rothwell JC. Magnetic transcranial stimulation at intensities below active motor threshold activates intracortical inhibitory circuits. *Exp Brain Res* 1998;119:265–8.
- Drory VE, Kovach I, Groozman GB. Electrophysiologic evaluation of upper motor neuron involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2001;2:147–52.
- Eisen A, Entezari-Taher M, Stewart H. Cortical projections to spinal motoneurons: changes with aging and amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 1996;46:1396–404.
- Entezari-Taher M, Eisen A, Stewart H, Nakajima M. Abnormalities of cortical inhibitory neurons in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 1997;20:65–71.
- Fujiki M, Isono M, Hori S, Ueno S. Corticospinal direct response to transcranial magnetic stimulation in humans. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1996;101:48–57.
- Gandevia S, Burke D, McKeon B. The relationship between the size of a muscle afferent volley and the cerebral potential it produces. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1982;45:705–10.
- Giboin L-S, Lackmy-Vallée A, Burke D, Marchand-Pauvert V. Enhanced propriospinal excitation from hand muscles to wrist flexors during reach-to-grasp in humans. *J Neurophysiol* 2012;107:532–43.
- Gordon T, Hegedus J, Tam SL. Adaptive and maladaptive motor axonal sprouting in aging and motoneuron disease. *Neurol Res* 2004;26:174–85.
- Grappone A-M, Verschueren A, Duclos Y, Confort-Gouny S, Soulier E, Loundou AD, Guye M, Cozzone PJ, Pouget J, Ranjeva J-P, Attarian S. Association between structural and functional corticospinal involvement in amyotrophic lateral sclerosis assessed by diffusion tensor MRI and triple stimulation technique. *Muscle Nerve* 2014;49:551–7.
- Hess CW, Mills KR, Murray NM. Responses in small hand muscles from magnetic stimulation of the human brain. *J Physiol* 1987;388:397–419.
- Iglesias C, Marchand-Pauvert V, Lourenço G, Burke D, Pierrot-Deseilligny E. Task-related changes in propriospinal excitation from hand muscles to human flexor carpi radialis motoneurons: task-related propriospinal excitation from human hand muscles. *J Physiol* 2007;582:1361–79.
- Iglesias C, Lourenço G, Marchand-Pauvert V. Weak motor cortex contribution to the quadriceps activity during human walking. *Gait Posture* 2012;35:360–6.
- Iglesias C, Sangari S, Mendili M-M, El, Benali H, Marchand-Pauvert V, Pradat P-F. Electrophysiological and spinal imaging evidences for sensory dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis. *BMJ Open* 2015;5:e007659.
- Inghilleri M, Berardelli A, Crucci G, Priori A, Manfredi M. Corticospinal potentials after transcranial stimulation in humans. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1989;52:970–4.
- Jiang M, Schuster JE, Fu R, Siddique T, Heckman CJ. Progressive changes in synaptic inputs to motoneurons in adult sacral spinal cord of a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci* 2009;29:15031–8.
- Khedr EM, Ahmed MA, Hamdy A, Shawky OA. Cortical excitability of amyotrophic lateral sclerosis: transcranial magnetic stimulation study. *Neurophysiol Clin Neurophysiol* 2011;41:73–9.
- Kohara N, Kaji R, Kojima Y, Kimura J. An electrophysiological study of the corticospinal projections in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurophysiol* 1999;110:1123–32.
- Lourenço G, Iglesias C, Marchand-Pauvert V. Effects produced in human arm and forearm motoneurons after electrical stimulation of ulnar and median nerves at wrist level. *Exp Brain Res* 2007;178:267–84.
- Marchand-Pauvert V, Simonetta-Moreau M, Pierrot-Deseilligny E. Cortical control of spinal pathways mediating group II excitation to human thigh motoneurons. *J Physiol* 1999;517:301–13.
- Marchand-Pauvert V, Nicolas G, Pierrot-Deseilligny E. Monosynaptic Ia projections from intrinsic hand muscles to forearm motoneurons in humans. *J Physiol* 2000;525:241–52.
- Mazzini L, Balzarini C. An overview of H-reflex studies in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2000;1:313–8.
- Mendili M-M, El, Cohen-Adad J, Pelegriani-Issac M, Rossignol S, Morizot-Koutlidis R, Marchand-Pauvert V, Iglesias C, Sangari S, Katz R, Lehericy S, Benali H, Pradat P-F. Multi-parametric spinal cord MRI as potential progression marker in amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS One* 2014;9:e95516.
- Menon P, Geevasinga N, Yiannikas C, Howells J, Kiernan MC, Vucic S. Sensitivity and specificity of threshold tracking transcranial magnetic stimulation for diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis: a prospective study. *Lancet Neurol* 2015;14:478–84.
- Meunier S, Pierrot-Deseilligny E. Cortical control of presynaptic inhibition of Ia afferents in humans. *Exp Brain Res* 1998;119:415–26.
- Mills KR. Motor neuron disease: Studies of the corticospinal excitation of single motor neurons by magnetic brain stimulation. *Brain* 1995;118:971–82.
- Morin C, Pierrot-Deseilligny E. Spinal mechanism of the antispastic action of TRH in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Rev Neurol (Paris)* 1988;144:701–3.
- Nakajima M, Eisen A, McCarthy R, Olney RK, Aminoff MJ. Reduced corticomotoneuronal excitatory postsynaptic potentials (EPSPs) with normal Ia afferent EPSPs in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 1996;47:1555–61.
- Nielsen J, Morita H, Baumgarten J, Petersen N, Christensen LO. On the comparability of H-reflexes and MEPs. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1999(Suppl. 51):93–101.
- Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: the edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 1971;9:97–113.
- Ortu E, Deriu F, Suppa A, Tolu E, Rothwell JC. Effects of volitional contraction on intracortical inhibition and facilitation in the human motor cortex. *J Physiol* 2008;586:5147–59.
- Pauvert V, Pierrot-Deseilligny E, Rothwell JC. Role of spinal premotoneurons in mediating corticospinal input to forearm motoneurons in man. *J Physiol* 1998;508:301–12.
- Petersen NT, Butler JE, Marchand-Pauvert V, Fisher R, Ledebt A, Pyndt HS, Hansen NL, Nielsen JB. Suppression of EMG activity by transcranial magnetic stimulation in human subjects during walking. *J Physiol* 2001;537:651–6.
- Petersen NT, Pyndt HS, Nielsen JB. Investigating human motor control by transcranial magnetic stimulation. *Exp Brain Res* 2003;152:1–16.
- Pierrot-Deseilligny E, Burke D. *The Circuitry of the Human Spinal Cord: Spinal and Corticospinal Mechanisms of Movement*. New York: Cambridge University Press; 2012.
- Roberts LV, Stinear CM, Lewis GN, Byblow WD. Task-dependent modulation of propriospinal inputs to human shoulder. *J Neurophysiol* 2008;100:2109–14.
- Sach M. Diffusion tensor MRI of early upper motor neuron involvement in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 2004;127:340–50.
- Schieppati M, Poloni M, Nardone A. Voluntary muscle release is not accompanied by H-reflex inhibition in patients with upper moto neuron lesions. *Neurosci Lett* 1985;61:177–81.
- Schmied A, Attarian S. Enhancement of single motor unit inhibitory responses to transcranial magnetic stimulation in amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Brain Res* 2008;189:229–42.
- Schomburg ED, Steffens H, Zschüntzsch J, Dibaj P, Keller BU. Fatigability of spinal reflex transmission in a mouse model (SOD1G93A) of amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle Nerve* 2011;43:230–6.
- Simon NG, Lin CS-Y, Lee M, Howells J, Vucic S, Burke D, Kiernan MC. Segmental motoneuronal dysfunction is a feature of amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurophysiol* 2015;126:828–36.
- Soliven B, Maselli RA. Single motor unit H-reflex in motor neuron disorders. *Muscle Nerve* 1992;15:656–60.
- Sommer M, Tergau F, Wischer S, Reimers CD, Beuche W, Paulus W. Riluzole does not have an acute effect on motor thresholds and the intracortical excitability in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol* 1999;246:III22–26.
- Turner MR, Kiernan MC. Does interneuronal dysfunction contribute to neurodegeneration in amyotrophic lateral sclerosis? *Amyotroph Lateral Scler* 2012;13:245–50.
- Vaughan SK, Kemp Z, Hatzipetros T, Vieira F, Valdez G. Degeneration of proprioceptive sensory nerve endings in mice harboring amyotrophic lateral sclerosis-causing mutations: proprioceptive sensory neurons and ALS. *J Comp Neurol* 2015;523:2477–94.
- Vucic S, Lin CS-Y, Cheah BC, Murray J, Menon P, Krishnan AV, Kiernan MC. Riluzole exerts central and peripheral modulating effects in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* 2013a;136:1361–70.
- Vucic S, Ziemann U, Eisen A, Hallett M, Kiernan MC. Transcranial magnetic stimulation and amyotrophic lateral sclerosis: pathophysiological insights. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013b;84:1161–70.
- Vucic S, Rothstein JD, Kiernan MC. Advances in treating amyotrophic lateral sclerosis: insights from pathophysiological studies. *Trends Neurosci* 2014;37:433–42.
- Yokota T, Yoshino A, Inaba A, Saito Y. Double cortical stimulation in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;61:596–600.
- Zanette G, Tamburin S, Manganotti P, Refatti N, Forgiione A, Rizzuto N. Different mechanisms contribute to motor cortex hyperexcitability in amyotrophic lateral sclerosis. *Clin Neurophysiol* 2002a;113:1688–97.
- Zanette G, Tamburin S, Manganotti P, Refatti N, Forgiione A, Rizzuto N. Changes in motor cortex inhibition over time in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol* 2002b;249:1723–8.
- Ziemann U, Winter M, Reimers CD, Reimers K, Tergau F, Paulus W. Impaired motor cortex inhibition in patients with amyotrophic lateral sclerosis. Evidence from paired transcranial magnetic stimulation. *Neurology* 1997;49:1292–8.
- Ziemann U, Reis J, Schwenkreis P, Rosanova M, Strafella A, Badawy R, Müller-Dahlhaus F. TMS and drugs revisited 2014. *Clin Neurophysiol* 2015;126:1847–68.

BIBLIOGRAPHIE

- AIMONETTI, VEDEL, SCHMIED, & PAGNI. (2000). Mechanical Cutaneous Stimulation Alters Ia Presynaptic Inhibition in Human Wrist Extensor Muscles: A Single Motor Unit Study. *The Journal of Physiology* 522 (1): 137–45.
- AJROUD-DRISS, & SIDDIQUE. (2015). Sporadic and Hereditary Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1852 (4): 679–84. doi:10.1016/j.bbadis.2014.08.010.
- ALLISON, MCCARTHY, WOOD, & JONES. (1991). Potentials Evoked in Human and Monkey Cerebral Cortex by Stimulation of the Median Nerve. *Brain* 114 (6): 2465–2503.
- ALSTERMARK, ISA, PETTERSSON, & SASAKI. (2007). The C3-C4 Propriospinal System in the Cat and Monkey: A Spinal Pre-Motoneuronal Centre for Voluntary Motor Control. *Acta Physiologica* 189 (2): 123–40. doi:10.1111/j.1748-1716.2006.01655.x.
- AMERICAN CLINICAL NEUROPHYSIOLOGY GUIDELINES. 9A, 9B, 9D (en ligne). www.acns.org/practice/guidelines
- ANZISKA, & CRACCO. (1983). Short-Latency Somatosensory Evoked Potentials to Median Nerve Stimulation in Patients with Diffuse Neurologic Disease. *Neurology* 33 (8): 989–93.
- ARGYRIOU, POLYCHRONOPOULOS, TALELLI, & CHRONI. (2006). F Wave Study in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Assessment of Balance between Upper and Lower Motor Neuron Involvement. *Clinical Neurophysiology* 117 (6): 1260–65. doi:10.1016/j.clinph.2006.03.002.
- ARIELI, STERKIN, GRINVALD, & AERTSEN. (1996). Dynamics of Ongoing Activity: Explanation of the Large Variability in Evoked Cortical Responses. *Science* 273 (5283): 1868–71.
- ASPELL, PALLUEL, & BLANKE. (2012). Early and Late Activity in Somatosensory Cortex Reflects Changes in Bodily Self-Consciousness: An Evoked Potential Study. *Neuroscience* 216 (August): 110–22. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.04.039.
- ATTARIAN, POUGET, & SCHMIED. (2009). Changes in Cortically Induced Inhibition in Amyotrophic Lateral Sclerosis with Time. *Muscle & Nerve* 39 (3): 310–17. doi:10.1002/mus.21137.
- AVOSSA, GRANDOLFO, MAZZAROL, ZATTA, & BALLERINI. (2006). Early Signs of Motoneuron Vulnerability in a Disease Model System: Characterization of Transverse Slice Cultures of Spinal Cord Isolated from Embryonic ALS Mice. *Neuroscience* 138 (4): 1179–94. doi:10.1016/j.neuroscience.2005.12.009.
- BAE, SIMON, MENON, VUCIC, & KIERNAN. (2013). The Puzzling Case of Hyperexcitability in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Clinical Neurology* 9 (2): 65. doi:10.3988/jcn.2013.9.2.65.
- BAE, MENON, MIOSHI, KIERNAN, & VUCIC. (2014). Cortical Hyperexcitability and the Split-Hand plus Phenomenon: Pathophysiological Insights in ALS. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 15 (3-4): 250–56. doi:10.3109/21678421.2013.872150.
- BALTADZHIEVA, GUREVICH, & KORCZYN. (2005). Autonomic Impairment in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Current Opinion in Neurology* 18 (5): 487–93.

- BARBER, ed. (1980). *Evoked Potentials: Proceedings*. Lancaster: MTP Press Limited.
- DRECHSLER. Short and long latency cortical potentials following trigeminal nerve stimulation in man.
- SHAHANI, BHARUCHA, & CAPADIA. Comparative study of early and late somatosensory evoked potentials in patients with hemiplegia and/or hemianaesthesia.
- SMALL. Somatosensory and spinal evoked potentials.
- BASBAUM, ed. (2008). *The Senses: A Comprehensive Reference*. Amsterdam: Elsevier.
- QI, PREUSS, & KAAS. Somatosensory areas of the cerebral cortex: architectonic characteristics and modular organisation
- BAUDRY, COLLIGNON, & DUCHATEAU. (2015). Influence of Age and Posture on Spinal and Corticospinal Excitability. *Experimental Gerontology* 69 (September): 62–69. doi:10.1016/j.exger.2015.06.006.
- BEDE, ELAMIN, BYRNE, MCLAUGHLIN, KENNA, VAJDA, PENDER, BRADLEY, & HARDIMAN. (2013). Basal Ganglia Involvement in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology* 81 (24): 2107–15. doi:10.1212/01.wnl.0000437313.80913.2c.
- BELLINGHAM. (2011). A Review of the Neural Mechanisms of Action and Clinical Efficiency of Riluzole in Treating Amyotrophic Lateral Sclerosis: What Have We Learned in the Last Decade?: Neural Mechanisms of Action and Clinical Efficiency of Riluzole in Treating ALS. *CNS Neuroscience & Therapeutics* 17 (1): 4–31. doi:10.1111/j.1755-5949.2009.00116.x.
- BENDOTTI, & CARRI. (2009). Amyotrophic Lateral Sclerosis: Mechanisms and Countermeasures. *Antioxidants & Redox Signaling* 11 (7). <http://www.hsantalucia.it/ric/attivita2009/AutoPlay/Docs/I%20pagine%20pubblicazioni/029-AMYOTROPHIC%20LATERAL%20SCLEROSIS.pdf>.
- BENSIMON, LACOMBLEZ, & MEININGER. (1994). A Controlled Trial of Riluzole in Amyotrophic Lateral Sclerosis. ALS/Riluzole Study Group. *The New England Journal of Medicine* 330 (9): 585–91. doi:10.1056/NEJM199403033300901.
- BERTEL, MALESSA, SLUGA, & HORNYKIEWICZ. (1991). Amyotrophic Lateral Sclerosis: Changes of Noradrenergic and Serotonergic Transmitter Systems in the Spinal Cord. *Brain Research* 566 (1-2): 54–60.
- BLOKHUIS, GROEN, KOPPERS, VAN DEN BERG, & PASTERKAMP. (2013). Protein Aggregation in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Acta Neuropathologica* 125 (6): 777–94. doi:10.1007/s00401-013-1125-6.
- BOILLÉE, VANDE VELDE, & CLEVELAND. (2006). ALS: A Disease of Motor Neurons and Their Nonneuronal Neighbors. *Neuron* 52 (1): 39–59. doi:10.1016/j.neuron.2006.09.018.
- BORASIO, LINKE, SCHWARZ, SCHLAMP, ABEL, MOZLEY, & TATSCH. (1998). Dopaminergic Deficit in Amyotrophic Lateral Sclerosis Assessed with [I-123] IPT Single Photon Emission Computed Tomography. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 65 (2): 263–65.
- BORIES, AMENDOLA, LAMOTTE D'INCAMPS, & DURAND. (2007). Early Electrophysiological Abnormalities in Lumbar Motoneurons in a Transgenic Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *European Journal of Neuroscience* 25 (2): 451–59. doi:10.1111/j.1460-9568.2007.05306.x.
- BOSCH, YAMADA, & KIMURA. (1985). Somatosensory Evoked Potentials in Motor Neuron Disease. *Muscle & Nerve* 8 (7): 556–62. doi:10.1002/mus.880080703.

- BRADLEY, GOOD, RASOOL, & ADELMAN. (1983). Morphometric and Biochemical Studies of Peripheral Nerves in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Annals of Neurology* 14 (3): 267–77.
- BRADLEY, TAANMAN, KALLIS, & ORRELL. (2009). Increased Sensitivity of Myoblasts to Oxidative Stress in Amyotrophic Lateral Sclerosis Peripheral Tissues. *Experimental Neurology* 218 (1): 92–97. doi:10.1016/j.expneurol.2009.04.007.
- BROWN. (1973). Functional Compensation of Human Motor Units in Health and Disease. *Journal of the Neurological Sciences* 20 (2): 199–209.
- CAIAZZO, CORBO, TROJSI, PICCIRILLO, CIRILLO, MONSURRÒ, ESPOSITO, & TEDESCHI. (2014). Distributed Corpus Callosum Involvement in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Deterministic Tractography Study Using Q-Ball Imaging. *Journal of Neurology* 261 (1): 27–36. doi:10.1007/s00415-013-7144-3.
- CAIOLI, PIERI, ANTONINI, GUGLIEMOTTI, SEVERINI, & ZONA. (2013). Monocyte Chemoattractant Protein-1 Upregulates GABA-Induced Current: Evidence of Modified GABAA Subunit Composition in Cortical Neurons from the G93A Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neuropharmacology* 73 (October): 247–60. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.05.045.
- CANU, AGOSTA, RIVA, SALA, PRELLE, CAPUTO, PERINI, COMI, & FILIPPI. (2011). The Topography of Brain Microstructural Damage in Amyotrophic Lateral Sclerosis Assessed Using Diffusion Tensor MR Imaging. *American Journal of Neuroradiology* 32 (7): 1307–14. doi:10.3174/ajnr.A2469.
- CASCI, & PANDEY. (2015). A Fruitful Endeavor: Modeling ALS in the Fruit Fly. *Brain Research* 1607 (May): 47–74. doi:10.1016/j.brainres.2014.09.064.
- CAVALLARI, & KATZ. (1989). Pattern of Projections of Group I Afferents from Forearm Muscles to Motoneurons Supplying Biceps and Triceps Muscles in Man. *Experimental Brain Research* 78 (3): 465–78.
- CHAIX, MARQUE, MEUNIER, PIERROT-DESEILLIGNY, & SIMONETTA-MOREAU. (1997). Further Evidence for Non-Monosynaptic Group I Excitation of Motoneurons in the Human Lower Limb. *Experimental Brain Research* 115 (1): 35–46.
- CHANG, & MARTIN. (2009). Glycinergic Innervation of Motoneurons Is Deficient in Amyotrophic Lateral Sclerosis Mice. *The American Journal of Pathology* 174 (2): 574–85. doi:10.2353/ajpath.2009.080557.
- CHANG, & MARTIN. (2011). Glycine Receptor Channels in Spinal Motoneurons Are Abnormal in a Transgenic Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neuroscience* 31 (8): 2815–27. doi:10.1523/JNEUROSCI.2475-10.2011.
- CHANG, & MARTIN. (2011). Motoneuron Subtypes Show Specificity in Glycine Receptor Channel Abnormalities in a Transgenic Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Channels* 5 (4): 299–303. doi:10.4161/chan.5.4.16206.
- CHAPMAN, & MEFTAH. (2005). Independent Controls of Attentional Influences in Primary and Secondary Somatosensory Cortex. *Journal of Neurophysiology* 94 (6): 4094–4107. doi:10.1152/jn.00303.2005.

- CHAPMAN, JELSONE-SWAIN, FLING, JOHNSON, GRUIS, & WELSH. (2012). Corpus Callosum Area in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 13 (6): 589–91. doi:10.3109/17482968.2012.708935.
- CHAPMAN, JELSONE-SWAIN, JOHNSON, GRUIS, & WELSH. (2014). Diffusion Tensor MRI of the Corpus Callosum in Amyotrophic Lateral Sclerosis: DTI of the Corpus Callosum in ALS. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 39 (3): 641–47. doi:10.1002/jmri.24218.
- CHARLES, & SWASH. (2001). Amyotrophic Lateral Sclerosis: Current Understanding. *The Journal of Neuroscience Nursing: Journal of the American Association of Neuroscience Nurses* 33 (5): 245–53.
- CHEAH, VUCIC, KRISHNAN, & KIERNAN. (2010). Riluzole, Neuroprotection and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Current Medicinal Chemistry* 17 (18): 1942–59.
- CHEN, ZHANG, SONG, & LE. (2012). Autophagy Dysregulation in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Autophagy Dysregulation in ALS. *Brain Pathology* 22 (1): 110–16. doi:10.1111/j.1750-3639.2011.00546.x.
- CHIÒ, PAGANI, AGOSTA, CALVO, CISTARO, & FILIPPI. (2014). Neuroimaging in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Insights into Structural and Functional Changes. *The Lancet. Neurology* 13 (12): 1228–40. doi:10.1016/S1474-4422(14)70167-X.
- CHOU, & NORRIS. (1993). Amyotrophic Lateral Sclerosis: Lower Motor Neuron Disease Spreading to Upper Motor Neurons. *Muscle & Nerve* 16 (8): 864–69. doi:10.1002/mus.880160810.
- CHRISTENSEN, NIELSEN, & SINKJAER. (2003). Quantification of Hyperreflexia in Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) by the Soleus Stretch Reflex. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders: Official Publication of the World Federation of Neurology, Research Group on Motor Neuron Diseases* 4 (2): 106–11.
- CHU, & ANDERSON. (2015). Development of Cortical Interneurons. *Neuropsychopharmacology* 40 (1): 16–23. doi:10.1038/npp.2014.171.
- CLARISSE. (2008). Tractographie Cérébrale Par IRM de Tenseur de Diffusion: Influence Des Paramètres D'acquisition et de La Méthode de Tractographie Sur La Reproductibilité et La Plausibilité Anatomique Des Résultats Dans La Perspective D'une Application En Routine Clinique. Thèse - Université de Toulouse III - Paul Sabatier.
- CLARK, BLIZZARD, & DICKSON. (2015). Inhibitory Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Future Therapeutic Opportunities. *Neurodegenerative Disease Management* 5 (6): 511–25. doi:10.2217/nmt.15.49.
- COHEN-ADAD, EL MENDILI, LEHÉRICY, PRADAT, BLANCHO, ROSSIGNOL, & BENALI. (2011). Demyelination and Degeneration in the Injured Human Spinal Cord Detected with Diffusion and Magnetization Transfer MRI. *NeuroImage* 55 (3): 1024–33. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.11.089.
- COHEN-ADAD, EL MENDILI, MORIZOT-KOUTLIDIS, LEHÉRICY, MEININGER, BLANCHO, ROSSIGNOL, BENALI, & PRADAT. (2013). Involvement of Spinal Sensory Pathway in ALS and Specificity of Cord Atrophy to Lower Motor Neuron Degeneration. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 14 (1): 30–38. doi:10.3109/17482968.2012.701308.

- COHEN-ADAD, ZHAO, KEIL, RATAI, TRIANTAFYLLOU, LAWSON, DHEEL, ET AL. (2013). 7-T MRI of the Spinal Cord Can Detect Lateral Corticospinal Tract Abnormality in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Muscle & Nerve* 47 (5): 760–62. doi:10.1002/mus.23720.
- COMLEY, ALLODI, NICHTERWITZ, NIZZARDO, SIMONE, CORTI, & HEDLUND. (2015). Motor Neurons with Differential Vulnerability to Degeneration Show Distinct Protein Signatures in Health and ALS. *Neuroscience* 291 (April): 216–29. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.02.013.
- CONSTANTINOVICI. (1993). Abnormal Somatosensory Evoked Potentials in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Romanian Journal of Neurology and Psychiatry = Revue Roumaine De Neurologie Et Psychiatrie* 31 (3-4): 273–78.
- COSI, POLONI, MAZZINI, & CALLIECO. (1984). Somatosensory Evoked Potentials in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 47 (8): 857–61.
- COURATIER, CORCIA, LAUTRETTE, NICOL, PREUX, & MARIN. (2016). Epidemiology of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Review of Literature. *Revue Neurologique* 172 (1): 37–45. doi:10.1016/j.neurol.2015.11.002.
- DADON-NACHUM, MELAMED, & OFFEN. (2011). The “Dying-Back” Phenomenon of Motor Neurons in ALS. *Journal of Molecular Neuroscience* 43 (3): 470–77. doi:10.1007/s12031-010-9467-1.
- DALL’IGNA, BOBERMIN, SOUZA, & QUINCOZES-SANTOS. (2013). Riluzole Increases Glutamate Uptake by Cultured C6 Astroglial Cells. *International Journal of Developmental Neuroscience* 31 (7): 482–86. doi:10.1016/j.ijdevneu.2013.06.002.
- DAMME, SUNTIO, SAFTIG, & ESKELINEN. (2015). Autophagy in Neuronal Cells: General Principles and Physiological and Pathological Functions. *Acta Neuropathologica* 129 (3): 337–62. doi:10.1007/s00401-014-1361-4.
- DASHEIFF, DRAKE, BRENDLE, & ERWIN. (1985). Abnormal Somatosensory Evoked Potentials in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 60 (4): 306–11.
- DAVEY, ROMAIGUÈRE, MASKILL, & ELLAWAY. (1994). Suppression of Voluntary Motor Activity Revealed Using Transcranial Magnetic Stimulation of the Motor Cortex in Man. *The Journal of Physiology* 477 (Pt 2) (June): 223–35.
- DAVIS-DUSENBERY, WILLIAMS, KLIM, & EGGAN. (2014). How to Make Spinal Motor Neurons. *Development* 141 (3): 491–501. doi:10.1242/dev.097410.
- DE CARVALHO, M., MIRANDA, LUÍS, & DUCLA-SOARES. (1999). Cortical Muscle Representation in Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients: Changes with Disease Evolution. *Muscle & Nerve* 22 (12): 1684–92.
- DE CARVALHO, MAMEDE, & SWASH. (2000). Nerve Conduction Studies in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Muscle & Nerve* 23 (3): 344–52.
- DE CARVALHO, MAMEDE, TURKMAN, & SWASH. (2003). Motor Responses Evoked by Transcranial Magnetic Stimulation and Peripheral Nerve Stimulation in the Ulnar Innervation in Amyotrophic Lateral Sclerosis: The Effect of Upper and Lower Motor Neuron Lesion. *Journal of the Neurological Sciences* 210 (1-2): 83–90. doi:10.1016/S0022-510X(03)00024-8.

- DE CARVALHO, PINTO, & SWASH. (2008). Paraspinal and Limb Motor Neuron Involvement within Homologous Spinal Segments in ALS. *Clinical Neurophysiology* 119 (7): 1607–13. doi: 10.1016/j.clinph.2008.03.014.
- DE CARVALHO, EISEN, KRIEGER, & SWASH. (2014). Motoneuron Firing in Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). *Frontiers in Human Neuroscience* 8 (September). doi:10.3389/fnhum.2014.00719.
- DEFIORIO, PALMA, CONTI, ROSETI, MANTECA, GIACOMELLI, CATALANO, LIMATOLA, INGHILLERI, & GRASSI. (2012). Riluzole Blocks Human Muscle Acetylcholine Receptors: Riluzole Blocks Human Muscle AChR. *The Journal of Physiology* 590 (10): 2519–28. doi:10.1113/jphysiol.2012.230201.
- DELESTRÉE, MANUEL, IGLESIAS, ELBASIOUNY, HECKMAN, & ZYTNIICKI. (2014). Adult Spinal Motoneurons Are Not Hyperexcitable in a Mouse Model of Inherited Amyotrophic Lateral Sclerosis: Motoneurons Are Not Hyperexcitable in mSOD1 Mice. *The Journal of Physiology* 592 (7): 1687–1703. doi:10.1113/jphysiol.2013.265843.
- DENGLER, KONSTANZER, KÜTHER, HESSE, WOLF, & STRUPPLER. (1990). Amyotrophic Lateral Sclerosis: Macro-EMG and Twitch Forces of Single Motor Units. *Muscle & Nerve* 13 (6): 545–50. doi: 10.1002/mus.880130612.
- DENTEL, PALAMIUC, HENRIQUES, LANNES, SPREUX-VAROUQUAUX, GUTKNECHT, RENE, ET AL. (2013). Degeneration of Serotonergic Neurons in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Link to Spasticity. *Brain* 136 (2): 483–93. doi:10.1093/brain/aws274.
- DEVANNE, LAVOIE, & CAPADAY. (1997). Input-Output Properties and Gain Changes in the Human Corticospinal Pathway. *Experimental Brain Research* 114 (2): 329–38.
- DEVINE, KIERNAN, HEGGIE, MCCOMBE, & HENDERSON. (2014). Study of Motor Asymmetry in ALS Indicates an Effect of Limb Dominance on Onset and Spread of Weakness, and an Important Role for Upper Motor Neurons. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 15 (7-8): 481–87. doi:10.3109/21678421.2014.906617.
- DEVINE, PANNEK, COULTHARD, MCCOMBE, ROSE, & HENDERSON. (2015). Exposing Asymmetric Gray Matter Vulnerability in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *NeuroImage: Clinical* 7: 782–87. doi: 10.1016/j.nicl.2015.03.006.
- DEVLIN, BURR, BOROOAH, FOSTER, CLEARY, GETI, VALLIER, SHAW, CHANDRAN, & MILES. (2015). Human iPSC-Derived Motoneurons Harboring TARDBP or C9ORF72 ALS Mutations Are Dysfunctional despite Maintaining Viability. *Nature Communications* 6 (January): 5999. doi: 10.1038/ncomms6999.
- DI LAZZARO, RESTUCCIA, OLIVIERO, PROFICE, FERRARA, INSOLA, MAZZONE, TONALI, & ROTHWELL. (1998). Magnetic Transcranial Stimulation at Intensities below Active Motor Threshold Activates Intracortical Inhibitory Circuits. *Experimental Brain Research* 119 (2): 265–68.
- DI LAZZARO, & ZIEMANN. (2013). The Contribution of Transcranial Magnetic Stimulation in the Functional Evaluation of Microcircuits in Human Motor Cortex. *Frontiers in Neural Circuits* 7. doi:10.3389/fncir.2013.00018.
- DI TRAPANI, DAVID, LA CARA, SERVIDEI, & TONALI. (1986). Morphological Studies of Sural Nerve Biopsies in the Pseudopolyneuropathic Form of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Clinical Neuropathology* 5 (3): 134–38.

- DISBROW, ROBERTS, & KRUBITZER. (2000). Somatotopic Organization of Cortical Fields in the Lateral Sulcus of Homo Sapiens: Evidence for SII and PV. *The Journal of Comparative Neurology* 418 (1): 1–21.
- DOBROWOLNY, AUCELLO, RIZZUTO, BECCAFICO, MAMMUCARI, BONCONPAGNI, BELIA, ET AL. (2008). Skeletal Muscle Is a Primary Target of SOD1G93A-Mediated Toxicity. *Cell Metabolism* 8 (5): 425–36. doi:10.1016/j.cmet.2008.09.002.
- DRORY, KOVACH, & GROOZMAN. (2001). Electrophysiologic Evaluation of Upper Motor Neuron Involvement in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders: Official Publication of the World Federation of Neurology, Research Group on Motor Neuron Diseases* 2 (3): 147–52.
- DUPUIS, & LOEFFLER. (2009). Neuromuscular Junction Destruction during Amyotrophic Lateral Sclerosis: Insights from Transgenic Models. *Current Opinion in Pharmacology* 9 (3): 341–46. doi:10.1016/j.coph.2009.03.007.
- DUPUIS, SPREUX-VARQUAUX, BENSIMON, JULLIEN, LACOMBLEZ, SALACHAS, BRUNETEAU, PRADAT, LOEFFLER, & MEININGER. (2010). Platelet Serotonin Level Predicts Survival in Amyotrophic Lateral Sclerosis. Edited by Christophe Egles. *PLoS ONE* 5 (10): e13346. doi:10.1371/journal.pone.0013346.
- DYCK, STEVENS, MULDER, & ESPINOSA. (1975). Frequency of Nerve Fiber Degeneration of Peripheral Motor and Sensory Neurons in Amyotrophic Lateral Sclerosis. Morphometry of Deep and Superficial Peroneal Nerves. *Neurology* 25 (8): 781–85.
- EARLES, VARDAXIS, & KOCEJA. (2001). Regulation of Motor Output between Young and Elderly Subjects. *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 112 (7): 1273–79.
- EICKHOFF, HEIM, ZILLES, & AMUNTS. (2006). Testing Anatomically Specified Hypotheses in Functional Imaging Using Cytoarchitectonic Maps. *NeuroImage* 32 (2): 570–82. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.04.204.
- EICKHOFF, LOTZE, WIETEK, AMUNTS, ENCK, & ZILLES. (2006). Segregation of Visceral and Somatosensory Afferents: An fMRI and Cytoarchitectonic Mapping Study. *NeuroImage* 31 (3): 1004–14. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.01.023.
- EISEN, KIM, & PANT. (1992). Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): A Phylogenetic Disease of the Corticomotoneuron? *Muscle & Nerve* 15 (2): 219–24. doi:10.1002/mus.880150215.
- EISEN. (1995). Amyotrophic Lateral Sclerosis Is a Multifactorial Disease. *Muscle & Nerve* 18 (7): 741–52.
- EISEN, ENTEZARI-TAHER, & STEWART. (1996). Cortical Projections to Spinal Motoneurons: Changes with Aging and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology* 46 (5): 1396–1404.
- EISEN, NAKAJIMA, & WEBER. (1998). Corticomotorneuron Hyper-Excitability in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences* 160: S64–68.
- Eisen, & Swash. (2001). Clinical Neurophysiology of ALS. *Clinical Neurophysiology* 112 (12): 2190–2201.
- EL-NEGAMY, & SEDGWICK. (1978). Properties of a Spinal Somatosensory Evoked Potential Recorded in Man. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 41 (8): 762–68.

- ELBASIOUNY, SCHUSTER, & HECKMAN. (2010). Persistent Inward Currents in Spinal Motoneurons: Important for Normal Function but Potentially Harmful after Spinal Cord Injury and in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Clinical Neurophysiology* 121 (10): 1669–79. doi:10.1016/j.clinph.2009.12.041.
- ESSL, & RAPPELSBERGER. (1998). EEG Coherence and Reference Signals: Experimental Results and Mathematical Explanations. *Medical and Biological Engineering and Computing* 36 (4): 399–406.
- FACCO, MICAGLIO, LIVIERO, CECCATO, TOFFOLETTO, MARTINUZZI, & ANGELINI. (1989). Sensory-Motor Conduction Time in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Rivista Di Neurologia* 59 (3): 108–12.
- FAIST, DIETZ, & PIERROT-DESEILLIGNY. (1996). Modulation, Probably Presynaptic in Origin, of Monosynaptic Ia Excitation during Human Gait. *Experimental Brain Research* 109 (3): 441–49.
- FAUX, RAKIC, ANDREWS, & BRITTO. (2012). Neurons on the Move: Migration and Lamination of Cortical Interneurons. *Neurosignals* 20 (3): 168–89. doi:10.1159/000334489.
- FELLER, JONES, & NETSKY. (1966). Amyotrophic Lateral Sclerosis and Sensory Changes. *Virginia Medical Monthly* 93 (6): 328–35.
- FERRAIUOLO, KIRBY, GRIERSON, SENDTNER, & SHAW. (2011). Molecular Pathways of Motor Neuron Injury in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Nature Reviews Neurology* 7 (11): 616–30. doi:10.1038/nrneurol.2011.152.
- FILIPPINI, DOUAUD, MACKAY, KNIGHT, TALBOT, & TURNER. (2010). Corpus Callosum Involvement Is a Consistent Feature of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology* 75 (18): 1645–52. doi:10.1212/WNL.0b013e3181fb84d1.
- FINCHAM, & VAN ALLEN. (1964). Sensory Nerve Conduction in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology* 14 (1): 31–31. doi:10.1212/WNL.14.1.31.
- FISCHER, CULVER, DAVIS, TENNANT, WANG, COLEMAN, ASRESS, ADALBERT, ALEXANDER, & GLASS. (2005). The WldS Gene Modestly Prolongs Survival in the SOD1G93A fALS Mouse. *Neurobiology of Disease* 19 (1-2): 293–300. doi:10.1016/j.nbd.2005.01.008.
- FLOYD, YU, PIBOOLNURAK, TANG, FANG, SMITH, YIM, ROWLAND, MITSUMOTO, & PULLMAN. (2009). Transcranial Magnetic Stimulation in ALS: Utility of Central Motor Conduction Tests. *Neurology* 72 (6): 498–504. doi:10.1212/01.wnl.0000341933.97883.a4.
- FOERSTER, CALLAGHAN, PETROU, EDDEN, CHENEVERT, & FELDMAN. (2012). Decreased Motor Cortex γ -Aminobutyric Acid in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology* 78 (20): 1596–1600.
- FOGARTY, NOAKES, & BELLINGHAM. (2015). Motor Cortex Layer V Pyramidal Neurons Exhibit Dendritic Regression, Spine Loss, and Increased Synaptic Excitation in the Presymptomatic hSOD1G93A Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neuroscience* 35 (2): 643–47. doi:10.1523/JNEUROSCI.3483-14.2015.
- FRIED, KATZ, MCCARTHY, SASS, WILLIAMSON, SPENCER, & SPENCER. (1991). Functional Organization of Human Supplementary Motor Cortex Studied by Electrical Stimulation. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 11 (11): 3656–66.

- FUCHS, RINGER, BILKEI-GORZO, WEIHE, ROEPER, & SCHÜTZ. (2010). Downregulation of the Potassium Chloride Cotransporter KCC2 in Vulnerable Motoneurons in the SOD1-G93A Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 69 (10): 1057–70. doi:10.1097/NEN.0b013e3181f4dcef.
- GAMA SOSA, DE GASPERI, & ELDER. (2012). Modeling Human Neurodegenerative Diseases in Transgenic Systems. *Human Genetics* 131 (4): 535–63. doi:10.1007/s00439-011-1119-1.
- GANDEVIA, & BURKE. (1984). Saturation in Human Somatosensory Pathways. *Experimental Brain Research* 54 (3): 582–85.
- GARNERO. (2001). Les Bases Physiques et Physiologiques de La Magnétoencéphalographie et de L'Electroencéphalographie. CNRS-UPR640-LENA. <http://www.labos.upmc.fr/center-meg/media/ecp2001/Meg11.pdf>.
- GEORGESCO, SALERNO, CARLANDER, LÉGER, CAMU, BILLIARD, & CADILHAC. (1994). [Somatosensory evoked potentials in amyotrophic lateral sclerosis and primary lateral sclerosis]. *Revue Neurologique* 150 (4): 292–98.
- GEYER, S., SCHLEICHER, & ZILLES. (1999). Areas 3a, 3b, and 1 of Human Primary Somatosensory Cortex. *NeuroImage* 10 (1): 63–83. doi:10.1006/nimg.1999.0440.
- GEYER, STEFAN, SCHORMANN, MOHLBERG, & ZILLES. (2000). Areas 3a, 3b, and 1 of Human Primary Somatosensory Cortex. *NeuroImage* 11 (6): 684–96. doi:10.1006/nimg.2000.0548.
- GHAVAMI, SHOJAEI, YEGANEH, ANDE, JANGAMREDDY, MEHRPOUR, CHRISTOFFERSSON, ET AL. (2014). Autophagy and Apoptosis Dysfunction in Neurodegenerative Disorders. *Progress in Neurobiology* 112 (January): 24–49. doi:10.1016/j.pneurobio.2013.10.004.
- GIBLIN. (1964). Somatosensory Evoked Potentials in Healthy Subjects and in Patients with Lesions of the Nervous System. *Annals of the New York Academy of Sciences* 112 (May): 93–142.
- GIBOIN, LACKMY-VALLEE, BURKE, & MARCHAND-PAUVERT. (2012). Enhanced Propriospinal Excitation from Hand Muscles to Wrist Flexors during Reach-to-Grasp in Humans. *Journal of Neurophysiology* 107 (2): 532–43. doi:10.1152/jn.00774.2011.
- GLOOR. (1975). Physiology of the Limbic System. *Advances in Neurology* 11: 27–55.
- GORDON, CORCIA, & MEININGER. (2013). New Therapy Options for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 14 (14): 1907–17. doi:10.1517/14656566.2013.819344.
- GOULD, & OPPENHEIM. (2011). Motor Neuron Trophic Factors: Therapeutic Use in ALS? *Brain Research Reviews* 67 (1-2): 1–39. doi:10.1016/j.brainresrev.2010.10.003.
- GRACIES, MEUNIER, PIERROT-DESEILLIGNY, & SIMONETTA. (1991). Pattern of Propriospinal-like Excitation to Different Species of Human Upper Limb Motoneurons. *The Journal of Physiology* 434 (1): 151–67.
- GRAD, GUEST, YANAI, POKRISHEVSKY, O'NEILL, GIBBS, SEMENCHENKO, ET AL. (2011). Intermolecular Transmission of Superoxide Dismutase 1 Misfolding in Living Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108 (39): 16398–403. doi:10.1073/pnas.1102645108.
- GRAD, & CASHMAN. (2014). Prion-like Activity of Cu/Zn Superoxide Dismutase: Implications for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Prion* 8 (1): 33–41. doi:10.4161/pri.27602.

- GRAHAM, PAPADAKIS, EVANS, WIDJAJA, ROMANOWSKI, PALEY, WALLIS, WILKINSON, SHAW, & GRIFFITHS. (2004). Diffusion Tensor Imaging for the Assessment of Upper Motor Neuron Integrity in ALS. *Neurology* 63 (11): 2111–19.
- GREFKES, GEYER, SCHORMANN, ROLAND, & ZILLES. (2001). Human Somatosensory Area 2: Observer-Independent Cytoarchitectonic Mapping, Interindividual Variability, and Population Map. *NeuroImage* 14 (3): 617–31. doi:10.1006/nimg.2001.0858.
- GREGORY, MILLS, & DONAGHY. (1993). Progressive Sensory Nerve Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Prospective Clinical and Neurophysiological Study. *Journal of Neurology* 240 (5): 309–14.
- GROSSKREUTZ, VAN DEN BOSCH, & KELLER. (2010). Calcium Dysregulation in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cell Calcium* 47 (2): 165–74. doi:10.1016/j.ceca.2009.12.002.
- GUO, WU, WU, WU, YANG, LI, BU, ZHANG, & LI. (2009). Sensory Involvement in the SOD1-G93A Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Experimental & Molecular Medicine* 41 (3): 140–50. doi:10.3858/emm.2009.41.3.017.
- HALGREN, MARINKOVIC, & CHAUVEL. (1998). Generators of the Late Cognitive Potentials in Auditory and Visual Oddball Tasks. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 106 (2): 156–64.
- HALSBAND, ITO, TANJI, & FREUND. (1993). The Role of Premotor Cortex and the Supplementary Motor Area in the Temporal Control of Movement in Man. *Brain* 116 (1): 243–66.
- HAMMAD, SILVA, GLASS, SLADKY, & BENATAR. (2007). Clinical, Electrophysiologic, and Pathologic Evidence for Sensory Abnormalities in ALS. *Neurology* 69 (24): 2236–42.
- HANAJIMA, UGAWA, TERAOKA, SAKAI, FURUBAYASHI, MACHII, & KANAZAWA. (1998). Paired-Pulse Magnetic Stimulation of the Human Motor Cortex: Differences among I Waves. *The Journal of Physiology* 509 (2): 607–18. doi:10.1111/j.1469-7793.1998.607bn.x.
- HARI, REINIKAINEN, KAUKORANTA, HÄMÄLÄINEN, ILMONIEMI, PENTTINEN, SALMINEN, & TESZNER. (1984). Somatosensory Evoked Cerebral Magnetic Fields from SI and SII in Man. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 57 (3): 254–63.
- HARI, & FORSS. (1999). Magnetoencephalography in the Study of Human Somatosensory Cortical Processing. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 354 (1387): 1145–54.
- HARRIS, & MRSIC-FLOGEL. (2013). Cortical Connectivity and Sensory Coding. *Nature* 503 (7474): 51–58. doi:10.1038/nature12654.
- HARWOOD, McDERMOTT, & SHAW. (2009). Physical Activity as an Exogenous Risk Factor in Motor Neuron Disease (MND): A Review of the Evidence. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 10 (4): 191–204. doi:10.1080/17482960802549739.
- HAYASHI, SUGA, SATAKE, & TSUBAKI. (1981). Reduced Glycine Receptor in the Spinal Cord in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Annals of Neurology* 9 (3): 292–94. doi:10.1002/ana.410090313.
- HEADS, POLLOCK, ROBERTSON, SUTHERLAND, & ALLPRESS. (1991). Sensory Nerve Pathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Acta Neuropathologica* 82 (4): 316–20.

- HECKMAN, HYNSTROM, & JOHNSON. (2008). Active Properties of Motoneurone Dendrites: Diffuse Descending Neuromodulation, Focused Local Inhibition: Active Properties of Motoneurons. *The Journal of Physiology* 586 (5): 1225–31. doi:10.1113/jphysiol.2007.145078.
- HEDLUND, KARLSSON, OSBORN, LUDWIG, & ISACSON. (2010). Global Gene Expression Profiling of Somatic Motor Neuron Populations with Different Vulnerability Identify Molecules and Pathways of Degeneration and Protection. *Brain* 133 (8): 2313–30. doi:10.1093/brain/awq167.
- HENKELMAN, STANISZ, & GRAHAM. (2001). Magnetization Transfer in MRI: A Review. *NMR in Biomedicine* 14 (2): 57–64. doi:10.1002/nbm.683.
- HIRANO. (1996). Neuropathology of ALS: An Overview. *Neurology* 47 (4 Suppl 2): S63–66.
- HOFER, & FRAHM. (2006). Topography of the Human Corpus Callosum revisited—Comprehensive Fiber Tractography Using Diffusion Tensor Magnetic Resonance Imaging. *NeuroImage* 32 (3): 989–94. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.05.044.
- HOOTEN, BEERS, ZHAO, & APPEL. (2015). Protective and Toxic Neuroinflammation in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurotherapeutics* 12 (2): 364–75. doi:10.1007/s13311-014-0329-3.
- HOSHIYAMA, & KAKIGI. (2001). Correspondence between Short-Latency Somatosensory Evoked Brain Potentials and Cortical Magnetic Fields Following Median Nerve Stimulation. *Brain Research* 908 (2): 140–48.
- HOSSAINI, CANO, VAN DIS, HAASDIJK, HOOGENRAAD, HOLSTEGE, & JAARSMA. (2011). Spinal Inhibitory Interneuron Pathology Follows Motor Neuron Degeneration Independent of Glial Mutant Superoxide Dismutase 1 Expression in SOD1-ALS Mice. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 70 (8): 662–77.
- HOUZÉ, PERCHET, MAGNIN, & GARCIA-LARREA. (2011). Cortical Representation of the Human Hand Assessed by Two Levels of High-Resolution EEG Recordings. *Human Brain Mapping* 32 (11): 1894–1904. doi:10.1002/hbm.21155.
- HU, CAO, CHEN, ZHANG, KONG, YANG, LI, & ZHANG. (2012). A Comparative Study of Two Reference Estimation Methods in EEG Recording. In *Advances in Brain Inspired Cognitive Systems*, 321–28. Springer. http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-31561-9_36.
- HULTBORN, LIPSKI, & MACKEL. (1988). Distribution of Recurrent Inhibition within a Motor Nucleus. I. Contribution from Slow and Fast Motor Units to the Excitation of Renshaw Cells. *Acta Physiologica Scandinavica* 134 (3): 347–61.
- HULTBORN, KATZ, & MACKEL. (1988). Distribution of Recurrent Inhibition within a Motor Nucleus. II. Amount of Recurrent Inhibition in Motoneurons to Fast and Slow Units. *Acta Physiologica Scandinavica* 134 (3): 363–74. doi:10.1111/j.1748-1716.1988.tb08502.x.
- HULTBORN, BROWNSTONE, TOTH, & GOSSARD. (2004). Key Mechanisms for Setting the Input–output Gain across the Motoneuron Pool. In *Progress in Brain Research*, 143:75–95. Elsevier. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079612303430082>.
- HUTTUNEN. (1995). Effects of Stimulus Intensity on Frontal, Central and Parietal Somatosensory Evoked Potentials after Median Nerve Stimulation. *Electromyography and Clinical Neurophysiology* 35 (4): 217–23.

- ILIEVA, POLYMERIDOU, & CLEVELAND. (2009). Non-Cell Autonomous Toxicity in Neurodegenerative Disorders: ALS and beyond. *The Journal of Cell Biology* 187 (6): 761–72. doi:10.1083/jcb.200908164.
- INSOLA, LE PERA, RESTUCCIA, MAZZONE, & VALERIANI. (2004). Reduction in Amplitude of the Subcortical Low- and High-Frequency Somatosensory Evoked Potentials during Voluntary Movement: An Intracerebral Recording Study. *Clinical Neurophysiology* 115 (1): 104–11. doi:10.1016/j.clinph.2003.08.003.
- ISAK, TANKISI, JOHNSEN, PUGDAHL, MØLLER, FINNERUP, CHRISTENSEN, & FUGLSANG-FREDERIKSEN. (2016). Involvement of Distal Sensory Nerves in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Sensory Nerves in Motor Neuron Disease. *Muscle & Nerve*, April. doi:10.1002/mus.25157.
- JAMI. (1992). Golgi Tendon Organs in Mammalian Skeletal Muscle: Functional Properties and Central Actions. *Physiological Reviews* 72 (3): 623–66.
- JANKOWSKA. (1992). Interneuronal Relay in Spinal Pathways from Proprioceptors. *Progress in Neurobiology* 38 (4): 335–78.
- JANKOWSKA, HAMMAR, CHOJNICKA, & HEDEN. (2000). Effects of Monoamines on Interneurons in Four Spinal Reflex Pathways from Group I And/or Group II Muscle Afferents. *European Journal of Neuroscience* 12 (2): 701–14.
- JARA, VILLA, KHAN, BOHN, & ÖZDINLER. (2012). AAV2 Mediated Retrograde Transduction of Corticospinal Motor Neurons Reveals Initial and Selective Apical Dendrite Degeneration in ALS. *Neurobiology of Disease* 47 (2): 174–83. doi:10.1016/j.nbd.2012.03.036.
- JIANG, SCHUSTER, FU, SIDDIQUE, & HECKMAN. (2009). Progressive Changes in Synaptic Inputs to Motoneurons in Adult Sacral Spinal Cord of a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 29 (48): 15031–38. doi:10.1523/JNEUROSCI.0574-09.2009.
- JONES, & POWER. (1984). Scalp Topography of Human Somatosensory Evoked Potentials: The Effect of Interfering Tactile Stimulation Applied to the Hand. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 58 (1): 25–36.
- KAAS. (2004). Evolution of Somatosensory and Motor Cortex in Primates. *The Anatomical Record* 281A (1): 1148–56. doi:10.1002/ar.a.20120.
- KANAI. (2006). Altered Axonal Excitability Properties in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Impaired Potassium Channel Function Related to Disease Stage. *Brain* 129 (4): 953–62. doi:10.1093/brain/awl024.
- KANNING, KAPLAN, & HENDERSON. (2010). Motor Neuron Diversity in Development and Disease. *Annual Review of Neuroscience* 33 (1): 409–40. doi:10.1146/annurev.neuro.051508.135722.
- KATO, ODA, & TANABE. (1993). Diminution of Dopaminergic Neurons in the Substantia Nigra of Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 19 (4): 300–304.
- KATO. (2007). Amyotrophic Lateral Sclerosis Models and Human Neuropathology: Similarities and Differences. *Acta Neuropathologica* 115 (1): 97–114. doi:10.1007/s00401-007-0308-4.
- KATZ, MAZZOCCHIO, PENICAUD, & ROSSI. (1993). Distribution of Recurrent Inhibition in the Human Upper Limb. *Acta Physiologica Scandinavica* 149 (2): 183–98.

- KAWAMURA, DYCK, SHIMONO, OKAZAKI, TATEISHI, & DOI. (1981). Morphometric Comparison of the Vulnerability of Peripheral Motor and Sensory Neurons in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 40 (6): 667–75.
- KEW, BROOKS, PASSINGHAM, ROTHWELL, FRACKOWIAK, & LEIGH. (1994). Cortical Function in Progressive Lower Motor Neuron Disorders and Amyotrophic Lateral Sclerosis A Comparative PET Study. *Neurology* 44 (6): 1101–1101.
- KIERNAN, VUCIC, CHEAH, TURNER, EISEN, HARDIMAN, BURRELL, & ZOING. (2011). Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The Lancet* 377 (9769): 942–55.
- KING, WOODHOUSE, KIRKCALDIE, & VICKERS. (2016). Excitotoxicity in ALS: Overstimulation, or Overreaction? *Experimental Neurology* 275 (January): 162–71. doi:10.1016/j.expneurol.2015.09.019.
- KLIMSTRA, & ZEHR. (2008). A Sigmoid Function Is the Best Fit for the Ascending Limb of the Hoffmann Reflex Recruitment Curve. *Experimental Brain Research* 186 (1): 93–105. doi:10.1007/s00221-007-1207-6.
- KLISTORNER, & GRAHAM. (2001). Electroencephalogram-Based Scaling of Multifocal Visual Evoked Potentials: Effect on Intersubject Amplitude Variability. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 42 (9): 2145–52.
- KLOMJA, LACKMY-VALLÉE, KATZ, BUSSEL, BENSMAIL, LAMY, & ROCHE. (2014). Changes in Spinal Inhibitory Networks Induced by Furosemide in Humans: Spinal Excitability under Furosemide. *The Journal of Physiology* 592 (13): 2865–79. doi:10.1113/jphysiol.2013.265314.
- KUJIRAI, CARAMIA, ROTHWELL, DAY, THOMPSON, FERBERT, WROE, ASSELMAN, & MARSDEN. (1993). Corticocortical Inhibition in Human Motor Cortex. *The Journal of Physiology* 471 (1): 501–19.
- KUO, SIDDIQUE, FU, & HECKMAN. (2005). Increased Persistent Na(+) Current and Its Effect on Excitability in Motoneurons Cultured from Mutant SOD1 Mice. *The Journal of Physiology* 563 (Pt 3): 843–54. doi:10.1113/jphysiol.2004.074138.
- LACOMBLEZ, BENSIMON, LEIGH, GUILLET, & MEININGER. (1996). Dose-Ranging Study of Riluzole in Amyotrophic Lateral Sclerosis. Amyotrophic Lateral Sclerosis/Riluzole Study Group II. *Lancet* (London, England) 347 (9013): 1425–31.
- LASIENE, & YAMANAKA. (2011). Glial Cells in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology Research International* 2011: 1–7. doi:10.1155/2011/718987.
- LAUTENSCHLAGER, PRELL, & GROSSKREUTZ. (2012). Endoplasmic Reticulum Stress and the ER Mitochondria Calcium Cycle in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis* 13 (2): 166–77. doi:10.3109/17482968.2011.641569.
- LE MASSON, PRZEDBORSKI, & ABBOTT. (2014). A Computational Model of Motor Neuron Degeneration. *Neuron* 83 (4): 975–88. doi:10.1016/j.neuron.2014.07.001.
- LEE, KIM, & CHUNG. (1986). The Long-Latency Component of Cerebral Evoked Potentials in Anesthetized Cats. *Journal of Neurosurgery* 65 (3): 392–97.
- LÉGER. (2000). *Interprétation des examens complémentaires en neurologie*. Rueil-Malmaison: Doin.
- LEROY, LAMOTTE D'INCAMPS, IMHOFF-MANUEL, & ZYTNIKI. (2014). Early Intrinsic Hyperexcitability Does Not Contribute to Motoneuron Degeneration in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *eLife* 3: e04046.

- LEROY, & ZYTNIKI. (2015). Is Hyperexcitability Really Guilty in Amyotrophic Lateral Sclerosis? *Neural Regeneration Research* 10 (9): 1413.
- LESSER, KOEHLE, & LUEDERS. (1979). Effect of Stimulus Intensity on Short Latency Somatosensory Evoked Potentials. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 47 (3): 377–82.
- LI, PAN, SONG, HUANG, CHEN, & SHANG. (2012). A Meta-Analysis of Diffusion Tensor Imaging Studies in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurobiology of Aging* 33 (8): 1833–38. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2011.04.007.
- LIM, KIM, & CHUNG. (2012). Modulation of Somatosensory Evoked Magnetic Fields by Intensity of Interfering Stimuli in Human Somatosensory Cortex: An MEG Study. *NeuroImage* 61 (3): 660–69. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.04.003.
- LIM, GUILOFF, & NAVARRETE. (2000). Interneuronal Survival and Calbindin-D28k Expression Following Motoneuron Degeneration. *Journal of the Neurological Sciences* 180 (1): 46–51.
- LLOYD, RICHARDSON, BROOKS, AL-CHALABI, & LEIGH. (2000). Extramotor Involvement in ALS: PET Studies with the GABAA Ligand [11C] Flumazenil. *Brain* 123 (11): 2289–96.
- LORENZO, BARBE, PORTALIER, FRITSCHY, & BRAS. (2006). Differential Expression of GABA_A and Glycine Receptors in ALS-Resistant vs. ALS-Vulnerable Motoneurons: Possible Implications for Selective Vulnerability of Motoneurons. *European Journal of Neuroscience* 23 (12): 3161–70. doi:10.1111/j.1460-9568.2006.04863.x.
- LOURENÇO, IGLESIAS, & MARCHAND-PAUVERT. (2007). Effects Produced in Human Arm and Forearm Motoneurons after Electrical Stimulation of Ulnar and Median Nerves at Wrist Level. *Experimental Brain Research* 178 (2): 267–84. doi:10.1007/s00221-006-0729-7.
- LUEDERS, LESSER, HAHN, DINNER, & KLEM. (1983). Cortical Somatosensory Evoked Potentials in Response to Hand Stimulation. *Journal of Neurosurgery* 58 (6): 885–94.
- LUNDBYE-JENSEN, & NIELSEN. (2008). Immobilization Induces Changes in Presynaptic Control of Group Ia Afferents in Healthy Humans: Immobilization Changes Presynaptic Control of Group Ia Afferents. *The Journal of Physiology* 586 (17): 4121–35. doi:10.1113/jphysiol.2008.156547.
- MAEKAWA. (2004). Cortical Selective Vulnerability in Motor Neuron Disease: A Morphometric Study. *Brain* 127 (6): 1237–51. doi:10.1093/brain/awh132.
- MALESSA, LEIGH, BERTEL, SLUGA, & HORNYKIEWICZ. (1991). Amyotrophic Lateral Sclerosis: Glutamate Dehydrogenase and Transmitter Amino Acids in the Spinal Cord. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 54 (11): 984–88.
- MALMGREN, & PIERROT-DESEILLIGNY. (1988). Inhibition of Neurones Transmitting Non-Monosynaptic Ia Excitation to Human Wrist Flexor Motoneurons. *The Journal of Physiology* 405: 765.
- MANCUSO, SANTOS-NOGUEIRA, OSTA, & NAVARRO. (2011). Electrophysiological Analysis of a Murine Model of Motoneuron Disease. *Clinical Neurophysiology* 122 (8): 1660–70. doi:10.1016/j.clinph.2011.01.045.
- MANUEL, & ZYTNIKI. (2011). Alpha, Beta and Gamma Motoneurons: Functional Diversity in the Motor System's Final Pathway. *Journal of Integrative Neuroscience* 10 (03): 243–76. doi:10.1142/S0219635211002786.

- MARCHAND-PAUVERT, SIMONETTA-MOREAU, & PIERROT-DESEILLIGNY. (1999). Cortical Control of Spinal Pathways Mediating Group II Excitation to Human Thigh Motoneurons. *The Journal of Physiology* 517 (1): 301–13.
- MARCHAND-PAUVERT, NICOLAS, & PIERROT-DESEILLIGNY. (2000). Monosynaptic Ia Projections from Intrinsic Hand Muscles to Forearm Motoneurons in Humans. *The Journal of Physiology* 525 (1): 241–52.
- MARCHAND-PAUVERT, NICOLAS, BURKE, & PIERROT-DESEILLIGNY. (2002). Suppression of the H Reflex in Humans by Disynaptic Autogenetic Inhibitory Pathways Activated by the Test Volley. *The Journal of Physiology* 542 (3): 963–76. doi:10.1113/jphysiol.2002.021683.
- MARIN. (2011). Epidémiologie de La Sclérose Latérale Amyotrophique : Incidence, Mortalité et Facteurs Pronostiques Nutritionnels de Survie. Thèse - Université de Limoges.
- MARKRAM, TOLEDO-RODRIGUEZ, WANG, GUPTA, SILBERBERG, & WU. (2004). Interneurons of the Neocortical Inhibitory System. *Nature Reviews Neuroscience* 5 (10): 793–807. doi:10.1038/nrn1519.
- MARQUE, NICOLAS, MARCHAND-PAUVERT, GAUTIER, SIMONETTA-MOREAU, & PIERROT-DESEILLIGNY. (2001). Group I Projections from Intrinsic Foot Muscles to Motoneurons of Leg and Thigh Muscles in Humans. *The Journal of Physiology* 536 (1): 313–27.
- MARQUE, NICOLAS, SIMONETTA-MOREAU, PIERROT-DESEILLIGNY, & MARCHAND-PAUVERT. (2005). Group II Excitations from Plantar Foot Muscles to Human Leg and Thigh Motoneurons. *Experimental Brain Research* 161 (4): 486–501. doi:10.1007/s00221-004-2096-6.
- MARTIN, LIU, CHEN, PRICE, PAN, SWABY, & GOLDEN. (2007). Motor Neuron Degeneration in Amyotrophic Lateral Sclerosis Mutant Superoxide Dismutase-1 Transgenic Mice: Mechanisms of Mitochondriopathy and Cell Death. *The Journal of Comparative Neurology* 500 (1): 20–46. doi:10.1002/cne.21160.
- MARTIN, & CHANG. (2012). Inhibitory Synaptic Regulation of Motoneurons: A New Target of Disease Mechanisms in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Molecular Neurobiology* 45 (1): 30–42. doi:10.1007/s12035-011-8217-x.
- MARTIN, CAZENAVE, CATTART, & BRANCHEREAU. (2013). Embryonic Alteration of Motoneuronal Morphology Induces Hyperexcitability in the Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurobiology of Disease* 54 (June): 116–26. doi:10.1016/j.nbd.2013.02.011.
- MARTY, & LLANO. (2005). Excitatory Effects of GABA in Established Brain Networks. *Trends in Neurosciences* 28 (6): 284–89. doi:10.1016/j.tins.2005.04.003.
- MATHESON, HARRINGTON, & HALLETT. (1986). Abnormalities of Multimodality Evoked Potentials in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Archives of Neurology* 43 (4): 338–40.
- MAUGUIERE, MERLET, FORSS, VANNI, JOUSMÄKI, ADELEINE, & HARI. (1997). Activation of a Distributed Somatosensory Cortical Network in the Human Brain. A Dipole Modelling Study of Magnetic Fields Evoked by Median Nerve Stimulation. Part I: Location and Activation Timing of SEF Sources. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology/Evoked Potentials Section* 104 (4): 281–89.

- MAUGUIÈRE, ALLISON, BABILONI, BUCHNER, EISEN, GOODIN, JONES, ET AL. (1999). Somatosensory Evoked Potentials. The International Federation of Clinical Neurophysiology. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. Supplement* 52: 79–90.
- MAZZINI, BALZARINI, GARERI, & BRIGATTI. (1997). H-Reflex Changes in the Course of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 104 (5): 411–17.
- MAZZINI, & BALZARINI. (2000). An Overview of H-Reflex Studies in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders: Official Publication of the World Federation of Neurology, Research Group on Motor Neuron Diseases* 1 (5): 313–18.
- MAZZOCCHIO, ROSSI, & ROTHWELL. (1994). Depression of Renshaw Recurrent Inhibition by Activation of Corticospinal Fibres in Human Upper and Lower Limb. *The Journal of Physiology* 481 (Pt 2): 487.
- MCGOWN, MCDEARMID, PANAGIOTAKI, TONG, AL MASHHADI, REDHEAD, LYON, BEATTIE, SHAW, & RAMESH. (2013). Early Interneuron Dysfunction in ALS: Insights from a Mutant *sod1* Zebrafish Model: Interneuron Dysfunction in ALS. *Annals of Neurology* 73 (2): 246–58. doi:10.1002/ana.23780.
- MCNEIL, BUTLER, TAYLOR, & GANDEVIA. (2013). Testing the Excitability of Human Motoneurons. *Frontiers in Human Neuroscience* 7. doi:10.3389/fnhum.2013.00152.
- MEEHAN, MOLDOVAN, MARKLUND, GRAFFMO, NIELSEN, & HULTBORN. (2010). Intrinsic Properties of Lumbar Motor Neurones in the Adult G127insTGGG Superoxide Dismutase-1 Mutant Mouse in Vivo: Evidence for Increased Persistent Inward Currents: G127X SOD1 Mice Motor Neurone Properties in Vivo. *Acta Physiologica* 200 (4): 361–76. doi:10.1111/j.1748-1716.2010.02188.x.
- MENON, GEEVASINGA, YIANNIKAS, HOWELLS, KIERNAN, & VUCIC. (2015). Sensitivity and Specificity of Threshold Tracking Transcranial Magnetic Stimulation for Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Prospective Study. *The Lancet Neurology* 14 (5): 478–84.
- MENON, KIERNAN, & VUCIC. (2015). Cortical Hyperexcitability Precedes Lower Motor Neuron Dysfunction in ALS. *Clinical Neurophysiology* 126 (4): 803–9. doi:10.1016/j.clinph.2014.04.023.
- MENTIS, BLIVIS, LIU, DROBAC, CROWDER, KONG, ALVAREZ, SUMNER, & O'DONOVAN. (2011). Early Functional Impairment of Sensory-Motor Connectivity in a Mouse Model of Spinal Muscular Atrophy. *Neuron* 69 (3): 453–67. doi:10.1016/j.neuron.2010.12.032.
- MEUNIER, PENICAUD, PIERROT-DESEILLIGNY, & ROSSI. (1990). Monosynaptic Ia Excitation and Recurrent Inhibition from Quadriceps to Ankle Flexors and Extensors in Man. *The Journal of Physiology* 423: 661.
- MEUNIER, PIERROT-DESEILLIGNY, & SIMONETTA. (1993). Pattern of Monosynaptic Heteronymous Ia Connections in the Human Lower Limb. *Experimental Brain Research* 96 (3): 534–44.
- MEUNIER, PIERROT-DESEILLIGNY, & SIMONETTA-MOREAU. (1994). Pattern of Heteronymous Recurrent Inhibition in the Human Lower Limb. *Experimental Brain Research* 102 (1): 149–59.
- MILAN, BARRIÈRE, DE DEURWAERDÈRE, CAZALET, & BERTRAND. (2014). Monoaminergic Control of Spinal Locomotor Networks in SOD1G93A Newborn Mice. *Frontiers in Neural Circuits* 8 (July). doi: 10.3389/fncir.2014.00077.

- MILES, & SILLAR. (2011). Neuromodulation of Vertebrate Locomotor Control Networks. *Physiology* 26 (6): 393–411. doi:10.1152/physiol.00013.2011.
- MILLS, & NITHI. (1997). Corticomotor Threshold Is Reduced in Early Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Muscle & Nerve* 20 (9): 1137–41.
- MILLS. (2003). The Natural History of Central Motor Abnormalities in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Brain* 126 (11): 2558–66. doi:10.1093/brain/awg260.
- MINCIACCHI, KASSA, DEL TONGO, MARIOTTI, & BENTIVOGLIO. (2009). Voronoi-Based Spatial Analysis Reveals Selective Interneuron Changes in the Cortex of FALS Mice. *Experimental Neurology* 215 (1): 77–86. doi:10.1016/j.expneurol.2008.09.005.
- MITSUMOTO, BROOKS, & SILANI. (2014). Clinical Trials in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Why so Many Negative Trials and How Can Trials Be Improved? *The Lancet Neurology* 13 (11): 1127–38.
- MOCHIZUKI, MIZUTANI, SHIMIZU, & KAWATA. (2011). Proportional Neuronal Loss between the Primary Motor and Sensory Cortex in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neuroscience Letters* 503 (1): 73–75. doi:10.1016/j.neulet.2011.08.014.
- MÒDOL, MANCUSO, ALÉ, FRANCO-SQUIJONA, & NAVARRO. (2014). Differential Effects on KCC2 Expression and Spasticity of ALS and Traumatic Injuries to Motoneurons. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8. doi:10.3389/fncel.2014.00007.
- MOGYOROS, KIERNAN, BURKE, & BOSTOCK. (1998). Strength-Duration Properties of Sensory and Motor Axons in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Brain* 121 (5): 851–59.
- MONDELLI, ROSSI, PASSERO, & GUAZZI. (1993). Involvement of Peripheral Sensory Fibers in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Electrophysiological Study of 64 Cases. *Muscle & Nerve* 16 (2): 166–72. doi:10.1002/mus.880160208.
- MOORE, CARLEN, KNOBLICH, & CARDIN. (2010). Neocortical Interneurons: From Diversity, Strength. *Cell* 142 (2): 184–88. doi:10.1016/j.cell.2010.07.005.
- MORI, & ZHANG. (2006). Principles of Diffusion Tensor Imaging and Its Applications to Basic Neuroscience Research. *Neuron* 51 (5): 527–39. doi:10.1016/j.neuron.2006.08.012.
- MORIN, & PIERROT-DESEILLIGNY. (1988). [Spinal mechanism of the antispastic action of TRH in patients with amyotrophic lateral sclerosis]. *Revue Neurologique* 144 (11): 701–3.
- MORRISON, GORDON, RIPPS, & MORRISON. (1996). Quantitative Immunocytochemical Analysis of the Spinal Cord in G86R Superoxide Dismutase Transgenic Mice: Neurochemical Correlates of Selective Vulnerability. *The Journal of Comparative Neurology* 373 (4): 619–31. doi:10.1002/(SICI)1096-9861(19960930)373:4<619::AID-CNE9>3.0.CO;2-4.
- MORRISON, JANSSEN, GORDON, & MORRISON. (1998). Time Course of Neuropathology in the Spinal Cord of G86R Superoxide Dismutase Transgenic Mice. *Journal of Comparative Neurology* 391 (1): 64–77.
- MULDER, BUSHEK, SPRING, KARNES, & DYCK. (1983). Motor Neuron Disease (ALS): Evaluation of Detection Thresholds of Cutaneous Sensation. *Neurology* 33 (12): 1625–27.
- MÜNCH, O'BRIEN, & BERTOLOTTI. (2011). Prion-like Propagation of Mutant Superoxide Dismutase-1 Misfolding in Neuronal Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108 (9): 3548–53. doi:10.1073/pnas.1017275108.

- MÜNCHAU, BLOEM, IRLBACHER, TRIMBLE, & ROTHWELL. (2002). Functional Connectivity of Human Premotor and Motor Cortex Explored with Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation. *The Journal of Neuroscience* 22 (2): 554–61.
- MÜNTE, JÖBGES, WIERINGA, KLEIN, SCHUBERT, JOHANNES, & DENGLER. (1996). Human Evoked Potentials to Long Duration Vibratory Stimuli: Role of Muscle Afferents. *Neuroscience Letters* 216 (3): 163–66.
- MURDOCK, BENDER, SEGAL, & FELDMAN. (2015). The Dual Roles of Immunity in ALS: Injury Overrides Protection. *Neurobiology of Disease* 77 (May): 1–12. doi:10.1016/j.nbd.2015.02.017.
- NAKAJIMA, EISEN, MCCARTHY, OLNEY, & AMINOFF. (1996). Reduced Corticomotoneuronal Excitatory Postsynaptic Potentials (EPSPs) with Normal Ia Afferent EPSPs in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology* 47 (6): 1555–61.
- NAKASHIMA, ROTHWELL, DAY, THOMPSON, & MARSDEN. (1990). Cutaneous Effects on Presynaptic Inhibition of Flexor Ia Afferents in the Human Forearm. *The Journal of Physiology* 426 (July): 369–80.
- NELSON, STAINES, GRAHAM, & MCILROY. (2004). Activation in SI and SII; the Influence of Vibrotactile Amplitude during Passive and Task-Relevant Stimulation. *Cognitive Brain Research* 19 (2): 174–84. doi:10.1016/j.cogbrainres.2003.11.013.
- NELSON, & KREITZER. (2014). Reassessing Models of Basal Ganglia Function and Dysfunction. *Annual Review of Neuroscience* 37 (1): 117–35. doi:10.1146/annurev-neuro-071013-013916.
- NGUYEN, BREAKSPEAR, & CUNNINGTON. (2014). Reciprocal Interactions of the SMA and Cingulate Cortex Sustain Premovement Activity for Voluntary Actions. *Journal of Neuroscience* 34 (49): 16397–407. doi:10.1523/JNEUROSCI.2571-14.2014.
- NICOLAS, MARCHAND-PAUVERT, BURKE, & PIERROT-DESEILLIGNY. (2001). Corticospinal Excitation of Presumed Cervical Propriospinal Neurones and Its Reversal to Inhibition in Humans. *The Journal of Physiology* 533 (3): 903–19.
- NIEDERMEYER, & LOPES DA SILVA, eds. (2005). *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- MAUGUIÈRE. Somatosensory evoked potentiels: normal responses, abnormal waveforms, and clinical applications in neurological diseases.
- NIEDERMEYER, SCHOMER, & LOPES DA SILVA, eds. (2011). *Niedermeyer's Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*. 6. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health.
- SPECKMANN, ELGER, & GORGI. Neurophysiologic basis of EEG and DC potentials
- NIELSEN, & PIERROT-DESEILLIGNY. (1991). Pattern of Cutaneous Inhibition of the Propriospinal-like Excitation to Human Upper Limb Motoneurones. *The Journal of Physiology* 434: 169.
- NIETO-GONZALEZ, MOSER, LAURITZEN, SCHMITT-JOHN, & JENSEN. (2011). Reduced GABAergic Inhibition Explains Cortical Hyperexcitability in the Wobbler Mouse Model of ALS. *Cerebral Cortex* 21 (3): 625–35. doi:10.1093/cercor/bhq134.
- NIEUWENHUIS. (1994). The Neocortex. An Overview of Its Evolutionary Development, Structural Organization and Synaptology. *Anatomy and Embryology* 190 (4): 307–37.

- NIHEI, MCKEE, & KOWALL. (1993). Patterns of Neuronal Degeneration in the Motor Cortex of Amyotrophic Lateral Sclerosis Patients. *Acta Neuropathologica* 86 (1): 55–64.
- NOTO, KANAI, MISAWA, SHIBUYA, ISOSE, NASU, SEKIGUCHI, FUJIMAKI, NAKAGAWA, & KUWABARA. (2011). Distal Motor Axonal Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences* 302 (1-2): 58–62. doi:10.1016/j.jns.2010.11.025.
- OLEJNICZAK. (2006). Neurophysiologic Basis of EEG. *Journal of Clinical Neurophysiology: Official Publication of the American Electroencephalographic Society* 23 (3): 186–89. doi: 10.1097/01.wnp.0000220079.61973.6c.
- OZDINLER, BENN, YAMAMOTO, GUZEL, BROWN, & MACKLIS. (2011). Corticospinal Motor Neurons and Related Subcerebral Projection Neurons Undergo Early and Specific Neurodegeneration in hSOD1G93A Transgenic ALS Mice. *Journal of Neuroscience* 31 (11): 4166–77. doi:10.1523/JNEUROSCI.4184-10.2011.
- PAPADELIS, EICKHOFF, ZILLES, & IOANNIDES. (2011). BA3b and BA1 Activate in a Serial Fashion after Median Nerve Stimulation: Direct Evidence from Combining Source Analysis of Evoked Fields and Cytoarchitectonic Probabilistic Maps. *NeuroImage* 54 (1): 60–73. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.07.054.
- PARAIN, & DELAPIERRE. (1991). Effects of Stimulus Intensity Increase on Short-Latency Somatosensory Evoked Potentials: Application of Polynomial Curvature Coefficients. *Brain Topography* 4 (1): 31–35.
- PATTEN, ARMSTRONG, LISSOUBA, KABASHI, PARKER, & DRAPEAU. (2014). Fishing for Causes and Cures of Motor Neuron Disorders. *Disease Models & Mechanisms* 7 (7): 799–809. doi:10.1242/dmm.015719.
- PAUVERT, PIERROT-DESEILLIGNY, & ROTHWELL. (1998). Role of Spinal Premotoneurons in Mediating Corticospinal Input to Forearm Motoneurons in Man. *The Journal of Physiology* 508 (1): 301–12.
- PERRIN. (2014). Preclinical Research: Make Mouse Studies Work. *Nature* 507 (7493): 423–25. doi: 10.1038/507423a.
- PHILIPS, & ROTHSTEIN. (2014). Glial Cells in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Experimental Neurology* 262 (December): 111–20. doi:10.1016/j.expneurol.2014.05.015.
- PIERI, CARUNCHIO, CURCIO, MERCURI, & ZONA. (2009). Increased Persistent Sodium Current Determines Cortical Hyperexcitability in a Genetic Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Experimental Neurology* 215 (2): 368–79. doi:10.1016/j.expneurol.2008.11.002.
- PIERROT-DESEILLIGNY, & MARCHAND-PAUVERT. (2002). A Cervical Propriospinal System in Man. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 508: 273–79.
- PIERROT-DESEILLIGNY, & BURKE. (2012). The Circuitry of the Human Spinal Cord Its Role in Motor Control and Movement Disorders. Cambridge, UK; New York: Cambridge University Press. <http://public.eblib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=254917>.
- POLYMENIDOU, & CLEVELAND. (2011). The Seeds of Neurodegeneration: Prion-like Spreading in ALS. *Cell* 147 (3): 498–508. doi:10.1016/j.cell.2011.10.011.

- PRADAT, ATTARIAN, CAMDESSANCHÉ, CARLUER, CINTAS, CORCIA, DANIEL-BRUNAUD, ET AL. (2009). Sclérose latérale amyotrophique : mise au point en 2009. Mise au point. Association des Neurologues Libéraux de Langue Française (ANLLF).
- PRADAT, & EL MENDILI. (2014). Neuroimaging to Investigate Multisystem Involvement and Provide Biomarkers in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *BioMed Research International* 2014: 1–10. doi: 10.1155/2014/467560.
- PRADAT, KABASHI, & DESNUELLE. (2015). Deciphering Spreading Mechanisms in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Clinical Evidence and Potential Molecular Processes. *Current Opinion in Neurology* 28 (5): 455–61. doi:10.1097/WCO.0000000000000239.
- PRELL, LAUTENSCHLÄGER, WITTE, CARRI, & GROSSKREUTZ. (2012). The Unfolded Protein Response in Models of Human Mutant G93A Amyotrophic Lateral Sclerosis: Unfolded Protein Response_amyotrophic Lateral Sclerosis. *European Journal of Neuroscience* 35 (5): 652–60. doi:10.1111/j.1460-9568.2012.08008.x.
- PRELL, & GROSSKREUTZ. (2013). The Involvement of the Cerebellum in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration* 14 (7-8): 507–15. doi: 10.3109/21678421.2013.812661.
- PUGDAHL, FUGLSANG-FREDERIKSEN, DE CARVALHO, JOHNSEN, FAWCETT, LABARRE-VILA, LIGUORI, NIX, & SCHOFIELD. (2006). Generalised Sensory System Abnormalities in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A European Multicentre Study. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 78 (7): 746–49. doi:10.1136/jnnp.2006.098533.
- PUN, SANTOS, SAXENA, XU, & CARONI. (2006). Selective Vulnerability and Pruning of Phasic Motoneuron Axons in Motoneuron Disease Alleviated by CNTF. *Nature Neuroscience* 9 (3): 408–19. doi:10.1038/nn1653.
- PURVES. (2013). Neurosciences. Bruxelles: De Boeck.
- QUINLAN, SCHUSTER, FU, SIDDIQUE, & HECKMAN. (2011). Altered Postnatal Maturation of Electrical Properties in Spinal Motoneurons in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis: Accelerated Maturation of Motoneurons in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The Journal of Physiology* 589 (9): 2245–60. doi:10.1113/jphysiol.2010.200659.
- RADHU, RAVINDRAN, LEVINSON, & DASKALAKIS. (2012). Inhibition of the Cortex Using Transcranial Magnetic Stimulation in Psychiatric Populations: Current and Future Directions. *Journal of Psychiatry & Neuroscience* 37 (6): 369–78. doi:10.1503/jpn.120003.
- RADTKE, ERWIN, & ERWIN. (1986). Abnormal Sensory Evoked Potentials in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology* 36 (6): 796–801.
- RAMÍREZ-JARQUÍN, LAZO-GÓMEZ, TOVAR-Y-ROMO, & TAPIA. (2014). Spinal Inhibitory Circuits and Their Role in Motor Neuron Degeneration. *Neuropharmacology* 82 (July): 101–7. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.10.003.
- Ravits, Laurie, Fan, & Moore. (2007). Implications of ALS Focality: Rostral-Caudal Distribution of Lower Motor Neuron Loss Postmortem. *Neurology* 68 (19): 1576–82. doi:10.1212/01.wnl.0000261045.57095.56.

- RAVITS, PAUL, & JORG. (2007). Focality of Upper and Lower Motor Neuron Degeneration at the Clinical Onset of ALS. *Neurology* 68 (19): 1571–75. doi:10.1212/01.wnl.0000260965.20021.47.
- RAVITS. (2014). Focality, Stochasticity and Neuroanatomic Propagation in ALS Pathogenesis. *Experimental Neurology* 262 (December): 121–26. doi:10.1016/j.expneurol.2014.07.021.
- RAYNOR, & SHEFNER. (1994). Recurrent Inhibition Is Decreased in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology* 44 (11): 2148–53.
- RENTON, CHIÒ, & TRAYNOR. (2013). State of Play in Amyotrophic Lateral Sclerosis Genetics. *Nature Neuroscience* 17 (1): 17–23. doi:10.1038/nn.3584.
- RIZZOLATTI, LUPPINO, & MATELLI. (1998). The Organization of the Cortical Motor System: New Concepts. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 106 (4): 283–96.
- ROLAND, LARSEN, LASSEN, & SKINHØJ. (1980). Supplementary Motor Area and Other Cortical Areas in Organization of Voluntary Movements in Man. *Journal of Neurophysiology* 43 (1): 118–36.
- ROTHSTEIN, MARTIN, & KUNCL. (1992). Decreased Glutamate Transport by the Brain and Spinal Cord in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The New England Journal of Medicine* 326 (22): 1464–68. doi:10.1056/NEJM199205283262204.
- ROTHWELL. (1997). Techniques and Mechanisms of Action of Transcranial Stimulation of the Human Motor Cortex. *Journal of Neuroscience Methods* 74 (2): 113–22.
- RUBEN, SCHWIEMANN, DEUCHERT, MEYER, KRAUSE, CURIO, VILLRINGER, KURTH, & VILLRINGER. (2001). Somatotopic Organization of Human Secondary Somatosensory Cortex. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 11 (5): 463–73.
- SABA, VISCOMI, CAIOLI, PIGNATARO, BISICCHIA, PIERI, MOLINARI, AMMASSARI-TEULE, & ZONA. (2015). Altered Functionality, Morphology, and Vesicular Glutamate Transporter Expression of Cortical Motor Neurons from a Presymptomatic Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cerebral Cortex*, January. doi:10.1093/cercor/bhu317.
- SÁBADO, CASANOVAS, TARABAL, HEREU, PIEDRAFITA, CALDERÓ, & ESQUERDA. (2014). Accumulation of Misfolded SOD1 in Dorsal Root Ganglion Degenerating Proprioceptive Sensory Neurons of Transgenic Mice with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *BioMed Research International* 2014: 1–13. doi:10.1155/2014/852163.
- SACH. (2004). Diffusion Tensor MRI of Early Upper Motor Neuron Involvement in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Brain* 127 (2): 340–50. doi:10.1093/brain/awh041.
- SALINAS, HERNANDEZ, ZAINOS, & ROMO. (2000). Periodicity and Firing Rate as Candidate Neural Codes for the Frequency of Vibrotactile Stimuli. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 20 (14): 5503–15.
- SANDYK. (2006). Serotonergic Mechanisms in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *International Journal of Neuroscience* 116 (7): 775–826. doi:10.1080/00207450600754087.
- SARADJIAN, TREMBLAY, PERRIER, BLOUIN, & MOUCHNINO. (2013). Cortical Facilitation of Proprioceptive Inputs Related to Gravitational Balance Constraints during Step Preparation. *Journal of Neurophysiology* 110 (2): 397–407. doi:10.1152/jn.00905.2012.
- SAREEN, O'ROURKE, MEERA, MUHAMMAD, GRANT, SIMPKINSON, BELL, ET AL. (2013). Targeting RNA Foci in iPSC-Derived Motor Neurons from ALS Patients with a C9ORF72 Repeat Expansion.

- Science Translational Medicine* 5 (208): 208ra149–208ra149. doi:10.1126/scitranslmed.3007529.
- SASAKI, TSUTSUMI, YAMANE, SAKUMA, & MARUYAMA. (1992). Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis with Extensive Neurological Involvement. *Acta Neuropathologica* 84 (2): 211–15.
- SASAKI. (2011). Autophagy in Spinal Cord Motor Neurons in Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 70 (5): 349–59. doi:10.1097/NEN.0b013e3182160690.
- SAXENA, CABUY, & CARONI. (2009). A Role for Motoneuron Subtype-selective ER Stress in Disease Manifestations of FALS Mice. *Nature Neuroscience* 12 (5): 627–36. doi:10.1038/nn.2297.
- SAXENA, ROSELLI, SINGH, LEPTIEN, JULIEN, GROS-LOUIS, & CARONI. (2013). Neuroprotection through Excitability and mTOR Required in ALS Motoneurons to Delay Disease and Extend Survival. *Neuron* 80 (1): 80–96. doi:10.1016/j.neuron.2013.07.027.
- SCHIEPPATI, POLONI, & NARDONE. (1985). Voluntary Muscle Release Is Not Accompanied by H-Reflex Inhibition in Patients with Upper Moto Neuron Lesions. *Neuroscience Letters* 61 (1-2): 177–81.
- SCHIEPPATI, NARDONE, & POLONI. (1987). Changes in the Normal Pattern of H-Reflex Inhibition during Muscle Release in ALS. In *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, 155–58. Springer. http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4684-5302-7_26.
- SCHMIED, & ATTARIAN. (2008). Enhancement of Single Motor Unit Inhibitory Responses to Transcranial Magnetic Stimulation in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Experimental Brain Research* 189 (2): 229–42. doi:10.1007/s00221-008-1420-y.
- SCHULTE-MATTTLER, JAKOB, & ZIERZ. (1999). Focal Sensory Nerve Abnormalities in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences* 162 (2): 189–93.
- SHAW. (2005). Molecular and Cellular Pathways of Neurodegeneration in Motor Neurone Disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 76 (8): 1046–57. doi:10.1136/jnnp.2004.048652.
- SHEFNER, TYLER, & KRARUP. (1991). Abnormalities in the Sensory Action Potential in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Muscle & Nerve* 14 (12): 1242–46. doi:10.1002/mus.880141218.
- SHEFNER, & LOGIGIAN. (1998). The Mixed Nerve Silent Period in Normal Subjects and Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Electromyography and Clinical Neurophysiology* 38 (8): 505–10.
- SHI, GAL, KWINTER, LIU, & ZHU. (2010). Mitochondrial Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1802 (1): 45–51. doi:10.1016/j.bbadis.2009.08.012.
- SHIBUYA, MISAWA, ARAI, NAKATA, KANAI, YOSHIYAMA, ITO, ET AL. (2011). Markedly Reduced Axonal Potassium Channel Expression in Human Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis: An Immunohistochemical Study. *Experimental Neurology* 232 (2): 149–53. doi:10.1016/j.expneurol.2011.08.015.

- SHIGA, YAMADA, OFUJI, FUJITA, KAWAMURA, INOUE, HADA, YAMAZAKI, CHENG, & YEH. (2001). Effects of Stimulus Intensity on Latency and Conduction Time of Short-Latency Somatosensory Evoked Potentials. *Clinical EEG (electroencephalography)* 32 (2): 75–81.
- SHIGERI, SEAL, & SHIMAMOTO. (2004). Molecular Pharmacology of Glutamate Transporters, EAATs and VGLUTs. *Brain Research Reviews* 45 (3): 250–65. doi:10.1016/j.brainresrev.2004.04.004.
- SICA. (2012). Is Amyotrophic Lateral Sclerosis a Primary Astrocytic Disease? *Medical Hypotheses* 79 (6): 819–22. doi:10.1016/j.mehy.2012.08.036.
- SIMON, LIN, LEE, HOWELLS, VUCIC, BURKE, & KIERNAN. (2015). Segmental Motoneuronal Dysfunction Is a Feature of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Clinical Neurophysiology* 126 (4): 828–36. doi:10.1016/j.clinph.2014.07.029.
- SIMONETTA-MOREAU, MARQUE, MARCHAND-PAUVERT, & PIERROT-DESEILLIGNY. (1999). The Pattern of Excitation of Human Lower Limb Motoneurons by Probable Group II Muscle Afferents. *The Journal of Physiology* 517 (1): 287–300.
- SMITH. (1960). Nerve Fibre Degeneration in the Brain in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 23 (4): 269–82.
- SOBUE, MATSUOKA, MUKAI, TAKAYANAGI, & SOBUE. (1981). Pathology of Myelinated Fibers in Cervical and Lumbar Ventral Spinal Roots in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences* 50 (3): 413–21.
- SOBUE, HASHIZUME, MITSUMA, & TAKAHASHI. (1987). Size-Dependent Myelinated Fiber Loss in the Corticospinal Tract in Shy-Drager Syndrome and Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurology* 37 (3): 529–32.
- SOLIVEN, & MASELLI. (1992). Single Motor Unit H-Reflex in Motor Neuron Disorders. *Muscle & Nerve* 15 (6): 656–60. doi:10.1002/mus.880150604.
- SONOO, HATANAKA, TSUKAMOTO, TSAI-SHOZAWA, & SHIMIZU. (2004). N10 Component in Median Nerve Somatosensory Evoked Potentials (SEPs) Is Not an Antidromic Motor Potential. *Clinical Neurophysiology* 115 (11): 2645–49. doi:10.1016/j.clinph.2004.06.005.
- SOTO. (2003). Unfolding the Role of Protein Misfolding in Neurodegenerative Diseases. *Nature Reviews Neuroscience* 4 (1): 49–60. doi:10.1038/nrn1007.
- SPALLONI, NUTINI, & LONGONE. (2013). Role of the N-Methyl-D-Aspartate Receptors Complex in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1832 (2): 312–22. doi:10.1016/j.bbadis.2012.11.013.
- STEPHENS, GUILLOFF, NAVARRETE, NEWMAN, NIKHAR, & LEWIS. (2006). Widespread Loss of Neuronal Populations in the Spinal Ventral Horn in Sporadic Motor Neuron Disease. A Morphometric Study. *Journal of the Neurological Sciences* 244 (1-2): 41–58. doi:10.1016/j.jns.2005.12.003.
- STEPHENSON, & GIBBS. (1951). A balanced non-cephalic reference electrode. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 3 (2): 237–40.
- STEWART, ANDERSEN, EISEN, & WEBER. (2006). Corticomotoneuronal Dysfunction in ALS Patients with Different SOD1 Mutations. *Clinical Neurophysiology* 117 (8): 1850–61. doi:10.1016/j.clinph.2006.04.004.
- STIENEN, DE GROOT, VENKER-VAN HAAGEN, VAN DEN BROM, & HELLEBREKERS. (2005). Differences between Somatosensory-Evoked Potentials Recorded from the Ventral Posterolateral Thalamic

- Nucleus, Primary Somatosensory Cortex and Vertex in the Rat. *Brain Research Bulletin* 67 (4): 269–80. doi:10.1016/j.brainresbull.2005.06.038.
- SUBRAMANIAM, & YIANNIKAS. (1990). Multimodality Evoked Potentials in Motor Neuron Disease. *Archives of Neurology* 47 (9): 989–94.
- SUNICO, DOMÍNGUEZ, GARCÍA-VERDUGO, OSTA, MONTERO, & MORENO-LÓPEZ. (2011). Reduction in the Motoneuron Inhibitory/Excitatory Synaptic Ratio in an Early-Symptomatic Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis: Inhibitory Loss and Excitatory Gain in ALS. *Brain Pathology* 21 (1): 1–15. doi:10.1111/j.1750-3639.2010.00417.x.
- SUTHERLAND, & TANG. (2006). Reliable Detection of Bilateral Activation in Human Primary Somatosensory Cortex by Unilateral Median Nerve Stimulation. *NeuroImage* 33 (4): 1042–54. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.08.015.
- SWASH, & FOX. (1974). The Pathology of the Human Muscle Spindle: Effect of Denervation. *Journal of the Neurological Sciences* 22 (1): 1–24.
- SWASH. (2012). Why Are Upper Motor Neuron Signs Difficult to Elicit in Amyotrophic Lateral Sclerosis? *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 83 (6): 659–62. doi:10.1136/jnnp-2012-302315.
- SWINNEN, & ROBBERECHT. (2014). The Phenotypic Variability of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Nature Reviews Neurology* 10 (11): 661–70. doi:10.1038/nrneurol.2014.184.
- TADIC, PRELL, LAUTENSCHLAEGER, & GROSSKREUTZ. (2014). The ER Mitochondria Calcium Cycle and ER Stress Response as Therapeutic Targets in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8 (May). doi:10.3389/fncel.2014.00147.
- TAKAHASHI, SNOW, BHATT, PEPPARD, EISEN, & CALNE. (1993). Evidence for a Dopaminergic Deficit in Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis on Positron Emission Scanning. *Lancet (London, England)* 342 (8878): 1016–18.
- TAKEDA, UCHIHARA, ARAI, MIZUTANI, & IWATA. (2009). Progression of Hippocampal Degeneration in Amyotrophic Lateral Sclerosis with or without Memory Impairment: Distinction from Alzheimer Disease. *Acta Neuropathologica* 117 (1): 35–44. doi:10.1007/s00401-008-0447-2.
- TALLON, RUSSELL, SAKHALKAR, ANDRAPALLAYAL, & FARAH. (2016). Length-Dependent Axo-Terminal Degeneration at the Neuromuscular Synapses of Type II Muscle in SOD1 Mice. *Neuroscience* 312 (January): 179–89. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.11.018.
- TAN, PASINELLI, & TROTTI. (2014). Role of Mitochondria in Mutant SOD1 Linked Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1842 (8): 1295–1301. doi:10.1016/j.bbadis.2014.02.009.
- TANOSAKI, OZAKI, SHIMAMURA, BABA, & MATSUNAGA. (1999). Effects of Aging on Central Conduction in Somatosensory Evoked Potentials: Evaluation of Onset versus Peak Methods. *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 110 (12): 2094–2103.
- TAZERART, VIEMARI, DARBON, VINAY, & BROCARD. (2007). Contribution of Persistent Sodium Current to Locomotor Pattern Generation in Neonatal Rats. *Journal of Neurophysiology* 98 (2): 613–28. doi:10.1152/jn.00316.2007.

- TERAO, SOBUE, HASHIZUME, MITSUMA, & TAKAHASHI. (1994). Disease-Specific Patterns of Neuronal Loss in the Spinal Ventral Horn in Amyotrophic Lateral Sclerosis, Multiple System Atrophy and X-Linked Recessive Bulbospinal Neuronopathy, with Special Reference to the Loss of Small Neurons in the Intermediate Zone. *Journal of Neurology* 241 (4): 196–203.
- THEYS, PEETERS, & ROBBERECHT. (1999). Evolution of Motor and Sensory Deficits in Amyotrophic Lateral Sclerosis Estimated by Neurophysiological Techniques. *Journal of Neurology* 246 (6): 438–42.
- THIVARD, PRADAT, LEHERICY, LACOMBLEZ, DORMONT, CHIRAS, BENALI, & MEININGER. (2007). Diffusion Tensor Imaging and Voxel Based Morphometry Study in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Relationships with Motor Disability. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 78 (8): 889–92. doi:10.1136/jnnp.2006.101758.
- THOMSEN, GOWING, LATTER, CHEN, VIT, STAGGENBORG, AVALOS, ET AL. (2014). Delayed Disease Onset and Extended Survival in the SOD1G93A Rat Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis after Suppression of Mutant SOD1 in the Motor Cortex. *Journal of Neuroscience* 34 (47): 15587–600. doi:10.1523/JNEUROSCI.2037-14.2014.
- TOHGI, TSUKAGOSHI, & TOYOKURA. (1977). Quantitative Changes of Sural Nerves in Various Neurological Diseases. *Acta Neuropathologica* 38 (2): 95–101.
- TORQUATI, PIZZELLA, DELLA PENNA, FRANCIOTTI, BABILONI, ROSSINI, & ROMANI. (2002). Comparison between SI and SII Responses as a Function of Stimulus Intensity. *Neuroreport* 13 (6): 813–19.
- TOVAR-Y-ROMO, RAMÍREZ-JARQUÍN, LAZO-GÓMEZ, & TAPIA. (2014). Trophic Factors as Modulators of Motor Neuron Physiology and Survival: Implications for ALS Therapy. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8. doi:10.3389/fncel.2014.00061.
- TRADEWELL, COOPER, MINOTTI, & DURHAM. (2011). Calcium Dysregulation, Mitochondrial Pathology and Protein Aggregation in a Culture Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis: Mechanistic Relationship and Differential Sensitivity to Intervention. *Neurobiology of Disease* 42 (3): 265–75. doi:10.1016/j.nbd.2011.01.016.
- TREDE, KIEF, HÖLZER, & BROMM. (1988). Late Somatosensory Evoked Cerebral Potentials in Response to Cutaneous Heat Stimuli. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 70 (5): 429–41.
- TURNER. (2005). [11C]-WAY100635 PET Demonstrates Marked 5-HT_{1A} Receptor Changes in Sporadic ALS. *Brain* 128 (4): 896–905. doi:10.1093/brain/awh428.
- TURNER, & TALBOT. (2008). Transgenics, Toxicity and Therapeutics in Rodent Models of Mutant SOD1-Mediated Familial ALS. *Progress in Neurobiology* 85 (1): 94–134. doi:10.1016/j.pneurobio.2008.01.001.
- TURNER, WICKS, BROWNSTEIN, MASSAGLI, TORONJO, TALBOT, & AL-CHALABI. (2011). Concordance between Site of Onset and Limb Dominance in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 82 (8): 853–54. doi:10.1136/jnnp.2010.208413.
- TURNER, & KIERNAN. (2012). Does Interneuronal Dysfunction Contribute to Neurodegeneration in Amyotrophic Lateral Sclerosis? *Amyotrophic Lateral Sclerosis: Official Publication of the World Federation of Neurology Research Group on Motor Neuron Diseases* 13 (3): 245–50. doi:10.3109/17482968.2011.636050.

- URBANO, BABILONI, BABILONI, AMBROSINI, ONORATI, & ROSSINI. (1997). Human Short Latency Cortical Responses to Somatosensory Stimulation. A High Resolution EEG Study. *Neuroreport* 8 (15): 3239–43.
- VALKO, LEIBFRITZ, MONCOL, CRONIN, MAZUR, & TELSER. (2007). Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39 (1): 44–84. doi:10.1016/j.biocel.2006.07.001.
- VAN DEN BOSCH, VAN DAMME, BOGAERT, & ROBBERECHT. (2006). The Role of Excitotoxicity in the Pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1762 (11-12): 1068–82. doi:10.1016/j.bbadis.2006.05.002.
- VAN DEN BOSCH. (2011). Genetic Rodent Models of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2011: 1–11. doi:10.1155/2011/348765.
- VAN ZUNDERT, PEUSCHER, HYNYNEN, CHEN, NEVE, BROWN, CONSTANTINE-PATON, & BELLINGHAM. (2008). Neonatal Neuronal Circuitry Shows Hyperexcitable Disturbance in a Mouse Model of the Adult-Onset Neurodegenerative Disease Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neuroscience* 28 (43): 10864–74. doi:10.1523/JNEUROSCI.1340-08.2008.
- VAUGHAN, KEMP, HATZIPETROS, VIEIRA, & VALDEZ. (2015). Degeneration of Proprioceptive Sensory Nerve Endings in Mice Harboring Amyotrophic Lateral Sclerosis-Causing Mutations: Proprioceptive Sensory Neurons and ALS. *Journal of Comparative Neurology* 523 (17): 2477–94. doi:10.1002/cne.23848.
- VEHVILÄINEN, KOISTINAHO, & GUNDARS. (2014). Mechanisms of Mutant SOD1 Induced Mitochondrial Toxicity in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8 (May). doi: 10.3389/fncel.2014.00126.
- VENUGOPAL, HSIAO, SONODA, WIEDAU-PAZOS, & CHANDLER. (2015). Homeostatic Dysregulation in Membrane Properties of Masticatory Motoneurons Compared with Oculomotor Neurons in a Mouse Model for Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neuroscience* 35 (2): 707–20. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1682-14.2015.
- VERMA. (2013). Protein Aggregates and Regional Disease Spread in ALS Is Reminiscent of Prion-like Pathogenesis. *Neurology India* 61 (2): 107–10. doi:10.4103/0028-3886.111109.
- VERSTRAETE, VAN DEN HEUVEL, VELDINK, BLANKEN, MANDL, HULSHOFF POL, & VAN DEN BERG. (2010). Motor Network Degeneration in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Structural and Functional Connectivity Study. Edited by Wang Zhan. *PLoS ONE* 5 (10): e13664. doi:10.1371/journal.pone.0013664.
- VERSTRAETE, VELDINK, MANDL, VAN DEN BERG, & VAN DEN HEUVEL. (2011). Impaired Structural Motor Connectome in Amyotrophic Lateral Sclerosis. Edited by Yong He. *PLoS ONE* 6 (9): e24239. doi:10.1371/journal.pone.0024239.
- VERSTRAETE, VELDINK, VAN DEN BERG, & VAN DEN HEUVEL. (2014). Structural Brain Network Imaging Shows Expanding Disconnection of the Motor System in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Expanding Motor Disconnection in ALS. *Human Brain Mapping* 35 (4): 1351–61. doi: 10.1002/hbm.22258.
- VOGT, & GABRIEL. (1993). Neurobiology of Cingulate Cortex and Limbic Thalamus a Comprehensive Handbook. Boston: Birkhäuser. <http://catalog.hathitrust.org/api/volumes/oclc/27725424.html>.
- DUM, & STRICK. Cingulate motor areas

- VUCIC, & KIERNAN. (2006). Axonal Excitability Properties in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Clinical Neurophysiology* 117 (7): 1458–66. doi:10.1016/j.clinph.2006.04.016.
- VUCIC, NICHOLSON, & KIERNAN. (2008). Cortical Hyperexcitability May Precede the Onset of Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Brain* 131 (6): 1540–50. doi:10.1093/brain/awn071.
- VUCIC, CHEAH, & KIERNAN. (2009). Defining the Mechanisms That Underlie Cortical Hyperexcitability in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Experimental Neurology* 220 (1): 177–82. doi:10.1016/j.expneurol.2009.08.017.
- VUCIC, KIERNAN. (2010). Upregulation of Persistent Sodium Conductances in Familial ALS. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 81 (2): 222–27. doi:10.1136/jnnp.2009.183079.
- VUCIC, LIN, CHEAH, MURRAY, MENON, KRISHNAN, & KIERNAN. (2013). Riluzole Exerts Central and Peripheral Modulating Effects in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Brain* 136 (5): 1361–70. doi:10.1093/brain/awt085.
- VUCIC, ZIEMANN, EISEN, HALLETT, & KIERNAN. (2013). Transcranial Magnetic Stimulation and Amyotrophic Lateral Sclerosis: Pathophysiological Insights. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 84 (10): 1161–70. doi:10.1136/jnnp-2012-304019.
- VUCIC, ROTHSTEIN, & KIERNAN. (2014). Advances in Treating Amyotrophic Lateral Sclerosis: Insights from Pathophysiological Studies. *Trends in Neurosciences* 37 (8): 433–42. doi:10.1016/j.tins.2014.05.006.
- WAINGER, KISKINIS, MELLIN, WISKOW, HAN, SANDOE, PEREZ, ET AL. (2014). Intrinsic Membrane Hyperexcitability of Amyotrophic Lateral Sclerosis Patient-Derived Motor Neurons. *Cell Reports* 7 (1): 1–11. doi:10.1016/j.celrep.2014.03.019.
- WEBER, & EISEN. (2000). Peristimulus Time Histograms (PSTHs)--a Marker for Upper Motor Neuron Involvement in ALS? *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Other Motor Neuron Disorders: Official Publication of the World Federation of Neurology, Research Group on Motor Neuron Diseases* 1 Suppl 2 (June): S51–56.
- WEBER, EISEN, STEWART, & HIROTA. (2000). The Split Hand in ALS Has a Cortical Basis. *Journal of the Neurological Sciences* 180 (1): 66–70.
- WESTENENG, VERSTRAETE, WALHOUT, SCHMIDT, HENDRIKSE, VELDINK, VAN DEN HEUVEL, & VAN DEN BERG. (2015). Subcortical Structures in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurobiology of Aging* 36 (2): 1075–82. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.09.002.
- WITTSTOCK, WOLTERS, & BENECKE. (2007). Transcallosal Inhibition in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Clinical Neurophysiology* 118 (2): 301–7. doi:10.1016/j.clinph.2006.09.026.
- WONG, & MARTIN. (2010). Skeletal Muscle-Restricted Expression of Human SOD1 Causes Motor Neuron Degeneration in Transgenic Mice. *Human Molecular Genetics* 19 (11): 2284–2302. doi:10.1093/hmg/ddq106.
- WOODWORTH, CUSTO GREIG, KRIEGSTEIN, & MACKLIS. (2012). SnapShot: Cortical Development. *Cell* 151 (4): 918–918.e1. doi:10.1016/j.cell.2012.10.004.
- WOOLSEY, ERICKSON, & GILSON. (1979). Localization in Somatic Sensory and Motor Areas of Human Cerebral Cortex as Determined by Direct Recording of Evoked Potentials and Electrical Stimulation. *Journal of Neurosurgery* 51 (4): 476–506. doi:10.3171/jns.1979.51.4.0476.

- WOOTZ, FITZSIMONS-KANTAMNENI, LARHAMMAR, ROTTERMAN, ENJIN, PATRA, ANDRÉ, VAN ZUNDERT, KULLANDER, & ALVAREZ. (2013). Alterations in the Motor Neuron-Renshaw Cell Circuit in the Sod1 G93A Mouse Model. *Journal of Comparative Neurology* 521 (7): 1449–69. doi:10.1002/cne.23266.
- YAMAUCHI, FUKUYAMA, OUCHI, NAGAHAMA, KIMURA, ASATO, & KONISHI. (1995). Corpus Callosum Atrophy in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of the Neurological Sciences* 134 (1-2): 189–96.
- YASVOINA, GENC, JARA, SHEETS, QUINLAN, MILOSEVIC, SHEPHERD, HECKMAN, & OZDINLER. (2013). eGFP Expression under UCHL1 Promoter Genetically Labels Corticospinal Motor Neurons and a Subpopulation of Degeneration-Resistant Spinal Motor Neurons in an ALS Mouse Model. *Journal of Neuroscience* 33 (18): 7890–7904. doi:10.1523/JNEUROSCI.2787-12.2013.
- YOKOTA, YOSHINO, INABA, & SAITO. (1996). Double Cortical Stimulation in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 61 (6): 596–600.
- YOU, THIE, KLITORNER, GUPTA, & GRAHAM. (2012). Normalization of Visual Evoked Potentials Using Underlying Electroencephalogram Levels Improves Amplitude Reproducibility in Rats. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 53 (3): 1473. doi:10.1167/iovs.11-8797.
- ZANETTE, POLO, GASPERINI, BERTOLASI, & DE GRANDIS. (1990). Far-Field and Cortical Somatosensory Evoked Potentials in Motor Neuron Disease. *Muscle & Nerve* 13 (1): 47–55. doi:10.1002/mus.880130110.
- ZANETTE, TINAZZI, POLO, & RIZZUTO. (1996). Motor Neuron Disease with Pyramidal Tract Dysfunction Involves the Cortical Generators of the Early Somatosensory Evoked Potential to Tibial Nerve Stimulation. *Neurology* 47 (4): 932–38.
- ZANETTE, TAMBURIN, MANGANOTTI, REFATTI, FORGIONE, & RIZZUTO. (2002a). Different Mechanisms Contribute to Motor Cortex Hyperexcitability in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology* 113 (11): 1688–97.
- ZANETTE, TAMBURIN, MANGANOTTI, REFATTI, FORGIONE, & RIZZUTO. (2002b). Changes in Motor Cortex Inhibition over Time in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neurology* 249 (12): 1723–28. doi:10.1007/s00415-002-0926-7.
- ZHONG, MASINO, & HARRIS-WARRICK. (2007). Persistent Sodium Currents Participate in Fictive Locomotion Generation in Neonatal Mouse Spinal Cord. *Journal of Neuroscience* 27 (17): 4507–18. doi:10.1523/JNEUROSCI.0124-07.2007.
- ZHOU, YI, FU, LIU, SIDDIQUE, RÍOS, & DENG. (2010). Hyperactive Intracellular Calcium Signaling Associated with Localized Mitochondrial Defects in Skeletal Muscle of an Animal Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Biological Chemistry* 285 (1): 705–12. doi:10.1074/jbc.M109.041319.
- ZIEMANN, WINTER, REIMERS, REIMERS, TERGAU, & PAULUS. (1997). Impaired Motor Cortex Inhibition in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. Evidence from Paired Transcranial Magnetic Stimulation. *Neurology* 49 (5): 1292–98.
- ZIEMANN, REIS, SCHWENKREIS, ROSANOVA, STRAFELLA, BADAWY, & MÜLLER-DAHLHAUS. (2015). TMS and Drugs Revisited 2014. *Clinical Neurophysiology* 126 (10): 1847–68. doi:10.1016/j.clinph.2014.08.028.

- ZISKIND-CONHAIM, WU, & WIESNER. (2008). Persistent Sodium Current Contributes to Induced Voltage Oscillations in Locomotor-Related Hb9 Interneurons in the Mouse Spinal Cord. *Journal of Neurophysiology* 100 (4): 2254–64. doi:10.1152/jn.90437.2008.
- ZONA, PIERI, & CARUNCHIO. (2006). Voltage-Dependent Sodium Channels in Spinal Cord Motor Neurons Display Rapid Recovery From Fast Inactivation in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Journal of Neurophysiology* 96 (6): 3314–22. doi:10.1152/jn.00566.2006.