



HAL
open science

Dynamique de l'excitabilité corticale dans l'épilepsie-absence et intégration sensorielle

Mark Williams

► **To cite this version:**

Mark Williams. Dynamique de l'excitabilité corticale dans l'épilepsie-absence et intégration sensorielle. Neurosciences. Sorbonne Université, 2018. Français. NNT : 2018SORUS608 . tel-03010493

HAL Id: tel-03010493

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-03010493>

Submitted on 17 Nov 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE DOCTORAT DE SORBONNE UNIVERSITE

Ecole Doctorale Cerveau – Cognition – Comportement

Présentée par

Mark WILLIAMS

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE SORBONNE UNIVERSITE

Spécialité Neurosciences

Dynamique de l'excitabilité corticale dans l'épilepsie-absence et intégration sensorielle

Soutenue le 22 Octobre 2018

Jury composé de :

Pr. Régis LAMBERT	Président
Pr. Stéphane AUVIN	Rapporteur
Pr. Florin AMZICA	Rapporteur
Dr. Antoine DEPAULIS	Examineur
Pr. Stéphane CHARPIER	Directeur de thèse
Dr. Séverine MAHON	Invitée

Remerciements

Je souhaite commencer par remercier les membres de mon jury qui ont accepté de juger mon travail. Merci au Pr. Amzica et au Pr. Auvin d'être rapporteurs pour ma thèse. Merci au Pr. Régis Lambert de présider mon jury et pour ses enseignements pendant mes études. Merci au Dr. Depaulis d'être examinateur pour ma thèse et d'avoir collaboré à sa réussite.

Merci à mes relectrices et relecteurs pour leur patience, leur bienveillance et leur dévotion.

Merci au Pr. Charprier et au Dr. Mahon d'être membres de mon jury, m'accompagnant dans ma thèse depuis sa mise en place jusqu'à sa conclusion. Merci Stéphane, Séverine, de m'avoir ouvert les portes du laboratoire, de m'avoir soutenu, de m'avoir encouragé et d'avoir partagé votre expérience. Merci de m'avoir permis d'accomplir sous votre direction mon rêve d'enfant de devenir scientifique.

Merci aux membres du laboratoire pour l'accueil, l'amicalité et l'aide dont vous faites preuve. Merci pour le partage de tous ces bons moments et ces galères, au labo et en dehors. Merci à Tristan, qui m'a aidé et formé quand j'étais encore jeune doctorant.

Merci à l'ensemble du personnel technique et administratif, de nous permettre de nous concentrer sur la science. Merci à Boris Zalc et Alexis Brice de m'avoir accueilli au sein de l'ICM.

Merci au Pr. Prochiantz et au Dr. Birman de m'avoir accueilli dans leur laboratoire au cours de mes études, d'avoir contribué à ma formation et ma réussite.

Merci à mes enseignants académiques, sportifs et musicaux, de tout temps et de tout niveau, pour leur dévotion et leur bienveillance.

Merci à ma famille et mes amis, qui m'ont donné ce que j'ai de plus cher : leur amitié, leur soutien, leur confiance et leur respect. C'est à vous que je dois ma liberté de pensée et la force d'aller de l'avant. Merci à mes parents de m'avoir appris comment apprendre par moi-même. Merci de m'avoir aidé, soutenu et également de m'avoir forcé à me remettre en question quand c'était nécessaire.

Merci à toutes et à tous, d'être là, d'être qui vous êtes, et de faire ce que vous faites. Ce travail, cette fierté, c'est grâce à vous.

Table des matières

RESUME	7
SUMMARY	8
ABREVIATIONS	9
A. INTRODUCTION GENERALE	10
I. Cerveau et codage de l'information.....	10
II. Epilepsie et conscience.....	12
III. Une approche dynamique	14
B. INTRODUCTION	17
I. Les épilepsies.....	17
1. Définition et propriétés générales	17
2. Epidémiologie	18
3. Aspects cliniques généraux	19
4. Classifications.....	22
a. Classification des crises	22
b. Classification des épilepsies	24
5. Traitements.....	26
a. Médicaments antiépileptiques.....	27
b. Chirurgie	28
c. Stimulation.....	29
d. Régimes alimentaires particuliers	30
II. Les absences humaines	31
1. Historique	31
2. Epidémiologie de l'épilepsie-absence.....	32
3. Aspects cliniques.....	32
4. L'EEG des absences humaines.....	33
5. Imageries cérébrales et crises d'absences.....	34
6. Génétique des épilepsies-absences	35
7. Pronostic de l'épilepsie-absence	36
8. Pronostic cognitif	37
9. Hypothèses concernant l'altération de la conscience	38
10. Traitements pharmacologiques	40
11. Autres syndromes épileptiques avec crises d'absences.....	41
III. Les modèles animaux des épilepsies-absences	42
1. Propriétés générales des modèles animaux.....	42
2. Les modèles pharmacologiques félins.....	42
a. Le chat pénicilline	42

b.	Le chat kétamine-xylazine	44
c.	Critique des modèles félines.....	46
3.	Les modèles génétiques.....	46
a.	Les modèles génétiques murins	46
b.	Les modèles génétiques rongeurs.....	47
i.	Le rats WAG/Rij.....	47
ii.	Le GAERS	50
4.	Pharmacologie des DPO chez les GAERS.....	52
5.	Etudes génétiques chez les GAERS	54
6.	Activités corticales et thalamiques chez les GAERS	54
IV.	Le foyer cortical des GAERS et ses neurones ictogéniques.....	55
1.	Identification	56
2.	Un foyer nécessaire et suffisant	57
3.	Activités neuronales	58
a.	Propriétés générales.....	59
b.	Spécificités des neurones ictogéniques.....	59
i.	Activités inter-ictales.....	59
ii.	Activités ictales.....	61
4.	Morphologie des neurones ictogéniques	63
5.	Altérations fonctionnelles et moléculaires.....	63
6.	Rôle du thalamus.....	65
a.	Activités des neurones thalamiques en relation avec le foyer cortical	65
b.	Altérations moléculaires dans le thalamus.....	66
V.	Les réseaux thalamo-corticaux.....	67
1.	Structure et fonction du thalamus	67
2.	Propriétés des neurones thalamiques de relai.....	69
3.	Projections thalamo-corticales.....	70
a.	Les noyaux relais.....	70
b.	Les noyaux associatifs.....	70
c.	Les noyaux non spécifiques.....	71
d.	Le nRT	71
VI.	Le réseau cortico-thalamique	71
1.	Structure et fonction des cortex	71
2.	Propriétés électrophysiologiques des neurones corticaux.....	72
3.	Projections cortico-corticales	74
4.	Projections cortico-thalamiques.....	75
VII.	Le système des vibrisses	76
1.	Présentation générale	76
2.	Les vibrisses.....	77
3.	Des vibrisses au cortex.....	77
C. BUTS ET STRATEGIE.....		79
I.	Epilepsie et conscience : le GAERS comme modèle de choix.....	79
II.	Objectifs spécifiques et nouveauté de l'étude	80

iii.	Stratégie expérimentale	83
D. MATERIEL ET METHODES		84
I.	Enregistrements	84
1.	Chirurgie et préparation expérimentale	84
2.	Enregistrements ECoG	84
3.	Enregistrements extracellulaires	85
4.	Enregistrements intracellulaires	85
5.	Injection des neurones et coloration immunohistochimique	86
6.	Stimulation des vibrisses	87
II.	Analyses	87
1.	Quantification de l'excitabilité membranaire	87
2.	Evaluation de la fonction de transfert neuronal : relation $F-I$	88
3.	Régularité de décharge	88
4.	Caractérisation des différentes périodes d'activité ECoG et catégorisation des réponses sensorielles	89
5.	Analyse des réponses sensorielles aux stimulations des vibrisses	89
E. ARTICLES ET RESULTATS EXPERIMENTAUX		90
I.	Article 1 : <i>Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absence seizures in a rat genetic model</i>	90
1.	Rappels sur le contexte de la recherche	90
2.	Principaux résultats	92
3.	Editorial : <i>Sensory processing during absence seizures</i>	95
4.	Article: <i>Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absence seizures in a rat genetic model</i>	98
II.	Article 2 en préparation : Intégration sensorielle dans les réseaux cortico-thalamiques au cours des crises d'absences dans un modèle génétique de rongeur	118
1.	Rappels sur le contexte de la recherche	118
2.	Matériel et méthodes	119
3.	Principaux résultats	121
a.	Impact des DPO sur les réponses des neurones ictogéniques aux stimulations des vibrisses	121
b.	Modulation dynamique des réponses sensorielles corticales au cours du cycle épileptique	124
c.	Modulation dynamique des réponses sensorielles thalamiques au cours du cycle épileptique	128
F. DISCUSSION		132
I.	Résumé des principaux résultats	132
II.	Des données en faveur d'un foyer cortical chez les GAERS	133

III.	Impact des crises d'absences sur l'excitabilité des neurones ictogéniques	135
IV.	Impact des crises d'absences sur le traitement sensoriel.....	137
V.	Limites et perspectives	138
	1. Limites de la préparation <i>in vivo</i>	143
	2. Etude des dynamiques internes des DPO	143
	3. Etude à plus large échelle dans le système des vibrisses	143
	4. Approche à l'échelle cérébrale globale	144
	5. Etude chez l'humain	144
	6. Autres épilepsies	145
	G. ANNEXES.....	145
I.	<i>Article : Building up of absence seizures in the somatosensory cortex: from network to cellular epileptogenic processes</i>	145
	H. REFERENCES	163

Résumé

Une crise d'épilepsie résulte de la survenue soudaine d'une activité neuronale anormalement intense, rythmique et synchrone dans une région plus ou moins étendue du système nerveux central. Les conséquences cliniques sont extrêmement variées, selon les zones cérébrales affectées et la durée des crises, allant de brèves secousses musculaires très focalisées à une perte de conscience complète, éventuellement associée à des convulsions. Dans le cas de l'épilepsie-absence, une épilepsie généralisée d'origine génétique survenant fréquemment chez les enfants, les crises s'expriment essentiellement par une suspension des processus conscients dans toutes leurs dimensions, y compris une interruption des perceptions conscientes. Ces symptômes sont corrélés à des décharges de *pointes-ondes* (DPO) dans les électroencéphalogrammes (EEG) bilatéraux. Les mécanismes physiopathologiques des altérations de conscience au cours des crises d'épilepsie-absence restent l'objet de débats intenses, opposant des altérations fonctionnelles à grande échelle à un filtrage des informations exogènes par les oscillations épileptiques. Au cours de mes recherches, j'ai exploré l'hypothèse alternative, mais non exclusive, d'un dysfonctionnement dynamique dans les processus d'intégration sensorielle au sein des circuits thalamo-corticaux primaires. Des explorations électrophysiologiques fines n'étant pas réalisables chez les enfants épileptiques, j'ai utilisé un modèle génétique présentant une forte homologie avec la pathologie humaine : le *Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg* (GAERS).

En combinant *in vivo* des enregistrements électrocorticographiques (ECoG) et intracellulaires dans le cortex somatosensoriel primaire (S1), précédemment identifié comme le site de déclenchement des crises, j'ai d'abord analysé les propriétés intégratives et d'excitabilité des neurones pyramidaux du cortex S1, durant et en dehors des crises, et je les ai comparées à celles des neurones homologues chez des rats non épileptiques. J'ai montré que ces neurones présentent lors des périodes inter-ictales une excitabilité accrue, s'exprimant par une augmentation de la décharge des neurones en réponse à des stimulations excitatrices d'intensité croissante ainsi qu'une tendance exacerbée à se re-polariser suite à une hyperpolarisation de grande amplitude, suggérant un accroissement du courant cationique *h*. Au cours des crises, les mêmes neurones montraient des changements différentiels dans leur excitabilité membranaire selon la composante *pointe* ou *onde* dans l'ECoG correspondant. La *pointe* était associée à une augmentation de décharge évoquée par un courant dépolarisant et à une diminution de résistance membranaire. Symétriquement, l'*onde* était corrélée avec une augmentation de résistance membranaire et une diminution d'excitabilité. Ces changements dynamiques des propriétés intégratives neuronales suggèrent une instabilité des réponses corticales lors du cycle *pointe-onde* pouvant « brouiller » les signaux sensoriels lors des crises. J'ai testé cette hypothèse en analysant les réponses des neurones corticaux, et des neurones thalamo-corticaux correspondants, à des stimulations appliquées sur les vibrisses controlatérales. Bien que les réponses synaptiques induites dans les neurones du cortex S1 par les stimulations sensorielles n'étaient pas globalement altérées lors des crises, elles étaient plus amples et plus efficaces pour déclencher des potentiels d'action pendant l'*onde* comparé à la composante *pointe*. Cet accroissement relatif de la réponse neuronale lors de l'onde ECoG résulte probablement de l'accroissement de résistance membranaire précédemment décrit, d'une augmentation de la force électromotrice des courants synaptiques glutamatergiques et de la forte probabilité de décharge des neurones thalamiques correspondants lors de cette composante.

Mes recherches doctorales indiquent qu'un traitement des entrées sensorielles persiste dans les circuits thalamo-corticaux lors des DPO, mais que l'alternance des composantes *pointes* et *ondes* introduisent une forte instabilité des réponses neuronales pendant la crise. Ce nouveau mécanisme physiopathologique pourrait participer à l'incapacité de générer une perception consciente, stable et efficace, lors d'une crise généralisée.

Summary

An epileptic seizure results from the sudden occurrence of abnormally intense, rhythmic and synchronous neuronal activity, in a more or less broad region of the central nervous system. The clinical consequences are extremely varied, depending on the affected brain areas and the duration of the seizures, ranging from brief localized muscular twitches to a complete loss of consciousness, potentially associated with convulsions. Absence epilepsy is a generalised epilepsy of genetic origin, mostly affecting children of school age. During absence attacks, children experience a suspension of conscious processes in all their dimensions, including an interruption of conscious perceptions. These symptoms are correlated with bilateral *spike-wave* discharges (SWD) in the electroencephalograms (EEGs). The pathophysiological mechanisms underlying the alteration of consciousness during absences remain the subject of an intense debate, opposing functional dysfunctions on large scale neural networks to a filtering of sensory information by epileptic oscillations. During my PhD research, I explored the alternative, but not exclusive, hypothesis of a dynamic dysfunction in sensory integration processes within primary thalamo-cortical circuits. Given that multi-scale electrophysiological investigations cannot be conducted in epileptic children, I used a genetic model presenting a strong homology with the human pathology: the Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg (GAERS).

By combining *in vivo* electrocorticographic (ECoG) and intracellular recordings in the primary somatosensory cortex (S1), previously identified as the site of seizure initiation, I first analysed the integrative properties and excitability of S1 pyramidal neurons, during and in between seizures, and compared them to those measured in homologous neurons from non-epileptic rats. I showed that these neurons exhibit a higher excitability during inter-ictal periods, expressed as an increased firing response to excitatory stimuli of increasing intensity, as well as an exacerbated tendency to depolarize following a hyperpolarization of large amplitude, suggesting an augmented cationic current *h*. During seizures, the same neurons showed specific changes in their membrane excitability, according to the *spike* or *wave* component in the corresponding ECoG. The *spike* component was associated with increased current-evoked firing and a decreased membrane resistance. Conversely, the *wave* was correlated with an increase in membrane resistance and a decrease in excitability. These dynamic changes in neuronal integrative properties suggest an instability of cortical responses during the *spike-wave* epileptic cycle that could "scramble" sensory signals during seizures. I tested this hypothesis by analysing the sensory responses of cortical neurons, and corresponding thalamo-cortical neurons, to stimulations applied to contralateral whiskers. Although synaptic responses induced in S1 neurons by sensory stimuli were not globally impaired during seizures, they were larger and more likely to trigger action potentials during *wave* compared to the *spike* component. This relative increase in neuronal responsiveness during the ECoG *wave* probably results from the previously described increase in membrane resistance, an augmented driving force of glutamatergic synaptic currents and a higher probability of action potentials discharge in the corresponding thalamic neurons during this component.

My doctoral research indicates that sensory inputs processing persists in the thalamo-cortical circuits during SWDs, but that the alternation of the *spike* and *wave* components introduces a strong instability of the neuronal responses during seizures. This new pathophysiological mechanism could contribute to the inability to generate a conscious, stable and effective, perception during generalised epileptic seizures.

Abréviations

AHP : *after hyperpolarizing potential*

AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxalone propionate

ARNm : acide ribonucléotidique messenger

C_m : capacité membranaire

CV, CV2 : coefficient de variation

DPO : décharge de pointes-ondes

ECoG : électrocorticogramme

EEG : électroencéphalogramme

ETX : ethosuximide

FGPE : *feline penicillin generalised epilepsy*

F-I : fonction de transfert neuronal

GABA : acide γ -aminobutyrique

GABA_A : GABAergique de type A

GABA_B : GABAergique de type B

GAERS : genetic absence epilepsy rat from strasbourg

IB : *intrinsic bursting*

I_h : courant cationique non spécifique activé par hyperpolarisation

ILAE : *international league against epilepsy*

i.m. : intra-musculaire

i.p. : intra-péritonéal

IRM : imagerie par résonance magnétique

IRMf : imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

I_T : courant calcique de type T à bas seuil

I-V : relation courant - voltage

LFP : potentiels de champs locaux

M1 : cortex moteur primaire

MEG : magnétoencéphalographie

NEC : *non epileptic control*

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

nRT : noyau réticulé du thalamus

PA : potentiel d'action

PB : *phosphate buffer*

PBS : *saline phosphate buffer*

PE : potentiel évoqué cortical

POm : noyau postéro médial du thalamus

PPSd : potentiel post-synaptique dépolarisant

PPSE : potentiel post-synaptique exciteur

PPSI : potentiel post-synaptique inhibiteur

PtA : cortex pariétal associatif

Rm : résistance membranaire

RS : *regular spiking*

S1 : cortex somatosensoriel primaire

S2 : cortex somatosensoriel secondaire

sem : erreur standard moyenne

TTX : tétrodotoxine

Vm : potentiel de membrane

VPM : noyau ventro postéro-médial du thalamus

WAG/Rij : wistar albino glaxo from Rijswijk

Tm : constante de temps membranaire

A. Introduction générale

I. Cerveau et codage de l'information

La capacité de notre cerveau à réaliser des représentations cohérentes, conscientes et autocentrées de l'environnement et du corps est une de ses fonctions les plus complexes et nécessaires. Nécessaire, car elle permet de comprendre et d'interagir de manière pertinente avec notre monde, qu'il s'agisse des besoins les plus élémentaires, comme assurer la survie par des processus homéostatiques ou sensori-moteurs, ou de besoins plus élaborés, comme de répondre aux interactions sociales, apprécier un coucher de soleil, une fleur, ou même de réaliser une expérience d'électrophysiologie. Complexe, aussi, car elle requiert la coordination appropriée de nombreuses régions cérébrales connectées par des circuits synaptiques à longue distance. Voilà donc le type de processus cérébral qui est transitoirement interrompu lors des crises d'épilepsie généralisées (Blumenfeld, 2012 ; McPherson et coll., 2012), notamment au cours des crises d'absences (Sadleir et coll., 2006), conduisant irrémédiablement à une interruption des activités conscientes dans toutes leurs dimensions, y compris les perceptions sensorielles conscientes.

Un des défis majeurs des neurosciences et de la neurologie est donc de comprendre les mécanismes d'intégration et de traitement des informations par le cerveau, jusqu'à l'émergence d'une perception consciente, mais aussi d'identifier les « conditions cérébrales » qui autorisent et permettent la complétion de ces mécanismes neurophysiologiques. Le traitement que notre cerveau réalise d'un stimulus sensoriel particulier dépend des propriétés psychophysiques du stimulus lui-même et des modalités sensorielles mises en jeu qui vont générer des signaux électrophysiologiques spécifiques (Wallace et coll., 2004 ; Baum et coll., 2015). Il dépend aussi, et de manière déterminante, des activités électriques cérébrales internes (déjà existantes au moment du stimulus et essentiellement endogènes) présentes à toutes les échelles, des neurones individuels aux larges territoires cérébraux (sur l'ensemble des circuits sensoriels) (Llinas et Paré, 1991 ; Destexhe, 2011). C'est dans ce bruit de fond électrique cérébral, permanent mais variable entre, et lors, des différents états de vigilance, que le stimulus propagé va « s'incorporer » et être éventuellement « compris ». Ma thèse tend à montrer que ce bruit de fond cérébral lors des crises d'absences, *i.e.* de larges oscillations synchrones dans les circuits cortico-thalamo-corticaux, n'empêche pas la propagation et l'intégration du signal

sensoriel mais « brouille », au niveau thalamique et cortical, la structuration requise des activités neuronales pour que ce signal puisse accéder à la conscience. Les oscillations épileptiques annulent et remplacent les patrons électrophysiologiques cérébraux, autorisant à la fois l'établissement d'un état conscient, et sous-tendant les perceptions conscientes qui peuvent en émerger.

Examinons d'abord brièvement comment se réalise le codage de l'information dans le cerveau. Le cerveau humain possède à l'âge adulte environ 100 milliards de neurones, chacun connecté en moyenne par 10 000 synapses, 30 000 en ce qui concerne les neurones pyramidaux du néocortex (DeFelipe, 2011). Les neurones présentent entre eux une grande diversité, que ce soit dans leur morphologie, leurs propriétés fonctionnelles d'intégration (excitabilité et propriétés dites de « câble »), (Cembrowski et Menon, 2018), leur appariement en canaux ioniques distribués diversement sur les arbres somato-dendritiques, (Child et Bennaroch, 2014) ou dans leurs connexions synaptiques excitatrices, inhibitrices et neuromodulatrices (Radnikow et Feldmeyer, 2018). Cette diversité des neurones, et de leur connectivité, est représentée par une compartimentation partielle du cerveau en régions anatomiques (aires corticales, noyaux thalamiques, secteurs striataux, régions cérébelleuses...), plus ou moins spécialisées fonctionnellement, et contenant des groupes de neurones ayant des propriétés morphologiques, d'excitabilité et de connectivités synaptiques similaires (par exemples, les neurones pyramidaux de la couche 5 ou les neurones thalamiques de relai), mais pas identiques. D'un point de vue du codage, et de manière simplifiée, chaque neurone possède sa propre *fonction de transfert* (due à ses propriétés d'intégration et d'excitabilité intrinsèque) convertissant les signaux synaptiques entrants (de type analogiques) en sorties numériques : la genèse, ou pas, d'un événement discret chaque milliseconde (pour l'intervalle de temps le plus court): le potentiel d'action (PA). Se basant sur la théorie de Shannon de l'information (Dimitrov et coll., 2011), chaque neurone possède donc deux bits : 0 (pas de PA) et 1 (un PA), soit 2^n combinaisons possibles, n étant le nombre d'états total dans une condition donnée : en 1 ms les différents états (combinaisons) possibles pour un neurone sont au nombre de 2^2 : 00, 11, 10, 01. En une seconde, le nombre de combinaisons possibles pour un seul neurone monte à 2^{1000} et pour l'ensemble du cerveau à $100\ 000\ 000\ 000 \times 2^{1000}$, et ainsi de suite. Ce calcul simple indique l'extraordinaire potentialité (théorique) informative du cerveau,

mais seules certaines combinaisons, structurées aussi dans l'espace cérébral par les différentes régions et neurones engagés dans un processus commun, vont avoir du « sens » d'un point de vue neurophysiologique et cognitif. La complexité supplémentaire, qui fait la beauté du cerveau et la frustration des chercheurs, est l'intrication des propriétés cellulaires et de réseau dans le codage des informations cérébrales. Chacun des « 1 » et « 0 » des neurones individuels est déterminé par les propriétés électrophysiologiques propres du neurone (structurales et son appariement en canaux ioniques non-synaptiques), et par le flot d'information synaptique intégré par le neurone – constituant le « bruit synaptique » (Destexhe et Paré, 1999 ; Dimitrov et coll., 2011) – issu de l'ensemble des neurones présynaptiques. Réciproquement, chaque « 1 » des neurones individuels va participer à l'activité synaptique des neurones cibles. Cette présentation schématique du fonctionnement cérébral constitue la trame conceptuelle sur laquelle s'appuient mes recherches doctorales : les patrons d'activités synaptiques épileptiques dans les neurones du système thalamo-cortical (versant endogène du cerveau malade en crise) vont interférer avec les entrées sensorielles (versant exogène), brouillant ainsi le codage en « 0 » et « 1 » des neurones (en l'occurrence thalamiques et corticaux) permettant une représentation consciente. Ainsi, ma thèse s'inscrit dans une sorte de « dialectique » entre la crise, endogène, structurant l'activité de fond du cerveau, et le stimulus, exogène, structurant l'information entrante. L'hypothèse que je proposerai est que la crise généralisée n'interrompt, ni ne filtre le processus d'intégration sensorielle, mais impose un état cérébral qui déstructure la représentation neuronale adéquate, pour une perception consciente du stimulus *au cours du temps*.

II. Epilepsie et conscience

Les crises d'épilepsie produisent des signes cliniques en relation avec la, ou les, région(s) cérébrale(s) impliquée(s) lors de la crise. Les plus spectaculaires sont les troubles moteurs, par exemple lors des crises généralisées de type tonico-cloniques ou partielles de type Bravais-Jacksoniennes, avec une marche descendante ou montante des activités paroxystiques au sein de l'*homonculus* moteur (Jackson, 1931). Ces signes peuvent aussi engager les sphères sensorielles (hallucinations), mnésiques (rappels « vrais » ou sentiment de familiarité inapproprié) et mêmes affectivo-émotionnelles (« états de rêve », « pensées forcées », euphorie ou tristesse...) (Bartolomei et coll., 2002 ; Asheim Hansen et Brodtkorb, 2003 ; Gavaret

et coll., 2005). Le trouble de la conscience associé aux crises que j'ai étudiées, est plus radical et global : une interruption de la conscience dans toutes ses dimensions, combinant un effondrement de l'état de vigilance et du contenu subjectif de la pensée, incluant les perceptions sensorielles conscientes. Ce trouble survient toujours lors des crises généralisées (McPherson et coll., 2012). Mon « modèle épileptique » a été la crise d'absence. Elle survient au cours de diverses maladies épileptiques de l'enfant et l'adolescent (voir Introduction, section II) et s'exprime d'un point de vue électro-clinique, par des décharges généralisées de *pointe-ondes* (DPO) dans l'électroencéphalogramme (EEG) concomitantes à un arrêt des processus sensori-moteurs en cours et par une « rupture de contact » entre la personne en crise et son environnement, d'où la qualification métaphorique d'« absence » (Mirsky et Van Buren, 1965 ; Blumenfeld, 2005 ; Guo et coll., 2016). Sa sémiologie qui s'exprime quasi-exclusivement par une suspension transitoire de la conscience, intercalée entre deux états conscients apparemment « normaux », en fait un phénomène de choix pour l'étude (par défaut) des mécanismes de la conscience et, surtout, pour l'étude des conséquences spécifiques et fondamentales des décharges épileptiques sur les processus neurophysiologiques de la conscience. De telles études chez les enfants épileptiques, qui nécessiteraient le développement d'approches expérimentales invasives, notamment électro-physiologiques multi-échelles, sont rigoureusement impossibles pour des raisons éthiques et techniques. Seules des préparations expérimentales autorisant des enregistrements EEG et intracellulaires couplés *in vivo*, condition requise pour la survenue de crises « naturelles », sont capables d'aborder de manière efficace ces questions. L'existence de modèles génétiques de l'épilepsie-absence, notamment le Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg (GAERS) (voir Introduction, section III. 3. b. ii.) qui présente une très forte homologie avec la pathologie humaine, constitue donc un modèle exceptionnel (Depaulis et coll., 2015). J'ai donc utilisé le GAERS afin d'explorer comment les DPO, associées aux absences, perturbent les propriétés d'excitabilité et d'intégration des neurones corticaux et interfèrent avec l'intégration, la propagation et le codage des informations dans les circuits thalamo-corticaux correspondants.

III. Une approche dynamique

L'altération de la conscience lors des absences est corrélée à la survenue des DPO, mais les relations mécanistiques causales entre les activités paroxystiques rythmiques des neurones et la suspension des perceptions conscientes restaient, quant à elle, à définir. Les travaux effectués en 2013 dans le laboratoire (Chipaux et coll., 2013) ont mis en évidence une persistance des potentiels évoqués corticaux lors des DPO, en réponse à des stimulations visuelles chez l'humain et à des stimulations somesthésiques chez le GAERS. Ces travaux ont conduit à réfuter l'hypothèse selon laquelle l'interruption des perceptions conscientes lors des crises d'absences résulterait d'un filtrage opéré par les noyaux thalamiques (Kostopoulos, 2001 ; Llinas et Steriade, 2006), privant ainsi le cortex des informations sensorielles transitant par le thalamus. Cette étude a donc permis d'éliminer cette hypothèse mais une question persistait : quels sont les mécanismes thalamo-corticaux qui empêchent l'émergence d'une sensation consciente lors des DPO ?

Une des spécificités de mon approche pour aborder cette question a été de changer le paradigme d'analyse des DPO, généralement considérées comme une entité neurophysiologique globale et uniforme (la crise) et devant être comparées à une autre entité globale : l'activité hors crise, ou inter-ictale. J'ai considéré les DPO comme des phénomènes intrinsèquement variables, cycliques et dynamiques, comme la répétition alternée de composantes électrophysiologiques distinctes d'un point de vue morphologique et mécanistique : les *ondes* et les *pointes*. Cette approche « dynamique » de la crise a été préalablement utilisée avec succès par Amzica, Neckelmann et Steriade dans des modèles pharmacologiques félines d'épilepsie (Steriade et Amzica, 1994 ; Neckelmann et coll., 2000). Elle m'a paru cruciale, car de nombreuses études préalables, incluant celles de mon laboratoire, avaient décrit des variations drastiques du comportement des neurones (corticaux et thalamiques) au cours de la crise, alternant de manière rythmique des profils complexes de potentiels membranaires et de décharges de potentiels d'action (Steriade et Amzica, 1994 ; Neckelmann et coll., 1998 ; Steriade et coll., 1998 ; Charpier et coll., 1999 ; Cissé et coll., 2004 ; Polack et coll., 2007). Mon hypothèse centrale a donc été que les changements cycliques dans l'activité des neurones au cours de la crise, pouvaient *en soi*, être une source de « brouillage » des informations entrantes, lequel serait

responsable, au moins partiellement, d'un empêchement cortical de la production d'expériences conscientes.

Ma thèse s'inscrit donc dans la continuité des recherches du laboratoire, mais elle fournit aussi un nouveau paradigme pour l'étude physiopathologique des DPO et de leurs impacts sur le traitement sensoriel. Pour réaliser mon étude, j'ai bénéficié de la découverte préalable chez le GAERS d'une région corticale, et d'une sous population de neurones pyramidaux, à l'origine des DPO : la région faciale du cortex somatosensoriel primaire (S1) et ses neurones pyramidaux des couches profondes (Polack et coll., 2007 ; Polack et Charpier, 2009). Cette région correspond donc, selon la caractérisation électro-clinique classique des épilepsies, à un « foyer cortical », ou « zone épileptogénique », et les neurones pyramidaux profonds, à des neurones « ictogéniques ». Ces neurones avaient un double avantage pour mon étude : ce sont à la fois les neurones déclencheurs des crises – donc possédant les propriétés épilepto- et ictogéniques – et les neurones principaux d'une aire sensorielle primaire cruciale dans mon modèle rongeur, celle qui traite les informations issues des vibrisses (Diamond et coll., 2008). Les neurones corticaux ictogéniques constituaient donc un modèle unique, et le plus approprié pour étudier les conséquences fonctionnelles des crises sur le traitement des informations sensorielles dans le cortex cérébral. La connaissance détaillée des circuits thalamo-corticaux en relation avec le foyer cortical et les neurones ictogéniques m'a également permis d'étudier au niveau cellulaire la participation du thalamus au « brouillage cortical ». Que ce soit au niveau cortical ou thalamique, mon approche a été de disséquer séparément les effets spécifiques et distincts des composantes *ondes* et *pointes* de la crise sur l'excitabilité et l'intégration sensorielle des neurones, de les comparer entre eux et à deux types de situations contrôle : l'activité hors crise chez les animaux épileptiques et normale chez les animaux non-épileptiques. La question était donc : comment des activités cycliques de type épileptique (alternance ici de *pointes* et d'*ondes*) interfèrent-elles avec le traitement sensoriel dans les circuits thalamo-corticaux et leur capacité à générer des expériences conscientes ? Cette question a été la problématique centrale de ma thèse.

Pendant mes recherches doctorales, j'ai eu l'opportunité de participer à l'étude *in vivo* des processus épileptogéniques chez les rats GAERS, notamment concernant les modifications des propriétés d'excitabilité des neurones ictogéniques en devenir.

Cette étude, réalisée en collaboration avec le laboratoire d'Antoine Depaulis (Université Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences – GIN, Inserm U 836), m'a permis de participer à l'élucidation du développement post-natal des propriétés neuronales et de réseau responsables des perturbations dans l'intégration sensorielle, propriétés que j'ai mises en évidence dans mon étude chez les GAERS adultes. Mon travail sur l'épileptogenèse du foyer cortical est inclus dans l'article fourni dans les Annexes.

B. Introduction

I. Les épilepsies

I. 1. Définition et propriétés générales

D'après la ligue internationale contre l'épilepsie (ILAE), une crise d'épilepsie est définie comme une période transitoire pendant laquelle des troubles d'origine neurologique sont causés par une activité neuronale excessivement élevée et/ou synchrone, appelée aussi « paroxystique » (Fisher et coll., 2017). Un individu est dit « épileptique » si il est victime d'au moins deux crises non provoquées, séparées d'au moins 24 heures (Fisher et Leppik, 2008 ; Fisher et coll, 2014). Il apparaît donc qu'il existe moins d'épileptiques que de personnes ayant déjà subi une crise d'épilepsie, car certaines crises peuvent survenir de manière isolée, extrêmement sporadique, lors de conditions exceptionnelles, comme la prise de stupéfiants ou traumatismes crâniens (Voss et coll., 2008 ; Leach et coll., 2012). Le cerveau est un ensemble très complexe de réseaux neuronaux qui peuvent présenter différentes configurations possibles d'activités, dont certaines mènent à un état transitoire d'oscillations pathologiques appelées crises d'épilepsies. Ces oscillations peuvent par exemple être favorisées par des stimuli sensoriels (son, lumière) répétés à certaines fréquences ou encore suite à un stress trop important (Kasteleijn-Nolst Trenité, 2012 ; Martins da Silva et Leal, 2017 ; Lang et coll., 2018). Mais, la susceptibilité d'une personne d'avoir une crise pour un certain type de stimuli ne la catégorise pas nécessairement à risque d'en avoir spontanément (Fisher et Leppik, 2008). Le critère de répétition rejoint la notion qu'un ensemble de conditions doivent être réunies à un moment donné pour mener à une crise d'épilepsie, mais que la probabilité de revivre ces mêmes conditions est négligeable chez les individus sains (Grant et coll., 2016). D'où également la prise en compte d'un délai minimal entre les crises (24 h), afin que le cerveau puisse retourner à son état considéré comme normal, y compris en passant par une période de sommeil. Le sommeil correspond à une activité relativement synchrone dans certaines régions du cerveau et qui est nécessaire au bon fonctionnement cérébral et physiologique plus généralement (Buzsaki et Draguhn, 2004). La principale différence qui distingue des activités et oscillations normales, de pathologiques, tient d'après certains, d'un défaut dans les mécanismes de rétrocontrôle majoritairement inhibiteurs (Tatti et coll., 2017).

L'épilepsie n'est pas spécifique aux humains, elle existe spontanément chez des animaux de compagnie tels que les chiens et chats. La prévalence de syndromes épileptiques chez les animaux sauvages est évidemment très difficile à étudier mais tout indique que d'autres espèces peuvent être sujettes à des syndromes épileptiques de manière naturelle, et d'origine génétique ou acquise (Thomas, 2000 ; Ramsdell, 2010 ; Heller, 2018).

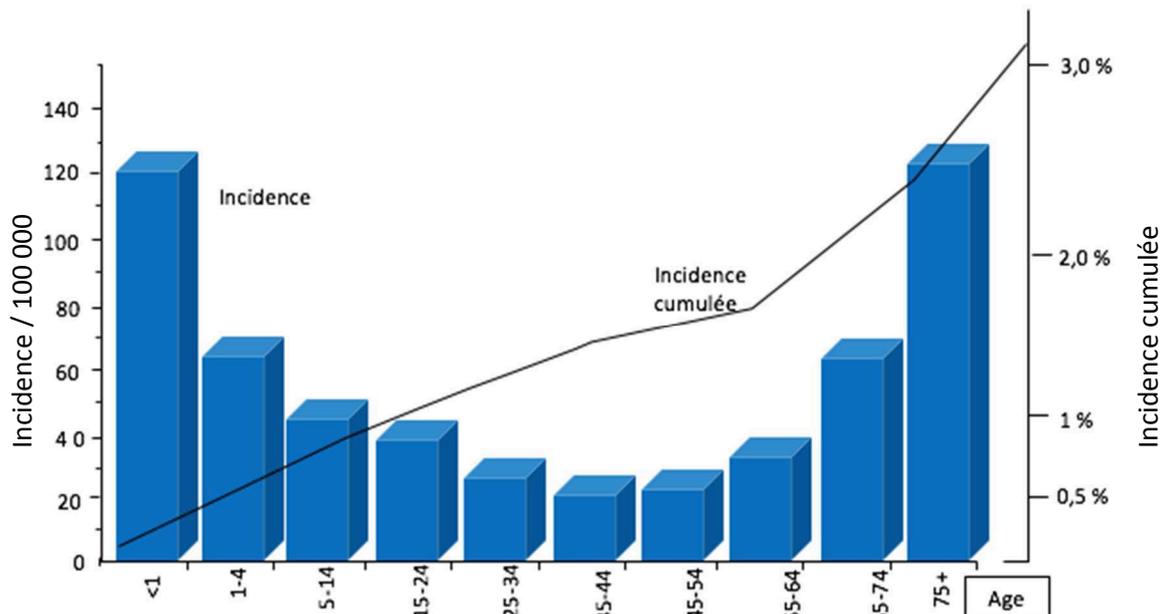


Figure 1 : Incidence des épilepsies en fonction de l'âge et cumul de l'incidence

Etude réalisée à partir de la population de Rochester, MN, Etats-Unis, de 1935 à 1984. Noter l'incidence spécifique selon les différentes tranches d'âges, les individus en bas âge et d'âge avancé étant plus susceptibles de présenter des syndromes épileptiques. D'après Hauser et coll., 1991.

I. 2. Epidémiologie

Décrite dès l'an 4000 avant J.-C., la maladie épileptique est actuellement la troisième affection neurologique la plus répandue derrière la migraine et la démence (Chaudhary et coll., 2011). Elle peut toucher les personnes de tout âge mais présente une plus forte prévalence chez les enfants, les adolescents et les personnes d'un âge avancé (Behr et coll., 2016 ; Devinsky et coll., 2018). L'incidence est en effet plus forte chez les enfants, avec des causes majoritairement génétiques, et chez les personnes âgées avec des causes de dégénérescence neuronale, accident vasculaire cérébral (AVC) ou encore des cancers (figure 1). Environ 60 millions de personnes dans le monde sont actuellement épileptiques et il est estimé que 80 % des personnes atteintes vivent dans des pays en voie de développement (Devinsky et coll., 2018). La stigmatisation

et discrimination des patients sont toujours présentes dans la plupart des sociétés et rendent difficile l'accès aux soins (Ngugi et coll., 2011). La prévalence au sein de la population française varie entre 0,5 et 0,8 %, parmi lesquels 50 % des épilepsies apparaissent avant l'âge de 10 ans.

I. 3. Aspects cliniques généraux

Lorsqu'un dérèglement de l'activité neuronale se produit, comme dans le cas des épilepsies, celui-ci peut entraîner des perturbations fonctionnelles en relation avec la, ou les régions cérébrales touchées par les paroxysmes épileptiques entraînant, par conséquent, des symptômes variés (Scheffer et coll., 2017 ; Devinsky et coll., 2018). Il existe de ce point de vue deux grands types de crises : les crises focales, au cours desquelles les paroxysmes restent restreints à une zone cérébrale plus ou moins circonscrite, et les crises généralisées, mettant en jeu les deux hémisphères cérébraux (Italiano et coll., 2014). Les crises d'épilepsie peuvent également secondairement se généraliser ou rester focales. Dans ce dernier cas, les symptômes qu'elles produisent varient en fonction des propriétés fonctionnelles des zones affectées. Les crises peuvent se manifester de façon très subtile, par un ressenti émotionnel ou sensoriel, par une modification légère du comportement, une altération des capacités cognitives, ou encore par des troubles moteurs très localisés (Obeso et coll., 1985). Certains signes cliniques d'expression ténue sont longtemps passés inaperçus; les troubles moteurs et pertes de conscience étaient les principales sources d'appréciation des événements pathologiques transitoires, (Jackson, 1931 ; Monaco et coll., 2011 ; Seri et coll., 2011). Avant la découverte de l'EEG humain, les examens histologiques post-mortem étaient le seul moyen d'étudier de possibles causes lésionnelles cérébrales. L'invention et l'utilisation de l'EEG en clinique humaine a permis une caractérisation électro-clinique des syndromes épileptiques (première crise épi-abs enregistrée). L'épileptologie n'est alors plus simplement l'étude des symptômes détectables mais c'est également celle des signaux électriques anormaux émanant du cerveau lors des crises (Smith et coll., 2005 ; Hirfanoglu et coll., 2007 ; Chauvel et McGonigal, 2014). Les activités paroxystiques peuvent être de fréquence, de répartition et d'amplitudes différentes. Une crise focale a une faible répartition spatiale, alors qu'une crise généralisée présentera des oscillations pathologiques dans les deux hémisphères. L'amplitude des oscillations est importante, tout particulièrement dans l'identification d'un éventuel foyer pour des crises généralisées, comme dans le cas de l'épilepsie-

absence. L'aspect temporel d'apparition des décharges paroxystiques est également utilisé dans le but de localiser la région initiatrice des crises, et des structures permettant son maintien via des études de causalité (Rodin, 1999). Par ailleurs, des changements peuvent survenir dans les caractéristiques des crises et indiquer une amélioration ou une aggravation de la maladie. Les caractéristiques des fréquences, la répartition spatiale et d'amplitude, un début focalisé, l'éventuelle généralisation et les évolutions de ces critères sont essentiels dans la classification des crises et l'identification des syndromes. Les activités cérébrales des patients épileptiques en plusieurs périodes : l'inter-ictale, qui se situe entre les crises, l'ictale qui est la période présentant une activité paroxystique pleinement développée, la période pré-ictale qui précède immédiatement les crises et la période post-ictale qui suit la crise. Des anomalies EEG peuvent survenir dans les périodes inter-ictales, pré-ictales et post-ictales. Les régions cérébrales possèdent des activités fréquentielles spécifiques et leur perturbation peut indiquer une anomalie épileptique latente, comme pour les *pointes* inter-ictales ou encore les activités hautes et très hautes-fréquences. Les périodes pré-ictales et post-ictales sont d'une définition débattue, car une partie de la communauté professionnelle les considère comme faisant partie intégrante des paroxysmes et comme étant les premières et dernières manifestations cliniques et/ou électro-cliniques. Les auras sont les plus connues des phénomènes pré-ictaux et il en existe une grande diversité, d'une sensation gastrique à des plaisirs extatiques et jusqu'à des hallucinations (Noachtar et Peters, 2009). Les phénomènes post-ictaux peuvent consister en de la fatigue, une obnubilation ou désorientation, une aphasia ou encore une perte de conscience en cas de crises tonico-cloniques par exemple (Surges et coll., 2011). Les caractéristiques anormales électro-cliniques et cliniques en dehors et pendant les crises sont des paramètres importants qui entrent en compte dans le diagnostic (Lüders et coll., 1998 ; Foldvary-Schaefer et Unnwongse, 2011). Les pertes ou altérations de la conscience lors des crises sont d'un intérêt tout particulier pour la caractérisation clinique des crises, mais aussi pour la compréhension des mécanismes neurophysiologiques de la conscience (Blumenfeld et Meador, 2014). Certaines crises n'entraînent aucune altération de la conscience mais d'autres, comme les crises d'absences, se caractérisent au niveau comportemental par une interruption de l'activité en cours et par une perte de contact possiblement associés à des clonies faciales. Les régions affectées et la généralisation des crises sont les facteurs déterminants pour la symptomatologie.

Un aspect longtemps incompris de la maladie épileptique est l'existence de comorbidités. Les troubles de l'attention, psychiatriques, la dépression ou l'autisme sont significativement liés à l'épilepsie (Levisohn, 2007 ; Buckley et Holmes, 2012 ; Kanner, 2017 ; Richard et coll., 2017 ; Bilgiç et coll., 2018 ; Lewis et coll., 2018). L'existence de comorbidités présente un intérêt d'un point de vue physiopathologique car elle suggère un recouvrement des mécanismes pathogéniques, souvent difficiles à comprendre (Brooks-Kayal et coll., 2013). La conjonction de la maladie épileptique et d'autres troubles, psychiatriques par exemple, aggrave le stigmatisation sociale. Bien que la perception du public de la maladie épileptique ait évolué positivement, les handicaps d'ordre professionnel, familial et social sont encore bien réels (de Boer et coll., 2008 ; Mula et Sander, 2016 ; Baker et coll., 2018). Les enfants sont particulièrement touchés en raison de la nécessité d'apprentissage et d'intégration sociale et culturelle qui caractérisent cette partie de la population (Aldenkamp et coll., 1999 ; Bailet et Turk, 2000).

Les patients épileptiques présentent également un risque de mort subite élevé selon les types de syndromes, certains impliquant des troubles cardiaques (Enyi et coll., 2016 ; Nguyen-Michel et coll., 2014). La surmortalité existe bien chez les épileptiques mais tend à décroître du fait d'une meilleure prise en charge et compréhension des risques liés à la survenue des crises pendant les activités quotidiennes. Une meilleure connaissance des différentes crises et des effets comportementaux associés permettent une prévention d'accidents lors des baignades ou autre activité à risque. Les progrès technologiques ont également amené à une évaluation génétique de ce type de pathologie et l'amélioration de notre compréhension et gestion de certains syndromes (Ficker et coll., 1998 ; Ravindran et coll., 2016 ; Enyi et coll., 2016 ; Maguire et coll., 2016 ; Devinsky et coll., 2018 ; Surges et coll., 2018;).

- I. 4. Classifications
- I. 4. a. Classification des crises

Il existe deux classifications lorsqu'on parle d'épilepsie, la première concerne les crises en elles-mêmes. La classification des crises a été la source de débats et de modifications au fur et à mesure des avancées dans les méthodes d'analyses électro-cliniques (Hirfanoglu et coll., 2007 ; Parra et coll., 2001). Avant l'avènement de la médecine moderne, des neurologues ont réalisé, sur la base de leurs observations, qu'il existait différents types de crises et qu'il était nécessaire de les classer (Chaudhary et coll., 2011). C'est le cas notamment du neurologue John Hughlings Jackson (1835 – 1911) qui posa les bases de la classification moderne des épilepsies en 1873, en définissant d'abord une crise d'épilepsie comme « le nom d'une décharge de matière grise, locale, occasionnelle, excessive, rapide et impromptue » (Jackson, 1931). Cette définition peut sembler incomplète, mais il faut mettre en perspective le fait qu'il ne disposait pas, à cette époque, de la possibilité d'effectuer un EEG. Son intuition était basée sur la description des crises par les patients eux-mêmes et sur des phénomènes moteurs et comportementaux qu'il pouvait observer lorsque l'un de ses patients avait une crise devant lui (Jackson, 1931 ; York et Steinberg, 2011). Les aspects électro-cliniques ont permis de préciser et de détailler plus encore les types de crises en fonction de leurs caractéristiques EEG, dont les conséquences ne sont pas nécessairement visibles ou identifiables pour la durée d'une crise. J. H. Jackson a donné son nom aux crises dites « Jacksoniennes », où les premières sensations ou mouvements incontrôlés vont correspondre à la localisation du, ou des foyers épileptiques au sein du cerveau (Eadie, 2009). D'autres types de crises n'ont pas nécessairement de début comportemental évident et l'EEG sera alors d'une grande aide afin d'identifier un foyer ou, au contraire, constater qu'aucun foyer apparent n'est détectable (Smith et coll., 2005 ; Tatum et coll., 2018). Les techniques d'imagerie ont par la suite permis de visualiser des anomalies anatomiques et ainsi de renforcer un diagnostic. Les classifications les plus récentes, qui datent de 2017, sont une synergie entre les caractéristiques cliniques et électro-cliniques (Scheffer et coll., 2017). La classification actuelle des crises (figure 2) débute par la caractérisation du début des décharges paroxystiques : focal, généralisé ou inconnu. Pour les épilepsies focales, l'altération de la conscience doit être évaluée et un début clinique d'ordre moteur (impliquant le tonus ou des clonies) est différencié des débuts d'un autre ordre

(sensoriels, émotionnels, autonomiques, arrêts comportementaux ou troubles cognitifs). Les crises à début focal qui se généralisent secondairement sont également classées parmi les crises focales. Les crises catégorisées comme d'emblée généralisées sont séparées comme présentant des troubles moteurs ou non-moteurs. Les crises généralisées non-motrices sont l'ensemble des crises impliquant des absences, soit les crises d'absences typiques, atypiques, myocloniques et myocloniques des paupières. Il convient de préciser que l'altération de conscience est implicitement incluse et que ce sont les caractéristiques des troubles moteurs liés à la présence de décharges paroxystiques dans les deux hémisphères d'emblée qui vont être catégorisées. La classe des crises à début inconnu est plus restreinte et présente également une sous-catégorisation à partir de la présence de troubles moteurs ou non. Les crises non classées constituent la dernière catégorie, ne correspondant pas aux autres critères ou, pour lesquelles l'information disponible les concernant n'est pas suffisante.

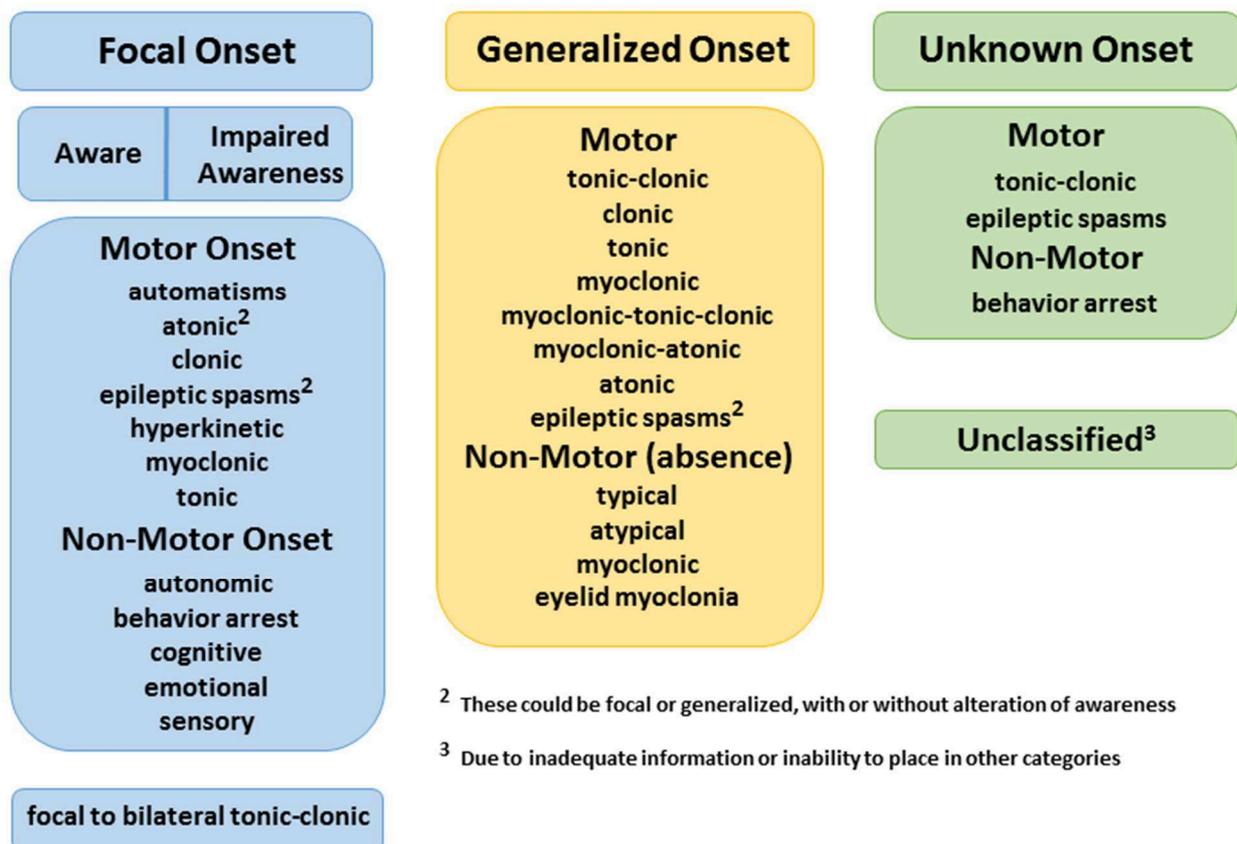


Figure 2 : Classification étendue des crises d'épilepsie selon l'ILAE en 2017

Le type de début de crise (focal ou généralisé) a une place prépondérante dans la classification. Les troubles moteurs ou sensoriels et altérations de la conscience viennent ensuite détailler la catégorisation. D'après Fisher et coll., 2017.

I. 4. b. Classification des épilepsies

Les crises étant la principale manifestation des syndromes épileptiques, leur diversité et spécificité leur vaut une place centrale dans la classification des épilepsies (figure 3). Ce n'est qu'après 1970 qu'une première classification reconnue des épilepsies basée sur la sémiologie et des enregistrements EEG-vidéo voit le jour (Gastaut, 1970). Cette première classification a été l'objet de nombreux débats et échanges entre spécialistes internationaux pendant des années, avant d'être établie par une commission de l'ILAE, composée de médecins et de chercheurs et adoptée lors d'un congrès international à New-York (Scheffer et coll., 2017). La particularité de la classification la plus récente est de donner plus de poids à l'altération ou non de conscience pendant les crises (Mathern et coll., 2015 ; Falter-Walco et coll., 2018). Le premier niveau de classification des épilepsies est le type de crises qui, comme nous l'avons vu précédemment, peut être focal, généralisé, secondairement généralisé et inconnu (de par un manque d'informations fiables ou l'impossibilité de procéder à des examens). On retrouve le même principe de catégorisation dans le second niveau de classification des crises (figure 3), avec la séparation des épilepsies en fonction du type d'épilepsie : focal, généralisé, focal et généralisé combiné, et inconnu. La différence avec la classification des crises est le regroupement des épilepsies qui présentent un début focal, sans distinction du nombre de foyers ni de la présence d'une généralisation secondaire. Les types d'épilepsies combinant les crises focales et généralisées sont également en opposition avec la classification des crises ; un type d'épilepsie pouvant présenter différents types de crises. Le dernier niveau de classification réside dans la catégorisation en syndromes épileptiques, concept qui a émergé en épilepsie dans les années 1980 et qui a pour but de catégoriser des caractéristiques des types de crises, d'EEG et de données d'imagerie qui sont liées (Shorvon et coll., 2016). L'ILAE n'a jamais formellement classifié les syndromes et cette catégorisation en syndromes qui est d'ordre utile mais pas étiologique, s'associe avec des pronostics et conseils de gestion de la pathologie (Scheffer et coll., 2017). On retrouve dans les syndromes la catégorisation selon un début focal ou apparemment généralisé d'emblée, tout comme la perte de tonus ou les mouvements moteurs associés. Parfois difficile à déterminer, l'âge de survenue est un autre paramètre essentiel pour l'établissement d'un diagnostic fiable, les mêmes crises et symptômes cliniques pouvant apparaître à deux âges différents chez les enfants mais

avoir des pronostics très différents (Garzon et coll., 2016). La connaissance ou l'absence de cause est également prise en compte, permettant une séparation multi dimensionnelle. La classification a pour objectif d'aider au diagnostic, de standardiser le lexique pour faciliter les échanges, et de permettre une meilleure intégration de la part des patients et de leur entourage. Les liens entre mécanismes et caractéristiques électro-cliniques sont importants pour les études sur modèles expérimentaux afin de reproduire un mécanisme ou un phénotype particulier. Les traitements utilisés vont différer selon le type de crises, et il existe des liens entre l'efficacité des traitements et la position des épilepsies dans la classification (Rosenow et coll., 2017 ; Devinsky et coll., 2018). Les évolutions dans la classification reflètent les conceptualisations qui les sous-tendent et l'amélioration des connaissances. Les technologies jouent un rôle particulier dans la possibilité d'obtenir plus d'informations, notamment de manière non invasive. Les progrès en recherche nous ont également permis d'avancer dans la compréhension des étiologies et des comorbidités. Les comorbidités sont plus que jamais un centre d'intérêt en épilepsie. Dans beaucoup d'épilepsies ces comorbidités pouvaient passer inaperçues et le lien entre les affections être incertain. Les comorbidités sont majoritairement d'ordre cérébral avec également la possibilité d'avoir des troubles cardiaques dans les cas où l'étiologie implique des mutations pouvant affecter les cellules excitables du cœur (Ravindran et coll., 2016 ; Reilly et coll., 2018 ; Salpekar et Mula, 2018).

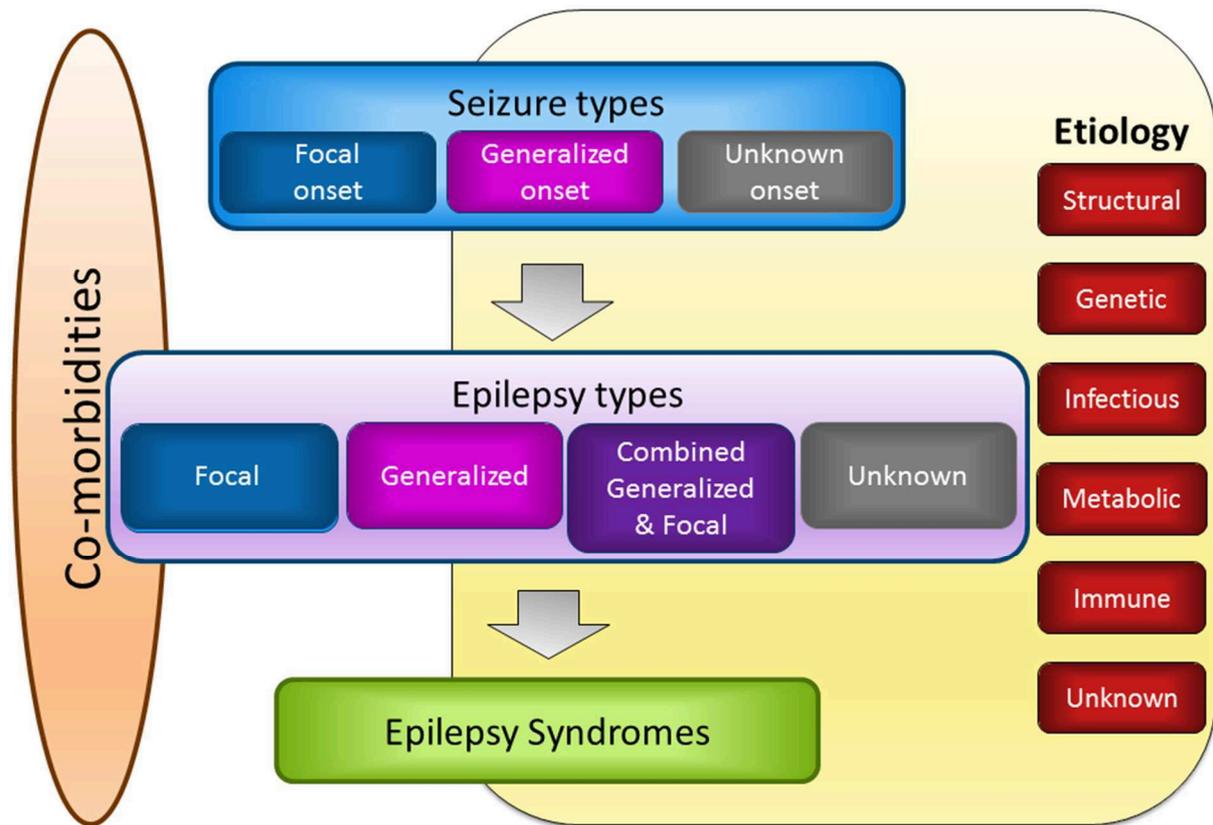


Figure 3 : Schéma récapitulatif de la méthode de détermination et de catégorisation du type d'épilepsie et du syndrome associé
 Sur ce schéma apparaît en central les crises qui doivent elles-mêmes être connues en détails si possible. Se joint à l'établissement du diagnostic l'étiologie et l'éventuelle présence de comorbidités. Ce schéma reflète la complexité du diagnostic, et le besoin de divers éléments et potentiels examens cliniques afin d'obtenir un diagnostic fiable. De Scheffer et coll., 2017.

I. 5. Traitements

L'épilepsie a pendant longtemps été considérée comme une maladie de l'esprit, ou encore un type de folie ou même de possession (Temkin, 1971 ; Chaudhary et coll., 2011). Les croyances et les religions ont longtemps stigmatisé et marginalisé les individus souffrant d'épilepsie. Le manque de connaissances et les aspects socio-culturels ont grandement retardé la compréhension et la recherche de traitements. Il existe actuellement différents types de traitements possibles, dont les traitements médicamenteux qui restent la première ligne d'action (Elger et Schmidt, 2008 ; Devinsky et coll., 2018). Les progrès en chimie nous ont permis de développer un panoplie non négligeable de molécules qui ont des mécanismes d'actions différents et aux effets variés selon les types d'épilepsie (Bialer et coll., 2017). Malgré ces avancées, et l'accroissement des connaissances, il reste une partie des patients épileptiques pour lesquels les antiépileptiques présentent une efficacité nulle ou faible,

ou présentent des effets secondaires trop importants; (Auvin, 2015 ; Eddy et coll., 2011; Rosenow et coll., 2017). Nous verrons que c'est là qu'interviennent d'autres méthodes de traitement telles que la chirurgie, la stimulation ou encore un régime alimentaire spécifique (Yasam et coll., 2018).

I. 5. a. Médicaments antiépileptiques

Les médicaments antiépileptiques sont la première méthode d'action contre les crises d'épilepsie (Glauser et coll., 2006). Ces drogues sont symptomatiques et leur usage a pour but de bloquer ou diminuer la survenue des crises. L'usage historique de bromure et de benzodiazépines a laissé place dans les années 1980 – 1990 à l'apparition de nouveaux antiépileptiques, avec de meilleurs résultats et surtout des effets secondaires nettement réduits (Hanaya et Arita, 2016). Les antiépileptiques ont généralement pour cible un ou plusieurs types de canaux ioniques (canaux sodiques voltage dépendant, canaux calciques voltage dépendant) ou les neurotransmetteurs (acide γ -aminobutyrique (GABA), glutamate) qui génèrent l'activité neuronale, menant potentiellement à des pathologies (McNamara, 1994 ; Somjen, 2002 ; Lerche et coll., 2013 ; Devinsky et coll., 2018). Les mécanismes d'action précis de certaines molécules sont pour la majorité ignorés et leurs effets constatés peuvent être indirects. Les antiépileptiques vont bloquer certains types de crises mais également en aggraver d'autres (Devinsky et coll., 2018). Leur usage et leur dosage doivent être étroitement surveillés et le diagnostic menant à leur utilisation doit être fiable, en vue d'éviter toute aggravation de l'état du patient (Auvin et coll., 2011 ; Labudda, 2017). Les effets des antiépileptiques sont cependant transitoires, et la nécessité d'une bonne observance de la médication est cruciale pour une gestion efficace de la pathologie (Giussani et coll., 2017 ; Smith et coll., 2018). Il est estimé que 60 à 80 % des patients vont pouvoir avoir leurs crises sous contrôle ou voir leur nombre grandement réduit suite à la mise en place d'une thérapie médicamenteuse. Les chiffres varient en fonction notamment des types d'épilepsie, de l'âge et de l'observance. Une des difficultés pour la découverte et l'usage de nouvelles molécules antiépileptiques réside dans la barrière hématoencéphalique qui va filtrer les échanges entre le cerveau et le reste du corps dont le système sanguin (Somjen, 2002 ; Pardridge, 2005 ; Abbott, 2013). La recherche de nouvelles molécules se heurte également au temps que nécessite la compréhension des mécanismes de différentes pathologies et la complexité d'étude des pathologies cérébrales.

I. 5. b. Chirurgie

Les cas de pharmacorésistance représentent environ 30 % des épilepsies (Cavanna et coll., 2012). Le traitement par opération chirurgicale est une décision collégiale nécessitant de nombreuses investigations devant conclure que l'exérèse, ou la déconnexion des régions cérébrales qui génèrent les crises, et les potentielles morbidités associées, sont plus bénéfiques pour le patient que les traitements médicamenteux ou autres. Les traitements médicamenteux peuvent être lourds et présenter des effets secondaires, mais une opération chirurgicale n'est jamais anodine et il faut préalablement identifier avec certitude la région ou les régions à l'origine des crises (Elger et Schmidt, 2008 ; Cavanna et coll., 2012 ; Auvin, 2016 ; Nague et coll., 2016 ; Tolaymat et coll., 2015 ; Liu et coll., 2018). Ces régions ne sont pas nécessairement là où débutent les crises et différentes méthodes d'investigation incluant de l'imagerie et des EEG avec localisation de source sont nécessaires (Lee et coll., 2013 ; Petit et coll., 2014 ; Nemtsas et coll., 2017). Des épilepsies multifocales n'ont pas un bon pronostic en chirurgie et peuvent représenter une morbidité trop élevée suite à l'exérèse. Même si un seul foyer ictal très focal est identifié avec certitude, sa localisation peut poser problème si cette région du cerveau est essentielle à la communication, ou à la mémoire, et que la morbidité associée sera plus handicapante que l'épilepsie pour la vie du patient (Vogt et coll., 2017). L'accessibilité d'une région à retirer ou déconnecter peut également poser problème. Le cerveau est un organe de forme complexe, dense et qui occupe au maximum l'espace au sein de la boîte crânienne. C'est également un organe très demandeur en énergie et qui est fortement vascularisé. L'impossibilité d'identifier avec certitude un foyer ictal ou sa profondeur soupçonnée amène à l'implantation d'électrodes intracérébrales. Les trajectoires d'implantation d'électrodes intracérébrales pour identifier un foyer non trouvé par d'autres méthodes et les décisions d'accès au foyer pour une opération sont collégiales et impliquent toujours un risque. Seuls les centres de référence en épilepsie pratiquent ce genre d'opération pour des raisons d'expérience et de matériel et permettent ainsi de minimiser les risques. Il convient de préciser que les enregistrements intracérébraux donnent accès à de rares données concernant l'activité intracérébrale pathologique ou non. Les données récoltées par enregistrements intracellulaires font l'objet d'une attention croissante dans divers domaines des neurosciences, de l'épileptogénèse aux décisions comportementales

(Alvarado-Rojas et coll., 2013 ; Dehaene et Adam, 2009). Un domaine de recherche en plein essor est la recherche de biomarqueurs ictogéniques destinés à faciliter l'identification précise de la zone pathogénique et améliorer le résultat du traitement par chirurgie (Rummel et coll., 2015 ; Kim et coll., 2016 ; Schindler et coll., 2016 ; Grinenko et coll., 2018). Dans les cas d'un foyer inaccessible, de nouvelles techniques se sont répandues ces deux dernières décennies et consistent à employer des *ondes* d'une certaine fréquence (ultrasons) ou des rayonnements ionisants (*gamma knife*) en les focalisant sur la zone concernée (Kennedy et coll., 2003 ; Studer et coll., 2015 ; Nagae et coll., 2016 ; Yasam et coll., 2018). Cette précision par action à distance permet d'atteindre des zones inaccessibles, potentiellement en profondeur tout en affectant à minima les zones autour de la région ictogénique.

I. 5. c. Stimulation

Si l'application directe d'un courant électrique dans le but de modifier l'activité électrique du cerveau n'est pas nouvelle, son utilisation en épilepsie est cependant remise en question et restreinte à des cas particuliers (San-Juan et coll., 2015). Il existe différentes méthodes d'application du courant et de nouvelles sont encore recherchées et mises à l'épreuve. La plus ancienne consiste à faire passer un courant entre deux électrodes placées de part et d'autre de la surface du scalp (San-Juan et coll., 2015). Les méthodes plus modernes sont, quant à elles invasives, soit au contraire, vont chercher à appliquer du courant à travers le crâne. Les méthodes invasives consistent en l'implantation d'une électrode de stimulation afin de stimuler chroniquement de manière régulière, ou ponctuellement en cherchant à prévoir et stopper l'arrivée d'une crise (Klinger et Mittal, 2018). Certaines implantations se font dans le but d'améliorer des comorbidités (Meisenhelter et Jobst, 2018). Les stimulations invasives vont cibler le nerf vague, le thalamus ou éventuellement une zone d'intérêt particulier selon le type d'épilepsie (Lin et Wang, 2017 ; Vassileva et coll., 2018). Leur efficacité est limitée et requiert des mises au point par rapport aux paramètres de stimulation qui peuvent prendre jusqu'à deux ans. Les méthodes non invasives sont plus à l'état expérimental et la portée des effets par induction d'un champ électromagnétique ou par interférence de fréquences reste à déterminer (Lefaucheur et coll., 2014 ; de Goede et coll., 2016 ; ter Braack et coll., 2016 ; Yasam et coll., 2018). Ces méthodes sont tributaires de nos progrès en technologie et de la compréhension des mécanismes d'activité de réseau menant à la survenue des crises.

Les stimulations intracérébrales ou du nerf vague fonctionnent, mais leur mécanisme d'action reste largement incompris à ce jour, ce qui limite également l'amélioration de la prise en charge des patients pharmacorésistants et le blocage complet des crises.

I. 5. d. Régimes alimentaires particuliers

Les régimes alimentaires particuliers ont pour objectif de contourner certaines voies métaboliques qui, suite à des mutations / déficiences peuvent amener à la survenue de crises d'épilepsies (Porta et Auvin, 2009 ; Kossoff et Hartman, 2012 ; Kossoff et Wang, 2013 ; Leen et coll., 2013 ; Ventola, 2014 ; Rogawski et coll., 2016). Les plus connues sont une déficience du transporteur de glucose GLUT1 et une déficience du pyruvate déshydrogénase ; molécules respectivement impliquées dans le transport et la transformation du glucose à l'échelle cellulaire, dont neuronale (Kossoff et Wang, 2013). La modification des apports alimentaires cherche ainsi à limiter au maximum l'utilisation de cette voie métabolique en privilégiant l'apport d'énergie par la dégradation de graisses. Deux principaux régimes sont utilisés qui sont le régime cétogène et le régime modifié d'Atkins (Dozières-Puyaret et coll., 2018). Le second est un peu plus souple et fait preuve d'une meilleure tolérance par les patients. La tolérance et l'observance de ces régimes alimentaires sont faibles de par les effets secondaires non négligeables (constipation, nausées, fatigue, faim), l'aspect psychologique et du fait des effets néfastes à long terme sur le métabolisme dans son ensemble, pouvant mener à des défauts de croissance chez les enfants ou encore des calculs rénaux (Kossoff et Wang, 2013 ; Liu et coll., 2018). L'utilisation de ces régimes a augmenté avec la pratique moderne, surtout dans les épilepsies pédiatriques, mais également dans certains cas chez l'adulte. Leur efficacité reste limitée mais peut apporter un répit dans les cas pharmacorésistants avec de nombreuses crises.

II. Les absences humaines

II. 1. Historique

La première description de ce qui est aujourd'hui appelé « l'épilepsie-absence » a été faite en 1705 par François Poupart (1661 – 1709), après avoir examiné une jeune fille qui présentait une survenue abrupte d'arrêts comportementaux, apparemment associés à une perte de conscience. Il a toutefois constaté qu'elle était capable de reprendre une phrase à l'endroit où elle l'avait arrêtée, sans aucun souvenir de l'évènement épileptique venant de se dérouler (Brigo et coll., 2018 ; Loiseau, 1992). En 1765, le neurologue Samuel A. A. D. Tissot (1728 – 1797) a décrit le cas d'une adolescente de 14 ans, présentant depuis l'âge de 7 ans des crises s'installant de manière quasi-instantanée et consistant en une perte de conscience et un arrêt des activités en cours. Ces crises survenaient sans perte de posture ni mouvements moteurs anormaux, hormis quelques myoclonies faciales (Brigo et coll., 2018). Ces descriptions n'étaient basées que sur l'analyse du comportement lors des crises, l'EEG n'ayant été inventé qu'à la fin du 19^{ème} siècle (Caton, 1875) et utilisé qu'au début du 20^{ème} siècle chez l'humain (Elul, 1972 ; Smith, 2005). On trouve également des cas où ce type de crises coexiste avec des crises plus « complexes » qui incluent une perte de tonus postural et des mouvements moteurs anormaux. Nous verrons par la suite que la coexistence de ces deux types de crises peut constituer des syndromes particuliers (Loiseau, 1992, 1995). La coexistence de deux types de crises d' « accès » est ce qui va en premier lieu servir de différenciation et de classification permettant ainsi l'utilisation d'une terminologie afin de séparer les « petits accès » des « grands accès » (Brigo et coll., 2018). Plus tard, le psychiatre français Louis F. Calmeil (1798 – 1895) introduira le terme « absences » dans sa thèse à la Faculté de Médecine de Paris, le 17 Juin 1824 (Brigo et coll., 2018). Le terme de « petit mal » sera quant à lui introduit par le psychiatre français Jean-Etienne D. Esquirol en 1838 (1772 – 1840) (Brigo et coll., 2018). Du fait de la caractérisation du phénomène comportemental et de la comparaison avec d'autres types de crises impliquant des convulsions, les termes « absences » et « petit mal » ont rapidement été adoptés par la communauté scientifique de l'époque. En 1899, Otto Binswanger (1852 – 1929) publia un traité sur l'épilepsie, dont un chapitre sur le « petit mal » où il décrit les crises d'absences comme des « crises avortées » (Brigo et coll., 2018). Son point de vue était donc que les absences ne constituaient pas une entité clinique en soi et/ou pleine. Une autre

étape importante dans la description et caractérisation de l'épilepsie-absence date de 1924, avec la découverte de l'hyperpnée comme procédure efficace de déclenchement des crises chez les personnes souffrant de ce syndrome (Salvati et Beenhakker, 2017). La première description du parton de décharge neuronale visible à l'EEG lors des crises dans une épilepsie-absence typique fût faite en Décembre 1934 (Gibbs et coll., 1935). Cependant, d'autres enregistrements de ces décharges de *pointe-onde* caractéristiques furent réalisés avant, notamment par Hans Berger, mais dans un cas d'épilepsie-absence atypique (Jung et Berger, 1979). Les absences atypiques se distinguent par un début et une fin difficilement identifiables, une durée en moyenne plus longue, une altération fluctuante de la conscience, des DPO de fréquence irrégulière et inférieures à 3 Hz, des interruptions et variations dans la survenue des crises.

II. 2. Epidémiologie de l'épilepsie-absence

L'incidence annuelle de l'épilepsie-absence chez les enfants de moins de 15 ans a été évaluée entre 6,3 / 100 000 et 8 / 100 000 (Loiseau et coll., 1990 ; Olsson 1988). Il s'agit du deuxième syndrome épileptique de l'enfant par ordre de fréquence. La prévalence atteindrait 10 à 19 % des épilepsies chez l'enfant de moins de 15 ans (Callenbach et coll., 1998 ; Berg et coll., 2000). L'épilepsie-absence de l'enfant est légèrement plus fréquente chez les filles que chez les garçons avec 59 à 73 % de filles (Dura-rave et Yoldi-Petri 2006).

II. 3. Aspects cliniques

L'âge de début des crises se situe généralement entre 4 et 10 ans (Panayiotopoulos 2005a). Quand l'épilepsie-absence survient tardivement, après 8 – 10 ans, on parle d'épilepsie-absence de l'adolescent et le pronostic est alors moins bon. L'épilepsie-absence survient le plus souvent chez des enfants sans antécédent personnel, sans difficulté scolaire préalable. Par contre, il existe fréquemment des antécédents familiaux d'épilepsie idiopathique (Winawer et coll., 2003).

Dès les premières secondes de la décharge, on observe un arrêt de l'activité comportementale en cours qui persiste pendant toute la durée des *pointe-ondes*. L'arrêt de l'activité s'associe à une rupture de contact isolée et parfois à des clonies des paupières relativement discrètes. La rupture du contact peut dans certains cas être partielle, ou une activité automatique motrice peut persister, sans signification

diagnostique ou pronostique (Hirsch 2005). Des myoclonies palpébrales discrètes peuvent être observées (Panayiotopoulos 2005b). En revanche, la classification proposée en 2005 par Loiseau et Panayiotopoulos considère les myoclonies palpébrales systématiques soutenues et les absences déclenchées par des stimuli spécifiques, comme des critères d'exclusion d'une épilepsie-absence typique de l'enfant. La durée des crises est courte, 4 à 20 secondes, mais ces dernières peuvent se répéter 10 à 100 fois par jour. Leur grande fréquence pluriquotidienne est un argument en faveur du diagnostic d'épilepsie-absence typique de l'enfant (Garzon et coll., 2016).

Plusieurs facteurs favorisant les crises ont été décrits, au premier rang desquels figure l'hyperpnée. L'hyperpnée déclenche très facilement des absences et doit être utilisée systématiquement lors de l'EEG au moment du diagnostic, afin d'enregistrer des crises et acquérir un diagnostic de certitude, puis pendant le suivi de l'enfant, pour s'assurer de l'efficacité complète du traitement. Les crises surviennent également plus volontiers lorsque l'attention se relâche, typiquement en période de fatigue (fin de journée, réveil) (Wirrell, 2003 ; Matricardi et coll., 2014). D'autres facteurs moins systématiques sont rapportés, comme les émotions négatives (chagrin, peur, colère), ou des facteurs métaboliques (hypoglycémie) (Suls et coll., 2009).

II. 4. L'EEG des absences humaines

La définition actuelle de l'épilepsie-absence inclut des données EEG, pour distinguer les absences typiques, concomitantes de DPO régulières à 3 Hz, se détachant d'une activité de fond normale (figure 4), et les absences atypiques, plus lentes à 2.5 Hz, irrégulières, parfois asymétriques, sur une activité de fond mal organisée (Garzon et coll., 2016). Dans l'épilepsie-absence typique de l'enfant, l'EEG intercritique est normal. Il peut cependant exister des bouffées de *pointe-ondes* généralisées, trop courtes pour être associées à des manifestations cliniques visibles (Yoshinaga et coll., 2004). On peut retrouver également, des ondes lentes postérieures occipitales sans signification pathologique (Plouin 2006).

Au début des crises, apparaissent brutalement des DPO bilatérales et symétriques, apparemment généralisées et synchrones, très amples, comportant 1 ou 2 *pointes* maximum par complexe de *pointe-onde* (ILAE 1989). L'amplitude des *pointe-ondes* présente un gradient antéro-postérieur, plus ample sous les électrodes frontales (Bancaud et coll., 1965; Ferri et coll., 1995). On peut observer également un

ralentissement de la fréquence des *pointe-ondes* en fin de décharge. Sadleir et ses collaborateurs ont analysé 339 crises d'absences et ont montré que dans 50 % des cas, la décharge initiale consiste en une courte ($0,5 \pm 0,4$ sec) décharge focale souvent bilatérale et localisée dans les régions frontales, avant que les DPO ne se généralisent très rapidement (Sadleir et coll., 2006). Cette observation reste en accord avec la définition d'une crise « généralisée » établie par la dernière classification internationale de 2010. En effet, une crise « généralisée » est maintenant considérée comme une crise engageant rapidement au moins une large partie des réseaux neuronaux bilatéraux (Berg et coll., 2010).

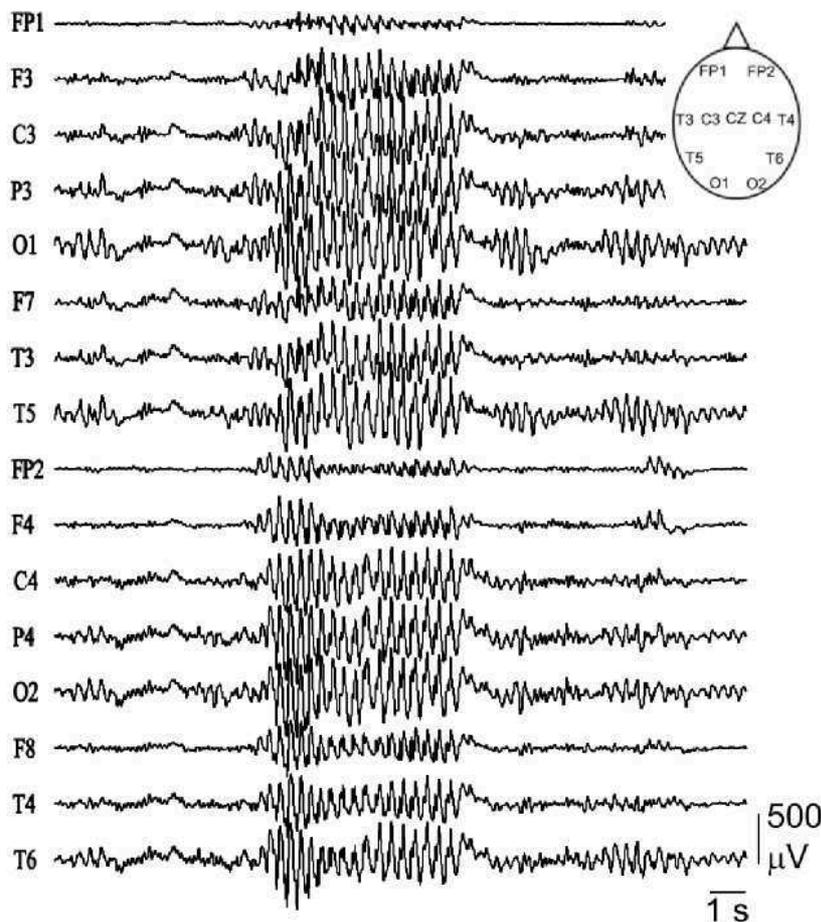


Figure 4 : Crise enregistrée en EEG de scalp chez un enfant de 12 ans souffrant d'épilepsie-absence typique.

Notez la survenue bilatérale et apparemment synchronisée des DPO sur l'ensemble du manteau cortical. D'après Chipaux et coll., 2013.

II. 5. Imageries cérébrales et crises d'absences

L'imagerie cérébrale par résonance magnétique (IRM) en dehors des crises est considérée comme normale chez les patients atteints d'épilepsie-absence, même si des anomalies non spécifiques de localisations diverses peuvent être observées chez près d'un quart d'entre eux (Betting et coll., 2006a). Une seule étude met en évidence une augmentation de volume dans la partie antérieure du thalamus chez les patients

souffrant de crises d'absences (Betting et coll., 2006b). Une autre étude montre des plages de diminution de la substance grise au sein du thalamus (Chan et coll., 2006). En ce qui concerne d'éventuels changements fonctionnels en période intercritique, une étude rapporte un rapport N-Acétylaspartate sur créatine, marqueur de dysfonctionnement neuronal, effondré dans le thalamus des patients adultes porteurs d'épilepsie-absence, en comparaison de patients non épileptiques (Fojtikova et coll., 2006). La diminution du rapport N-Acétylaspartate sur créatine ne serait pas corrélée à la fréquence des crises ou à la durée d'évolution de l'épilepsie. Cette étude suggère donc que cette anomalie est bien liée au dysfonctionnement cérébral à l'origine de la maladie épileptique sous-jacente et non pas à la répétition des crises elles-mêmes (Fojtikova et coll., 2006).

Lors des DPO, des études en magnétoencéphalographie (MEG), en EEG à haute résolution, en Spectroscopie dans le proche InfraRouge (Near-infrared spectroscopy : NIRS) et en IRM fonctionnelle (IRMf) suggèrent une activation conjointe du thalamus et du cortex antérieur. Il semble que l'activation débute par le cortex frontal, avant l'embrassement cortical diffus et thalamique retrouvé pendant le corps de la décharge.

II. 6. Génétique des épilepsies-absences

Depuis la classification des épilepsies proposée par l'ILAE en 2010, l'épilepsie-absence de l'enfant est considérée comme une épilepsie d'origine génétique (Berg et coll., 2010). La nouvelle classification proposée par l'ILAE en 2017 conserve cet aspect étiologique d'ordre génétique et place les épilepsies-absences dans la catégorie des épilepsies « sans trouble moteur (absences) » (Fisher et coll., 2017). L'origine génétique est attestée par la grande fréquence de cas familiaux. Cependant, cohabitent au sein de ces familles plusieurs types de syndromes épileptiques, le plus souvent idiopathiques: convulsions fébriles, épilepsie avec crises généralisées, épilepsie myoclonique juvénile, épilepsie-absence de l'enfant ou de l'adolescent, et syndrome de Doose (Robinson, 2009). La transmission héréditaire ne semble donc pas monogénique. Les épilepsies généralisées familiales sont associées à des anomalies génétiques variées. Dans l'épilepsie-absence, de nombreuses mutations génétiques ont été suspectées, touchant principalement les sous-unités du récepteur GABA (GABRG2, GABRA1, GABRB3, GABRA5) ou touchant les gènes codant pour les canaux calciques (CACNA1A, CACNA1G, CACNA1I, CACNAB4, CACNAG2, CACNAG3) (Yalcin 2012). Par exemple, une mutation dominante du gène codant pour

la sous-unité γ du récepteur GABA_A (*GABRG2*) est identifiée dans une famille de crises fébriles où plusieurs individus présentent des absences (Marini et coll., 2003). Dans une autre famille, une mutation dominante de la sous-unité GABRB3 est retrouvée (Tanaka et coll., 2008). Des variants alléliques du gène CACNA1H sont considérés comme des facteurs de susceptibilité, pouvant favoriser les crises d'absences, sans en être directement responsables (Chen et coll., 2003). Il est également rapporté des absences dans des familles avec mutation des gènes codant pour les sous-unités du canal sodique voltage-dépendant (SCN1A ou SCN1B) (Lerche et coll., 2001 ; Audic-Gerard et coll., 2003). Par ailleurs, 10 % des épilepsies absence précoces présentent un déficit dans le transporteur au glutamate GLUT-1 lié au gène SLC2A1 (Arsov et coll., 2012).

II. 7. Pronostic de l'épilepsie-absence

A une époque où les traitements anti-absence n'existaient pas, il était déjà acquis que les absences finissaient par disparaître avec le temps. En effet, les absences disparaissent dans 90 – 94 % des cas à l'adolescence (Loiseau et coll., 1995 ; Garzon et coll., 2016). Lorsqu'elles persistent à l'âge adulte, elles sont alors souvent moins fréquentes (Currier et coll., 1963; Panayiotopoulos 2005). La durée d'évolution de l'épilepsie-absence est en moyenne de 6,6 années avant de disparaître (Currier et coll., 1963). L'âge de guérison varie habituellement entre 10 et 14 ans. Un début avant 10 ans est de meilleur pronostic que les absences débutant chez l'adolescent (*Loiseau et coll., 1995*). De même, la pharmacosensibilité après une première monothérapie est considérée comme de bon pronostic (Currier et coll., 1963).

La disparition des absences n'est pas toujours synonyme de guérison, car des crises généralisées tonico-cloniques peuvent survenir, ou l'épilepsie peut évoluer vers une épilepsie myoclonique juvénile (Delgado-Escueta et coll., 1999). Le risque de survenue de crises tonico-cloniques est évalué à 26 % (Loiseau et coll., 1995). Elles surviennent la plupart du temps 5 à 10 ans après le début des absences (Loiseau et coll., 1983). Des facteurs de risque de survenue de crises tonico-cloniques ont été évoqués : l'âge de début des absences tardif, la survenue d'états de mal, le sexe masculin, la pharmacorésistance. En cas de retard de mise en route d'un traitement efficace ou de pharmacorésistance, 68 à 85 % des patients présenteraient des crises tonico-cloniques (Guye et coll., 2001).

En conclusion, le taux de guérison, défini comme la disparition de tous les types de crises n'est pas connu. Selon les critères d'inclusion des études, il est estimé entre 33 et 78 %. Avec un traitement adapté et précoce, 70 % des patients seraient guéris, contre 18 % des patients avec un traitement non optimal (Hirsch 2005).

II. 8. Pronostic cognitif

Le pronostic cognitif de l'épilepsie-absence de l'enfant a longtemps été considéré comme excellent, d'autant plus que la maladie est souvent contrôlée par les médicaments antiépileptiques et disparaît spontanément à l'adolescence. Pourtant, l'adaptation sociale reste médiocre pour 30 % des patients, même lorsqu'ils sont en rémission (Loiseau et coll., 1983). Son caractère bénin est définitivement remis en cause dans les années 2000. Des difficultés d'attention sont retrouvées chez 61 % des patients non traités, et chez 35 % des enfants dont les crises sont contrôlées (Caplan et coll., 2008 ; Glauser et coll., 2010 ; Siren et coll., 2007 ; Vega et coll., 2010). Les troubles du comportement ne sont pas rares, apparaissant au cours de l'évolution de la maladie chez 30 % des enfants traités pour épilepsie-absence. 20 % des patients sont en échec scolaire, et 25 % présentent des déficits cognitifs en mémoire visuelle et en mémoire non verbale (Echenne et coll., 2001; Pavone et coll., 2001; Siren et coll., 2007 ; Caplan et coll., 2008). Le suivi à l'âge adulte de ces patients met en évidence un niveau scolaire plus faible et des difficultés psychosociales et émotionnelles plus importantes que pour une population contrôlée, porteuse d'une maladie chronique rhumatologique (Wirrell et coll., 1997). L'épilepsie-absence est associée à un niveau élevé d'anxiété et de stress, (Caplan et coll., 2005; Caplan et coll., 2008). De plus, un début focal frontal des DPO sur l'EEG serait également un facteur de risque d'atteinte cognitive et comportementale et serait associé à un risque accru de pharmacorésistance (Lagae et coll., 2001 ; Jovic-Jakubi et coll., 2009).

La physiopathologie de l'atteinte cognitive n'est pas encore élucidée. Elle semble liée à des dysfonctionnements inter-critiques et critiques des réseaux neuronaux entre le thalamus, les structures corticales et sous-corticales (Henkin et coll., 2005). De plus, les circuits thalamo-corticaux sont impliqués à la fois dans l'épilepsie-absence et dans certains troubles psychiatriques, dont la dépression, ce qui pourrait expliquer les comorbidités et leur portée sur la cognition et la scolarité (Hughes et Crunelli 2005). Les études en imagerie montrent une activation du cortex frontal et pariétal en précritique et une activation du thalamus, du cortex moteur et somatosensoriel

pendant les crises. Cette activation inclut donc un réseau habituellement impliqué dans les mécanismes attentionnels et de traitement de l'information (Berman et coll., 2010 ; Bulteau 2011). Les DPO pourraient altérer les communications inter-hémisphériques, en particulier entre les lobes frontaux, qui possèdent des interconnexions nombreuses entre les deux hémisphères (Killory et coll., 2011). La persistance des atteintes neuropsychologiques en périodes inter-critiques pourrait être liée à des anomalies développementales.

II. 9. Hypothèses concernant l'altération de la conscience

Les crises d'absences se manifestent par une rupture de contact isolée, reflet d'une interruption transitoire des processus cérébraux de la conscience. La physiopathologie de cette rupture de contact demeure inconnue. On pourrait la rapprocher de certaines activités physiologiques, tel que le sommeil lent, au cours desquelles les oscillations synchronisées au sein de la boucle thalamo-corticale interrompent la perception consciente de l'environnement en filtrant les informations extérieures et/ou en empêchant leur affectation à la zone corticale appropriée (Steriade 2000 ; Kostopoulos 2001 ; Timofeev et Steriade 2004 ; Llinas et Steriade 2006). Ce phénomène pourrait expliquer la rupture de contact ictale dans l'épilepsie-absence. Elle serait causée par l'interruption de l'intégration normale de l'information dans certaines régions spécifiques (Blumenfeld 2005 ; Blumenfeld et coll., 2009 ; Cavanna et Monaco 2009).

Il existe de nombreux arguments pour une implication focale ou multifocale et non généralisée du cortex pendant la rupture de contact en période critique. L'implication de l'ensemble du cortex n'est pas nécessaire pour générer une rupture du contact avec l'environnement. Ainsi, des crises avec rupture de contact isolée sont rapportées lors de décharges focales frontales ou temporales (Lux et coll., 2002). La rupture de contact pourrait refléter des déficits cognitifs spécifiques, prédominants dans le cortex frontal bilatéral. Pendant les crises, on peut observer des déficits cognitifs hétérogènes avec une prédominance de l'atteinte verbale sur l'atteinte motrice, dans le cas où les tâches demandées restent simples (Gastaut et coll., 1954). Le premier niveau d'intégration corticale de l'information extérieure semble préservé pendant les crises épileptiques, ce qui a été démontré dans l'épilepsie focale occipitale. En effet, les potentiels évoqués qui persistent lors des crises attestent de la possibilité d'un accès à l'information sensorielle (Hughes et coll., 1985 ; Wang et coll., 2005 ; Chipaux et coll., 2013). Dans certains cas, l'amplitude des potentiels sensoriels

évoqués peut même être augmentée (Hughes et coll., 1985 ; Chipaux et coll., 2013). Ces résultats réfutent donc l'hypothèse selon laquelle le flux des informations sensorielles est filtré au niveau du thalamus lors des DPO, dû à la survenue d'oscillations synchrones dans les neurones thalamo-corticaux relayant l'information vers le cortex cérébral (Orren, 1978 ; Kostopoulos et coll., 2001 ; Duncan et coll., 2009). De plus, Jung a montré dès 1939 que des stimulations externes avaient la capacité de raccourcir ou d'interrompre les crises, en particulier des stimuli auditifs puissants et des stimuli douloureux (Jung 1939). Il semble donc qu'un stimulus sensoriel anormalement intense puisse générer dans les circuits thalamo-corticaux un signal de désynchronisation suffisant pour interrompre les DPO (Drinkenburg et coll., 2003 ; SAILLET et coll., 2013).

Ces données, combinées aux données obtenues chez l'animal mènent au postulat selon lequel une atteinte fonctionnelle transitoire dans les aires associatives corticales pourrait participer aux processus physiopathologiques conduisant à la rupture de conscience et à l'incapacité à générer une sensation consciente et une réponse sensorimotrice pendant les crises d'absences (Blumenfeld 2005; Blumenfeld et coll., 2003; Cavanna et Monaco 2009). Nous verrons que les résultats de mes expériences démontrent un dysfonctionnement dès le traitement sensoriel par les neurones des aires corticales primaires. Les effets d'une telle synergie entre des perturbations neuronales corticales et un dysfonctionnement à grande échelle sont abordés dans la Discussion.

Enfin, il a déjà été montré que le timing de survenue de l'altération de la conscience en fonction du début de la décharge épileptique peut être variable. L'absence de réponse aux ordres simples peut débuter plusieurs secondes avant la survenue de la décharge, ou plusieurs secondes après le début (Mirsky et Van Buren, 1965). Ces différences de timing pourraient refléter l'atteinte hétérogène de tâches cognitives spécifiques. De plus, une corrélation a pu être établie entre la profondeur de l'altération des processus cognitifs au cours de la crise, et l'amplitude des complexes *pointe-ondes*, suggérant que les désordres de la conscience sont liés à l'intensité des synchronisations rythmiques paroxystiques dans les circuits synaptiques du cortex (Guo et coll., 2016).

En résumé, l'ensemble de ces observations suggère que les crises d'absences pourraient affecter de façon spécifique certaines fonctions cognitives jouant un rôle

crucial dans la rupture de contact en épargnant d'autres fonctions. La forte connectivité entre les deux régions frontales chez l'homme, accélérant la généralisation des DPO aux deux hémisphères, pourrait expliquer, au moins en partie, la perte de contact rapide et totale en période ictale, comme dans l'épilepsie temporale, où la perte de contact ictale est due à une synchronisation excessive entre le thalamus et les aires corticales associatives (Heo et coll., 2006 ; Arthuis et coll., 2009). Cependant, la distribution spatiale des changements cérébraux sous-jacents, ainsi que leurs mécanismes neuronaux restaient inconnus avant les résultats obtenus au cours de cette thèse, dans un modèle génétique des absences (Blumenfeld, 2005).

II. 10. Traitements pharmacologiques

Les traitements pharmacologiques de l'épilepsie-absence ont pour but de contrôler les crises, invalidantes par leur grande fréquence, et pouvant compromettre la scolarité de l'enfant, jusqu'à ce que l'épilepsie soit guérie spontanément par la maturation cérébrale. Historiquement, l'éthosuximide apparaît en 1951, avant l'arrivée du valproate de sodium. Actuellement, les drogues de choix sont l'éthosuximide, le valproate de sodium et la lamotrigine (Beydoun et D'Souza 2012 ; Glauser et coll., 2010 ; Hwang et coll., 2012 ; Garzon et coll., 2016). La phénytoïne et le phénobarbital sont contre-indiqués en raison de leur inefficacité (Panayiotopoulos 2001 ; 2005). Les traitements pharmacologiques de premier choix permettent de faire disparaître les crises d'absences chez 50 – 75 % des patients (Coppola et coll., 2004 ; Glauser et coll., 2010 ; Hwang et coll., 2012 ; Garzon et coll., 2016). En cas de pharmacorésistance, d'autres molécules peuvent être essayées, comme le levetiracétam ou les benzodiazépines. Le traitement peut être progressivement arrêté après 1 à 2 ans sans crise, et d'autant plus facilement que l'âge de l'enfant s'approche de l'adolescence. Le recours à des traitements non pharmacologiques peut avoir lieu pour les cas pharmacorésistants, leur efficacité plus réduite pouvant être de dernier recours ou avoir pour objectif d'alléger le traitement médicamenteux et ses effets secondaires. Le régime cétogène et le régime d'Atkins apparaissent comme des solutions thérapeutiques intéressantes contrairement à la stimulation du nerf vague, qui est moins efficace et présente un rapport bénéfice-risque à étudier au cas par cas (Garzon et coll., 2016).

II. 11. Autres syndromes épileptiques avec crises d'absences

Les crises d'absences, au sens électro-clinique du terme, c'est-à-dire associant une rupture de contact isolée à des DPO diffuses sur l'EEG, sont présentes dans d'autres syndromes épileptiques (figure 5 ; Panayiotopoulos, 2001). Dans ces syndromes, incluant en plus des absences des myoclonies (épilepsie myoclonique juvénile, absences myocloniques) (Panayiotopoulos, 2001), des crises toniques et éventuellement un retard mental (syndrome de Lennox-Gastaut) (Vrielynck, 2013), les DPO sont généralisées mais avec des patterns et/ou des fréquences internes variables, indiquant que les DPO sont bien la source de la perturbation transitoire, partielle ou complète, de la conscience.

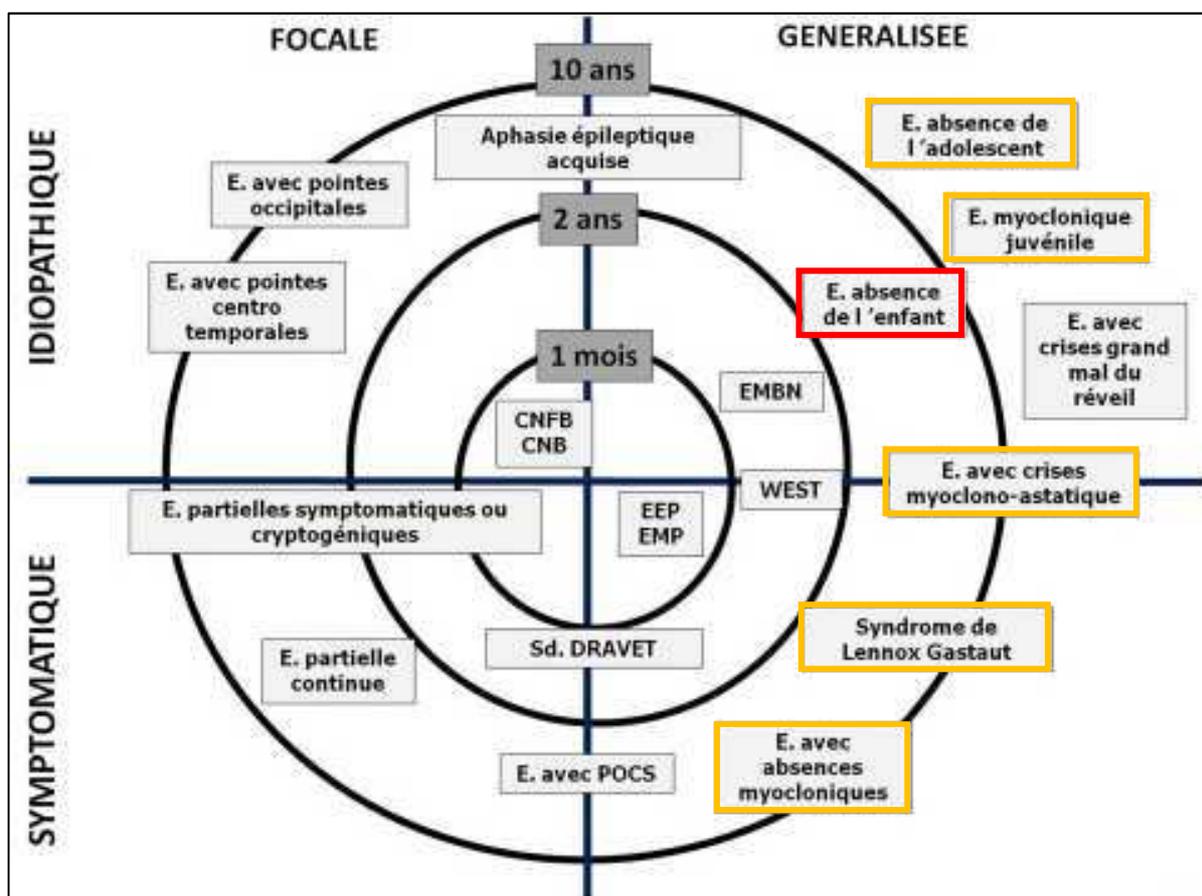


Figure 5 : Représentation graphique des syndromes épileptiques de l'enfant en fonction de l'âge, de la généralisation des crises et de leur origine idiopathique ou non.

E. : épilepsie ; Sd : syndrome ; CNB : convulsions néonatales bénignes ; CNFB : convulsions néonatales familiales bénignes ; EEP : Encéphalopathie épileptique précoce avec suppression-burst ; EMBN : Epilepsie myoclonique bénigne du nourrisson ; EMP : Encéphalopathie myoclonique précoce. Encadré en rouge : épilepsie-absence de l'enfant avec uniquement des crises typiques d'épilepsie-absence ; encadré en orange : autres syndromes épileptiques avec décharges de *pointe-onde*. On peut ici noter que des crises d'absences sont visibles dans des épilepsies symptomatiques autant qu'idiopathiques mais que les DPO sont toujours de nature généralisée et d'un début supérieur à 2 ans. D'après Auvin, 2011.

III. Les modèles animaux des épilepsies-absences

III. 1. Propriétés générales des modèles animaux

Un modèle animal est défini comme une préparation simplifiée permettant d'étudier la physiopathologie et le traitement des maladies (Fisher, 1989). La validation d'un modèle animal nécessite la vérification de trois critères : isomorphisme (similitude entre les symptômes du modèle et la pathologie humaine correspondante), (Blumenfeld, 2012), homologie (identité des mécanismes physiopathologiques) et (Baum et coll., 2015) prédictivité (similitude des profils pharmacologiques).

Un grand nombre de modèles animaux ont été utilisés pour étudier les épilepsies-absences. On distingue deux grands groupes : 1) les modèles pharmacologiques, dans lesquels la genèse des crises, chez l'animal entier ou dans une tranche de tissu cérébral sain, est obtenue par l'application de substances épiléptogènes et 2) les modèles génétiques, englobant un ensemble de souches animales présentant spontanément des crises d'épilepsie-absence.

Je me concentrerai ici exclusivement sur les modèles pharmacologiques et génétiques *in vivo*, les seuls à préserver l'intégrité du système cortico-thalamique, lequel est requis pour la genèse de DPO analogues à celles survenant au cours des crises dans la pathologie humaine.

III. 2. Les modèles pharmacologiques félines

III. 2. a. Le chat pénicilline

En 1978, Pierre Gloor propose (Gloor, 1978) que les DPO se développent dans le circuit thalamo-cortical à l'origine des fuseaux de sommeil. Pour valider l'hypothèse, il utilisa un modèle félin, développé originellement par Prince et Farrell en 1969, et consistant en une injection de pénicilline à forte dose par voie intramusculaire (Prince et Farrell, 1969). Cette injection d'un antagoniste GABAergique faible provoque l'apparition de DPO à 3,5 – 4 Hz dans l'EEG cortical, lesquelles sont accompagnées d'une diminution importante de la réponse comportementale aux stimuli sensoriels évoqués. Les DPO du chat sont également associées à des mouvements palpébraux rythmiques, des spasmes des muscles faciaux, des convulsions myocloniques de la tête et du cou et une soudaine fixité du regard (Prince et Farrell, 1969 ; Gloor et Testa, 1974 ; Rodin et coll., 1977 ; Gloor et coll., 1990 ; Avoli et Gloor, 1994 ; Avoli, 1995 ; Gloor, 1995).

Ce modèle pharmacologique d'épilepsie-absence, appelé Feline Penicillin Generalised Epilepsy (FPGE), est considéré, d'après ses grandes similitudes EEG et comportementales avec les syndromes d'absence humains, comme un bon modèle animal d'absence typique. De plus, les DPO du modèle FPGE sont supprimées par l'injection d'éthosuximide ou de valproate de sodium (Guberman et coll., 1975 ; Pellegrini et coll., 1978).

Les DPO du modèle FPGE semblent résulter d'une transformation des fuseaux de sommeil, lesquels sont physiologiquement exprimés par la boucle thalamo-corticale lors des phases précoces du sommeil lent (voir section 1 – 2 ; Gloor et Testa, 1974 ; Kostopoulos et coll., 1981a ; Kostopoulos et coll., 1981b ; Avoli et Gloor, 1982 ; McLachlan et coll., 1984). En effet, suite à l'injection de pénicilline, les fuseaux de sommeil à 6 – 12 Hz sont progressivement remplacés par des DPO bilatérales et synchrones à 4,5 Hz (figure 1 – 4 ; Kostopoulos et coll., 1981b ; Kostopoulos, 2000). Lors de la période de transition entre l'injection de pénicilline et l'expression pleine et entière des DPO, on observe une augmentation progressive de l'amplitude des fuseaux et de leur synchronie entre les différentes régions corticales. De plus, les stimulations électriques corticales, qui génèrent des fuseaux de sommeil avant l'injection de pénicilline, induisent exclusivement des DPO après l'injection de pénicilline, suggérant ainsi un circuit commun pour la genèse de ces deux types d'activité rythmique (Quesney et coll., 1977; Kostopoulos et coll., 1981b).

L'hypothèse proposée concernant les mécanismes physiopathologiques des DPO dans ce modèle est une diminution de l'inhibition GABA_A induite par la pénicilline dans la boucle thalamo-corticale, permettant la transformation progressive des fuseaux de sommeil en DPO. Cette transformation se produirait selon la séquence d'événements suivante (Gloor, 1979 ; Kostopoulos et Gloor, 1982 ; Gloor et coll., 1990 ; Kostopoulos, 2000 ; McPherson et coll., 2012). Avant l'injection intramusculaire de pénicilline, les fuseaux de sommeil sont générés au niveau des neurones corticaux par des bouffées rythmiques de potentiels post synaptiques excitateurs (PPSE), restant le plus souvent infraliminaire pour la décharge de potentiels d'action. Cette absence de décharge de potentiels d'action résulte de l'hyperpolarisation membranaire des neurones corticaux (physiologique lors du sommeil lent) et d'une résistance d'entrée membranaire faible. (Blumenfeld, 2012) Les DPO se développent lorsque la pénicilline permet une amplification des entrées synaptiques thalamiques au niveau des neurones corticaux, qui deviennent supraliminaire et conduisent à des

décharges de potentiels d'action dans les cellules corticales. (Baum et coll., 2015) Cette décharge accrue des neurones corticaux active les interneurons GABAergiques locaux qui, en inhibant en retour les neurones pyramidaux, vont diminuer la fréquence de récurrence des décharges dans la boucle thalamo-corticale. (Wallace et coll., 2004) Cette diminution de fréquence serait exacerbée par la diminution des entrées neuromodulatrices mésencéphaliques (Kostopoulos, 2000).

III. 2. b. Le chat kétamine-xylazine

L'équipe de Mircea Steriade a développé un autre modèle pharmacologique d'épilepsie-absence : le chat anesthésié par un mélange kétamine–xylazine (la kétamine étant un antagoniste non compétitif des récepteurs glutamatergiques N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et la xylazine un $\alpha 2$ -sympathomimétique). Cette préparation présente une activité EEG corticale complexe composée de complexes de pointe-ondes CPO, ou de poly *pointe-ondes* rythmiques, survenant à la fréquence de 2 – 3 Hz et associées à des activités rapides (fast runs) à 10 – 15 Hz (figure 6 ; Steriade et Amzica, 1994 ; Steriade et coll., 1998 ; Steriade et Amzica, 2003 ; Timofeev et Steriade, 2004). Cette activité épileptique, qui se développe sur un EEG de fond de sommeil lent (0,5 à 0,9 Hz), et qui est suivie d'une dépression post-ictale, comporte de nombreuses similitudes avec les paroxysmes corticaux observés dans le syndrome de Lennox-Gastaut (une forme sévère d'épilepsie infantile définie par des crises toniques associées à des crises atoniques et des absences atypiques). Ces rythmes EEG peuvent apparaître sous kétamine-xylazine, soit spontanément, soit après stimulations électriques du cortex ou du thalamus, ou encore, suite à l'application sur le cortex de bicuculline, un antagoniste des récepteurs GABA_A (Steriade et Amzica, 2003 ; Timofeev et Steriade, 2004).

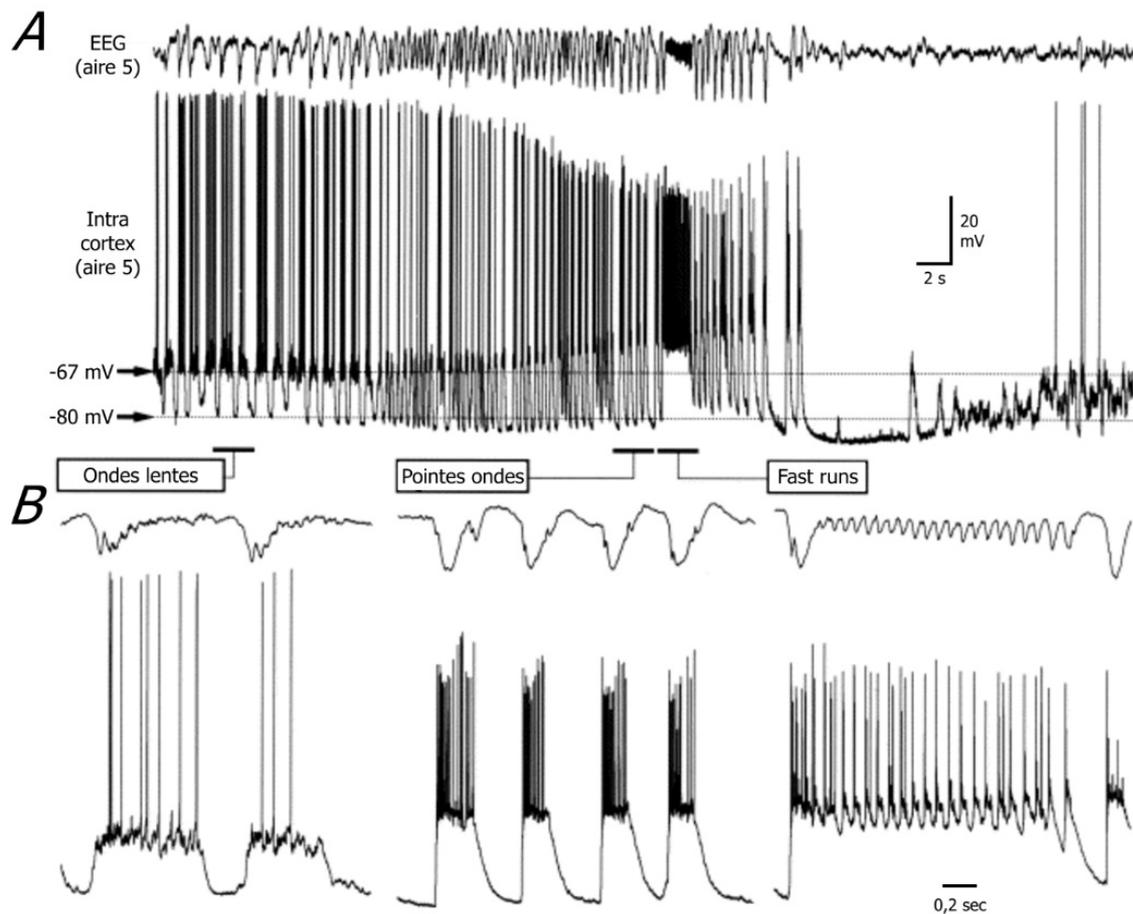


Figure 6 : Activités EEG et intracellulaires corticales dans le modèle de « chat kétamine-xylazine ».

A, enregistrement simultané de l'EEG (en haut) et de l'activité intracellulaire (en bas) d'un neurone dans l'aire 5 corticale. La crise semble se développer progressivement à partir d'un tracé EEG de sommeil lent. L'activité paroxystique consiste en une décharge de *pointe-ondes* à 2 Hz interrompue par des *fast runs* à 15 Hz. Noter l'hyperpolarisation post-ictale. **B**, agrandissements de l'enregistrement montré en A aux endroits indiqués par une barre horizontale. Noter les décharges en plateau de décharge paroxystique (paroxysmal dépoliarisation shift) au cours de la DPO. D'après Steriade et Contreras, 1998.

Les DPO induites par le mélange kétamine-xylazine (figure 6) ont une origine corticale. En effet, elles peuvent être observées chez des chats athalamiques, ou dans des blocs déafférentés de cortex cérébral (Timofeev et coll., 1998) et elles sont absentes dans le thalamus de chats décortiqués (Steriade et Contreras, 1998). Nous verrons que ce modèle partage avec les modèles génétiques de rats une initiation corticale des DPO, suggérant que ce profil d'activité corticale *in vivo* résulte d'une propriété physiopathologique émergeant spécifiquement dans le cortex cérébral.

L'activité intracellulaire des neurones corticaux au cours des DPO, induite par le mélange kétamine-xylazine, est caractérisée par des dépolarisations rythmiques de longue durée de type *paroxysmal depolarisation shift* et par une décharge rapide de potentiels d'action en phase avec la *pointe* de l'EEG (Lytton et coll., 1997). En

revanche, les neurones corticaux sont silencieux au cours de l'*onde*. Durant cet arrêt de décharge, la membrane des neurones corticaux est hyperpolarisée et sa résistance d'entrée est augmentée. Ces modifications d'excitabilité corticale sont attribuées à une diminution de la conductance synaptique associée à l'accroissement d'un courant potassique (hyperpolarisation membranaire) (Neckelmann et coll., 2000). Dans ce modèle, les neurones thalamo-corticaux sont dans leur majorité (60 %) silencieux au cours des DPO (Steriade et Contreras, 1995). L'activité critique de ces neurones est composée d'une séquence de potentiels post-synaptique inhibiteurs (PPSI) rapides associés à une hyperpolarisation tonique (Steriade et Contreras, 1995). Les neurones thalamiques actifs durant les DPO (40 %) déchargent des bouffées de potentiels d'action temporellement associées à la composante *pointe* de l'EEG. Enfin, les neurones GABAergiques du noyau réticulé du thalamus déchargent, en correspondance avec les *pointes* dans l'EEG, des bouffées de potentiels d'action temporellement corrélées avec les PPSI des neurones thalamo-corticaux (Steriade et Contreras, 1995).

III. 2. c. Critique des modèles félins

L'inconvénient majeur de ces modèles félins d'épilepsie-absence est que la décharge paroxystique est obtenue pharmacologiquement, en forçant artificiellement des oscillations dans un réseau thalamo-cortical sain, et ne fournissent pas d'indications directes sur les mécanismes ictogéniques survenant spontanément chez un animal épileptique. Par ailleurs, les paroxysmes corticaux induits par le mélange kétamine-xylazine, anesthésiques centraux, présentent certaines caractéristiques électrocliniques différentes de celles des épilepsies-absences. En particulier, l'EEG humain lors des absences typiques ne présente ni activités rapides (fast runs) ni de dépression post-ictale. De ce point de vue, les DPO de ces modèles sont plus proches de celles rencontrées dans le cas du Syndrome de Lennox-Gastaut (Beaumanoir et coll., 2009).

III. 3. Les modèles génétiques

III. 3. a. Les modèles génétiques murins

Un certain nombre de souris mutantes (*Tottering*, *Lethargic*, *Stargazer*, *Mocha2j*, *Slow-Wave-epilepsy*, *Ducky*) présentent dès les premières semaines postnatales des DPO

corticales de fréquence comprise entre 5 et 7 Hz, associées à un arrêt comportemental (Huntsman et coll., 1999 ; Frankel, 1999 ; Burgess et Noebels, 1999 ; Noebels, 1999 ; Noebels, 2006). Ces souris présentent (à l'exception des souris *mocha2j*), en plus des absences, divers troubles neurologiques, tels que des ataxies, des déficits locomoteurs ou des anomalies cérébelleuses (Crunelli et Leresche, 2002).

Les souris *Tottering*, *Lethargic* et *Stargazer* présentent des mutations pour des canaux calciques voltage-dépendants (Crunelli et Leresche, 2002). Les souris *Tottering* présentent une mutation du gène codant pour la sous-unité $\alpha 1$ du canal calcique de type P/Q (chromosome 8), les souris *Lethargic* d'un gène de la sous-unité $\beta 4$ d'un canal calcique (chromosome 2), et les souris *Stargazer* une mutation de la sous-unité $\gamma 2$ (ou *Stargazin*) d'un canal calcique (Burgess et Noebels, 1999 ; Frankel, 1999 ; Huntsman et coll., 1999 ; Crunelli et Leresche, 2002). Les mutations des canaux calciques chez ces souris ont été considérées comme responsables des absences, les troubles ataxiques étant considérés comme secondaires. Cependant, les recherches en génétique chez des patients souffrant d'absence typique n'ont pas mis en évidence de cas de mutations des canaux calciques. Une mutation du gène CACNA1A, homologue à celle de la souris *Tottering* a été néanmoins identifiée chez une jeune fille souffrant d'épilepsie-absence et de troubles ataxiques (Jouvenceau et coll., 2001). Il est possible que des modifications d'autres protéines, secondaires aux différentes mutations des canaux calciques des souris *Stargazer*, *Lethargic* et *Tottering* soient à l'origine du phénotype absence chez ces animaux (Crunelli et Leresche, 2002). Cette hypothèse est confortée par une étude montrant que les souris knock-out pour le gène *Cacna1a* (présentant des DPO et une ataxie) possèdent au niveau des cellules thalamo-corticales un courant calcique de type T plus fort que celui enregistré chez les animaux sauvages (Song et coll., 2004).

Le phénotype *Ducky* est consécutif à la mutation du gène codant pour la sous-unité accessoire $\alpha 2\delta -2$ au canal calcique (Barclay et coll., 2001). Cette mutation est responsable d'une modification morphologique des dendrites des cellules de Purkinje du cervelet qui pourrait être la cause des troubles moteurs observés chez ces animaux (Brodbeck et coll., 2002). En revanche, l'effet de cette mutation sur les neurones thalamiques et corticaux reste inconnu. Bien que les crises d'absences soient contrôlées chez toutes ces souris par l'injection d'éthosuximide, un profil pharmacologique complet n'a été réalisé que pour la souris *Lethargic*.

Les souris *Mocha2j* présentent une mutation nulle du gène *Nhe 1* codant pour un échangeur Na^+/H^+ (Cox et coll., 1997). Cette mutation pourrait être responsable des DPO présentes dans ces souris puisqu'un changement du pH cérébral, ou des gradients osmotiques, pourraient modifier la cinétique d'un grand nombre de canaux ioniques, de transporteurs et de récepteurs contrôlant l'excitabilité membranaire (Noebels, 1999).

Les souris knock-out pour la sous-unité $\beta 3$ du récepteur GABAergique de type A ($\beta 3^{-/-}$) sont considérées comme un modèle du syndrome d'Angelman, un syndrome complexe incluant des crises d'épilepsie généralisées (Homanics et coll., 1997 ; DeLorey et coll., 1998). Cette sous-unité est exprimée, au sein du thalamus, exclusivement dans le noyau réticulé (nRT) (Wisden et coll., 1992). Les neurones du nRT des souris $\beta 3^{-/-}$ présentent une diminution de plus de 50 % de l'amplitude et de la fréquence des PPSI spontanés de type GABA_A (Huntsman et coll., 1999). De plus, les tranches thalamiques des souris $\beta 3^{-/-}$ présentent, après stimulation de la capsule interne, des oscillations hautement synchronisées (Huntsman et coll., 1999). L'ensemble de ces résultats suggèrent que l'inhibition intra-nRT joue un rôle important dans la prévention d'une synchronisation paroxystique au sein du thalamus (Huntsman et coll., 1999 ; Sohal et coll., 2000).

III. 3. b. Les modèles génétiques rongeurs

III. 3. b. i. Le rat WAG/Rij

Le rat WAG/Rij (Wistar Albino Glaxo from Rijswijk) est une sous-lignée de la souche WAG créée par A.L. Bacharach en 1924 pour les laboratoires Glaxo. En 1986, van Luijtelaar et Coenen (van Luijtelaar et Coenen, 1986) découvrent que tous les rats WAG/Rij adultes (sans prédominance sexuelle significative) de leur laboratoire présentent dans l'EEG des DPO entre 7 et 10 Hz (figure 7C), bilatérales, symétriques et généralisées à l'ensemble du cortex (van Luijtelaar et Coenen, 1989 ; Meeren et coll., 2002) avec néanmoins une prédominance dans les régions frontales (Drinkenburg et coll., 1993). Ces DPO sont associées à une immobilité de l'animal et à des manifestations cliniques légères telles que des myoclonies faciales, des mouvements rythmiques des vibrisses, un abaissement de la tête et une accélération de la respiration (Coenen et van Luijtelaar, 2003).

Les DPO des rats WAG/Rij apparaissent dans l'EEG à partir de 4 mois, et tous les animaux présentent des DPO à l'âge de 6 mois (Coenen et van Luijtelaar, 2003). A cet âge, ces rats présentent entre 16 et 20 décharges par heure d'une durée individuelle moyenne de 5 secondes. En dehors des DPO, les rats WAG/Rij présentent des caractéristiques comportementales similaires à celles des rats de la souche non consanguine Wistar (voir pour revue Coenen et van Luijtelaar, 2003).

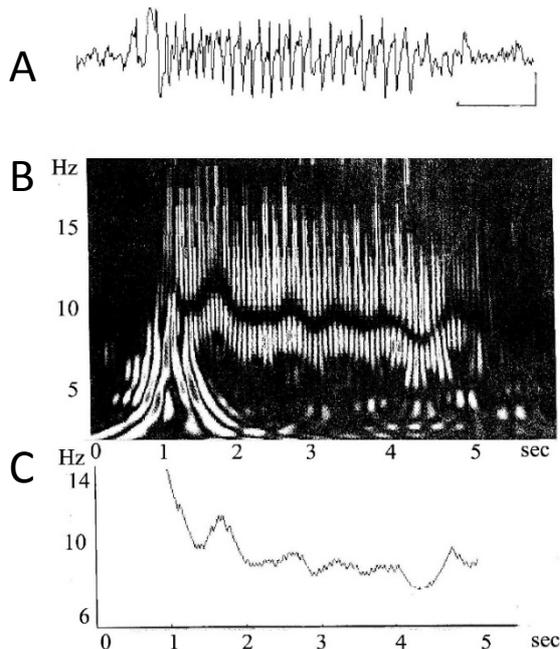


Figure 7 : Propriétés des DPO chez le rat WAG/Rij.

A, Décharge *pointe onde* de 4 s enregistré au niveau du cortex somatosensoriel. **B**, Carte temps-fréquence de la décharge montrant les variations au cours du temps de la fréquence interne du signal EEG montré en A. **C**, Variation de la composante fréquentielle principale au cours du temps. D'après Bosnyakova et coll., 2007.

L'état de vigilance influence grandement l'incidence des DPO chez les rats WAG/Rij. Dans plus de 80 % des cas, les DPO apparaissent pendant les états d'éveil calme et de sommeil lent léger (Drinkenburg et coll., 1991). Dans certains cas, des DPO sont observées au cours du sommeil lent profond ou de l'éveil actif. Par contre les DPO sont très rarement observées au cours du sommeil paradoxal. Ce profil d'apparition des DPO en fonction des différents états de vigilance est similaire à celui décrit chez l'homme (Mirsky et coll., 1986 ; Niedermeyer, 1996).

L'incidence des DPO chez les rats WAG/Rij est aussi fonction du rythme circadien. La fréquence de récurrence des crises présente un maximum entre la quatrième et la cinquième heure de la période d'obscurité et un minimum au début de la période d'éclaircissement (van Luijtelaar et Coenen, 1988 ; van Luijtelaar et coll., 2001). L'incidence des DPO chez l'homme suit également un rythme circadien et est maximale au réveil et pendant les périodes de repos (Burr et coll., 1991).

L'incidence des DPO chez les rats WAG/Rij est fortement diminuée par l'injection des drogues classiquement utilisées pour le traitement des épilepsies-absences (éthosuximide, valproate de sodium). Elle est en revanche augmentée par certaines drogues anticonvulsives (diphénylhydantoïne et carbamazépine) qui aggravent les crises d'épilepsie-absence humaines (Peeters et coll., 1988 ; Coenen et van Luijtelaar, 2003). Des études pharmacologiques suggèrent que les DPO des rats WAG/Rij sont associées à une hyperactivité GABAergique. Le muscimol, un agoniste des récepteurs GABA_A augmente l'incidence des crises et la bicuculline, un antagoniste de ces mêmes récepteurs, diminue leur incidence lorsqu'ils sont injectés par voie systémique (Peeters et coll., 1989). La tiagabine, un inhibiteur de la recapture du GABA, augmente le nombre et la durée des crises chez les WAG/Rij (Coenen et coll., 1995). Les benzodiazépines, agonistes allostériques des récepteurs GABA_A diminuent l'incidence des DPO lorsqu'ils sont injectés par voie systémique (Coenen et van Luijtelaar, 2003). En accord avec cet effet aggravant du GABA, il a été montré que les antagonistes des récepteurs GABA_B (CGP 35348 et CGP 36742) diminuent le nombre et la durée des DPO chez ces animaux (pour revue voir Coenen et van Luijtelaar, 2003).

Les effets du glutamate chez les WAG/Rij sont similaires à ceux observés dans les épilepsies convulsives. En effet, les antagonistes glutamatergiques diminuent l'incidence des DPO tandis que les agonistes augmentent la probabilité de survenue des crises.

III. 3. b. ii. Le GAERS

Les GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg) constituent une lignée consanguine de rats établie par M. Vergnes et C. Marescaux au début des années 1980, à partir d'une colonie de rats Wistar dont 30 % présentaient spontanément des DPO associées à un arrêt comportemental (Danober et coll., 1998). Parallèlement, une souche de rats contrôle, les rats NEC (*Non Epileptic Control*), a également été sélectionnée à partir des animaux non épileptiques de la colonie initiale. La lignée des GAERS a été le modèle utilisé au cours de mes recherches doctorales.

Les GAERS présentent spontanément dans l'EEG des DPO bilatérales et synchrones dans les deux hémisphères (figure 8). Ces épisodes paroxystiques débutent et se terminent brutalement. La fréquence interne des DPO est comprise entre 6 et 9 Hz (figure 8C ; Danober et coll., 1998), leur durée chez les GAERS de 4 mois est de $17 \pm$

10 sec et leur fréquence de récurrence est de 1,3 fois/min (Vergnes et coll., 1982 ; Marescaux et coll., 1992b). Les DPO des GAERS sont concomitantes avec un arrêt comportemental et un mouvement rythmique des vibrisses et des muscles de la face. Le tonus musculaire du cou est parfois diminué lors de la crise, conduisant à un léger abaissement de la tête. Quand les DPO surviennent chez l'animal en mouvement, son activité comportementale s'interrompt puis reprend lorsque la décharge cesse (Vergnes et coll., 1982 ; Marescaux et coll., 1992b). Au cours des DPO, les réponses comportementales à de faibles stimuli sensoriels sont abolies. Néanmoins, une stimulation soudaine ou inattendue interrompt les DPO (Vergnes et coll., 1991). Les premières études visant à révéler la chronologie d'apparition des crises chez les GAERS suggèrent un début aux alentours de 30 jours postnataux avec, à 40 jours, seulement 30 % des animaux présentant des activités paroxystiques (Danober et coll., 1998). Une récente étude collaborative entre mon équipe et celle d'Antoine Depaulis, à laquelle j'ai collaboré, indique une mise en place progressive des oscillations pathologiques avec un début dès la fin de la deuxième semaine post-natale (voir Article en annexe). La fréquence de récurrence des DPO est maximale à partir de 4 – 6 mois et les décharges épileptiques restent présentes jusqu'à la mort de l'animal (Vergnes et coll., 1986). En dehors des crises, les GAERS ne présentent aucun autre trouble neurologique ou comportemental (Vergnes et coll., 1991).

L'apparition de DPO dans l'EEG des GAERS est corrélée avec certains états de vigilance. Les DPO apparaissent au cours de l'éveil calme et sont absentes lors des phases d'éveil actif, de sommeil lent et de sommeil paradoxal (Danober et coll., 1998).

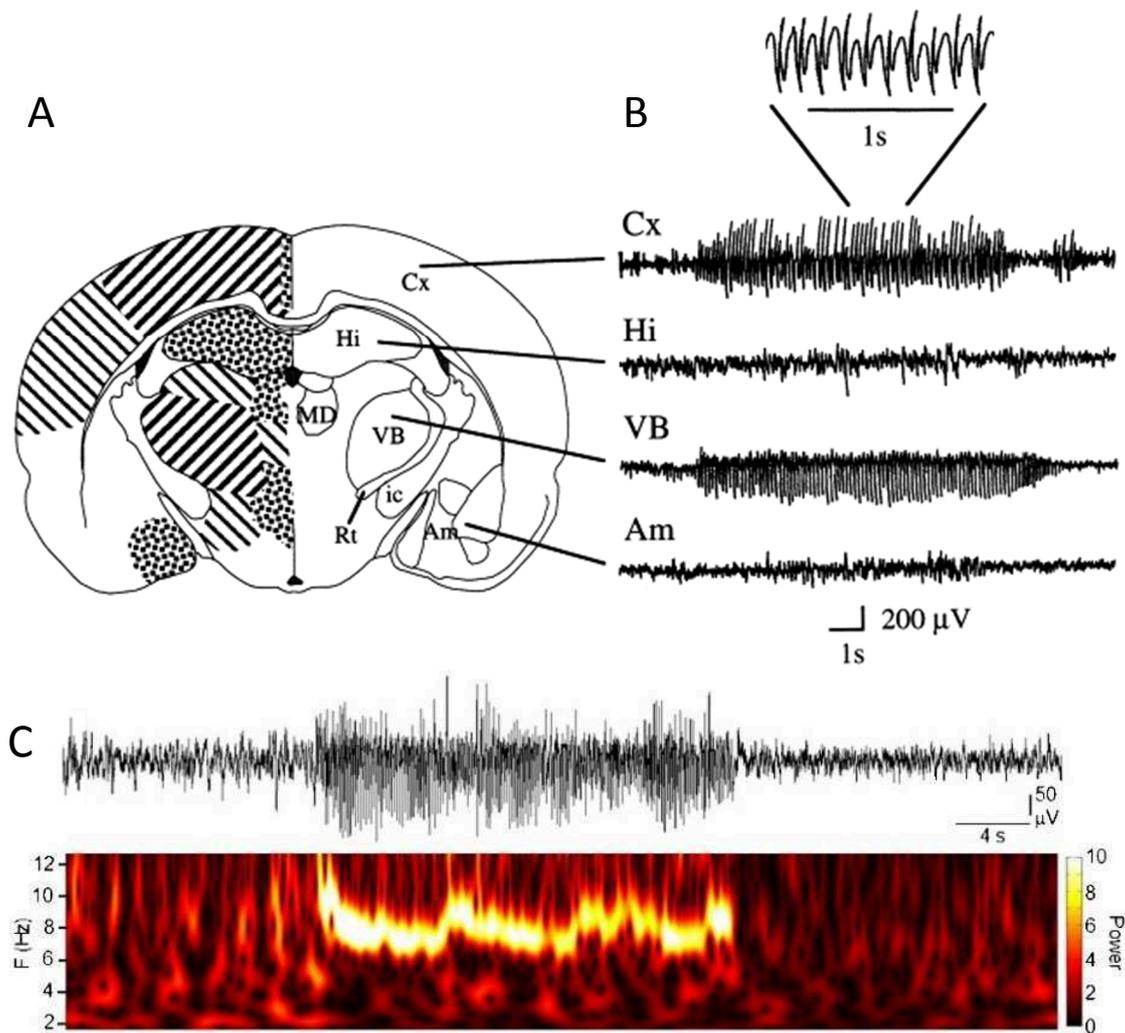


Figure 8 : Propriétés des DPO chez le GAERS.

A, Localisation des décharges de *pointe-ondes* (DPO) sur une représentation schématique d'une coupe coronale de cerveau de rat. Hachure à droite : DPO de faible amplitude, hachure à gauche : DPO de forte amplitude, pointillés : pas de DPO, en blanc : les régions non enregistrées. **B**, enregistrement simultané, au cours d'une crise, de l'EEG du cortex (Cx), de l'hippocampe (Hi), du noyau ventrobasal du thalamus (VB), et de l'amygdale (Am). En insert : agrandissement de l'enregistrement cortical. Abréviations : ic : capsule interne, MD : noyau médiodorsal du thalamus, Rt : noyau réticulaire du thalamus. A et B d'après Danober et coll., 1998.

C, carte temps-fréquence (bas) d'une DPO (haut) enregistrée *in vivo* en regard du cortex somatosensoriel primaire chez un GAERS adulte. C, D'après Depaulis et coll., 2016.

III. 4. Pharmacologie des DPO chez les rats GAERS

Les absences chez les GAERS sont supprimées par trois drogues utilisées pour le contrôle des crises d'épilepsie-absence humaine (éthosuximide, valproate de sodium, benzodiazépines). Elles sont accentuées par deux molécules sans effet ou aggravant les crises humaines (carbamazépine et phénytoïne) (Micheletti et coll., 1985 ; Loiseau et coll., 1995 ; Mattson, 1995).

L'injection intrapéritonéale d'agonistes GABA_A (muscimol, THIP) ou de GABA-mimétiques (inhibiteurs de la transaminase GABA : γ -vinyl-GABA et L-cycloserine, et inhibiteurs de la recapture du GABA : SKF 89976 et tiagabine) provoque une augmentation dose-dépendante de la durée des DPO (Vergnes et coll., 1984 ; Marescaux et coll., 1992c). Des résultats similaires ont été obtenus lors de l'injection de ces mêmes drogues dans les noyaux de relais du thalamus (Liu et coll., 1991 ; Marescaux et coll., 1992c). Cependant, l'injection de GABA-mimétiques dans le nRT des GAERS supprime les crises (Liu et coll., 1991). L'injection systémique, ou intrathalamique locale, d'antagonistes GABA_A (picrotoxine ou bicuculline) diminue l'incidence des crises (Danober et coll., 1998).

Les agonistes GABA_B, comme le baclofen, augmentent la fréquence de récurrence des crises lorsqu'ils sont injectés par voie intra-péritonéale, bilatéralement dans le nRT ou dans les noyaux thalamiques de relais. En revanche, l'injection d'antagonistes GABA_B (CGP 35348) supprime les DPO chez les GAERS (Marescaux et coll., 1992a).

Le système neuromodulateur cholinergique, qui contrôle des propriétés physiologiques d'oscillateur de la boucle thalamo-corticale, semble jouer un rôle majeur dans le contrôle des crises d'absences chez les GAERS. La destruction unilatérale, après transection du corps calleux, du noyau basal de Meynert (NB), dont les cellules cholinergiques projettent vers de larges régions du cortex ipsilatéral (Rye et coll., 1984 ; Mesulam, 1995) abolit irréversiblement toute crise dans le cortex ipsilatéral (Danober et coll., 1994). A contrario, la destruction du noyau latérodorsal du tegmentum (LDT) et/ou du noyau pedonculopontin du tegmentum (PPTg), dont les neurones cholinergiques projettent vers les noyaux thalamiques de relais et le nRT (Sato et Fibiger, 1986 ; Hallanger et coll., 1987 ; Rye et coll., 1987 ; Jourdain et coll., 1989), n'a aucun effet sur la survenue des crises (Danober et coll., 1995). L'activation pharmacologique de ces noyaux abolit, abolit, elle, les crises de manière réversible (Danober et coll., 1995, 1998).

L'administration systémique d'agonistes muscariniques (pilocarpine, carbachol, oxotrémorine), d'un agoniste nicotinique (nicotine) ou d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase (physostigmine) supprime les DPO de manière dose-dépendante (Danober et coll., 1993). Par contre l'injection d'un antagoniste nicotinique n'a pas d'effet sur les DPO (Danober et coll., 1993). Il convient de noter que la scopolamine, un antagoniste muscarinique augmente l'incidence des crises à faible

dose mais les supprime à partir de 0,05 mg/kg. Ces données suggèrent que les DPO surviendraient préférentiellement au cours d'une fenêtre de faible activité cholinergique correspondant au stade d'éveil tranquille ou de sommeil lent précoce.

III. 5. Etudes génétiques chez les GAERS

Des croisements de type Mendélien ont montré que la transmission du phénotype DPO chez les GAERS était de type autosomal dominant (Danober et coll., 1998). Plus récemment, une étude combinant une analyse génétique à des enregistrements EEG a démontré l'origine génétique polygénique du phénotype DPO des GAERS (Rudolf et coll., 2004). Trois QTL (Quantitatif Trait Loci) localisés sur les chromosomes 4 (Swd/gaers1), 7 (Swd/gaers2) et 8 (Swd/gaers3) ont pu être associés au degré de sévérité, à la fréquence interne, à la fréquence de récurrence et à la durée des crises. Ces régions correspondent aux régions chromosomiques humaines 7q31-34 (Swd/gaers1), 7p14-15 (Swd/gaers1), 11q23 (Swd/gaers3), 22q12-13 (Swd/gaers2) et 12q12-13 (Swd/gaers2). Cependant, aucun locus associé au phénotype absence n'a été caractérisé sur ces portions de chromosomes humains (Rudolf et coll., 2004). Ainsi, il est probable que le phénotype DPO résulte d'un gène dominant muté et que d'autres gènes modifient l'ontogenèse, la durée et la fréquence de récurrence des crises (Danober et coll., 1998 ; Crunelli et Leresche, 2002).

Une augmentation significative du taux d'acide ribonucléique messager (ARNm) pour les gènes des deux sous-unités du canal calcique de type T, $\alpha 1G$ et $\alpha 1H$, a été mise en évidence chez les GAERS pour les neurones thalamo-corticaux et les neurones du nRT respectivement (Talley et coll., 2000). Une étude récente et extensive de séquençage complet du génome des GAERS et sa comparaison à celui des NEC n'a mis en évidence qu'un seul variant, pour le canal calcique de type T, $\alpha 1H$, comme lié à la forte survenue de crises d'absences chez les GAERS (Casillas-Espinosa et coll., 2017).

III. 6. Activités corticales et thalamiques chez les GAERS

Des enregistrements EEG multiples chez les GAERS ont montré que les DPO prédominent dans le thalamus postérolatéral et le cortex frontopariétal (Danober et coll., 1998). Les DPO surviennent apparemment simultanément dans le cortex et le thalamus et sont systématiquement bilatérales et synchrones (Vergnes et coll., 1987,

1990). Les DPO sont également présentes dans le striatum, l'hypothalamus, le tegmentum et la substance noire mais leurs amplitudes sont faibles comparées à celles enregistrées au niveau du cortex et du thalamus (Vergnes et coll., 1990, Slaght et coll., 2002, 2004). Les DPO sont absentes dans l'hippocampe et les structures limbiques (septum, amygdale, cortex piriforme et cingulaire) (figure 8), et sont de faible amplitude, voire absentes, dans les noyaux thalamiques médians et antérieurs (Vergnes et coll., 1987).

L'intégrité fonctionnelle du cortex cérébral semble essentielle au développement des DPO dans le thalamus. En effet, l'abolition de l'activité corticale consécutive à l'injection intra-corticale de KCl, provoque la disparition complète des DPO dans le thalamus (Vergnes et Marescaux, 1992). De plus, les DPO sont absentes chez l'animal après lésion électrolytique bilatérale du thalamus latéral (Vergnes et Marescaux, 1992). Des lésions spécifiques du nRT à l'aide d'un agent cytotoxique, ou l'injection de Cd²⁺ (qui agit vraisemblablement en bloquant les conductances calciques et/ou les conductances calciques voltage-dépendantes) dans ce noyau thalamique, abolissent les DPO (Avanzini et coll., 1993).

Après lésion du corps calleux, la synchronisation des DPO entre les deux hémisphères cérébraux est fortement réduite mais celle-ci est encore présente entre les régions thalamiques et corticales ipsilatérales (Vergnes et coll., 1989).

L'ensemble de ces travaux suggère que l'intégrité fonctionnelle du nRT, du noyau ventrolatéral (VL) du thalamus et du cortex cérébral est indispensable à la pleine expression des DPO chez les GAERS. Depuis 1998, de nombreuses études d'électrophysiologie intracellulaire in vivo, menées par S. Charpier et collaborateurs (Pinault et coll., 1998 ; Charpier et coll., 1999 ; Slaght et coll., 2002b, 2004 ; Polack et coll., 2007, 2009a, b ; Chipaux et coll., 2011, 2013) ont permis de déterminer les activités électriques cellulaires dans les différents compartiments de la boucle thalamo-corticale au cours des DPO chez les GAERS.

IV. Le foyer cortical des GAERS et ses neurones ictogéniques

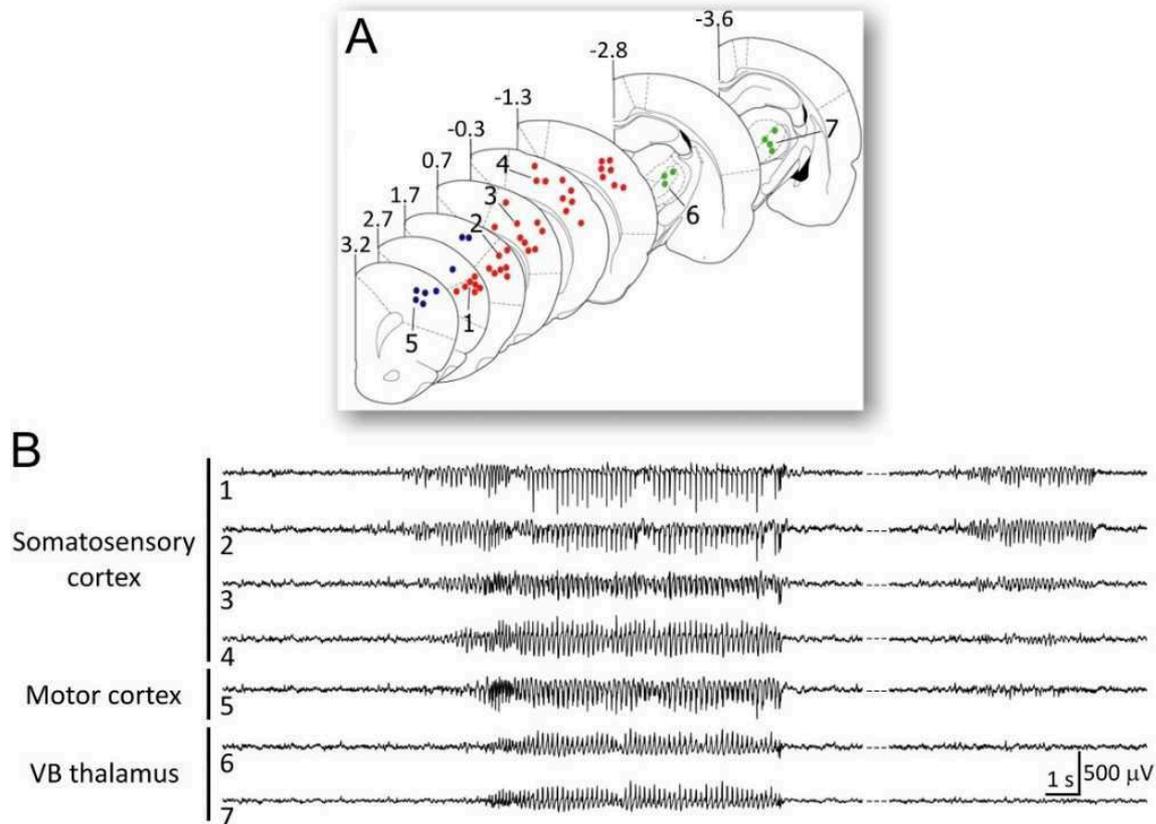
En 2002, une étude réalisée chez le rat WAG/Rij comportemental, utilisant des enregistrements multi-sites corticaux et thalamiques combinés à une analyse non linéaire des signaux EEG a montré que les DPO étaient initiés dans le cortex

somatosensoriel primaire orofacial de ces animaux (Meeren et coll., 2002) (voir Introduction, section III. 3. b. i.). En 2007, les équipes de S. Charpier et A. Depaulis (Polack et coll., 2007) ont obtenu la démonstration que les DPO chez le GAERS avaient comme origine la même région néocorticale et qu'elles étaient propagées, puis généralisées, selon le même pattern spatio-temporel dans les circuits thalamo-corticaux. Par des expériences d'inhibition pharmacologique et d'irradiation, ces deux équipes ont démontré que cette région était nécessaire et suffisante pour générer les paroxysmes cérébraux associés aux absences. De plus, elles ont identifié une sous-population de neurones pyramidaux dans les couches profondes de ce foyer cortical présentant un grand nombre de propriétés électrophysiologiques suggérant un rôle clé dans les processus ictogéniques. Je vais décrire ici les principales propriétés pro-ictogéniques du foyer cortical chez le GAERS et de ses neurones pyramidaux localisés dans les couches 5 et 6.

IV. 1. Identification

Des enregistrements multi-sites de potentiels de champs locaux (LFP) chez le GAERS libre de ses mouvements ont été réalisés dans les régions corticales et thalamiques (figure 9B), incluant les aires corticales motrices et somatosensorielles primaires et les noyaux du complexe ventrobasal du thalamus (Polack et coll., 2007 ; Depaulis et Charpier, 2018). Dans plus de 90 % des cas, les DPO apparaissaient en premier au niveau du cortex somatosensoriel primaire de la face (S1) (figure 9B, gauche), les 10 % restants montraient une survenue apparemment simultanée des paroxysmes dans tous les sites corticaux enregistrés. Les crises n'étaient jamais initialement détectées au niveau du thalamus. De manière cohérente, des activités oscillatoires isolées, avec des fréquences internes légèrement supérieures à celles des DPO (~10 Hz), survenaient dans la zone d'initiation des crises. Elles étaient très atténuées dans le cortex moteur et absentes dans les potentiels de champ des noyaux thalamiques et dans les neurones thalamo-corticaux (figure 9B, droite) (Polack et coll., 2007, 2009 ; Depaulis et Charpier, 2018). Les délais calculés entre le début des DPO dans le cortex S1 et le cortex moteur étaient d'environ 1 seconde, et de 1,5 seconde pour les noyaux thalamiques (Polack et coll., 2007).

Dans ces études, comme observé classiquement chez les GAERS (Depaulis et van Luijckelaar, 2005), les DPO étaient toujours concomitantes à un arrêt



comportemental, une diminution du tonus musculaire au niveau du cou, des clonies au niveau vibrisses et/ou des mastications légères (Polack et coll., 2007).

Figure 9 : Enregistrements LFP multi-sites montrant l'initiation des DPO dans le cortex somatosensoriel facial des GAERS.

A, coupes superposées, reconstruites à partir de l'atlas stéréotaxique du cerveau de rat, aux distances indiquées (mm) par rapport au bregma. Les points rouges, bleus et verts représentent respectivement les sites d'enregistrement dans le cortex somatosensoriel, le cortex moteur et le complexe ventrobasal du thalamus. **B**, enregistrements simultanés de LFP dans un GAERS en comportement, au niveau des cortex somatosensoriel et moteur, ainsi que du thalamus ventrobasal (VB). L'emplacement de chaque électrode d'enregistrement est indiqué par les numéros correspondants en A. D'après Depaulis et Charpier, 2018.

IV. 2. Un foyer nécessaire et suffisant

Le rôle ictogénique du cortex S1 suppose deux propriétés en relation avec son implication causale dans la survenue des crises : (1) son inactivation doit empêcher le déclenchement des paroxysmes locaux et généralisés et, (2) l'inactivation de zones cérébrales distantes – même celles connectées au cortex S1 – ne devrait pas prévenir la survenue d'oscillations paroxystiques dans cette région corticale. Ces deux conditions ont été vérifiées en utilisant diverses méthodes d'inactivation.

Il a été montré qu'une infusion locale dans le cortex S1 de tétrodotoxine (TTX), un inhibiteur des canaux Na^+ voltage-dépendants empêchant la décharge de potentiels d'action, interrompt les DPO localement et concomitamment dans les régions

corticales distantes et les noyaux thalamiques correspondants (Polack et coll., 2009). À l'inverse, le même blocage pharmacologique des autres aires corticales et thalamiques supprime les oscillations paroxystiques dans les régions empoisonnées mais n'a aucun effet sur la capacité du cortex S1 à exprimer des DPO (Polack et coll., 2009). Ces données sont en accord avec l'observation précédente que l'application locale d'éthosuximide (ETX, médication anti-absence) dans le cortex S1 supprime spécifiquement les DPO chez le GAERS (Manning et coll., 2004), suggérant que l'action anti-absence de l'ETX est due à un effet direct et préférentiel sur les neurones du cortex S1. Les effets des inactivations aiguës du cortex S1 dans les GAERS ont été confirmés par l'utilisation d'irradiations X à faible énergie ciblant des zones cérébrales spécifiques avec une précision submillimétrique (Pouyatos et coll., 2016). Le ciblage du cortex S1 a pour conséquence de réduire de manière durable, jusqu'à 4 mois, le nombre de DPO ou d'altérer de manière considérable la construction et la propagation des activités épileptiques (Pouyatos et coll., 2013).

L'ensemble de ces données démontrent, au moins dans les modèles de rats GAERS et WAG/Rij, que les DPO sont initiées dans le cortex S1 et se propagent secondairement, et rapidement via les circuits synaptiques, dans le cortex moteur et le thalamus. Une exploration en profondeur du cortex S1 à l'aide de microélectrodes intracellulaires a permis de mettre en évidence une population de neurones ayant les propriétés attendues de neurones générateurs de crises.

IV. 3. Activités neuronales

Un foyer épileptique, tel que décrit ci-dessus, est une région cérébrale dans laquelle des neurones peuvent effectuer une transition d'un état normal à un état pathologique, souvent de manière imprévisible, brusque et pendant une courte période, en raison de diverses altérations dans la structure et/ou les propriétés fonctionnelles des réseaux neuronaux locaux. Ces altérations incluent potentiellement – mais non exclusivement – une morphologie aberrante des neurones, un changement dans leur excitabilité, des modifications dans les fonctions synaptiques excitatrices et/ou inhibitrices, un dysfonctionnement astrocytaire ou de la barrière hémato-encéphalique, une neuroinflammation et des gains ou pertes de composantes neuronales individuelles (Avanzini et coll., 2007). Ces altérations, isolées ou combinées, rendent les réseaux neuronaux du foyer enclin à générer des synchronisations paroxystiques et rythmiques. Dans le cas du foyer cortical des GAERS, il existe une population de

neurones pyramidaux présentant des altérations dans leur excitabilité membranaire, dans leur activité synaptique et dans les profils de décharges, pendant et en dehors des crises, cohérent avec un rôle pro-ictogénique. Je vais décrire ces propriétés telles que connues avant mes recherches doctorales.

IV. 3. a. Propriétés générales

Conjointement à la survenue des DPO dans l'électrocorticogramme (ECoG), les principaux types neuronaux corticaux (neurones pyramidaux, cellules étoilées et interneurones GABAergiques) chez le GAERS présentent des modifications globalement analogues dans leur profil d'activité spontanée. Les activités synaptiques de fond dans ces neurones, essentiellement dépolarisantes, irrégulières et rapides entre les crises, sont rapidement remplacées par des dépolarisations rythmiques amples et en phase avec les *pointes* dans l'ECoG (figure 10), générant différentes fréquences de décharge en fonction du type cellulaire et des couches (Charpier et coll., 1999 ; Paz et coll., 2005 ; Polack et coll., 2007, 2009, Polack et Charpier 2009 ; Chipaux et coll., 2011, 2013 ; Pouyatos et coll., 2013). Ces paroxysmes cellulaires se superposent à une hyperpolarisation prolongée qui dure tout au long de la crise, laquelle résulte d'un arrêt transitoire du bruit synaptique dépolarisant, entraînant un déplacement passif vers le potentiel membranaire au repos et une diminution de la conduction membranaire globale des neurones due à l'interruption des activités synaptiques continues (Charpier et coll., 1999).

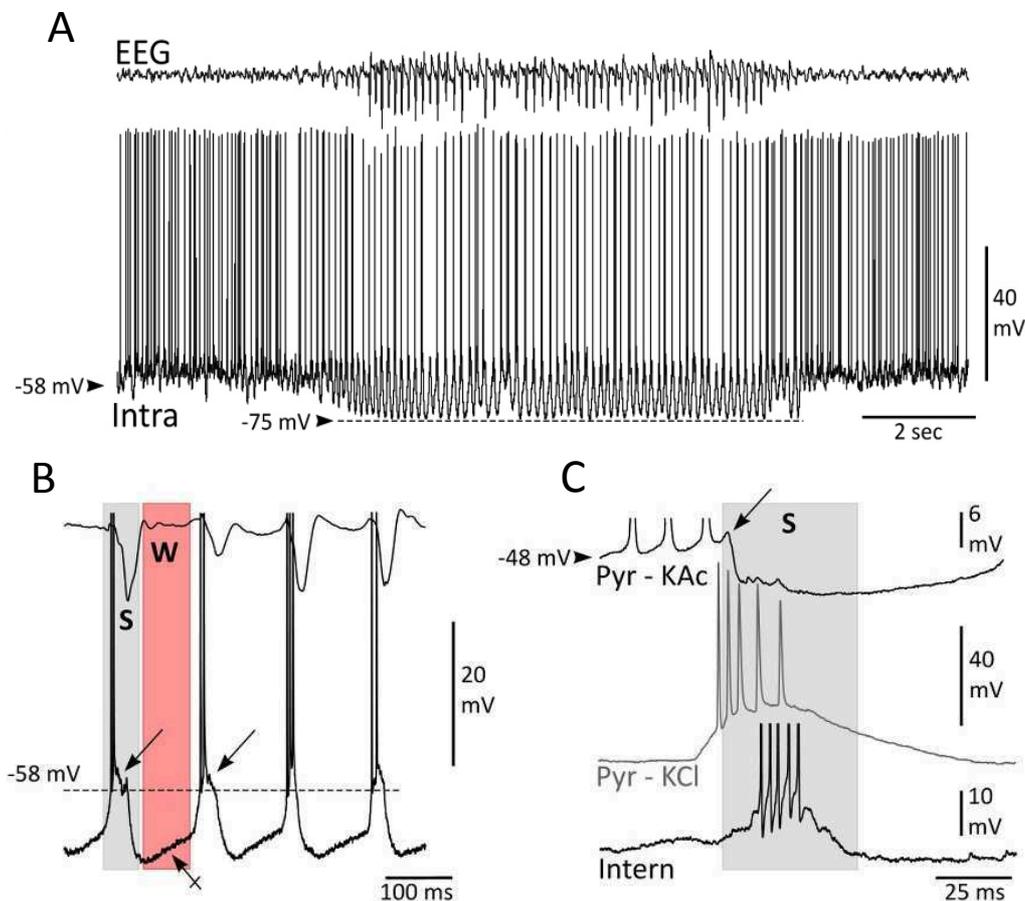
IV. 3. b. Spécificités des neurones ictogéniques

Les neurones pyramidaux des couches profondes (5 et 6) du cortex S1 chez le GAERS présentent un ensemble de propriétés électrophysiologiques spécifiques suggérant un rôle crucial dans la genèse des crises, et qui a conduit à leur qualification de « neurones ictogéniques » (Polack et coll., 2007).

IV. 3. b. i. Activités inter-ictales

Pendant les périodes inter-ictales, ces neurones ont un potentiel membranaire moyen plus dépolarisé (figure 10A), comparé au même type neuronal enregistré dans les autres régions corticales du GAERS ou dans le même cortex des rats non-épileptiques (Polack et coll., 2007, 2009 ; Depaulis et Charpier, 2018). Cette dépolarisation anormale est corrélée à une fréquence de décharge spontanée plus élevée de

potentiels d'action, lesquels sont générés par un barrage continu de potentiels synaptiques montrant de très rares hyperpolarisations (figure 12 ; Polack et coll., 2007, 2009, Polack et Charpier 2009 ; Chipaux et coll., 2011, 2013). Le patron de décharge des potentiels d'action de ces neurones est globalement plus régulier comparé aux autres neurones corticaux (Polack et coll., 2007), et de courtes périodes (0.5 – 1 s) d'oscillations membranaires supraliminaire, avec une fréquence interne d'environ de 10 –12 Hz, peuvent survenir spontanément sans être corrélées à des oscillations de même fréquence dans l'ECOG sous-jacent (Polack et coll., 2007). De plus, ces neurones présentent une propension plus élevée à générer spontanément, ou lors d'injection de courant dépolarisant, des bouffées de décharges de type *intrinsic bursting*,



bursting, un pattern d'activité intrinsèque favorisant l'émergence des activités épileptiques dans le néocortex (Timofeev et Steriade, 2004).

Figure 10 : Activités inter-critiques et critiques intracellulaires des neurones ictogéniques chez le GAERS.

A, activité intracellulaire d'une cellule pyramidale de la couche 5 (bas) enregistrée simultanément avec l'EEG de surface (haut). L'apparition d'une DPO dans l'EEG s'accompagne dans le neurone de dépolarisations rythmiques qui se superposent à une hyperpolarisation tonique (ligne pointillée). **B**, segment (0,5 s de durée) d'enregistrement lors de la période critique. Les composantes *pointe* (S) et *onde* (W) des DPO et leurs corrélations intracellulaires sont délimitées respectivement par les

rectangles gris et rouge. La ligne pointillée indique la valeur moyenne du potentiel de membrane interictale. La décharge de potentiels d'actions associée à la composante *pointe* est interrompue par des événements synaptiques hyperpolarisants (flèches obliques). Dans cette cellule, la phase dépolarisante du cycle oscillatoire affiche un profil en forme de rampe (flèche barée). **C**, alignement des activités neuronales associées à la composante *pointe*. La dépolarisation (courant DC de +1 nA) d'un neurone pyramidal (enregistré avec une électrode au KAc, trace du haut) au-dessus du potentiel d'équilibre du Cl⁻ indique une dépolarisation synaptique précoce (flèche) rapidement interrompue par une hyperpolarisation. Lorsque le neurone est chargé avec ions chlorures (enregistrement avec une électrode au KCl, trace intermédiaire), l'hyperpolarisation synaptique est convertie en potentiel dépolarisant de grande amplitude, suggérant la présence d'une conductance synaptique médiée par les récepteurs GABA_A. L'inhibition synaptique des neurones pyramidaux au cours de la composante *pointe* est temporellement corrélée avec la décharges des interneurons corticaux (Intern, trace du bas). D'après Depaulis et coll., 2016.

L'activité exacerbée des neurones des couches profondes du cortex S1 en dehors des DPO est convertie en activité « normale », *i.e.* identique à celle décrite dans les mêmes neurones chez les animaux non-épileptiques, lors d'injection systémique d'ETX à des doses suffisantes pour interrompre les crises chez les GAERS (Polack et Charpier, 2009).

IV. 3. b. ii. Activités ictales

Au cours des crises, les neurones pyramidaux des couches profondes du cortex S1 présentent une hyperpolarisation soutenue sur laquelle se greffent des dépolarisations rythmiques en phase avec les composantes *pointes* dans l'ECoG correspondant (figure 10A, B ; Polack et coll., 2007, 2009 ; Polack et Charpier, 2009 ; Chipaux et coll., 2011, 2013). La probabilité de décharge de PA lors de ces dépolarisations est significativement supérieure à celle des autres neurones pyramidaux du foyer et des neurones des couches profondes dans les autres régions corticales chez les mêmes GAERS (Polack et coll., 2007, 2009). De plus, leur décharge lors du cycle *pointe-onde* dans l'ECoG précède systématiquement celle des autres neurones dans le cortex S1, mais aussi celle des neurones localisés dans les régions corticales distantes (figure 11A), dans les noyaux thalamo-corticaux associés (figure 11B) et dans le noyau réticulaire du thalamus (Polack et coll., 2007, 2009, Polack et Charpier 2009 ; Depaulis et Charpier, 2018). Les événements synaptiques et cellulaires sous-tendant l'activité des neurones ictogéniques lors des DPO sont (Polack et coll., 2007, 2009 ; Polack et Charpier 2009 ; Chipaux et coll., 2011 ; Depaulis et Charpier, 2018) (figures 9 – 11) :

- 1) une hyperpolarisation soutenue pendant toute la crise, associée à une augmentation de la résistance membranaire probablement due à l'interruption des conductances synaptiques toniques (phénomène dit de « disfacilitation », voir Charpier et coll., 1999),
- 2) des dépolarisations répétées à la fréquence des *pointes* ECoG dont

la partie initiale, probablement glutamatergique, induit le plus souvent une décharge répétée de PA (de 1 à 4) ; 3) ces dépolarisations synaptiques sont précédées, dans environ la moitié des neurones, par une lente rampe de dépolarisation (figure 10B) (initiée à partir de l'hyperpolarisation membranaire tonique associée à la crise) probablement sous-tendue par l'activation du courant cationique non-spécifique I_h , 4) l'excitation synaptique initiale est suivie par un potentiel synaptique dépolarisant présentant de brèves hyperpolarisations, lesquelles coïncident avec la décharge répétée des interneurones GABAergiques locaux et sont converties en larges dépolarisations par l'injection intracellulaire d'ions chlorures (figure 10C), suggérant la mise en jeu des récepteurs GABAergiques de type A.

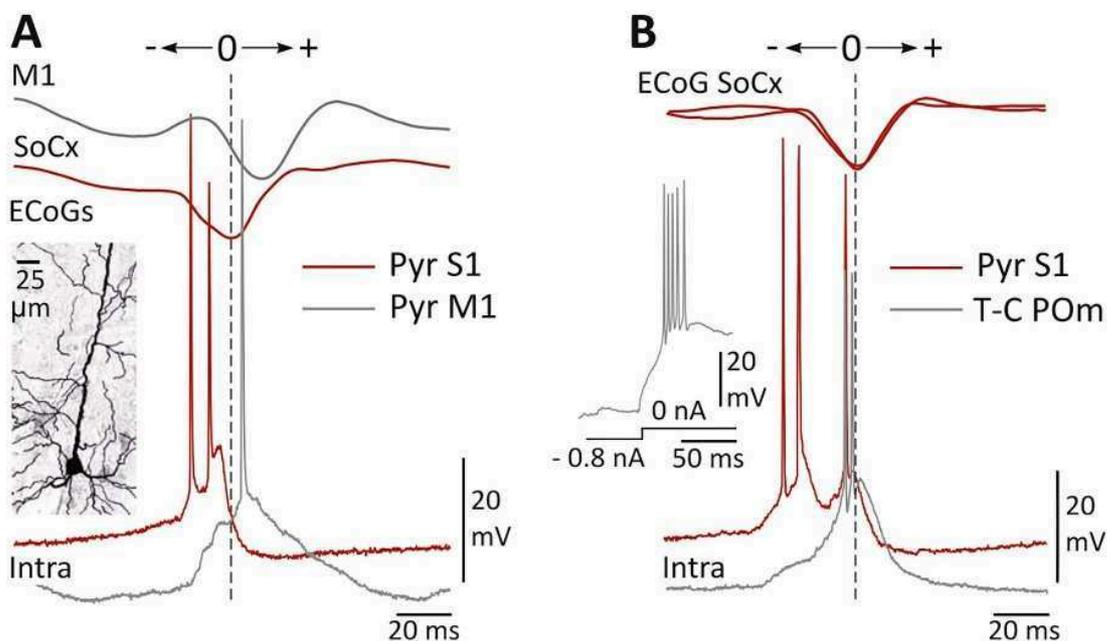


Figure 11 : La décharge des neurones pyramidaux des couches profondes du cortex S1 précède celle des neurones corticaux et thalamiques.

A et **B**, superpositions des activités intracellulaires (traces du bas) enregistrées, dans les mêmes expériences, dans un neurone ictogénique pyramidal (Pyr. S1, traces rouges) (**A** et **B**), dans un neurone pyramidal du cortex moteur (Pyr M1) (trace grise) (**A**) et dans un neurone thalamo-cortical (TC) du noyau POm (trace grise) (**B**). Les ECoGs enregistrés simultanément sont présentés au-dessus des enregistrements intracellulaires. La ligne pointillée verticale indique le pic de négativité de la composante *pointe* de l'ECoG du cortex S1, utilisé comme référence temporelle. Les encarts montrent une microphotographie d'une cellule ictogénique (**A**) et la décharge induite lors d'un rebond post-inhibiteur après injection d'un courant hyperpolarisant dans le neurone T-C. Dans cette figure, SoCx signifie S1. D'après Depaulis et Charpier, 2018.

Il est intéressant de noter que le potentiel d'inversion de cette dernière composante synaptique, aux alentours de -60 mV (Chipaux et coll., 2011), est similaire à celui mesuré dans les mêmes neurones chez l'animal sain, indiquant, contrairement à d'autres formes d'épilepsie corticale (Miles et coll., 2012), que l'ictogénèse dans ce modèle n'est pas dépendante d'un défaut dans le contrôle homéostatique des concentrations en ions chlorures. Le corrélat intracellulaire de la composante *onde*

dans les neurones pyramidaux des couches profondes du cortex S1 est similaire à celui observé dans les autres neurones corticaux : une suspension de toute activité synaptique et de décharge (Polack et coll., 2007, 2009a, 2009b ; Depaulis et Charpier, 2018).

IV. 4. Morphologie des neurones ictogéniques

Chez les rats WAG/Rij, une coloration « classique » de Golgi a révélé que les dendrites des neurones pyramidaux du cortex S1 étaient plus longues et plus ramifiées que dans des régions homologues chez les rats témoins et dans le cortex moteur des mêmes animaux épileptiques (Karpova et coll., 2005). Bien que ces données aient été collectées chez des adultes, et seulement dans les couches superficielles, elles suggèrent que les animaux épileptiques pourraient avoir des neurones aux caractéristiques atypiques dans le site de génération des DPO, avec une plus grande arborisation et probablement un plus grand nombre de contacts synaptiques entre les neurones. Une telle altération morphologique pourrait amplifier leur activité et/ou leur niveau de synchronisation. Chez le GAERS, aucune altération significative de la morphologie des neurones pyramidaux profonds n'a été décrite, en comparaison avec celle des neurones homologues chez les rats non épileptiques. Ils présentent un corps cellulaire triangulaire, un important dendrite apical se prolongeant verticalement vers la surface corticale et des dendrites basals venant de la base du soma (Article 1, figure 1A_b ; Article 2, figure 1A. Cependant, une étude morphométrique détaillée sera requise pour confirmer ou infirmer cette conclusion. Elle est actuellement en cours dans mon laboratoire.

IV. 5. Altérations fonctionnelles et moléculaires

L'ensemble des données décrites ci-dessus ont conduit à considérer le cortex S1 comme le foyer épileptique des GAERS et ses neurones pyramidaux des couches profondes comme les neurones ictogéniques. De plus, une série d'études *in vitro* ont mis en évidence un certain nombre de défauts dans les canaux ioniques et les fonctions synaptiques pouvant rendre compte de l'activité exacerbée et paroxystique des neurones ictogéniques du cortex S1 (voir Depaulis et Charpier, 2018 pour revue). Spécifiquement, l'augmentation des ARNm des canaux sodiques voltage-dépendants, tels que Nav1.1 et Nav1.6, dans le cortex S1 chez le rat WAG/Rij (Klein et coll., 2004) pourrait favoriser un courant dépolarisant persistant (Crill, 1966) responsable de la polarisation membranaire aberrante des neurones ictogéniques. Dans la même lignée de rats, une réduction de la fonction dendritique de I_h dans les neurones pyramidaux

du cortex S1 a été décrite au cours du développement ontogénique des DPO (Strauss et coll., 2004 ; Kole et coll., 2007), un phénomène potentiellement responsable d'une amplification des potentiels d'action calciques dendritiques et de la décharge neuronale en mode « *burst* » (Kole et coll., 2007).

Concernant les mécanismes synaptiques, des altérations de l'inhibition synaptique globale dans le cortex S1 pourrait rendre compte du faible nombre d'hyperpolarisations synaptiques spontanées observées dans les cellules ictogéniques, contribuant ainsi à leur hyperactivité et leur rôle dans le déclenchement des paroxysmes: une perte d'expression des sous-unités GABA_B dans les régions distales des dendrites des neurones pyramidaux (Merlo et coll., 2007) et/ou une réduction de la composante rapide (probablement de type GABA_A) des réponses synaptiques inhibitrices dans les neurones des couches profondes du cortex S1 (D'Antuono et coll., 2006).

Des changements pathogéniques dans le métabolisme glutamatergique et la signalisation synaptique excitatrice ont également été trouvés dans le cortex S1. Les réponses synaptiques dépendantes du NMDA sont de plus longue durée dans le néocortex du GAERS (Pumain et coll., 1992) et sont plus efficaces pour générer des potentiels d'action dans les neurones pyramidaux que chez les animaux témoins (D'Antuono et coll., 2006). De plus, l'ARNm de la stargazine et la protéine elle-même, molécule régulatrice du trafic et de la fonction des récepteurs α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxalone propionate (AMPA), sont spécifiquement surexprimés dans le cortex S1 chez le GAERS (Powell et coll., 2008), conjointement à une augmentation des protéines du récepteur AMPA, GluA1 et GluA2, avec un décours développemental suggérant un rôle physiopathologique dans le phénotype épileptique (Kennard et coll., 2011). Des altérations dans le système glutamatergique métabotropique pourraient également expliquer les propriétés pro-ictogéniques du cortex S1. En effet, les rats WAG/Rij adultes, exprimant des DPO matures, montrent une expression accrue des récepteurs mGlu2/3 et leur blocage pharmacologique réduit le nombre de crises de manière dose-dépendante (Ngomba et coll., 2011). Ces résultats suggèrent que les récepteurs mGlu2/3 pourraient participer à la genèse des DPO et que leur régulation à la hausse pourrait être impliquée dans les phénomènes épileptogéniques.

IV. 6. Rôle du thalamus

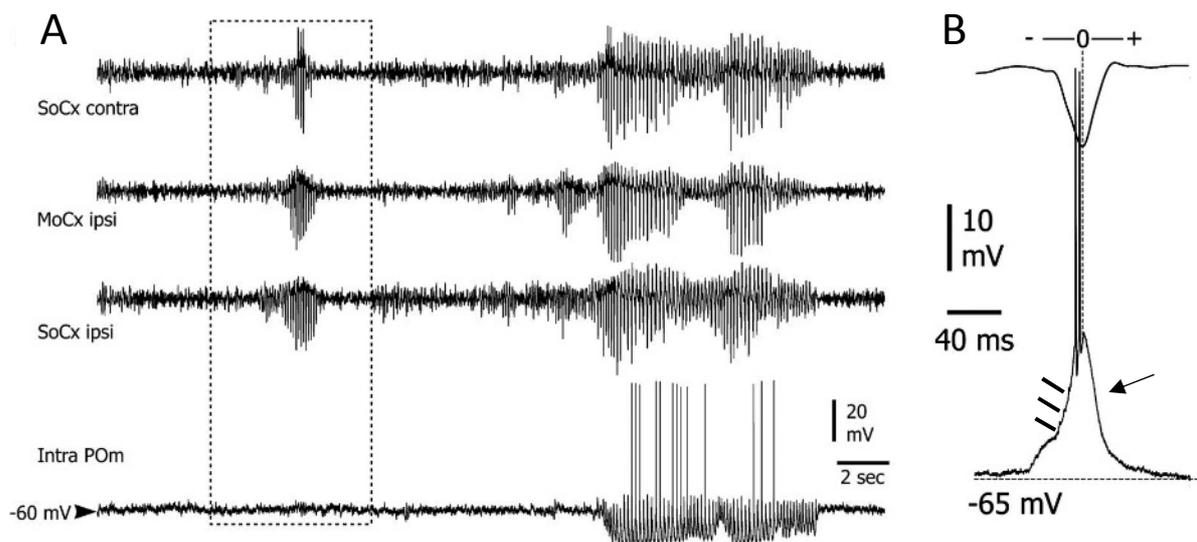
En dehors des crises, les neurones thalamo-corticaux du noyau ventro postéro-médial du thalamus (VPM) et du noyau postéro-médial du thalamus (POm) présentent un potentiel membranaire dépolarisé (~ -57 mV), associé à un tonus synaptique dépolarisant conduisant une décharge erratique de PA (Polack et coll., 2009). A la survenue des crises dans l'ECOG, cette activité tonique est remplacée par une activité oscillatoire, à la fréquence des paroxysmes corticaux, résultant d'interactions complexes entre les propriétés membranaires intrinsèques actives des neurones thalamiques et leurs entrées synaptiques excitatrices et inhibitrices.

Les oscillations dans les neurones thalamiques surviennent sur une hyperpolarisation de la membrane, probablement due à l'activation des récepteurs GABA_B (Charpier et coll., 1999 ; Polack et coll., 2009) résultant de la décharge en bouffées des neurones GABAergiques du nRT (Slaght et coll., 2002). Cette hyperpolarisation membranaire, variable en forme et amplitude selon les neurones thalamiques (Pinault 2003 ; Polack et coll., 2009), permet dans la majorité des cellules l'activation du courant cationique I_h , induisant une rampe de dépolarisation qui, associée à une volée de PPSE, issue probablement de la décharge des neurones cortico-thalamiques, active secondairement le courant calcique I_T et le déclenchement d'un potentiel calcique à bas-seuil (Polack and Charpier, 2006 ; Polack et coll., 2009). Ce rebond de dépolarisation déclenche éventuellement un ou plusieurs PA sodiques, mais avec une probabilité nettement inférieure à celle des neurones corticaux correspondants (les neurones ictogéniques) (Polack et coll., 2009). Enfin, la phase de repolarisation des activités rythmiques thalamiques, associée à l'arrêt de décharge des neurones, est corrélée à un accroissement de conductance chlore-dépendante (Polack and Charpier, 2006 ; Polack et coll., 2009), suggérant l'activation des synapses GABA_A issues du nRT (Slaght et coll., 2002)

IV. 6. a. Activités des neurones thalamiques en relation avec le foyer cortical

L'activité de décharge et l'excitabilité des neurones thalamo-corticaux, telles qu'elles sont décrites ci-dessus et dans pharmacologiques des DPO (voir Depaulis et Charpier, 2018 ; Timofeev et Steriade, 2004 pour revue), ne sont pas compatibles avec un rôle direct du thalamus dans l'initiation des crises. En effet, la décharge de potentiels

d'action des neurones thalamiques au cours des DPO est systématiquement retardée par rapport aux neurones ictogéniques corticaux (au moins pendant la première partie de la crise) (figure 11B ; Polack et coll., 2009), et leur fréquence est relativement faible (figure 12) du fait de la puissante inhibition synaptique rythmique issue des neurones GABAergiques du nRT (Pinault et coll., 1998 ; Slaght et coll., 2002 ; Timofeev et Steriade, 2004). De plus, les oscillations inter-ictales observées dans l'ECoG du cortex S1, et dans les neurones ictogéniques (voir ci-dessus), ne sont pas présentes dans les cellules thalamiques (figure 12 A ; Polack et coll., 2009 ; Depaulis et Charpier,



2018).

Figure 12 Activité intracellulaire des neurones thalamo-corticaux en relation avec le foyer cortical chez le GAERS.

A, enregistrements simultanés des ECoG des deux cortex S1 (SoCx ipsi et contra), du cortex moteur primaire (MoCx) et de l'activité intracellulaire d'un neurone thalamo-cortical du noyau POm. La survenue de la DPO est accompagnée dans le neurone thalamique par une hyperpolarisation soutenue et une séquence de dépolarisations rythmiques. **B**, celles-ci consistent en une sommation de dépolarisations synaptiques (tirets) donnant lieu à un potentiel calcique à bas seuil (flèche) et une décharge de potentiels d'action sodiques. Modifié d'après Polack et coll., 2009.

IV. 6. b. Altérations moléculaires dans le thalamus

Des altérations géniques et dans les canaux ioniques au sein du thalamus des rats épileptiques ont été décrites, suggérant des propriétés anormales, probablement pro-épileptiques, dans les circuits thalamo-corticaux. Il a été montré une surexpression spécifique des ARNm des sous-unités Cav 3.2 des canaux calciques à bas-seuil dans les neurones du nRT chez le GAERS (Talley et coll., 2000), associée à un accroissement des courants calciques correspondants (Tsakiridou et coll., 1995). Cette augmentation des courants calciques dans les neurones nRT, mais absentes dans les neurones thalamo-corticaux, pourrait amplifier les activités oscillatoires au

sein des réseaux thalamiques et renforcer ainsi les mécanismes de synchronisation dans le système thalamo-cortical au cours des DPO. Plus récemment, une mutation de type gain de fonction de CACNA1H, gène codant pour la sous-unité Cav 3.2 du canal calcique à bas-seuil, a été trouvée chez le GAERS (Powell et coll., 2009 ; Casillas-Espinosa et coll., 2017). Cette mutation confère aux canaux calciques une récupération plus rapide à partir de l'inactivation et un accroissement du transfert de charge lors des décharges à fréquence élevée. Au niveau thalamique et/ou cortical, ce changement de fonction des canaux calciques pourrait amplifier les rebonds post-inhibiteurs et donc les patterns oscillatoires dans les boucles thalamo-corticales. Cependant, malgré un possible dysfonctionnement des canaux Cav 3.2, les potentiels calciques à bas-seuil mesurés *in vivo* dans les neurones thalamo-corticaux des GAERS lors d'injections de courant négatif ne présentent aucune différence notable avec ceux enregistrés chez les animaux non épileptiques (Paz et coll., 2007).

V. Les réseaux thalamo-corticaux

V. 1. Structure et fonction du thalamus

Le thalamus est une large structure du diencephale qui est un relai essentiel de l'information périphérique vers les cortex moteurs et somatosensoriels (figure 13). Les projections du thalamus contactent également d'autres structures telles que le striatum et l'hippocampe ce qui le place au centre de nombreux processus cérébraux comme les processus attentionnels, la mémoire ou encore le langage (figure 13 ; Herrero et coll., 2002 ; Latchoumane et coll., 2017). Le thalamus est un relais obligatoire pour les informations sensorielles externes et internes outre l'olfaction (Guillery, 2005). Les noyaux relais et associatifs projettent vers leurs cibles respectives mais également vers le noyau réticulé thalamique (nRT). Le nRT est le seul noyau thalamique constitué uniquement de neurones inhibiteurs, il va réguler l'activité des autres noyaux thalamiques de sa latéralité ainsi que plus faiblement les noyaux thalamiques contralatéraux (Guillery, 1998 ; Halassa et Acsady, 2016). Le thalamus est essentiel dans le transfert de l'information sensorielle tant par l'adressage spécifique mais également par le gain de la fonction de transfert entre les structures thalamiques et corticales. L'organisation du thalamus est topographique et les noyaux thalamiques de relais, tels que le noyau ventro pariétal médian (VPM), qui transfère l'information issue des vibrisses projettent de manière très localisée (Diamond et coll., 2008). Ceci en comparaison des noyaux thalamiques intralaminaires qui projettent vers un grand

nombre d'aires corticales et permettent d'assurer la complexe mise en place de l'intégration dans les cortex associatifs et secondaires. C'est notamment le cas du noyau POm, qui reçoit les informations issues des vibrisses et qui projette vers les cortex S1, somatosensoriel secondaire (S2) et moteur primaire (M1) (Deschênes et coll., 2005). Le thalamus présente également une importante connectivité avec des projections venues du cortex. Une partie de ces connexions sont réciproques et l'ensemble des connexions joue un rôle dans la sélection et régulation de l'information sensorielle (Wimmer et coll., 2015). Les connexions cortico-thalamiques sont en effet issues des aires corticales associées à la même spécialisation sensorielle. Ces retours touchent autant les noyaux relais que le nRT, permettant la régulation et sélection de l'information provenant des noyaux relais en shuntant toute activité évaluée comme de second ordre par les processus cérébraux associatifs et cognitifs (Mease et coll., 2014 ; Varela, 2014 ; Blumenfeld et McCormick, 2000). Le thalamus sert donc de relai direct et indirect entre différentes structures et régions cérébrales. Ce grand nombre de connexions, quasi toutes unilatérales, le rend essentiel dans la mise en place de différents rythmes et processus cérébraux. Les lésions du thalamus engendrent ainsi des pathologies incluant des altérations de perception sensorielle et des troubles moteurs.

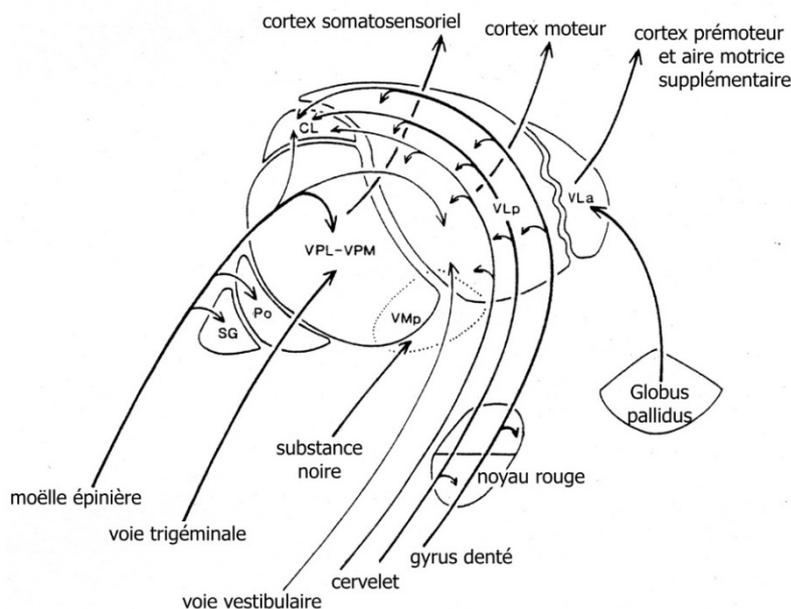


Figure 13 : Schéma récapitulatif des afférences et efférences pour le thalamus ventral du singe.

Abréviations des noyaux thalamiques : CL, central latéral ; VL, ventral latéral ; VMp ventral médian postérieur ; VPL-VPM, ventral postérolatéral et postéromédian ; Po, postérieur ; SG, supragéniculé. On peut remarquer ici la présence d'une forte connectivité avec l'ensemble des régions cérébrales. Une topographie

étant respectée entre les aires motrices et sensorielles, tout en présentant une association dans certains noyaux et les afférences de ces derniers. D'après Jones, 1975a.

V. 2. Propriétés des neurones thalamiques de relai

Les neurones thalamiques de relai, glutamatergiques et excitateurs, ont la capacité intrinsèque de décharger selon deux patterns distincts : le mode tonique et le mode *burst* (figure 14 ; Andersen et coll., 1964 ; Llinas et Jahnsen, 1982). Ces deux types d'activités sont en lien avec les rythmes cérébraux et les états de vigilance. Spécifiquement, l'activité tonique correspond à des activités cérébrales « désynchronisées » et associées aux états conscients alors que l'activité en *bursts* correspond à des oscillations plus amples et souvent plus lentes, classiquement associées aux sommeil lents (Alitto et Ursey, 2005 ; McCormick et Pape, 1990 ; Pape, 1996 ; Destexhe et Sejnowski, 2003 ; Fogerson et Huguenard, 2017). Le mode de décharge des neurones des noyaux relais sont fortement influencé par le potentiel de membrane et donc les afférences synaptiques le régulant. Ainsi, un potentiel de membrane suffisamment dépolarisé (> -65 mV), engendrera une décharge tonique en raison d'une inactivation des canaux calciques à bas seuil (I_T), ainsi que l'activation du courant cationique non spécifique (I_h) (Llinas et Jahnsen, 1982 ; McCormick et Pape, 1990). Une dépolarisation peut être due à d'avantage de glutamate venant des neurones pyramidaux de la couche 6 des cortex associés, ou, à moins d'inhibition de la part des neurones GABAergiques du nRT qui projettent fortement sur les noyaux relais (Steriade et Deschênes, 1984). Les autres neuromodulateurs (Acétycholine, Sérotonine, Noradrénaline, Dopamine, Histamine) ont des rôles plus limités, et différents selon les noyaux relais considérés. Ils sont considérés majoritairement dépolarisant et entrent en jeu dans la régulation d'attention sensorielle, des cycles du sommeil et autres rythmes physiologiques (Varela, 2014). Particulièrement lors de *bursts*, l'activité des neurones thalamiques des noyaux relais et autres vont provoquer un rétro contrôle de la part du nRT, hyperpolarisant le neurone amenant ainsi à la possibilité de générer un nouveau *burst*. C'est cette boucle thalamique interne associée aux retours corticaux qui permet de recruter des neurones corticaux et aide à la mise en place d'une activité oscillatoire (Llinas et Jahnsen, 1982 ; McCormick et Pape, 1990).

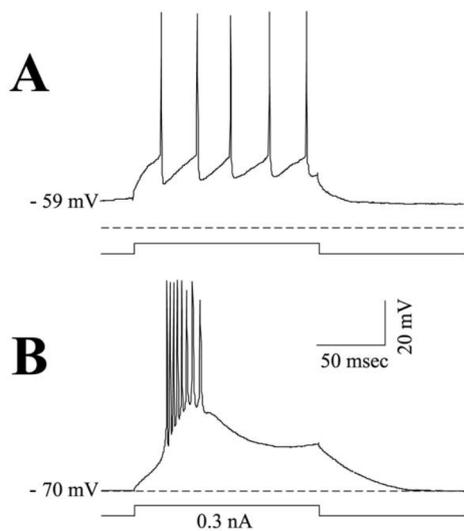


Figure 14 : Illustration des deux types de décharge, tonique ou *burst*, des neurones thalamiques.

A, stimulation d'un neurone thalamique relativement dépolarisé qui décharge en mode tonique en réponse à l'injection de courant dépolarisant. **B**, stimulation d'un neurone thalamique relativement hyperpolarisé qui décharge en mode *burst* en réponse à l'injection d'un courant dépolarisant. On voit bien ici la décharge tonique régulière lorsque les neurones thalamiques sont excités à potentiel dépolarisé alors qu'une excitation lorsqu'ils sont hyperpolarisés provoque une activité type *burst* en raison de l'activation du courant h. Potentiel hyperpolarisé qui peut être généré par les neurones du nRT et donner lieu à des oscillations, les neurones du nRT étant excités par des neurones cortico-thalamiques et des neurones thalamo-corticaux. Modifié de Sherman, 2005.

V. 3. Projections thalamo-corticales

V. 3. a. Les noyaux relais

Les noyaux relais ont pour particularité d'avoir une spécificité dans leurs entrées et dans leurs projections corticales, les informations relayées pouvant être du domaine sensoriel ou moteur (Herrero et coll., 2002). Leurs afférences sont elles-mêmes spécifiques des différentes voies sensorielles et motrices. Chaque noyau se projette sur une aire corticale assez précise, elle-même spécialisée en lien avec le sens ou la motricité liée et qui envoient des connexions réciproques. Le VPM, par exemple, reçoit l'information des vibrisses par des afférences issues des noyaux trigéminaux, et projette vers le cortex S1 (Constantinople et Bruno, 2013 ; Diamond et Arabzadeh, 2013).

V. 3. b. Les noyaux associatifs

A la différence des noyaux relais, les noyaux associatifs reçoivent des afférences du tronc cérébral et du système limbique qui envoient des informations issues de diverses sensorialités (Herrero et coll., 2002). Ces noyaux thalamiques vont ensuite projeter vers diverses aires corticales, elles-mêmes interconnectées et ainsi former un large réseau à caractère associatif. Ces aires corticales sont constituées d'aires liées par spécificité de sens et de fonction comme pour le POm, qui reçoit des afférences des noyaux trigéminaux et qui projette aux cortex somatosensoriels primaires et secondaires ainsi qu'au niveau du cortex moteur primaire (Diamond et coll., 2008).

V. 3. c. Les noyaux non spécifiques

Les afférences desservant ces noyaux sont issus de la formation réticulée et du tronc cérébral. Les connexions sortantes sont non spécifiques et arrivent à de nombreux cortex (Herrero et coll., 2002). Ces connexions et leurs afférences les mettent dans une position idéale pour réguler l'activité corticale (Ketz et coll., 2015 ; Pereira de Vasconcelos et Cassel, 2015). Ces noyaux projettent également vers d'autres régions cérébrales telle que le striatum et vont ainsi complexifier les liens entre différentes aires cérébrales en interconnectant des régions directement connectées.

V. 3. d. Le nRT

Le nRT se situe à l'extrême du thalamus tant par sa localisation extérieure sur la face latérale du thalamus que par sa composition de neurones inhibiteurs GABAergiques (Halassa et Acsady, 2016). Le nRT est également le seul noyau thalamique à ne pas envoyer de projections vers d'autres structures que le thalamus. Il projette vers les autres noyaux thalamiques de sa latéralité et plus succinctement vers les noyaux thalamiques controlatéraux. Sa place de régulateur est renforcée par les afférences issues des aires corticales et sa propre structure est subdivisée selon les noyaux spécifiques auxquels il projette et dont il reçoit des collatérales. Sa connectivité et ses propriétés GABAergiques le rendent apte à permettre aux aires corticales de moduler l'information transitant par le thalamus afin par exemple d'obtenir une attention dirigée vers un système sensoriel spécifique (Guillery, 1998 ; Wimmer et coll., 2015).

VI. Le réseau cortico-thalamique

VI. 1. Structure et fonction des cortex

Les cortex forment la partie la plus superficielle du cerveau, représentant 77 % du volume cérébral et sont parmi les structures cérébrales les plus complexes de par leur structure interne, leur connectivité, leurs fonctions respectives et les processus cognitifs résultants (Swanson, 1995). Les cortex sont constitués de 6 couches numérotées depuis la surface vers la profondeur et dont les couches 5 et 6 sont elles-mêmes subdivisées (Ramon y Cajal, 1894 ; DeFelipe, 2011). Ces couches sont constituées de neurones excitateurs aux propriétés différentes mais présentent également des neurones inhibiteurs (interneurones) présents dans différentes couches. La délimitation et classification historique était leur morphologie, fortement liée à leurs propriétés et leur connectivité (Ramon y Cajal, 1894). Ces deux dernières

étant par définition corrélées à la fonction des neurones dans les différents réseaux qu'ils forment. Les propriétés de différents neurones excitateurs ou inhibiteurs sont spécifiques mais peuvent être retrouvées à travers tous les cortex, avec toutefois l'existence de variations comme l'absence de couche 4 dans le cortex moteur. Les délimitations des différentes aires corticales se basent sur des critères histologiques et fonctionnels. Ainsi, les aires visuelles sont distinctes des aires somatosensorielles ou encore des aires motrices. Au-delà de la cytoarchitecture en couches, certaines aires corticales sont également organisées en colonnes fonctionnelles qui impliquent que les neurones de différentes couches vont créer un micro réseau fonctionnel local qui va répondre et traiter l'information issue d'un même stimulus (Mountcastle, 1957 ; Keller et Carlson, 1999). C'est le cas notamment des cortex somatosensoriels primaires qui vont traiter localement l'information issue de différentes parties du corps et respecter une somatotopie sensitive représentative du corps, appelée homonculus (Lubke et Feldmeyer, 2007). Cette spécialisation et lien entre structure et fonction est valable également pour les connectivités entre les différentes aires corticales. Ainsi, les aires primaires reçoivent l'information issue de modalités sensorielles et motrices, et se projettent aux noyaux thalamiques réciproquement. Mais d'autres aires corticales reçoivent ces informations et sont appelés aires secondaires (voire tertiaire, quaternaire etc pour les cortex visuels) en raison d'afférences moins spécifiques plus diffuses et qui amènent des informations de nature multimodale. A ces aires sensorielles et motrices de divers ordres se rajoutent les aires associatives qui intègrent en majorité des informations déjà traitées, relayées par d'autres aires corticales et qui sont responsables des processus cognitifs dits complexes.

VI. 2. Propriétés électrophysiologiques des neurones corticaux

Les neurones corticaux sont répartis en différentes catégories principalement caractérisées par leurs propriétés électrophysiologiques qui sont également liées la plupart du temps à des caractéristiques morphologiques (figure 15A, B ; Steriade, 2004 ; Dimitrov et coll., 2011). La majorité des neurones corticaux (70 à 80 %) sont glutamatergiques excitateurs, et sont représentés par les neurones pyramidaux des couches 2 – 3 et 5 – 6. La couche 4 quant à elle est composée de neurones dits épineux étoilés, qui comme les neurones pyramidaux utilisent le glutamate comme neurotransmetteur. Les autres neurones sont inhibiteurs et utilisent le GABA comme neurotransmetteur (Markram et coll., 2004 ; DeFelipe et coll., 2013). La classification

rejoint ces séparations fonctionnelles. La classe des neurones déchargeant en décharge régulière – *regular spiking* – (RS) correspond principalement à des neurones excitateurs pyramidaux ou épineux étoilés. Lors d'une élévation du potentiel menant à la décharge de PA, leur décharge est régulière même si une sous-catégorisation permet de mettre en évidence des différences d'adaptation (Connors et Gutnick, 1990 ; Contreras, 2004). Contrairement aux neurones RS, d'autres neurones peuvent décharger régulièrement mais présentent des décharges en bouffées de PA – *intrinsic bursting* – (IB) lorsque leur potentiel atteint le seuil de déclenchement des PA. Ces neurones sont moins nombreux et appartiennent généralement aux neurones excitateurs pyramidaux. Lors d'une dépolarisation suffisante, les neurones IB vont générer ces bouffées constituées d'au moins 3 PA dont l'amplitude diminue en raison de l'inactivation rapide des canaux sodiques du PA. Ces neurones IB peuvent présenter les deux types de décharge RS et IB tout comme certains peuvent ne faire que des bouffées et être en mode une bouffée ou rien. La troisième classe majeure de neurones est constituée de neurones à la décharge très rapide – *fast spiking* – (FS) (Contreras, 2004 ; Steriade, 2004). Ces neurones ont la capacité de pouvoir maintenir un rythme de décharge très élevé, notamment grâce à des PA plus courts, et ne présentent pas de phénomène d'adaptation (Stériade, 2004). Tous les neurones FS sont GABAergiques et peuvent être catégorisés en sous-types selon les propriétés de leur PA, leur morphologie, leur fonction et leur emplacement ; bien que la classification soit encore sujette à débats (DeFelipe et coll., 2013). La dernière classe de neurones est constituée de neurones qui vont décharger par des bouffées rythmiques rapides – *fast rhythmic bursting* – (FRB) (Contreras, 2004). Ces bouffées présentent là-encore au moins 3 PA qui se succèdent très rapidement (jusqu'à 600 Hz) et peuvent se succéder en peu de temps. Des neurones excitateurs types pyramidaux ou inhibiteurs peuvent présenter ce type de décharges.

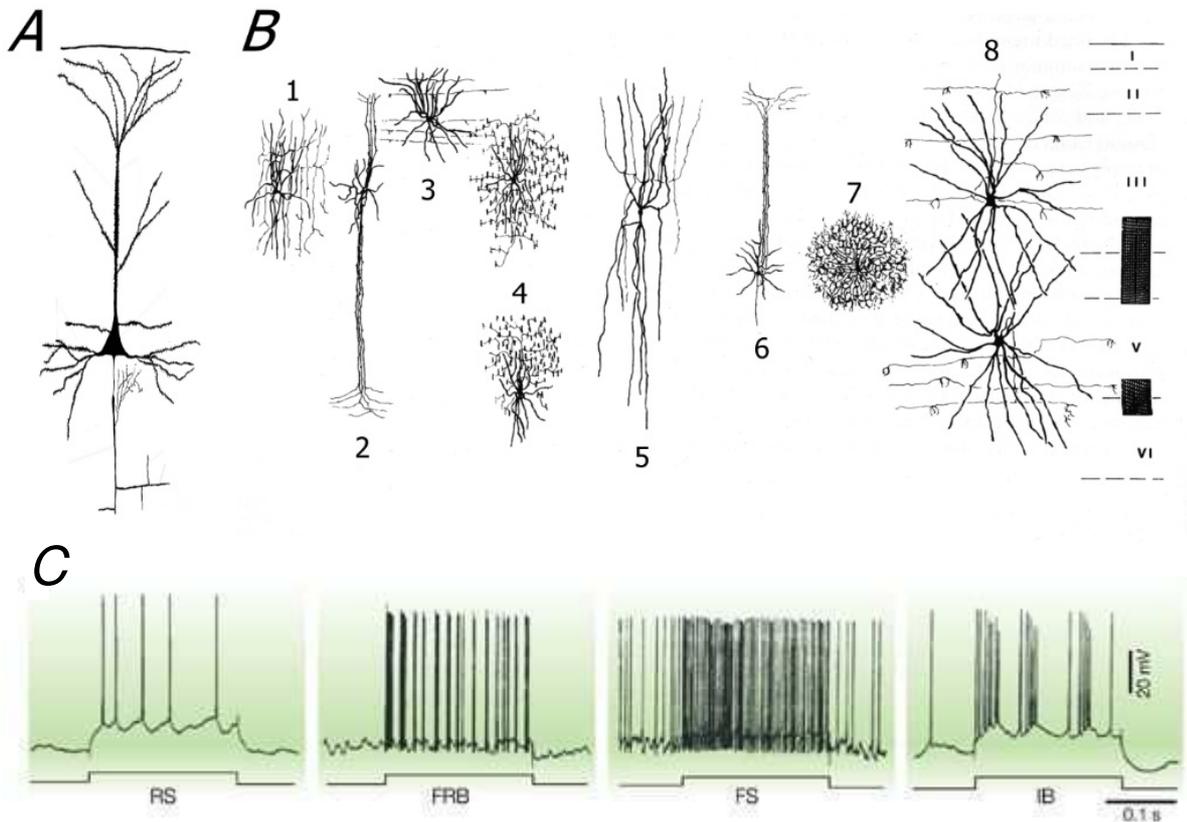


Figure 15 : Morphologie et type de décharge des principaux types de neurones corticaux.

A, neurone pyramidal. **B**, neurones non pyramidaux. 1: neurone en arcade ; 2: neurone en double bouquet ; 3: neurone en petit panier ; 4: neurone en chandelier ; 5: neurone « à peptide » ; 6: neurone étoilé non pyramidal de la couche 6 (excitateur) ; 7: cellule de type neuroglial ; 8: neurone en grand panier. **C**, enregistrements intracellulaires de neurones corticaux. Patron temporel de décharge de neurones de type RS, FRB, FS et IB en réponse à un échelon de courant dépolarisant (0,8 nA, 200 ms). A, d'après Spruston, 2008 ; B, d'après Jones, 1975b ; C d'après Steriade, 2004.

VI. 3. Projections cortico-corticales

Les projections qui restent au sein du cortex peuvent être de plusieurs natures : elles peuvent rester au sein d'une même couche (intralaminaires), ou projeter verticalement, renforçant ainsi le réseau dans une même colonne fonctionnelle (intracolumnaire) ou vers d'autres colonnes (transcolumnaire) (Markram et coll., 1997 ; Feldmeyer et coll., 1999, 2002, 2006). Les connexions peuvent également être translaminaires et parvenir à d'autres couches du cortex comme les connexions au cortex somatosensoriel primaire qui reçoit les informations issues des vibrisses. Les différentes couches corticales reçoivent les informations issues de différents noyaux thalamiques et/ou autres structures. Les projections intracorticales permettent ainsi de transférer de l'information prétraitée et de complexifier le codage pour les aires corticales associatives (Bureau et coll., 2006 ; Ferezou et coll., 2007). Les cortex des deux

hémisphères sont aussi connectés, permettant leur synchronie, l'intégration et l'échange d'informations issues de chaque latéralité corporelle. Les lésions du corps calleux mènent d'ailleurs à des symptômes spécifiques tels que l'impossibilité de faire des gestes moteurs en lien avec un côté ou encore de ressentir ou voir un objet dans la main d'un côté (Schulte et coll., 2010 ; Smith et Alloway, 2014). Une apraxie et des troubles de synchronie motrice sont courants également en cas de dommages à ces connexions entre hémisphères (Berlucchi, 2012).

VI. 4. Projections cortico-thalamiques

Les projections cortico-thalamiques à destination des noyaux relais du thalamus sont issues des neurones pyramidaux des couches 5 et 6 (Bourassa et coll., 1995 ; Zhong et Deschenes, 1998 ; Mercer et coll., 2005 ; Zarrinpar et Callaway, 2006). Les neurones de la couche 6 vont envoyer des connexions topographiques réciproques à celles reçues par le cortex où ils sont localisés, avec une projection collatérale allant au nRT (Liu et Jones, 1999). Les pyramides de la couche 5 envoient eux des projections vers d'autres types de noyaux en plus des noyaux relais et c'est une collatérale qui vient exciter les neurones des noyaux relais (Bourassa et coll., 1995). Il est important de préciser que les synapses venant des projections de la couche 6 corticale vers le nRT représente 70 % des synapses pour le nRT (Liu et Jones, 1999). Cela traduit la force avec laquelle les différents cortex vont exciter le noyau inhibiteur du thalamus afin de moduler les autres noyaux dont les noyaux relais. Il convient de mentionner également les projections des neurones ayant des neurotransmetteurs modulateurs (dopamine, acétylcholine, adrénaline, noradrénaline sérotonine et adénosine) qui vont venir affecter le potentiel membranaire de nombreux neurones dont les neurones thalamiques (McCormick, 1992). Les neurones qui ont ce type de neurotransmetteurs sont organisés sous forme de noyaux et projettent vers toutes les différentes structures cérébrales avec une importance toute particulière vers le cortex et le thalamus.

VII. Le système des vibrisses

VII. 1. Présentation générale

Pour les rongeurs, le système des vibrisses constitue leur principal mode d'exploration et d'interaction avec leur environnement (Diamond et coll., 2008). Ces longs poils présents sur la région orale de la face compensent notamment leur faible vision et sont parfaitement adaptés aux milieux et luminosités dans lesquels ils évoluent. Ces vibrisses sont organisées en une matrice très définie et qui possèdent une place dominante dans l'homonculus chez les rongeurs (figure 16 ; Benison et coll., 2007). Les rongeurs sont capables de bouger très finement leurs vibrisses et ce phénomène est visible lors de comportements exploratoires et se traduit par des mouvements répétitifs et relativement synchrones sur l'axe rostro-caudal (Diamond et coll., 2008 ; Bosman et coll., 2011). Ce *whisking* leur permet de déterminer la nature, la forme, la localisation mais également la texture des différents éléments à portée. Cette discrimination est possible grâce non seulement à leur grande place dans le cortex somesthésique mais également de par la représentation somatotopique de la matrice mystaciale qui se conserve tout le long de la chaîne de transmission de l'information. L'absence d'une vibrisse ou son endommagement engendrera une réorganisation au niveau de la somatotopie cérébrale et une trop grosse perte ou absence de vibrisses aura de graves conséquences tant sur les capacités d'évolution spatiale, d'équilibre que sur le comportement social de l'animal (Dupont, 2004).

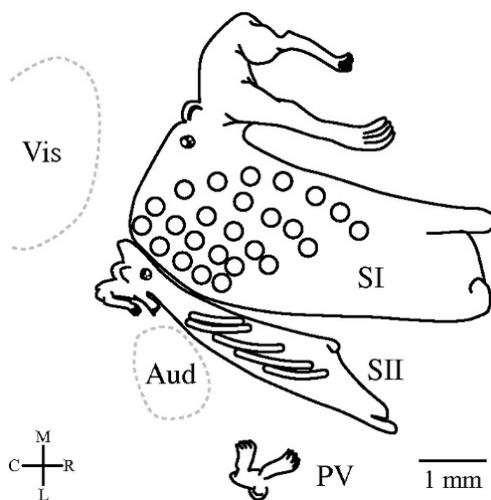


Figure 16 : Rattunculi représentant la localisation, l'orientation et la somatotopie du cortex S1, du cortex S2 et du cortex pariétoventral (PV).

On voit ici nettement la prédominance des vibrisses en espace corticale occupé et la somatotopie conservée. Il apparaît également que le cortex S2 présente une topographie moins stricte et une représentation inversée par rapport à au cortex S1. D'après Benison et coll., 2007.

VII. 2. Les vibrisses

Les vibrisses sont des poils spécialisés de la face de certains mammifères et qui présentent une structure complexe composée d'une grande taille, d'une forte innervation, d'une conséquente vascularisation ainsi que du tissu conjonctif isolant le follicule (figure 17 ; Rice et coll., 1993). L'ensemble des différentes terminaisons nerveuses (réticulaires, de Merkel et lancéolées) permettent une discrimination très détaillée des mouvements et pressions au niveau des vibrisses. Chaque type de ces récepteurs présente en effet des propriétés différentes et permet ainsi de coder parallèlement les mouvements perçus par chaque vibrisse (Bosman et coll., 2011).

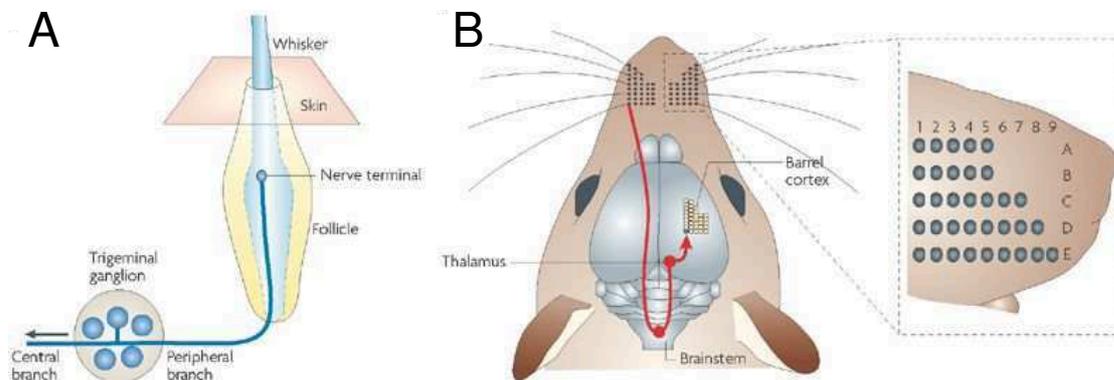


Figure 17 : Vue d'ensemble de voies sensorielles liées aux vibrisses.

A, schéma d'une vibrisse illustrant la terminaison nerveuse avec ses mécanorécepteurs qui sont responsables de la détection de la direction, vitesse et durée des déplacements et courbure. Les fibres afférentes connectent ensuite aux ganglions trigéminaux qui eux-mêmes connecteront aux noyaux trigéminaux. **B**, schéma représentant la voie depuis les vibrisses jusqu'aux barils corticaux respectant la somatotopie. D'après Diamond et coll., 2008.

VII. 3. Des vibrisses aux cortex

La somatotopie de la matrice mystaciale est identique chez tous les animaux d'une même espèce. Elle est préservée au niveau des trois structures principales d'intégration et de transfert qui sont le noyau trigéminal, le thalamus et le cortex (figure 17 ; Bosman et coll., 2011). Différentes voies existent et passent par différents noyaux ou sous-structures au sein des trois structures citées précédemment. Ces différentes voies ont différentes spécialisations ainsi qu'un poids synaptique relatif. La voie lemniscale a pour principale destination les couches 4 et 5b – 6 de la région des vibrisses du cortex S1 (Diamond et coll., 2008). La voie extralemniscale projette elle majoritairement vers le cortex somatosensoriel secondaire au niveau des couches 4 et 6 avec également des projections dans les mêmes couches du cortex S1 (figure

18). La voie paralemniscale a pour particularité de projeter vers les couches 5a et 1 des cortex somatosensoriels primaires et secondaires ainsi qu'au niveau des couches 2/3 du cortex moteur primaire correspondant aux vibrisses (Bosman et coll., 2011). Il existe d'autres voies non nommées spécifiquement et la projection exacte de certaines voies au niveau des couches corticales est encore le sujet de controverses. L'information venue des vibrisses comme d'autres modalités sensorielles est complexe du fait des différentes natures de mouvements possibles à différentes locations de la matrice mystaciale. C'est l'ensemble des détails, des directions, des mouvements ou de l'absence des mouvements de toutes les vibrisses qui vont permettre de générer une information utile. C'est l'association de ces nombreux paramètres qui se retrouve dans la complexité des différentes voies et de leurs connectivités qui respectent la somatotopie. L'intégration au niveau du cortex somatosensoriel primaire est primordiale au traitement de l'information et c'est bien souvent là qu'on retrouve la réponse sensorielle la plus grande lors d'un stimulus lié. Les neurones des différentes couches corticales du cortex S1 reçoivent l'information issue des vibrisses par différentes voies ou indirectement par les connexions intracorticales (Bosman et coll., 2011 ; Minamisawa et coll., 2018).

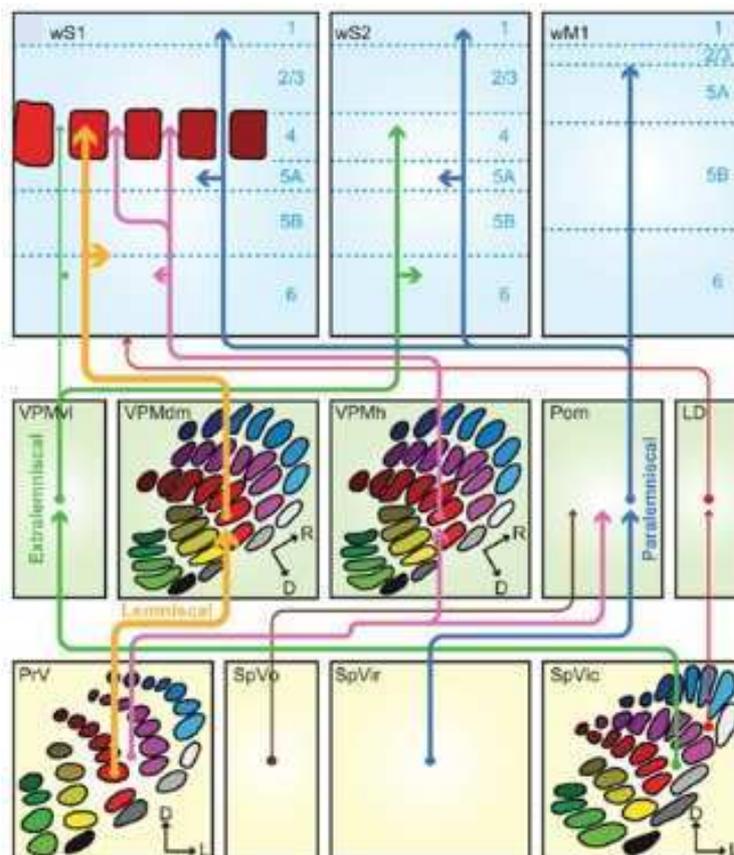


Figure 18 : Voies trigémino-thalamo-corticales chez le rat.

On retrouve ici le schéma décrit dans le texte avec les voies lemniscales, paralemniscales et extralemniscales qui partent de différentes régions des noyaux trigéminaux et finissent dans différentes couches et cortex. Noter que toutes les couches corticales reçoivent des afférences directes de ces voies. Les connexions corticales ne sont pas illustrées. Les carrés rouges représentent les barils et permettent de visualiser quelles voies projettent dans les barils et quelles voies projettent dans les septa. On voit également que la somatotopie est préservée. D'après Bosman et coll., 2011.

C. Buts et stratégie

I. Epilepsie et conscience : le GAERS comme modèle de choix

Les crises d'absences, au sens clinique, résultent de paroxysmes électriques (DPO) initiés dans une région circonscrite du cortex cérébral (le foyer cortical), puis envahissent rapidement *via* les réseaux synaptiques l'ensemble des structures corticales et thalamiques, conduisant à une généralisation des DPO d'où la classification actuelle de crises « généralisées ». Ce processus dynamique de généralisation clairement identifié et démontré dans les modèles génétiques de rongeurs, GAERS et rats WAG/Rij (Meeren et coll., 2002, 2005, Polack et coll., 2007, 2009), est probablement aussi présent chez les patients humains (Meeren et coll., 2005 ; Westmijse et coll., 2009), bien que la séquence spatio-temporelle précise de propagation des DPO ne puisse pas, pour des raisons techniques, être précisément décrite. Une conséquence clinique ubiquitaire des crises généralisées, que ce soient par exemple les crises tonico-cloniques ou les absences, est l'interruption des processus conscients dans toutes leurs dimensions (Cavanna et Ali, 2011). Les crises d'absences constituent néanmoins un phénomène singulier tant d'un point de vue clinique que neurophysiologique. Contrairement aux crises tonico-cloniques, les absences, dans leur forme typique, ne résultent *que* d'une suspension transitoire des processus conscients incluant une oblitération des perceptions conscientes, un arrêt comportemental et une perte de contact, d'où la qualification métaphorique d' « absence ». Concernant les aspects neurophysiologiques (décrits en détails chez le GAERS) (Depaulis et Charpier, 2018), elles représentent également un phénomène d'exception puisque la survenue d'oscillations anormales est initiée par le dysfonctionnement d'une sous-population (relativement restreinte) de neurones pyramidaux dans les couches profondes d'une aire spécifique néocorticale (Polack et coll., 2007). Ici aussi, la démonstration de l'existence d'une telle population de neurones ictogéniques chez l'homme reste à démontrer. Il est crucial de spécifier que l'examen attentif des propriétés électrophysiologiques de tous les neurones enregistrés *in vivo* à l'aide de microélectrodes intracellulaires chez le GAERS n'a révélé qu'une seule population neuronale dont le phénotype électrique est significativement altéré et clairement pro-ictogénique (S. Charpier, communication personnelle) : les neurones pyramidaux des couches 5 et 6 du cortex S1. Néanmoins,

cette observation ne signifie pas l'absence d'anomalies structurales ou fonctionnelles dans d'autres types neuronaux, en particulier les neurones thalamiques, facilitant et amplifiant les oscillations synchrones anormales dans les boucles cortico-thalamo-corticales (Depaulis et Charpier, 2018). On peut néanmoins considérer, d'un point de vue conceptuel simplifié, que les crises d'absences chez les GAERS (au sens électrophysiologique) et leurs conséquences comportementales (au sens clinique) résultent essentiellement de l'émergence d'une activité anormale au sein d'une sous-population de neurones pyramidaux ayant la capacité d'initier, de propager et de généraliser les DPO et, par conséquent, de produire (directement ou secondairement) les troubles consécutifs sur les processus conscients. Par conséquent, le GAERS et ses neurones ictogéniques constitue un modèle expérimental d'exception pour étudier directement les relations de cause à effet entre une activité anormale dans une population de neurones bien identifiée et les conséquences fonctionnelles qui en résultent, notamment sur la conscience.

II. Objectifs spécifiques et nouveautés de l'étude

L'objectif principal de mes recherches doctorales a été de déterminer chez le GAERS comment les oscillations épileptiques synchrones dans le circuit thalamo-cortical lors des DPO perturbent l'intégration et le traitement des informations sensorielles, pouvant ainsi rendre compte, au moins partiellement, de l'interruption des perceptions conscientes. Dans une première partie, j'ai exploré l'impact des DPO enregistrées à la surface du cortex S1 sur les propriétés d'excitabilité et d'intégration des neurones initiateurs des crises (cellules pyramidales des couches 5 et 6). Etant donné que ces neurones sont également les neurones de sortie de ce cortex sensoriel primaire, dont les fonctions somesthésiques sont cruciales dans le comportement des rongeurs (Celikel et Sakmann, 2007 ; Diamond et coll., 2008 ; Hartmann, 2011), lequel est profondément perturbée lors des crises, j'ai voulu mettre en relation ces dysfonctionnements cellulaires avec un éventuel désordre du traitement sensoriel somesthésique au cours des crises. Cette première partie de mes recherches, réalisée au niveau cortical, s'est concentrée sur les changements dynamiques de l'activité et des propriétés intégratives des neurones corticaux ictogéniques au cours des DPO. Etant donné que les DPO surviennent au sein de la boucle cortico-thalamo-corticale somatosensorielle, j'ai également exploré l'hypothèse que le « brouillage » des informations sensorielles au niveau du cortex puisse aussi résulter, au moins en partie,

des activités oscillatoires anormales dans les noyaux thalamiques relayant les informations sensorielles vers le cortex S1.

La spécificité, et la nouveauté, de ma recherche a été de ne pas considérer la crise comme un « tout », mais comme la succession d'événements électrophysiologiques distincts (les *pointes* et les *ondes*) ayant des substrats neuronaux différents et des conséquences fonctionnelles distinctes sur l'intégration neuronale. Ainsi, j'ai caractérisé et comparé les changements dans les propriétés intégratives des neurones corticaux ictogéniques entre trois conditions : activité inter-ictale, activité de *pointe* et activité d'*onde*. Etant donné que l'activité inter-ictale est elle-même « anormale » dans les neurones ictogéniques (Polack et coll., 2007 ; Polack et Charpier, 2009), j'ai également comparé les propriétés d'excitabilité et d'intégration des neurones ictogéniques à celles de neurones homologues dans des animaux sains. Cette première partie de mon travail a permis de mettre en évidence des changements inattendus et hautement dynamiques dans les propriétés cellulaires au cours du cycle *pointe-onde*, remettant en cause la vision simpliste d'une augmentation globale et homogène de l'excitabilité neuronale au cours des crises. Dans un deuxième temps, j'ai analysé comment les fluctuations des propriétés cellulaires des neurones ictogéniques au cours du cycle *pointe-onde* affectent leur intégration sensorielle au cours de la crise. Enfin, dans une dernière partie, j'ai élargi mes investigations au circuit thalamo-cortical correspondant, recherchant des perturbations dans l'intégration sensorielle au sein des noyaux thalamiques concernés (VPM, P_{Om}). Mon but était de construire une vue d'ensemble des dysfonctionnements cellulaires et de réseau dans le circuit thalamo-cortical au cours des crises, de révéler l'impact spécifique des composantes *pointes* et *ondes* de la crise sur le traitement de l'information mais aussi les conséquences délétères de la crise dans sa globalité. Cette stratégie conceptuelle est à ma connaissance nouvelle car elle ne considère pas la crise d'épilepsie comme une entité pathogénique homogène mais comme un phénomène neurophysiologique dynamique dont les différentes composantes structurelles (*pointe versus onde*) produisent des effets distincts au niveau des neurones individuels et des circuits de neurones. Ma thèse est de proposer que la séquence répétée des composantes *pointes* et *ondes* dans le circuit cortico-thalamo-cortical, constituant la crise, a pour conséquence globale de rendre instable et

inappropriée la représentation sensorielle au niveau du cortex cérébral, participant ainsi à l'incapacité de générer une perception sensorielle consciente.

III. Stratégie expérimentale

Les questions posées au cours de mes recherches doctorales impliquaient des enregistrements intracellulaires *in vivo* et de longue durée. Les enregistrements intracellulaires sont le seul moyen d'analyser de manière précise et fiable les propriétés électriques membranaires des neurones, incluant les paramètres d'excitabilité intrinsèque et les événements synaptiques. La condition *in vivo* était requise car les DPO spontanées associées aux absences ne peuvent survenir que dans un cerveau intact et dans un animal vivant. Par conséquent, une stratégie d'étude *in vitro* n'aurait pas été pertinente. J'ai pu bénéficier d'une préparation mise au point de longue date dans mon laboratoire permettant d'enregistrer simultanément les activités ECoG et intracellulaires neuronales dans des GAERS immobilisés et sédatisés par un composé, le fentanyl, ne produisant aucune interférence détectable sur les propriétés intrinsèques et de décharge spontanée des neurones corticaux (Polack et coll., 2007). Dans toutes mes expériences, j'ai donc pu corrélérer en temps réel la survenue spontanée des crises d'absences et les propriétés électriques intracellulaires des neurones corticaux, lesquels étaient identifiés d'un point de vue électrophysiologique et morphologique grâce à l'adjonction de neurobiotine dans la pipette d'enregistrement. Des difficultés techniques m'ont conduit à réaliser des enregistrements extra- et non intracellulaires dans les noyaux thalamiques, approche me permettant néanmoins de caractériser les variations de décharge des neurones du thalamus. Etant donné que l'aire corticale initiatrice des crises (incluant les neurones ictogéniques) était localisée dans le cortex somatosensoriel primaire de la face, le stimulus sensoriel étudié au cours de mes expériences consistait en une application de *puffs* d'air sur les vibrisses.

J'ai ainsi pu examiner comment le traitement des informations somatosensorielles était altéré au cours du cycle *pointe-onde* dans le thalamus (enregistrements extracellulaires) et le cortex (enregistrements ECoG et intracellulaires).

D. Matériel et méthodes

I. Enregistrements

Les expériences et procédures réalisées au cours de ma thèse respectent toutes les directives européennes relatives à l'expérimentation animale (Directive 2010/63/EU) et ont été approuvées par le comité éthique Charles Darwin (C2EA-05) sur l'expérimentation animale.

I. 1. Chirurgie et préparation expérimentale

L'ensemble des procédures d'anesthésie, de chirurgie, de surveillance des paramètres physiologiques et de préparation des animaux est décrit dans l'article 1, *Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absence in a rat genetic model*, dans la partie *methods*.

Les anesthésies initiales utilisées lors de ma seconde étude (Article 2 en préparation) étaient réalisées à l'isoflurane exclusivement sans injection de pentobarbital et de kétamine. Les dosages d'isoflurane sont une moyenne et faisaient l'objet d'une régulation fine en lien avec l'état et la physiologie des différents animaux.

I. 2. Enregistrements ECoG

Les enregistrements ECoG ont été réalisés selon une configuration monopolaire avec des électrodes en argent d'une impédance proche de 60 k Ω . Les électrodes étaient délicatement placées sur la surface du cortex pour l'électrode active et au niveau d'un muscle temporal controlatéral pour la référence. Dans le cas de multiples ECoG, la même référence était utilisée (référence commune). Les coordonnées pour les enregistrements ECoG étaient les suivantes: cortex S1, 1 mm postérieur au bregma et 5 mm latéral par rapport à la ligne médiane ; cortex M1, 2,5 mm antérieur au bregma et 3 mm latéral par rapport à la ligne médiane ; cortex pariétal associatif (PtA), 3,5 mm postérieur au bregma et 2,7 mm latéral par rapport à la ligne médiane.

Le signal était ensuite amplifié à l'aide d'un amplificateur différentiel opérant en mode AC (Model 1700, A-M Systems, Sequim, WA, USA), filtré entre 1 Hz et 5 kHz et digitalisé entre 1 à 3 kHz à l'aide d'une interface de digitalisation (CED 1401 plus, Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK).

I. 3. Enregistrements extracellulaires

Les enregistrements extracellulaires de neurones thalamiques uniques (« *single-unit* ») étaient obtenus à l'aide d'électrodes en verre (15 – 25 M Ω de résistance), remplies d'une solution de chlorure de sodium (NaCl ; 0,5 M) et insérées dans le VPM (VPM : 2,8 – 4,3 mm postérieur par rapport au bregma, 3 – 3,4 mm latéral par rapport à la ligne médiane et 6 – 7 μ m en dessous de la surface corticale) ou dans le POm (POm : 2,8 – 4,3 mm postérieur par rapport au bregma, 2 – 2,5 mm latéral par rapport à la ligne médiane et 5 – 6 μ m en dessous de la surface corticale). Une référence en chlorure d'argent (AgCl) était placée en sous-cutané au niveau d'un muscle du cou. Le signal était ensuite amplifié à l'aide d'un Axoclamp 2B (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) fonctionnant en mode « *bridge* » et d'un DAM50 (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA) en mode AC et digitalisé à 20 kHz. J'ai également réalisé des enregistrements extracellulaires multi-unitaires à l'aide d'une sonde à 16 canaux (ATLAS Neuroengineering, Leuven, Belgique), séparés de 250 μ m entre chaque plot, dont l'impédance était de 0,3 M Ω . Le signal était ensuite amplifié par un amplificateur Digital Lynx SX (Neuralynx, Bozeman, MT, USA) et digitalisé à 30 kHz.

I. 4. Enregistrements intracellulaires

Les enregistrements intracellulaires des neurones pyramidaux ont été réalisés dans le cortex S1, à proximité de l'électrode ECoG (< 0,3 mm), avec des microélectrodes constituées d'un fil d'argent chloruré placé dans une micropipette en verre, remplie d'une solution d'acétate de potassium (KAc) hautement concentrée (2 M). La résistance de la microélectrode, mesurée dans le milieu extracellulaire préalablement aux enregistrements des neurones, était comprise entre 50 et 80 M Ω . Les enregistrements étaient réalisés en mode « courant-imposé », amplifiés à l'aide d'un AxoClamp 2B fonctionnant en mode « *bridge* » (Molecular Devices, Union City, CA, USA), puis amplifiés à l'aide d'un DAM 50 (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA) en mode DC, filtrés à 3 kHz et digitalisés à 20 kHz. Le potentiel de pointe de l'électrode était ajusté à 0 mV avant l'enregistrement afin de ne pas biaiser la valeur du potentiel transmembranaire des neurones et une correction *a posteriori* était effectuée si nécessaire. L'électrode de référence en AgCl était positionnée en sous-cutané sur un muscle du cou. Les neurones pyramidaux enregistrés étaient localisés

dans les couches 5 et 6 du cortex S1 à une profondeur comprise entre 900 et 2661 μm par rapport à la surface corticale (Paxinos et Watson, 1986).

I. 5. Injection des neurones et coloration immunohistochimique

Afin de confirmer la localisation des neurones enregistrés et d'identifier leur typologie, un colorant cellulaire (la neurobiotine, 1,5 %, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) était ajouté à la solution interne des microélectrodes (Pidoux et coll., 2011).

A la fin des enregistrements extracellulaires, une injection juxtacellulaire de neurobiotine était réalisée par l'application répétée d'échelons de courant positif (1 – 3 nA; 100 ms) à une fréquence de 3 Hz à travers le mode « *bridge* » de l'amplificateur (Pinault, 1996; Paz et al. 2007). Les échelons de courant étaient injectés pendant 10 à 30 minutes pour obtenir un marquage fiable des prolongements neuronaux.

En ce qui concerne les enregistrements intracellulaires, la neurobiotine était injectée par l'application répétée ($n = 100$) d'échelons de courant positifs supraliminaires (0,3 – 1 nA; 100 ms) à une fréquence de 3 Hz pendant 10 minutes.

Les rats étaient ensuite sacrifiés, perfusés en intracardiaque par une solution saline (Ringer, 500 mL), et fixés à l'aide d'une solution de paraformaldéhyde (PFA ; 500 mL à 4 %, dans un tampon phosphate de sodium (PBS) à 0,1 M, pH 7.4). Le cerveau était ensuite laissé en post-fixation dans une solution de PFA, à 4 % pendant 2 h, puis placé à 4°C dans une solution de sucrose à 30 % pendant 72 h. Des coupes transversales de 50 μm d'épaisseur étaient réalisées au microtome à congélation. Après 3 lavages au PBS (0,1 M, pH 7.4), les coupes étaient ensuite incubées pendant 12 h dans le complexe avidine-biotine-peroxydase (1 %, ABC Kit Standard, Vector Laboratories) en présence de Triton X-100 à 0,5 %. Trois rinçages de 10 minutes dans un tampon phosphate (PB) étaient effectués puis les coupes étaient révélées par réaction de la peroxydase avec la diaminobenzidine (1 %) en présence de chlorure de cobalt (1 %) de sulfate d'ammonium nickel (1 %) et de H₂O₂ (0,01 %). Enfin, les coupes étaient montées sur lames gélatinées, contre-colorées à la safranine et déshydratées à l'alcool puis au xylène. La morphologie des neurones était examinée, la profondeur ainsi que la position stéréotaxique des cellules marquées étaient alors confirmées à l'aide de l'atlas de Paxinos et Watson (1986).

I. 6. Stimulation des vibrisses

La stimulation des vibrisses était effectuée par l'application de souffles (ou « *puffs* ») d'air comprimé sur les vibrisses controlatérales aux sites d'enregistrements. Ces « *puffs* » d'air (50 ms de durée) étaient délivrés par un Picospritzer III (Intracel Ltd, Royston, Herts, UK) *via* une pipette de verre d'1mm de diamètre placée à environ 5 cm de la matrice mystaciale (Mahon et Charpier, 2012, Chipaux et coll., 2013). Les stimulations étaient appliquées avec une faible fréquence (< 1 Hz) afin d'empêcher la survenue d'une adaptation des réponses sensorielles (Chung et coll., 2002). Au début de chaque expérience, la distance et l'orientation de la pipette en verre dirigeant le flux d'air, ainsi que l'intensité de la stimulation choisie (de 20 à 50 p.s.i.), étaient ajustées de façon à générer le potentiel évoqué (PE) d'amplitude maximale sur l'enregistrement ECoG dans le cortex S1. Généralement, le « *puff* » d'air induisait le mouvement coordonné (rétraction passive) de 4 – 5 vibrisses (Pidoux et coll., 2011).

II. Analyses

II. 1. Quantification de l'excitabilité membranaire

La distribution des valeurs du potentiel membranaire (V_m) était réalisée sur une durée minimale de 10 secondes d'enregistrement stable et représentatif de l'activité spontanée. Ses fluctuations (écart type) et sa valeur moyenne étaient ensuite extraites. La résistance membranaire apparente du neurone (R_m) était calculée à partir de la différence de potentiel moyenne induite par une succession d'injections d'échelons d'un courant hyperpolarisant de faible intensité ($-0,4$ nA, 200 ms de durée, toutes les 1 s). Des relations courant-voltage (courbe I-V) étaient effectuées suite à l'injection d'un courant hyperpolarisant d'intensité croissante ($-0,2$ à -1 nA). La résistance membranaire était alors calculée en mesurant la pente d'une régression linéaire appliquée à la relation I-V. Le « *sag ratio* », indiquant la présence de I_h dans les neurones corticaux (Pape, 1996), était déterminé par le rapport entre les différences de potentiel mesurées à la fin et au début de réponses moyennes induites par l'injection de courants hyperpolarisants de forte intensité ($-0,8$ nA) (voir figure 2A – B de l'Article 1). La constante de temps membranaire (τ_m) était extraite de la régression exponentielle appliquée sur la partie initiale de l'hyperpolarisation, induite par l'injection d'un courant hyperpolarisant de $-0,4$ nA. Le seuil de déclenchement du PA était défini par le niveau de potentiel à partir duquel la pente de la dépolarisation

était supérieure à 10 V/s (Fricker et coll., 1999 ; Mahon et coll., 2003). L'amplitude des PA était déterminée à partir d'une trace moyennée d'au moins 10 événements, comme la différence de voltage entre le seuil de déclenchement et le potentiel maximal atteint. Leur durée était mesurée de la valeur de potentiel à mi-amplitude au retour au même potentiel (« *half-width duration* »).

II. 2. Evaluation de la fonction de transfert neuronale : relation $F-I$

Les relations entre la fréquence de décharge moyenne et l'intensité du courant injecté (relation $F-I$), représentant la fonction de transfert neuronale (Silver, 2010), était déterminée à partir de séries d'injection de courant dépolarisant d'intensité croissante (de 0,1 à 2 nA, 200 ms de durée, toutes les 1,25 à 2,25 s, $n = 20 - 25$ pour chaque intensité) (Mahon et Charpier, 2012). Le courant seuil (I_{th}) théorique (permettant de générer un seul PA) était extrapolé à partir de l'intersection entre la régression linéaire de la courbe $F-I$ avec l'axe des intensités de courant (soit $F = 0$) (Mahon et Charpier, 2012). Le « gain neuronal » (γ) était quant à lui calculé en mesurant la pente de la régression linéaire, représentant donc la rapidité avec laquelle le taux de décharge augmente par unité de courant excitateur (Hz / nA) (Silver, 2010).

II. 3. Régularité de décharge

La fiabilité de décharge spontanée des neurones était mesurée grâce aux intervalles inter PA (ISI) par le coefficient de variation (CV) qui évalue la dispersion ($SD\ ISI / ISI$ moyen), et par le coefficient de variation 2 (CV2) qui compare les variations entre intervalles adjacents et est indépendant des fréquences de décharges et des variations sur une grande échelle de temps (Holt et coll., 1996). En considérant que les PA arrivent aux temps t_i ($0 \leq i \leq N$), l'ISI peut se définir comme : $\Delta t_i = t_i - t_{i-1}$. Le CV2 des ISI était alors calculé selon l'équation suivante : $CV2 = (2 | \Delta t_{i+1} - \Delta t_i |) / (\Delta t_{i+1} + \Delta t_i)$. Les mesures du CV2 étaient effectuées uniquement sur des neurones présentant une fréquence de décharge spontanée supérieure à 1,5 Hz. La variabilité du nombre de PA évoqués (taux de décharge) au cours des différents essais était quant à elle mesurée par le Fano Factor (FF), lequel quantifie le rapport entre la variance du nombre de PA évoqués et le nombre moyen de PA générés par une série de stimulations d'intensité constante (Faisal et coll., 2008).

II. 4. Caractérisation des différentes périodes d'activité ECoG et catégorisation des réponses sensorielles

Le début (ou la fin) des crises était défini par la première (ou dernière) pointe (large déflexion négative) ECoG, dont l'amplitude était supérieure à 3 fois l'amplitude maximale de l'activité corticale inter-critique. Les *pointes* ECoG étaient associées, dans les neurones corticaux du cortex S1, à des dépolarisations synaptiques de grande amplitude, d'une durée de 50 à 60 ms, le plus souvent supraliminaires pour la décharge de PA. Les stimuli sensoriels délivrés 10 ms après le début ou 20 ms avant la fin de ces oscillations synaptiques étaient considérés comme survenant au cours des périodes de *pointes*. A l'inverse, les stimulations sensorielles délivrées entre 60 et 100 ms après l'émergence d'une *pointe* dans l'ECoG étaient considérées comme survenant pendant les périodes d'*ondes*. Cette fenêtre temporelle correspondait à une période d'hyperpolarisation membranaire, dépourvue de potentiels synaptiques et de PA. Les périodes de transition entre les *pointes* et les *ondes* n'ont pas été incluses dans l'analyse (voir figure 4A₁, 2).

II. 5. Analyse et catégorisation des réponses sensorielles aux stimulations des vibrisses

L'amplitude des potentiels synaptiques infraliminaires évoqués dans les neurones corticaux était mesurée du potentiel de membrane précédant immédiatement (3 ms) la réponse au pic de la dépolarisation. La latence était définie comme le temps entre le début de la stimulation sensorielle et le pied de la réponse synaptique. Seules les réponses présentant une première réponse dépolarisante clairement identifiable, dans un délai de 7 à 50 ms suivant l'application du stimulus sensoriel, étaient incluses dans l'analyse. La latence des PA évoqués dans les neurones corticaux et thalamiques par la stimulation des vibrisses était définie comme le temps entre le début du stimulus et le pic du premier PA (dans une fenêtre de temps égale ou inférieure à 50 ms). Le taux basal de décharge dans les différentes conditions (périodes inter-ictales, DPO, *pointe* et *onde*) était déterminé par le nombre de PA spontanés dans une fenêtre de temps de 50 ms suivant l'application de stimulations fictives, au cours desquelles les temps de stimulation étaient marqués mais aucune stimulation n'était délivrée.

Les analyses statistiques étaient réalisées à l'aide du logiciel SigmaStat 3.5.

E. Articles et résultats expérimentaux

- I. Article 1 : *Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absence seizures in a rat genetic model*
- I. 1. Rappels sur le contexte de la recherche

Les crises d'absences se manifestent principalement par une interruption transitoire des processus conscients (cognitifs, perceptuels et comportementaux) due à la survenue soudaine de DPO bilatérales dans les EEG corticaux et thalamiques (Panayiotopoulos, 2008). Bien que les crises d'absences demeurent classées parmi les syndromes épileptiques généralisés (Berg et coll., 2010 ; Fisher et coll., 2017), un nombre croissant d'études menées chez de jeunes patients épileptiques à l'aide de différentes techniques d'investigation (EEG, MEG, imagerie cérébrale métabolique) s'accordent sur une origine corticale focale, frontale ou pariétale selon les patients, des crises avant leur généralisation aux autres régions corticales et au thalamus (Holmes et coll., 2004 ; Westmijse et coll., 2009 ; Bai et coll., 2010 ; Szaflarski et coll., 2010). En accord avec ces données humaines, des enregistrements électrophysiologiques multi-échelles réalisés dans deux modèles génétiques de rongeurs présentant une forte homologie avec la pathologie humaine, les GAERS et les rats WAG/Rij, ont montré que les DPO sont initiées au sein d'un foyer cortical, la région orofaciale du cortex S1, par une sous-population de neurones pyramidaux des couches 5 et 6 (Meeren et coll., 2002 ; Polack et coll., 2007, 2009 ; Depaulis et coll., 2016). Ces neurones corticaux somatosensoriels présentent des propriétés pro-ictogéniques exceptionnelles, incluant un potentiel de membrane plus dépolarisé, associé à une activité de décharge spontanée plus élevée, et plus régulière en dehors des crises. Lors des DPO, une décharge en bouffées de PA précède celle des autres neurones corticaux et thalamiques, dont le recrutement assure le maintien des oscillations paroxystiques (Polack et coll., 2007, 2009 ; Chipaux et coll., 2013 ; Introduction section IV. ; figure 11).

D'un point de vue clinique, cette « rupture de contact » avec l'environnement lors des absences se traduit par un arrêt des comportements sensori-moteurs en cours, une fixité du regard, une absence de réponses aux stimulations extérieures et une amnésie des événements survenus pendant l'épisode de crise (Panayiotopoulos 2008). La profondeur des troubles peut cependant varier d'un patient à l'autre ou d'une

crise à l'autre chez le même patient. Certaines études ont ainsi mis en évidence une relation positive entre la sévérité des déficits et l'amplitude des paroxysmes EEG (Blumenfeld, 2005, 2008). Les tâches comportementales requérant le traitement d'informations complexes ou une attention soutenue semblent également plus affectées que celles impliquant une simple action répétitive (Blumenfeld 2005). Les troubles de la perception consciente sont plus difficiles à évaluer de façon objective chez les animaux mais paraissent néanmoins se conformer à la symptomatologie humaine. Les GAERS et les rats WAG/Rij présentent au cours des crises un arrêt comportemental, une abolition des réponses sensorielles pour des stimulations d'intensité modérée et une diminution des performances lors de certaines tâches d'apprentissage (Depaulis et coll., 2016). L'altération de conscience lors des absences est corrélée à la survenue des DPO mais les liens mécanistiques causaux entre les activités paroxystiques rythmiques dans les neurones corticaux et la suspension des perceptions sensorielles ne sont toujours pas bien caractérisés. Deux hypothèses principales ont jusqu'à présent été proposées: 1) la présence d'oscillations anormalement synchrones et amples dans les réseaux thalamo-corticaux empêcheraient le transfert des informations exogènes vers les aires corticales sensorielles primaires par un mécanisme de filtrage (Kostopoulos, 2001) et, 2) une désorganisation à grande échelle des relations fonctionnelles entre les aires corticales associatives et les structures sous-corticales associées empêcherait la production d'expériences sensorielles conscientes (Blumenfeld, 2012 ; Cavanna et Monaco, 2009). Des travaux réalisés par mon équipe en 2013 ont démontré la présence, lors des DPO, de PE corticaux en réponse à des stimulations visuelles chez de jeunes patients épileptiques et lors de stimulations tactiles des vibrisses chez les GAERS (Chipaux et coll., 2013). Ces travaux, corroborés par des études menées chez les rats WAG/Rij montrant également la persistance de PE auditifs au cours des crises (Inoue et coll., 1992 ; Meeren et coll., 1998), ont conduit à réfuter l'hypothèse selon laquelle l'interruption de conscience résulterait d'un filtrage des informations sensorielles par les neurones thalamo-corticaux. L'hypothèse du 'filtrage thalamique' était donc réfutée mais la question des mécanismes neuronaux à l'origine de la suspension de conscience demeurait.

Au cours de mes recherches doctorales, j'ai donc cherché à déterminer comment les oscillations épileptiques dans les circuits cortico-thalamiques perturbent le traitement des informations sensorielles, compromettant ainsi les perceptions

conscientes. La nouveauté de mon approche a consisté à ne plus considérer la crise d'absence comme un phénomène global mais comme une entité cyclique et dynamique composée d'une succession alternée d'évènements électrophysiologiques ayant des substrats neuronaux distincts, les *pointes* et les *ondes*. Dans une première étude, j'ai ainsi réalisé, *in vivo* chez le GAERS, des enregistrements simultanés de l'activité ECoG et de l'activité intracellulaire des neurones pyramidaux des couches profondes du cortex S1 afin de caractériser et de comparer les propriétés d'excitabilité et d'intégration des neurones ictogéniques dans trois conditions : lors des périodes inter-ictales et au cours d'activités épileptiques spécifiques correspondant à la survenue d'une *pointe* ou d'une *onde* dans l'ECoG. Etant donnée la singularité des propriétés électriques membranaires des neurones ictogéniques chez le GAERS, j'ai également comparé leurs propriétés intégratives en période inter-critique à celles de neurones homologues chez des rats Wistar non-épileptiques.

I. 2. Principaux résultats

Cette étude m'a tout d'abord permis d'étendre la liste des propriétés électriques membranaires pro-ictogéniques des neurones des couches profondes du cortex S1 chez le GAERS. J'ai pu confirmer que ces neurones avaient, en dehors des crises, un potentiel membranaire moyen plus dépolarisé que celui des neurones homologues chez les rats normaux ($V_m \approx -62$ versus -68 mV), ainsi qu'un taux de décharge basal plus élevé ($\langle F \rangle \approx 12$ versus 2 Hz) et plus régulier ($CV2 \approx 0,8$ versus 1) (voir aussi Polack et coll., 2007 ; 2009 ; Chipaux et coll., 2013). Pour la première fois dans les neurones ictogéniques des GAERS, j'ai mis en évidence une rectification membranaire entrante, suivie d'un rebond d'activité post-inhibiteur, plus prononcée que celle mesurée chez les rats contrôles, résultant probablement de l'activation du courant cationique non spécifique h (voir Introduction, section IV. ; figure 10). Cette possible augmentation de I_h , déjà décrite dans les neurones corticaux des couches profondes chez les souris *stargazer* (Di Pasquale et coll., 1997) mais qui n'a pas été retrouvée chez les rats WAG/Rij (Strauss et coll., 2004 ; Kole et coll., 2007), pourrait faciliter les rebonds d'excitation dans ces neurones, participer à leur potentiel de membrane relativement plus dépolarisé ainsi qu'au caractère rythmique de leur décharge (Robinson et Siegelbaum, 2003). Enfin, ces neurones présentaient une plus grande propension à générer des bouffées de PA en réponse à l'injection d'échelons de courant supraliminaire comparé aux proportions obtenues chez les rats Wistar.

Afin de déterminer si ces propriétés membranaires exceptionnelles des neurones ictogéniques des GAERS affectaient leur *fonction de transfert* au cours des périodes inter-critiques, j'ai comparé leurs relations *F-I* (voir Matériel et méthodes, section II. 2.) à celles des neurones corticaux des rats contrôles. Mes résultats indiquent que la sensibilité des neurones corticaux somatosensoriels à de faibles entrées dépolarisantes, évaluée par la mesure du courant seuil théorique, était fortement augmentée chez les rats épileptiques ($I_{th} \approx -0,07$ versus $0,17$ nA). Une dépolarisation membranaire des neurones contrôles par injection intracellulaire de courant continu induisait un glissement vers la gauche des relations *F-I* associé à une diminution des valeurs de courant seuil, suggérant que l'accroissement relatif de sensibilité dans les neurones ictogéniques était essentiellement dû à leur potentiel de membrane dépolarisé. De façon consistante avec la similarité des valeurs de résistance et de constante de temps membranaires entre les neurones corticaux des GAERS et des rats contrôles, le gain neuronal, évalué par la mesure de la pente de la relation *F-I*, n'était lui pas significativement altéré.

Les motifs *pointes* et *ondes* de l'ECoG qui se succèdent alternativement au cours des DPO sont associés à des évènements cellulaires distincts dans les neurones ictogéniques. Alors que la *pointe* est corrélée à une dépolarisation synaptique de grande amplitude majoritairement supraliminaire pour la décharge de potentiels d'action, l'*onde* correspond à une période d'hyperpolarisation membranaire dépourvue d'activité synaptique et de PA. J'ai donc analysé l'impact de ces différentes activités épileptiques sur l'excitabilité des neurones corticaux. De façon similaire à ce qui avait été décrit dans les neurones corticaux du cortex moteur chez le GAERS (Charpier et coll., 1999 ; Slaght et coll., 2002), et des aires corticales associatives chez le chat (Neckelman et coll., 2000), j'ai montré une augmentation de résistance membranaire pendant la composante *onde* comparé aux périodes inter-critiques, résultant probablement de l'arrêt transitoire du *drive* synaptique pendant cette phase de l'oscillation épileptique (Charpier et coll., 1999). Malgré cette réduction de conductance membranaire, le taux de décharge évoquée par l'injection de courant supraliminaire dans les neurones était considérablement réduit. Ces résultats indiquent que l'hyperpolarisation membranaire associée à l'*onde*, qui avait pour effet d'éloigner le potentiel de membrane du potentiel de déclenchement des PA, n'était pas compensée par l'augmentation de résistance membranaire. La forte dépolarisation synaptique lors de la *pointe*, d'origine majoritairement glutamatergique et conduisant à une décharge

en bouffées de PA interrompue par l'activation de conductances chlores due au recrutement des interneurons GABAergiques corticaux (Chipaux et coll., 2011), conduisait à une diminution drastique de la résistance membranaire (voir aussi Neckelman et coll., 2000). La fréquence de décharge en réponse aux stimulations directes était quant à elle fortement augmentée pendant les pointes comparé aux ondes, suggérant à nouveau un effet majoritaire des changements de potentiel de membrane. Le taux de décharge pendant les pointes restait cependant plus faible que celui mesuré en inter-ictal, remettant en cause l'idée largement répandue d'une augmentation globale d'excitabilité neuronale au cours des crises.

En résumé, mes résultats démontrent que les neurones ictogéniques des GAERS présentent, en période inter-ictale, une dépolarisation membranaire soutenue, une sensibilité accrue aux dépolarisations de faible intensité, une propension exacerbée à se re-polariser suite à une hyperpolarisation membranaire et à générer des rebonds d'excitation. L'ensemble de ces propriétés électriques membranaires spécifiques, résultant de modifications combinées de conductances intrinsèques et synaptiques (voir section I. de la Discussion), vont favoriser une fréquence de décharge élevée, régulière et possiblement plus cohérente au sein des réseaux corticaux somatosensoriels et ainsi permettre l'émergence d'activités paroxystiques. Je montre par ailleurs une modulation dynamique de l'excitabilité des neurones ictogéniques au cours des crises, ainsi que de leur réactivité à des entrées dépolarisantes directes, qui est fonction de la phase (*pointe* ou *onde*) de l'activité oscillatoire paroxystique. Ces changements répétés des propriétés intégratives corticales lors des DPO pourraient participer à l'altération du traitement sensoriel lors des absences en introduisant une instabilité dans les réponses qui perturberait les perceptions conscientes (Schurger et coll., 2015). J'ai exploré cette hypothèse au cours de ma seconde étude.

E. I. 3. Editorial : Sensory processing during absence seizures

Sensory processing during absence seizures

Polack PO

J Physiol. 2016 Nov 15;594 (22):6439-6440. doi: 10.1113/JP272921.

PERSPECTIVES

Sensory processing during absence seizures

Pierre-Olivier Polack

Center for Molecular and Behavioral Neuroscience, Rutgers University, Newark, NJ, USA

Email: polack.po@rutgers.edu

Absence epilepsies are generalized epilepsies of genetic origin that mainly occur during childhood and adolescence. Absence seizures are characterized by a short and abrupt loss of consciousness accompanied in some cases by very mild automatisms. These seizures are usually inconspicuous and often mistaken for children being inattentive. Most absence epilepsy syndromes are considered to be relatively benign as they respond well to pharmacological treatments and disappear usually after puberty. If absence epilepsy intrigues so many physiologists, it is because absence seizures present two puzzling characteristics: the apparent instantaneous generalization of epileptic activity to the cortex and the thalamus, and the interruption of consciousness during seizures. Indeed, the occurrence of absence seizures is immediately associated in the electroencephalogram (EEG) with a discharge of large amplitude spikes and waves (SWDs), synchronized over the entire cortex. This sudden generalization of epileptic activity to every cortical region supposes the existence of mechanisms capable of quickly synchronizing the activity of the vast majority of cortical neurons. The existence of such a mechanism challenges our current knowledge of cortical neurons' integrative properties and cortical networks' functional connectivity. The second fascinating characteristic of absence seizures (from a physiological point of view) is that the loss of consciousness is most often the unique clinical symptom, suggesting that absence might specifically disrupt the cellular and network mechanisms underpinning conscious perception. The article by Williams and colleagues published in this issue of *The Journal of Physiology* (Williams *et al.* 2016) provides novel insights into the cellular mechanisms underpinning these two intriguing properties of absence seizures.

The sudden synchronization of cortical neurons during absences logically led to the initial hypothesis that SWDs originate from a subcortical pacemaker (presumably the thalamus), the signal of which could not be picked up by surface electrodes. However, analysis of the thalamic and cortical local field potentials in two rat strains constituting well-established genetic models of absence seizures, the GAERS and the WAG/Rij, revealed that SWDs are initiated by a cortical focus located in the somatosensory cortex (Meeren *et al.* 2002; Polack *et al.* 2007). The cortical onset of absence seizures was soon supported in human patients through findings of focal initiation sites in the cortex EEG. Once the focus initiating absence seizures was identified, *in vivo* intracellular recordings performed in GAERS showed that the neurons located in the infragranular layers (layer 5 and 6) of this cortical region were hyperactive during interictal periods (in between seizures) and led cortical and thalamic neuron activity during SWDs (Polack *et al.* 2007). However, this previous study had failed to identify intrinsic (i.e. non-synaptic) properties that could explain a role of pacemaker for those neurons. The present study by Williams and colleagues finally shows that neurons of the GAERS cortical focus present altered integrative properties that could facilitate the initiation of absence seizures. In particular, they identify enhanced excitability during the interictal periods due to a more depolarized membrane potential, and intrinsic properties that could potentially improve the capacity of focus neurons to rebound and burst after hyperpolarization. How these modified integrative properties participate in the initiation of absence seizures remain to be determined.

Williams and colleagues also provide new information on how SWD interacts with sensory inputs. In a previous study, the laboratory of Stéphane Charpier had shown that the occurrence of absence seizures still allowed the transmission of sensory information to the primary sensory cortex in both GAERS and human patients (Chipaux *et al.* 2013). Yet, the impact of SWDs on the capacity of cortical neurons to integrate this sensory information was unknown. Williams and

colleagues demonstrate that the integrative properties of neurons from the cortical focus are deeply affected by the alternation of depolarization and hyperpolarization associated with the Spike and the Wave component of the EEG signal, respectively. They show that SWDs lead to an overall hypoexcitability except during a window of relative excitability during the EEG spike. These results in GAERS are reminiscent of the work of Fanselow and Nicolelis, who studied sensory integration in the barrel cortex of Long–Evans rats. These two authors demonstrated that 'whisker twitching', a behavioural state characterized by immobility and low amplitude whisker movements, was also associated with a very low probability of cortical response to mild whisker stimulations, except during a small temporal window in which sensory stimuli would evoke bursts of action potentials. They concluded that 'whisker twitching' was a low level of vigilance optimized for the detection of novel or faint stimuli (Nicolelis & Fanselow, 2002). Interestingly, the 'whisker twitching' behavioural state is associated with the occurrence in the EEG of high-voltage rhythmic activities that share the same morphological and spectral properties with GAERS and WAG/Rij SWDs. They are also underpinned by the same cortical and thalamic neuronal activities (Polack & Charpier, 2006), including the initiation of oscillatory activities in the cortex (Nicolelis & Fanselow, 2002; Polack *et al.* 2007). Despite these important similarities, these two EEG activities have been associated with two completely opposite functions: a physiological state of 'optimized' sensory processing for novel stimuli and a pathological state impeding the conscious processing of sensory information. This dramatic divergence in the interpretation of similar results sheds light on what remains to be known about the cellular mechanisms underpinning conscious sensory processing.

References

- Chipaux M, Vercueil L, Kaminska A, Mahon S & Charpier S (2013). Persistence of cortical sensory processing during absence seizures in human and an animal model: evidence from EEG and intracellular recordings. *PLoS One* **8**, e58180.

- Meeren HK, Pijn JP, Van Luijtelaar EL, Coenen AM & Lopes da Silva FH (2002). Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci* **22**, 1480–1495.
- Nicolelis MA & Fanselow EE (2002). Thalamocortical optimization of tactile processing according to behavioral state. *Nat Neurosci* **5**, 517–523.
- Polack PO & Charpier S (2006). Intracellular activity of cortical and thalamic neurones during high-voltage rhythmic spike discharge in Long-Evans rats *in vivo*. *J Physiol* **571**, 461–476.
- Polack PO, Guillemain I, Hu E, Deransart C, Depaulis A & Charpier S (2007). Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *J Neurosci* **27**, 6590–6599.
- Williams MS, Altwegg-Boussac T, Chavez M, Lecas S, Mahon S & Charpier S (2016). Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absence seizures in a rat genetic model. *J Physiol* **594**, 6733–6751.

Additional information

Competing interests

None declared.

E. I. 4. Article *Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absences seizures in a rat genetic model*

Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absence seizures in a rat genetic model.

Williams MS, Altwegg-Boussac T, Chavez M, Lecas S, Mahon S, Charpier S.

J Physiol. 2016 Nov 15;594 (22):6733-6751. doi: 10.1113/JP272162. Epub 2016 Aug 8.

Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absence seizures in a rat genetic model

Mark S. Williams¹, Tristan Altwegg-Boussac¹, Mario Chavez¹, Sarah Lecas^{1,2}, Séverine Mahon¹ and Stéphane Charpier^{1,2}

¹Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UPMC; INSERM U 1127, CNRS, UMR 7225, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, F-75013, Paris, France

²UPMC Univ Paris 06, F-75005, Paris, France

Key points

- Absence seizures are accompanied by spike-and-wave discharges in cortical electroencephalograms. These complex paroxysmal activities, affecting the thalamocortical networks, profoundly alter cognitive performances and preclude conscious perception.
- Here, using a well-recognized genetic model of absence epilepsy, we investigated *in vivo* how information processing was impaired in the ictogenic neurons, i.e. the population of cortical neurons responsible for seizure initiation.
- In between seizures, ictogenic neurons were more prone to generate bursting activity and their firing response to weak depolarizing events was considerably facilitated compared to control neurons.
- In the course of seizures, information processing became unstable in ictogenic cells, alternating between an increased and a decreased responsiveness to excitatory inputs, depending on the spike and wave patterns.
- The state-dependent modulation in the excitability of ictogenic neurons affects their inter-seizure transfer function and their time-to-time responsiveness to incoming inputs during absences.

Abstract Epileptic seizures result from aberrant cellular and/or synaptic properties that can alter the capacity of neurons to integrate and relay information. During absence seizures, spike-and-wave discharges (SWDs) interfere with incoming sensory inputs and preclude conscious experience. The Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS), a well-established animal model of absence epilepsy, allows exploration of the cellular basis of this impaired information processing. Here, by combining *in vivo* electrocorticographic and intracellular recordings from GAERS and control animals, we investigated how the pro-ictogenic properties of seizure-initiating cortical neurons modify their integrative properties and input–output operation during inter-ictal periods and during the spike (S-) and wave (W-) cortical patterns alternating during seizures. In addition to a sustained depolarization and an excessive firing rate in between seizures, ictogenic neurons exhibited a pronounced hyperpolarization-activated depolarization compared to homotypic control neurons. Firing frequency *versus* injected current relations indicated an increased sensitivity of GAERS cells to weak excitatory inputs, without modifications in the trial-to-trial variability of current-induced firing. During SWDs, the W-component resulted in paradoxical effects in ictogenic neurons, associating an increased membrane input resistance with a reduction in the current-evoked firing responses. Conversely, the collapse of cell membrane resistance during the S-component was

S. Mahon and S. Charpier co-supervised the study.

accompanied by an elevated current-evoked firing relative to W-sequences, which remained, however, lower compared to inter-ictal periods. These findings show a dynamic modulation of ictogenic neurons' intrinsic properties that may alter inter-seizure cortical function and participate in compromising information processing in cortical networks during absences.

(Received 18 January 2016; accepted after revision 23 May 2016; first published online 17 June 2016)

Corresponding author S. Charpier: Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Hôpital Pitié-Salpêtrière, 47 Boulevard de l'hôpital, F-75013, Paris, France. Email: stephane.charpier@upmc.fr

Abbreviations AP, action potential; CV, coefficient of variation; ECoG, electrocorticogram; EEG, electroencephalogram; $\langle F \rangle$, mean firing frequency; FF, Fano factor; $F-I$, firing frequency *versus* injected current; GAERS, Genetic Absence Epileptic Rats from Strasbourg; γ , gain; I_h , hyperpolarization-activated inward cationic current; IB, intrinsic bursting; I_{DC} , injected direct current; I-I, interictal; I_{th} , current threshold; ISI, interspike interval; R_m , membrane input resistance; S1, primary somatosensory; S-, spike; W-, wave; SWD, spike-and-wave discharge; $V-I$, voltage *versus* injected current; V_m , membrane potential.

Introduction

Typical absence seizures occur in various syndromes of idiopathic generalized epilepsies with onset in childhood and adolescence (Panayiotopoulos, 2008; Matricardi *et al.* 2014). During the absence attack, lasting usually a few seconds, patients experience a sudden clouding of consciousness combining fading of awareness, unresponsiveness to mild external stimuli and interruption of ongoing behaviours (Blumenfeld, 2005; Panayiotopoulos, 2008; Cavanna & Monaco, 2009; Chipaux *et al.* 2013). Human absences are reflected in the electroencephalogram (EEG) by a typical spatiotemporal pattern of activity consisting of bilateral and symmetrical 3–4 Hz spike-and-wave discharges (SWDs), driven by synchronized oscillatory activity in reciprocally connected cortical and thalamic networks (Williams, 1953; Panayiotopoulos, 2008; Chipaux *et al.* 2013). EEG, magnetoencephalographic and brain metabolism investigations in human patients (Holmes *et al.* 2004; Westmijse *et al.* 2009; Bai *et al.* 2010) and rodent genetic models (Meeren *et al.* 2002; Polack *et al.* 2007; David *et al.* 2008; Depaulis *et al.* 2015; Lüttjohann & Luijtelaar, 2015) showed that SWDs accompanying absence seizures have a cortical focal onset, suggesting that they could originate from a population of cortical neurons with pro-ictogenic properties, i.e. which are prone to initiate and spread paroxysmal oscillations through synaptic networks (Meeren *et al.* 2005; Polack *et al.* 2009; Lüttjohann & Luijtelaar, 2015).

Recently, neurons with pro-ictogenic properties have been identified in the cortical focus of the Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS), a well-documented rodent model that closely phenocopies the human absence seizures (Depaulis & van Luijtelaar, 2006). These seizure-initiating neurons are a subset of pyramidal cells located in layers 5 and 6 of the facial somatosensory cortex (Polack *et al.* 2007, 2009). As previously described (Polack *et al.* 2007, 2009; Polack &

Charpier, 2009; Chipaux *et al.* 2011, 2013), ictogenic neurons display an excessively depolarized membrane potential (V_m) associated with an intense and regular spontaneous firing during inter-ictal periods. During SWDs, their rhythmic brisk firing precedes that of distant cortical and thalamic neurons, which are secondarily recruited to sustain synchronized paroxysmal activity in corticothalamic loops (Polack *et al.* 2007, 2009).

It is proposed that the ability of the cortex to process ongoing physiological inputs is profoundly impaired during seizures by the excessive level of synchrony in synaptic networks, notably in the core territory of paroxysms (Trevelyan *et al.* 2013). However, the cellular mechanisms underlying this alteration of cortical functions are not fully understood. In a cat pharmacological model of absence epilepsy, a seizure-dependent increase in the membrane conductance of cortical neurons resulted in an attenuation of voltage responses to depolarizing current pulses (Steriade & Amzica, 1999), a reduced cell excitability that could disrupt the normal integration of synaptic inputs. In genetically determined absence epilepsy, the functional consequences of epileptic discharges on information processing by the cortical neurons generating seizures remain unclear. Indeed, although sensory inputs are propagated in the thalamocortical pathways of epileptic rodents and patients during seizures, their integration at the cortical level remains inefficient to produce conscious experience (Inoue *et al.* 1992; Chipaux *et al.* 2013). Here, by the means of *in vivo* simultaneous electrocorticographic (ECoG) and intracellular recordings in the GAERS, we first investigated how the pro-ictogenic properties of seizure-initiating cortical neurons, latent but operating during inter-ictal periods, affect their integrative properties, input–output function and time-to-time firing dynamics compared to homologous cortical neurons recorded in normal rats. We next examined how the cellular events underlying the two ECoG components of the spike-and-wave complexes (i.e. the ‘spike’ and the

'wave' components) differentially impact the excitability and current-evoked firing responses of ictogenic cortical neurons.

Methods

Ethics approval

The care and experimental manipulation of the animals were carried out in accordance with the European Union guidelines (directive 2010/63/EU) and approved by the Charles Darwin Ethical Committee on Animal Experimentation (C2EA-05). Every precaution was taken to minimize the suffering and the number of animals used in each series of experiments.

Animal preparation for *in vivo* electrophysiology

Experiments were conducted on 16 GAERS (7 females and 9 males, 5–15 months of age; animal facility of the Brain and Spine Institute, Paris, France) presenting spontaneously recurrent SWDs, and 14 non-epileptic Wistar rats (8 females and 6 males, 3–10 months of age; Charles River Laboratories, L'Arbresle, France). All the Wistar rats included in this study were devoid of SWDs. For surgical purpose, both rat strains were initially anaesthetized by intraperitoneal (i.p.) injections of sodium pentobarbital (40 mg kg⁻¹; Centravet, Plancoët, France) and ketamine (50 mg kg⁻¹; Centravet), or by inhalation of isoflurane (2.5–3%; Centravet). The animals were then cannulated after incision of the trachea and placed in a stereotaxic apparatus. Incisions and pressure points were repeatedly infiltrated with lidocaine (2%; Centravet) throughout the experiment. A small trepanation (~1 mm of diameter) was made over the facial region of the primary somatosensory (S1) cortex (0.5–2.4 mm posterior to the bregma, 4.1–6.5 mm lateral to the midline) previously identified in the GAERS (Polack *et al.* 2007, 2009; David *et al.* 2008; Depaulis *et al.* 2015) and another genetic model of absence epilepsy (Meeren *et al.* 2002; Lüttjohann & Luijtelaa, 2015) as the cortical focus for SWD initiation. To obtain long-lasting stable intracellular recordings, rats were immobilized by intramuscular injection of gallamine triethiodide (40 mg (2 h)⁻¹; Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France) and artificially ventilated. Sedation and analgesia were maintained throughout the recording sessions by repeated injections of the synthetic opioid fentanyl (3 µg kg⁻¹, i.p.; Janssen-Cilag, Issy-les-Moulineaux, France). This neuroleptanalgesia did not alter the spatiotemporal dynamics or the morphology of SWDs compared to freely moving GAERS (Polack *et al.* 2007) and induced inter-ictal cortical patterns characterized by fast and apparently desynchronized waves of small amplitude comparable to the 'activated' waking pattern (Constantinople &

Bruno, 2011; Altwegg-Boussac *et al.* 2014). Moreover, the use of fentanyl did not, by itself, significantly impact the intrinsic electrophysiological properties of cortical pyramidal neurons (Mahon *et al.* 2001; Altwegg-Boussac *et al.* 2014). The absence of concurrent effect of fentanyl on cortical network activity and cellular excitability was of a crucial importance in this study where we investigated the functional consequences of inter-ictal and ictal activity at single cell level (Depaulis *et al.* 2015). Body temperature was maintained (36.5–37.5°C) with a homoeothermic blanket. At the end of the experiments, animals received an overdose of sodium pentobarbital (200 mg kg⁻¹, i.p.; Centravet).

Coupled recordings of ECoG and intracellular activities

Spontaneous ECoG activity was recorded from GAERS and non-epileptic rats by the means of a low impedance (~60 kΩ) silver electrode delicately placed on the dura above the facial part of S1 cortex and a reference electrode inserted in a muscle at the opposite side of the head. Surface cortical signals were amplified using a differential AC amplifier (Model 1700; A-M Systems, Carlsborg, WA, USA), filtered at 1 Hz–5 kHz, and digitized at 3 kHz (CED 1401plus; Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). Intracellular recordings were made close (< 200 µm) to the surface macroelectrode using glass micropipettes filled with 2 M potassium acetate (50–70 MΩ). Current-clamp recordings were amplified using an Axoclamp 2B amplifier (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) operating in bridge mode, filtered at 1 Hz–3 kHz and digitized at 25 kHz. Intracellularly recorded neurons, identified as pyramidal cells by their morphological and electrophysiological characteristics, were located in the layers 5–6 of S1 cortex at depths ranging from 903 to 3328 µm below the cortical surface (Paxinos & Watson, 1986; Wilent & Contreras, 2004).

All electrophysiological recordings were acquired and analysed using Spike2 software (Spike2 version 7.06; Cambridge Electronic Design). Additional data analysis was performed using Origin 8.1 (OriginLab Corp., Northampton, MA, USA) and Matlab (The MathWorks Inc., Natick, MA, USA).

Neuron staining

Recorded neurons were labelled by intracellular injection of neurobiotin (1.5% added to the pipette solution; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). Depolarizing current pulses (0.2–1 nA; 50–100 ms) were applied at 2.5 Hz during 10–15 min to obtain a reliable labelling of neuronal processes (Polack *et al.* 2007). At the end of the experiment, rats were killed with sodium pentobarbital and perfused with 0.3 %

glutaraldehyde (VWR, Fontenay-sous-Bois, France)–4% paraformaldehyde (Carlo Erba, Val-de-Reuil, France) in 0.1 M phosphate-buffered saline solution (PBS; pH 7.4). Brains were post-fixed into 4% paraformaldehyde for at least 2 h. After cryoprotection with 30% sucrose, brains were frozen in isopentane ($-50 \pm 5^\circ\text{C}$; VWR). 50- μm -thick sections were cut on a freezing microtome (Microm HM450, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) and incubated overnight in PBS–0.4% Triton X-100 (Sigma-Aldrich) + 0.4% of each reagent from Vectastain ABC Elite kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) to create an avidin-biotin complex on labelled neurons. After three washes in PBS, brain sections were pre-incubated 10 min in 0.5 mg ml⁻¹ diaminobenzidine (DAB dissolved in PBS; Sigma-Aldrich) and 0.02% nickel sulfate (Sigma-Aldrich). Hydrogen peroxide at 0.04% (30% aqueous solution; Merck Millipore, Molsheim, France) was subsequently added for 15 min to stain labelled neurons. Finally, sections were washed four times in PBS, mounted on slides and air dried. Counterstaining was accomplished with safranin (RAL Diagnostics, Martillac, France). Slides were dehydrated in ethanol baths and coverslipped in Eukitt (Sigma-Aldrich). Microphotographs of labelled neurons were taken with a Zeiss Axioskop 2 Plus microscope coupled to a Leica DFC 310 FX camera (Leica Application Suite software) and neuronal reconstruction was performed using PaintNet software. The position and depth of labelled neurons within the S1 cortex were confirmed using the atlas of Paxinos & Watson (1986).

Analysis of ECoG and intracellular signals

The start (or end) of a SWD in the ECoG was taken as the first (or last) spike–wave complex which amplitude of the spike component was at least two times the peak-to-peak amplitude of the baseline ECoG activity. To extract the frequency content of ECoG signals, we performed time–frequency (TF) maps using wavelet transform analysis made with custom-written functions in Matlab. A signal $x(t)$ was convolved with a complex Morlet's wavelet function defined as:

$$w(t, f_0) = A \exp(-t^2/2\sigma_t^2) x \exp(i2\pi f_0 t)$$

Wavelets were normalized and thus:

$$A = (\sigma_t \sqrt{\pi})^{-1/2}$$

The width of each wavelet function ($m = f_0 / \sigma_f$) was chosen to be 7; where $\sigma_f = 1/2\pi\sigma_t$.

TF contents were represented as the energy of the convolved signal:

$$E(t, f_0) = |w(t, f_0) \otimes x(t)|^2$$

Average membrane potential (V_m) values were calculated in each neuron, in between seizures in GAERS and during quiescent periods in control Wistar rats, as the mean of the distribution of spontaneous intracellular subthreshold activity recorded for at least 10 s. When necessary, they were corrected by subtracting the extracellular tip potential measured immediately after the end of the recording. Voltage threshold of action potentials (APs) was measured as the V_m at which the dV/dt first exceeded 10 V s^{-1} (Fricker *et al.* 1999; Mahon *et al.* 2003). The amplitude of APs was calculated as the potential difference between the voltage threshold and the peak after averaging at least 10 waveforms and their duration was measured as the width at half-maximal AP amplitude (half-width duration). The mean spontaneous firing rate ($\langle F \rangle$) of cortical neurons was calculated in each cell from continuous records of at least 10 s. To estimate the variability of inter-spike intervals (ISIs) during spontaneous and current-evoked firing, we used the CV2 method, which compares adjacent intervals and is independent of variations in average firing rates (Holt *et al.* 1996). Assuming that APs in a train occur at times t_i ($0 \leq i \leq N$), the ISI_i can be defined as:

$$\Delta t_i = t_i - t_{i-1}$$

The CV2 of ISIs was calculated using the following equation:

$$\text{CV2} = (2|\Delta t_{i+1} - \Delta t_i|) / (\Delta t_{i+1} + \Delta t_i)$$

CV2 measurements were restricted to neurons having a mean firing rate exceeding 1.5 Hz (Mahon *et al.* 2006).

Measurements of apparent membrane input resistance (R_m) were based on the linear electrical cable theory applied to an idealized isopotential neuron (Rall, 1969). During baseline periods in GAERS and control neurons, voltage–current (V – I) relationships were constructed from the mean V_m drops (ΔV_m) evoked by hyperpolarizing current pulses of varying intensity (-0.2 to -1 nA ; 100 ms duration; every 0.5–1 s; $n \geq 20$ trials for each intensity). ΔV_m measurements were made at the peak of the hyperpolarizing voltage deflection, immediately after the end of the membrane capacitance charge, to avoid interference with a hyperpolarization-activated depolarizing sag potential (see Fig. 2Aa). Once the linearity of the V – I relations was attested, R_m was calculated as the slope of the corresponding linear fit (see Fig. 2Ab and Bb, dashed lines). Sag ratio was calculated by dividing the steady-state voltage drop by the peak voltage response to hyperpolarizing current pulses of high intensity (-0.8 nA).

To assess the differential impact of wave and spike components on the integrative properties and excitability

of ictogenic neurons, we applied brief repeated hyperpolarizing (-0.8 nA, 10 ms duration, every 50 ms) or depolarizing ($+0.4$ nA, 50 ms duration, every 150 ms) current pulses during seizures and measured the corresponding mean ΔV_m or averaged evoked firing rate.

The neuronal transfer function, i.e. the rate-coded output firing as a function of excitatory inputs of increasing magnitude (Silver, 2010), was quantified in control and GAERS neurons during baseline period as the relation linking the intensity of intracellularly injected currents to the evoked firing frequency ($F-I$ relationships) (Mahon & Charpier, 2012; Altwegg-Boussac *et al.* 2014). The mean firing rate ($\langle F \rangle$) was measured in response to depolarizing current pulses of increasing intensity (200 ms, 0.1–1.5 nA) delivered with an inter-stimulus interval of at least 1 s. Each current intensity was applied 20–25 times and the corresponding firing responses were averaged. Linear regressions were applied to $F-I$ curves to determine the threshold current for AP generation (I_{th}), extrapolated as the x -intercept of the linear fit (see Fig. 3B), and the neuronal gain (γ), defined as the slope of the $F-I$ curve (Mahon & Charpier, 2012; Altwegg-Boussac *et al.* 2014). Current-evoked firing was limited to frequency less than 50 Hz in order to avoid possible activity-dependent intrinsic plasticity (Mahon & Charpier, 2012) that may alter cortical neurons excitability during the course of the recordings. The temporal dynamics and trial-to-trial variability of current-evoked firing responses were compared in GAERS and non-epileptic neurons. First, to estimate the temporal variability of firing pattern during a train of evoked activity, we used the CV2 method (see above). The mean CV2 was calculated for a series of stimuli ($n = 20$ –25 current injections) that generated approximately the same mean firing rate (~ 30 Hz) in the two cell populations. Second, to assess the trial-to-trial variability in the number of current-evoked APs, we applied the Fano factor (FF) method (Teich, 1992; Altwegg-Boussac *et al.* 2014). FF was calculated as the variance of the number of evoked APs, for a given intensity, divided by the corresponding mean number of spikes generated during the series of stimulations. FF and CV2 measurements were made on the same current-evoked responses.

Statistics

Differences between groups were assessed with Student's t tests (paired or unpaired), the non-parametric Wilcoxon signed rank test and Mann–Whitney rank sum test or Fisher's exact test when appropriate (SigmaStat version 3.5, Systat Software Inc., Erkrath, Germany). Differences were considered statistically significant if $P < 0.05$. Numerical values are presented as the mean \pm SEM.

Results

GAERS cortical neurons are hyperactive in between seizures and display anomalous membrane rectification

In the first part of this study, we examined how the pro-ictogenic properties of GAERS cortical neurons shape their integrative properties and transfer function during baseline periods. We thus compared the electrical membrane properties of cortical neurons initiating absence seizures in the GAERS to those measured from 'homologous' neurons (same neuronal type and cortical location) in non-epileptic rats (Fig. 1A and B).

We made *in vivo* intracellular recordings of S1 cortex neurons from GAERS ($n = 27$ neurons from 16 GAERS) and non-epileptic control Wistar rats ($n = 21$ neurons from 14 Wistar rats), simultaneously with the corresponding surface ECoG (Fig. 1Ac and Bc). Stereotaxic coordinates indicated that recorded cortical neurons, in both GAERS and control rats, were localized within the same region of S1 cortex and similarly distributed in the deep layers, from the superficial part of layer 5 to layer 6 (Fig. 1Aa and Ba). This was confirmed by subsequent histological analysis of intracellularly labelled neurons in GAERS ($n = 9$ neurons from 7 GAERS) and control rats ($n = 4$ neurons from 4 Wistar rats) (Fig. 1Ab and Bb, left panels), which exhibited the typical morphology of pyramidal neurons (Feldman, 1984), including a triangular cell body, a prominent apical dendrite extending vertically toward the pial surface and basal dendrites radiating out from the base of the soma (Fig. 1Ab and Bb, right panels). Basic morphometric analysis of the labelled neurons did not reveal evident differences in the somatodendritic arborizations of GAERS and control neurons. Consistent with their morphological identification as deep-layer pyramidal cells, recorded neurons displayed current-evoked firing patterns characteristic of regular spiking or intrinsic bursting (IB) cells (Steriade, 2004). The relative proportion of IB neurons in the S1 cortex of GAERS (44.4 %) was found to be larger compared to control animals (23.8 %), but not significantly ($P > 0.2$) (see Figs 6Aa and 8Aa). Because we did not find any specific relation between the neuronal type and the membrane excitability parameters, numerical values obtained from these two cell populations were pooled for both GAERS and control rats.

As previously described (Polack *et al.* 2007; Constantinople & Bruno, 2011), the background ECoG activity recorded from S1 cortex in GAERS between seizures (Fig. 1Ac, top record) and in control rats (Fig. 1Bc, top record) under fentanyl was composed of low amplitude, apparently desynchronized, waves resembling those observed during wakefulness. The intracellular

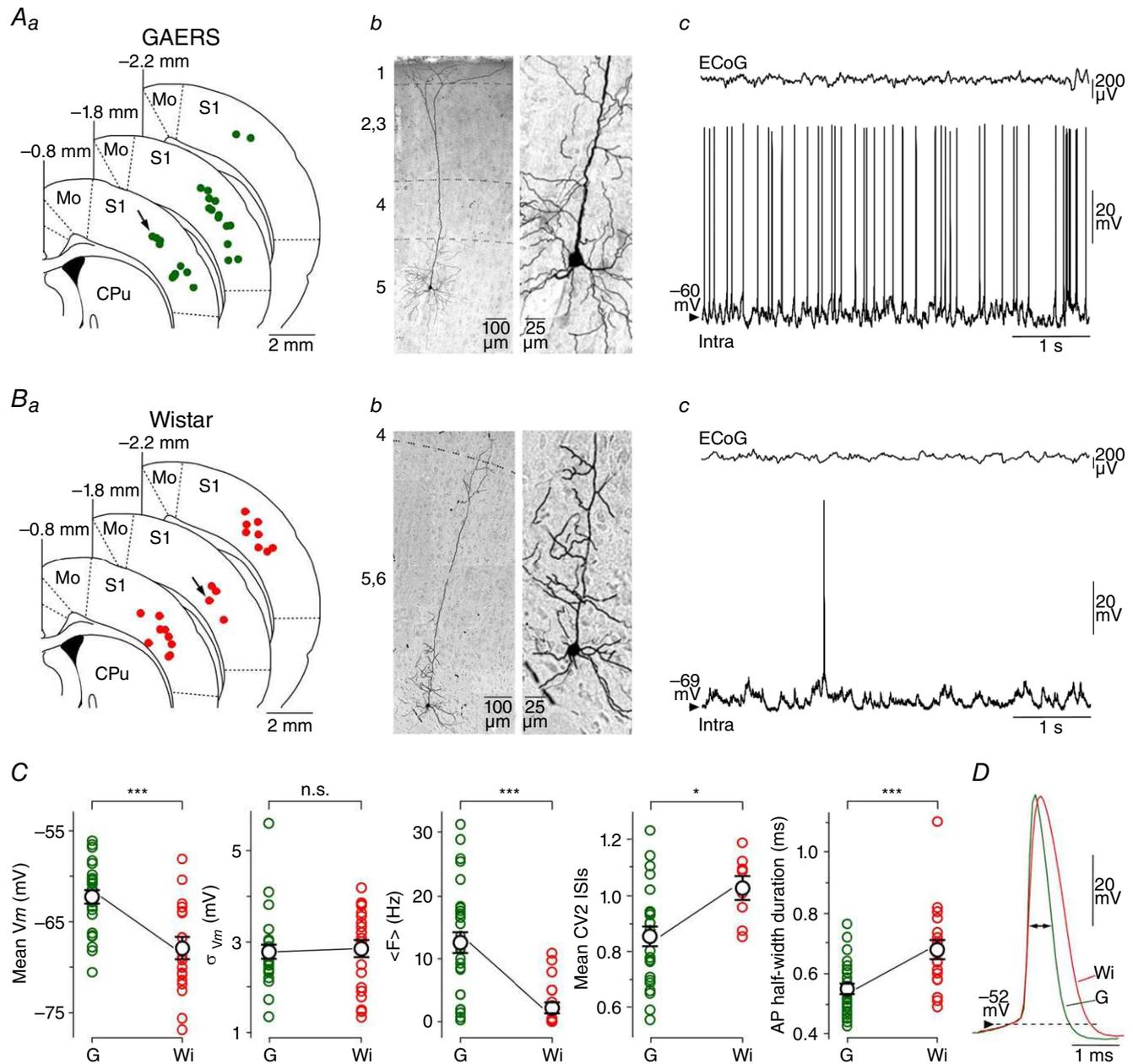


Figure 1. Comparison of basic morpho-functional properties of GAERS S1 cortex neurons with their counterparts in Wistar control rats

Aa and *Ba*, superimposed slice drawings, derived from the stereotaxic rat brain atlas (Paxinos & Watson, 1986), at the indicated distances from the bregma. Green and red circles indicate the location of intracellularly recorded neurons from the S1 cortex of GAERS (*Aa*) and control Wistar rats (*Ba*), respectively. CPu, caudate-putamen; Mo, motor cortex; S1, primary somatosensory cortex. *Ab* and *Bb*, photomicrographs of neurobiotin-filled neurons in the S1 cortex of GAERS (*Ab*) and control Wistar rats (*Bb*). The location of these neurons is indicated by the arrows in *Aa* and *Ba*. The numbers at the left correspond to the different cortical layers. As shown by the expansion of the somatodendritic regions (right part), neurons had the typical morphology of pyramidal cells. *Ac* and *Bc*, simultaneous monitoring of S1 cortex spontaneous ECoG waves (top records) and corresponding intracellular activities (bottom records) recorded from the neurons shown in *Ab* and *Bb*. *C*, population data of V_m , magnitude fluctuation of V_m (σ_{V_m}), mean spontaneous firing rate ($\langle F \rangle$), variability of ISIs (CV2 ISI) and half-duration of APs for GAERS (G) and control Wistar rat (Wi) neurons. Here and in similar figure panels, each circle represents an individual neuron and the larger black circles represent mean values \pm SEM. *D*, DC superimposition of average ($n > 9$) APs recorded from the GAERS (green trace) and control (red trace) neurons illustrated in *Ab* and *Ac* and *Bb* and *Bc*. * $P < 0.05$; *** $P < 0.001$; n.s., non-significant.

counterpart, recorded from GAERS and non-epileptic rats, was characterized by irregular and small-amplitude voltage fluctuations representing a mixture of excitatory and inhibitory synaptic events (Fig. 1Ac and Bc, bottom records). The corresponding V_m values were unimodally distributed in both cell populations (Fig. 4Ba), with a mean V_m significantly more depolarized in GAERS neurons (GAERS, $V_m = -62.2 \pm 0.7$ mV, $n = 27$ neurons from 16 rats; control Wistar rats, $V_m = -68.1 \pm 1.1$ mV, $n = 21$ neurons from 12 rats; $P < 0.001$) (Fig. 1C). Despite the relative hyperpolarization of control neurons, expected to increase the driving force of excitatory synaptic currents, the magnitude of V_m fluctuations in the two neuronal groups was similar (GAERS, $\sigma_{V_m} = 2.8 \pm 0.2$ mV, $n = 27$ neurons from 16 rats; control Wistar rats, $\sigma_{V_m} = 2.9 \pm 0.2$ mV, $n = 21$ neurons from 12 rats; $P > 0.7$).

Consistent with their relative membrane depolarization, GAERS ictogenic neurons had a higher mean spontaneous firing rate (GAERS, $\langle F \rangle = 12.5 \pm 1.8$ Hz, $n = 27$ neurons from 16 rats) compared to control homologous cells ($\langle F \rangle = 2.3 \pm 0.8$ Hz, $n = 21$ neurons from 12 rats; $P < 0.001$) (Fig. 1Ac, Bc and C). The spontaneous firing pattern of GAERS cortical neurons was also more regular, as attested by the lower values of ISI CV2 (GAERS, ISI CV2 = 0.85 ± 0.04 , $n = 24$ neurons from 14 rats; control Wistar rats, ISI CV2 = 1.03 ± 0.05 , $n = 8$ neurons from 8 rats; $P < 0.05$) (Fig. 1C). These altered firing properties in ictogenic neurons were associated with a reduced duration of individual APs (Fig. 1D) measured at half-amplitude (GAERS, 0.55 ± 0.02 ms, $n = 27$ neurons from 16 rats; control Wistar rats, 0.68 ± 0.03 ms, $n = 19$ neurons from 11 rats; $P < 0.001$) (Fig. 1C). The other AP properties, including voltage threshold (GAERS, -53.5 ± 0.7 mV, $n = 27$ neurons from 16 rats; control Wistar rats, -52.9 ± 1.2 mV, $n = 19$ neurons from 11 rats) and full amplitude (GAERS, 59.0 ± 1.2 mV, $n = 27$ neurons from 16 rats; control Wistar rats, 58.1 ± 1.7 mV, $n = 19$ neurons from 11 rats) did not significantly differ between the two cell groups ($P > 0.6$ for each parameter).

The increased level of membrane polarization and firing rate of ictogenic neurons likely result from abnormal intrinsic and/or synaptic properties that could alter their integrative properties. We thus characterized the input–output relationships of GAERS and control neurons and compared their R_m and membrane rectification values. V – I relationships were quantified by measuring V_m changes (ΔV_m) in response to intracellular hyperpolarizing current pulses of increasing intensity (Fig. 2Aa and Ba). When measurements were made at the end of the membrane capacitance charge (Fig. 2Aa and Ba, filled circles), data points were best fitted by linear regression (Fig. 2Ab and Bb). R_m values, calculated as the slopes of V – I relations, were similar in the two cell populations (GAERS, $R_m = 25.2 \pm 1.9$

$M\Omega$, $n = 18$ neurons from 10 rats; control Wistar rats, $R_m = 28.3 \pm 1.3$ $M\Omega$, $n = 18$ neurons from 8 rats; $P > 0.1$) (Fig. 2C). In all GAERS neurons, injection of negative current pulses of high magnitude (-0.8 nA) resulted in a depolarizing ‘sag’ of V_m (Fig. 2Aa), systematically followed by a post-anodal break depolarization that

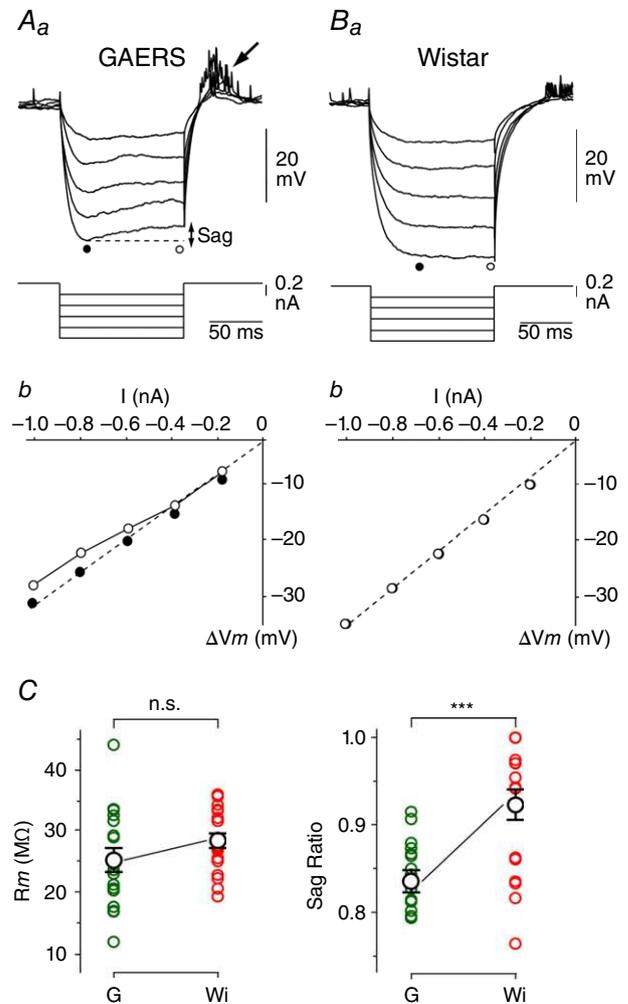


Figure 2. GAERS S1 cortex neurons display time-dependent inward rectification

A and B, average ($n \geq 20$ successive trials) voltage responses (top records) in a GAERS (Aa) and a non-epileptic rat (Ba) neuron to hyperpolarizing current pulses of increasing intensity (bottom traces). Measurements of voltage deflection (ΔV_m) were made after the charge of the membrane capacitance (filled circles) and at steady-state of the responses (open circles). Note the depolarizing sag potential during the course of the largest voltage drops in the GAERS cell and the subsequent post-anodal break excitation (arrow). The corresponding plots of ΔV_m as a function of the injected current (I) are shown for the GAERS (Ab) and control (Bb) neuron. Dashed lines represent linear regressions of V – I relations computed from the peak of the responses ($r \geq 0.99$). C, summary data of membrane resistance (R_m), calculated as the slope of V – I relations, and sag ratio values measured in GAERS (G) and control rat (Wi) neurons.

*** $P < 0.001$; n.s., non-significant.

could generate one or multiple APs (Fig. 2Aa, arrow). This sequence of cell response was indicative of the presence of the hyperpolarization-activated inward cationic current I_h (Pape, 1996). The comparison of sag ratio (SR) values in the two cell groups (GAERS, $SR = 0.84 \pm 0.01$, $n = 18$ neurons from 10 rats; control Wistar rats, $SR = 0.92 \pm 0.02$, $n = 18$ neurons from 8 rats; $P < 0.001$) indicated that the hyperpolarization-activated anomalous rectification was more prominent on average in seizure-initiating neurons (Fig. 2C).

These findings confirm and extend the specific electrophysiological alterations found in GAERS S1 cortex deep-layer pyramidal neurons as compared to their control counterparts. In addition to the previously reported sustained depolarization and hyperactivity, we now uncovered that seizure-initiating neurons display shorter APs, a more pronounced inward membrane rectification and a higher propensity to generate intrinsic bursts of APs.

Transfer function of GAERS cortical neurons is altered during inter-ictal periods

To investigate whether the suprathreshold input–output operations performed by seizure-initiating neurons were modified during inter-ictal periods, we first compared F – I relationships in GAERS and control neurons. In both cell populations, the mean firing rate increased linearly with stimulus magnitude over the range of tested intensities (Fig. 3A and B). The threshold current values (I_{th}), extrapolated from the x -intercept of the linear fits (Fig. 3B), showed a high cell-to-cell variability within both groups (GAERS, from -0.5 to 0.4 nA, $n = 18$ neurons; control Wistar rats, from -0.3 to 0.8 nA, $n = 18$ neurons) and were significantly decreased on average in the epileptic animals (GAERS, $I_{th} = -0.07 \pm 0.05$ nA, $n = 18$ neurons from 10 rats; control Wistar rats, $I_{th} = 0.17 \pm 0.07$ nA, $n = 18$ neurons from 11 rats; $P < 0.01$) (Fig. 3C). The neuronal gain, evaluated by the slope of the F – I relation, was not different in GAERS and control neurons (GAERS, $\gamma = 110.0 \pm 13.4$ Hz nA $^{-1}$, $n = 18$ neurons from 10 rats; control Wistar rats, $\gamma = 100.0 \pm 10.7$ Hz nA $^{-1}$, $n = 18$ neurons from 11 rats, $P > 0.5$) (Fig. 3Ba and b, and C).

We next examined if the potentiation of current-induced firing responses in GAERS deep-layer neurons was accompanied by modifications in the moment-to-moment variability in the rate and temporal pattern of APs when neurons are submitted to repeated excitatory stimuli (Ermentrout *et al.* 2008; Civillico & Contreras, 2012; Altwegg-Boussac *et al.* 2014). We thus compared the variability of current-induced AP responses in S1 cortical neurons of epileptic and normal rats during baseline periods. Measurements were made for stimulus intensities that generated a similar mean firing

rate (~ 30 Hz) in the two cell groups to allow a reliable comparison between GAERS and control neurons. The reliability of the firing rate during repeated trials, assessed by measuring the FF, was quite variable from cell to cell (GAERS, from 0.2 to 1.4, $n = 17$ neurons; control Wistar rats, from 0.1 to 1.8, $n = 17$ neurons), but did not differ on average between GAERS and control neurons (GAERS, $FF = 0.56 \pm 0.09$, $n = 17$ neurons from 10 rats; control Wistar rats, $FF = 0.61 \pm 0.12$, $n = 17$ neurons from 11 rats; $P > 0.8$) (Fig. 3D). The temporal regularity of firing patterns in the two groups of cells was assessed by measuring ISI variability across trials. Again, average values of ISI CV2 were similar in neurons recorded in epileptic and non-epileptic animals (GAERS, $CV2 = 0.69 \pm 0.06$, $n = 17$ neurons from 10 rats; control Wistar rats, $CV2 = 0.68 \pm 0.06$, $n = 17$ neurons from 11 rats; $P > 0.9$), despite a large inter-cell variability (GAERS, from 0.4 to 1.2, $n = 17$ neurons from 10 rats; control Wistar rats, from 0.31 to 1.1, $n = 17$ neurons from 11 rats) (Fig. 3D). Values of FF and ISI CV2 calculated in this study closely match those previously measured in S1 cortex layer 5 pyramidal neurons from normal rats recorded under fentanyl (Altwegg-Boussac *et al.* 2014).

As for the whole population of cells, GAERS neurons included in this series of experiments had a V_m significantly more depolarized compared to the corresponding control group (GAERS, $V_m = -62.5 \pm 0.9$ mV, $n = 18$ neurons from 10 rats; control Wistar rats, $V_m = -68.0 \pm 1.2$ mV, $n = 18$ neurons from 11 rats, $P < 0.001$). We thus examined the impact of the level of membrane polarization on the lateral translation of the transfer function by manipulating the V_m of control neurons. Before applying F – I protocols, DC injection ($+0.2$ – 0.5 nA) in S1 cortical neurons of non-epileptic rats was adjusted to bring the cells at a V_m (-60.1 ± 1.8 mV, $n = 7$ neurons from 7 rats) matching that of GAERS cells ($P > 0.1$) (Fig. 3Ac). This V_m manipulation of control neurons led to a significant reduction of I_{th} values (control Wistar rats, $I_{th} = 0.17 \pm 0.07$ nA, $n = 18$ neurons from 11 rats; control Wistar rats + I_{DC} , $I_{th} = -0.09 \pm 0.10$ nA, $n = 7$ neurons from 7 rats; $P < 0.05$), which became similar to those measured in GAERS neurons ($P > 0.8$) (Fig. 3Bc and C). In contrast, the neuronal gain was not affected by the V_m depolarization ($\gamma = 98.9 \pm 13.5$ Hz nA $^{-1}$, $n = 7$ neurons from 7 rats) and remained comparable to that measured in GAERS neurons ($P > 0.6$ for both comparisons) (Fig. 3Bc and C). Consistent with the lack of differences in the regularity of AP number and temporal precision between cortical neurons from GAERS and non-epileptic rats at V_m , DC depolarization of control neurons did not lead to modifications in FF values (control Wistar rats, $FF = 0.61 \pm 0.12$, $n = 17$ neurons from 11 rats; control Wistar rats + I_{DC} , $FF = 0.62 \pm 0.09$, $n = 6$ neurons

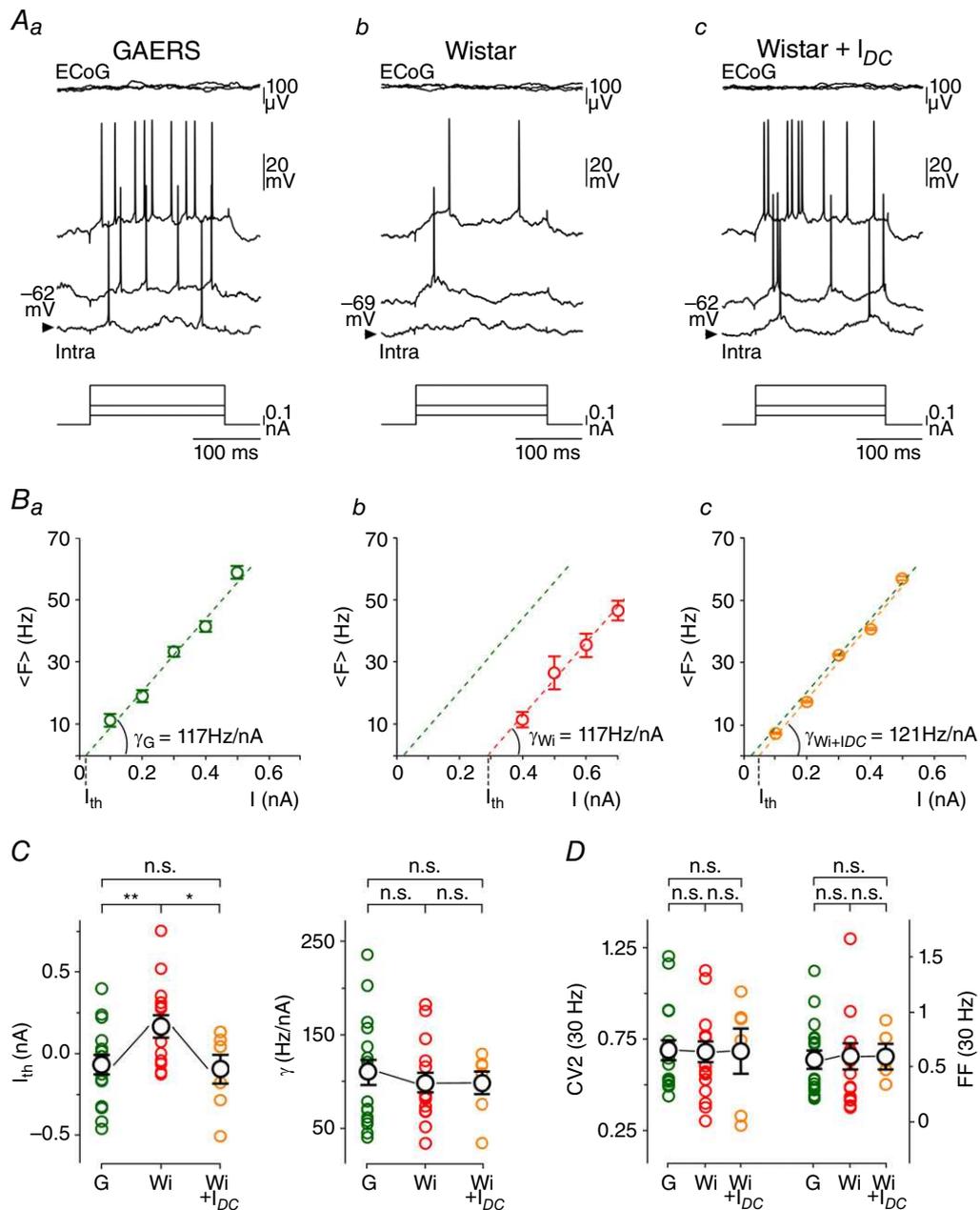


Figure 3. GAERS S1 cortex neurons exhibit in between seizures an increased sensibility to weak excitatory inputs

Aa–c, current-evoked (bottom traces) voltage responses (Intra) recorded from S1 cortex neurons in GAERS during inter-ictal period (Aa) and in a control Wistar rat at V_m (Ab) and during DC depolarization (Ac). Superimposed top traces are the simultaneous recorded ECoG activity. Ba–c, corresponding F – I curves from the neurons illustrated in A. Each symbol corresponds to the mean (\pm SEM) firing rate from 20–25 successive trials. Values of the neuronal gain (γ) and threshold current (I_{th}) calculated in GAERS (G) and Wistar rat neurons in control (Wi) and during DC depolarization (Wi + I_{DC}) are indicated. The green dashed line in Ba–c is the linear fit of the F – I curve computed in the GAERS neuron. C, population data of neuronal sensitivity (I_{th}) and gain (γ) for neurons recorded in GAERS (G, green circles), control Wistar rats in control condition (Wi, red circles) and during DC depolarization (Wi + I_{DC} , orange circles). D, pooled data comparing Fano factor (FF) values of spike counts and mean CV2 of ISIs between GAERS (G) and Wistar rat neurons at V_m (Wi) and during artificial depolarization (Wi + I_{DC}). Measurements were made on current pulses evoking on average a firing rate of 30 Hz. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; n.s., non-significant.

from 6 rats, $P > 0.9$) or CV2 of ISIs (control Wistar rats, CV2 = 0.68 ± 0.06 , $n = 17$ neurons from 11 rats; control Wistar rats + I_{DC} , CV2 = 0.68 ± 0.14 , $n = 6$ neurons from 6 rats, $P > 0.9$) (Fig. 3D).

Differential modulation of intrinsic excitability in GAERS cortical neurons during the 'spike' and 'wave' components of the seizure

Our findings showed that S1 cortex deep-layer pyramidal neurons from GAERS displayed in between seizures an increased sensitivity to weak excitatory inputs, which probably resulted from their abnormal membrane depolarization. We also found that these cells exhibited a prominent depolarizing sag potential activated during hyperpolarization that could participate in their oscillatory behaviour during SWDs. We next examined how seizure activity impacts their integrative properties and intrinsic excitability, differentiating the effect of the two main waveforms composing the paroxysms, i.e. the 'spike' (S) and the 'wave' (W) components, which are associated with two opposed profiles of intracellular activity.

At the occurrence of seizures, the inter-ictal desynchronized ECoG was abruptly replaced by SWDs composed of successive spike-and-wave complexes. The frequency of spike-and-wave complexes, which peaked at 8–10 Hz during the first 1–2 s of the seizures, slowed down and stabilized at 7–8 Hz (mean $n = 7.5 \pm 0.1$ Hz, $n = 288$ SWDs from 14 GAERS) for the rest of the epileptic episode (Fig. 4A, top panels). The mean duration of SWDs was 20.6 ± 4.1 s, ranging from 5 to 47 s ($n = 288$ SWDs from 14 GAERS). Seizure activity was associated in cortical neurons with rhythmic synaptic depolarizations superimposed on a sustained hyperpolarizing envelope (-8.2 ± 0.8 mV, $n = 17$ neurons from 13 GAERS), which brought the cells to a membrane potential (-69.3 ± 1.0 mV, $n = 17$ neurons from 13 GAERS) significantly more polarized compared to inter-ictal periods ($P < 0.001$) (Fig. 4A, bottom record). The unimodal distribution of V_m values outside seizures was consequently replaced, during ictal activity, by a bimodal pattern (Fig. 4Ba and b) reflecting the alternation of the two distinct intracellular profiles respectively correlated with the S- and W-components of the ECoG (Fig. 4C). During the S-components, cortical neurons displayed sharp and large amplitude synaptic membrane depolarizations usually suprathreshold for AP firing (Fig. 4A and C, grey boxes). In contrast, W-elements correlated with periods of hyperpolarization, a lack of AP firing and network quiescence in cortical neurons (Fig. 4C, blue box). Transitions from W- to S-components were accompanied by a slow depolarizing ramp in most (15 out of 17) recorded neurons (Fig. 4C, arrow; see also Fig. 3C in Polack *et al.* 2007).

Paradoxical effect of the Wave component

To investigate the consequence of the W-component on R_m of S1 cortex neurons, we applied repeated hyperpolarizing current pulses of short duration (10 ms in duration, -0.8 nA, every 50 ms, $n = 7$ neurons from 5 GAERS) in between and during seizures (Fig. 5Aa and Ab). Although the voltage responses did not reach steady-state during the course of the current injection due to the membrane time constant of cortical neurons, measurements of voltage deflections (ΔV_m) provided an indirect estimation of R_m changes. Cell responses were considered as occurring during the W-component ('W-responses') when stimuli occurred between 50 and 70 ms after the peak of the ECoG spikes (Fig. 5Ab, bottom panel). This temporal window corresponded to a period of membrane hyperpolarization devoid of synaptic events, with no overlap with the preceding or following S-dependent depolarizing shift (Fig. 5Ab). The mean V_m , measured just before (3 ms) the beginning of current pulses (W: pre-pulse $V_m = -65.8 \pm 1.6$ mV, $n = 3037$ W-components from 51 SWDs, $n = 7$ neurons from 5 GAERS), was close to that reached during the seizure-related hyperpolarizing envelope (V_m envelope = -67 ± 1.9 mV, $n = 51$ SWDs from 7 neurons from 5 GAERS; $P > 0.1$) and was significantly more negative than the mean pre-pulse V_m during inter-ictal (I-I) periods (I-I: pre-pulse $V_m = -60.5 \pm 1.4$ mV, $n = 7$ neurons from 5 GAERS; $P < 0.001$) (Fig. 5Aa, b and d, and B). The mean voltage drop induced by the negative current pulses during the W-components (W: $\Delta V_m = -11.9 \pm 0.7$ mV, $n = 3037$ W-components from 51 SWDs, $n = 7$ neurons from 5 GAERS) was significantly larger compared to the corresponding inter-ictal periods (I-I: $\Delta V_m = -11.0 \pm 0.9$ mV, $n = 7$ neurons from 5 GAERS; $P < 0.05$) (Fig. 5Ad and B). This increase in R_m could result from a decrease in synaptic conductance and/or a modulation of voltage-dependent intrinsic ionic channels during the sustained hyperpolarization associated with the seizure. To test the latter possibility, we hyperpolarized neurons during inter-ictal periods (I-I – I_{DC} : pre-pulse $V_m = -65.4 \pm 1.9$ mV, $n = 6$ neurons from 4 GAERS; $I_{DC} = -0.1$ to -0.4 nA), to match the V_m reached during the W-component ($P > 0.5$), and measured the voltage deflections induced by the same current steps (Fig. 5Ac). At hyperpolarized V_m , the mean current-induced voltage drop during inter-ictal periods was comparable to that measured in absence of DC injection (I-I – I_{DC} : $\Delta V_m = -10.9 \pm 0.9$ mV, $n = 6$ neurons from 4 GAERS; $P > 0.2$) and remained smaller than that measured during the ECoG wave ($P < 0.05$) (Fig. 5Ad,B).

We next investigated the impact of the W-element on cell excitability, i.e. the intrinsic ability of cortical neurons to generate APs in response to a given excitatory input. Repeated depolarizing current pulses were applied

(50 ms in duration, +0.4 nA, every 150 ms) and the firing responses obtained during the W-components and the corresponding inter-ictal periods were compared (Fig. 6Aa and b). Again, the W-associated pre-pulse V_m (W: pre-pulse $V_m = -66.3 \pm 2.5$ mV, $n = 763$ W-components from 26 SWDs, $n = 7$ neurons from 4 GAERS) was significantly hyperpolarized compared to

inter-ictal epochs (I-I: pre-pulse $V_m = -59.3 \pm 1.6$ mV, $n = 7$ neurons from 4 GAERS; $P < 0.001$) (Fig. 6Aa and b, and B) and similar to the V_m reached during the hyperpolarizing envelope (V_m envelope = -68.4 ± 2.1 mV, $n = 7$ neurons from 4 GAERS; $P > 0.7$). The number of current-evoked APs was markedly diminished during the W-component compared to the corresponding inter-ictal

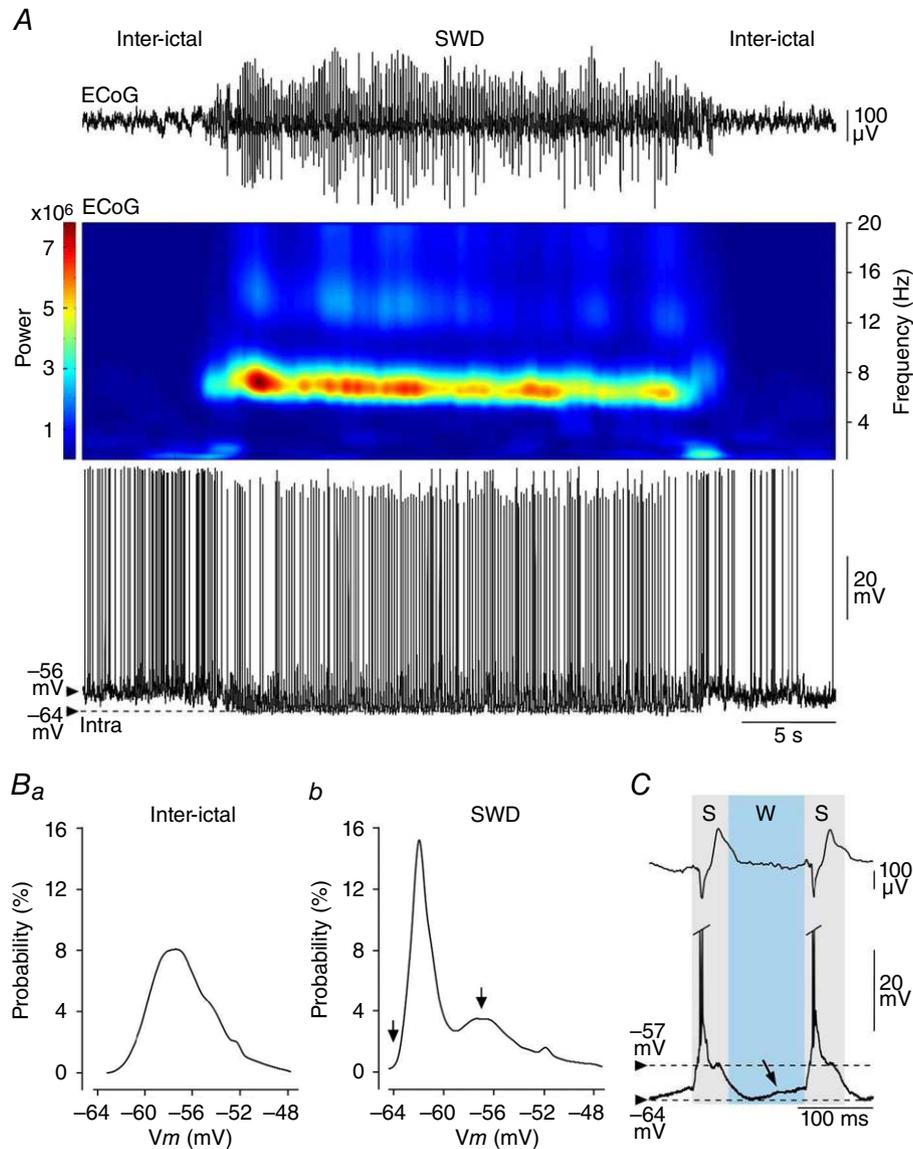


Figure 4. Spontaneous activity of GAERS S1 cortex neurons in between and during seizures

A, simultaneous recordings (40 s duration) of S1 cortex ECoG waves (top) and intracellular activity of a layer 5 pyramidal neuron (bottom), during inter-ictal and seizure (SWD) periods. The corresponding time–frequency analysis of the ECoG signal (energy density for the 0–20 Hz band) is depicted. Note the sustained hyperpolarization of the neuron (dashed line) throughout the SWD. B, probability density of V_m (bin: 0.5 mV) computed from the neuron illustrated in A, inter-seizure epochs (B_a , 30 s of spontaneous activity) and during the SWD (B_b). The left arrow in B_b indicates the maximal level of polarization reached during the seizure-associated envelope, and the right one corresponds to the mean subthreshold potential during the rhythmic depolarizations concomitant with the ECoG spikes. C, segment of the paired recordings shown in A during the ictal period. The spike (S) and wave (W) components of the SWD and their intracellular correlates are delimited by the grey and blue boxes, respectively. The arrow shows the ramp-like depolarization preceding the intracellular paroxysmal excitation. APs are truncated.

periods (W : 1.2 ± 0.4 APs/pulse, $n = 763$ W -components from 26 SWDs, $n = 7$ neurons *versus* I - I : 3.8 ± 0.5 APs/pulse, $n = 7$ neurons from 4 GAERS; $P < 0.001$) (Fig. 6Aa and b, and B). The difference in firing responses could result from the relative membrane depolarization

of S1 cortical neurons during inter-ictal periods and their elevated spontaneous firing rate ($\langle F \rangle = 15.2 \pm 3.9$ Hz, $n = 7$ neurons from 4 GAERS) as compared to W -related periods (see Fig. 5Aa *versus* Ab). To assess the impact of the level of membrane polarization, we made DC injection

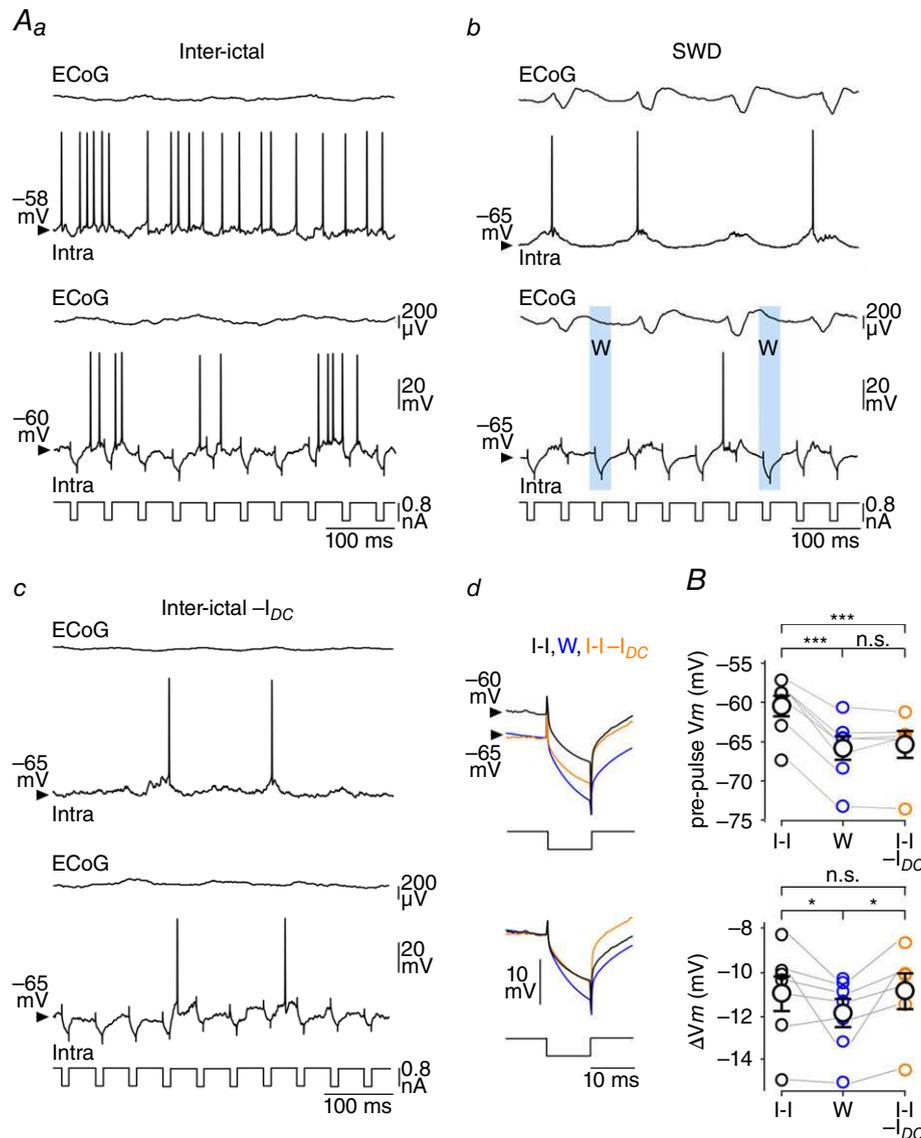


Figure 5. The W -component is associated with an increase in the membrane input resistance of cortical neurons

A, coupled recordings of S1 cortex ECoG and intracellular activities in between SWDs (Aa), during seizure activity (Ab) and during an inter-ictal period associated with DC hyperpolarization ($I_{DC} = -0.3$ nA) to approach the minimal V_m reached during the seizure. Differences in membrane conductance between these three conditions were assessed from voltage responses (bottom records) to negative (-0.8 nA) current pulse injections (lowest traces). Examples of cell responses obtained during the W -component are shaded blue in Ab. Ad, DC superimposition of the average current-evoked voltage changes obtained during the inter-ictal period (I - I , black trace, $n = 1250$ responses), the W -component (W , blue trace, $n = 152$ responses from 12 SWDs) and DC hyperpolarization in between seizures (I - I - I_{DC} , orange traces, $n = 224$ responses). The bottom panel illustrates the same three records superimposed by matching the V_m before the start of the pulse. B, population data showing the mean V_m values calculated just before the onset of current injection, during inter-ictal period (I - I), the W -component (W) and DC hyperpolarization during inter-ictal period (I - I - I_{DC}) (top). The bottom graph shows the corresponding values of current-induced voltage deflections (ΔV_m). Here and in the following population graphs, the grey lines connect measurements made from the same neurons. $*P < 0.05$; $***P < 0.001$; n.s., non-significant.

during the inter-seizure periods to bring neurons at a V_m (I-I $-I_{DC}$: pre-pulse $V_m = -64.8 \pm 3.5$ mV, $n = 5$ neurons from 3 GAERS; $I_{DC} = -0.1$ to -0.3 nA) similar to that associated with the W-event ($P > 0.7$), and applied the same train of depolarizing current pulses (Fig. 6Aa–c and B). This resulted in a considerable reduction in the number of current-induced APs (1.4 ± 0.2 APs/pulse, $n = 5$ neurons from 3 GAERS) compared to inter-ictal epochs in absence of DC hyperpolarization ($P < 0.01$), which, however, remained above that calculated during the W-periods ($P < 0.01$) (Fig. 6A and B).

These data demonstrate a paradoxical effect of the W-component on information processing by cortical neurons, combining an increase in R_m , expected to amplify cell responsiveness, with a decrease in firing responses to depolarizing inputs.

Inhibitory effect of the spike component

The S-component in the ECoG during seizure was reflected in S1 cortex neurons by an oscillatory-like depolarization, lasting 50–60 ms and giving rise to single or multiple discharge of APs (Fig. 4C). We first

examined the effect of this paroxysmal activity on R_m of GAERS neurons by applying iterative intracellular injections of brief hyperpolarizing current pulses (10 ms in duration, -0.8 nA, every 50 ms, $n = 7$ neurons from 5 GAERS) (Fig. 7Aa and b). The current-induced ΔV_m concomitant with the ECoG spikes were compared to those obtained during the corresponding W-components and inter-ictal periods (Fig. 7Ac). The mean V_m just preceding the current pulses applied during the S-component (S: pre-pulse $V_m = -60.5 \pm 1.2$ mV, $n = 1310$ ECoG spikes from 51 SWDs, $n = 7$ neurons from 5 GAERS) was more depolarized than the pre-pulse V_m during W-periods (W: pre-pulse $V_m = -65.8 \pm 1.6$ mV, 3037 W-components, 51 SWDs, $n = 7$ neurons from 5 GAERS; $P < 0.001$) and comparable to that of inter-ictal periods (I-I: pre-pulse $V_m = -60.5 \pm 1.4$ mV, $n = 7$ neurons from 5 GAERS; $P > 0.8$) (Fig. 7Ac and B). The current-evoked voltage changes during the S-components (S: $\Delta V_m = -4.4 \pm 0.5$ mV, $n = 1310$ ECoG spikes from 51 SWDs, $n = 7$ neurons from 5 GAERS) were considerably reduced compared to the corresponding W-components and inter-ictal epochs ($P < 0.001$ for each paired comparison) (Fig. 7Ac and B).

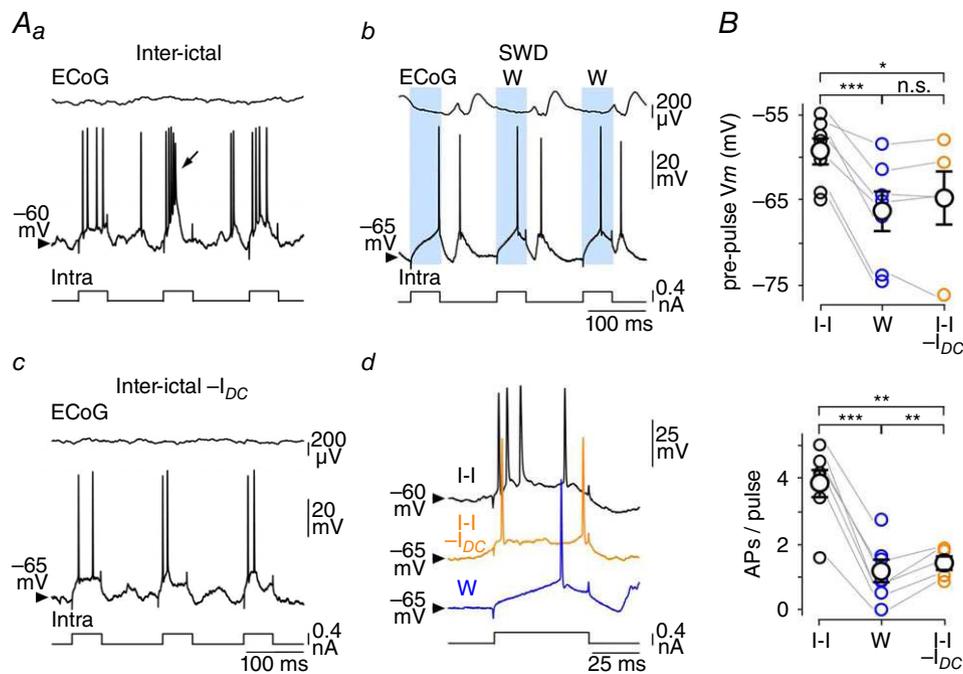


Figure 6. The excitability of cortical neurons is reduced during the W-component

A, voltage responses of a S1 cortical neuron to repetitive injections of depolarizing current pulses (+0.4 nA), in between seizures (Aa), during SWDs (Ab) and inter-ictal epochs associated with a DC hyperpolarization (-0.2 nA) (Ac). Suprathreshold responses obtained during the W-component are shaded blue in Ab. The arrow indicates the occurrence of an intrinsic burst in the stimulated neuron. In each panel, the top trace is the corresponding ECoG activity. The individual responses shown in Ad are representative examples obtained during inter-ictal (black trace) and wave (blue trace) periods, and during the course of inter-ictal epochs together with DC injection (orange trace). Calibrations in Ab apply also to Aa. B, population data indicating the V_m values just before the current pulse (top) during inter-ictal epochs (I-I), the W-component (W) and inter-ictal period coupled with DC hyperpolarization (I-I $-I_{DC}$) (top). The bottom graph provides the corresponding number of current-evoked APs in the three conditions. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; n.s., non-significant.

Despite the membrane depolarization concomitant with the S-component, the large decrease in R_m could negatively impact cortical excitability. To assess the overall change in neuronal excitability during the S-component, we injected a series of depolarizing current pulses (50 ms in duration, +0.4 nA, every 150 ms, $n = 7$ neurons from 4 GAERS) and compared, in the same cells, the firing responses elicited during the S-component, the W-component and the corresponding inter-ictal periods (Fig. 8A). Only cell responses overlapping with the synaptic depolarizations associated with the S-component were considered as 'S-responses'. In this set of experiments, the pre-pulse V_m during the S-component (S: pre-pulse $V_m = -63.2 \pm 1.3$ mV, $n = 1135$ ECoG spikes from 26 SWDs, $n = 7$ neurons from 4 GAERS) was more depolarized than during the ECoG wave (W: pre-pulse $V_m = -66.3 \pm 2.5$ mV, $n = 763$ ECoG waves from 26 SWDs, $n = 7$ neurons from 4 GAERS; $P < 0.05$) and slightly hyperpolarized relative to the corresponding inter-ictal periods (I-I: pre-pulse $V_m = -59.3 \pm 1.6$ mV, $n = 7$ neurons from 4 GAERS; $P < 0.001$) (Fig. 8Ac and B). In each tested neuron, the current-evoked firing was noticeably augmented during the S-component (S: 2.7 ± 0.3 APs/pulse, $n = 1135$ ECoG spikes from 26

SWDs, $n = 7$ neurons from 4 GAERS) compared to the W-component (W: 1.2 ± 0.4 APs/pulse, $n = 763$ ECoG waves from 26 SWDs, $n = 7$ neurons from 4 GAERS; $P < 0.001$). However, it remained significantly lower than that calculated during the corresponding inter-ictal epochs (I-I: 3.8 ± 0.5 APs/pulse, $n = 7$ neurons from 4 GAERS; $P < 0.01$). It is worth noting that the current-evoked firing rates during the ECoG spikes and inter-ictal periods are likely to be slightly overestimated due to the concurrent spontaneous firing during these two phases of activity.

Altogether, these findings indicate a moment-to-moment change in the responsiveness of GAERS cortical neurons during SWDs, with a relative increased excitability during the S-components, despite a dramatic increase in membrane conductance, compared to the wave-sequences. The excitability of cortical cells during the depolarizing element of the seizure remained however lower than during inter-ictal periods.

Discussion

The aim of the present study was to determine how the specific electrophysiological features of GAERS

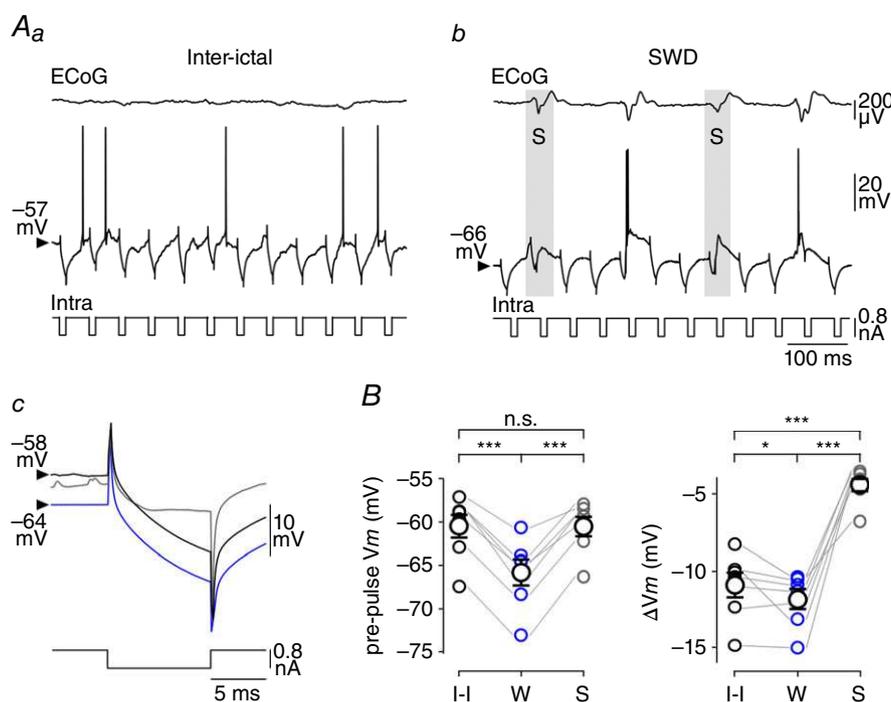


Figure 7. The S-component of the seizure results in a powerful shunting inhibition of cortical neurons
 A, voltage responses of a cortical neuron to hyperpolarizing current pulses (-0.8 nA) during inter-ictal period (Aa) and seizure activity (Ab). The cell responses occurring in phase with ECoG spikes are shaded grey. The corresponding mean current-induced voltage drops obtained during the inter-ictal period (I-I, black trace, $n = 373$ responses), the W-component (W, blue trace, $n = 383$ responses from 4 SWDs) and the ECoG spikes (S, grey trace, $n = 111$ responses from 4 SWDs) are shown in Ac. Calibrations in Ab apply also to Aa. B, population data providing the mean pre-pulse V_m values (left) and the current-induced voltage changes (right) during inter-ictal epochs (I-I), the W- and S-components. * $P < 0.05$; *** $P < 0.001$; n.s., non-significant.

ictogenic neurons impact their integrative properties and input–output operations during inter-ictal periods and during the different components of SWDs. In addition, to confirm their sustained depolarization and elevated spontaneous firing in between seizures, we demonstrated that ictogenic neurons display a prominent inward rectification and post-inhibitory rebound of excitation, probably caused by the activation of I_h . Analysis of F – I relations indicated that their sensitivity to weak excitatory inputs is increased compared to homologous neurons from non-epileptic rats, without changes in the neuronal gain and trial-to-trial variability of firing responses. We also showed that the current-evoked firing of ictogenic neurons is reduced during the W -component of the seizure compared to inter-ictal epochs despite an augmentation of their R_m . Conversely, while R_m of cortical cells is considerably attenuated during the S -component, the level of intrinsic excitability is enhanced relative to W -phases and stands just below that reached during inter-ictal periods.

Increased activity and sensitivity of ictogenic neurons in between seizures

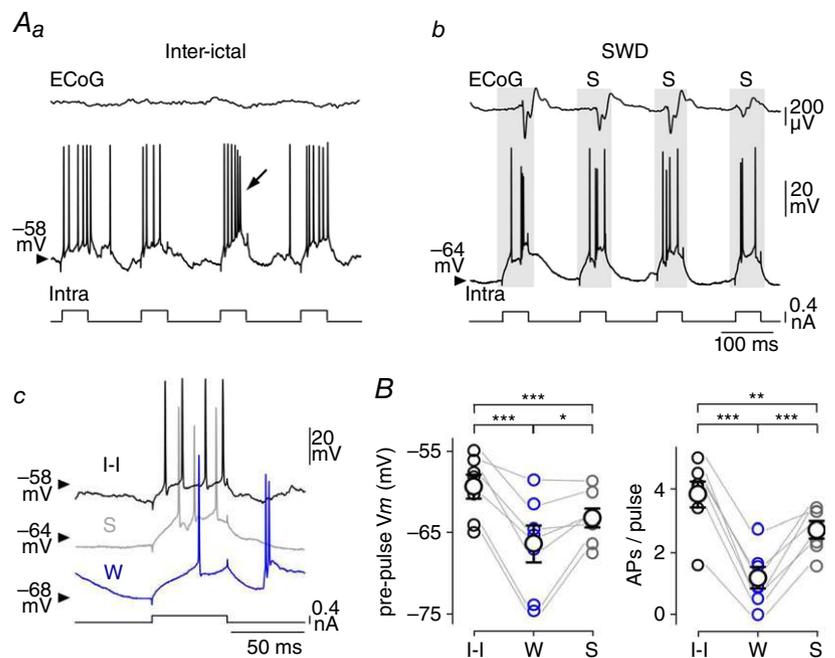
A consistent and specific feature of GAERS ictogenic neurons during inter-ictal periods is their depolarized V_m coupled with a sustained and regular spontaneous firing (Polack *et al.* 2007, 2009; Polack & Charpier, 2009; Chipaux *et al.* 2011, 2013; present study). This could result from an increase in the background depolarizing synaptic drive, as suggested by the synaptic alterations found in the S1 cortex of WAG/Rij rats, another genetic model of absence epilepsy (Depaulis & van Luijckelaar, 2006), combining an

increase in NMDA receptor-mediated activity (Luhmann *et al.* 1995; D'antuono *et al.* 2006), an augmented expression of mGlu2/3 receptors (Ngomba *et al.* 2005) and a decrease in the efficacy of GABAergic synaptic transmission (D'antuono *et al.* 2006; Inaba *et al.* 2009). Alternatively, the persistent membrane depolarization could be caused by an upregulation of voltage-gated sodium channels as previously reported (Klein *et al.* 2004). This hypothesis is supported by the effect of ethosuximide, an anti-absence medicine that attenuates the non-inactivating sodium currents (Crunelli & Leresche, 2002) and leads to a recovery of physiological values of V_m and firing rate in ictogenic neurons (Polack & Charpier, 2009).

Our findings indicate that the depolarized V_m of ictogenic neurons is responsible for a modification in their input–output function during inter-ictal periods. Indeed, F – I relations computed from GAERS neurons displayed a significant leftward shift without changes in neuronal gain, which could be reproduced by artificial depolarization in control neurons. This dependence of neuronal sensitivity on the level of membrane polarization is consistent with a recent study showing a transition to the left of F – I relations in S1 cortex neurons from normal rats following DC depolarization, in the presence or absence of background synaptic activity (Altwegg-Boussac *et al.* 2014). Similar sustained membrane depolarization has not been observed in other cortical and thalamic neurons (Slaght *et al.* 2004; Paz *et al.* 2007; Polack *et al.* 2009), suggesting a distinctive, probably pro-ictogenic, feature of deep-layer pyramidal neurons of GAERS S1 cortex. The narrow difference between V_m and AP voltage threshold in ictogenic neurons during inter-ictal periods implies

Figure 8. The membrane excitability of cortical neurons is markedly reduced during the S-component of the SWD

A, firing responses of a S1 cortex neuron to iterative injections of depolarizing current pulses (+0.4 nA) in between seizure activity (Aa, Inter-ictal) and in conjunction with the ECoG spikes during a SWD (Ab, grey shading). Typical cell responses obtained during the inter-ictal period (I-I), the S-component (S) and the W-component (W) are shown in Ac. The intracellular stimulation could generate an intrinsic burst of APs (arrow in Aa). Calibrations in Ab apply also to Aa. B, pooled data showing the pre-pulse V_m values (left) and the corresponding number of APs generated by the current pulses (right). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.



that weak and uncorrelated excitatory inputs are likely to substantially influence their output firing and augment their tonic and bursting activities (Parri & Crunelli, 1998), which are critically involved in the generation of cortico-thalamic SWDs (Blumenfeld & McCormick, 2000).

We also provided evidence that ictogenic neurons present a prominent hyperpolarization-induced depolarizing sag in response to large-amplitude negative current pulses, which was followed by a robust post-inhibitory rebound. This finding, which is indicative of an overexpression of I_h , contrasts with recent *in vitro* investigations showing a reduction of h -channels in S1 cortical neurons of WAG/Rij rats (Strauss *et al.* 2004; Kole *et al.* 2007). In addition to promoting seizure activity by taking part to the slow ramp depolarization preceding paroxysmal depolarizations during SWDs (Timofeev *et al.* 2002; see Fig. 4C), the increase in I_h currents could participate in the regularity of firing patterns during inter-ictal periods (Kole *et al.* 2006).

Dynamic modulation of membrane excitability and integrative properties of ictogenic neurons during seizures

To our knowledge, the present study provides the first demonstration that the intrinsic properties of neurons initiating genetically determined absence seizures are differentially modulated during the S- and W-components of seizures. During the W-component, ictogenic neurons are hyperpolarized, silent and deprived of synaptic events, resulting in an increased R_m compared to inter-ictal epochs. This is consistent with previous reports showing higher values of R_m during seizures in the GAERS motor cortex (Charpier *et al.* 1999; Slaght *et al.* 2002) and cat suprasylvian areas (Neckelmann *et al.* 2000). This result was attributed to a process of disfacilitation during the W-event, i.e. a transient interruption of the sustained synaptic drive, leading to a global decrease in membrane conductance and a passive return to the resting V_m . The initial and last part of the W-phase in ictogenic neurons involve the activation of synaptic and intrinsic conductances that could have led, in theory, to a reduction in R_m . First, Cl^- -dependent GABAergic synaptic inputs are responsible for a shunting inhibition that participates in the termination of the S-associated synaptic depolarizations and lasts for a few tens of milliseconds during the subsequent W-component (Chipaux *et al.* 2011). Second, paroxysmal synaptic depolarizations are preceded in most neurons by a slow ramp depolarization, reminiscent of the activation of h -channels (see Fig. 4C). However, the net increase in R_m indicates that the transient interruption of synaptic conductance has an overwhelming impact compared to the other possible sources of R_m modulation. Despite this reduction in membrane conductance, the number

of current-evoked APs was considerably reduced during the W-element compared to inter-ictal periods. This suggests that the increase in R_m was compensated by the W-related membrane hyperpolarization that moved the V_m away from the voltage threshold for AP generation and, consequently, diminished the firing responses of neurons to a given excitatory input.

The S-component is associated in ictogenic neurons with large-amplitude synaptic depolarizations, likely to be glutamatergic, leading to a transient AP discharge interrupted by a Cl^- -dependent synaptic conductance due to the recruitment of local GABAergic interneurons (Chipaux *et al.* 2011). This activation of combined excitatory and inhibitory synaptic conductances is likely to be responsible for the dramatic reduction in R_m during the ECoG spike. An increase in cortical neurons' membrane conductance during the cell depolarizations associated with the S-components has also been reported in the cat (Neckelmann *et al.* 2000). The current-evoked firing during the S-component, despite the considerable attenuation of R_m , was higher than during the ECoG wave, but remained significantly lower compared to inter-seizures epochs.

Altogether, these data indicate that the synaptic depolarization during the S-component is sufficient to partially restore cortical excitability relative to the W-element, but remained ineffective to fully recover the level of excitability reached outside seizures.

Potent mechanisms for aberrant cortical function in between and during absence seizures

The pro-ictogenic properties of GAERS S1 cortex neurons, already operating during inter-ictal periods, are primarily responsible for the propensity of the cortex to generate seizures. They may also partly underlie the behavioural comorbidities accompanying absence seizures in GAERS, such as anxiety, depression and psychosis (Jones *et al.* 2008, 2010). Consistently, it has been shown that treating GAERS with ethosuximide produces anti-epileptogenic effects, reduces the behavioural comorbidity (Dezsi *et al.* 2013) and restores normal electrophysiological features in individual cortical neurons (Polack & Charpier, 2009). Moreover, the increase in the power of gamma (30–80 Hz) oscillations in the GAERS fronto-parietal ECoG activity (Jones *et al.* 2010), proposed as a neurophysiological correlate of psychosis (Lee *et al.* 2003), is consistent with the high-frequency depolarizing synaptic barrage we observed in ictogenic cortical neurons.

The abnormal activity of cortical neurons in the course of the seizure, which results in time-to-time changes in cellular excitability and integrative properties, might contribute to the impaired integration of sensory information during absences. Convergent findings from human patients and rodent genetic models have shown the

persistence of cortical responses to sensory stimulations during SWDs (Inoue *et al.* 1992; Chipaux *et al.* 2013), indicating that the thalamo-cortical system still integrates external stimuli during absences. However, cortical processing of neutral environmental inputs remains ineffective in producing conscious perception during SWDs (Blumenfeld, 2005; Chipaux *et al.* 2013), while positively reinforced stimuli seem more able to perturb cortical paroxysms until recovery of conscious processes (Drinkenburg *et al.* 2003). The lack of conscious experiences during absences may thus mainly result from a transient functional disorder in large-scale networks, including bilateral associative cortices and related subcortical structures (Blumenfeld, 2005; Cavanna & Monaco, 2009; Chipaux *et al.* 2013). The dynamic alterations in the intrinsic properties of S1 cortex neurons suggest an additional cellular mechanism that could dramatically perturb the flow of sensory inputs in primary sensory cortices. Indeed, the moment-to-moment variability of cortical intrinsic excitability, dynamically influenced by the elementary epileptic pattern (wave or spike) at the time of the stimulus, is likely to introduce a severe uncertainty in sensory responsiveness during the course of the seizure, disrupting the stability of cortical network activity required for conscious experience (Schurger *et al.* 2015).

References

- Altwegg-Boussac T, Chavez M, Mahon S & Charpier S (2014). Excitability and responsiveness of rat barrel cortex neurons in the presence and absence of spontaneous synaptic activity *in vivo*. *J Physiol* **592**, 3577–3595.
- Bai X, Vestal M, Berman R, Negishi M, Spann M, Vega C, Desalvo M, Novotny EJ, Constable RT & Blumenfeld H (2010). Dynamic time course of typical childhood absence seizures: EEG, behavior, and functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci* **30**, 5884–5893.
- Blumenfeld H (2005). Consciousness and epilepsy: why are patients with absence seizures absent? *Prog Brain Res* **150**, 271–286.
- Blumenfeld H & McCormick DA (2000). Corticothalamic inputs control the pattern of activity generated in thalamocortical networks. *J Neurosci* **20**, 5153–5162.
- Cavanna AE & Monaco F (2009). Brain mechanisms of altered conscious states during epileptic seizures. *Nat Rev Neurol* **5**, 267–276.
- Charpier S, Leresche N, Deniau JM, Mahon S, Hughes SW & Crunelli V (1999). On the putative contribution of GABA(B) receptors to the electrical events occurring during spontaneous spike and wave discharges. *Neuropharmacology* **38**, 1699–1706.
- Chipaux M, Charpier S & Polack PO (2011). Chloride-mediated inhibition of the ictogenic neurones initiating genetically determined absence seizures. *Neuroscience* **192**, 642–651.
- Chipaux M, Vercueil L, Kaminska A, Mahon S & Charpier S (2013). Persistence of cortical sensory processing during absence seizures in human and an animal model: evidence from EEG and intracellular recordings. *PLoS One* **8**, e58180.
- Civillico EF & Contreras D (2012). Spatiotemporal properties of sensory responses *in vivo* are strongly dependent on network context. *Front Syst Neurosci* **6**, 1–20.
- Constantinople C & Bruno RM (2011). Effects and mechanisms of wakefulness on local cortical networks. *Neuron* **69**, 1061–1068.
- Crunelli V & Leresche N (2002). Block of thalamic T-type Ca²⁺ channels by ethosuximide is not the whole story. *Epilepsy Curr* **2**, 53–56.
- D’Antuono M, Inaba Y, Biagini G, D’Arcangelo G, Tancredi V & Avoli M (2006). Synaptic hyperexcitability of deep layer neocortical cells in a genetic model of absence seizures. *Genes Brain Behav* **5**, 73–84.
- David O, Guillemain I, Saillet S, Rey S, Deransart C, Segebarth C & Depaulis A (2008). Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological validation. *PLoS Biol* **6**, 2683–2697.
- Depaulis A, David O & Charpier S (2015). The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg as a model to decipher the neuronal and network mechanisms of generalized idiopathic epilepsies. *J Neurosci Methods* **260**, 159–174.
- Depaulis A & van Luijtelaar G (2006). Genetic models of absence epilepsy in the rat. In *Models of Seizures and Epilepsy*, ed. Pitkänen A, Schwartzkroin P & Moshe S, pp. 233–248. Elsevier Academic Press.
- Dezsi G, Ozturk E, Stanic D, Powell KL, Blumenfeld H, O’Brien TJ & Jones NC (2013). Ethosuximide reduces epileptogenesis and behavioural comorbidity in the GAERS model of genetic generalized epilepsy. *Epilepsia* **54**, 635–643.
- Drinkenburg WH, Schuurmans ML, Coenen AM, Vossen JM & van Luijtelaar EL (2003). Ictal stimulus processing during spike-wave discharges in genetic epileptic rats. *Behav Brain Res* **143**, 141–146.
- Ermentrout GB, Galan RF & Urban NN (2008). Reliability, synchrony and noise. *Trends Neurosci* **31**, 428–434.
- Feldman MD (1984). Morphology of the neocortical pyramidal neuron. In *Cerebral Cortex*, ed. Peters A & Jones EG, pp. 123–200. Plenum Press, New York.
- Fricker D, Verheugen JA & Miles R (1999). Cell-attached measurements of the firing threshold of rat hippocampal neurones. *J Physiol* **517**, 791–804.
- Holmes MD, Brown M & Tucker DM (2004). Are “generalized” seizures truly generalized? Evidence of localized mesial frontal and frontopolar discharges in absence. *Epilepsia* **45**, 1568–1579.
- Holt GR, Softky WR, Koch C & Douglas RJ (1996). Comparison of discharge variability *in vitro* and *in vivo* in cat visual cortex neurons. *J Neurophysiol* **75**, 1806–1814.
- Inaba Y, D’Antuono M, Bertazzoni G, Biagini G & Avoli M (2009). Diminished presynaptic GABA(B) receptor function in the neocortex of a genetic model of absence epilepsy. *Neurosignals* **17**, 121–131.
- Inoue M, van Luijtelaar EL, Vossen JM & Coenen AM (1992). Visual evoked potentials during spontaneously occurring spike-wave discharges in rats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **84**, 172–179.

- Jones NC, Martin S, Megatia I, Hakami T, Salzberg MR, Pinault D, Morris MJ, O'Brien TJ & van den Buuse M (2010). A genetic epilepsy rat model displays endophenotypes of psychosis. *Neurobiol Dis* **39**, 116–125.
- Jones NC, Salzberg MR, Kumar G, Couper A, Morris MJ & O'Brien TJ (2008). Elevated anxiety and depressive-like behaviour in a rat model of genetic generalized epilepsy suggesting common causation. *Exp Neurol* **209**, 254–260.
- Klein JP, Khera DS, Nersesyan H, Kimchi EY, Waxman SG & Blumenfeld H (2004). Dysregulation of sodium channel expression in cortical neurons in a rodent model of absence epilepsy. *Brain Res* **1000**, 102–109.
- Kole MHP, Brauer AU & Stuart GJ (2007). Inherited cortical HCN1 channel loss amplifies dendritic calcium electrogenesis and burst firing in a rat absence epilepsy model. *J Physiol* **578**, 507–525.
- Kole MHP, Hallermann S & Stuart GJ (2006). Single I_h channels in pyramidal neuron dendrites: properties, distribution, and impact on action potential output. *J Neurosci* **26**, 1677–1687.
- Lee KH, Williams LM, Breakspear M & Gordon E (2003). Synchronous Gamma activity: a review and contribution to an integrative neuroscience model of schizophrenia. *Brain Res Rev* **41**, 57–78.
- Luhmann HJ, Mittmann T, van Luijckelaar G & Heinemann U (1995). Impairment of intracortical GABAergic inhibition in a rat model of absence epilepsy. *Epilepsy Res* **22**, 43–51.
- Lüttjohann A & van Luijckelaar G (2015). Dynamics of networks during absence seizure's on- and offset in rodents and man. *Front Physiol* **6**, 16.
- Mahon S, Casassus G, Mulle C & Charpier S (2003). Spike-dependent intrinsic plasticity increases firing probability in rat striatal neurons *in vivo*. *J Physiol* **550**, 947–959.
- Mahon S & Charpier S (2012). Bidirectional plasticity of intrinsic excitability controls sensory inputs efficiency in layer 5 barrel cortex neurons *in vivo*. *J Neurosci* **32**, 11377–11389.
- Mahon S, Deniau JM & Charpier S (2001). Relationship between EEG potentials and intracellular activity of striatal and cortico-striatal neurons: an *in vivo* study under different anaesthetics. *Cereb Cortex* **11**, 360–373.
- Mahon S, Vautrelle N, Pezard L, Slaght SJ, Deniau JM, Chouvet G & Charpier S (2006). Distinct patterns of striatal medium spiny neuron activity during the natural sleep–wake cycle. *J Neurosci* **26**, 12587–12595.
- Matricardi S, Verrotti A, Chiarelli F, Cerminara C & Curatolo P (2014). Current advances in childhood absence epilepsy. *Pediatr Neurol* **50**, 205–212.
- Meeren HK, Pijn JP, Van Luijckelaar EL, Coenen AM & Lopes da Silva FH (2002). Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci* **22**, 1480–1495.
- Meeren H, van Luijckelaar G, Lopes da Silva F & Coenen A (2005). Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch Neurol* **62**, 371–376.
- Neckelmann D, Amzica F & Steriade M (2000). Changes in neuronal conductance during different components of cortically generated spike-wave seizures. *Neuroscience* **96**, 475–485.
- Ngomba RT, Biagioni F, Casciato S, Willems-Van Bree E, Battaglia G, Bruno V, Nicoletti F & van Luijckelaar EL (2005). The preferential mGlu2/3 receptor antagonist, LY341495, reduces the frequency of spike-wave discharges in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology* **49**, 89–103.
- Panayiotopoulos CP (2008). Typical absence seizures and related epileptic syndromes: assessment of current state and directions for future research. *Epilepsia* **49**, 2131–2139.
- Pape HC (1996). Queer current and pacemaker: the hyperpolarization-activated cation current in neurons. *Annu Rev Physiol* **58**, 299–327.
- Parri HR & Crunelli V (1998). Sodium current in rat and cat thalamocortical neurons: role of a non-inactivating component in tonic and burst firing. *J Neurosci* **18**, 854–867.
- Paxinos G & Watson C (1986). *The Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Sydney.
- Paz JT, Chavez M, SAILLET S, Deniau JM & Charpier S (2007). Activity of ventral medial thalamic neurons during absence seizures and modulation of cortical paroxysms by the nigrothalamic pathway. *J Neurosci* **27**, 929–941.
- Polack PO, Guillemain I, Hu E, Deransart C, Depaulis A & Charpier S (2007). Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *J Neurosci* **27**, 6590–6599.
- Polack PO & Charpier S (2009). Ethosuximide converts ictogenic neurons initiating absence seizures into normal neurons in a genetic model. *Epilepsia* **50**, 1816–1820.
- Polack PO, Mahon S, Chavez M & Charpier S (2009). Inactivation of the somatosensory cortex prevents paroxysmal oscillations in cortical and related thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy. *Cereb Cortex* **19**, 2078–2091.
- Rall W (1969). Time constants and electrotonic length of membrane cylinders and neurons. *Biophys J* **9**, 1483–1508.
- Schurger A, Sarigiannidis I, Naccache L, Sitt JD & Dehaene S (2015). Cortical activity is more stable when sensory stimuli are consciously perceived. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**, E2083–E2092.
- Silver RA (2010). Neuronal arithmetic. *Nat Rev Neurosci* **11**, 474–489.
- Slaght SJ, Paz JT, Chavez M, Deniau JM, Mahon S & Charpier S (2004). On the activity of the corticostriatal networks during spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy. *J Neurosci* **24**, 6816–6825.
- Slaght SJ, Paz JT, Mahon S, Maurice N, Charpier S & Deniau JM (2002). Functional organization of the circuits connecting the cerebral cortex and the basal ganglia: implications for the role of the basal ganglia in epilepsy. *Epileptic Disord* **4** (Suppl. 3), S9–S22.
- Steriade M (2004). Neocortical cell classes are flexible entities. *Nat Rev Neurosci* **5**, 121–134.
- Steriade M & Amzica F (1999). Intracellular study of excitability in the seizure-prone neocortex *in vivo*. *J Neurophysiol* **82**, 3108–3122.
- Strauss U, Kole MH, Brauer AU, Pahnke J, Bajorat R, Rolfs A, Nitsch R & Deisz RA (2004). An impaired neocortical I_h is associated with enhanced excitability and absence epilepsy. *Eur J Neurosci* **19**, 3048–3058.

- Teich MC (1992). Fractal neuronal firing patterns. In *Single Neuron Computation*, ed. McKenna T, Davis J & Zornetzer SF, pp. 589–625. Academic Press, Boston.
- Timofeev I, Bazhenov M, Sejnowski T & Steriade M (2002). Cortical hyperpolarization-activated depolarizing current takes part in the generation of focal paroxysmal activities. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 9533–9537.
- Trevelyan AJ, Bruns W, Mann EO, Crepel V & Scanziani M (2013). The information content of physiological and epileptic brain activity. *J Physiol* **591**, 799–805.
- Westmijse I, Ossenblok P, Gunning B & van Luijtelaar G (2009). Onset and propagation of spike and slow wave discharges in human absence epilepsy: A MEG study. *Epilepsia* **50**, 2538–2548.
- Wilent WB & Contreras D (2004). Synaptic responses to whisker deflections in rat barrel cortex as a function of cortical layer and stimulus intensity. *J Neurosci* **24**, 3985–3998.
- Williams D (1953). A study of thalamic and cortical rhythms in petit mal. *Brain* **76**, 50–69.

Additional information

Competing interests

The authors declare no competing financial interests.

Author contributions

S.C., S.M. and M.S.W. designed the research. M.S.W. and T.A.B. performed the experiments. M.S.W., T.A.B. and M.C. performed data analysis and S.C., S.M. and M.S.W. participated in the interpretation of the data. S.L. performed the histological processing. S.C. and S.M. wrote the manuscript and M.S.W., T.A.B., M.C. and S.L. revised and improved it. All authors have approved the final version of the manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work. All persons designated as authors qualify for authorship, and all those who qualify for authorship are listed.

Funding

This work was supported by grants from the Investissements d'avenir ANR-10-IAIHU-06, the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), and the Université Pierre et Marie Curie (UPMC).

Acknowledgements

Part of this work was carried out on the Histomics platform of the ICM and we thank all technical staff involved.

II. Article 2 en préparation : Intégration sensorielle dans les réseaux cortico-thalamiques au cours des crises d'absences dans un modèle génétique de rongeur

II. 1. Rappels sur le contexte de la recherche

Dans l'étude précédente (voir Article 1), j'ai montré que le niveau d'excitabilité des neurones ictogéniques des GAERS et leur activité de décharge en réponse à des stimulations directes étaient constamment altérés par l'alternance périodique des différentes composantes épileptiques, les *pointes* et les *ondes*, au cours de la crise. J'ai poursuivi mes recherches en analysant comment ces modifications des propriétés intégratives des neurones corticaux au cours du cycle épileptique étaient susceptibles d'affecter le traitement sensoriel au sein du cortex cérébral.

En accord avec les données humaines indiquant une origine focale corticale des crises d'absences (Holmes et coll., 2004 ; Westmijse et coll., 2009 ; Bai et coll., 2010 ; Szaflarski et coll., 2010), les travaux d'électrophysiologie multi-échelle réalisés dans les modèles génétiques de rongeurs ont montré que les DPO sont initiées par une population de neurones pyramidaux localisés dans les couches profondes de la région orofaciale du cortex S1 (Meeren et coll., 2002 ; Polack et coll., 2007, 2009 ; Depaulis et coll., 2016). En plus de leur rôle dans l'initiation des paroxysmes épileptiques, les neurones de sortie du cortex S1 sont au cœur des processus d'intégration, de traitement et de propagation des informations sensorielles issues des vibrisses, qui représentent la source principale d'informations tactiles chez les rongeurs (voir section VII. 1. de l'Introduction ; Petersen 2007). Ces neurones constituent donc un modèle d'étude unique pour comprendre les conséquences fonctionnelles des crises d'absences sur le traitement des informations sensorielles.

Des travaux, réalisées chez de jeunes enfants épileptiques (Chipaux et coll., 2013) et dans des modèles animaux (Inoue et coll., 1992 ; Meeren et coll., 2001 ; Chipaux et coll., 2013), ont montré une persistance des réponses sensorielles corticales au cours des crises. Chez les patients, des flashes lumineux appliqués durant les DPO produisaient dans le cortex visuel primaire des PE légèrement amplifiés par rapport à ceux induits pendant les périodes inter-critiques. Chez les rats épileptiques, des stimulations sensorielles multi-modales appliquées pendant les crises généraient dans l'aire corticale primaire correspondante des PE non modifiés (Chipaux et coll., 2013), amplifiés (Meeren et coll., 2001) ou diminués (Inoue et coll., 1992), selon les

études. Ces résultats démontrent que les informations sensorielles ne sont pas filtrées dans les circuits thalamo-corticaux lors des absences et que leur traitement dans les aires corticales primaires n'est pas suffisant pour produire une expérience subjective consciente. Etant donné que les PE sensoriels précédemment mesurés dans les aires corticales primaires des patients et des rats épileptiques étaient moyennés sur l'ensemble de la crise, masquant ainsi une possible modulation dynamique, j'ai, dans une deuxième partie de ma thèse, cherché à déterminer si les différentes phases du cycle épileptique pouvaient altérer de façon spécifique les réponses sensorielles corticales. J'ai donc caractérisé les réponses synaptiques évoquées dans les neurones ictogéniques des GAERS par la stimulation des vibrisses au cours des crises, en distinguant les réponses survenant pendant les *ondes* et les *pointes*, et je les ai comparées à celles obtenues en période inter-critique. Dans un deuxième temps, afin de déterminer la participation du thalamus au « brouillage cortical » des informations sensorielles, j'ai réalisé des enregistrements simultanés de l'activité ECoG dans le cortex S1 et de l'activité extracellulaire des neurones thalamo-corticaux correspondants pendant et en dehors des crises, ce qui m'a permis de corrélérer les réponses sensorielles corticales aux variations de décharge observées dans les neurones thalamiques. Cette étude fait l'objet d'un article en préparation.

II. 2. Matériel et Méthodes

Les expériences concernant cette étude ont été réalisées sur 21 GAERS adultes sédatisés à l'aide de fentanyl et curarisés. Les protocoles de préparation des animaux, d'enregistrements intracellulaires et extracellulaires, de révélation histochimique et les méthodes d'analyse sont décrits dans le chapitre Matériel et méthodes, (sections I., II.). Les neurones pyramidaux enregistrés ($n = 18$) étaient localisés dans les couches 5 et 6 de la région orofaciale du cortex S1 à une profondeur comprise entre 900 et 2661 μm par rapport à la surface corticale. Les neurones thalamiques étaient quant à eux localisés dans les noyaux VPM et POm à une profondeur comprise entre 4736 et 6851 μm par rapport à la surface corticale (Paxinos et Watson, 1986). Afin de confirmer la localisation des neurones enregistrés et d'identifier leur typologie, un colorant cellulaire, la neurobiotine, était parfois ajouté à la solution interne des électrodes d'enregistrement. Les stimulations sensorielles consistaient en l'application de *puffs*

d'air, de durée et de pression contrôlées, sur les vibrisses controlatérales aux sites d'enregistrement.

II. 3. Principaux résultats

II. 3. a. Impact des DPO sur les réponses des neurones ictogéniques aux stimulations des vibrisses

Les neurones corticaux somatosensoriels inclus dans cette étude ($n = 18$) présentaient des propriétés morphologiques et électriques membranaires similaires à celles décrites précédemment pour les neurones ictogéniques (voir Article 1 ; Williams et coll., 2016). Leur morphologie, caractérisée par un corps cellulaire de forme plus ou moins ovoïde, une longue dendrite apicale s'étendant vers les couches superficielles et de nombreuses dendrites basales, était typique des neurones pyramidaux des couches profondes du cortex S1 (figure 1A). Leurs propriétés électriques membranaires reproduisaient fidèlement celles des neurones ictogéniques des GAERS en dehors des crises (figure 1B), incluant un potentiel de membrane relativement dépolarisé ($V_m = -65,9 \pm 5,0$ mV, $n = 18$ neurones), une fréquence de décharge élevée ($\langle F \rangle = 10,1 \pm 2,4$ Hz, $n = 18$ neurones) et régulière ($CV2$ ISI = $0,89 \pm 0,10$, $n = 15$ neurones) ainsi qu'un courant seuil théorique de faible intensité ($I_{th} = 0,057 \pm 0,04$ nA, $n = 7$ neurones). Ces neurones présentaient une rectification entrante (lentement activable) prononcée (*sag ratio* = $0,88 \pm 0,12$, $n = 8$ neurones) en réponse à l'injection intracellulaire de courant hyperpolarisant de grande amplitude ($> -0,8$ nA) et une forte propension à générer des décharges en bouffées de PA en réponse à l'injection de courant dépolarisant supraliminaire (35 % de neurones IB).

Au cours des périodes inter-ictales, l'application de *puffs* d'air à basse fréquence (≈ 1 Hz ; figure 1B₂) sur les vibrisses controlatérales généraient dans les neurones ictogéniques des potentiels postsynaptiques composés d'une première réponse dépolarisante, infra- ou supraliminaire, survenant avec une latence de $15,8 \pm 1,2$ ms ($n = 18$ neurones) par rapport au début de la stimulation sensorielle (figure 1C₁). Dans 14 des 18 neurones corticaux enregistrés (78 %), ces potentiels postsynaptiques dépolarisants (PPSd) pouvaient conduire à la décharge d'un ou plusieurs PA (de 1 à 4) avec une probabilité de $33,1 \pm 7,8$ % ($n = 18$ neurones) et une latence moyenne d'arrivée du premier PA de $27,7 \pm 2,0$ ms ($n = 14$ neurones) (figure 1C₁, D). L'amplitude moyenne des réponses infraliminaires étaient de $2,5 \pm 0,3$ mV ($n = 17$ neurones) (figure 1C₁ & 2D). Ces propriétés des réponses sensorielles

enregistrées dans les neurones ictogéniques des GAERS en dehors des crises étaient très similaires à celles enregistrées dans les neurones homologues chez des rats non-épileptiques (Mahon et Charpier, 2012 ; Chipaux et coll., 2013 ; Altwegg-Boussac et coll., 2017).

En accord avec l'étude réalisée par mon équipe en 2013 (Chipaux et coll., 2013), nous avons montré que les neurones ictogéniques étaient capables de répondre aux stimulations des vibrisses au cours des crises par des PPSd infra- ou supraliminaires, avec une latence sensiblement retardée par rapport à celle mesurée en dehors des crises ($20,3 \pm 0,7$, $n = 18$ neurones; $p < 0,001$). Les paroxysmes corticaux diminuaient légèrement le nombre de neurones activés par les stimulations tactiles (12 sur 18 neurones, 67 %), avec une probabilité ($30,2 \pm 5,5$ %, $n = 18$ neurones) et une latence ($26,7 \pm 1,5$ ms, $n = 14$ neurones) de décharge similaires à celles mesurées sur les réponses sensorielles en inter-ictal ($p > 0,2$ pour les deux comparaisons) (figure 1C2, D). Les valeurs du potentiel de membrane précédant immédiatement (3 ms) le pied des réponses synaptiques étaient plus hyperpolarisées durant les crises comparé aux périodes inter-critiques (SWD : $-71,3 \pm 1,6$ mV, $n = 18$ neurones; I-I : $-67,6 \pm 1,5$ mV, $n = 18$ neurones; $p > 0,001$). De façon cohérente avec cette hyperpolarisation membranaire relative, les PPSd qui demeuraient sous-liminaires pour la décharge de de PA lors des DPO avaient une amplitude moyenne ($6,3 \pm 2,3$ mV, $n = 18$ neurones) significativement plus grande ($p < 0,001$) que celle mesurée en condition inter-ictale. Le nombre de PA évoqués dans les 50 ms suivant le début de la stimulation (zone grisée, figure 1E) en période critique et inter-critique n'était pas significativement différent (SWD : $0,50 \pm 0,12$, $n = 18$ neurones; I-I : $0,58 \pm 0,17$, $n = 18$ neurones ; $p > 0,4$) (figure 1E). Etant données les différences dans le taux de décharge spontanée des neurones entre les différentes conditions (SWD : $5,3 \pm 1,3$ Hz, $n = 18$ neurones; I-I : $10,1 \pm 2,4$ Hz, $n = 18$ neurones; $p < 0,01$), nous avons également comparé le nombre de PA évoqués par les stimulations après soustraction du nombre de PA spontané moyen (mesuré dans chaque neurone sur des périodes de 50 ms en réponse à des stimulations fictives ou en absence de stimulations, voir Matériel et méthodes, section II. 5.). Même après cette soustraction, le nombre de PA évoqués par essai en condition critique demeurait comparable à celui mesuré en inter-ictal (SWD : $0,04 \pm 0,07$, $n = 16$ neurones; I-I : $0,23 \pm 0,11$, $n = 16$ neurones ; $p > 0,5$) (figure 1E).

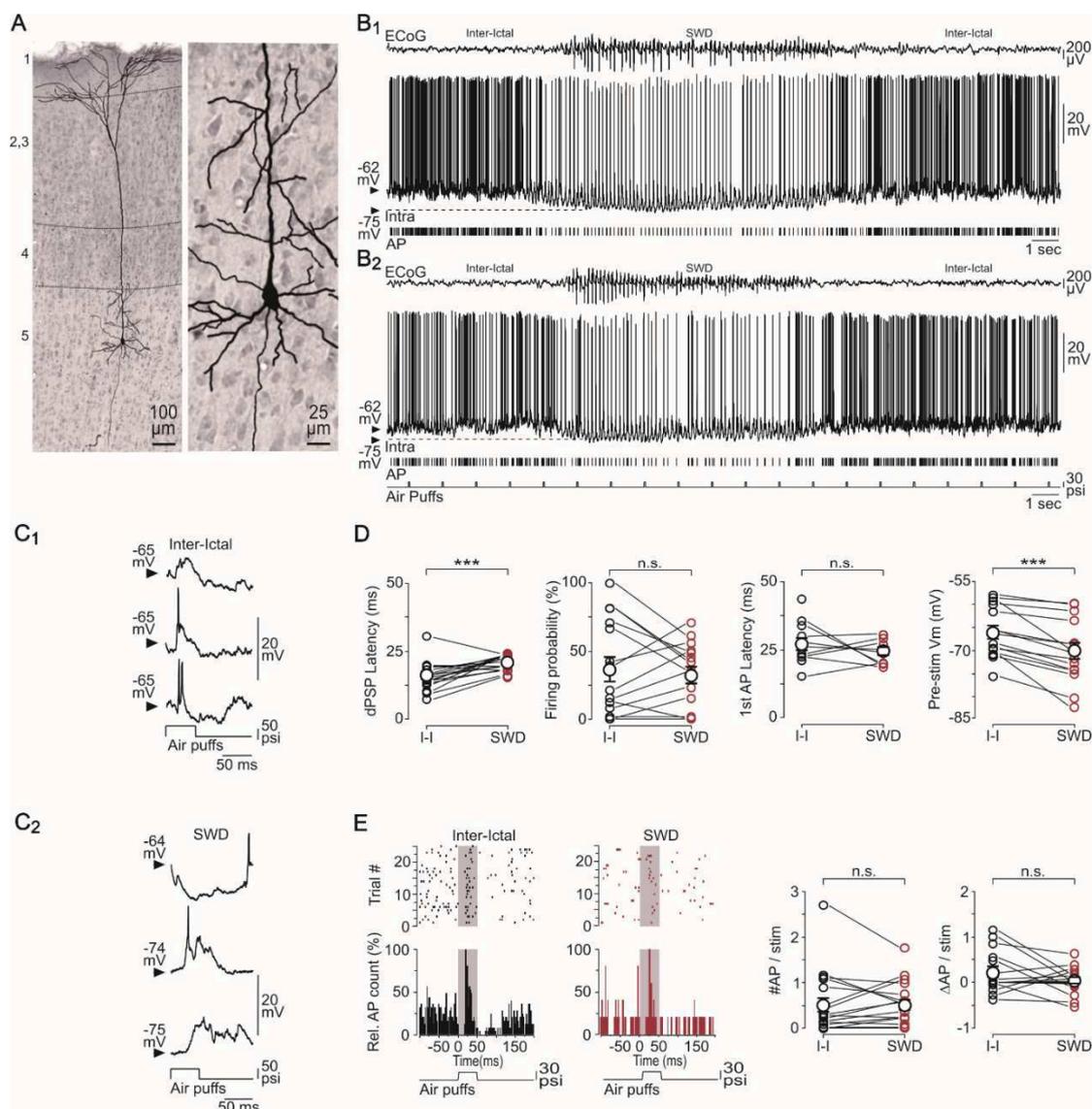


Figure 1 : Impact des DPO sur les réponses des neurones ictogéniques aux stimulations des vibrisses.

A, microphotographie d'un neurone pyramidal de la couche 5 du cortex S1 chez un GAERS coloré *in vivo* après injection intracellulaire de neurobiotine. Les chiffres sur la gauche indiquent les couches corticales. L'expansion de la région somato-dendritique à droite montre le début de l'axone se dirigeant vers le corps calleux. **B**, enregistrements simultanés de l'activité ECoG (traces du haut) et de l'activité intracellulaire d'un neurone ictogénique (Intra, traces du bas) au cours (SWD) et en dehors (Inter-Ictal) des crises, en absence (B1) et lors de l'application répétée (B2) de *puffs* d'air sur les vibrisses controlatérales au site d'enregistrement. Les traits verticaux en dessous des enregistrements marquent la survenue des PA. **C**, réponses sensorielles évoquées dans le neurone illustré en (B) au cours des périodes inter-ictales (C1, I-I) et lors des crises (C2, SWD). Les valeurs de potentiel de membrane précédant les réponses sont indiquées à gauche. Les PA ont été tronqués. **D**, résultats groupés comparant la latence de survenue des réponses synaptiques, la probabilité de décharge évoquée, la latence de survenue des premiers PA sur les réponses sensorielles ainsi que le potentiel de membrane juste avant l'application des stimuli sensoriels au cours des périodes inter-ictales (I-I) et lors des crises (SWD). **E**, panel de gauche, les graphes décrivent le temps d'arrivée des PA relativement au temps « zéro » d'application du stimulus sensoriel au cours des différents essais ($n = 25$) et la distribution du nombre de PA cumulé par bin de 3 ms sur l'ensemble des essais, en dehors (I-I) et pendant (SWD) les crises. Panel de droite, résultats comparant le nombre moyen de PA évoqués par essai au cours des différentes conditions avant (graphe de gauche) et après (graphe de droite) soustraction pour chaque neurone enregistré du taux basal de décharge. Dans l'ensemble des figures, les cercles blancs de grande taille correspondent aux moyennes \pm s.e.m. et les lignes noires relient les valeurs obtenues au sein des mêmes neurones. *******, $p < 0,001$; **n.s.**, non significatif.

II. 3. b. Modulation dynamique des réponses sensorielles corticales au cours du cycle épileptique

En dehors d'une latence de survenue relativement plus tardive, les réponses synaptiques évoquées dans les neurones ictogéniques par la stimulation des vibrisses, moyennées sur l'ensemble de la crise, ne montraient pas de différences significatives comparativement aux réponses induites en période inter-critique. J'ai cependant montré, lors de ma première étude, que l'alternance des composantes *pointes* et *ondes* de l'ECoG (et de leurs corrélats neuronaux spécifiques ; figure 2A₂) au cours des crises modulait de façon dynamique l'excitabilité membranaire des neurones corticaux somatosensoriels (voir Article 1). J'ai donc cherché à déterminer comment ces différentes activités épileptiques affectaient les réponses sensorielles corticales.

L'application de *puffs* d'air de façon concomitante à la survenue d'une *onde* dans l'ECoG, générait, dans les neurones ictogéniques, de larges réponses synaptiques dépolarisantes infra- ou supraliminaires, survenant avec une latence de $21,1 \pm 1,0$ ms ($n = 18$ neurones), c'est-à-dire relativement plus tardivement qu'en dehors des crises ($15,8 \pm 1,2$ ms, $n = 18$ neurones; $p < 0,001$) (figure 2B, D). La probabilité de décharge, très variable entre les différentes cellules, était légèrement plus importante que celle mesurée au cours des périodes inter-ictales ($42,8 \pm 7,8$ %, $n = 18$ neurones; $p = 0,07$), avec une latence de survenue du premier PA de $30,8 \pm 1,3$ ms ($n = 14$ neurones). Le nombre de PA moyen évoqués lors de chaque stimulation ($0,74 \pm 0,16$ PA, $n = 16$ neurones) était lui largement accru ($p < 0,001$) comparé à celui mesuré en dehors des crises de même que l'amplitude des réponses sous-liminaires (W : $8,5 \pm 0,7$ mV, $n = 18$ neurones; I-I : $2,5 \pm 0,3$ mV, $n = 17$ neurones; $p < 0,001$) (figure 2C). Afin d'identifier les mécanismes responsables de l'augmentation d'amplitude des réponses sensorielles pendant la composante *onde*, nous avons hyperpolarisé les neurones corticaux au cours des périodes inter-ictales (par injection de courant négatif continu, $-0,1$ à $-0,3$ nA, $n = 11$ neurones), de façon à amener leur potentiel de membrane à des valeurs approchant celles atteintes lors des ondes et nous avons examiné l'impact d'une telle hyperpolarisation sur l'amplitude des réponses sensorielles (figure 2D). L'hyperpolarisation membranaire en inter-ictal, de $-68,8 \pm 2,1$ mV à $-75,5 \pm 1,7$ mV ($n = 11$ neurones), se traduisait par une augmentation significative de l'amplitude des réponses synaptiques, de $2,8 \pm 0,5$ mV à $4,0 \pm 0,7$ mV ($n = 11$ neurones; $p < 0,01$), qui restait cependant plus faible que celle mesurée lors des *ondes* ($9,4 \pm 4,1$ mV, $n =$

11 neurones; $p < 0,001$) (figure 2D). Ce résultat suggère qu'une augmentation de la force électromotrice des courants synaptiques glutamatergiques participe à l'augmentation d'amplitude des réponses sensorielles pendant l'hyperpolarisation qui accompagne la survenue des *ondes*.

L'apparition des *pointes* dans l'ECoG, corrélée à de larges dépolarisation synaptiques supraliminaire dans les neurones corticaux, induisait une diminution marquée de la probabilité de décharge sur les réponses sensorielles comparé à celle mesurée en *ondes* (S : $17,6 \pm 4,6$ % ; W : $42,8 \pm 7,8$ %, $n = 18$ neurones; $p = 0,001$), jusqu'à une valeur légèrement (mais non significativement, $p = 0,17$) plus basse que celle observée sur les réponses sensorielles inter-ictales (I-I : $33,1 \pm 7,8$ %, $n = 18$ neurones) (figure 2C). La latence d'apparition des PA sur les réponses sensorielles ainsi que le nombre moyen de PA évoqués par stimulation (après soustraction de la fréquence moyenne de décharge lors des *pointes* en absence de stimulations), étaient eux aussi considérablement réduits comparativement aux *ondes* et aux périodes inter-ictales ($p < 0,01$ pour les deux comparaisons) (figure 2C). Nous avons vérifié que cette diminution de réactivité sensorielle au cours des périodes de *pointes* n'était pas due à une modification du seuil de déclenchement des PA sur les réponses synaptique (S : $-57,0 \pm 1,3$ mV ; W : $-58,2 \pm 1,3$ mV, $n = 14$ neurones ; $p = 0,09$). Enfin, l'amplitude des réponses synaptiques infraliminaire, parfois difficiles à isoler au sein des oscillations paroxystiques spontanées, était largement diminuée comparé aux deux autres conditions ($p < 0,01$ pour les deux comparaisons).

Ces résultats démontrent que les réponses synaptiques induites par la stimulation des vibrisses dans les neurones ictogéniques des GAERS sont plus amples et plus susceptibles de déclencher des PA pendant les composantes *ondes* qu'au cours des *pointes*. Cette atténuation des réponses sensorielles lors des *pointes* épileptiques avait déjà été rapportée par Steriade et Amzica (1999) dans un modèle pharmacologique d'épilepsie-absence (voir section III. 2. b. de l'Introduction). Il peut paraître paradoxal que des neurones dans un état hyperpolarisé, et donc plus éloigné de leur seuil de décharge, répondent de manière plus efficace à des entrées synaptiques excitatrices. Cette amplification des réponses neuronales pourraient résulter de l'augmentation relative de résistance membranaire, due à une diminution globale de conductance synaptique au cours des *ondes* (voir Article 1 ; Charpier et coll., 1999). De manière synergique avec les modifications d'excitabilité membranaire, il est probable qu'une augmentation de la force électromotrice des courants

synaptiques glutamatergiques participe à l'accroissement d'efficacité des réponses sensorielles lors des *ondes*. En accord avec cette hypothèse, nous avons montré qu'une hyperpolarisation artificielle du potentiel de membrane des neurones ictogéniques pendant les périodes inter-ictales produisait une augmentation de l'amplitude des réponses sensorielles infraliminaires (figure 2D). Lors de ma première étude, j'ai montré une diminution relative de fréquence de décharge en réponses à des stimulations directes au cours des périodes de *ondes* (voir Article 1 ; Williams et coll., 2016). Il semble donc que la diminution de conductance membranaire (due à l'arrêt des entrées synaptiques) et l'augmentation conjointe de la force électromotrice des courants synaptiques glutamatergiques l'emportent sur la diminution d'excitabilité intrinsèque induite par l'hyperpolarisation et l'éloignement du seuil de déclenchement des PA.

D'autres mécanismes pourraient, au moins partiellement, rendre compte de l'atténuation relative des réponses sensorielles au cours des *pointes*. Il est ainsi envisageable que les réponses sensorielles des neurones thalamo-corticaux des noyaux VPM et POm, par lesquels transitent les informations sensorielles issues des vibrisses avant d'accéder au cortex S1, soient elles-mêmes altérées par la survenue des *pointes* épileptiques. Dans le but d'explorer cette hypothèse, nous avons réalisé des enregistrements simultanés de l'activité ECoG dans le cortex S1 et de l'activité extracellulaires des neurones thalamo-corticaux du VPM et du POm, et nous avons examiné le patron de décharge thalamique évoqué par les stimulations tactiles en dehors des crises et au cours des différentes phases du cycle épileptique.

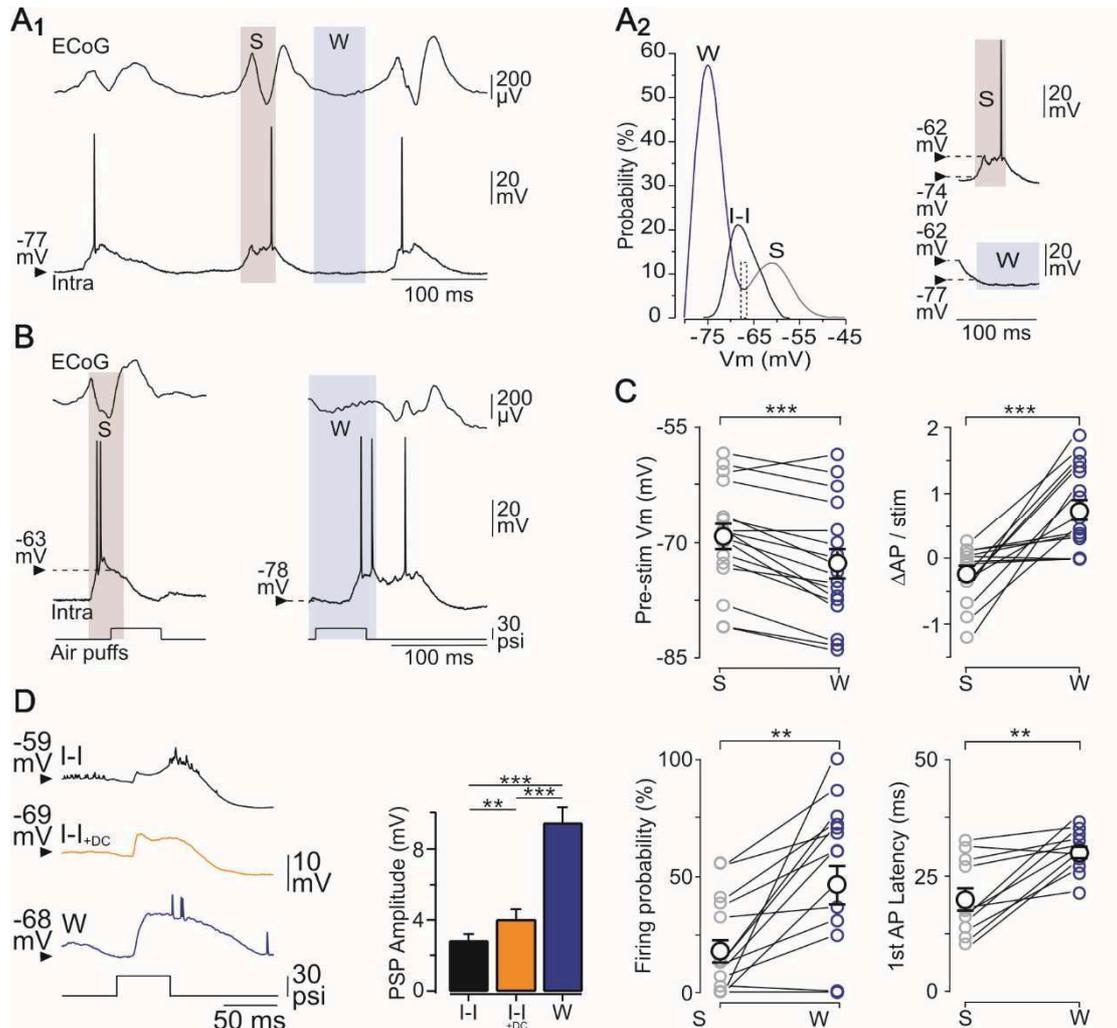


Figure 2 : Modulation différentielle de l'intégration sensorielle corticale au cours du cycle épileptique

A, activité ECoG et activité intracellulaire d'un neurone pyramidal du cortex S1 enregistrées chez un GAERS au cours des crises (A1). Les composantes *pointes* (S pour Spike) et *ondes* (W pour Wave) ainsi que leurs corrélats neuronaux spécifiques sont délimités par les zones grises et bleues, respectivement. (A2) distribution de probabilité des valeurs de Vm illustrant les différents états de polarisation membranaire pendant les périodes inter-ictales (I-I), les périodes de *pointes* (S) et les périodes d'*ondes* (W). Les pointillés délimitent la gamme de potentiels membranaires correspondant aux transitions entre *pointes* et *ondes*. **B**, exemples typiques de réponses sensorielles enregistrées dans les neurones ictogéniques au cours des périodes de *pointes* (S) et lors des *ondes* (W). **C**, résultats groupés comparant la probabilité d'évoquer des réponses supraliminales, le temps d'arrivée des PA sur les réponses et le nombre de PA évoqué par réponse (après soustraction du taux basal de décharge) lorsque la stimulation était appliquée de façon concomitante à l'arrivée d'une *onde* (S) ou d'une *pointe* (W). **D**, réponses synaptiques moyennes induites par la stimulation des vibrisses au cours des périodes inter-ictales (I-I) (n = 73), au cours des périodes inter-ictales après injection intracellulaire d'un courant continu négatif (I-I+DC) (n = 52) et au cours de la crise en période d'*onde* (W) (n = 10). Le graphe à droite illustre l'amplitude moyenne des réponses sensorielles dans les trois conditions. **, p < 0,01 ; ***, p < 0,001.

II. 3. c. Modulation dynamique des réponses sensorielles thalamiques au cours du cycle épileptique

Les neurones thalamiques enregistrés, identifiés par injection juxtacellulaire de neurobiotine (Matériel et méthodes, section I. 5.), présentaient les caractéristiques morphologiques typiques des neurones thalamiques de relai (Steriade et coll., 1997), incluant un corps cellulaire fusiforme d'environ 15 – 20 μm et 4 à 7 dendrites proximales se ramifiant de façon radiale en de fines dendrites distales (figure 3A). Alors qu'en périodes inter-ictales, les neurones thalamiques présentaient une activité de décharge soutenue ($8,6 \pm 3,3$ Hz, $n = 13$ neurones) mais relativement irrégulière ($\text{CV}^2 \text{ ISI} = 0,93 \pm 0,05$, $n = 13$ neurones), la survenue spontanée des DPO s'accompagnait d'une décharge rythmique de PA isolés ou de bouffées de PA ($1,1 \pm 0,3$ PA / *pointe*, $n = 13$ neurones) en phase avec les pointes ECoG, sans modification significative de la fréquence de décharge ($7,9 \pm 2,3$ Hz, $n = 13$ neurones; $p > 0,7$) (figure 3B₁ & 4A). Les stimuli sensoriels appliqués au cours des périodes inter-ictales induisaient la décharge de l'ensemble des neurones thalamiques enregistrés ($n = 13$) avec une probabilité de $39,9 \pm 10,0$ %, une latence moyenne de $20,5 \pm 2,3$ ms et un nombre moyen de PA évoqué par essai (après soustraction du taux de décharge basal) de $0,34 \pm 0,24$ (figure 3C1,D). La latence de survenue des PA dans les neurones thalamo-corticaux somatosensoriels, en réponse à la stimulation des vibrisses, était comparable à celle mesurée dans des neurones homologues chez le rat normal (Brecht et Sakmann, 2002). Lors des crises, si les stimuli étaient considérés indépendamment de leur survenue concomitante avec l'une ou l'autre des phases du cycle épileptique, aucune différence significative dans les propriétés des réponses thalamiques n'était détectée ($p > 0,05$ pour l'ensemble des paramètres) (figure 3C, 2D). Ainsi, la probabilité globale de décharge en réponse aux stimulations tactiles au cours des crises était de $31,2 \pm 6,5$ %, la latence de survenue des premiers PA de $25,1 \pm 2,6$ ms et le nombre moyen de PA induits de $0,36 \pm 0,09$ PA ($n = 13$ neurones) (figure 3D).

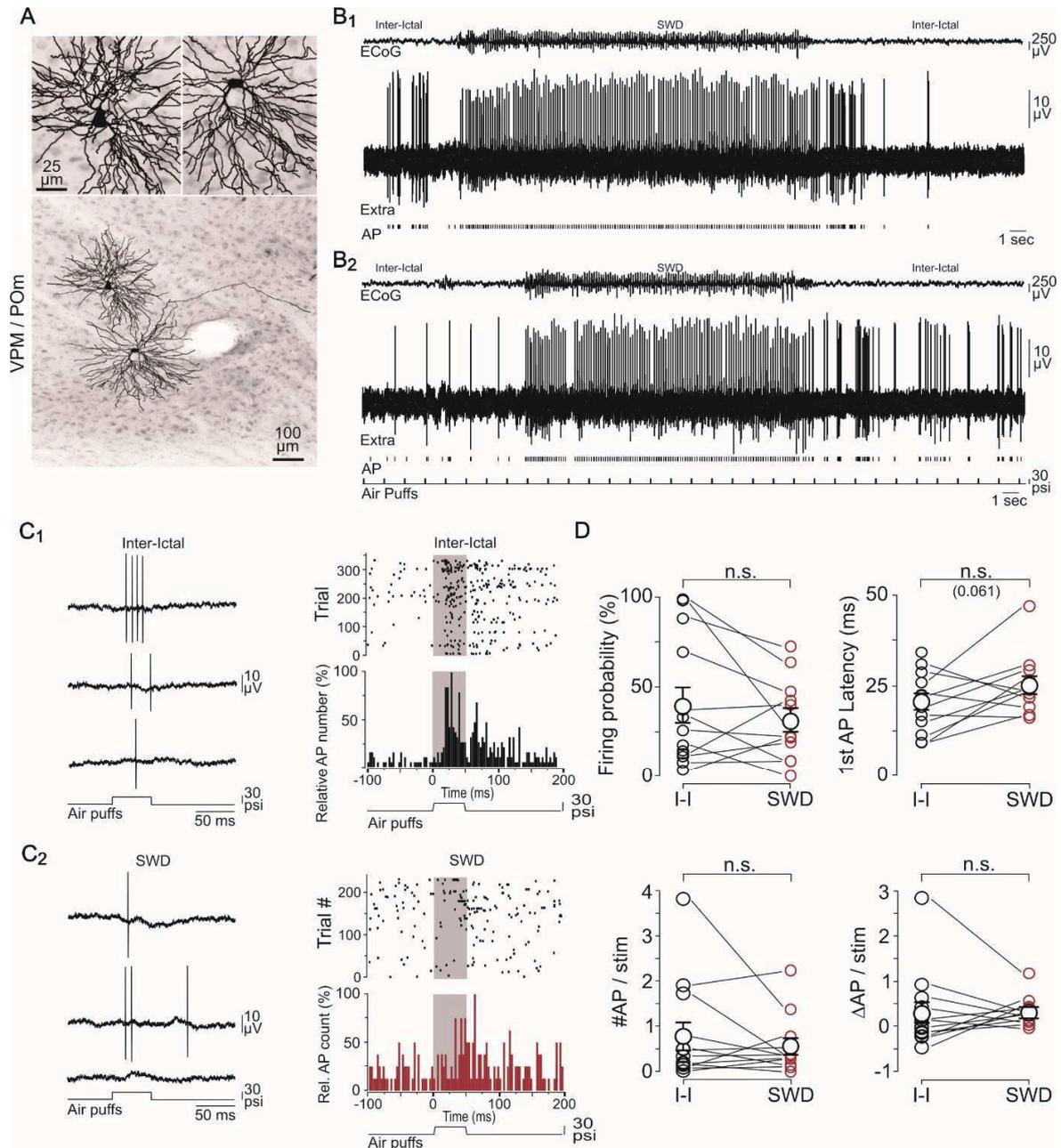


Figure 3 : Réponses sensorielles thalamiques au cours des périodes inter-ictales et lors des DPO.

A, microphotographie de deux neurones thalamiques à la jonction des noyaux VPM et POm, colorés *in vivo* par injection juxtacellulaire de neurobiotine. Noter les nombreuses dendrites rayonnantes caractéristiques des neurones thalamiques de relay. **B**, enregistrements simultanés d'une DPO (ECoG) et de l'activité extracellulaire d'un neurone thalamique (Extra) en absence (B1) et lors de l'application répétée de *puffs* d'air sur les vibrisses d'un GAERS (B2). Les traits verticaux en dessous des enregistrements marquent la survenue des PA. **C**, activité de décharge évoquée dans le neurone thalamique illustré en (B) au cours des périodes inter-ictales (C1, I-I) et lors des crises (C2, SWD). Les graphes correspondants à droite décrivent le temps d'arrivée des PA relativement au temps « zéro » d'application du stimulus sensoriel au cours des différents essais (I-I : $n = 341$; SWD : $n = 230$) et la distribution du nombre de PA cumulé par bin de 3 ms sur l'ensemble des essais, en dehors (I-I) et pendant (SWD) les crises. **D**, résultats groupés comparant, au cours des périodes inter-ictales (I-I) et lors des crises (SWD), la probabilité de décharge évoquée, la latence de survenue des premiers PA et le nombre moyen de PA évoqués par essai avant ($\#AP / stim$) et après ($\Delta AP / stim$) soustraction pour chaque neurone enregistré du taux basal de décharge. n.s., non significatif.

De façon similaire à ce que nous avons observé dans les neurones corticaux ictogéniques, l'analyse des réponses sensorielles au cours des différentes composantes épileptiques (figure 4B) montrait une forte augmentation du nombre de PA évoqués par essai pendant les *ondes* ($0,62 \pm 0,14$ PA, $n = 13$ neurones) comparativement aux réponses survenant lors des *pointes* ($0,18 \pm 0,07$ PA, $n = 13$ neurones, $p < 0,01$) (figure 4C). La latence de décharge des neurones thalamiques étaient significativement retardée lors des *ondes* (S : 1st AP latency = $16,7 \pm 4,5$ ms ; W : 1st AP latency = $34,0 \pm 2,7$ ms, $n = 12$ neurones; $p < 0,05$) et la probabilité de décharge, bien que légèrement augmentée au cours des *ondes* ($38,8 \pm 7,9$ %, $n = 13$ neurones), demeurait similaire à celle mesurée en *pointes* ($28,6 \pm 8,0$ %, $n = 13$ neurones ; $p > 0,4$) (figure 4C). Les propriétés des réponses sensorielles des neurones thalamiques au cours des différentes phases du cycle épileptique n'étaient pas significativement différentes de celles mesurées en dehors des crises, excepté la latence de survenue des PA qui était largement accrue pendant les périodes d'*ondes* ($p < 0,001$).

Nos enregistrements extracellulaires *in vivo* de l'activité des neurones des noyaux VPM et POm chez le GAERS ont permis de montrer que les réponses sensorielles thalamiques, qui ne semblent globalement pas altérées par la survenue des crises, sont dynamiquement modulées par l'alternance des différentes composantes épileptiques au sein des crises. A l'instar des neurones corticaux, la probabilité d'évoquer des réponses supraliminaires, le taux de décharge ainsi que la latence des PA étaient augmentés lors de la survenue des *ondes* comparativement aux périodes de *pointes*, suggérant un premier niveau de « brouillage » sensoriel au niveau thalamique. Les enregistrements extracellulaires n'ont pas permis d'identifier les mécanismes cellulaires à l'origine de la différence de réactivité sensorielle des neurones thalamiques au cours du cycle épileptique. Même si l'on ne peut exclure une altération du flux des informations sensorielles avant même l'accès au thalamus, on peut envisager que l'hyperpolarisation membranaire des neurones thalamo-corticaux au cours des *ondes*, en permettant la dé-inactivation du courant calcique à bas seuil (Jahnsen et Llinas, 1984 ; Llinas and Steriade, 2006), favorise une décharge répétée de PA en réponse aux stimulations et conduise ainsi à des entrées synaptiques renforcées sur les neurones corticaux du foyer.

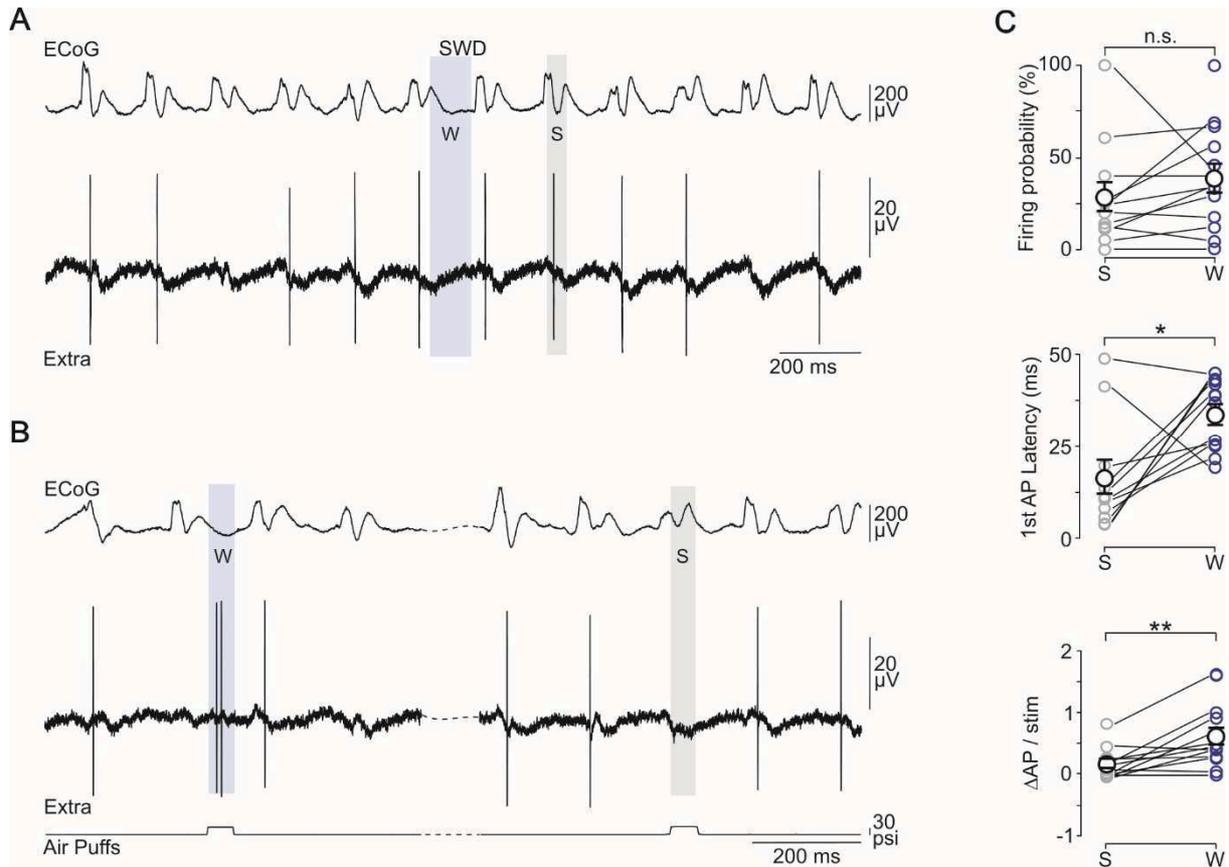


Figure 4 : Modulation des réponses sensorielles thalamiques selon la phase du cycle épileptique.

A, enregistrements simultanés de l'activité ECoG dans le cortex S1 (trace du haut) et de l'activité extracellulaire (trace du bas) réalisés chez un GAERS sédaté au fentanyl illustrant la survenue périodique des pointes (S pour *Spike*) et des ondes (W pour *Wave*) et la décharge rythmique des neurones thalamiques au cours de la crise. **B**, exemples de réponses sensorielles évoquées dans le neurone thalamique illustré en (A) suite à l'application de *puffs* d'air sur les vibrisses de façon concomitante avec une onde (panel de gauche) ou une pointe (panel de droite). **C**, résultats groupés comparant la probabilité de décharge, la latence des PA évoqués et le nombre de PA évoqués (après soustraction de la fréquence de décharge spontanée) lors d'une stimulation appliquée en conjonction avec une onde (S) ou une pointe (W). *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; n.s., non significatif.

F. Discussion

I. Résumé des principaux résultats

Les neurones pyramidaux des couches profondes du cortex S1 chez les GAERS possèdent des propriétés pro-ictogéniques, en comparaison des neurones homologues chez les rats non-épileptiques. Ils présentent un potentiel de membrane plus dépolarisé, une fréquence et une régularité de décharge plus élevées, ainsi qu'une fonction de transfert modifiée associée à un seuil d'excitabilité plus faible, sans modification du gain. La durée des PA dans les neurones ictogéniques était plus courte, notamment due à une phase de repolarisation plus rapide. Enfin, ces neurones présentaient une rectification entrante plus prononcée en réponse à de forts courants hyperpolarisants, suggérant une augmentation du courant h . J'ai montré que ces différences d'excitabilité étaient annulées, si les neurones contrôles étaient amenés au même potentiel de membrane que les neurones ictogéniques, suggérant ainsi un rôle majeur du V_m dans ces modifications. J'ai montré que Les neurones ictogéniques sont globalement moins excitables lors des DPO comparé aux périodes inter-ictales, mais que leurs propriétés intégratives sont dynamiquement modulées par les différentes composantes du cycle épileptique. Les composantes *ondes* sont associées à une résistance membranaire légèrement augmentée et une fréquence de décharge évoquée, en réponse aux stimulations directes, diminuée. A l'inverse, pendant les *pointes*, la forte diminution de résistance membranaire est accompagnée d'un taux de décharge évoqué plus élevé que pendant les *pointes*, mais néanmoins plus faible que celui mesuré en inter-ictal. La phase *onde* constitue donc une période d'excitabilité corticale réduite comparé à la phase *pointe* qui l'est elle-même en comparaison de l'inter-ictal. Le potentiel de membrane plus hyperpolarisé pendant l'*onde* n'était pas suffisant pour expliquer les variations d'excitabilité, puisque le niveau d'excitabilité en période inter-critique demeurait plus élevé, même après hyperpolarisation artificielle du V_m par injection de courant continu.

La réponse des neurones ictogéniques à des stimulations des vibrisses est similaire entre l'inter-ictal et les DPO considérées dans leur ensemble. Cependant, ces réponses sensorielles présentent de fortes modifications selon la phase du cycle épileptique considérée. Ainsi, ces neurones répondent moins, mais plus rapidement, pendant la *pointe*, alors qu'ils répondent d'avantage, mais plus tardivement, pendant l'*onde*. Le V_m plus hyperpolarisé n'est pas suffisant pour expliquer la différence

fonctionnelle apportée par l'onde. Les neurones thalamiques somatosensoriels correspondants, enregistrés de manière extracellulaire, présentaient des modifications dans leurs propriétés de réponse aux stimulations sensorielles similaires à celles observées dans les neurones corticaux.

II. Des données en faveur d'un foyer cortical chez les GAERS

Les propriétés pro-ictogéniques que j'ai mises en évidence dans la première partie de ma thèse viennent renforcer la théorie d'une initiation corticale focale des DPO chez les GAERS. Leurs propriétés déjà connues d'un potentiel de membrane plus dépolarisé, ainsi qu'une fréquence de décharge plus élevée et plus régulière (Polack et coll., 2007, 2009 ; Chipaux et coll., 2013), sont couramment retrouvées dans les foyers épileptiques (Steriade et Amzica, 1994 ; Avanzini et coll., 2007). J'ai participé à une étude récente sur les mécanismes de développement pathogénique post-natal du cortex S1 chez le GAERS. Nous avons montré que ces propriétés électriques spécifiques se mettent en place progressivement au cours du développement, parallèlement à une augmentation progressive de la capacité des réseaux corticaux somatosensoriels à générer des activités oscillatoires synchronisées (voir Annexes ; Jarre et coll., 2017).

Le potentiel de membrane relativement dépolarisé des neurones des couches profondes du cortex S1 chez le GAERS pourrait résulter de l'altération de conductances intrinsèques voltage-dépendantes, et/ou d'une modification du tonus synaptique exciteur ou inhibiteur. Un tonus synaptique exciteur modifié a été mis en évidence dans le modèle WAG/Rij (Depaulis et van Luijtelaar, 2006), combinant un accroissement de l'activité liée aux récepteurs NMDA (Luhmann et coll., 1995), une augmentation d'expression des récepteurs mGlu2/3 (Ngomba et coll., 2005) et une diminution d'efficacité des transmissions synaptiques GABAergiques (D'Antuono et coll., 2006 ; Inaba et coll., 2009). De façon alternative, une surexpression de canaux sodiques persistants telle qu'elle a été décrite dans les neurones pyramidaux du cortex S1 chez les WAG/Rij (Klein et coll., 2004), pourrait aussi favoriser un potentiel de membrane plus dépolarisé. Or, l'ETX, une drogue qui bloque les crises d'absences, agit notamment sur ces canaux. L'utilisation d'ETX sur les GAERS provoque d'ailleurs une hyperpolarisation des neurones ictogéniques à un potentiel de membrane identique à celui des neurones homologues des rats contrôles (Polack et Charpier, 2009).

Ce potentiel de membrane plus dépolarisé est associé à une fréquence de décharge plus élevée ainsi qu'à une plus grande régularité de la décharge (Polack et coll., 2007 ; Article 1). Le potentiel de membrane plus dépolarisé rapproche du seuil de déclenchement des PA (qui reste inchangé, comparé aux neurones homologues chez les rats contrôles), et engendre ainsi une hyperexcitabilité latente. Cette hyperexcitabilité se retrouvait dans la fonction de transfert neuronal, avec un abaissement du seuil théorique de déclenchement d'un PA, mais sans modification du gain. La modification de la fonction de transfert neuronal que j'ai décrit chez les GAERS est également liée à la présence de bruit synaptique (Chance et coll., 2002), et rejoint les descriptions d'une activité synaptique plus intense chez les WAG/Rij (D'Antuono et coll., 2006). J'ai montré que cette hyperexcitabilité était majoritairement due au potentiel de membrane plus dépolarisé des GAERS, puisque les neurones homologues des rats Wistar présentaient la même excitabilité à même potentiel de membrane (Article 1). L'hyperexcitabilité des neurones ictogéniques augmente la probabilité de survenue d'évènements synchrones au sein des couches 5 – 6 et pourrait favoriser la survenue anormalement fréquente de *bursts* dans les neurones ictogéniques (Polack et coll., 2007 ; Article 1). Ce phénomène est décrit dans la littérature comme étant lié aux foyers ictaux (Schwartzkroin et Haglund, 1986). Les *bursts* peuvent à leur tour amener à exciter efficacement les neurones vers lesquels la cellule projette (Lisman, 1997), tels que les neurones des autres couches du cortex S1 ou bien encore les neurones du nRT ou du noyau relais VPM du thalamus. Les circuits denses, et très interconnectés des vibrisses chez le rat se prêtent tout particulièrement bien à la synchronisation, de par leur rôle de transmettre fidèlement les mouvements fins des vibrisses (Stüttgen et Schwarz, 2018).

Au cours de ma thèse, j'ai mis en évidence l'anormalement forte présence d'un courant rectificateur entrant, cationique non spécifique et activé par hyperpolarisation (I_h). Ce courant, révélé par des injections de courant hyperpolarisant (Article 1) et qui est visible spontanément au cours des DPO dans les neurones ictogéniques (Article 1 ; figure 10B) est d'une importance physiologique et pathologique toute particulière (Timofeev et coll., 2002 ; Bannaroch, 2013). La dépolarisation induite par I_h lors le potentiel devient plus hyperpolarisé que -65 mV (Halliwell et Adams, 1982) va permettre d'activer un courant calcique à bas seuils, I_t , qui va permettre la génération d'un *burst* de PA (Bannaroch, 2013). L'inactivation de ces courants, lors de la

génération d'un PA, va hyperpolariser les neurones et permettre de nouveau la réactivation de I_h , créant un phénomène de rebond favorisant les oscillations (Mochol et coll., 2015). C'est physiologiquement ce qui se passe lors du sommeil lent avec des *bursts* venant des neurones, GABAergiques, du nRT, qui vont hyperpolariser les neurones, glutamatergiques, des noyaux relais, permettant à I_h , fortement présent dans ces neurones de s'activer et dépolariser le neurone, activant I_T et provoquant un *burst* (Biel et coll., 2009). Ce *burst* va lui-même exciter les neurones pyramidaux du cortex lié, ainsi que les neurones du nRT par collatérales. Les neurones corticaux recrutés, vont à leur tour fortement exciter les neurones du nRT et relancer le cycle (Benarroch, 2013). Ce phénomène pouvant générer des oscillations, met en jeu des propriétés intrinsèques et de réseau. I_h est physiologiquement responsable pour amortir l'effet des dépolarisations ou hyperpolarisations, en s'activant durablement à partir de -65 mV et en s'inactivant lors de la genèse de PA. C'est d'ailleurs ces propriétés qui lui permettent de régir l'adaptation entre les activations dendritiques distales et proximales (Benarroch, 2013). Ces propriétés de rebond, très présentes et d'une grande importance fonctionnelle dans les noyaux thalamiques, sont une des raisons pour lesquelles les théories d'initiation centrencéphalique et thalamique des DPO étaient les premières posées (Avoli, 2012). I_h a été décrit comme impliqué dans de nombreuses pathologies d'origine neurologique, dont l'épilepsie (Benarroch, 2013). Du fait des propriétés fonctionnelles bipolaires de I_h , il n'est pas étonnant que la littérature décrive une diversité de cas, parfois en opposition, du rôle de sa distribution, le l'expression de ses ARNm, de ses propriétés biophysiques et de ses localisations cellulaire dans la pathologie de l'épilepsie (Noam et coll., 2011). Ainsi, une diminution dendritique de I_h a été reporté dans un modèle rongeur d'épilepsie-absence (Kole et coll., 2004) et décrit comme épileptogénique en général (Huang et coll., 2009). Cette diminution au niveau dendritique peut également refléter une compensation face à l'hyperexcitabilité générale et la forte activité synaptique, tonique, comme décrite chez les WAG/Rij (D'Antuono et coll., 2006). La surprésence somatique de I_h que j'ai mis en évidence dans les neurones ictogéniques pourrait, en lien avec I_T , participer à la mise en place et au maintien d'oscillations. L'hyperexcitabilité des neurones ictogéniques et la surprésence de I_h favoriseraient la survenue d'évènements synchronisés (Kole et coll., 2006 ; Momin et coll., 2008), dont des *bursts*, plus présents dans les neurones ictogéniques des GAERS (Polack et coll., 2007). Ces *bursts* induisent une hyperpolarisation consécutive et un phénomène de rebond pouvant générer des

oscillations et recruter facilement d'autres neurones ictogéniques. Ce phénomène générateur se verrait renforcé par la régularité de décharge spontanée des neurones ictogéniques, d'origine synaptique, comme le montre l'annulation de différence de régularité (CV2) à haute fréquence de décharge (30 Hz), en comparaison des neurones homologues des rats Wistar (Article 1). Bien que I_h ait été décrit comme favorisant le bruit synaptique (White et coll., 2000 ; Kole et coll., 2006), nous n'avons pas retrouvé une distribution de la membrane plus dispersée chez les neurones ictogéniques, ce qui pourrait être lié à leur potentiel de membrane plus dépolarisé et donc hors de la gamme d'action significative de I_h (Kole et coll., 2006). Des quatre sous-unités HCN 1 – 4, c'est HCN 1 et HCN 2 qui sont ressortis comme significativement liés à des phénotypes épileptiques chez les humains et les animaux (Benarroch, 2013). Des variants de la sous-unité HCN 1A ont d'ailleurs été décrits comme un facteur de prédisposition à l'épilepsie-absence (Chen et coll., 2003).

Les différences d'intensité de I_h que j'ai rapportées et les modifications d'excitabilité dans les neurones ictogéniques pourraient expliquer la présence de comorbidités chez les GAERS (Jones, 2008, 2010). Des altérations de répartition, d'expression, et des mutations de sous-unités de I_h ont été montrées comme ayant des impacts sur les processus sensori-moteurs et cognitifs (Benarroch, 2013). L'ETX n'ayant pas d'effet direct connu sur I_h , il serait intéressant de réévaluer l'amplitude du courant rectificateur dans les neurones ictogéniques à même potentiel, après blocage des absences par ETX. Le rôle fonctionnel exact de I_h dans la genèse des DPO pourrait également être investigué d'avantage, notamment par son blocage localisé dans les couches profondes du cortex S1, à l'aide de ZD 7288 par exemple (Kole et coll., 2006). L'effet sur les comorbidités des GAERS pourrait également être étudié dans les mêmes types d'expériences, et présenter des résultats au moins partiellement indépendants de l'effet des crises.

L'approche que j'ai utilisé pour l'étude détaillée des effets des phases (*pointe* ou *onde*) n'est pas nouvelle (Neckelmann et coll., 2000 ; Steriade et Amzica, 1994), mais c'est la première fois qu'elle était appliquée dans un modèle génétique, avec des stimulations sensorielles et à si grande échelle. Les crises d'épilepsies étaient jusqu'alors généralement considérées comme des entités neurophysiologiques uniformes, avec des comparaisons entre l'état inter-ictal et l'état ictal dans sa globalité, sans distinction des dynamiques internes (Chipaux et coll., 2013). Or, les crises

d'épilepsies se définissent par la présence d'amples oscillations, pathologiques, associées à des décharges plus ou moins élevées. Ces oscillations relèvent d'une hypersynchronie qui peut toucher des régions plus ou moins larges, selon qu'elles soient focales ou généralisées. Ceci est particulièrement vrai pendant les DPO, caractéristiques des crises d'épilepsie-absence et concomitantes à l'altération de conscience. Les DPO sont initiées, et présentent les plus grandes amplitudes dans les cortex S1 chez le GAERS.

III. Impact des crises d'absences sur l'excitabilité des neurones ictogéniques

J'ai donc procédé à l'étude du devenir de cette hyperexcitabilité, latente en dehors des crises, pendant les DPO, et plus spécifiquement selon les phases *pointes* ou *ondes*. L'excitabilité des neurones est un facteur essentiel dans leur fonction, qu'est ici de participer au traitement et au relais des informations issues des vibrisses. Contre intuitivement, les neurones présentaient une excitabilité diminuée pendant les DPO. La décharge des neurones en réponse à l'injection de courants dépolarisants (0,4 nA), lors des *pointes* ou lors des *ondes* était plus faible qu'en inter-ictal (Article 1). Plus spécifiquement, les *ondes* montraient une excitabilité réduite par rapport aux *pointes*. Le potentiel pendant la pointe n'était pas significativement différent comparé à l'inter-ictal, mais l'activité synaptique, elle, était très différente avec une forte activation synaptique visible par la réduction de la résistance membranaire (Article 1). Cette hypersynchronisation lors des dépolarisations en concomitance avec les *pointes* dans l'ECoG, était en total contraste avec l'absence d'activité synaptique lors des phases *ondes*, qui présentaient une résistance membranaire légèrement plus élevée (Article 1). Cette légère augmentation comparé à la période inter-ictale était également significative comparée à la condition inter-ictale avec un courant hyperpolarisant pour amener le potentiel de membrane à la même valeur que celle pendant les *ondes*. Ces différences, en lien avec l'absence d'activité permet de postuler qu'il s'agit d'une disfacilitation. L'absence d'un tonus synaptique hyperpolarisant la membrane et réduisant ainsi son excitabilité, bien que la force électromotrice soit augmentée du fait de l'hyperpolarisation, et que la résistance soit légèrement augmentée. Les extrêmes variations de l'activité synaptique diminuait l'excitabilité neuronale de façon phase spécifique, et suggérait ainsi une possibilité de modification des réponses neuronales

aux stimulations, pendant les crises d'absences, qui pourrait expliquer au moins en partie, la perte de perception consciente.

IV. Impact des crises d'absences sur le traitement sensoriel

Mon analyse a porté sur les réponses des neurones ictogéniques aux stimulations des vibrisses en dehors, et pendant les crises, spécifiquement selon les phases des DPO. Analyse réalisée également, selon les mêmes critères, pour les réponses de neurones du VPM et POm qui relaient les informations au cortex S1, notamment directement aux couches 5 et 6 (Diamond et coll., 2008). Les neurones ictogéniques présentaient, en période inter-ictale, des réponses identiques à celles décrites dans la littérature pour des neurones des couches profondes du cortex S1 (Brecht et coll., 2002). Ceci, malgré leur hyperexcitabilité, ce qui peut laisser supposer qu'il existe un mécanisme de compensation. La catégorisation stricte des stimulations selon leur déclenchement lors des phases pointes ou ondes, a mis en évidence des différences significatives alors qu'une mesure des deux phases moyennées, ne montrait pas de différence par rapport aux réponses en période inter-ictale (Article 2, figure 1).

Les résultats étaient, sur l'ensemble, similaires pour les neurones ictogéniques et les neurones thalamiques, bien que les différences entre périodes présentaient moins de significativité pour la population de neurones thalamiques. La phase *onde* était la période pendant laquelle la réponse était la plus grande. Alors même que nous avons vu que c'est la période la moins excitable. La réponse des neurones ictogéniques en période inter-ictale, amenés à même potentiel que pendant l'*onde* par injection de courant, était plus faible que pendant l'*onde*. Ceci pourrait être dû à l'augmentation de la force électromotrice (comme visible lors de la comparaison entre inter-ictal et inter-ictal avec courant hyperpolarisant), la disponibilité des neurones – tous silencieux en onde –, ou encore l'activation de I_h puis de I_T . L'aspect d'une plus forte excitation de la part des neurones thalamiques, théoriquement en mode de décharge en *bursts* pendant les DPO, ne peut pas être confirmé en raison d'une absence de différence significative du nombre de PA lors de la stimulation, entre la condition *onde* et les autres conditions, plus dépolarisées. J'estime que ce résultat inattendu est causé par un échantillon encore trop faible, les tests statistiques n'étant pas concluants. L'amplitude des réponses aux stimulations pendant les *pointes* était plus faible que pendant les *ondes*, ou que pendant les périodes inter-ictales. Cette plus faible réponse peut venir du fait que les neurones présentaient déjà une très forte

activation synaptique synchrone, liée aux DPO (Steriade et Amzica, 1994 ; Petersen et coll., 2003). Nous avons vu que pendant les *pointes*, la résistance membranaire était très diminuée, amoindrissant ainsi un éventuel PPSd engendré par la stimulation des vibrisses. L'intensité de la stimulation n'est pas le seul paramètre qui compte dans le codage d'une réponse sensorielle. C'est pourquoi j'avais aussi comparé les latences du premier PA en réponse aux stimulations. Dans les deux populations de neurones, corticales et thalamiques, la latence était bien plus faible pendant les *pointes* que les *ondes*. Cette différence peut s'expliquer par les écarts au seuil de déclenchement des PA, qui implique une latence augmentée pendant les phases *ondes*, malgré la plus forte dépolarisation. Les aspects fondamentaux d'intensité et de temporalité des réponses sont donc modifiés entre les phases *pointes* et *ondes*.

J'ai ensuite vérifié si le nombre de PA apportés était différent. En effet, l'intensité d'une réponse n'est pas simplement le nombre de PA visibles après la stimulation ou la probabilité de décharge, mais le nombre de PA apportés par rapport au bruit synaptique. J'ai montré ici que pour les neurones ictogéniques et thalamiques, le nombre de PA apportés était significativement plus élevé en *onde* qu'en *pointe* (Article 2). Mais seuls les neurones corticaux présentaient un rapport signal sur bruit significativement différent entre la période inter-ictale et les périodes *pointes* et *ondes*. Pendant les *ondes*, les neurones ne peuvent que décharger d'avantage du fait de l'absence d'activité synaptique spontanée. Pendant les *pointes*, c'est le phénomène inverse qui se produit avec une très forte activation synaptique spontanée qui, d'après mes résultats, diminue la réponse des neurones. L'activation synaptique en *pointe* est telle que le nombre de PA apportés est négatif pendant cette phase, les neurones ayant moins de probabilité de décharger lors d'une *pointe* d'une DPO si une stimulation est effectuée de manière concomitante. Le codage sensoriel des informations issues des vibrisses était donc profondément modifié entre les deux phases des DPO et présentait des différences, plus subtiles selon les populations, par rapport à l'inter-ictal. Les DPO induisaient une sérieuse altération des réponses neuronales dans le cortex et le thalamus, en fonction des phases *pointe* ou *onde*. Ces altérations peuvent donc expliquer, en partie ou en totalité, l'absence de réaction des rats GAERS à des stimulations lors des crises d'absences (Vergnes et coll., 1991). Mes résultats indiquent donc que l'excitabilité des neurones ictogéniques, modifiée spécifiquement

selon les phases des DPO, impliquent des conséquences fonctionnelles significatives sur l'intégration et le traitement des informations sensorielles issues des vibrisses.

Mes résultats sont concordants avec ce qui avait été décrit dans le modèle pharmacologique chez le chat (Steriade et Amzica, 1994 ; Neckelmann et coll., 2000). En effet, je retrouve les mêmes schémas de variations de résistance membranaire et d'amplitude de réponse à des stimulations selon les phases *pointes* ou *ondes*. Ceci permet de poser l'hypothèse que l'origine des DPO n'a pas nécessairement d'impact sur les perturbations qu'elles vont induire, lors des crises d'absences. La stéréotypie des oscillations et les synchronies qu'elles induisent dans les réseaux spécifiques permettraient de retrouver les mêmes résultats. Il convient cependant de préciser que différentes modifications intrinsèques des neurones pourraient amener à des divergences entre les modèles quant aux modifications exactes dont font preuve les traitements sensoriels au cours des DPO.

Du fait des modifications fonctionnelles apportées par l'*onde* et la *pointe*, qui sont des périodes adjacentes et répétées, les neurones entraînés par les oscillations se retrouvent à alterner entre deux états significativement différents. L'alternance entre les deux états et la variabilité qu'elle provoque est un autre aspect qui peut altérer la perception sensorielle consciente pendant les crises d'absences, en comparaison à la période inter-critique. Le codage sensoriel nécessite une stabilité minimale pour être efficace, et se trouve optimal lorsque la variabilité est la plus faible (Masquelier, 2013 ; von Trapp et coll., 2016). Bien que le codage sensoriel se base sur une activité de fond stochastique, la variabilité d'excitabilité des neurones est plus faible en période inter-ictale que lors des DPO, du fait de l'alternance entre des états d'excitabilité extrêmes (distribution des valeurs du potentiel de membrane en inter-ictal, *pointe* et *onde*, figure 2, A₂) aux répercussions fonctionnelles avérées.

Nous avons pu voir que lors d'une pointe avec stimulation, les neurones déchargeaient moins que lors d'une pointe sans stimulation ; le nombre de PA apportés était négatif. Ceci traduit une potentielle diminution de la synchronie des DPO. En effet, bien qu'impliquant les réseaux cortico-thalamo-corticaux, la chaîne d'activation des neurones au cours d'une pointe (Polack et coll., 2007 ; Depaulis et Charpier, 2018) est différente de la chaîne d'activation lors de la stimulation de vibrisses (Diamond et coll., 2008). Ainsi, alors qu'en inter-ictal, les stimulations provoquent toujours une synchronie, générant une augmentation d'activité dans les

neurones associés ; lors des DPO, les pointes génèrent moins de synchronie, qui se traduit par une décharge plus faible (Article 2). Ceci est contraire au principe qu'une stimulation augmente l'ordre dans un système cérébral (Schurger et coll., 2015). Une étude sur la conservation de la spécificité sensorielle et somatotopique me semble nécessaire pour différencier entre l'activité réellement évoquée et l'activité générée par la désynchronisation des DPO. Le mécanisme ne changerait rien au fait que l'activité qui suit les stimulations qui code l'information.

Les oscillations visibles dans l'EEG reflètent une alternance d'états significativement différents pour les neurones au regard de leur activité spontanée et fonctionnelle. En période d'éveil, et inter-critique chez les individus épileptiques, un rapport signal sur bruit fixe régit les réponses des neurones, qui répondent aux stimulations par des dépolarisations et/ou décharges d'une temporalité et intensité précises. Ces aspects sont spécifiques selon leurs propriétés, leur connectivité, leur localisation et leur fonction (Wilent et Contreras, 2004 ; Diamond et coll., 2008 ; Kock et Sakmann, 2009). Lors d'une stimulation, l'activité préalablement d'ordre stochastique au sein du cerveau – appelée « bruit » – disparaît, et laisse place à une activité synchronisée pour les neurones répondant à la stimulation (Eldawlatly et Oweiss, 2011). Cette synchronisation d'activité est essentielle tant sur le plan de la temporalité que de l'intensité, pour coder l'information. Un codage adéquat permet un traitement de l'information avec une éventuelle réponse comportementale associée, d'autant plus efficace que le degré d'informations intégrées est élevé (Celikel et Sakmann, 2006). Codage, nous l'avons vu, inadéquat pendant les DPO et qui pourrait donc expliquer l'impossibilité de traiter des informations sensorielles arrivant pendant les DPO.

Les vibrisses des rongeurs sont essentielles à leur exploration et leur interaction, au sein de l'environnement et avec les autres rongeurs (Diamond et coll., 2008). Bien que très documenté, le codage exact en fonction des mouvements reste très mal connu (Estebanez et coll., 2018). Il me semble cependant important de mentionner qu'une plus grande intensité de décharge ne signifie pas nécessairement une meilleure réponse neuronale du point de vue du codage de l'information. En effet, il a été montré que des neurones du cortex S1 peuvent augmenter leur intensité de réponse, non pas par rapport à un mouvement plus grand d'une vibrisse, mais par rapport à la direction du mouvement (Wilent et Contreras, 2005). La réponse plus forte

lors de l'onde ne représente donc pas une meilleure réponse, mais bien une déléation d'information, considérant que la stimulation restait elle, identique.

Dans le même ordre d'idée, la temporalité des décharges revêt une importance particulière dans le codage des informations, surtout pour des organes aussi sensibles que les vibrisses qui sont capables de détecter des irrégularités très fines (Diamond et coll., 2008). La décharge des neurones du cortex S1 des rats est spécifique, non pas seulement au sein d'une même colonne pour une vibrisse (Kock et Sakmann, 2009), mais aussi plus largement au sein du cortex S1 (Diamond et coll., 2008 ; Edawlatly et Oweiss, 2011). L'intégration d'informations venant de plusieurs vibrisses a d'ailleurs été montrée comme plus efficace dans l'apprentissage d'une tâche comportementale chez les rongeurs (Celikel et Sakmann., 2006). Mes résultats d'expériences mettent en avant des variations significatives de latence des réponses entre les *ondes* et les *pointes*, mais également entre ces dernières et la période inter-ictale. L'instabilité de codage temporel, au moins dans les couches 5 – 6 étudiées, présente donc une altération majeure dans la fiabilité des informations traitées par le cortex S1 lors des DPO.

Le cerveau est une structure complexe qui possède une activité synaptique spontanée propre et qui peut intégrer des informations à travers divers organes sensoriels. Un phénomène émergent du cerveau est la conscience, abordée dans ma thèse comme des processus sensori-moteurs qui nous permettent de percevoir, et potentiellement de réagir à des informations extérieures après intégration et traitement de ces dernières. Or, lors de la perte ou de l'altération de la conscience, ces processus cérébraux ont été décrits comme perturbés, par exemple dans de nombreux cas d'épilepsies (Yu et Blumenfeld, 2009 ; Mann et Cavanna, 2011 ; Bayne et coll., 2016), dont celui de l'épilepsie-absence (Guo et coll., 2016). Ma thèse a mis en évidence des modifications significatives de la temporalité et de l'intensité des réponses neuronales qui sont la clé de l'intégration et du traitement sensoriel. L'altération de la conscience qui a lieu pendant les crises d'absences, en lien avec la perturbation du codage sensoriel qui en résulte, sont en accord total avec l'*Integrated Information Theory* (IIT) qui postule qu'un cerveau doit être en mesure d'intégrer correctement l'information pour qu'une conscience pleine soit en place (Tononi, 2004, 2008 ; Tononi et coll., 2016).

V. Limites et perspectives

1. Limites de la préparation *in vivo*

La préparation *in vivo* avec neurolept-analgésie que j'ai utilisé permet la survenue spontanée, et non altérée, des crises d'épilepsie-absence chez le GAERS (Polack et coll., 2007). Cette préparation développée au sein du laboratoire est essentielle pour enregistrer de manière fiable et durable des neurones en intracellulaire, et permet la survenue d'un grand nombre de crises d'absences lors des enregistrements. Elle présente cependant l'inconvénient que l'animal n'est pas éveillé et ne nous permet pas de procéder à des tests comportementaux. Des stimulations sensorielles associées à des tests comportementaux permettraient de vérifier l'absence de traitement sensoriel en lien avec le codage inadéquat, et de s'intéresser avec plus de précision aux dynamiques de variations d'amplitude et de fréquence des DPO visibles pendant les crises, ainsi qu'aux conséquences des oscillations non généralisées.

2. Etude des dynamiques internes des DPO

Une étude a récemment mis en évidence, chez l'humain, une corrélation entre l'amplitude des DPO (donc la synchronie des neurones) et la profondeur d'altération des processus cognitifs lors des crises d'absences (Guo et coll. 2016). En stimulant selon les phases *pointes* ou *ondes* spécifiquement, il serait possible de corréliser les variations d'essai à essai, selon l'amplitude de la *pointe*, la fréquence immédiate des DPO, et/ou le potentiel atteint lors de l'*onde*. Une mise en place d'un protocole de réglage en direct de la fréquence des stimulations, pour les caler en fonction des signaux est actuellement en cours au sein de mon laboratoire. Cette méthodologie permettra d'étudier en détail une éventuelle variation des réponses, lors d'une phase spécifique, au sein d'une même crise, et de dévoiler une éventuelle dynamique d'altération des réponses liée aux variations de synchronie et de fréquence des DPO.

3. Etude à plus large échelle dans le système des vibrisses

Ma thèse s'est focalisée dans le système des vibrisses, sur les neurones pyramidaux des couches 5 – 6, ainsi que sur les neurones des noyaux thalamiques VPM et POM. Or, le système des vibrisses et le réseau associé est constitué de circuits spécifiques, au sein notamment d'autres couches corticales et d'autres cortex comme le cortex

somatosensoriel secondaire (S2) et le cortex moteur primaire (M1). Les rares données préliminaires que j'ai pu obtenir dans d'autres couches corticales, et d'autres types neuronaux que les neurones ictogéniques, étaient identiques à celles présentées dans ce manuscrit et confortent l'idée d'un mécanisme d'action globale des DPO. Il serait intéressant de déterminer l'impact fonctionnel sur la propagation dans d'autres couches du cortex S1, qui constituent, par colonnes, les circuits fonctionnels liés aux vibrisses (Diamond et coll., 2008). Les cortex S2 et M1, directement contactés par le noyau associatif POM, que j'ai montré, présentait des variations de réponse ; seraient également des lieux d'enregistrements intéressants vis-à-vis de l'intégration et du traitement primaire des informations issues des vibrisses. Ces deux cortex montrent également des DPO de forte amplitude lors des crises d'absences (Danober et coll., 1998 ; Polack et Charpier, 2009).

4. Approche à l'échelle cérébrale globale

Il est montré que pour que les stimuli soient perçus consciemment, un état cérébral particulier est nécessaire, et différentes régions de type associatif, doivent intégrer correctement les informations reçues (*Global Workspace Theory*), phénomène notamment altéré dans des cas d'épilepsies (Bartolomei et Naccache, 2011 ; Bartolomei et coll., 2014). J'ai décrit un traitement sensoriel modifié au cours des DPO. Or, l'information sensorielle altérée au niveau primaire pourrait modifier le processus de traitement global de l'information, par des réseaux déjà perturbés dans leur connectivité fonctionnelle lors des DPO. Chez le GAERS, la mise en place d'une tâche comportementale, liée à un stimulus donné, pourrait nous permettre de voir les différences entre perception consciente et perception altérée lors des DPO. Chez les humains, il existe déjà une littérature extensive, au regard de la forme et la latence de potentiels évoqués visuels dans différentes conditions, avec ou sans altération de conscience (Dehaene, 2013). Des mesures dynamiques de connectivité fonctionnelle et de causalité nous permettraient de comparer les propagations, en dehors des crises et selon les phases *pointes* ou *ondes*.

5. Etude chez l'humain

Les DPO chez les humains sont plus lentes mais tendent au même principe d'oscillations (Sadleir et coll., 2006), et nous avons extensivement décrit en quoi les GAERS étaient un modèle d'intérêt pour l'épilepsie-absence de l'enfant (Depaulis et

Charpier, 2018). J'ai au cours de ma thèse, pu mettre en place un projet de stimulations visuelles sur des patients souffrant d'épilepsie-absence de l'enfant, en collaboration avec le Dr. M. Chipaux à la fondation A. de Rothschild. Nous pourrions ainsi étudier les effets des crises d'absences sur l'intégration de stimulations visuelles en fonction des phases *pointe* ou *onde* dans les cortex visuels primaires, mais également dans toutes les régions corticales associées. D'autres modalités sensorielles seraient là-encore intéressantes à étudier mais ne sont pas envisagées dans ce projet qui débute.

Chez les humains, une zone fréquemment identifiée comme initiatrice des DPO, les lobes frontaux (Westmijse et coll., 2009), sont eux-aussi impliqués de façon majeure dans de nombreux processus sensori-moteurs et cognitifs. La perturbation de l'activité et la connectivité fonctionnelle de ces lobes, où les DPO sont les plus amples, est d'ailleurs reconnue comme provoquant des altérations comportementales importantes (Pavone et Niedermeyer, 2000 ; Yu et Blumenfeld, 2009 ; Bonini et coll., 2015). La perturbation des informations traitées au sein de ces régions cérébrales pourrait expliquer les troubles cognitifs concomitants aux DPO. Des modifications latentes de propriétés dans ces populations neuronales pourraient également participer aux comorbidités rapportées chez les humains (Caplan et coll., 2008) qui touchent à des processus cognitifs complexes.

6. Autres épilepsies

Mon approche de dissociation des phases des oscillations pathologiques lors des crises d'épilepsie-absence, peut être utilisée pour d'autres types d'épilepsie qui présentent des décharges paroxystiques différentes, par leur forme, fréquence et amplitude. Les épilepsies-absences ne sont pas les seules à provoquer des altérations de conscience, et des comparaisons de résultats dans cette grande diversité de crises d'épilepsies, avec perte de conscience ou non, seraient d'un intérêt majeur.

G. Annexes

Building Up Absence Seizures in the Somatosensory Cortex: From Network to Cellular Epileptogenic Processes.

Jarre G, Altwegg-Boussac T, Williams MS, Studer F, Chipaux M, David O, Charpier S, Depaulis A, Mahon S, Guillemain I.

Cereb Cortex. 2017 Sep 1;27(9):4607-4623. doi: 10.1093/cercor/bhx174.

ORIGINAL ARTICLE

Building Up Absence Seizures in the Somatosensory Cortex: From Network to Cellular Epileptogenic Processes

Guillaume Jarre^{1,2}, Tristan Altwegg-Boussac³, Mark S. Williams³, Florian Studer^{1,2}, Mathilde Chipaux⁴, Olivier David^{1,2,5}, Stéphane Charpier^{3,6}, Antoine Depaulis^{1,2,5}, Séverine Mahon³ and Isabelle Guillemain^{1,2}

¹Univ. Grenoble Alpes, Grenoble Institut des Neurosciences, GIN, F-38000 Grenoble, France, ²Inserm, U1216, F-38000 Grenoble, France, ³Inserm U 1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06 UMR S 1127, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, ICM, F-75013, Paris, France, ⁴Pediatric Neurosurgery Department, Fondation Ophtalmologique A. de Rothschild, 75019 Paris, France, ⁵CHU de Grenoble, F-38000 Grenoble, France and ⁶UPMC Univ Paris 06, F-75005, Paris, France

Address correspondence to Isabelle Guillemain, Grenoble-Institut des Neurosciences, Université Grenoble-Alpes – Faculté de Médecine, Chemin Fortuné Ferrini, BP170, 38042 Grenoble cedex 9, France. Email: isabelle.guillemain@univ-grenoble-alpes.fr; Séverine Mahon, Institut du Cerveau et de la Moelle épinière, Hôpital Pitié-Salpêtrière, 47 Boulevard de l'hôpital, F-75013, Paris, France. Email: severine.mahon@upmc.fr

Guillaume Jarre and Tristan Altwegg-Boussac equally contributed to this study
Séverine Mahon and Isabelle Guillemain co-supervised the study

Abstract

The epileptogenic processes leading to recurrent seizures in Genetic Epilepsies are largely unknown. Using the Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg, we investigated *in vivo* the network and single neuron mechanisms responsible for the early emergence of epileptic activity. Local field potential recordings in the primary somatosensory cortex (SoCx), from the second post-natal week to adulthood, showed that immature cortical discharges progressively evolved into typical spike-and-wave discharges following a 3-step maturation process. Intracellular recordings from deep-layer SoCx neurons revealed that this maturation was associated with an age-dependent increase in cortical neurons intrinsic excitability, combining a membrane depolarization and an enhancement of spontaneous firing rate with a leftward shift in their input-output relation. These cellular changes were accompanied by a progressive increase in the strength of the local synaptic activity associated with a growing propensity of neurons to generate synchronized oscillations. Chronic anti-absence treatment before the occurrence of mature cortical discharges did not alter epileptogenesis or the drug efficiency at adulthood. These findings demonstrate that recurrent absence seizures originate from the progressive acquisition of pro-ictogenic properties in SoCx neurons and networks during the post-natal period and that these processes cannot be interrupted by early anti-absence treatment.

Key words: absence epilepsy, early anti-epileptic treatment, epileptogenesis, GAERS, *in vivo* intracellular recordings, somatosensory cortex

Introduction

Idiopathic Generalized Epilepsies, now called Genetic Epilepsies (GE) by the International League against Epilepsy (ILAE) (Berg and Scheffer 2011), represent one-third of all epilepsies (Panayiotopoulos 2005). These epilepsies, most often diagnosed during childhood, are not associated with clear-cut inciting events or detectable structural brain abnormalities (Shorvon 2011) and their early onset suggests that ictogenic processes take place during brain development and maturation (Sanchez and Jensen 2001; Ben-Ari and Holmes 2006; Russo et al. 2016). While understanding the epileptogenic mechanisms occurring during this critical period is 1 of the major challenges in epilepsy research to develop strategies for preventive treatments (Baulac and Pitkänen 2009; Kelley et al. 2009), the cellular and network dysfunctions leading to the emergence of recurrent generalized seizures remain poorly understood (Pitkänen and Engel 2014). The current clinical investigations of genetic epilepsy ontogenesis using electroencephalographic (EEG) or brain imaging approaches are limited due to 1) the early age of seizures onset, 2) the fact that anti-epileptic drug therapy, generally initiated soon after the diagnosis, represents a confounding factor, and 3) the difficulty to set up longitudinal EEG recordings for several years (Grosso et al. 2005; Hirsch and Panayiotopoulos 2005).

Genetic animal models provide a first-choice alternative to study the mechanisms underlying GE's epileptogenesis (Consrøe et al. 1980; Frankel 2005; Löscher 2011; Guillemain et al. 2012). In particular, rodent models of absence epilepsy (AE), such as GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg) and WAG/Rij rats (Wistar Albino Glaxo/Rijswijk), have proven to be highly relevant for the study of the pathophysiology of this prototypic form of GE (Danover et al. 1998; Depaulis and Van Luijtelaaar 2006; Depaulis et al. 2016). In both rat strains, spike-and-wave discharges (SWDs), the EEG hallmark of absence seizures, are initiated in adults within the deep layers of the primary somatosensory cortex (SoCx) (Meeren et al. 2002; Polack et al. 2007, 2009; David et al. 2008) by a population of pyramidal neurons exhibiting specific pro-ictogenic electrophysiological properties, combining a depolarized membrane potential and an elevated spontaneous firing rate with an increased intrinsic excitability (Polack et al. 2007, 2009; Williams et al. 2016). Previous ontogenic studies in GAERS and WAG/Rij rats reported age-dependent changes in the number and duration of SWDs in mature animals (Vergnes et al. 1986; Coenen and van Luijtelaaar 2003), accompanied by modifications in the density of various voltage-gated ion channels in the SoCx (Klein et al. 2004; Kole et al. 2007). Moreover, recent works showed that several months of chronic treatment with anti-epileptic drugs, administered before and after the known onset of mature SWDs, could reduce the number of seizures and prevent changes in ion channels expression (Blumenfeld et al. 2008; Russo et al. 2010, 2011; Sarkisova et al. 2010; van Luijtelaaar et al. 2013; Dezsi et al. 2013; for review, see Russo et al. 2016). Yet, it remains unclear whether anti-epileptic medications restricted to the period preceding the occurrence of SWDs are sufficient to alter the epileptogenic processes.

To investigate the sequential changes taking place in SoCx neurons and networks during epileptogenesis, we performed local field potentials (LFPs) in GAERS and control Wistar rats at different ages, from the 10th (P10) to the 90th (P90) post-natal day, and characterized the electrical membrane properties and synaptic drive of deep-layer pyramidal neurons using in vivo intracellular recordings. Our findings establish that the first epileptiform events were detected in GAERS at the beginning of the third week of life, starting with cortical oscillatory

discharges that progressively evolve with age into mature SWDs. Maturation of epileptic activities was associated with dynamical changes in the intrinsic excitability of SoCx neurons together with an augmented synchrony within local synaptic networks. We finally demonstrated that a chronic treatment with anti-absence drugs before the emergence of SWDs was ineffective for preventing epileptogenic processes and does not affect drug efficiency at adulthood.

Materials and Methods

Ethics Approval

The care and experimental manipulation of the animals were carried out in accordance with the guidelines of the European Union (directive 2010/63/EU) and approved by the Ethical Committees on Animal Experimentation of the "Grenoble-Institut des Neurosciences" and the "Institut du Cerveau et de la Moelle épinière".

Local Field Potential Recordings in Freely Moving Rats

Animals

LFP recordings were performed on GAERS (Grenoble Alpes University, France) aged from P10 to P90 (P10–P14, $n = 9$; P14–P18, $n = 8$; P17–P21, $n = 2$; P20–P24, $n = 9$; P23–P27, $n = 8$; P26–P30, $n = 7$; P40–P60, $n = 4$; P90, $n = 19$), and age-matched control Wistar rats (P10–14, $n = 8$; P17–21, $n = 4$; P23–27, $n = 7$) of either sex. Animals were maintained in cages with food and drink *ad libitum* with controlled temperature (21 to 23 °C) and light cycling (12 h/12 h; light period from 7 a.m. to 7 p.m.). All pups were housed with their mothers until weaning at P30.

Electrodes Implantation

GAERS and Wistar rats were stereotaxically implanted in the primary somatosensory cortex (SoCx) and/or motor cortex (MoCx) with bipolar electrodes (enameled copper wire, \varnothing 220 μ m, Block Germany), under generalized anesthesia. For pups <P20, anesthesia was induced with 4% isoflurane in air and maintained with 1% isoflurane during surgery. P20–P60 rats were anesthetized using a mixture of xylazine (5–10 mg/kg i.p.; Rompun[®], Centravet) and ketamine (40–100 mg/kg i.p.; Clorketam1000[®], Vetoquinol, Centravet). Incisions and compression points were repeatedly infiltrated with lidocaine (2%; Centravet). The stereotaxic coordinates for SoCx in adult rats were antero-posterior from bregma (AP): -1.3 mm; medio-lateral (ML): 5.0 mm; dorso-ventral (DV): -3.0 mm, and for MoCx, AP: $+1.0$ mm; ML: 2.0 mm; DV: -1.0 mm (Paxinos and Watson 1986). For pups, these coordinates were individually adapted from the adult ones using the bregma-lambda distance to determine the adult/pup ratio. All the electrodes were soldered to a female micro-connector (BLR150Z; Fischer Elektronik). After surgery, the pups were returned to their litter and mothers were observed to resume normal feeding and nesting behaviors. Animals under chronic pharmacological treatment were implanted at P32–33 with 4 single contact epidural stainless-steel electrodes placed bilaterally over the frontal and parietal cortices. An additional single contact electrode was positioned over the right cerebellum and served as the reference. Animals were allowed to recover for 2 days and were then recorded 1 h twice a week during 1 month and once per week thereafter. At the end of experiments, animals were euthanized by an overdose of pentobarbital (200 mg/kg, i.p.) and brains were removed, frozen at -50 °C in isopentane and cut in coronal sections for histological

processing. Brain sections were then stained with cresyl violet to localize each electrode tip.

Video-LFP Recordings

After the post-surgery recovery period, rats were connected to a computer-assisted video-EEG system (System-Plus Evolution®, Micromed). LFP recordings were acquired at 1024 Hz and band-pass filtered between 1–200 Hz. LFP signals, synchronized with the video, were recorded during 1 h in freely moving conditions. The occurrence of cortical discharges in the LFP was always confirmed with the video.

Detection of Cortical Discharges

The onset (or end) of a cortical discharge at Stages 2 and 3 was defined as the first (or last) epileptiform event with an amplitude of at least 3 times the standard deviation (SD) of the baseline LFP signal. In agreement with previous studies on AE epileptogenesis (Carçak et al. 2008; Ellens et al. 2009; Akin et al. 2011), this detection criterion was reduced to ≥ 2 times the SD of the baseline activity for Stage 1 cortical discharges because of their relatively lower amplitude. Only cortical discharges that lasted more than 1 s were included in the analysis and, to avoid selecting sleep-related oscillations, detection was limited to periods of wakefulness. Oscillatory discharges at Stage 1 could be easily distinguished from the 7–14 Hz sleep spindles/spindle bursts (Pinault et al. 2001, 2006; Yang et al. 2009) by their lower internal frequency that ranged from 4 to 6 Hz. Regardless of the stage of epileptogenesis, detection of each cortical discharge was validated using the video to differentiate epileptiform events from physiological activity patterns associated with sleep, exploratory behavior, or grooming (for review, see Danober et al. 1998; Depaulis et al. 2016).

LFP Signals Analysis

Time-frequency and spectral analyses of cortical discharges were performed using an in-house developed Matlab code for dynamical analysis of intra-cortical LFPs. For each cortical discharge, the amplitude (square-root of power) of oscillatory activity between 1 and 30 Hz, from 4 s before the onset and up to 4 s thereafter, was obtained using standard methods based on Hanning taper analysis with fixed time-window length set at 2.5 s (Percival and Walden 1993). Time-frequency sampling of the time-frequency plane was 0.1 s/0.2 Hz. The time-frequency plane was averaged over events after having linearly adjusted the duration of the discharges to the same arbitrary value. Finally, the amplitude spectra of the cortical discharges were obtained by averaging the amplitude values over time during the whole duration of the discharges. The median of the amplitude spectra over events was chosen to summarize the spectral properties of each stage. For unitary epileptiform event analysis (Fig. 3), only discharges with an amplitude ≥ 3 times (Stages 2 and 3) and 2 times (Stage 1) the SD of the baseline LFP signal were considered.

Pharmacological Experiments

Acute Injection of Anti-epileptic Drugs in Young Pups

After a baseline recording period of 30 min, animals aged between P25 and P30 received either ethosuximide (ETHX, 200 mg/kg, i.p.; Sigma-Aldrich), valproate (VPA, 200 mg/kg, i.p.; Sigma-Aldrich) or saline injection in a counter-balanced order so that each animal was used as its own control. Between 2 injections, a delay of at least 48 h was observed for drug elimination/clearance.

Chronic Treatment with Anti-epileptic Drug in Young Pups

Twenty-one GAERS pups from 2 different litters were divided into 3 groups of 7 pups and were injected daily from P5 to P25 with either ethosuximide (ETHX group, 200 mg/kg/day, i.p., $n = 7$; Blumenfeld et al. 2008), valproate (VPA group, 200 mg/kg/day, i.p., $n = 7$) or saline (Saline group, $n = 7$) (Fig. 7A). All pups were housed with their mother until P30 and their weight and general body condition were controlled each day to detect any drug-induced side effects on animal's development. Particular attention was paid to the possible appearance of lethargic behavior, stirring or pain. We did not observe any weight differences between the 3 groups throughout the treatment period (data not shown).

Sensitivity to Acute Anti-epileptic Drugs Injection in Pre-treated Adult Animals

Each group of pre-treated animals (11 weeks old) received 2 doses of ethosuximide (25 mg/kg and 200 mg/kg, i.p.), valproate (75 mg/kg and 200 mg/kg, i.p.) and saline in a counter-balanced order to test their sensitivity to these drugs at adulthood (Micheletti et al. 1985) (Fig. 7A). A delay >72 h was observed between the 2 injections to ensure drug elimination/clearance. LFP recordings were performed 30 min before (baseline) and during 1 h after drug injection. Then, the number, cumulated and mean duration of cortical discharges were compared between conditions.

Simultaneous In Vivo Electrographic and Intracellular Recordings

Combined intracellular and electrocorticographic (ECoG) recordings were performed on GAERS, aged from P17 to $P \geq 90$ (P17, $n = 5$; P30, $n = 5$; $P \geq 90$, $n = 8$), and on age-matched control Wistar rats (P17, $n = 4$; P30, $n = 4$; $P \geq 90$, $n = 10$) of either sex. Rats were initially anesthetized with isoflurane (1–4% in air) for surgery, and then maintained in a sedated state by repeated injections of fentanyl (3 μ g/kg, i.p.; Janssen-Cilag; Polack et al. 2007). Incision and compression points were infiltrated with lidocaine (2%; Centravet). A small craniotomy was made above the primary SoCx (AP: -1 to -2 mm from bregma; ML: 4–5.5 mm; Paxinos and Watson 1986) to insert intracellular and ECoG electrodes. Stereotaxic coordinates for P17–P30 rats were adapted from adult coordinates as indicated above. To favor long-lasting stable intracellular recordings, rats were immobilized with gallamine triethiodide (40 mg/2 h, i.m.; Sigma-Aldrich, France) and artificially ventilated (Depaulis et al. 2016).

ECoG activity was monitored using a low impedance (~ 60 k Ω) silver electrode placed on the dura above the primary SoCx and a reference electrode inserted in a neck muscle. ECoG signals were captured using a differential AC amplifier (Model 1700; A-M Systems), filtered at 1 Hz–10 kHz and digitized at 1–3 kHz (CED 1401plus; Cambridge Electronic Design). Intracellular recordings were performed using glass micropipettes filled with 2 M potassium acetate (50–70 M Ω). Intracellular signals were amplified using an Axoclamp 2B amplifier (Molecular Devices) operating in bridge mode, filtered at 3 kHz and digitized at 15–20 kHz. Intracellular recordings were made at depth > 1 mm (from 1.05 to 3.30 mm) below the cortical surface to ascertain targeting layers 5–6 cortical pyramidal neurons regardless of the age of the animals (Franceschetti et al. 1998; Frick et al. 2007; Polack et al. 2007). The mean depth of recordings was 1456.8 ± 61.6 μ m at P17 ($n = 23$ neurons from 5 GAERS and 4 Wistar rats), 1712.2 ± 110.7 μ m at P30 ($n = 17$ neurons from 5 GAERS and 4 Wistar rats) and 2146.1 ± 138.3 μ m at $P \geq 90$ ($n = 23$ neurons from 8 GAERS

and 10 Wistar rats). Pyramidal neurons were identified by their action potential (AP) properties and firing responses to supra-threshold current pulses. AP half-width was >0.5 ms, a value typically larger than that reported for GABAergic interneurons (Goldberg et al. 2011). As classically described for pyramidal cortical neurons (Connors and Gutnick 1990), recorded cells in adult animals were either regular spiking or intrinsically bursting (Fig. 5A).

ECoG and Intracellular Signal Analysis

Spontaneous firing rate of cortical neurons was measured from recording periods ($n = 2-5$ /neuron) of 10–60 s. The coefficient of variation (CV2) of inter-spike intervals (ISIs), which compares adjacent intervals and is independent of firing rate variation (Holt et al. 1996), was calculated as follows: $CV2 = (2 |\Delta t_{i+1} - \Delta t_i|) / (\Delta t_{i+1} + \Delta t_i)$, where Δt_i defined the ISI_i . Average membrane potential (Vm) values and the magnitude of Vm fluctuations (Vm SD) were assessed, in between cortical discharges, from recording segments ($n = 2-5$ /neuron) of intracellular activity lasting 10–60 s after removal of APs. AP voltage threshold was defined as the membrane potential at which dV/dt first exceeds 10 V/s (Mahon et al. 2003). The amplitude of APs was calculated as the potential difference between the voltage threshold and the peak after averaging at least 10 waveforms and their duration was measured as the width at half-maximal amplitude. Membrane input resistance (R_m) was calculated during baseline periods, from averaged ($n \geq 10$) voltage deflections induced by low intensity hyperpolarizing current pulses (-0.4 nA, 100–200 ms duration, every 1.25 s). The membrane time constant (τ_m) was derived from an exponential decay fit applied to the current-evoked hyperpolarization. To perform cross-correlations between ECoG and Vm recordings, intracellular voltage traces were median filtered and both signals were down-sampled at 0.5–1 kHz after removal of the DC component.

To quantify the transfer function of cortical neurons, we generated firing frequency versus injected current (F–I) relationships. The firing rate was measured in response to depolarizing current pulses of increasing intensity (0.1–1.2 nA, 100–200 ms, every 2.25–3.25 s). Since the current-evoked firing could exhibit a trial-to-trial variability due to collisions with the background synaptic activity inherent to in vivo preparations, current pulses of a given intensity were applied 15–25 times and the corresponding firing responses were averaged. As previously described (Mahon and Chapier 2012), we applied linear regressions to F–I curves and determined the threshold current for AP generation, extrapolated as the x-intercept of the linear fit, and the neuronal gain, defined as the slope (γ) of the F–I curve. All data were analyzed using Spike2 version 7.06 (Cambridge Electronic Design) and Origin version 8.1 (OriginLab Corporation) softwares.

Statistical Analysis

Numerical values are given as mean \pm s.e.m and statistical analyses were done with Prism version 6.05 (Graphpad software Inc.) or SigmaStat version 3.5 (Systat Software Inc.). The different tests and post hoc corrections used for each experiment are mentioned in each figure legend.

Results

Post-natal Evolution of Epileptiform Discharges in the Somatosensory Cortex of Freely Moving GAERS

We first explored the ontogenesis of absence seizures by performing on freely moving GAERS from P10 to P90 LFP

recordings in the primary somatosensory cortex (SoCx), previously identified as the cortical region initiating absence seizures in the adult (Polack et al. 2007; 2009; David et al. 2008). Between P10 and P14, no epileptiform activities could be detected and the comparison of LFP frequency content (1–30 Hz) between GAERS and age-matched control Wistar did not reveal significant differences (data not shown, $n = 9$ GAERS and 8 Wistar; $P > 0.05$, 2-way ANOVA with Sidak's correction). Recurrent oscillatory discharges first appeared in the GAERS SoCx at P15 (Fig. 1A1). We then observed a progressive evolution of these early epileptiform activities into SWDs as the animals matured (Fig. 1A,B, insets). According to the morphology of the individual epileptiform activities, their proportion and internal frequency, we identified 3 distinct stages in the maturation of cortical discharges (Fig. 1A–D).

Stage 1

From P15 to the beginning of the fourth post-natal week (P22), cortical discharges were devoid of classical spike-and-wave (SW) complexes and exclusively composed of oscillatory-like waves (Fig. 1A1,B1, inset). These oscillatory discharges had a fundamental internal frequency of 5.5 ± 0.1 Hz ($n = 50$ cortical discharges from 6 GAERS) (Fig. 1A1,B1) and were present in 62.5% of GAERS at P15 ($n = 5$ out of 8 GAERS) and in all animals at P20 ($n = 11$ GAERS). Long-term duration (≥ 1 h) spectral analysis of LFP recordings from GAERS and Wistar rats at P21 confirmed that 5-Hz oscillations were only present in epileptic animals ($n = 6$ GAERS and 4 Wistar; $P < 0.05$) (Fig. 1C, top panels). Moreover, as soon as Stage 1, oscillatory discharges were associated with behavioral arrest, often accompanied by chewing or slight hypotonia of the neck muscles (see Supplementary Video 1). Thus, the 5-Hz oscillatory discharges, characteristic of GAERS between P15 and P22, likely represent activities that can be considered as an electrical signature of the first stage of epileptogenesis.

Stage 2

From P25 to P40, the oscillatory cortical discharges were replaced by epileptiform activities composed of oscillations intermingled with sharp and narrow events closely resembling SW complexes (Fig. 1A2,B2, inset). Oscillations were defined by negative, nearly symmetrical, LFP deflections that were not followed by a consecutive wave, contrasting with the dual profile of SW complexes (Fig. 1B2, inset). During Stage 2, oscillations predominated over SW but their proportion progressively decreased with age ($71.4 \pm 2.9\%$ at P25, $70.4 \pm 4.2\%$ at P30 and $53.4 \pm 3.9\%$ at P40) (Fig. 1D). Spectral analysis revealed that these mixed cortical discharges had a fundamental frequency of 5.2 ± 0.08 Hz, followed by a second harmonic at 10.4 ± 0.1 Hz that was absent during Stage 1 ($n = 50$ mixed cortical discharges from 8 GAERS) (Fig. 1B2). Cortical discharges at Stage 2 were also specific of epileptic animals as evidenced by the increased power of the 5–6 Hz frequency band in GAERS at P25 compared to age-matched control Wistar rats ($n = 7$ GAERS and 7 Wistar; $P < 0.001$) (Fig. 1C, lower panels). As for Stage 1, behavioral arrest, chewing and/or slight neck muscles hypotonia were observed during the mixed cortical discharges (see Supplementary Video 2).

Stage 3

We defined the beginning of Stage 3 as the post-natal time at which cortical discharges were composed of more than 50% of SW complexes (Fig. 1A3,B3,D). This took place after P40 since the proportion of SW pattern reached $75.4 \pm 1.1\%$ at P60 ($n = 4$ GAERS) and $78.7 \pm 1.8\%$ at P90 ($n = 19$ GAERS) (Fig. 1D). Stage 3 discharges had a preferential internal frequency of 7.3 ± 0.05 Hz,

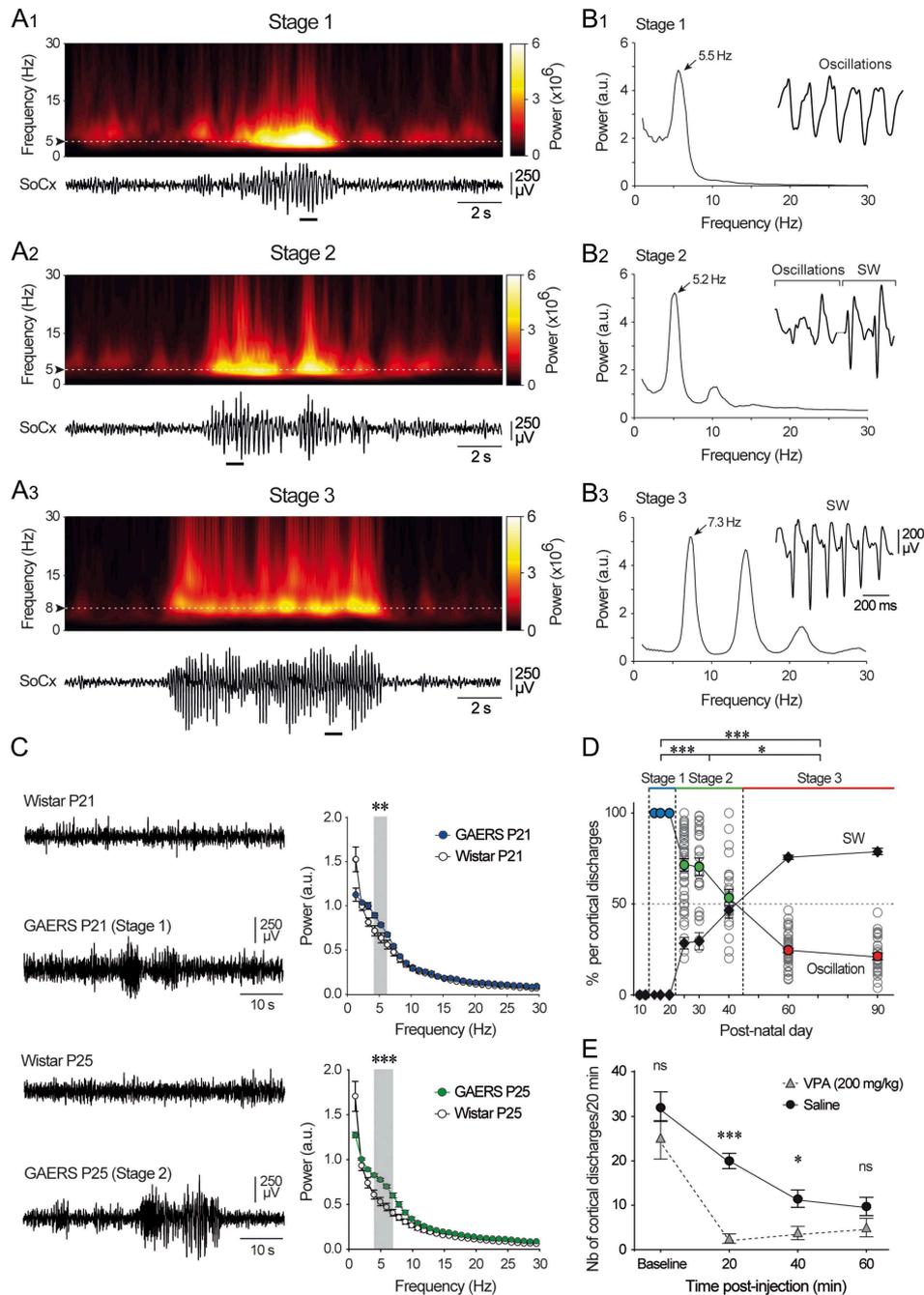


Figure 1. Progressive evolution of cortical discharges during epileptogenesis. (A) Typical LFP recordings in the primary somatosensory cortex (SoCx) of freely moving GAERS (bottom record) and corresponding color-coded time-frequency plot of amplitude (top) using standard Hanning taper analysis after removal of the DC component at different stages of epileptogenesis. (A1) Stage 1: P18, (A2) Stage 2: P25 and (A3) Stage 3: P90. (B) Median normalized amplitude power spectra from LFP signals ($n = 50$ discharges/stage in $n \geq 5$ animals) recorded at Stage 1 (B1), Stage 2 (B2) and Stage 3 (B3). The fundamental frequency for the 3 stages is indicated. The inset is an expanded view of the underlined part of cortical discharges in (A), illustrating their main morphological characteristics. Calibration bars in (B3) applied to (B1–B2). (C) Representative LFP recordings from GAERS at P21 (Stage 1) and P25 (Stage 2) and from age-matched control Wistar rats (left) with corresponding normalized power spectra (right). The gray areas delineate significant differences in spectral power between GAERS and Wistar rats. (D) Relative proportion of oscillations (color-coded circles) and SW (black diamond) per cortical discharges as a function of age. Each open circle represents the percentage of oscillations per cortical discharge ($n \geq 25$ cortical discharges in $n \geq 4$ GAERS) and filled circles or diamonds represent mean \pm s.e.m. (E) Number of cortical discharges per 20 min period recorded in GAERS at Stage 2 (P25–P30) after intraperitoneal valproate (VPA, 200 mg/kg) or saline injection. Significance was assessed using 2-way ANOVA with Sidak's post hoc correction (power-spectrum), Kruskal–Wallis ANOVA on ranks with Dunn's post hoc correction (relative proportion of oscillations) and 2-way ANOVA with Sidak's post hoc correction (VPA injection). * $P < 0.05$; *** $P < 0.001$; ns, non-significant.

similar to that of SWDs in adult GAERS (Polack et al. 2007; Depaulis et al. 2016) together with a second and third harmonic at 14.6 ± 0.1 and 21.9 ± 0.1 Hz, respectively ($n = 50$ SW cortical discharges from 8 GAERS) (Fig. 1A3,B3). Concomitantly with

these mature cortical discharges, animals displayed behavioral arrest accompanied with whisker twitching and/or chewing and, in most animals, hypotonia of the neck muscles. These behavioral correlates were more stereotyped compared to Stages 1–2

and similar to those classically described in adult GAERS (Danover et al. 1998) (see Supplementary Video 3).

Because absence seizures in adult GAERS are known to be suppressed by specific anti-epileptic drugs (AEDs) (Micheletti et al. 1985; Danover et al. 1998), we tested the effects of 2 of these compounds, ETHX and VPA, on the mixed cortical discharges in P25–P30 GAERS. Injection of ETHX in Stage 2 GAERS (200 mg/kg, i.p.; $n = 4$) induced a strong sedative effect that precluded any reliable quantification of cortical discharges (data not shown). Injection of VPA (200 mg/kg, i.p.; $n = 4$) had a less pronounced sedative effect and caused a significant decrease in the cumulated duration (data not shown) and number (Fig. 1E) of cortical discharges compared to saline injection (20 min post-injection, $P < 0.001$; 40 min post-injection, $P < 0.05$). The few cortical discharges that persisted 40 min after drug injection were composed of both oscillations and SW, suggesting that VPA affected both LFP patterns. Beyond 1 h post-injection, GAERS pups tended to fall asleep, leading to a decrease of cortical discharges number even after administration of saline. This non-specific change in the number of epileptic discharges likely results from the combined effect of long-duration recordings (≥ 1 h30) and the young age of the animals as this was not observed in our previous pharmacological studies in adults (Deransart et al. 1999, 2000).

Altogether, these data suggest that the recurrent oscillatory activities that emerged in GAERS at P15 represent an early signature of AE as 1) they were not found in age-matched non-epileptic animals, 2) they progressively evolved into SWDs with age, 3) they were associated with behavioral arrest, and 4) they were suppressed by AEDs. These early cortical paroxysms may thus reflect the very first sign of the pro-ictogenic dysfunctions emerging in the SoCx neural network in GAERS.

Leading Role and Maturation of the Somatosensory Cortical Discharges During Epileptogenesis

To determine whether the SoCx exerts a leading role in the occurrence of cortical discharges during the first stages of GAERS epileptogenesis, we performed simultaneous LFP recordings in the SoCx and ipsilateral MoCx and measured the onset delay between the 2 cortical regions at the 3 stages. Regardless of the stage of epileptogenesis, cortical discharges were systematically detected first in the SoCx (Fig. 2A), with a progressive increase in the onset delay from Stage 1 to Stage 3 (Stage 1, Δt MoCx-SoCx = 0.45 ± 0.04 s; Stage 2, Δt MoCx-SoCx = 0.92 ± 0.12 s; Stage 3, Δt MoCx-SoCx = 1.1 ± 0.08 s, $n = 50$ cortical discharges/stage from $n \geq 4$ GAERS; $P < 0.01$) (Fig. 2B).

We further characterized the progressive maturation of oscillatory activities into SWDs by quantifying the number and mean duration of cortical discharges as a function of the developmental stage. During Stage 1, we found a gradual increase in the number of cortical discharges from P15 to P20 (P15, 1.3 ± 0.4 cortical discharges/h, $n = 8$ GAERS vs. P20, 13.8 ± 2.5 cortical discharges/h, $n = 11$ GAERS) together with an increase in their duration (P15, 2.2 ± 0.8 s, $n = 8$ GAERS vs. P20, 3.4 ± 0.2 s, $n = 11$ GAERS) (Fig. 2C,D). Similar increases in both number (P25, 46.0 ± 5.5 cortical discharges/h, $n = 8$ GAERS vs. P40, 71 ± 3.9 cortical discharges/h, $n = 4$ GAERS) and duration (P25, 5.1 ± 1.1 s, $n = 8$ GAERS vs. P40, 9.0 ± 0.3 s, $n = 4$ GAERS) of mixed cortical discharges occurred in the course of Stage 2 (Fig. 2C,D). While the number of discharges at the transition between Stage 2 and 3 still progressed, it rapidly reached a plateau as evidenced by the similar incidence of epileptiform activities at P60 and P90 (P60,

103.3 ± 9.2 cortical discharges/h, $n = 4$ GAERS vs. P90, 91.6 ± 6.1 cortical discharges/h, $n = 19$ GAERS, $P > 0.9$) (Fig. 2C). However, the duration of SWDs during Stage 3 continued to increase linearly, from 11.8 ± 2.2 s at P60 to 21.7 ± 1.8 s at P90 (Fig. 2D). Noticeably, the number of cortical discharges calculated at P60 and P90 was very close to that previously estimated in P120 GAERS (Pouyatos et al. 2013), suggesting a stabilization of the propensity of SoCx networks to generate seizures from the first part of Stage 3.

These results indicate a rapid progression of epileptogenic processes during the third and fourth post-natal weeks, followed by a period of relative stability. Stage 1 may thus be considered as a “latent” period, Stage 2 would represent the development of the epileptogenesis due to rapid and pronounced modifications in SoCx neurons and networks, and Stage 3 the maturity of the underlying pro-ictogenic processes.

Progressive Shaping of Absence Seizure Electrical Signature: From Oscillation to SW Complex

We further characterized the age-dependent changes in the morphology of cortical discharges by comparing the average LFP waveform between the different stages of epileptogenesis (Fig. 3A). During Stage 1, LFP activity was dominated by nearly symmetrical oscillations of relatively small amplitude (Fig. 3A, left). The negative part of these oscillations had a mean initial slope of -6.4 ± 0.5 mV/s, a half-duration of 69.4 ± 2.1 ms and a total duration of 84.9 ± 1.9 ms ($n = 19$ cortical discharges, $n = 4$ GAERS) (Fig. 3A, left and B). Marked changes arose during the transition from Stage 1 to Stage 2. Averaged unitary epileptiform pattern became more variable in shape and amplitude and a pronounced narrowing of the negative deflection was observed (Fig. 3A, middle). This was reflected by an increase in the negative slope (-19.8 ± 1 mV/s, $n = 29$ cortical discharges from 4 GAERS; $P < 0.001$) associated with a decrease in the half (28.6 ± 1.4 ms, $n = 29$ cortical discharges from 4 GAERS; $P < 0.001$) and total (56.2 ± 3.54 ms, $n = 29$ cortical discharges from 4 GAERS; $P < 0.01$) duration of the negative deflection (Fig. 3A, middle and B). On average, we observed a 3-fold increase of the negative slope value between Stages 1 and 2, together with a 2.4-fold and 1.5-fold decrease in its half-duration and total duration, respectively (Fig. 3B). During Stage 2, we noticed the sporadic occurrence of a small positive deflection following the negative component, which exhibited, however, a large variability in shape and duration (arrow in Fig. 3A, middle). At Stage 3, as typically observed in adult GAERS (Depaulis et al. 2016), averaged individual epileptiform pattern was relatively stereotyped and composed of a large and narrow negative spike followed by a positive wave lasting 50–70 ms (Fig. 3A, right). The duration of the negative deflection was considerably reduced compared to Stage 2 (half-duration = 17 ± 0.6 ms, total duration = 33 ± 1.5 ms, $n = 23$ cortical discharges, $n = 4$ GAERS; $P < 0.001$ and $P < 0.01$) whereas its negative slope was enhanced (-36 ± 1.6 mV/s, $n = 23$ cortical discharges, $n = 4$ GAERS; $P < 0.001$) (Fig. 3A,B). The average duration of the negative spike at Stage 3 was consistent with that previously measured in adult WAG/Rij rats (Sitnikova and van Luijcklaar 2007) and conforms the standard criteria of spike detection used by clinicians (Chatrjian et al. 1974).

These findings demonstrate that epileptogenesis in GAERS is associated with a progressive tightening of the negative part of LFP waveforms coupled with the emergence of a subsequent positive wave, finally leading to a typical SW complex. Previous *in vivo* investigations from adult GAERS reported that the spike

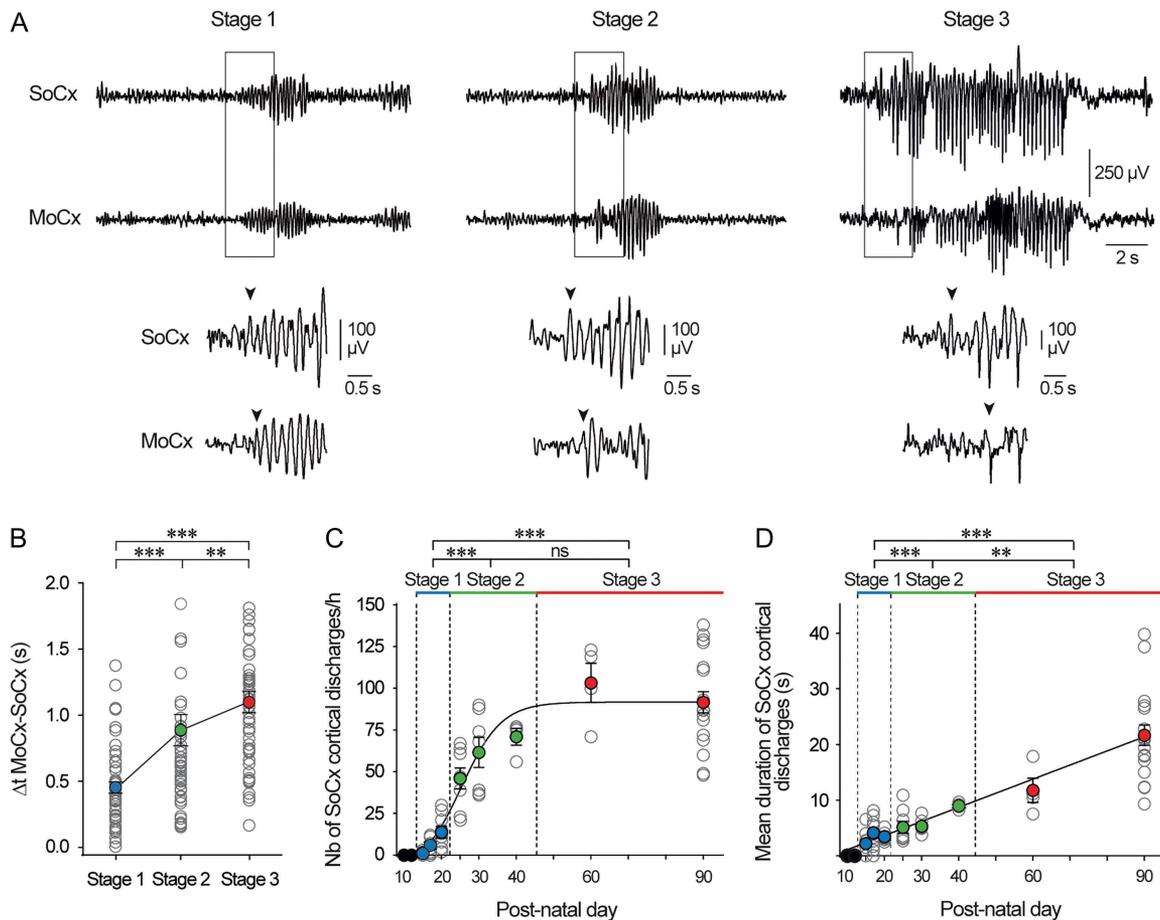


Figure 2. Age-dependent changes in cortical discharges properties. (A) Top, Typical simultaneous LFP recordings in the primary somatosensory cortex (SoCx) and motor cortex (MoCx) at the 3 stages of epileptogenesis. Bottom, Expansion of the paired LFP recordings (as indicated by the boxes) illustrating the early onset of cortical discharges in the somatosensory cortical region. The arrowheads indicate the beginning of the cortical discharges in the 2 cortical regions. (B) Quantification of the time delay (Δt) between the onset of cortical discharges in MoCx and SoCx ($n = 50$ cortical discharges/stage in $n \geq 4$ animals). (C,D) Number per hour (C) and mean duration (D) of cortical discharges as a function of age. The number of cortical discharges as a function of the post-natal day followed a sigmoid function ($r^2 > 0.83$), whereas the temporal evolution of the mean duration was best fitted by a linear regression ($r^2 > 0.75$). Each open circle represents values obtained in individual animals and filled circles represent mean \pm s.e.m. Significance between stages was assessed using Kruskal-Wallis ANOVA on ranks with Dunn's post hoc correction (time delay, number and mean duration of cortical discharges). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns, non-significant.

component of the SW complex is associated with synaptic depolarization and brisk firing in cortical pyramidal neurons while neurons are hyperpolarized and silent during the wave component (Depaulis et al. 2016; see also Fig. 6A). The shaping of SW activity during the development of absence seizures may thus reflect the progressive establishment of synchronized oscillatory activities in SoCx synaptic networks.

Age-dependent Alterations in Background Activity and Intrinsic Excitability of GAERS Somatosensory Cortex Neurons

The post-natal transformation of oscillatory discharges into mature SWDs described from LFP recordings in freely moving GAERS could result from progressive functional alterations in SoCx neurons and networks, including changes in the excitability of individual neurons, the strength of network synaptic activity and/or the propensity of interconnected cortical neurons to generate synchronized oscillations. To explore these potential epileptogenic processes, we performed *in vivo* intracellular recordings of deep-layer pyramidal SoCx neurons, simultaneously with the corresponding surface ECoG, in GAERS

under sedation and analgesia at the 3 developmental stages, and in age-matched control Wistar rats (see Materials and Methods). We found that most of the pro-ictogenic properties of deep-layer SoCx pyramidal neurons, supposed to promote SW activity in adult GAERS (Polack et al. 2007, 2009; Chipaux et al. 2011; Williams et al. 2016), progressively developed during the post-natal period.

Regardless of the age period examined, background intracellular activity in between cortical discharges in GAERS (Fig. 4A1) and in control animals (Fig. 4A2) was characterized by a continuous barrage of intermingled high-frequency depolarizing and hyperpolarizing synaptic potentials that resulted in unimodal distributions of membrane potential (V_m) values (Fig. 4B1,B2, left). While the mean V_m of cortical neurons was stable across age in control animals ($P > 0.6$), we observed a gradual membrane depolarization during the post-natal period in GAERS. The mean level of membrane polarization at Stage 1 ($V_m = -64.4 \pm 0.6$ mV, $n = 12$ neurons from 5 rats), which was similar to that measured in age-matched control animals (Wistar P17, $V_m = -65.3 \pm 0.7$ mV, $n = 11$ neurons from 4 rats; $P > 0.3$), shifted to a more depolarized value during Stage 2 ($V_m = -62.3 \pm 0.8$ mV, $n = 10$ neurons from 5 rats; $P = 0.05$) and reached -59.4 ± 0.6 mV ($n = 11$ neurons from 8 rats)

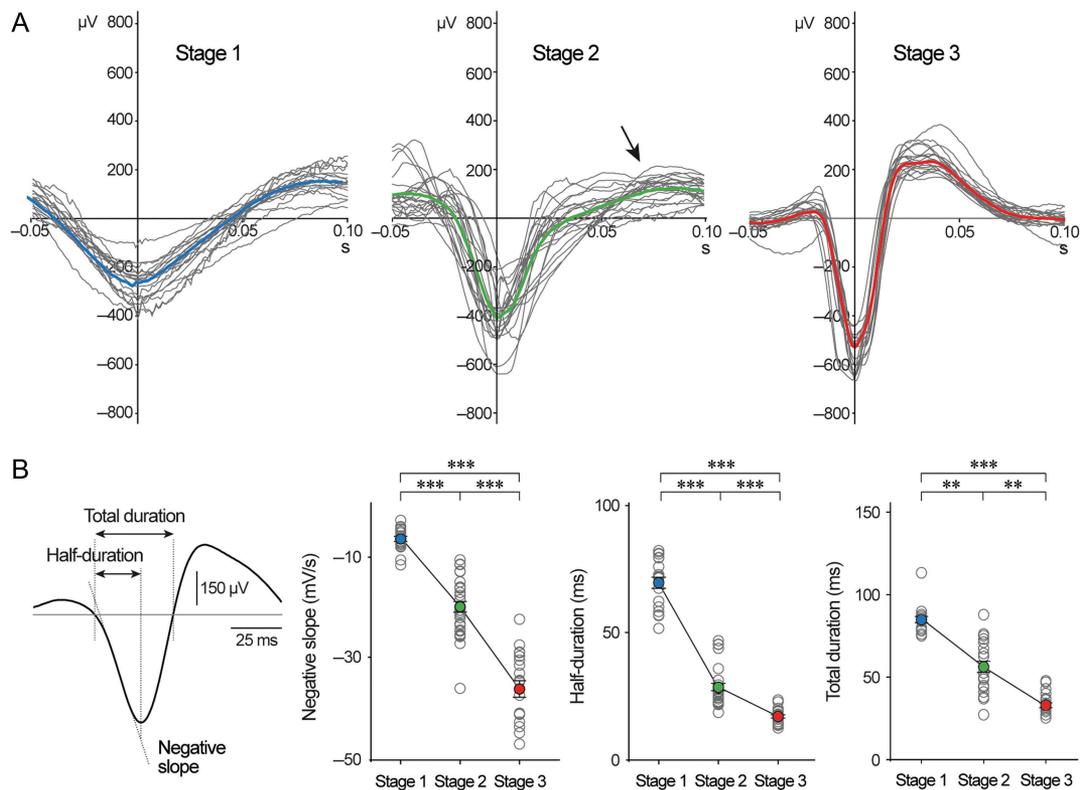


Figure 3. Progressive evolution of the unitary epileptiform pattern composing cortical discharges. (A) Averaged unitary epileptiform pattern composing cortical discharges recorded at Stages 1 (left), 2 (middle) and 3 (right). Note the progressive evolution of cortical oscillations (Stage 1) into typical spike-and-wave complexes (Stage 3). The arrow in Stage 2 indicates the sporadic occurrence of small-amplitude positive waves. (B) Properties of averaged unitary epileptiform patterns at the 3 stages. Three distinctive parameters were measured as illustrated on the representative record shown at left: the half-duration of the negative deflection, its total duration and slope (negative slope). Corresponding summary plots are shown at right. Each open circle represents the average unitary epileptiform pattern of 1 cortical discharge ($n \geq 19$ from $n \geq 4$ animals) and filled circles represent mean \pm s.e.m. Significance between stages was assessed using Kruskal–Wallis ANOVA on ranks with Dunn’s post hoc correction. ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

at Stage 3 ($P < 0.001$ vs. Stage 1 and $P < 0.01$ vs. Stage 2) (Fig. 4A,B). Despite the relative membrane hyperpolarization of cortical neurons in younger GAERS, which could have amplified the amplitude of depolarizing synaptic potentials via an increase in the driving force of synaptic currents, the amplitude of spontaneous Vm fluctuations at Stage 1 (V_m SD = 1.8 ± 0.2 mV, $n = 12$ neurons from 5 rats) were significantly smaller than that measured at Stage 2 (V_m SD = 2.3 ± 0.1 mV, $n = 10$ neurons from 5 rats; $P < 0.05$) and in adult GAERS (V_m SD = 2.9 ± 0.2 mV, $n = 11$ neurons from 8 rats; $P < 0.001$ vs. Stage 1 and $P < 0.05$ vs. Stage 2) (Fig. 4A1). The increase in spontaneous Vm fluctuations could result from a progressive enhancement of the ongoing synaptic drive and/or an increase in neuronal membrane input resistance (R_m) and time constant (τ_m) during cortical maturation in GAERS. An increase in the resting membrane excitability could be eliminated. Indeed, averaged values of R_m (Stage 1, $R_m = 24.8 \pm 2.0$ M Ω , $n = 12$ neurons from 5 rats; Stage 2, $R_m = 24.2 \pm 2.3$ M Ω , $n = 10$ neurons from 5 rats; Stage 3, $R_m = 21.5 \pm 2.5$ M Ω , $n = 11$ neurons from 8 rats; $P > 0.5$) and τ_m (Stage 1, $\tau_m = 9.5 \pm 1.1$ ms, $n = 11$ neurons from 5 rats; Stage 2, $\tau_m = 7.4 \pm 1.0$ ms, $n = 10$ neurons from 5 rats; Stage 3, $\tau_m = 8.7 \pm 1.0$ ms, $n = 11$ neurons from 8 rats; $P > 0.3$) were similar at the different developmental stages and did not differ from R_m and τ_m values measured in control neurons ($P > 0.2$ for both parameters) (Fig. 5A, lowest records and C).

The age-dependent depolarizing shift in GAERS neurons was associated with a significant increase in the spontaneous firing frequency from Stage 1 (0.2 ± 0.1 Hz, $n = 11$ neurons from

5 rats) to Stage 2 (2.0 ± 0.8 Hz, $n = 10$ neurons from 5 rats; $P < 0.05$). The rise in firing rate was also important between Stages 2 and 3 (15.5 ± 2.3 Hz, $n = 11$ neurons from 8 rats; $P < 0.001$) with, however, a high cell-to-cell variability at adult age (Fig. 4A1,B1). Consistent with the lack of changes in the mean Vm or R_m values of control neurons during post-natal development, their spontaneous firing was found similar in the different age groups (Wistar P17, 2.3 ± 0.9 Hz, $n = 11$ neurons from 4 rats; Wistar P30, 2.2 ± 1.4 Hz, $n = 6$ neurons from 4 rats; Wistar $P \geq 90$, 2.9 ± 1.0 Hz, $n = 10$ neurons from 10 rats; $P > 0.6$) (Fig. 4B2). The firing rate in Stage 1 GAERS was too low (< 0.5 Hz) to allow a reliable quantification of its regularity. However, we found that the CV2 of ISIs at Stage 2 (1.0 ± 0.1 , $n = 5$ neurons from 3 rats) was higher than that calculated in adult GAERS (0.72 ± 0.02 , $n = 10$ neurons from 7 rats; $P < 0.01$) and comparable to that of control neurons ($P > 0.1$) (Fig. 4B1,B2). The enhanced firing frequency of adult GAERS neurons was associated with a shorter AP half-width (Stage 1, 1.07 ± 0.09 ms, $n = 12$ neurons from 5 rats; Stage 3, 0.57 ± 0.02 ms, $n = 11$ neurons from 8 rats; $P < 0.001$) and a lower voltage firing threshold (Stage 1, -48.7 ± 1.1 mV, $n = 11$ neurons from 5 rats; Stage 3, -52.4 ± 0.8 mV, $n = 11$ neurons from 8 rats; $P < 0.01$).

These results indicate that epileptogenesis in GAERS is associated with an increase in the rate and rhythmicity of spontaneous firing in SoCx deep-layer neurons, a phenomenon that was not observed in control Wistar rats. In line with these observations, most of GAERS cortical neurons at Stage 3 ($n = 6$ out of 11)

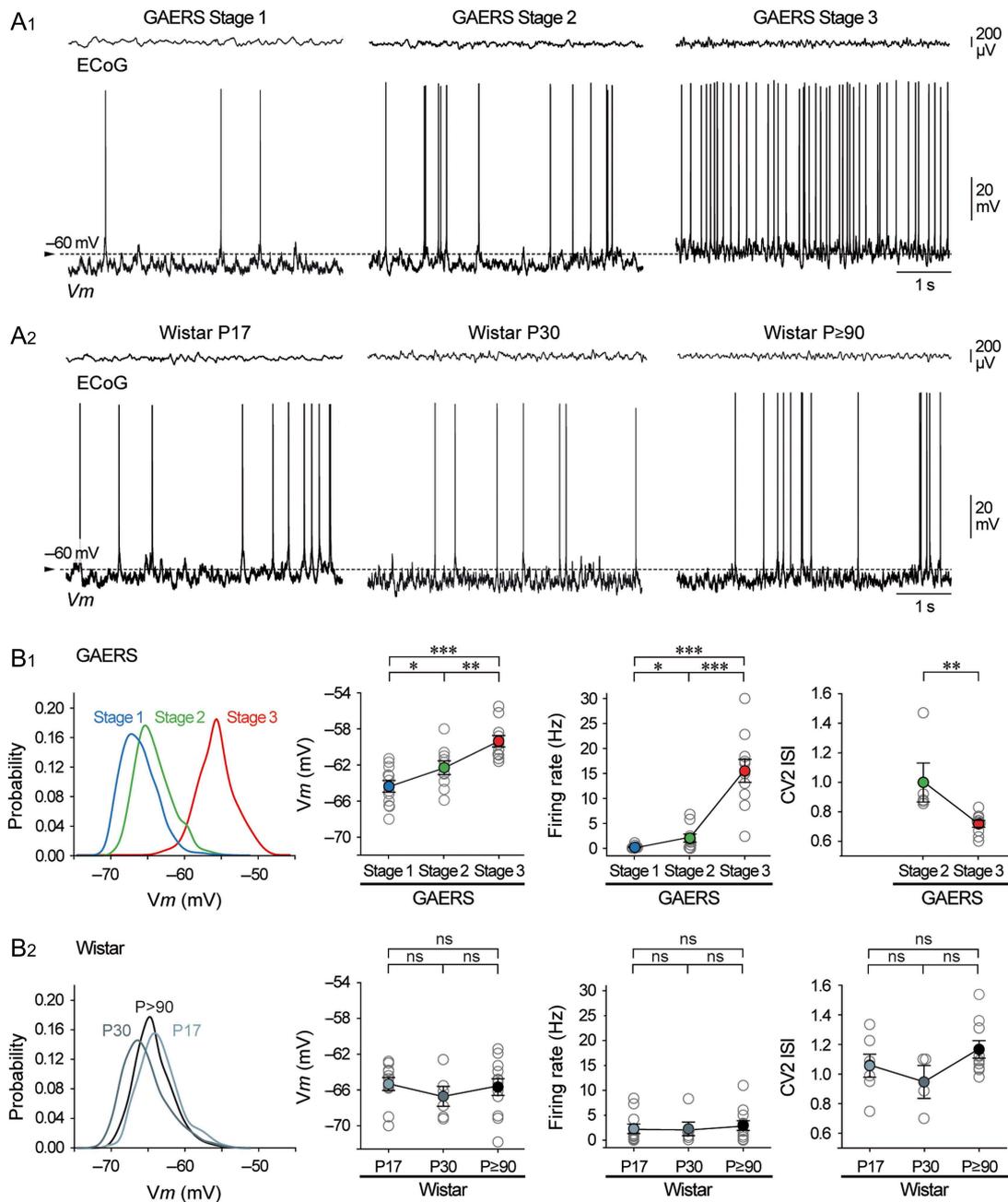


Figure 4. Age-dependent changes in membrane potential and spontaneous firing of GAERS somatosensory cortex neurons. (A) Electroencephalographic (ECoG) activity (top traces) and corresponding intracellular recordings (V_m , bottom traces) obtained, in between cortical discharges, from layer 5 somatosensory cortex pyramidal neurons of GAERS at Stages 1, 2, and 3 (A1), and in age-matched (P17, P30, and P \geq 90) control Wistar rats (A2). Dashed lines indicate -60 mV. (B1) Left, V_m distribution histograms (1 mV bin) computed from the cells illustrated in (A1). Right, population data showing that the post-natal development of GAERS neurons is associated with a progressive depolarization of their mean V_m (Stage 1, $n = 12$ neurons; Stage 2, $n = 10$ neurons; Stage 3, $n = 11$ neurons) and in the regularity of AP discharge (CV2 ISI; Stage 2, $n = 5$ neurons; Stage 3, $n = 10$ neurons). (B2) Left, V_m distribution histograms (1 mV bin) computed from the cells illustrated in (A2). Right, population data comparing the mean V_m (P17, $n = 11$ neurons; P30, $n = 6$ neurons; P \geq 90, $n = 12$ neurons), the spontaneous firing rate (P17, $n = 11$ neurons; P30, $n = 6$ neurons; P \geq 90, $n = 12$ neurons) and the firing regularity (CV2 ISI; P17, $n = 7$ neurons; P30, $n = 4$ neurons; P \geq 90, $n = 10$ neurons) across the different groups of control Wistar rats. Here and in similar population graphs, each open circle represents an individual neuron and filled circles represent the corresponding mean value \pm s.e.m. Significance was assessed using ANOVA (V_m and CV2 ISI) or Kruskal-Wallis ANOVA on ranks (firing rate). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns, non-significant.

could generate intrinsic bursts of APs in response to depolarizing current pulses (Fig. 5A1, right), whereas this intrinsic firing profile was absent during Stages 1 and 2 (Fig. 5A1, left).

We next examined whether these age-dependent cellular changes were associated with modifications in the transfer function of cortical neurons, which describes the relation

between excitatory inputs of varying amplitude and neuronal output defined as AP generation (Silver 2010). We thus generated F-I relationships in GAERS neurons from Stage 1 ($n = 9$ neurons from 5 rats) and Stage 3 ($n = 6$ neurons from 5 rats), the 2 extremes stages of epileptogenesis, and in age-matched control Wistar rats (Wistar P17, $n = 10$ neurons from 4 rats;

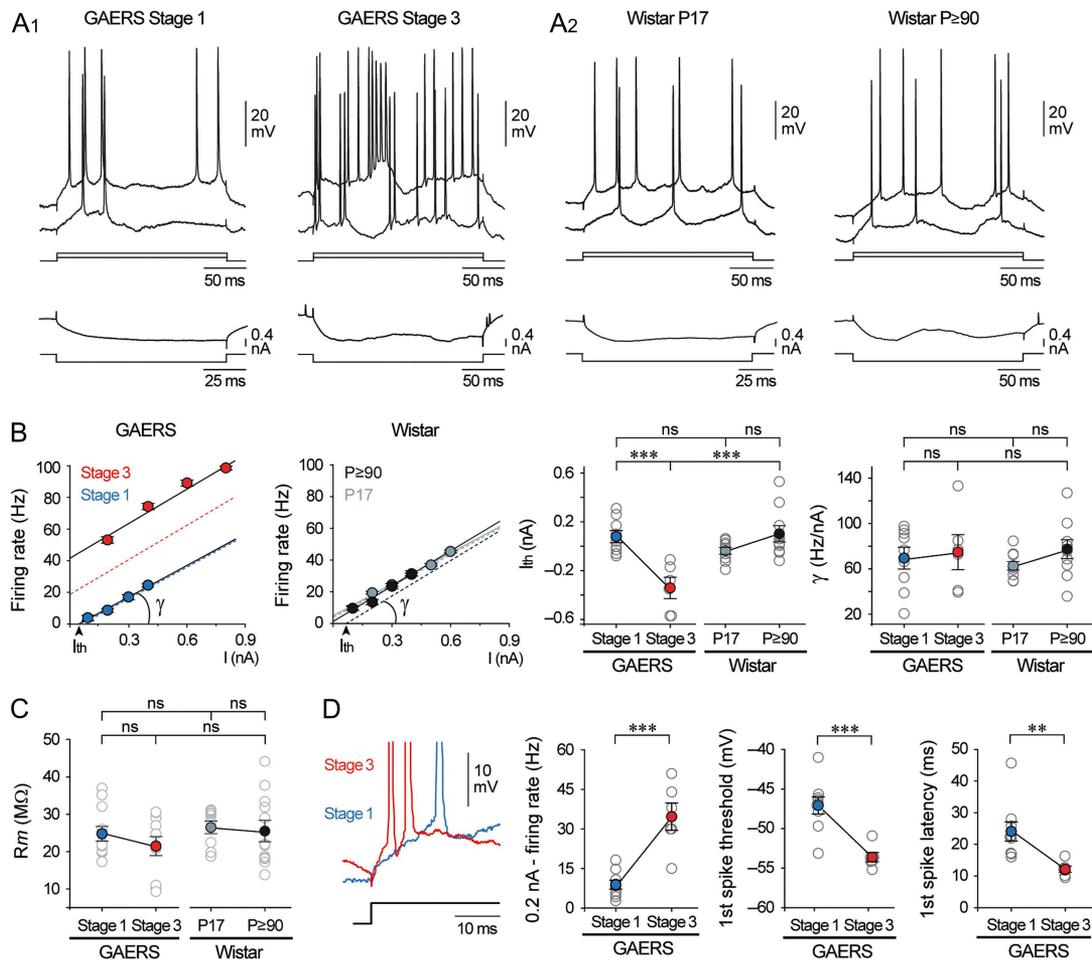


Figure 5. Developmental changes in membrane excitability and transfer function of GAERS cortical neurons. (A) Typical voltage responses of deep-layer somatosensory cortical neurons (top records), recorded during Stage 1 and Stage 3 in GAERS (A1) and in age-matched control Wistar rats (A2), to injection of depolarizing (+0.2 and +0.4 nA) and hyperpolarizing (−0.4 nA) current pulses (bottom traces). The responses induced by the negative current pulses were averaged from at least 10 successive trials. (B) Left, Corresponding F–I curves computed from the neurons shown in (A1) (blue circles, Stage 1; red circles, Stage 3) and (A2) (light gray circles, P17; black circles, P ≥ 90). The dashed lines represent the best linear fits after subtraction of the baseline firing rates. Right, Summary plot comparing the intensity of threshold current (I_{th}) and neuronal gain (γ) values across the different experimental groups. (GAERS Stage 1, $n = 9$; GAERS Stage 3, $n = 6$; Wistar P17, $n = 10$; Wistar P ≥ 90, $n = 10$). (C) Population data showing the constancy of R_m values in the 2 rat strains. (GAERS Stage 1, $n = 12$; GAERS Stage 3, $n = 11$; Wistar P17, $n = 11$; Wistar P ≥ 90, $n = 12$). (D) The increased firing rate in response to current pulses of +0.2 nA in GAERS cortical neurons at Stage 3 (left) was associated with a decrease in the first spike voltage threshold (middle) and first spike latency (right). Pooled data depicted in (D) are from 9 neurons recorded at Stage 1 and 6 neurons recorded at Stage 3. Significance was assessed using ANOVA (B–C) or unpaired t-test (D). ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns, non-significant.

Wistar P ≥ 90, $n = 10$ neurons from 8 rats) (Fig. 5A1,A2,B). The extrapolated values of threshold current (I_{th}) calculated at Stage 1 in GAERS ($I_{th} = 0.08 \pm 0.05$ nA, $n = 9$ neurons), were similar to those measured in control neurons from P17 and adult animals (Wistar P17, $I_{th} = -0.04 \pm 0.03$ nA, $n = 10$ neurons; Wistar P ≥ 90, $I_{th} = 0.10 \pm 0.07$ nA, $n = 10$ neurons; $P > 0.1$), but significantly dropped in older GAERS ($I_{th} = -0.34 \pm 0.09$ nA, $n = 6$ neurons; $P < 0.001$) (Fig. 5B). The lower firing threshold in Stage 3 GAERS neurons was likely influenced by their high background firing frequency. However, even after subtracting the baseline firing rate from F–I curves (dashed lines in Fig. 5B, left), the current-evoked firing threshold at Stage 3 remained lower than that calculated during Stage 1 (Stage 1, $I_{th} = 0.08 \pm 0.05$ nA, $n = 9$ neurons; $I_{th} = -0.10 \pm 0.06$ nA, $n = 6$ neurons; $P < 0.05$). This leftward sliding of F–I relation with age in GAERS was accompanied by a strong increase of firing responses to weak inputs (+0.2 nA) (Stage 1, 8.9 ± 1.8 Hz, $n = 9$ neurons vs. Stage 3,

34.7 ± 5.6 Hz, $n = 6$ neurons; $P < 0.001$), a lowering in the voltage threshold for the first AP (Stage 1, -47.1 ± 1.1 mV, $n = 9$ neurons vs. Stage 3, -53.6 ± 0.6 mV, $n = 6$ neurons; $P < 0.001$) and a reduction of its latency (Stage 1, 24.1 ± 3.2 ms, $n = 6$ neurons vs. Stage 3, 12.1 ± 1.1 ms, $n = 6$ neurons; $P < 0.01$) (Fig. 5D). Consistent with the stability of R_m values across the different experimental groups (Fig. 5C), the functional gain of GAERS neurons, measured as the slope (γ) of F–I curves, was not affected between Stage 1 and Stage 3 (Stage 1, $\gamma = 69.4 \pm 9.6$ Hz.nA $^{-1}$, $n = 9$ neurons; Stage 3, $\gamma = 74.7 \pm 15.4$ Hz.nA $^{-1}$, $n = 6$ neurons; $P > 0.7$) and was similar to that of control neurons (Wistar P17, $\gamma = 62.7 \pm 3.7$ Hz.nA $^{-1}$, $n = 10$ neurons; Wistar P ≥ 90, $\gamma = 77.3 \pm 8.3$ Hz.nA $^{-1}$, $n = 10$ neurons; $P > 0.5$) (Fig. 5B). These findings demonstrate that the sensitivity to weak inputs of SoCx deep-layer neurons in GAERS increases with age but that the dynamic change of their responsiveness over a wide range of inputs is not affected.

Neuronal Correlates of Developing Epileptiform Activities

To unveil the neuronal mechanisms underlying the progressive maturation of epileptiform activity, from 5-Hz oscillatory discharges to 7–8 Hz SWDs, and the sharpening of unitary epileptiform pattern (Fig. 3), we examined the intracellular activities of

SoCx deep-layer neurons during the cortical discharges at the 3 developmental stages.

At the occurrence of oscillatory discharges (Stage 1), mixed discharges (Stage 2), and SWDs (Stage 3), the disorganized membrane potential fluctuations in pyramidal cortical neurons were replaced by clusters of rhythmic depolarizing synaptic potentials (Fig. 6A, left). At Stages 1 and 2, the individual

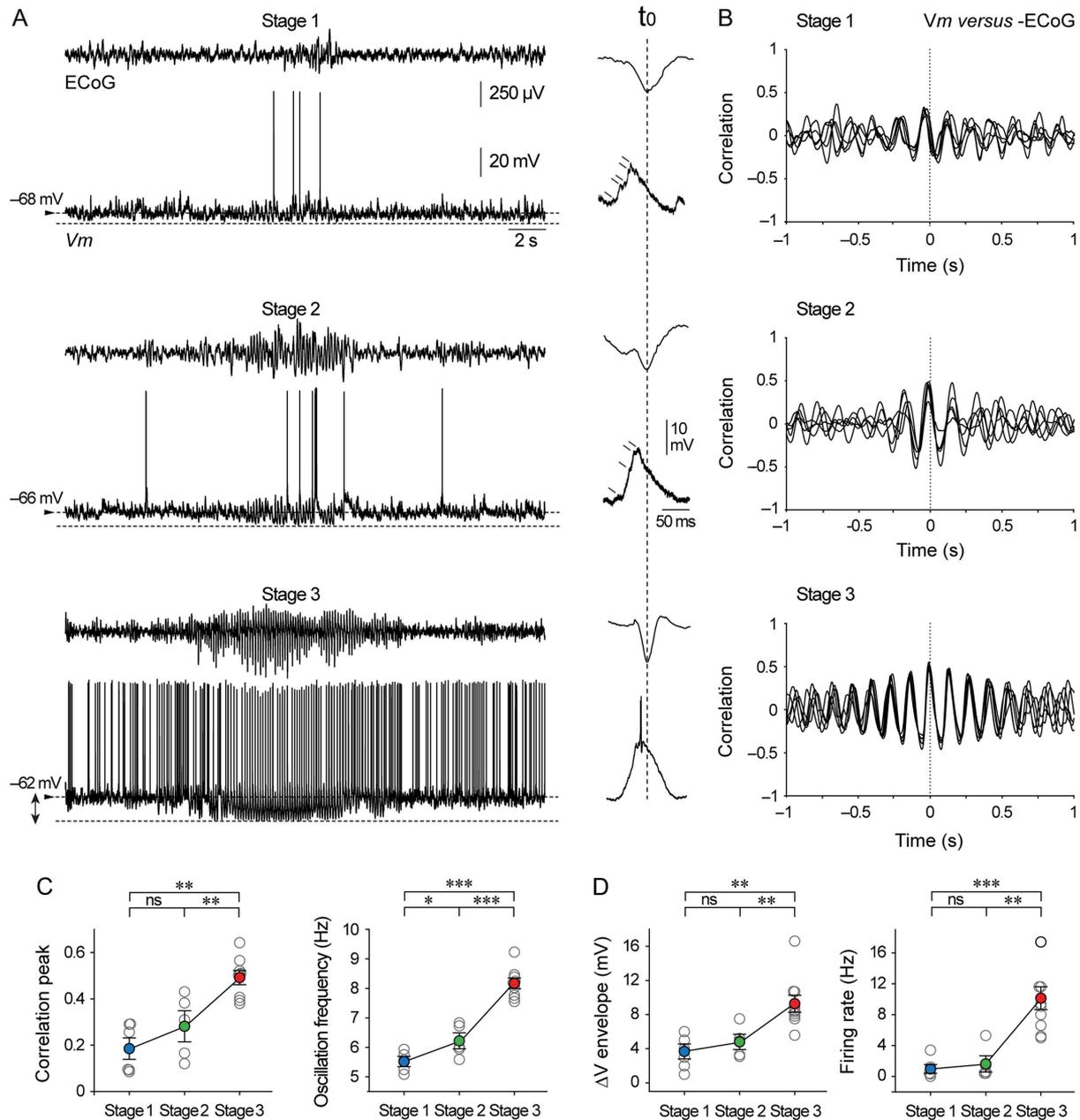


Figure 6. Intracellular correlates of the developing paroxysmal oscillations in the GAERS somatosensory cortex. (A) Simultaneous ECoG and intracellular recordings from deep-layer somatosensory cortical neurons at Stages 1, 2, and 3, during periods of synchronized oscillations in the ECoG. As shown by the horizontal dashed lines, cortical neurons displayed a membrane hyperpolarization at the occurrence of surface oscillations compared to the corresponding baseline Vm (arrowheads). The right column shows an expanded view of an intracellular membrane oscillation (bottom records) at the 3 stages, together with the corresponding ECoG wave (top records). These fragments of paired records are aligned using the peak negativity of the ECoG wave (vertical dashed line) as the time reference (t_0). (B) Superimposition of cross-correlograms (n = 5, oscillatory periods of 2–4 s duration) calculated during the 3 stages between the intracellular activity (Vm) and the corresponding inverted oscillatory ECoG signal (-ECoG), using Vm as the reference. (C) Correlation analyses indicate a significant increase in the correlation peak values and in the frequency of surface oscillations from Stage 1 to Stage 3. (D) Summary data showing the post-natal evolution of the neuronal hyperpolarizing envelope (left, as indicated by the double arrow in (A)) and the mean firing rate (right) associated with the synchronized oscillations. Pooled data in (C) and (B) are from: Stage 1, n = 6 neurons; Stage 2, n = 5 neurons; Stage 3, n = 9 neurons. Significance was assessed using unpaired t-test (oscillation frequency and ΔV envelope) or Mann-Whitney rank-sum test (correlation peak and firing rate). * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns, non-significant.

intracellular events, concomitant with the EcoG waveforms, were sculpted by the temporal summation of small depolarizing synaptic potentials (Fig. 6A, right). They increased in amplitude and reduced in duration with age, leading to relatively smooth and large (15–20 mV) synaptic depolarizations in the adult GAERS (Fig. 6A, Stage 3 in the right column). This suggests a progressive reinforcement of synaptic synchronization within SoCx networks during epileptogenesis, in agreement with the age-dependent tightening and increase in amplitude of the LFP/ECoG components (Figs 4 and 6A, right). An increasing coherence in the collective activity of cortical neurons is further supported by the enhancement of the correlation level (Fig. 6B, C, left) and the decrease in the time delay (Stage 1, -34.1 ± 3.8 , $n = 6$ neurons from 3 rats; Stage 2, -24.5 ± 6.7 , $n = 5$ neurons from 4 rats; Stage 3, -13.9 ± 2.4 , $n = 9$ neurons from 6 rats; $P < 0.01$ vs. Stage 1, $P = 0.06$ vs. Stage 2) between intracellular and ECoG oscillatory waveforms (Fig. 6A right and B), which paralleled the increase in the internal frequency of cortical oscillations with age (Figs 1B and 6C, right).

The age-dependent increase in the amplitude of rhythmic synaptic depolarizations led to a progressive enhancement of the neuronal firing rate during cortical discharges. Indeed, the mean firing rate during SWDs at Stage 3 (10.1 ± 1.5 Hz, $n = 230$ SWDs from 10 neurons) was significantly higher than during oscillatory discharges at Stage 1 (1.0 ± 0.6 Hz, $n = 225$ oscillatory discharges from 6 neurons; $P < 0.001$) and mixed discharges at Stage 2 (1.6 ± 1.0 Hz, $n = 280$ mixed discharges from 5 neurons; $P < 0.01$) (Fig. 6A,D, right). As previously described (Charpier et al. 1999; Polack et al. 2007; Williams et al. 2016), ictal intracellular oscillations in adult GAERS were superimposed on a tonic membrane hyperpolarization that was maintained throughout the SWD and had an amplitude of 9.3 ± 1.0 mV ($n = 230$ SWDs from 10 neurons) (Fig. 6A, lowest record and D, left). This sustained polarization of neurons was significantly smaller during the early stages (Stage 1, 3.7 ± 0.9 mV, $n = 225$ oscillatory discharges from 5 neurons; Stage 2, 4.8 ± 0.9 Hz, $n = 280$ mixed discharges from 5 neurons; $P < 0.01$ compared to Stage 3) (Fig. 6A,D, left). The maximal level of membrane polarization reached during cortical oscillations, which was similar at the 3 stages (Stage 1, -67.0 ± 1.7 mV, $n = 225$ oscillatory discharges from 5 neurons; Stage 2, -69.0 ± 1.5 mV, $n = 280$ mixed discharges from 5 neurons; Stage 3, -69.4 ± 0.8 mV, $n = 230$ SWDs from 10 neurons; $P > 0.4$), was significantly lower compared to the corresponding baseline V_m (arrowheads in Fig. 6A) ($P < 0.05$ for each paired comparison). This finding is consistent with our initial hypothesis that the sustained hyperpolarization of GAERS neurons during SWDs probably results from a process of synaptic disfacilitation, that is, a transient interruption in the ongoing synaptic drive, setting passively the cell to its resting potential (Charpier et al. 1999; Depaulis et al. 2016).

Altogether, our findings indicate that the post-natal maturation of cortical epileptic activities in the GAERS is correlated with a progressive increase in the magnitude and level of synchronization of neuronal oscillations in the deep layers of the SoCx.

Effect of Chronic Treatments with Anti-epileptic Drugs Before SWDs Onset

Based on our results showing a progressive evolution of epileptic cortical discharges during the post-natal period, associated with age-dependent changes in the electrophysiological features of SoCx neurons and networks, we hypothesized that a chronic

anti-epileptic treatment throughout the period preceding the occurrence of SWDs could alter the evolution of the disease.

GAERS pups were injected daily from P5 to P25 with saline or first-choice AEDs (i.e., ETHX or VPA), at doses known to suppress SWDs in adult GAERS (200 mg/kg/day, i.p.; Micheletti et al. 1985). Changes in the properties of cortical discharges were assessed from P35 to P90 using long-term monitoring of LFP activity (Fig. 7A). At P35, cortical discharges were still observed in the 3 groups and their number (Saline, 78.7 ± 7.8 cortical discharges/h; VPA, 65.1 ± 15.5 cortical discharges/h, $P = 0.43$ vs. Saline; ETHX: 102.7 ± 11.6 cortical discharges/h, $P > 0.30$ vs. Saline, $P > 0.08$ vs. VPA) as well as their cumulated duration (Saline, 474.9 ± 69.2 s/h; VPA, 416.7 ± 77.1 s/h, $P = 0.73$ vs. Saline; ETHX: 610.1 ± 57.1 s/h, $P > 0.64$ vs. Saline, $P > 0.58$ vs. VPA) were similar (Fig. 7B,C). This lack of changes in the properties of cortical discharges between the different cohorts persisted until P90, although animals treated with ETHX showed a tendency to display more numerous and longer epileptic activities (Fig. 7B,C). In addition, we found that the composition of cortical discharges (proportion of oscillation vs. SW) was also not affected by the pharmacological procedures (data not shown).

Seven weeks after the end of the chronic anti-epileptic treatment, pre-treated animals from the 3 groups were challenged with acute injections of low and high concentrations of ETHX (25 and 200 mg/kg) or VPA (75 and 200 mg/kg). The effects of drug injections on the amount of SWDs were compared with injections of saline, applied in a counter-balanced order (see Materials and Methods). Regardless of the experimental group, the number of cortical discharges was decreased by 2-fold following the injection of ETHX at low concentration and completely suppressed after administration of larger doses (Fig. 7D). A similar dose-dependent decrease was obtained after VPA injection, with a slight diminution and a quasi-suppression of cortical discharges for low and large drug concentrations, respectively (Fig. 7E). This dose-dependent attenuation of SWDs was analogous to that previously reported in adult GAERS that did not undergo the chronic drug treatment (Micheletti et al. 1985).

Our results indicate that an early treatment with ETHX or VPA does not alter the occurrence of SWDs or the efficiency of AEDs in adult GAERS.

Discussion

To our knowledge, the present study provides the first in vivo description of the developmental alterations occurring in cortical networks and neurons during GEs' epileptogenesis. In a well-established animal model of AE, we found that epileptiform activity progressively developed in the SoCx, from 5-Hz oscillatory discharges at the beginning of the third post-natal week to 7–8 Hz SWDs in adults. This was accompanied by an increase in the number and duration of cortical discharges and by a progressive sharpening of the individual cortical epileptiform event composing the discharges. Intracellular recordings of SoCx deep-layer pyramidal neurons demonstrated that maturation of cortical discharges in GAERS was accompanied by a progressive increase in the intrinsic excitability of cortical neurons, a strengthening of the local synaptic activity and an enhanced ability of cortical networks to generate synchronized oscillations. Finally, while acute injections of AEDs were found to be effective in reducing the number of both immature and mature cortical discharges, a chronic anti-epileptic treatment prior to seizures onset failed to prevent the development of the disease.

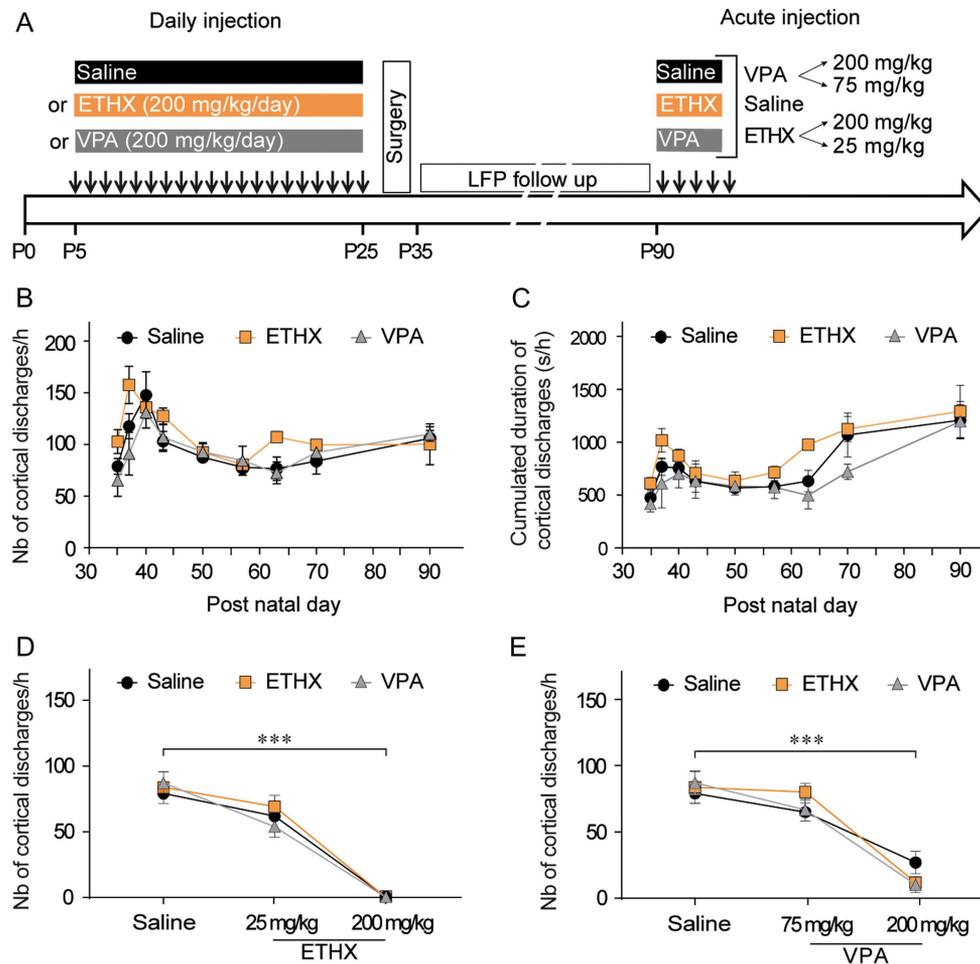


Figure 7. Chronic treatment with anti-absence drugs during the early phase of epileptogenesis in GAERS pups does not alter SWDs. (A) Schematic representation of the experimental design for chronic and acute treatments with AEDs. From P5 to P25, GAERS pups were treated with either valproate (VPA group, 200 mg/kg/day, $n = 7$), ethosuximide (ETHX group, 200 mg/kg/day, $n = 7$) or saline (Saline group, $n = 7$). At P32–33, animals were implanted with intra-cortical electrodes for a long-term LFP follow-up of cortical discharges activity. At P90, all animals were challenged with acute injections of VPA (75 and 200 mg/kg), ETHX (25 and 200 mg/kg) and Saline in a counter-balanced order to assess putative changes in their sensitivity to these drugs at adulthood. (B–C) Number (B) and cumulated duration (C) of cortical discharges per hour as a function of age, after chronic treatment with Saline, ETHX or VPA. (D,E) Impact of acute injection of ETHX (D) or VPA (E) on the number of cortical discharges recorded from P90 GAERS chronically pre-treated with Saline, VPA or ETHX. Significance was assessed using 2-way ANOVA with Bonferroni's post hoc correction. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns, non-significant.

Evolution of Cortical Discharges During Post-natal Brain Maturation in GAERS

Our findings obtained from freely moving animals show that the early oscillatory discharges that emerge in the GAERS SoCx around P15 progressively evolve into SWDs with age. Based on cortical discharges properties, we propose that the development of epileptic activity in GAERS follows 3 different stages of maturation. At first stage, between P15 and P22, cortical discharges were of short duration and relatively rare. They were exclusively composed of rhythmic, nearly symmetrical, oscillations with a fundamental frequency around 5 Hz. During Stage 2, between P25 and P40, epileptiform discharges were composed of both oscillations and mixed events closely resembling SW complexes, and their number (45–70/h) and duration (5–9 s) increased. After P40, maturation processes reached an ultimate stage where cortical discharges contained a majority of SW and occurred ~90 times per hour. Remarkably, the internal frequency of mature cortical discharges was shifted towards the typical frequency range (around 7–8 Hz) of SWDs in adult GAERS (Danober et al. 1998;

Depaulis et al. 2016). They had longer duration (10–25 s) and exhibited an increased rhythmicity as evidenced by the appearance of second and third harmonics in power spectra. Our data further suggest that the 5-Hz oscillatory cortical discharges observed during the third and the fourth post-natal weeks represent an early signature of AE. Indeed, such cortical activities, which could not be detected in age-matched control animals, correlated with a behavioral arrest and were suppressed by VPA, an AED classically used in the clinic to suppress absence seizures. Interestingly, the presence of immature, transitional and mature epileptic discharges has also been reported in a mouse model of familial childhood epilepsy, the GABA_A $\gamma 2$ (R43Q) mutant mice (Tan et al. 2007) as well as in C3H/HeJ mice, another genetic model of AE (Ellens et al. 2009). Although the emergence of immature SWDs occurred earlier in C3H/HeJ compared to GAERS, similar age-dependent changes in the number, duration and morphology of cortical discharges were observed (Carçak et al. 2008; Ellens et al. 2009). In the WAG/Rij rat model, SWDs also evolve with age although the onset of seizures occurs at adulthood,

around 2–3 months after birth (Coenen and van Luijtelaar 1987; Kole et al. 2007)

Noticeably, we found that epileptic discharges start to appear in GAERS just after the end of the second post-natal week ($\geq P15$), which corresponds to a key period of SoCx maturation in normal rats. During the early post-natal period, neocortical sensory networks generate successively different types of highly coherent activities (early network oscillations, spindle bursts, gamma bursts, giant depolarizing potentials) (Adelsberger et al. 2005; Allene et al. 2008; Yang et al. 2009; Minlebaev et al. 2011 for review see Luhmann et al. 2016) that are replaced by more sparse and less correlated firing patterns at the end of the second post-natal week (Golshani et al. 2009; Rochefort et al. 2009). These early synchronous network activities, which are associated with a number of structural changes such as axonal growth, increase in the complexity of dendrites and in the number of synapses (Bureau et al. 2004; Feldmeyer 2012; for review see Luhmann et al. 2016 and Hanganu-Opatz 2010), are known to be critical for the refinement of circuits and the establishment of sensory cortical maps (Mitrukhina et al. 2015). Thus, it seems likely that subtle alterations in these fundamental maturation processes may lead to dysrhythmic activities such as epileptic discharges.

Our multisite LFP recordings from the primary somatosensory and motor cortical regions indicate that cortical discharges first appeared in the SoCx even at the first stage of epileptogenesis, supporting the critical role of the SoCx in the initiation of cortical discharges. The reasons for the age-dependent increase in the propagation delay between both cortices remain unclear. It could reflect maturation of the sensorimotor circuits, including an extension of brain size that would increase the distance of propagation and/or a synaptic refinement. Moreover, the flow of epileptic discharges within the cortico-thalamo-cortical networks has been shown to follow complex spatiotemporal dynamics in rodent models of AE (Meeren et al. 2002; Polack et al. 2009). It is thus plausible that the maturation of epileptic networks be associated with alternate changes in the directionality of propagated activities between intra-cortical and long-range thalamo-cortical loops, a dynamic process that could extend the delay of activation between SoCx and MoCx.

Cellular and Synaptic Changes in the GAERS Somatosensory Cortex During Epileptogenesis

Our combined intracellular and ECoG recordings in GAERS and control Wistar rats have established that deep-layer neurons of the GAERS SoCx display distinctive post-natal changes in their electrophysiological properties that parallel the maturation of cortical discharges. The absolute value of their V_m was gradually reduced, reaching a mean value at adulthood significantly more depolarized compared to homologous neurons in control rats. These results extend our previous findings showing that the depolarized V_m of GAERS neurons in adult animals was specific to the SoCx and to the layers 5–6 of this cortical region (Polack et al. 2007, 2009; Polack and Charpier 2009; Williams et al. 2016). The different maturation profile of resting membrane properties in epileptic and control neurons is further supported by former *in vitro* studies describing either a progressive membrane hyperpolarization (Kriegstein et al. 1987; Zhu 2000; Frick et al. 2007) or nearly unchanged V_m values (Franceschetti et al. 1998; Stern et al. 2001) in SoCx pyramidal neurons of normal rats during post-natal development. Altogether, these results suggest that the age-dependent depolarization of GAERS SoCx neurons is a specific feature of

absence epileptogenesis. The progressive change in V_m and the associated increase in the spontaneous firing could originate from alteration in the density of voltage-gated ion channels and/or an increase of the depolarizing synaptic drive. Consistently, mRNA and protein expression of sodium channel genes *Nav1.1* and *Nav1.6* is up-regulated selectively within pyramidal neurons in the SoCx of WAG/Rij rats and follows the age-dependent increase in seizures number and duration (Klein et al. 2004). An overexpression of sodium channels could be responsible, at least in part, for the age-dependent increase in tonic and bursting firing activities of SoCx deep-layer neurons. The enhanced propensity of cortical neurons to generate burst firing at adulthood (present study; Polack et al. 2007) could also be promoted by an age-dependent reduction of the hyperpolarization-activated cationic current I_h , like in WAG/Rij rats (Strauss et al. 2004; Kole et al. 2007).

The depolarization of SoCx deep-layer neurons was accompanied by a gradual increase in V_m fluctuations, suggesting a strengthening of the network synaptic activity. This could be caused by the rapid development of neocortical networks during the first weeks of life, including an increased synaptic connectivity between pyramidal neurons and a refinement of sensory maps, which results in an amplification of sensory-evoked depolarizing synaptic responses (Micheva and Beaulieu 1996; Stern et al. 2001; Bureau et al. 2004; Feldmeyer et al. 2013). The physiological development of SoCx networks could operate in synergy with pro-epileptogenic alterations in local synaptic transmission. As observed in WAG/Rij rats, an alteration in glutamatergic NMDA, AMPA or mGlu receptor-dependent synaptic transmission (van de Bovenkamp-Janssen et al. 2006; Ngomba et al. 2005; D'Amore et al. 2013; Russo et al. 2016) could further facilitate the development of paroxysmal activities within the SoCx. Such changes remain to be confirmed in GAERS.

Pyramidal neurons from the GAERS SoCx also exhibited developmental intrinsic changes that may promote synchronized collective oscillations and participate to the progressive transformation of relatively slow cortical oscillations into SW activity. The comparison of F–I relations between epileptic and control neurons during post-natal development indicates that absence epileptogenesis is associated with a marked reduction in the minimal stimulus intensity required to induce firing in cortical neurons, a lowering of the voltage threshold for evoked APs and a shortening of their latency. This cortical hyperexcitability could result from the steady depolarization of neurons with age (Altwegg-Boussac et al. 2014) or from a reduction in dendritic I_h (Strauss et al. 2004; Kole et al. 2007). This should facilitate the synaptic excitation of cortical neurons embedded in an over-activated network and increase the reliability and temporal coherence of firing, as expected for ictogenic activity. Finally, changes in the pro-ictogenic properties of SoCx networks are likely influenced by developmental alterations in the synaptic interactions within thalamic circuits (Bessaïh et al. 2006; Tóth et al. 2007) or by the basal ganglia system, known to play a major role in controlling the expression of absence seizures (Deransart and Depaulis 2002; Paz et al. 2007).

Lack of Changes in SWDs After Early Chronic Treatment with Anti-absence Drugs

The finding of a critical period during which immature oscillatory discharges evolve into SWDs led us to hypothesize that AEDs treatment during this temporal window could perturb the epileptogenic processes and prevent the development of recurrent generalized seizures. However, our chronic treatment with either VPA or ETHX between P5 and P25 remained ineffective in

altering the number, the mean and cumulated duration as well as the EEG profile of cortical discharges from the 10th to the 80th day after the cessation of the treatment. This contrasts with previous studies showing that chronic administration of ETHX just before SWDs onset in different animal models of AE led to a quasi-suppression of SWDs, up to 1 month after treatment arrest (Blumenfeld et al. 2008; Russo et al. 2010, 2011; Sarkisova et al. 2010; Dezsi et al. 2013; for review, see Russo et al. 2016). The reasons for this discrepancy are still unclear. This may reflect heterogeneity in the duration of the anti-epileptic treatment that was much longer (≥ 4 months) in the aforementioned reports (see also Van Luijtelaar et al. 2013) and could, in some cases, exceed the period of epileptogenesis. This suggests that the observed decrease in seizure activity could have been the result of combined anti-epileptogenic and anti-epileptic effects. The lack of changes in SWD number and duration described in the present study, after a chronic treatment strictly targeting the latent period devoid of SW activity, indicates that such short treatment with current AEDs is not ineffective for targeting the cellular and network defects emerging in GAERS during the epileptogenesis period and highlights the need to develop new and specific medications (Löscher et al. 2013; Pitkänen and Engel 2014; Schmidt and Sillanpää 2016).

In conclusion, our results show that absence epileptogenesis in GAERS is associated with a gradual maturation of SoCx-generated epileptic activities together with progressive alterations in the membrane properties of deep-layer neurons and in their afferent synaptic networks. This suggests that the heterogeneity in the electrical features of seizures in untreated newly diagnosed patients with childhood AE (Sadleir et al. 2006) could reflect differences in the stage of maturation at the time of diagnosis. The precise characterization of the epileptogenic processes is of crucial importance to better define an appropriate therapeutic window and specific treatments. Our findings indicate that current AEDs, which are highly effective for SWDs suppression, are not good candidates to alter or reverse epileptogenesis in GAERS. Given the early onset of epileptic discharges in GEs, drugs specifically targeting the changes occurring during cortical networks development should be able to prevent, reverse, or interrupt the epileptogenic processes.

Supplementary Material

Supplementary data are available at *Cerebral Cortex* online.

Funding

This work was supported by grants from the *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM)*, the *Agence Nationale de la Recherche (ANR, “GliEpi” # R09131CS 2009 and “SoAbsence” # ANR-16-CE37-0021 2016)*, the *Fédération pour la Recherche sur le Cerveau (FRC-2009)*, the *Université Pierre et Marie Curie (UPMC)* and the program ‘*Investissements d’avenir*’ ANR-10-IAIHU-06. We also received supports from the French Ministry of Research (GJ, TAB and MSW), the *Fondation Française pour la Recherche sur l’Épilepsie (GJ)* and the *Fondation Chamaillard (GJ)*.

Notes

We thank Sylvain Andrieu and Cyrielle Colomb for the GAERS breeding, Claire Beaup for her technical assistance, Benoit Pouyatos for his advice for epileptiform event analysis as well as Laurent Vercueil and Colin Deransart for their suggestions

on the manuscript and their advices. *Conflict of Interest:* None declared.

References

- Adelsberger H, Garaschuk O, Konnerth A. 2005. Cortical calcium waves in resting newborn mice. *Nat Neurosci.* 8(8):988–990.
- Allene C, Cattani A, Ackman JB, Bonifazi P, Aniksztejn L, Ben-Ari Y, Cossart R. 2008. Sequential generation of two distinct synapse-driven network patterns in developing neocortex. *J Neurosci.* 28:12851–12863.
- Akin D, Ravizza T, Maroso M, Carcak N, Eryigit T, Vanzulli I, Aker RG, Vezzani A, Onat FY. 2011. IL-1 β is induced in reactive astrocytes in the somatosensory cortex of rats with genetic absence epilepsy at the onset of spike-and-wave discharges, and contributes to their occurrence. *Neurobiol Dis.* 44(3):259–269.
- Altwegg-Boussac T, Chavez M, Mahon S, Charpier S. 2014. Excitability and responsiveness of rat barrel cortex neurons in the presence and absence of spontaneous synaptic activity in vivo. *J Physiol (Lond).* 592:3577–3595.
- Baulac M, Pitkänen A. 2009. Research priorities in epilepsy for the next decade—a representative view of the European scientific community: summary of the ILAE Epilepsy Research Workshop, Brussels, 17–18 January 2008. *Epilepsia.* 50: 571–578.
- Ben-Ari Y, Holmes GL. 2006. Effects of seizures on developmental processes in the immature brain. *Lancet Neurol.* 5: 1055–1063.
- Berg AT, Scheffer IE. 2011. New concepts in classification of the epilepsies: entering the 21st century. *Epilepsia.* 52(6): 1058–1062.
- Bessaïh T, Bourgeois L, Badiu CI, Carter DA, Toth TI, Ruano D, Lambolez B, Crunelli V, Leresche N. 2006. Nucleus-specific abnormalities of GABAergic synaptic transmission in a genetic model of absence seizures. *J Neurophysiol.* 96: 3074–3081.
- Blumenfeld H, Klein JP, Schridde U, Vestal M, Rice T, Khera DS, Bashyal C, Giblin K, Paul-Laughinghouse C, Wang F, et al. 2008. Early treatment suppresses the development of spike-wave epilepsy in a rat model. *Epilepsia.* 49:400–409.
- Bureau I, Shepherd GMG, Svoboda K. 2004. Precise development of functional and anatomical columns in the neocortex. *Neuron.* 42:789–801.
- Carçak N, Aker RG, Ozdemir O, Demiralp T, Onat FY. 2008. The relationship between age-related development of spike-and-wave discharges and the resistance to amygdaloid kindling in rats with genetic absence epilepsy. *Neurobiol Dis.* 32(3):355–363.
- Charpier S, Leresche N, Deniau JM, Mahon S, Hughes SW, Crunelli V. 1999. On the putative contribution of GABA(B) receptors to the electrical events occurring during spontaneous spike and wave discharges. *Neuropharmacology.* 38: 1699–1706.
- Chatrjian GE, Bergamini L, Dondey M, Klass DW, Lennox-Buchthal M, Petersen I. 1974. A glossary of terms most commonly used by clinical electroencephalographers. *Electroenceph Clin Neurophysiol.* 37:538–548.
- Chipaux M, Charpier S, Polack P-O. 2011. Chloride-mediated inhibition of the ictogenic neurones initiating genetically-determined absence seizures. *Neuroscience.* 192:642–651.
- Coenen AM, van Luijtelaar EL. 1987. The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Res.* 1: 297–301.

- Coenen AM, van Luijtelaa EL. 2003. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behav Genet.* 33:635–655.
- Connors BW, Gutnick MJ. 1990. Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends Neurosci.* 13:99–104.
- Consroe P, Kudray K, Schmitz R. 1980. Acute and chronic anti-epileptic drug effects in audiogenic seizure-susceptible rats. *Exp Neurol.* 70:626–637.
- D'Amore V, Santolini I, van Rijn CM, Biagioni F, Molinaro G, Prete A, Conn PJ, Lindsley CW, Zhou Y, Vinson PN, et al. 2013. Potentiation of mGlu5 receptors with the novel enhancer, VU0360172, reduces spontaneous absence seizures in WAG/Rij rats. *Neuropharmacology.* 66:330–338.
- Danover L, Deransart C, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C. 1998. Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog Neurobiol.* 55:27–57.
- David O, Guillemain I, Saille S, Reyt S, Deransart C, Segebarth C, Depaulis A. 2008. Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological validation. *PLoS Biol.* 6:2683–2697.
- Depaulis A, Van Luijtelaa G. 2006. Genetic models of absence epilepsy in the rat. In: Pitkänen A, Schwartzkroin PA, Mosshé ML, editors. *Models of seizures and epilepsy.* San Diego: Elsevier Academic press. p. 233–248.
- Depaulis A, David O, Charpier S. 2016. The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg as a model to decipher the neuronal and network mechanisms of generalized idiopathic epilepsies. *J Neurosci Methods.* 260:159–174.
- Deransart C, Depaulis A. 2002. The control of seizures by the basal ganglia? A review of experimental data. *Epileptic Disord.* 4(Suppl 3):S61–S72.
- Deransart C, Riban V, Lê BT, Hechler V, Marescaux C, Depaulis A. 1999. Evidence for the involvement of the pallidum in the modulation of seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neurosci Lett.* 265:131–134.
- Deransart C, Riban V, Lê BT, Marescaux C, Depaulis A. 2000. Dopamine in the striatum modulates seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience.* 100:335–344.
- Dezsi G, Ozturk E, Stanic D, Powell KL, Blumenfeld H, O'Brien TJ, Jones NC. 2013. Ethosuximide reduces epileptogenesis and behavioral comorbidity in the GAERS model of genetic generalized epilepsy. *Epilepsia.* 54:635–643.
- Ellens DJ, Hong E, Giblin K, Singleton MJ, Bashyal C, Englot DJ, Mishra AM, Blumenfeld H. 2009. Development of spike-wave seizures in C3H/HeJ mice. *Epilepsy Res.* 85:53–59.
- Feldmeyer D. 2012. Excitatory neuronal connectivity in the barrel cortex. *Front Neuroanat.* 6:1–22.
- Feldmeyer D, Brecht M, Helmchen F, Petersen GCH, Poulet JFA, Staiger JF, Luhmann HJ, Schwarz C. 2013. Barrel cortex function. *Prog Neurobiol.* 103:3–27.
- Franceschetti S, Sancini G, Panzica F, Radici C, Avanzini G. 1998. Postnatal differentiation of firing properties and morphological characteristics in layer V pyramidal neurons of the sensorimotor cortex. *Neuroscience.* 83:1013–1024.
- Frankel WN. 2005. Development of a new genetic model for absence epilepsy: spike-wave seizures in C3H/He and back-cross mice. *J Neurosci.* 25:3452–3458.
- Frick A, Feldmeyer D, Sakmann B. 2007. Postnatal development of synaptic transmission in local networks of L5A pyramidal neurons in rat somatosensory cortex. *J Physiol (Lond).* 585:103–116.
- Goldberg EM, Jeong HY, Kruglikov I, Tremblay R, Lazarenko RM, Rudy B. 2011. Rapid developmental maturation of neocortical FS cell intrinsic excitability. *Cereb Cortex.* 21:666–682.
- Golshani P, Gonçalves JT, Khoshkhou S, Mostany R, Smirnakis S, Portera-Cailliau C. 2009. Internally mediated developmental desynchronization of neocortical network activity. *J Neurosci.* 29:10890–10899.
- Grosso S, Galimberti D, Gobbi G, Farnetani M, Di Bartolo RM, Morgese G, Balestri P. 2005. Typical absence seizures associated with localization-related epilepsy: a clinical and electroencephalographic characterization. *Epilepsy Res.* 66:13–21.
- Guillemain I, Kahane P, Depaulis A. 2012. Animal models to study aetiopathology of epilepsy: what are the features to model? *Epileptic Disord.* 14:217–225.
- Hanganu-Opatz IL. 2010. Between molecules and experience: role of early patterns of coordinated activity for the development of cortical maps and sensory abilities. *Brain Res Rev.* 64(1):160–176.
- Hirsch E, Panayiotopoulos CP. 2005. Childhood absence epilepsy and related syndromes. In: Roger J, Bureau M, Dravet C, Genton P, Tassinari CA, Wolf P, editors. *Epileptic syndromes in infancy, childhood and adolescence.* 4th ed.. Montrouge: John Libbey Eurotext. p. 315–335.
- Holt GR, Softky WR, Koch C, Douglas RJ. 1996. Comparison of discharge variability in vitro and in vivo in cat visual cortex neurons. *J Neurophysiol.* 75:1806–1814.
- Kelley MS, Jacobs MP, Lowenstein DH, for the NINDS Epilepsy Benchmark Stewards. 2009. The NINDS epilepsy research benchmarks. *Epilepsia.* 50:579–582.
- Klein JP, Khera DS, Nersesyan H, Kimchi EY, Waxman SG, Blumenfeld H. 2004. Dysregulation of sodium channel expression in cortical neurons in a rodent model of absence epilepsy. *Brain Res.* 1000:102–109.
- Kole MHP, Bräuer AU, Stuart GJ. 2007. Inherited cortical HCN1 channel loss amplifies dendritic calcium electrogenesis and burst firing in a rat absence epilepsy model. *J Physiol (Lond).* 578:507–525.
- Kriegstein AR, Suppes T, Prince DA. 1987. Cellular and synaptic physiology and epileptogenesis of developing rat neocortical neurons in vitro. *Brain Res.* 431:161–171.
- Löscher W. 2011. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure.* 20:359–368.
- Löscher W, Klitgaard H, Twyman RE, Schmidt D. 2013. New avenues for anti-epileptic drug discovery and development. *Nat Rev Drug Discov.* 12:757–776.
- Luhmann HJ, Sinning A, Yang JW, Reyes-Puerta V, Stüttgen MC, Kirischuk S, Kilb W. 2016. Spontaneous neuronal activity in developing neocortical networks: from single cells to large-scale interactions. *Front Neural Circuits.* 10:40.
- Mahon S, Casassus G, Mülle C, Charpier S. 2003. Spike-dependent intrinsic plasticity increases firing probability in rat striatal neurons in vivo. *J Physiol (Lond).* 550:947–959.
- Mahon S, Charpier S. 2012. Bidirectional plasticity of intrinsic excitability controls sensory inputs efficiency in layer 5 barrel cortex neurons in vivo. *J Neurosci.* 32:11377–11389.
- Meeren HK, Pijn JP, Van Luijtelaa EL, Coenen AM, Lopes da Silva FH. 2002. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci.* 22:1480–1495.
- Micheletti G, Vergnes M, Marescaux C, Reis J, Depaulis A, Rumbach L, Warter JM. 1985. Antiepileptic drug evaluation in a new animal model: spontaneous petit mal epilepsy in the rat. *Arzneimittelforschung.* 35:483–485.
- Micheva KD, Beaulieu C. 1996. Quantitative aspects of synaptogenesis in the rat barrel field cortex with special reference to GABA circuitry. *J Comp Neurol.* 373:340–354.

- Minlebaev M, Colonnese M, Tsintsadze T, Sirota A, Khazipov R. 2011. Early γ oscillations synchronize developing thalamus and cortex. *Science*. 334:226–229.
- Mitrukhina O, Suchkov D, Khazipov R, Minlebaev M. 2015. Imprecise whisker map in the neonatal rat barrel cortex. *Cereb Cortex*. 25:3458–3467.
- Ngomba RT, Biagioni F, Casciato S, Willems-van Bree E, Battaglia G, Bruno V, Nicoletti F, van Luijtelaar EL. 2005. The preferential mGlu2/3 receptor antagonist, LY341495, reduces the frequency of spike-wave discharges in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology*. 49(Suppl. 1):89–103.
- Panayiotopoulos CP. 2005. Idiopathic generalized epilepsies: a review and modern approach. *Epilepsia*. 46:1–6.
- Paxinos G, Watson C. 1986. *The brain in stereotaxic coordinates*. Sydney: Academic Press.
- Paz JT, Chavez M, Sallet S, Deniau JM, Charpier S. 2007. Activity of ventral medial thalamic neurons during absence seizures and modulation of cortical paroxysms by the nigrothalamic pathway. *J Neurosci*. 27:929–941.
- Percival D.B., Walden A.T. 1993. *Spectral analysis for physical applications: multitaper and conventional univariate techniques*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Pinault D, Vergnes M, Marescaux C. 2001. Medium-voltage 5–9-Hz oscillations give rise to spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy: in vivo dual extracellular recording of thalamic relay and reticular neurons. *Neuroscience*. 105(1):181–201.
- Pinault D, Slézia A, Acsády L. 2006. Corticothalamic 5–9 Hz oscillations are more pro-epileptogenic than sleep spindles in rats. *J Physiol*. 574:209–227.
- Pitkänen A, Engel J. 2014. Past and present definitions of epileptogenesis and its biomarkers. *Neurotherapeutics*. 11:231–241.
- Polack P-O, Charpier S. 2009. Ethosuximide converts ictogenic neurons initiating absence seizures into normal neurons in a genetic model. *Epilepsia*. 50:1816–1820.
- Polack P-O, Guillemain I, Hu E, Deransart C, Depaulis A, Charpier S. 2007. Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *J Neurosci*. 27:6590–6599.
- Polack P-O, Mahon S, Chavez M, Charpier S. 2009. Inactivation of the somatosensory cortex prevents paroxysmal oscillations in cortical and related thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy. *Cereb Cortex*. 19:2078–2091.
- Pouyatos B, Serduc R, Chipaux M, Chabrol T, Bräuer-Krisch E, Nemoz C, Mathieu H, David O, Renaud L, Prezado Y, et al. 2013. Synchrotron X-ray interlaced microbeams suppress paroxysmal oscillations in neuronal networks initiating generalized epilepsy. *Neurobiol Dis*. 51:152–160.
- Rochefort NL, Garaschuk O, Milos RI, Narushima M, Marandi N, Pichler B, Kovalchuk Y, Konnerth A. 2009. Sparsification of neuronal activity in the visual cortex at eye-opening. *Proc Natl Acad Sci*. 106(35):15049–15054.
- Russo E, Citraro R, Scicchitano F, De Fazio S, Di Paola ED, Constanti A, De Sarro G. 2010. Comparison of the antiepileptogenic effects of an early long-term treatment with ethosuximide or levetiracetam in a genetic animal model of absence epilepsy. *Epilepsia*. 51:1560–1569.
- Russo E, Citraro R, Scicchitano F, De Fazio S, Perrota I, Di Paola ED, Constanti A, De Sarro G. 2011. Effects of early long-term treatment with antiepileptic drugs on development of seizures and depressive-like behavior in a rat genetic absence epilepsy model. *Epilepsia*. 52(7):1341–1350.
- Russo E, Citraro R, Constanti A, Leo A, Lüttjohann A, Van Luijtelaar G, de Sarro G. 2016. Upholding WAG/Rij rats as a model of absence epileptogenesis: Hidden mechanisms and a new theory on seizure development. *Neurosci Biobehav Rev*. 71:388–408.
- Sadleir LG, Farrell K, Smith S, Connolly MB, Scheffer IE. 2006. Electroclinical features of absence seizures in childhood absence epilepsy. *Neurology*. 67:413–418.
- Sanchez RM, Jensen FE. 2001. Maturation aspects of epilepsy mechanisms and consequences for the immature brain. *Epilepsia*. 42:577–585.
- Sarkisova KY, Kuznetsova GD, Kulikov MA, van Luijtelaar G. 2010. spike and wave discharges are necessary for the expression of behavioral depression-like symptoms. *Epilepsia*. 51:146–160.
- Schmidt D, Sillanpää M. 2016. Prevention of epilepsy: issues and innovations. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 16:95.
- Shorvon SD. 2011. The etiologic classification of epilepsy. *Epilepsia*. 52:1052–1057.
- Silver RA. 2010. Neuronal arithmetic. *Nat Rev Neurosci*. 11:474–489.
- Sitnikova E, van Luijtelaar G. 2007. Electroencephalographic characterization of spike-wave discharges in cortex and thalamus in WAG/Rij rats. *Epilepsia*. 48(12):2296–2311.
- Stern EA, Maravall M, Svoboda K. 2001. Rapid development and plasticity of layer 2/3 maps in rat barrel cortex in vivo. *Neuron*. 31:305–315.
- Strauss U, Kole MHP, Bräuer AU, Pahnke J, Bajorat R, Rolfs A, Nitsch R, Deisz RA. 2004. An impaired neocortical Ih is associated with enhanced excitability and absence epilepsy. *Eur J Neurosci*. 19:3048–3058.
- Tan HO, Reid CA, Single FN, Davies PJ, Chiu C, Murphy S, Clarke AL, Dibbens L, Krestel H, Mulley JC, et al. 2007. Reduced cortical inhibition in a mouse model of familial childhood absence epilepsy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 104:17536–17541.
- Tóth TI, Bessañh T, Leresche N, Crunelli V. 2007. The properties of reticular thalamic neuron GABAA IPSCs of absence epilepsy rats lead to enhanced network excitability. *Eur J Neurosci*. 26:1832–1844.
- van de Bovenkamp-Janssen MC, van der Kloet JC, van Luijtelaar G, Roubos EW. 2006. NMDA-NR1 and AMPA-GluR4 receptor subunit immunoreactivities in the absence epileptic WAG/Rij rat. *Epilepsy Res*. 69(2):119–128.
- Van Luijtelaar G, Mishra AM, Edelbroek P, Coman D, Frankenmolen N, Schaapsmeeders P, Covolato G, Danielson N, Niermann H, Janeczko K, et al. 2013. Anti-epileptogenesis: electrophysiology, diffusion tensor imaging and behavior in a genetic absence model. *Neurobiol Dis*. 60:126–138.
- Vergnes M, Marescaux C, Depaulis A, Micheletti G, Warter JM. 1986. Ontogeny of spontaneous petit mal-like seizures in Wistar rats. *Brain Res*. 395:85–87.
- Williams MS, Altwegg-Boussac T, Chavez M, Lecas S, Mahon S, Charpier S. 2016. Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absence seizures in a rat genetic model. *J Physiol*. 594(22):6733–6751.
- Yang JW, Hanganu-Opatz IL, Sun JJ, Luhmann HJ. 2009. Three patterns of oscillatory activity differentially synchronize developing neocortical networks in vivo. *J Neurosci*. 29:9011–9025.
- Zhu JJ. 2000. Maturation of layer 5 neocortical pyramidal neurons: amplifying salient layer 1 and layer 4 inputs by Ca2+ action potentials in adult rat tuft dendrites. *J Physiol (Lond)*. 526(Pt 3):571–587.

H. Références

- Abbott, N.J. (2013). Blood-brain barrier structure and function and the challenges for CNS drug delivery. *J. Inherit. Metab. Dis.* 36, 437–449.
- Aldenkamp, A.P., Overweg-Plandsoen, W.C.G., and Arends, J. (1999). An open, nonrandomized clinical comparative study evaluating the effect of epilepsy on learning. *J. Child Neurol.* 14, 795–800.
- Alitto, H.J., and Usrey, W.M. (2005). Dynamic properties of thalamic neurons for vision. *Prog. Brain Res.* 149, 83–90.
- Altwegg-Boussac, T., Schramm, A.E., Ballesterio, J., Grosselin, F., Chavez, M., Lecas, S., Baulac, M., Naccache, L., Demeret, S., Navarro, V., et al. (2017). Cortical neurons and networks are dormant but fully responsive during isoelectric brain state. *Brain* 140, 2381–2398.
- Alvarado-Rojas, C., Lehongre, K., Bagdasaryan, J., Bragin, A., Staba, R., Engel, J., Navarro, V., and Le Van Quyen, M. (2013). Single-unit activities during epileptic discharges in the human hippocampal formation. *Front. Comput. Neurosci.* 7, 1–7.
- Andersen, B.Y.P., Eccles, J.C., and Searst, T. a (1964). The ventro-basal complex of the thalamus: types of cells, their responses and their functional organization by. *Organization* 370–399.
- Arsov, T., Mullen, S.A., Damiano, J.A., Lawrence, K.M., Huh, L.L., Nolan, M., Young, H., Thouin, A., Dahl, H.H.M., Berkovic, S.F., et al. (2012). Early onset absence epilepsy: 1 in 10 cases is caused by GLUT1 deficiency. *Epilepsia* 53, 204–207.
- Arthuis, M., Valton, L., Rgis, J., Chauvel, P., Wendling, F., Naccache, L., Bernard, C., and Bartolomei, F. (2009). Impaired consciousness during temporal lobe seizures is related to increased long-distance corticocortical synchronization. *Brain* 132, 2091–2101.
- Åsheim Hansen, B., and Brodtkorb, E. (2003). Partial epilepsy with “ecstatic” seizures. *Epilepsy Behav.* 4, 667–673.
- Ashura W. Buckley, and Holmes, G.L. (2012). Epilepsy and Autism. 1–18.
- Audic-Gerard, F., Szepetowski, P., and Genton, P. (2003). GEFS + syndrome: phenotypic variations from the newborn to the adult in a large French pedigree. *Rev. Neurol.* 159, 189–195.
- Auvin, S. (2015). Objectifs et aspects pratiques des médicaments antiépileptiques. *Soins Pédiatr.* 36, 19–21.
- Auvin, S. (2016). Non-pharmacological medical treatment in pediatric epilepsies. *Rev. Neurol. (Paris).* 172, 182–185.
- Auvin, S., Chhun, S., Berquin, P., Ponchel, E., Delanoë, C., and Chiron, C. (2011). Aggravation of absence seizure related to levetiracetam. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 15, 508–511.
- Avanzini, G., de Curtis, M., Marescaux, C., Panzica, F., Spreafico, R., and Vergnes, M. (1992). Role of the thalamic reticular nucleus in the generation of rhythmic

thalamo-cortical activities subserving spike and waves. *J. Neural Transm. Suppl.* 35, 85–95.

Avanzini, G., Vergnes, M., Spreafico, R., and Marescaux, C. (1993). Calcium-Dependent Regulation of Genetically Determined Spike and Waves by the Reticular Thalamic Nucleus of Rats. *Epilepsia* 34, 1–7.

Avanzini, G., Franceschetti, S., and Mantegazza, M. (2007). Epileptogenic channelopathies: Experimental models of human pathologies. *Epilepsia* 48, 51–64.

Avoli, M. (1995). Feline generalized penicillin epilepsy. *Ital. J. Neurol. Sci.* 16, 79–82.

Avoli, M. (2012). A brief history on the oscillating roles of thalamus and cortex in absence seizures. *Epilepsia* 53, 779–789.

Avoli, M., and Gloor, P. (1982). Interaction of cortex and thalamus in spike and wave discharges of feline generalized penicillin epilepsy. *Exp. Neurol.* 76, 196–217.

Avoli, M., and Gloor, P. (1994). Physiopathogenesis of feline generalized penicillin epilepsy: the role of thalamocortical mechanisms. In *Idiopathic Generalized Epilepsies: Clinical, Experimental and Genetic Aspects*, Malafosse, Genton, Hirsch, Marescaux, Broglin, and Bernasconi, eds. (London), p.

Bai, X., Vestal, M., Berman, R., Negishi, M., Spann, M., Vega, C., Desalvo, M.N., Novotny, E.J., Constable, R.T., and Blumenfeld, H. (2010). Dynamic time course of typical childhood absence seizures: EEG, behavior, and functional magnetic resonance imaging. *J. Neurosci.* 30, 5884–5893.

Baillet, L.L., and Turk, W.R. (2000). The impact of childhood epilepsy on neurocognitive and behavioral performance: a prospective longitudinal study. *Epilepsia* 41, 426–431.

Baker, D., Eccles, F.J.R., and Caswell, H.L. (2018). Correlates of stigma in adults with epilepsy: A systematic review of quantitative studies. *Epilepsy Behav.* 83, 67–80.

Bancaud, J., Talairach, A., Bonis, J., Schaub, C., and Szikla, G. (1965). *La stereo-électroencéphalographie dans l'épilepsie* (Paris).

Barclay, J., Balaguero, N., Mione, M., Ackerman, S.L., Letts, V.A., Brodbeck, J., Canti, C., Meir, A., Page, K.M., Kusumi, K., et al. (2001). Ducky mouse phenotype of epilepsy and ataxia is associated with mutations in the *Cacna2d2* gene and decreased calcium channel current in cerebellar Purkinje cells. *J Neurosci* 21, 6095–6104.

Bartolomei, F., and Naccache, L. (2011). The global workspace (GW) theory of consciousness and epilepsy. *Behav. Neurol.* 24, 67–74.

Bartolomei, F., Guye, M., Wendling, F., Gavaret, M., Régis, J., and Chauvel, P. (2002). Fear, anger and compulsive behavior during seizure: involvement of large scale fronto-temporal neural networks. *Epileptic Disord.* 235–241.

Bartolomei, F., McGonigal, A., and Naccache, L. (2014). Alteration of consciousness in focal epilepsy: the global workspace alteration theory. *Epilepsy Behav.* 30, 17–23.

Baum, S.H., Stevenson, R.A., and Wallace, M.T. (2015). Behavioral, perceptual, and neural alterations in sensory and multisensory function in autism spectrum disorder. *Prog. Neurobiol.* 134, 140–160.

- Bayne, T., Hohwy, J., and Owen, A.M. (2016). Are There Levels of Consciousness? *Trends Cogn. Sci.* 20, 405–413.
- Behr, C., Goltzene, M.A., B, K., Hirsch, E., and C, P.R. (2016). Epidemiology of epilepsy. *Handb. Clin. Neurol.* 138, 159–171.
- Benarroch, E.E. (2013). HCN channels: Function and clinical implications. *Neurology* 80, 304–310.
- Benison, A.M., Rector, D.M., and Barth, D.S. (2007). Hemispheric Mapping of Secondary Somatosensory Cortex in the Rat. *J. Neurophysiol.* 200–207.
- Berg, A.T., Shinnar, S., Levy, S.R., Testa, F.M., Smith-Rapaport, S., and Beckerman, B. (2000). How well can epilepsy syndromes be identified at diagnosis? A reassessment 2 years after initial diagnosis. *Epilepsia* 41, 1269–1275.
- Berg, A.T., Berkovic, S.F., Brodie, M.J., Buchhalter, J., Cross, J.H., Van Emde Boas, W., Engel, J., French, J., Glauser, T.A., Mathern, G.W., et al. (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 51, 676–685.
- Berlucchi, G. (2012). Frontal callosal disconnection syndromes. *Cortex* 48, 36–45.
- Berman, R., Negishi, M., Vestal, M., Spann, M., Chung, M.H., Bai, X., Purcaro, M., Motelow, J.E., Danielson, N., Dix-Cooper, L., et al. (2010). Simultaneous EEG, fMRI, and behavior in typical childhood absence seizures. *Epilepsia* 51, 2011–2022.
- Betting, L.E., Mory, S.B., Lopes-Cendes, Í., Li, L.M., Guerreiro, M.M., Guerreiro, C.A.M., and Cendes, F. (2006a). MRI volumetry shows increased anterior thalamic volumes in patients with absence seizures. *Epilepsy Behav.* 8, 575–580.
- Betting, L.E., Mory, S.B., Lopes-Cendes, I., Li, L.M., Guerreiro, M.M., Guerreiro, C.A.M., and Cendes, F. (2006b). MRI reveals structural abnormalities in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Neurology* 67, 848–852.
- Beydoun, A., and D’Souza, J. (2012). Treatment of idiopathic generalized epilepsy – a review of the evidence. *Expert Opin. Pharmacother.* 13, 1283–1298.
- Bialer, M., Johannessen, S.I., Levy, R.H., Perucca, E., Tomson, T., and White, H.S. (2017). Progress report on new antiepileptic drugs: A summary of the Thirteenth Eilat Conference on New Antiepileptic Drugs and Devices (EILAT XIII). *Epilepsia* 58, 181–221.
- Biel, M., Wahl-Schott, C., Michalakis, S., and Zong, X. (2009). Hyperpolarization-Activated Cation Channels: From Genes to Function. *Physiol. Rev.* 89, 847–885.
- Bilgiç, A., Işık, Ü., Sivri Çolak, R., Derin, H., and Çaksen, H. (2018). Psychiatric symptoms and health-related quality of life in children with epilepsy and their mothers. *Epilepsy Behav.* 80, 114–121.
- Blumenfeld, H. (2003). Why Do Seizures Cause Loss of Consciousness ? 9, 301–310.
- Blumenfeld, H. (2005). Consciousness and epilepsy: why are patients with absence seizures absent? *Prog. Brain Res.* 150, 271–286.

- Blumenfeld, H. (2009). *The Neurology of Consciousness*.
- Blumenfeld, H. (2012). Impaired consciousness in epilepsy. *Lancet Neurol.* 11, 814–826.
- Blumenfeld, H., and McCormick, D. a (2000). Corticothalamic inputs control the pattern of activity generated in thalamocortical networks. *J. Neurosci.* 20, 5153–5162.
- Blumenfeld, H., and Meador, K.J. (2014). Consciousness as a useful concept in epilepsy classification. *Epilepsia* 55, 1145–1150.
- de Boer, H.M., Mula, M., and Sander, J.W. (2008). The global burden and stigma of epilepsy. *Epilepsy Behav.* 12, 540–546.
- Bonini, F., Lambert, I., Wendling, F., McGonigal, A., and Bartolomei, F. (2016). Altered synchrony and loss of consciousness during frontal lobe seizures. *Clin. Neurophysiol.* 127, 1170–1175.
- Bosman, L.W.J., Houweling, A.R., Owens, C.B., Tanke, N., Shevchouk, O.T., Rahmati, N., Teunissen, W.H.T., Ju, C., Gong, W., Koekkoek, S.K.E., et al. (2011). Anatomical pathways involved in generating and sensing rhythmic whisker movements. *Front. Integr. Neurosci.* 5, 53.
- Bourassa, J., and Deschenes, M. (1995). Corticothalamic projections from the primary visual cortex in rats: a single-fiber study using biocytin as an anterograde tracer. *Eur. J. Neurosci.* 7, 19–30.
- ter Braack, E.M., Koopman MSc, A.-W.E., and van Putten, M.J.A.M. (2016). Early TMS evoked potentials in epilepsy: a pilot study. *Clin. Neurophysiol.* 127, 3025–3032.
- Brecht, M., and Sakmann, B. (2002). Whisker maps of neuronal subclasses of the rat ventral posterior medial thalamus, identified by whole-cell voltage recording and morphological reconstruction. *J. Physiol.* 538, 495–515.
- Brigo, F., Trinka, E., Lattanzi, S., Bragazzi, N.L., Nardone, R., and Martini, M. (2018). A brief history of typical absence seizures - Petit mal revisited. *Epilepsy Behav.* 80, 346–353.
- Brodbeck, J., Davies, A., Courtney, J.M., Meir, A., Balaguero, N., Canti, C., Moss, F.J., Page, K.M., Pratt, W.S., Hunt, S.P., et al. (2002). The ducky mutation in *Cacna2d2* results in altered Purkinje cell morphology and is associated with the expression of a truncated $\alpha 2\delta$ -2 protein with abnormal function. *J. Biol. Chem.* 277, 7684–7693.
- Brooks-Kayal, A.R., Bath, K.G., Berg, A.T., Galanopoulou, A.S., Holmes, G.L., Jensen, F.E., Kanner, A.M., O'Brien, T.J., Whittemore, V.H., Winawer, M.R., et al. (2013). Issues related to symptomatic and disease-modifying treatments affecting cognitive and neuropsychiatric comorbidities of epilepsy. *Epilepsia* 54, 44–60.
- Bureau, I., Von Paul, F. Saint, and Svoboda, K. (2006). Interdigitated paralemniscal and lemniscal pathways in the mouse barrel cortex. *PLoS Biol.* 4, 2361–2371.
- Burgess, D.L., and Noebels, J.L. (1999). Single gene defects in mice: the role of voltage-dependent calcium channels in absence models. *Epilepsy Res.* 36, 111–122.

- Burr, W., Korner, E., and Stefan, H. (1991). Circadian distribution of generalized spike-wave activity in relation to sleep. *Epilepsy Res.* 121–135.
- Buzsáki, G., Draguhn, A., and Buzsáki, G. (2004). Neuronal oscillations in cortical networks. *Science* (80-). 304, 1926–1929.
- Callenbach, P.M., Geerts, a T., Arts, W.F.M., van Donselaar, C. a, Peters, a C., Stroink, H., and Brouwer, O.F. (1998). Familial occurrence of epilepsy in children with newly diagnosed multiple seizures: Dutch Study of Epilepsy in Childhood. *Epilepsia* 39, 331–336.
- Caplan, R., Siddarth, P., Gurbani, S., Hanson, R., Sankar, R., and Shields, W.D. (2005). Depression and anxiety disorders in pediatric epilepsy. *Epilepsia* 46, 720–730.
- Caplan, R., Siddarth, P., Stahl, L., Lanphier, E., Vona, P., Gurbani, S., Koh, S., Sankar, R., and Shields, W.D. (2008). Childhood absence epilepsy: Behavioral, cognitive, and linguistic comorbidities. *Epilepsia* 49, 1838–1846.
- Casillas-Espinosa, P.M., Powell, K.L., Zhu, M., Campbell, C.R., Maia, J.M., Ren, Z., Jones, N.C., O'Brien, T.J., and Petrovski, S. (2017). Evaluating whole genome sequence data from the genetic absence epilepsy rat from strasbourg and its related non-epileptic strain. *PLoS One* 12, 1–14.
- Cavanna, A.E., and Ali, F. (2011). Epilepsy: The quintessential pathology of consciousness. *Behav. Neurol.* 24, 3–10.
- Cavanna, A.E., and Monaco, F. (2009). Brain mechanisms of altered conscious states during epileptic seizures. *Nat. Rev. Neurol.* 5, 267–276.
- Cavanna, A.E., James W. Mitchell, and Stefano Seri (2012). Pharmacotherapeutic and Non-Pharmacological Options for Refractory and Difficult-to-Treat Seizures. *J. Cent. Nerv. Syst. Dis.* 105.
- Celikel, T., and Sakmann, B. (2007). Sensory integration across space and in time for decision making in the somatosensory system of rodents. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 1395–1400.
- Cembrowski, M.S., and Menon, V. (2018). Continuous Variation within Cell Types of the Nervous System. *Trends Neurosci.* 41, 337–348.
- Chan, C.H., Briellmann, R.S., Pell, G.S., Scheffer, I.E., Abbott, D.F., and Jackson, G.D. (2006). Thalamic atrophy in childhood absence epilepsy. *Epilepsia* 47, 399–405.
- Chance, F.S., Abbott, L.F., and Reyes, A.D. (2002). Gain modulation from background synaptic input. *Neuron* 35, 773–782.
- Charpier, S., Leresche, N., Deniau, J.-M., Mahon, S., Hughes, S.W., and Crunelli, V. (1999). On the putative contribution of GABA(B) receptors to the electrical events occurring during spontaneous spike and wave discharges. *Neuropharmacology* 38, 1699–1706.
- Chaudhary, U.J., Duncan, J.S., and Lemieux, L. (2011). A dialogue with historical concepts of epilepsy from the Babylonians to Hughlings Jackson: Persistent beliefs. *Epilepsy Behav.* 21, 109–114.

- Chauvel, P., and McGonigal, A. (2014). Emergence of semiology in epileptic seizures. *Epilepsy Behav.* 38, 94–103.
- Chen, Y., Lu, J., Pan, H., Zhang, Y., Wu, H., Xu, K., Liu, X., Jiang, Y., Bao, X., Yao, Z., et al. (2003). Association between genetic variation of CACNA1H and childhood absence epilepsy. *Ann. Neurol.* 54, 239–243.
- Child, N.D., and Benarroch, E.E. (2014). Differential distribution of voltage-gated ion channels in cortical neurons: Implications for epilepsy. *Neurology* 82, 989–999.
- Chipaux, M., Charpier, S., and Polack, P.-O. (2011). Chloride-mediated inhibition of the ictogenic neurones initiating genetically-determined absence seizures. *Neuroscience* 192, 642–651.
- Chipaux, M., Vercueil, L., Kaminska, A., Mahon, S., and Charpier, S. (2013). Persistence of cortical sensory processing during absence seizures in human and an animal model: evidence from EEG and intracellular recordings. *PLoS One* 8, e58180.
- Cissé, Y., Crochet, S., Timofeev, I., and Steriade, M. (2004). Synaptic responsiveness of neocortical neurons to callosal volleys during paroxysmal depolarizing shifts. *Neuroscience* 124, 231–239.
- Coenen, A.M.L., and van Luijtelaar, G. (2003). Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behav. Genet.* 33, 635–655.
- Coenen, A.M., Blezer, E.H., and van Luijtelaar, E.L. (1995). Effects of the GABA-uptake inhibitor tiagabine on electroencephalogram, spike-wave discharges and behaviour of rats. *Epilepsy Res.* 21, 89–94.
- Connors, B.W., and Gutnick, M.J. (1990). Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends Neurosci.* 13, 99–104.
- Constantinople, C.M., and Bruno, R.M. (2013). Deep Cortical Layers are activated directly by Thalamus. *Science* (80-.). 1591.
- Contreras, D. (2004). Electrophysiological classes of neocortical neurons. *Neural Networks* 17, 633–646.
- Coppola, G., Auricchio, G., Federico, R., Carotenuto, M., and Pascotto, A. (2004). Lamotrigine versus valproic acid as first-line monotherapy in newly diagnosed typical absence seizures: An open-label, randomized, parallel-group study. *Epilepsia* 45, 1049–1053.
- Cox, G.A., Lutz, C.M., Yang, C.L., Biemesderfer, D., Bronson, R.T., Fu, A., Aronson, P.S., Noebels, J.L., and Frankel, W.N. (1997). Sodium/hydrogen exchanger gene defect in slow-wave epilepsy mutant mice. *Cell* 91, 139–148.
- Crill, E.W. (1966). Horner's syndrome secondary to deep cerebral lesions. *Neurology* 16.
- Currier, R., Kooi, K., and Saidman (1963). Prognosis of "pure" petit mal: a follow-up study. *Neurology* 959–967.
- D'Antuono, M., Inaba, Y., Biagini, G., D'Arcangelo, G., Tancredi, V., and Avoli, M. (2006). Synaptic hyperexcitability of deep layer neocortical cells in a genetic model of absence seizures. *Genes. Brain. Behav.* 5, 73–84.

Danober, L., Depaulis, A., Marescaux, C., and Vergnes, M. (1993). Effects of cholinergic drugs on genetic absence seizures in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 234, 263–268.

Danober, L., Vergnes, M., Depaulis, A., and Marescaux, C. (1994). Nucleus basalis lesions suppress spike and wave discharges in rats with spontaneous absence-epilepsy. *Neuroscience* 59, 531–539.

Danober, L., Depaulis, A., Vergnes, M., and Marescaux, C. (1995). Mesopontine cholinergic control over generalized non-convulsive seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience* 69, 1183–1193.

Danober, L., Deransart, C., Depaulis, A., Vergnes, M., and Marescaux, C. (1998). Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog. Neurobiol.* 55, 27–57.

Defelipe, J. (2011). The evolution of the brain , the human nature of cortical circuits , and intellectual creativity. *5*, 1–17.

DeFelipe, J., López-Cruz, P.L., Benavides-Piccione, R., Bielza, C., Larrañaga, P., Anderson, S., Burkhalter, A., Cauli, B., Fairén, A., Feldmeyer, D., et al. (2013). New insights into the classification and nomenclature of cortical GABAergic interneurons. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 202–216.

Dehaene, S., and Adam, C. (2009). Converging Intracranial Markers of Conscious Access. *7*.

DeLorey, T. M., Handforth, A., Anagnostaras, S. G., Homanics, G. E., Minassian, B. A., Asatourian, A., Fanselow, M. S., Delgado-Escueta, A., Ellison, G. D. et Olsen, R.W. (1998). Mice lacking the beta3 subunit of the GABAA receptor have the epilepsy phenotype and many of the behavioral characteristics of Angelman syndrome. *J. Neurosci.* 18, 8505–8514.

Depaulis, A., and Charpier, S. (2017). Pathophysiology of absence epilepsy: Insights from genetic models. *Neurosci. Lett.*

Depaulis, A., and Charpier, S. (2018). Pathophysiology of absence epilepsy: Insights from genetic models. *Neurosci. Lett.* 667, 53–65.

Depaulis, A., David, O., and Charpier, S. (2015). The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg as a model to decipher the neuronal and network mechanisms of generalized idiopathic epilepsies. *J. Neurosci. Methods* 1–16.

Deschênes, M., Timofeeva, E., Lavallée, P., and Dufresne, C. (2005). The vibrissal system as a model of thalamic operations. *Prog. Brain Res.* 149, 31–40.

Destexhe, A. (2011). Intracellular and computational evidence for a dominant role of internal network activity in cortical computations. *Curr. Opin. Neurobiol.* 21, 717–725.

Destexhe, A., and Sejnowski, T.J. (2003). Interactions between membrane conductances underlying thalamocortical slow-wave oscillations. *Physiol. Rev.* 83, 1401–1453.

Devinsky, O., Vezzani, A., O'Brien, T.J., Jette, N., Scheffer, I.E., De Curtis, M., and Perucca, P. (2018). Epilepsy. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 4.

- Diamond, M.E., and Arabzadeh, E. (2013). Whisker sensory system - From receptor to decision. *Prog. Neurobiol.* 103, 28–40.
- Diamond, M.E., Von Heimendahl, M., Knutsen, P.M., Kleinfeld, D., and Ahissar, E. (2008). “Where” and “what” in the whisker sensorimotor system. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 601–612.
- Dimitrov, A.G., Lazar, A.A., and Victor, J.D. (2011). Information theory in neuroscience. *J. Comput. Neurosci.* 30, 1–5.
- Drinkenburg, W.H., Coenen, A.M., Vossen, J.M., and van Luijtelaar, E.L. (1991). Spike-wave discharges and sleep-wake states in rats with absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 9, 218–224.
- Drinkenburg, W.H.I.M., Schuurmans, M.L.E.J., Coenen, A.M.L., Vossen, J.M.H., and Van Luijtelaar, E.L.J.M. (2003). Ictal stimulus processing during spike-wave discharges in genetic epileptic rats. *Behav. Brain Res.* 143, 141–146.
- Duncan, C.C., Mirsky, A.F., Lovelace, C.T., and Theodore, W.H. (2009). Assessment of the attention impairment in absence epilepsy: Comparison of visual and auditory P300. *Int. J. Psychophysiol.* 73, 118–122.
- Dupont, E. (2004). Caractérisation de la plasticité corticale induite par une privation sensorielle chez le rat et étude des mécanismes par des approches électrophysiologique et moléculaire.
- Dura-Trave, T., and Yoldi -Petri, M. (2006). Typical absence seizure: epidemiological and clinical characteristics and outcome. *An Pediatr* 28–33.
- Eadie, M.J. (2009). The Role of Focal Epilepsy in the Development of Jacksonian Localization. *J. Hist. Neurosci.* 18, 262–282.
- Eddy, C.M., Rickards, H.E., and Cavanna, A.E. (2011). The cognitive impact of antiepileptic drugs. *Ther. Adv. Neurol. Disord.* 4, 385–407.
- Eldawlatly, S., and Oweiss, K.G. (2011). Millisecond-timescale local network coding in the rat primary somatosensory cortex. *PLoS One* 6.
- Elger, C.E., and Schmidt, D. (2008). Modern management of epilepsy: a practical approach. *Epilepsy Behav.* 12, 501–539.
- Enyi, D.T., Gyimesi, C., Eter Kup, P., Eka, R., Ath, H., Ata, B., On, B., Eter Barsi, P., Kov, N., As Simor, T., et al. (2016). Ictal asystole: A systematic review. *Epilepsia* 6, 1–7.
- Estebanez, L., Férézou, I., Ego-Stengel, V., and Shulz, D.E. (2018). Representation of tactile scenes in the rodent barrel cortex. *Neuroscience* 368, 81–94.
- Faisal, a A., Selen, L.P.J., and Wolpert, D.M. (2008). Noise in the nervous system A. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 292–303.
- Falco-Walter, J.J., Scheffer, I.E., and Fisher, R.S. (2018). The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Res.* 139, 73–79.
- Feldmeyer, D., Egger, V., Lübke, J., and Sakmann, B. (1999). Reliable synaptic connections between pairs of excitatory layer 4 neurones within a single “barrel” of developing rat somatosensory cortex. *J. Physiol.* 521, 169–190.

- Feldmeyer, D., Lübke, J., Silver, R.A., and Sakmann, B. (2002). Synaptic connections between layer 4 spiny neurone-layer 2/3 pyramidal cell pairs in juvenile rat barrel cortex: Physiology and anatomy of interlaminar signalling within a cortical column. *J. Physiol.* 538, 803–822.
- Feldmeyer, D., Lübke, J., and Sakmann, B. (2006). Efficacy and connectivity of intracolumnar pairs of layer 2/3 pyramidal cells in the barrel cortex of juvenile rats. *J. Physiol.* 575, 583–602.
- Ferezou, I., Haiss, F., Gentet, L.J., Aronoff, R., Weber, B., and Petersen, C.C. (2007). Spatiotemporal dynamics of cortical sensorimotor integration in behaving mice. *Neuron* 56, 907–923.
- Ferri, R., Iliceto, G., and Carlucci, V. (1995). Topographic EEG mapping of 3/s spike-and-wave complexes during absence seizures. *Ital. J. Neurol. Sci.* 541–547.
- Ficker, D.M., So, E.L., Shen, W.K., Annegers, J.F., O'Brien, P.C., Cascino, G.D., and Belau, P.G. (1998). Population-based study of the incidence of sudden unexplained death in epilepsy. *Neurology* 51, 1270–1274.
- Fisher, R.S. (1989). Animal models of the epilepsies. *Brain Res. Rev.* 3, 245–278.
- Fisher, R.S. (2014). Final Comments on the Process: ILAE Definition of Epilepsy. *Epilepsia* 55, 492–493.
- Fisher, R.S., and Leppik, I. (2008). Debate: When does a seizure imply epilepsy? *Epilepsia* 49, 7–12.
- Fisher, R.S., Cross, J.H., French, J.A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F.E., Lagae, L., Moshé, S.L., Peltola, J., Roulet Perez, E., et al. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 58, 522–530.
- Fogerson, P.M., and Huguenard, J.R. (2017). Tapping the brakes: cellular and synaptic mechanisms that regulate thalamic oscillations. *92*, 687–704.
- Fojtiková, D., Brázdil, M., Horký, J., Mikl, M., Kuba, R., Krupa, P., and Rektor, I. (2006). Magnetic resonance spectroscopy of the thalamus in patients with typical absence epilepsy. *Seizure* 15, 533–540.
- Foldvary-Schaefer, N., and Unnwongse, K. (2011). Localizing and lateralizing features of auras and seizures. *Epilepsy Behav.* 20, 160–166.
- Frankel, W.N. (1999). Detecting genes in new and old mouse models for epilepsy: a prospectus through the magnifying glass. *Epilepsy Res.* 36, 97–110.
- Fricke, D., Verheugen, J.A.H., Miles, R., Cellulaire, L.D.N., Inserm, U., and Pasteur, I. (1999). Cell-attached measurements of the firing threshold of rat hippocampal neurones. 791–804.
- Garzon, P., Lemelle, L., and Auvin, S. (2016). Épilepsie Absence De L'Enfant : Actualités Diagnostiques Et Thérapeutiques. *Arch. Pédiatrie* 23, 1176–1183.
- Gastaut, H. (1970). Clinical and Electroencephalographical Classification of Epileptic Seizures. *Epilepsia* 11, 102–112.

- Gastaut, H.J., Benoit, P.H., Vigouroux, M., and Roger, A. (1954). Potentiels évoqués par des stimuli auditifs sur la région temporale de certains épileptiques. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 6, 557–564.
- Gavaret, M., Re, J., Wendling, F., and Chauvel, P. (2005). Acute alteration of emotional behaviour in epileptic seizures is related to transient desynchrony in emotion-regulation networks. 116, 2473–2479.
- Gibbs, F.A. (1935). The EEG in epilepsy and in conditions of impaired consciousness. *Arch. Neurol.* 34, 1134–1148.
- Giussani, G., Bianchi, E., Canelli, V., Erba, G., Franchi, C., Nobili, A., Sander, J.W., and Beghi, E. (2017). Antiepileptic drug discontinuation by people with epilepsy in the general population. *Epilepsia* 1–9.
- Glauser, T., Ben-Menachem, E., Bourgeois, B., Cnaan, A., Chadwick, D., Guerreiro, C., Kalviainen, R., Mattson, R., Perucca, E., and Tomson, T. (2006). ILAE treatment guidelines: Evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia* 47, 1094–1120.
- Glauser, T.A., Cnaan, A., Shinnar, S., Hirtz, D.G., Dlugos, D., Masur, D., Clark, P.O., Capparelli, E. V., and Adamson, P.C. (2010). Ethosuximide, Valproic Acid, and Lamotrigine in Childhood Absence Epilepsy. *N. Engl. J. Med.* 362, 790–799.
- Gloor, P. (1979). Generalized epilepsy with spike-and-wave discharge: a reinterpretation of its electrographic and clinical manifestations. The 1977 William G. Lennox Lecture, American Epilepsy Society. *Epilepsia* 20, 571–588.
- Gloor, P. (1995). Feline generalized penicillin epilepsy: extrapolations to neurophysiological mechanisms in humans. *Typ. Absences Relat. Epileptic Syndr.* 42, 518–527.
- Gloor, P., Avoli, M., and Kostopoulos, G. (1990). Gloor, P. et Testa, G. In *Generalized Epilepsy: Neurobiological Approaches*, . Avoli, Gloor, Naquet, and Kostopoulos, eds. (Boston), p.
- de Goede, A.A., ter Braack, E.M., and van Putten, M.J.A.M. (2016). Single and paired pulse transcranial magnetic stimulation in drug naïve epilepsy. *Clin. Neurophysiol.* 127, 3140–3155.
- Grant, A.C., Chau, L., Arya, K., and Schneider, M. (2016). Prevalence of epileptiform discharges in healthy 11- and 12-year-old children. *Epilepsy Behav.* 62, 53–56.
- Grinenko, O., Li, J., Mosher, J.C., Wang, I.Z., Bulacio, J.C., Gonzalez-Martinez, J., Nair, D., Najm, I., Leahy, R.M., and Chauvel, P. (2018). A fingerprint of the epileptogenic zone in human epilepsies. *Brain* 141, 117–131.
- Guberman, A., Gloor, P. et, and Sherwin, A.L. (1975). Response of generalized penicillin epilepsy in the cat to ethosuximide and diphenylhydantoin. *Neurology* 25, 785–64.
- Guillery, R.W. (2005). Anatomical pathways that link perception and action. *Prog. Brain Res.* 149, 235–256.

- Guillery, R.W., Feig, S.L., Lozsádi, D. a., Lozsadi, D.A., and Lozsádi, D. a. (1998). Paying attention to the thalamic reticular nucleus. *Trends Neurosci.* 21, 28–32.
- Guo, J.N., Kim, R., Chen, Y., Negishi, M., Jhun, S., Weiss, S., Ryu, J.H., Bai, X., Xiao, W., Feeney, E., et al. (2016). Impaired consciousness in patients with absence seizures investigated by functional MRI, EEG, and behavioural measures: a cross-sectional study. *Lancet Neurol.* 15, 1336–1345.
- Guye, M., Bartolomei, F., Gastaut, J.L., Chauvel, P., and Dravet, C. (2001). Absence epilepsy with fast rhythmic discharges during sleep: An intermediary form of generalized epilepsy? *Epilepsia* 42, 351–356.
- Halassa, M.M., and Acsády, L. (2016). Thalamic Inhibition: Diverse Sources, Diverse Scales. *Trends Neurosci.* 39, 680–693.
- Hallanger, A.E., Levey, A.I., Lee, H.J., Rye, D.B., and Wainer, B.H. (1987). The origins of cholinergic and other subcortical afferents to the thalamus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 262, 105–124.
- Halliwel, J. V., and Adams, P.R. (1982). Voltage-clamp analysis of muscarinic excitation in hippocampal neurons. *Brain Res.* 250, 71–92.
- HANAYA, R., and ARITA, K. (2016). The New Antiepileptic Drugs: Their Neuropharmacology and Clinical Indications. *Neurol. Med. Chir. (Tokyo).* 56, 205–220.
- Hartmann, M.J.Z. (2011). A night in the life of a rat: Vibrissal mechanics and tactile exploration. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1225, 110–118.
- Heller, H.B. (2018). Feline Epilepsy. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 48, 31–43.
- Henkin, Y., and Shabtai, E. (2007). Cognitive function in idiopathic generalized epilepsy of childhood. *Dev. Med. Child Neurol.* 47, 126–132.
- Heo, K., Han, S.D., Lim, S.R., Kim, M.A., and Lee, B.I. (2006). Patient awareness of complex partial seizures. *Epilepsia* 47, 1931–1935.
- Herrero, M.T., Barcia, C., and Navarro, J.M. (2002). Functional anatomy of thalamus and basal ganglia. *Child's Nerv. Syst.* 18, 386–404.
- Hirfanoglu, T., Serdaroglu, A., Cansu, A., Bilir, E., and Gucuyener, K. (2007). Semiological Seizure Classification: Before and After Video-EEG Monitoring of Seizures. *Pediatr. Neurol.* 36, 231–235.
- Hirsch, E. (2005). Childhood epilepsy syndromes with both focal and generalized seizures. *Acta Neurol. Scand. Suppl.* 181, 52–56.
- Holmes, M.D., Brown, M., and Tucker, D.M. (2004). Are “generalized” seizures truly generalized? Evidence of localized mesial frontal and frontopolar discharges in absence. *Epilepsia* 45, 1568–1579.
- Holt, G.R., and Douglas, J. (1996). Comparison of Discharge Variability Visual Cortex Neurons In Vitro and In Vivo in Cat C y C 7. *75*, 1806–1814.
- Homanics, G.E., DeLorey, T.M., Firestone, L.L., Quinlan, J.J., Handforth, A., Harrison, N.L., Krasowski, M.D., Rick, C.E., Korpi, E.R., Makela, R., et al. (1997).

- Mice devoid of gamma-aminobutyrate type A receptor beta3 subunit have epilepsy, cleft palate, and hypersensitive behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94, 4143–4148.
- Huang, Z., Walker, M.C., and Shah, M.M. (2009). Loss of Dendritic HCN1 Subunits Enhances Cortical Excitability and Epileptogenesis. *J. Neurosci.* 29, 10979–10988.
- Hughes, S.W., and Crunelli, V. (2005). Thalamic mechanisms of EEG alpha rhythms and their pathological implications. *Neuroscientist* 11, 357–372.
- Hughes, J., Stone, J., Vern, B., Weiss, A., Fino, J., and Hart, L. (1985). The relationship between visual seizures and visual evoked potentials. *Int. J. Neurosci.* 297–305.
- Huntsman, M.M., Porcello, D.M., Homanics, G.E., and DeLorey, T. M. Huguenard, J.R. (1999). Reciprocal inhibitory connections and network synchrony in the mammalian thalamus. *Science* (80-). 283, 541–543.
- Hwang, H., Kim, H., Kim, S.H., Kim, S.H., Lim, B.C., Chae, J.H., Choi, J.E., Kim, K.J., and Hwang, Y.S. (2012). Long-term effectiveness of ethosuximide, valproic acid, and lamotrigine in childhood absence epilepsy. *Brain Dev.* 34, 344–348.
- Inaba, Y., D’Antuono, M., Bertazzoni, G., Biagini, G., and Avoli, M. (2009). Diminished presynaptic GABA(B) receptor function in the neocortex of a genetic model of absence epilepsy. *Neurosignals.* 17, 121–131.
- Inoue, M., Van Luijtelaar, E.L.J.M., Vossen, J.M.H., and Coenen, A.M.L. (1992). Visual evoked potentials during spontaneously occurring spike-wave discharges in rats. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. Evoked Potentials* 84, 172–179.
- Italiano, D., Ferlazzo, E., Gasparini, S., Spina, E., Mondello, S., Labate, A., Gambardella, A., and Aguglia, U. (2014). Generalized versus partial reflex seizures: A review. *Seizure* 23, 512–520.
- Jackson, J.H. (1931). *Selected writings of John Hughlings Jackson*. Staples Press.
- Jahnsen, H., and Llinás, R. (1984). Electrophysiological properties of guinea pig thalamic neurones: an in vitro study. *J. Physiol.* 349, 205–226.
- Jarre, G., Altwegg-Boussac, T., Williams, M.S., Studer, F., Chipaux, M., David, O., Charpier, S., Depaulis, A., Mahon, S., and Guillemain, I. (2017). Building up absence seizures in the somatosensory cortex: From network to cellular epileptogenic processes. *Cereb. Cortex* 27, 4607–4623.
- Jocić-Jakubi, B., Jovanović, M., Janković, D.S., and Lagae, L. (2009). Frontal-onset absences in children: Associated with worse outcome? A replication study. *Seizure* 18, 275–278.
- Jones, E.G. (1975). Varieties and distribution of non pyramidal cells in the somatic sensory cortex of the squirrel monkey. *J. Comp. Neurol.* 160, 205–267.
- Jones, N.C., Salzberg, M.R., Kumar, G., Couper, A., Morris, M.J., and O’Brien, T.J. (2008). Elevated anxiety and depressive-like behavior in a rat model of genetic generalized epilepsy suggesting common causation. *Exp. Neurol.* 209, 254–260.
- Jones, N.C., Martin, S., Megatia, I., Hakami, T., Salzberg, M.R., Pinault, D., Morris, M.J., O’Brien, T.J., and van den Buuse, M. (2010). A genetic epilepsy rat model displays endophenotypes of psychosis. *Neurobiol. Dis.* 39, 116–125.

Jourdain, A., Semba, K., and Fibiger, H.C. (1989). Basal forebrain and mesopontine tegmental projections to the reticular thalamic nucleus: an axonal collateralization and immunohistochemical study in the rat. *Brain Res.* 505, 55–65.

Jouveneau, A., Eunson, L.H., Spauschus, A., Ramesh, V., Zuberi, S.M., Kullmann, D.M., and Hanna, M.G. (2001). Early report Human epilepsy associated with dysfunction of the brain P / Q-type calcium channel. *Lancet* 358, 801–807.

Kanner, A.M., Scharfman, H., Jette, N., Anagnostou, E., Bernard, C., Camfield, C., Camfield, P., Legg, K., Dinstein, I., Giacobe, P., et al. (2017). Epilepsy as a Network Disorder (1): What can we learn from other network disorders such as autistic spectrum disorder and mood disorders? *Epilepsy Behav.* 77, 106–113.

Karpova, A. V., Bikbaev, A.F., Coenen, A.M.L., and Van Luijtelaaar, G. (2005). Morphometric Golgi study of cortical locations in WAG/Rij rats: The cortical focus theory. *Neurosci. Res.* 51, 119–128.

Kasteleijn-Nolst Trenité, D.G.A. (2012). Provoked and reflex seizures: Surprising or common? *Epilepsia* 53, 105–113.

Keller, A., and Carlson, G.C. (1999). Intracortical , But Not Thalamocortical Projections , in Rat Barrel Cortex. 94, 83–94.

Kennard, J.T.T., Barmanray, R., Sampurno, S., Ozturk, E., Reid, C.A., Paradiso, L., D'Abaco, G.M., Kaye, A.H., Foote, S.J., O'Brien, T.J., et al. (2011). Stargazin and AMPA receptor membrane expression is increased in the somatosensory cortex of Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg. *Neurobiol. Dis.* 42, 48–54.

Kennedy, J.E., Ter Haar, G.R., and Cranston, D. (2003). High intensity focused ultrasound: surgery of the future? *Br. J. Radiol.* 76, 590–599.

Ketz, N.A., Jensen, O., and O'Reilly, R.C. (2015). Thalamic pathways underlying prefrontal cortex-medial temporal lobe oscillatory interactions. *Trends Neurosci.* 38, 3–12.

Killory, B.D., Bai, X., Negishi, M., Vega, C., Spann, M.N., Vestal, M., Guo, J., Berman, R., Danielson, N., Trejo, J., et al. (2011). Impaired attention and network connectivity in childhood absence epilepsy. *Neuroimage* 56, 2209–2217.

Kim, D., Joo, E.Y., Seo, D.W., Kim, M.Y., Lee, Y.H., Kwon, H.C., Kim, J.M., and Hong, S.B. (2016). Accuracy of MEG in localizing irritative zone and seizure onset zone: Quantitative comparison between MEG and intracranial EEG. *Epilepsy Res.* 127, 291–301.

Klein, J.P., Khera, D.S., Nersesyan, H., Kimchi, E.Y., Waxman, S.G., and Blumenfeld, H. (2004). Dysregulation of sodium channel expression in cortical neurons in a rodent model of absence epilepsy. *Brain Res.* 1000, 102–109.

Klinger, N., and Mittal, S. (2018). Deep brain stimulation for seizure control in drug-resistant epilepsy. *Neurosurg. Focus* 45, 1–8.

de Kock, C.P.J., and Sakmann, B. (2009). Spiking in primary somatosensory cortex during natural whisking in awake head-restrained rats is cell-type specific. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 16446–16450.

- Kole, M.H.P., Hallermann, S., and Stuart, G.J. (2006). Single Ih Channels in Pyramidal Neuron Dendrites: Properties, Distribution, and Impact on Action Potential Output. *J. Neurosci.* 26, 1677–1687.
- Kole, M.H.P., Bräuer, A.U., and Stuart, G.J. (2007). Inherited cortical HCN1 channel loss amplifies dendritic calcium electrogenesis and burst firing in a rat absence epilepsy model. *J. Physiol.* 578, 507–525.
- Kossoff, E., and Wang, H.-S. (2013). Dietary Therapies for Epilepsy. *Biomed. J.* 36, 2.
- Kossoff, E.H., and Hartman, A.L. (2012). Ketogenic diets: New advances for metabolism-based therapies. *Curr. Opin. Neurol.* 25, 173–178.
- Kostopoulos, G.K. (2000). Spike-and-wave discharges of absence seizures as a transformation of sleep spindles: the continuing development of a hypothesis. *Clin. Neurophysiol.* 111 Suppl, S27-38.
- Kostopoulos, G.K. (2001). Involvement of thalamocortical system in epileptic loss of consciousness. *Epilepsia* 42, 13–19.
- Kostopoulos, G.K., and Gloor, P. (1982). A possible neurophysiological mechanism for generation of spike and wave discharges in feline generalized penicillin epilepsy and its relationship to spindle generation. In *Sleep and Epilepsy.*, P. MB, and MN, eds. (New York, NY: Academic Press), p.
- Kostopoulos, G., Gloor, P., Pellegrini, A., and Gotman, J. (1981). A study of the transition from spindles to spike and wave discharge in feline generalized penicillin epilepsy: microphysiological features. *Exp. Neurol.* 73, 55–77.
- Krauzlis, R.J., Bogadhi, A.R., Herman, J.P., and Bollimunta, A. (2018). Selective attention without a neocortex. *Cortex* 102, 161–175.
- Labudda, K., Illies, D., Herzig, C., Schröder, K., Bien, C.G., and Neuner, F. (2017). Current psychiatric disorders in patients with epilepsy are predicted by maltreatment experiences during childhood. *Epilepsy Res.* 135, 43–49.
- Lagae, L., Pauwels, J., Monf, C., Verhelle, B., and Vervisch, J. (2001). Frontal absences in children. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 5, 243–251.
- Lang, J.D., Taylor, D.C., and Kasper, B.S. (2018). Stress, seizures, and epilepsy: Patient narratives. *Epilepsy Behav.* 80, 163–172.
- Latchoumane, C.F. V., Ngo, H.V. V., Born, J., and Shin, H.S. (2017). Thalamic Spindles Promote Memory Formation during Sleep through Triple Phase-Locking of Cortical, Thalamic, and Hippocampal Rhythms. *Neuron* 95, 424–435.e6.
- Leach, J.P., Mohanraj, R., and Borland, W. (2012). Alcohol and drugs in epilepsy: Pathophysiology, presentation, possibilities, and prevention. *Epilepsia* 53, 48–57.
- Lee, H.W., Youngblood, M.W., Farooque, P., Han, X., Jhun, S., Chen, W.C., Goncharova, I.I., Vives, K., Spencer, D.D., Zaveri, H., et al. (2013). Seizure localization using three-dimensional surface projections of intracranial EEG power. *Neuroimage* 83, 616–626.

- Leen, W.G., Mewasingh, L., Verbeek, M.M., Kamsteeg, E.J., van de Warrenburg, B.P., and Willemsen, M.A. (2013). Movement disorders in GLUT1 deficiency syndrome respond to the modified Atkins diet. *Mov. Disord.* 28, 1439–1442.
- Lefaucheur, J.-P., André-Obadia, N., Antal, A., Ayache, S.S., Baeken, C., Benninger, D.H., Cantello, R.M., Cincotta, M., de Carvalho, M., De Ridder, D., et al. (2014). Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS). *Clin. Neurophysiol.* 125, 2150–2206.
- Lerche, H., Jurkat-Rott, K., and Lehmann-horn, F. (2001). Ion channels and epilepsy. *Am. J. Med. Genet. - Semin. Med. Genet.* 106, 146–159.
- Lerche, H., Shah, M., Beck, H., Noebels, J., Johnston, D., and Vincent, A. (2013). Ion channels in genetic and acquired forms of epilepsy. *J. Physiol.* 591, 753–764.
- Leresche, N. & C.V. (2002). Block of thalamic t-type Ca^{2+} channels by ethosuximide is not the whole story. 2, 53–56.
- Levisohn, P.M. (2007). The autism-epilepsy connection. *Epilepsia* 48, 33–35.
- Lewis, M.L., Kesler, M., Candy, S.A., Rho, J.M., and Pittman, Q.J. (2018). Comorbid epilepsy in autism spectrum disorder: Implications of postnatal inflammation for brain excitability. *Epilepsia* 1–11.
- Lin, Y., and Wang, Y. (2017). Neurostimulation as a promising epilepsy therapy. *Epilepsia Open* 2, 371–387.
- Lisman, J.E. (1997). Bursts as a unit of neural information: Making unreliable synapses reliable. *Trends Neurosci.* 20, 38–43.
- Liu, X.B., and Jones, E.G. (1999). Predominance of corticothalamic synaptic inputs to thalamic reticular nucleus neurons in the rat. *J Comp Neurol* 414, 67–79.
- Liu, H., Yang, Y., Wang, Y., Tang, H., Zhang, F., Zhang, Y., and Zhao, Y. (2018a). Ketogenic diet for treatment of intractable epilepsy in adults: A meta-analysis of observational studies. *Epilepsia Open* 3, 9–17.
- Liu, J. tao, Liu, B., and Zhang, H. (2018b). Surgical versus medical treatment of drug-resistant epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsy Behav.* 82, 179–188.
- Liu, Z., Vergnes, M., Depaulis, A., and Marescaux, C. (1991). Evidence for a critical role of GABAergic transmission within the thalamus in the genesis and control of absence seizures in the rat. *Brain Res.* 545, 1–7.
- Llinas, R.R., and Steriade, M. (2006). Bursting of Thalamic Neurons and States of Vigilance. *J. Neurophysiol.* 95, 3297–3308.
- Llinás, R., and Jahnsen, H. (1982). Electrophysiology of mammalian thalamic neurones in vitro. *Nature* 297, 406–408.
- Llinás, R., and Paré, D. (1991). Commentary of dreaming and wakefulness. 44, 521–535.
- Loiseau, P. (1992). Human absence epilepsies. *J. Neural Transm. Suppl.* 35, 1–6.

- Loiseau, P., Pestre, M., Datigues, J.F., Commenges, D., Barberger-Gateau, C., and Cohadon, S. (1983). Long-term prognosis in two forms of childhood epilepsy: Typical absence seizures and epilepsy with rolandic (centrotemporal) EEG foci. *Ann. Neurol.* 13, 642–648.
- Loiseau, P., Duché, B., and Pédespan, J. -M (1995). Absence Epilepsies. *Epilepsia* 36, 1182–1186.
- Lübke, J., and Feldmeyer, D. (2007). Excitatory signal flow and connectivity in a cortical column: Focus on barrel cortex. *Brain Struct. Funct.* 212, 3–17.
- Lüders, H., Acharya, J., Baumgartner, C., Benbadis, S., Bleasel, A., Burgess, R., Dinner, D.S., Ebner, A., Foldvary, N., Geller, E., et al. (1998). Semiological seizure classification. *Epilepsia* 39, 1006–1013.
- Luhmann, H.J., Mittmann, T., van Luijtelaar, G., and Heinemann, U. (1995). Impairment of intracortical GABAergic inhibition in a rat model of absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 22, 43–51.
- van Luijtelaar, E.L., and Coenen, A. (1989). The Wag/Rij model for generalized absence seizures. In *Advances in Epileptology.*, Manelis, ed. (New York, NY: Raven Press), p.
- van Luijtelaar, G., and Sitnikova, E. (2006). Global and focal aspects of absence epilepsy: The contribution of genetic models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 30, 983–1003.
- Lux, S., Kurthen, M., Helmstaedter, C., Hartje, W., Reuber, M., and Elger, C.E. (2002). The localizing value of ictal consciousness and its constituent functions: a video-EEG study in patients with focal epilepsy. *Brain* 125, 2691–2698.
- Lytton, W.W., Contreras, D., Destexhe, A., and Steriade, M. (1997). Dynamic interactions determine partial thalamic quiescence in a computer network model of spike-and-wave seizures. *J. Neurophysiol.* 77, 1679–1696.
- Maguire, M.J., Jackson, C.F., Marson, A.G., and Nolan, S.J. (2016). Treatments for the prevention of Sudden Unexpected Death in Epilepsy (SUDEP). *Cochrane Database Syst. Rev.* 7, CD011792.
- Mahon, S., and Charpier, S. (2012). Bidirectional plasticity of intrinsic excitability controls sensory inputs efficiency in layer 5 barrel cortex neurons in vivo. *J. Neurosci.* 32, 11377–11389.
- Mann, J.P., and Cavanna, A.E. (2011). What does epilepsy tell us about the neural correlates of consciousness? *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 23, 375–383.
- Manning, J.-P., Richards, D. a, Leresche, N., Crunelli, V., and Bowery, N.G. (2004). Cortical-area specific block of genetically determined absence seizures by ethosuximide. *Neuroscience* 123, 5–9.
- Marescaux, C., Vergnes, M., and Depaulis, A. (1992a). Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg - a review. *J. Neural Transm. Suppl.* 35, 37–69.
- Marescaux, C., Vergnes, M., and Depaulis, A. (1992b). Neurotransmission in rats' spontaneous generalized nonconvulsive epilepsy. *Epilepsy Res.* 8, 335–343.

- Marini, C., Harkin, L.A., Wallace, R.H., Mulley, J.C., Scheffer, I.E., and Berkovic, S.F. (2003). Childhood absence epilepsy and febrile seizures: A family with a GABAA receptor mutation. *Brain* 126, 230–240.
- Markram, H. (1997). A network of tufted layer 5 pyramidal neurons. *Cereb. Cortex* 7, 523–533.
- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G., and Wu, C. (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 793–807.
- Martins da Silva, A., and Leal, B. (2017). Photosensitivity and epilepsy: Current concepts and perspectives—A narrative review. *Seizure* 50, 209–218.
- Masquelier, T. (2013). Neural variability, or lack thereof. *Front. Comput. Neurosci.* 7, 7.
- Mathern, G.W., Beninsig, L., and Nehlig, A. (2015). Should consciousness describe seizures and what terms should be applied? *Epilepsia* 's survey results. *Epilepsia* 56, 340–343.
- Matricardi, S., Verrotti, A., Chiarelli, F., Cerminara, C., and Curatolo, P. (2014). Current advances in childhood absence epilepsy. *Pediatr. Neurol.* 50, 205–212.
- Mattson, R. (1995). Efficacy and adverse effects of established and new antiepileptic drugs. *Epilepsia* 36, S13-26.
- McCormick, D.A. (1992). Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex. *J. Clin. Neurophysiol.* 9, 212–223.
- McCormick, D.A., and Pape, H. (1990). PROPERTIES OF A HYPERPOLARIZATION-ACTIVATED CATION CURRENT AND ITS ROLE IN RHYTHMIC OSCILLATION IN THALAMIC RELAY NEURONES. 291–318.
- McLachlan, R.S., Gloor, P., and Avoli, M. (1984). Differential participation of some “specific” and “non-specific” thalamic nuclei in generalized spike and wave discharges of feline generalized penicillin epilepsy. *Brain Res.* 307, 277–287.
- McNamara, J.O. (1994). Cellular and Molecular Basis of Epilepsy. 14, 1023–1035.
- McPherson, A., Rojas, L., Bauerschmidt, A., Ezeani, C.C., Yang, L., Motelow, J.E., Farooque, P., Detyniecki, K., Giacino, J.T., and Blumenfeld, H. (2012). Testing for minimal consciousness in complex partial and generalized tonic-clonic seizures. *Epilepsia* 53, 180–183.
- Mease, R.A., Krieger, P., and Groh, A. (2014). Cortical control of adaptation and sensory relay mode in the thalamus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 6798–6803.
- Meeren, H.K.M., Van Cappellen van Walsum, A.M., Van Luijtelaar, E.L.J.M., and Coenen, A.M.L. (2001). Auditory evoked potentials from auditory cortex, medial geniculate nucleus, and inferior colliculus during sleep-wake states and spike-wave discharges in the WAG/Rij rat. *Brain Res.* 898, 321–331.
- Meeren, H.K.M., Pijn, J.P.M., Van Luijtelaar, E.L.J.M., Coenen, A.M.L., and Lopes da Silva, F.H. (2002). Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J. Neurosci.* 22, 1480–1495.

- Meeren, H.K.M., van Luijckelaar, G., Lopes da Silva, F.H., and Coenen, A.M.L. (2005). Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch. Neurol.* 62, 371–376.
- Meisenhelter, S., and Jobst, B.C. (2018). Neurostimulation for Memory Enhancement in Epilepsy. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 18.
- Mercer, A., West, D.C., Morris, O.T., Kirchhecker, S., Kerkhoff, J.E., and Thomson, A.M. (2005). Excitatory connections made by presynaptic cortico-cortical pyramidal cells in layer 6 of the neocortex. *Cereb. Cortex* 15, 1485–1496.
- Merlo, D., Mollinari, C., Inaba, Y., Cardinale, a, Rinaldi, a M., D’Antuono, M., D’Arcangelo, G., Tancredi, V., Ragsdale, D., and Avoli, M. (2007). Reduced GABAB receptor subunit expression and paired-pulse depression in a genetic model of absence seizures. *Neurobiol. Dis.* 25, 631–641.
- Mesulam, M.M. (1995). Cholinergic pathways and the ascending reticular activating system of the human brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 757, 169–179.
- Micheletti, G., Vergnes, M., Marescaux, C., Reis, J., Depaulis, A., Rumbach, L., and Warter, J.M. (1985). Antiepileptic drug evaluation in a new animal model: spontaneous petit mal epilepsy in the rat. *Arzneimittelforschung* 35, 483–485.
- Miles, R., Blaesse, P., Huberfeld, G., Wittner, L., and Kaila, K. (2012). Chloride Homeostasis and GABA Signaling in Temporal Lobe Epilepsy BT - Jasper’s Basic Mechanisms of the Epilepsies. *Jasper’s Basic Mech. Epilepsies* 581–590.
- Minamisawa, G., Kwon, S.E., Chevée, M., Brown, S.P., and O’Connor, D.H. (2018). A Non-canonical Feedback Circuit for Rapid Interactions between Somatosensory Cortices. *Cell Rep.* 23, 2718–2731.e6.
- Mirsky, A.F., and Van Buren, J.M. (1965). On the nature of the “absence” in centrencephalic epilepsy: A study of some behavioral, electroencephalographic and autonomic factors. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 18, 334–348.
- Mirsky, A.F., Duncan, C.C., and Myslobodsky, M.S. (1986). Petit Mal Epilepsy: A review and integration of recent information. *J. Clin. Neurophysiol.* 3, 178–209.
- MM, O. (1978). Evoked potential studies in petit mal epilepsy. Visual information processing in relation to spike and wave discharges. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*
- Mochol, G., Hermoso-Mendizabal, A., Sakata, S., Harris, K.D., and de la Rocha, J. (2015). Stochastic transitions into silence cause noise correlations in cortical circuits. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, 201410509.
- Momin, A., Cadiou, H., Mason, A., and McNaughton, P.A. (2008). Role of the hyperpolarization-activated current Ih in somatosensory neurons. *J. Physiol.* 586, 5911–5929.
- Monaco, F., Mula, M., and Cavanna, A.E. (2011). The neurophilosophy of epileptic experiences. *Acta Neuropsychiatr.* 23, 184–187.
- Mountcastle, V. (1957). Modality and topographic properties of single neurons of cat’s somatic sensory cortex. *J. Neurophysiol.* 20, 408–434.

- Mula, M., and Sander, J.W. (2016). Psychosocial aspects of epilepsy: a wider approach. *Br. J. Psychiatry Open* 2, 270–274.
- Nagae, L.M., Lall, N., Dahmouh, H., Nyberg, E., Mirsky, D., Drees, C., and Honce, J.M. (2016). Diagnostic, treatment, and surgical imaging in epilepsy. *Clin. Imaging* 40, 624–636.
- Neckelmann, D., Amzica, F., and Steriade, M. (2000a). Changes in neuronal conductance during different components of cortically generated spike-wave seizures. *Neuroscience* 96, 475–485.
- Neckelmann, D., Amzica, F., and Steriade, M. (2000b). Changes in neuronal conductance during different components of cortically generated spike-wave seizures. *Neuroscience* 96, 475–485.
- Nemtsas, P., Birot, G., Pittau, F., Michel, C.M., Schaller, K., Vulliemoz, S., Kimiskidis, V.K., and Seeck, M. (2017). Source localization of ictal epileptic activity based on high-density scalp EEG data. *Epilepsia* 1–10.
- Ngomba, R.T., Biagioni, F., Casciato, S., Willems-Van Bree, E., Battaglia, G., Bruno, V., Nicoletti, F., and Van Luijckelaar, E.L.J.M. (2005). The preferential mGlu2/3 receptor antagonist, LY341495, reduces the frequency of spike-wave discharges in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology* 49, 89–103.
- Ngomba, R.T., Santolini, I., Biagioni, F., Molinaro, G., Simonyi, A., Van Rijn, C.M., D'Amore, V., Mastroiacovo, F., Olivieri, G., Gradini, R., et al. (2011). Protective role for type-1 metabotropic glutamate receptors against spike and wave discharges in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology* 60, 1281–1291.
- Ngugi, A.K., Kariuki, S.M., Bottomley, C., Kleinschmidt, I., Sander, J.W., and Newton, C.R. (2011). Incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Neurology* 77, 1005–1012.
- Nguyen-Michel, V.H., Adam, C., Dinkelacker, V., Pichit, P., Boudali, Y., Dupont, S., Baulac, M., and Navarro, V. (2014). Characterization of seizure-induced syncopes: EEG, ECG, and clinical features. *Epilepsia* 55, 146–155.
- Niedermeyer, E. (1996). Primary (Idiopathic) Generalized Epilepsy and Underlying Mechanisms. *Clin. Electroencephalogr.* 27.
- Noachtar, S., and Peters, A.S. (2009). Semiology of epileptic seizures: A critical review. *Epilepsy Behav.* 15, 2–9.
- Noam, Y., Bernard, C., and Baram, T.Z. (2011). Towards an integrated view of HCN channel role in epilepsy. *Curr. Opin. Neurobiol.* 21, 873–879.
- Noebels, J.L. (1999). Single-gene models of epilepsy. *Adv Neurol.* 79, 227–238.
- Obeso, J.A., Rothwell, J.C., and Marsden, C.D. (1985). The spectrum of cortical myoclonus. *Brain* 108, 193–224.
- Olsson, I. (1988). Epidemiology of absence epilepsy. I. Concept and incidence. *Acta Paediatr.* 77, 860–866.
- Pahnke, J., Bajorat, R., Rolfs, A., Nitsch, R., Strauss, U., Maarten, ã.H.P., Bra, ã.A.U., and Deisz, R.A. (2004). An impaired neocortical I h is associated with enhanced excitability and absence epilepsy. *Epilepsia* 45, 3048–3058.

- Panayiotopoulos, C.P. (2001). Treatment of typical absence seizures and related epileptic syndromes. *Paediatr. Drugs* 3, 379–403.
- Panayiotopoulos, C.P. (2005a). Syndromes of idiopathic generalized epilepsies not recognized by the international league against epilepsy. *Epilepsia* 46, 57–66.
- Panayiotopoulos, C.P. (2005b). Idiopathic Generalized Epilepsies: A Review and Modern Approach. *Epilepsia* 46, 1–6.
- Panayiotopoulos, C.P. (2008). Typical absence seizures and related epileptic syndromes: Assessment of current state and directions for future research. *Epilepsia* 49, 2131–2139.
- Pape, H.-C. (1996a). Queer Current and Pacemaker: The Hyperpolarization-Activated Cation Current in Neurons. *Annu. Rev. Physiol.* 58, 299–327.
- Pape, H. (1996b). Queer current and pacemaker: the hyperpolarization-activated cation current in neurons. *Annu. Rev. Physiol.* 58, 299–327.
- Pardridge, W.M. (2005). The blood-brain barrier: Bottleneck in brain drug development. *NeuroRx* 2, 3–14.
- Parra, J., Augustijn, P.B., Geerts, Y., and Van Emde Boas, W. (2001). Classification of Epileptic Seizures: A comparison of two systems. *Epilepsia* 42, 476–482.
- Di Pasquale, E., Keegan, K.D., and Noebels, J.L. (1997). Increased excitability and inward rectification in layer V cortical pyramidal neurons in the epileptic mutant mouse Stargazer. *J. Neurophysiol.* 77, 621–631.
- Pavone, P., Bianchini, R., Trifiletti, R.R., Incorpora, G., Pavone, A., and Parano, E. (2001). Neuropsychological assessment in children with absence epilepsy. *Neurology* 56, 1047–1051.
- Paxinos, G., and Watson, C. (1986). *The brain in stereotaxic coordinates* (Sydney).
- Paz, J.T. (2005). Rhythmic Bursting in the Cortico-Subthalamo-Pallidal Network during Spontaneous Genetically Determined Spike and Wave Discharges. *J. Neurosci.* 25, 2092–2101.
- Paz, J.T., Chavez, M., SAILLET, S., Deniau, J.-M., and Charpier, S. (2007). Activity of ventral medial thalamic neurons during absence seizures and modulation of cortical paroxysms by the nigrothalamic pathway. *J. Neurosci.* 27, 929–941.
- Pellegrini, A., Gloor, P., and Sherwin, A.L. (1978). Effect of valproate sodium on generalized penicillin epilepsy in the cat. *Epilepsia* 19, 351–360.
- Pereira de Vasconcelos, A., and Cassel, J.C. (2015). The nonspecific thalamus: A place in a wedding bed for making memories last? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 54, 175–196.
- Petersen, C.C. (2007). The functional organization of the barrel cortex. *Neuron* 56, 339–355.
- Petersen, C.C.H., Hahn, T.T.G., Mehta, M., Grinvald, A., and Sakmann, B. (2003). Interaction of sensory responses with spontaneous depolarization in layer 2/3 barrel cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 13638–13643.

- Petit, L.F., Jalabert, M., Buhler, E., Malvache, A., Peret, A., Chauvin, Y., Watrin, F., Represa, A., and Manent, J.B. (2014). Normotopic cortex is the major contributor to epilepsy in experimental double cortex. *Ann. Neurol.* 76, 428–442.
- Pidoux, M., Mahon, S., Deniau, J.M., and Charpier, S. (2011). Integration and propagation of somatosensory responses in the corticostriatal pathway: An intracellular study in vivo. *J. Physiol.* 589, 263–281.
- Pinault, D. (1996). A novel single-cell staining procedure performed in vivo under electrophysiological control: Morpho-functional features of juxtacellularly labeled thalamic cells and other central neurons with biocytin or Neurobiotin. *J. Neurosci. Methods* 65, 113–136.
- Pinault, D. (2003). Cellular interactions in the rat somatosensory thalamocortical system during normal epileptic 5-9 Hz oscillations. *J. Physiol.* 552, 881–905.
- Plouin, P., Kaminska, A., Moutard, M., and Soufflet, C. (2006). L'EEG en pédiatrie (Montrouge).
- Polack, P.-O. (2016). Sensory processing during absence seizures. *J. Physiol.* 594, 6439–6440.
- Polack, P.-O., and Charpier, S. (2009). Ethosuximide converts ictogenic neurons initiating absence seizures into normal neurons in a genetic model. *Epilepsia* 50, 1816–1820.
- Polack, P.-O., Guillemain, I., Hu, E., Deransart, C., Depaulis, A., and Charpier, S. (2007). Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *J. Neurosci.* 27, 6590–6599.
- Polack, P.-O., Mahon, S., Chavez, M., and Charpier, S. (2009). Inactivation of the somatosensory cortex prevents paroxysmal oscillations in cortical and related thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy. *Cereb. Cortex* 19, 2078–2091.
- Porta, N., and Auvin, S. (2009). Acides gras poly-insaturés. *Médecine/Sciences* 25, 51–56.
- Pouyatos, B., Serduc, R., Chipaux, M., Chabrol, T., Bräuer-Krisch, E., Nemoz, C., Mathieu, H., David, O., Renaud, L., Prezado, Y., et al. (2013). Synchrotron X-ray interlaced microbeams suppress paroxysmal oscillations in neuronal networks initiating generalized epilepsy. *Neurobiol. Dis.* 51, 152–160.
- Pouyatos, B., Nemoz, C., Chabrol, T., Potez, M., Bräuer, E., Renaud, L., Pernet-Gallay, K., Estève, F., David, O., Kahane, P., et al. (2016). Synchrotron X-ray microtransections: A non invasive approach for epileptic seizures arising from eloquent cortical areas. *Sci. Rep.* 6, 1–7.
- Powell, K.L., Kyi, M., Reid, C.A., Paradiso, L., D'Abaco, G.M., Kaye, A.H., Foote, S.J., and O'Brien, T.J. (2008). Genetic absence epilepsy rats from Strasbourg have increased corticothalamic expression of stargazin. *Neurobiol. Dis.* 31, 261–265.
- Powell, K.L., Cain, S.M., Ng, C., Sirdesai, S., David, L.S., Kyi, M., Garcia, E., Tyson, J.R., Reid, C.A., Bahlo, M., et al. (2009). A Cav3.2 T-Type Calcium Channel Point Mutation Has Splice-Variant-Specific Effects on Function and Segregates with

- Seizure Expression in a Polygenic Rat Model of Absence Epilepsy. *J. Neurosci.* 29, 371–380.
- Prince, D.A., and Farrell, D. (1969). “Centrencephalic” spike and wave discharges following parenteral penicillin injection in cat. *Neurology* 309–310.
- Pumain, R., Louvel, J., M, G., I, K., and Vergnes, M. (1992). Responses to N-methyl-D-aspartate are enhanced in rats with petit mal-like seizures. *J. Neural Transm. Suppl.* 97–108.
- Quesney, L.F., Gloor, P., Kratzenberg, E., and Zumstein, H. (1977). Pathophysiology of generalized penicillin epilepsy in the cat: The role of cortical and subcortical structures. I. Systemic application of penicillin. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 42, 640–655.
- Radnikow, G., and Feldmeyer, D. (2018). Layer- and Cell Type-Specific Modulation of Excitatory Neuronal Activity in the Neocortex. *Front. Neuroanat.* 12.
- Ramsdell, J.S. (2010). Neurological Disease Rises from Ocean to Bring Model for Human Epilepsy to Life. *Toxins (Basel)*. 2, 1646–1675.
- Ravindran, K., Powell, K.L., Todaro, M., and O’Brien, T.J. (2016). The pathophysiology of cardiac dysfunction in epilepsy. *Epilepsy Res.* 127, 19–29.
- Reilly, C., Atkinson, P., Memon, A., Jones, C., Dabydeen, L., Das, K.B., Gillberg, C., Neville, B.G.R., and Scott, R.C. (2018). Symptoms of depression, anxiety, and stress in parents of young children with epilepsy: A case controlled population-based study. *Epilepsy Behav.* 80, 177–183.
- Richard, C. (1875). *Electrical Currents of the Brain*. Chicago *J. Nerv. Ment. Dis.* 2, 610.
- Robinson, R.B., and Siegelbaum, S.A. (2003). Hyperpolarization-Activated Cation Currents: From Molecules to Physiological Function. *Annu. Rev. Physiol.* 65, 453–480.
- Robinson R, A. (2009). Genetic Analysis of Human Absence Epilepsy. 1–378.
- Rodin, E. (1999). Decomposition and mapping of generalized spike-wave complexes. *Clin. Neurophysiol.* 110, 1868–1875.
- Rodin, E., Kitano, H., Nagao, B., and Rodin, M. (1977). The results of penicillin G Administration of chronic unrestrained cats: electrographic and behavioral observations. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 42, 518–527.
- Rogawski, M.A., Löscher, W., and Rho, J.M. (2016). Mechanisms of action of Antiseizure Drugs and the Ketogenic diet. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 6, 28.
- Rosenow, F., van Alphen, N., Becker, A., Chiochetti, A., Deichmann, R., Deller, T., Freiman, T., Freitag, C.M., Gehrig, J., Hermsen, A.M., et al. (2017). Personalized translational epilepsy research — Novel approaches and future perspectives. *Epilepsy Behav.* 76, 13–18.
- Rudolf, G., Bihoreau, M.T., Godfrey, R.F., Wilder, S.P., Cox, R.D., Lathrop, M., Marescaux, C., and Gauguier, D. (2004). Polygenic Control of Idiopathic Generalized Epilepsy Phenotypes in the Genetic Absence Rats from Strasbourg (GAERS). *Epilepsia* 45, 301–308.

- Rummel, C., Abela, E., Andrzejak, R.G., Hauf, M., Pollo, C., Müller, M., Weisstanner, C., Wiest, R., and Schindler, K. (2015). Resected brain tissue, seizure onset zone and quantitative EEG measures: Towards prediction of post-surgical seizure control. *PLoS One* 10, 1–26.
- Rye, D.B., Wainer, B.H., Mesulam, M.M., Mufson, E.J., and Saper, C.B. (1984). Cortical projections arising from the basal forebrain: a study of cholinergic and noncholinergic components employing combined retrograde tracing and immunohistochemical localization of choline acetyltransferase. *Neuroscience* 13, 627–643.
- Rye, D.B., Saper, C.B., Lee, H.J., and Wainer, B.H. (1987). Pedunculo-pontine tegmental nucleus of the rat: cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum. *J. Comp. Neurol.* 259, 483–528.
- Sadleir, L.G., Farrell, K., Smith, S., Connolly, M., and Scheffer, I.E. (2006). Electroclinical features of absence seizures in childhood absence epilepsy. *Arch. Neurol.* 67, 413–418.
- Saillet, S., Gharbi, S., Charvet, G., Deransart, C., Guillemaud, R., Depaulis, A., and David, O. (2013). Neural adaptation to responsive stimulation: A comparison of auditory and deep brain stimulation in a rat model of absence epilepsy. *Brain Stimul.* 6, 241–247.
- Salpekar, J.A., and Mula, M. (2018). Common psychiatric comorbidities in epilepsy: How big of a problem is it? *Epilepsy Behav.*
- Salvati, K.A., and Beenhakker, M.P. (2017). Out of thin air: hyperventilation-triggered seizures. *Brain Res.*
- San-Juan, D., Morales-Quezada, L., Orozco Garduño, A.J., Alonso-Vanegas, M., González-Aragón, M.F., López, D.A.E., Vázquez Gregorio, R., Ansel, D.J., and Fregni, F. (2015). Transcranial direct current stimulation in epilepsy. *Brain Stimul.* 8, 455–464.
- Sato, K., and Fibiger, H.C. (1986). Cholinergic neurons of the laterodorsal tegmental nucleus: efferent and afferent connections. *J. Comp. Neurol.* 253, 277–302.
- Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., Capovilla, G., Connolly, M.B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G.W., Moshé, S.L., et al. (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 512–521.
- Schindler, K.A., Rummel, C., Andrzejak, R.G., Goodfellow, M., Zubler, F., Abela, E., Wiest, R., Pollo, C., Steimer, A., and Gast, H. (2016). Ictal time-irreversible intracranial EEG signals as markers of the epileptogenic zone. *Clin. Neurophysiol.* 127, 3051–3058.
- Schulte, T., and Müller-Oehring, E.M. (2010). Contribution of callosal connections to the interhemispheric integration of visuomotor and cognitive processes. *Neuropsychol. Rev.* 20, 174–190.

- Schurger, A., Sarigiannidis, I., Naccache, L., Sitt, J.D., and Dehaene, S. (2015). Cortical activity is more stable when sensory stimuli are consciously perceived. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 112, E2083-2092.
- Schwartzkroin, P.A., and Haglund, M.M. (1986). Spontaneous Rhythmic Synchronous Activity in Epileptic Human and Normal Monkey Temporal Lobe. *Epilepsia* 27, 523–533.
- Seri, S., Brazzo, D., Thai, N.J., and Cerquiglioni, A. (2011). Brain mechanisms of altered consciousness in generalised seizures. *Behav. Neurol.* 24, 43–46.
- Sherman, S.M. (2005). Thalamic relays and cortical functioning. *Prog. Brain Res.* 149, 107–126.
- Shorvon, S., Perucca, E., and Engel, J. (2016). Definition (Terminology) and Classification in Epilepsy: A Historical Survey and Current Formulation, with Special Reference to the ILAE. *Treat. Epilepsy* 1–23.
- Silver, R.A. (2010). Neuronal arithmetic. *Nat. Rev. Neurosci.* 11, 474–489.
- Sirén, A., Kylliäinen, A., Tenhunen, M., Hirvonen, K., Riita, T., and Koivikko, M. (2007). Beneficial effects of antiepileptic medication on absence seizures and cognitive functioning in children. *Epilepsy Behav.* 11, 85–91.
- Slaght, S.J., Leresche, N., Deniau, J.-M., Crunelli, V., and Charpier, S. (2002). Activity of thalamic reticular neurons during spontaneous genetically determined spike and wave discharges. *J. Neurosci.* 22, 2323–2334.
- Slaght, S.J., Paz, J.T., Chavez, M., Deniau, J.-M., Mahon, S., and Charpier, S. (2004). On the activity of the corticostriatal networks during spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy. *J. Neurosci.* 24, 6816–6825.
- Smith, S.J.M. (2005). EEG in the diagnosis, classification, and management of patients with epilepsy. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 76, ii2-ii7.
- Smith, J.B., and Alloway, K.D. (2014). Interhemispheric claustral circuits coordinate sensory and motor cortical areas that regulate exploratory behaviors. *Front. Syst. Neurosci.* 8, 93.
- Smith, A.W., Mara, C.A., and Modi, A.C. (2018). Adherence to antiepileptic drugs in adolescents with epilepsy. *Epilepsy Behav.* 80, 307–311.
- Sohal, V.S., Huntsman, M.M., and Huguenard, J.R. (2000). Reciprocal inhibitory connections regulate the spatiotemporal properties of intrathalamic oscillations. *J. Neurosci.* 20, 1735–1745.
- Somjen, G.G. (2002). Ion Regulation in the Brain: Implications for Pathophysiology. *Neurosci.* 8, 254–267.
- Song, I. (2004). Role of the 1G T-Type Calcium Channel in Spontaneous Absence Seizures in Mutant Mice. *J. Neurosci.* 24, 5249–5257.
- Steriade, M. (1997). Synchronized activities of coupled oscillators in the cerebral cortex and thalamus at different levels of vigilance. *Cereb. Cortex* 7, 583–588.
- Steriade, M. (2000). Corticothalamic resonance, states of vigilance and mentation. *Neuroscience* 101, 243–276.

- Steriade, M. (2004). Neocortical cell classes are flexible entities. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 121–134.
- Steriade, M., and Amzica, F. (1994). Dynamic coupling among neocortical neurons during evoked and spontaneous spike-wave seizure activity. *J. Neurophysiol.* 72, 2051–2069.
- Steriade, M., and Amzica, F. (2003). Sleep oscillations developing into seizures in corticothalamic systems. *Epilepsia* 44 Suppl 1, 9–20.
- Steriade, M., and Contreras, D. (1995). Relations between cortical and thalamic cellular events during transition from sleep patterns to paroxysmal activity. *J. Neurosci.* 15, 623–642.
- Steriade, M., Amzica, F., Neckelmann, D., and Timofeev, I. (1998a). Spike-Wave Complexes and Fast Components of Cortically Generated Seizures. II. Extra- and Intracellular Patterns. *J. Neurophysiol.* 80, 1456–1479.
- Steriade, M., Contreras, D., Sales-carbonell, C., Rueda-orozco, P.E., Soria-gómez, E., Buzsáki, G., Robbe, D., Lacey, C.J., Bryant, A., Brill, J., et al. (1998b). Spike-Wave Complexes and Fast Components of Cortically Generated Seizures . I . Role of Neocortex and Thalamus Spike-Wave Complexes and Fast Components of Cortically Generated Seizures . I . Role of Neocortex and Thalamus. *J Neurophysiol* 80, 1439–1455.
- Studer, F., Serduc, R., Pouyatos, B., Chabrol, T., Bräuer-Krisch, E., Donzelli, M., Nemoz, C., Laissue, J.A., Estève, F., and Depaulis, A. (2015). Synchrotron X-ray microbeams: A promising tool for drug-resistant epilepsy treatment. *Phys. Medica* 31, 607–614.
- Stüttgen, M.C., and Schwarz, C. (2018). Barrel cortex: What is it good for? *Neuroscience* 368, 3–16.
- Suls, A., Mullen, S.A., Weber, Y.G., Verhaert, K., Ceulemans, B., Guerrini, R., Wuttke, T. V., Salvo-Vargas, A., Deprez, L., Claes, L.R.F., et al. (2009). Early-onset absence epilepsy caused by mutations in the glucose transporter GLUT1. *Ann. Neurol.* 66, 415–419.
- Surges, R., Strzelczyk, A., Scott, C.A., Walker, M.C., and Sander, J.W. (2011). Postictal generalized electroencephalographic suppression is associated with generalized seizures. *Epilepsy Behav.* 21, 271–274.
- Surges, R., von Wrede, R., Porschen, T., and Elger, C.E. (2018). Knowledge of sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) among 372 patients attending a German tertiary epilepsy center. *Epilepsy Behav.* 80, 360–364.
- Swanson, L.W. (1995). Mapping the human brain: Past, present, and future. *Trends Neurosci.* 18, 471–474.
- Szaflarski, J.P., DiFrancesco, M., Hirschauer, T., Banks, C., Privitera, M.D., Gotman, J., and Holland, S.K. (2010). Cortical and subcortical contributions to absence seizure onset examined with EEG/fMRI. *Epilepsy Behav.* 18, 404–413.
- Talley, E.M., Solórzano, G., Depaulis, a, Perez-Reyes, E., and Bayliss, D. a (2000). Low-voltage-activated calcium channel subunit expression in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 75, 159–165.

- Tatti, R., Haley, M.S., Swanson, O.K., Tselha, T., and Maffei, A. (2017). Neurophysiology and Regulation of the Balance Between Excitation and Inhibition in Neocortical Circuits. *Biol. Psychiatry* 81, 821–831.
- Tatum, W.O., Rubboli, G., Kaplan, P.W., Mirsatari, S.M., Radhakrishnan, K., Gloss, D., Caboclo, L.O., Drislane, F.W., Koutroumanidis, M., Schomer, D.L., et al. (2018). Clinical utility of EEG in diagnosing and monitoring epilepsy in adults. *Clin. Neurophysiol.* 129, 1056–1082.
- Temkin, O. (1971). *The falling sickness; a history of epilepsy from the Greeks to the beginnings of modern neurology.*
- Thomas, W.B. (2000). Idiopathic epilepsy in dogs. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 30, 183–206.
- Timofeev, I., and Steriade, M. (2004). Neocortical seizures: Initiation, development and cessation. *Neuroscience* 123, 299–336.
- Timofeev, I., Grenier, F., and Steriade, M. (1998). Spike-wave complexes and fast components of cortically generated seizures. IV. Paroxysmal fast runs in cortical and thalamic neurons. *J. Neurophysiol.* 80, 1495–1513.
- Timofeev, I., Bazhenov, M., Sejnowski, T.J., and Steriade, M. (2002). Cortical hyperpolarization-activated depolarizing current takes part in the generation of focal paroxysmal activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99, 9533–9537.
- Tolaymat, A., Nayak, A., Geyer, J.D., Geyer, S.K., and Carney, P.R. (2015). Diagnosis and management of childhood epilepsy. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care* 45, 3–17.
- Tononi, G. (2004). An information integration theory of consciousness. *BMC Neurosci.* 5, 1–22.
- Tononi, G. (2008). Consciousness as Integrated Information. *Biol. Bull.* 215, 216–242.
- Tononi, G., Boly, M., Massimini, M., and Koch, C. (2016). Integrated information theory: From consciousness to its physical substrate. *Nat. Rev. Neurosci.* 17, 450–461.
- Trapp, G. von, Buran, B.N., Sen, K., Semple, M.N., and Sanes, D.H. (2016). A Decline in Response Variability Improves Neural Signal Detection during Auditory Task Performance. *J. Neurosci.* 36, 11097–11106.
- Tsakiridou, E., Bertollini, L., de Curtis, M., Avanzini, G., and Pape, H.C. (1995). Selective increase in T-type calcium conductance of reticular thalamic neurons in a rat model of absence epilepsy. *J. Neurosci.* 15, 3110–3117.
- Varela, C. (2014). Thalamic neuromodulation and its implications for executive networks. *Front. Neural Circuits* 8, 69.
- Vassileva, A., van Blooijis, D., Leijten, F., and Huiskamp, G. (2018). Neocortical electrical stimulation for epilepsy: Closed-loop versus open-loop. *Epilepsy Res.* 141, 95–101.
- Ventola, C.L. (2014). Epilepsy management: newer agents, unmet needs, and future treatment strategies. *P T* 39, 776–792.

- Vergnes, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Reis, J., Depaulis, A., Rumbach, L., and Warter, J.M. (1982). Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: A model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neurosci. Lett.* 33, 97–101.
- Vergnes, M., Marescaux, C., Depaulis, A., Micheletti, G., and Warter, J.M. (1987). Spontaneous spike and wave discharges in thalamus and cortex in a rat model of genetic petit mal-like seizures. *Exp. Neurol.* 96, 127–136.
- Vergnes, M., Marescaux, C., Lannes, B., Depaulis, A., Micheletti, G., and Warter, J.M. (1989). Interhemispheric desynchronization of spontaneous spike-wave discharges by corpus callosum transection in rats with petit mal-like epilepsy. *Epilepsy Res.* 4, 8–13.
- Vergnes, M., Marescaux, C., and Depaulis, A. (1990). Mapping of spontaneous spike and wave discharges in Wistar rats with genetic generalized non-convulsive epilepsy. *Brain Res.* 523, 87–91.
- Vergnes, M., Marescaux, C., Boehrer, a, and Depaulis, A. (1991). Are rats with genetic absence epilepsy behaviorally impaired? *Epilepsy Res.* 9, 97–104.
- Vogt, V.L., Äikiä, M., del Barrio, A., Boon, P., Borbély, C., Bran, E., Braun, K., Carette, E., Clark, M., Cross, J.H., et al. (2017). Current standards of neuropsychological assessment in epilepsy surgery centers across Europe. *Epilepsia* 1–13.
- Voss, L.J., Sleight, J.W., Barnard, J.P.M., and Kirsch, H.E. (2008). The howling cortex: Seizures and general anesthetic drugs. *Anesth. Analg.* 107, 1689–1703.
- Vrielynck, P. (2013). Current and emerging treatments for absence seizures in young patients. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 9, 963–975.
- Wallace, M.T., Ramachandran, R., and Stein, B.E. (2004). A revised view of sensory cortical parcellation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 2167–2172.
- Wang, C., Hsieh, P., Chen, C., Lin, W., and WH, H. (2005). Hyperglycemia with occipital seizures: images and visual evoked potentials. *Epilepsia* 140–144.
- Westmijse, I., Ossenblok, P., Gunning, B., and van Luijtelaa, G. (2009). Onset and propagation of spike and slow wave discharges in human absence epilepsy: A MEG study. *Epilepsia* 50, 2538–2548.
- White, J.A., Rubinstein, J.T., and Kay, A.R. (2000). Channel noise in neurons. *Trends Neurosci.* 23, 131–137.
- Wilent, W.B., and Contreras, D. (2004). Synaptic responses to whisker deflections in rat barrel cortex as a function of cortical layer and stimulus intensity. *J. Neurosci.* 24, 3985–3998.
- Williams, M.S., Altwegg-Boussac, T., Chavez, M., Lecas, S., Mahon, S., and Charpier, S. (2016). Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absence seizures in a rat genetic model. *J Physiol J. Physiol. Physiol. Soc. J Physiol* 59422, 6733–6751.
- Wimmer, R.D., Schmitt, L.I., Davidson, T.J., Nakajima, M., Deisseroth, K., and Halassa, M.M. (2015). Thalamic control of sensory selection in divided attention. *Nature* 526, 705–709.

- Winawer, M.R., Rabinowitz, D., Pedley, T.A., Hauser, W.A., and Ottman, R. (2003). Genetic influences on myoclonic and absence seizures. *Neurology* 61, 1576–1581.
- Wirrell, E.C. (2003). Natural history of absence epilepsy in children. *Can J Neurol Sci.* 30, 184–188.
- Wirrell, E., Camfield, C., Camfield, P., Gordon, K., and Dooley, J. (1997). Long-term prognosis of typical childhood absence epilepsy - Reply. *Neurology* 49, 1187.
- Wisden, W., Laurie, D.J., Monyer, H., and Seeburg, P.H. (1992). The distribution of 13 GABAA receptor subunit mRNAs in the rat brain. I. Telencephalon, diencephalon, mesencephalon. *J. Neurosci.* 12, 1040–1062.
- y Cajal, S. (1894). The Croonian lecture. - La fine structure des centres nerveux. *Proc. R. Soc. London* 55, 444–468.
- Yalçın, Ö. (2012). Genes and molecular mechanisms involved in the epileptogenesis of idiopathic absence epilepsies. *Seizure* 21, 79–86.
- Yasam, V.R., Jakki, S.L., Senthil, V., Jawahar, N., Vengal Rao, P., and Chalichem, N.S.S. (2018). An overview of non-drug therapies for the treatment of epilepsy. *Indian J. Pharm. Sci.* 80, 223–234.
- York, G.K., and Steinberg, D.A. (2011). Hughlings Jackson's neurological ideas. *Brain* 134, 3106–3113.
- Yoshinaga, H., Ohtsuka, Y., Tamai, K., Tamura, I., Ito, M., Ohmori, I., and Oka, E. (2004). EEG in childhood absence epilepsy. *Seizure* 13, 296–302.
- Yu, L., and Blumenfeld, H. (2009). Theories of Impaired Consciousness. *Disord. Conscious.* 60, 48–60.
- Zarrinpar, A. (2006). Local Connections to Specific Types of Layer 6 Neurons in the Rat Visual Cortex. *J. Neurophysiol.* 95, 1751–1761.
- Zliang, Z.W., and Deschênes, M. (1998). Projections to layer VI of the posteromedial barrel field in the rat: A reappraisal of the role of corticothalamic pathways. *Cereb. Cortex* 8, 428–436.