

**UNIVERSITE AIX-MARSEILLE II**

**FACULTE DE MEDECINE LA TIMONE**

Ecole doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé

**THESE DE DOCTORAT**

Spécialité

NEUROSCIENCES

Présentée par

**Laëtitia CHAUVIERE**

Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université d'Aix-Marseille II

**Déficits cognitifs et altération de l'activité de réseau au cours de l'épileptogenèse dans un modèle expérimental d'épilepsie du lobe temporal**

**Soutenance le vendredi 02 Avril 2010**

Membres du Jury

**Pr. Stéphane CHARPIER  
Pr. Fernando LOPES DA SILVA  
Dr. Michaël ZUGARO  
Dr. Catherine THINUS-BLANC  
Pr. Patrick CHAUVEL  
Dr. Christophe BERNARD  
Pr Frédéric LIBERSAT**

**Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Examineur  
Directeur de thèse  
Président**







## ***Remerciements***

Je tiens tout d'abord à remercier le Pr Patrick Chauvel de m'avoir accueilli dans son laboratoire, l'Unité U751, à Marseille.

Je tiens ensuite à remercier tous les membres du jury, et en particulier les deux rapporteurs, le Pr Charprier le Pr Lopes da Silva, d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse.

Je remercie Christophe Bernard, de m'avoir accueilli dans son équipe et de m'avoir permis d'y faire ma thèse, de m'avoir donné l'opportunité de travailler sur un projet qui me tenait beaucoup à cœur, de m'avoir fait confiance et laissé complètement autonome.

Je tiens à remercier ensuite Catherine Thinus-Blanc pour sa coopération durant mes quatre années de thèse dans l'interprétation des données cognitives, mais aussi pour son soutien, ses conseils, son côté humain et sa disponibilité. J'ai vraiment beaucoup aimé travailler avec elle. Je la remercie également pour les relectures de ce manuscrit.

Je tiens également à remercier le Pr Fabrice Bartolomei avec qui j'ai beaucoup aimé travailler. Je le remercie d'avoir accepté, dès le début de ma thèse, de discuter de mes données expérimentales par rapport à la clinique, de m'avoir permis d'assister aux « staffs » cliniques et de passer, en parallèle de ma thèse, un DU clinique d'EEG. Il m'a ainsi laissé la possibilité, comme je le souhaitais en venant faire ma thèse dans ce laboratoire, de créer un pont entre la recherche fondamentale et la clinique. En plus de ses discussions scientifiques, je le remercie également pour sa disponibilité, son soutien, ses encouragements, ses discussions philosophiques (!), culturelles, et ses morceaux de guitare qui me faisaient oublier la vie de mes rats de laboratoire!... Enfin, je le remercie pour ses commentaires sur certaines parties de ce manuscrit.

Je remercie également le Dr Monique Esclapez, pour son soutien, ses conseils, sa gentillesse et sa franchise, tant sur le plan professionnel qu'humain, tout au long de cette thèse, et notamment sur la fin, ainsi que pour ses commentaires sur les aspects morphologiques de ce manuscrit.

Je remercie aussi Christian Bénar, pour ses discussions scientifiques (et musicales !), son aide dans le traitement du signal, sa bonne humeur ! Je remercie également Fabrice Wendling, à Rennes, pour son aide face au logiciel Amadeus, ses discussions scientifiques.

J'aimerais ensuite remercier les personnes qui, à un moment où j'étais seule face aux difficultés de la mise en place d'un « mini-laboratoire » *in vivo* (dans une ancienne pièce de photo, à l'extérieur du labo, toute noire, exigüe, et climatisée à 45 °C l'été!!...), m'ont

apporté quelques conseils techniques: je pense à Laurent Fousseret, ingénieur Deltamed à l'hôpital, Claude Figarolli, Jean-Michel Badier, Bruno Colombet et Patrick Marquis. Je remercie tout particulièrement Laurent Fousseret pour sa disponibilité lors des dysfonctionnements du système Deltamed, notamment lors de mon premier été au labo (!). Je remercie aussi Bruno pour son aide informatique tout au long de ma thèse. Je tiens également à remercier Marie Pascale Nesa et Antoine Ghestem pour leur aide technique, ainsi que Brice Detailleur; Julien pour son aide informatique, l'article (!) et ses encouragements lors de cette fin de thèse ; les étudiants que j'ai encadrés, de près (Thomas, Safia, Nadia) ou de loin (Valentin, Mehdi), pour leur sympathie, leur contribution scientifique et parce que, sans le savoir, ils m'ont apporté beaucoup. Je remercie aussi Patrich Péruch pour sa disponibilité lorsque j'avais besoin, notamment, d'un conseil statistique, mais aussi pour sa gentillesse, sa bonne humeur dès le matin!, et sa grande contribution dans la reliure de ces manuscrits... Je tiens également à remercier tout particulièrement Jean-Marc, Nicolas, Brigitte et Mélanie, les techniciens animaliers, pour leur grande disponibilité tout au long de mes quatre années de thèse, pour leurs conseils, leur aide, mais aussi leur gentillesse et leur bonne humeur ! Je remercie surtout Nico pour son aide dans la connexion des rats épileptiques, dès 7h du matin ! et Jean-Marc, pour ses venues le samedi au laboratoire si besoin, mais aussi Brigitte, pour son grand côté humain...et Mélanie, pour notre complicité !

Je remercie ensuite Pascale Pomietto, pour ses conseils, son soutien, sa gentillesse, ses fous rires, tout au long de mes deux premières années de thèse, avant qu'elle change de laboratoire. Je remercie aussi Arthur Kaladjian pour sa gentillesse, ses conseils et son côté rassurant. Je remercie aussi Camille Yousefzadeh pour son amitié lorsque je suis arrivée en thèse au laboratoire, et Lynda El-Hassar, pour ses discussions et conseils. Je remercie aussi mes « collègues » de bureau, Eve, pour son soutien, ses conseils, nos discussions, puis Natalina, pour sa sympathie, son dynamisme, nos discussions et moments partagés !

Je tiens beaucoup à remercier Safia et Carla, elles savent pourquoi, et notamment pour leur aide, soutien, et leur nuit blanche à relire ce manuscrit avec moi... Nicole pour nos petites pauses « cigarette » (et décompression !) bien sympathiques lors de mes moments de saturation dans la rédaction ! et son aide dans l'impression de ce manuscrit.

Enfin, je remercie toutes les autres personnes au laboratoire, pour leur aide ponctuelle, et ce qu'elles m'ont apporté, d'une façon ou d'une autre.

Je remercie aussi Lotfi, lors de ses passages au laboratoire, pour nos longues discussions, ses conseils, sa franchise, son soutien.

Je tiens également à remercier Michaël Zugaro et sa petite équipe, au Collège-de-France à Paris, qui m'ont très bien accueilli lors de ma formation, appris beaucoup de choses sur l'*in vivo* notamment, et avec lesquels j'ai beaucoup aimé travailler... et sortir ! Je remercie aussi Astrid Nehlig et son équipe, à Strasbourg, et Dirk Isbrandt et son équipe, en Allemagne.

Ensuite, sur un plan plus personnel, je tiens énormément à remercier Thierry, à Marseille, qui a vraiment su être là et m'apporter son oreille et son soutien dans les moments difficiles, Hélène également, ainsi que Cathy et Sébastien qui m'ont toujours ouvert leur porte lors de ces moments où Paris et tous les gens que j'aime là-bas me manquaient terriblement. Je remercie également tous mes amis ici, à Marseille, qui m'ont fait oublier ma « vie de laboratoire » par leur joie de vivre, leur amitié, leur goût de la nature, et qui, de ce fait, m'ont fait découvrir les joies de l'été dans le Sud ! Je pense notamment à Nabil, Domi, Fabien, mais aussi Sébastien et tout le groupe, notamment Patrick, pour tous ses encouragements, son énorme soutien, sa compréhension, son aide. Je remercie aussi Alexandre, pour sa compréhension.

Je tiens également à remercier tout particulièrement Delphine Cosandier-Rimelé, que j'ai rencontrée au laboratoire et qui est devenue une très bonne amie maintenant, pour nos moments partagés, au sein ou hors laboratoire, pour ses conseils, son soutien, ses encouragements, et ses commentaires dans la relecture de ce manuscrit.

Je voudrais maintenant remercier tous mes amis de Paris qui ont toujours su être là et m'encourager dans les moments difficiles de ma thèse, loin d'eux, loin de ma famille et loin de PARIS, je pense surtout à Naema, Virginie, Michaël, Guy, mon meilleur ami, mais également Sadrina, Lily, Nassim, et tous les autres... ils sont restés et resteront de véritables amis. Je remercie énormément ceux qui sont descendus exprès pour ma soutenance...

J'aimerais enfin terminer par remercier du fond du cœur ceux qui ont toujours su être là pour moi, à mon écoute, à me remonter le moral dans les moments difficiles, dans mes moments de doute, à m'encourager dans cette voie de la recherche : il s'agit de ma famille, et plus particulièrement mes parents et ma sœur. Ils sont ma base, mon équilibre. Mes parents m'ont toujours appris, dès mon plus jeune âge, à avancer quelque soit l'obstacle, à toujours me relever, et je les en remercie, car ainsi ils ont contribué à ce qui a fait ma force tout au long de ces quatre années de thèse loin de PARIS et de tous les gens qui m'y sont chers... Ils sont tout pour moi, et je tiens vraiment à les remercier en leur dédiant tout particulièrement cette thèse. Je remercie ma petite sœur, Morgan, pour avoir toujours le mot pour rire, dans les moments difficiles, et de m'avoir toujours soutenu et encouragé ; cette thèse lui est également

adressée. Je tiens également à remercier mes grands-parents espagnols, qui ont également su faire preuve de compréhension quant à mon travail et ma carrière, et m'ont toujours encouragé dans cette voie. Je leur dédie également ce manuscrit, en espérant que mon grand-père, qui n'est plus de ce monde malheureusement, aurait été fier de moi...

Enfin, je remercie énormément Eric, il sait pourquoi...





**« Las cosas de la vida merecen de estar vivido, que lloramos o nos alegramos... Por la ciencia es igual, algunas veces esta bien, otras veces muy mal, pero siempre merece que nos interesa a ella, para todo el excito que nos ofrece cada día que Dios hace...»**

*(« Les choses de la vie méritent d'être vécues, que l'on pleure ou que l'on rit... Pour la science, il en va de même, certaines fois tout va bien, d'autres tout va mal, mais elle mérite toujours cependant que l'on s'intéresse à elle, pour toute l'excitation qu'elle nous procure chaque jour que Dieu fait...»)*

Passionnée de danse classique, de pointes, heureuse parmi les petits rats de l'opéra et les danseuses étoiles, il en va de même dans le domaine de la recherche scientifique que j'exerce depuis voilà plus de quatre ans au laboratoire, en m'intéressant aux pointes et aux rats, dans le cadre de l'étude, tout aussi passionnante, de l'épilepsie...



*« La vie prend un sens lorsqu'on en fait une aspiration à ne renoncer à rien »*

**José Ortega & Gasset**

*"Face à l'obstacle, l'homme moyen abandonne ce qu'il a entrepris. Un grand esprit ne se lasse pas et termine ce qu'il a commencé, même si mille fois des obstacles se dressent devant lui, jusqu'à ce qu'il ait remporté le succès."*

**Sagesse hindoue**

*«Quand une situation est au pire, il faut qu'elle cesse ou qu'elle se relève...»*

**William Shakespeare- Extrait de *Macbeth***

*« Le sommeil qui débrouille les fils noués de souci,  
Qui fait mourir la vie de chaque journée,  
Mais baigne le dur labeur, et se fait le baume  
Des blessures de l'âme ; de la grande nature  
C'est la seconde provende. Au festin de la vie  
C'est le mets qui nourrit le mieux. »*

**William Shakespeare - Extrait de *Macbeth***



## Résumé

L'épilepsie du lobe temporal (ELT) est la forme d'épilepsie partielle la plus fréquente chez l'adulte. Elle se caractérise par une période de latence pendant laquelle l'ELT se met en place. Cette période est appelée épileptogénèse. L'épileptogénèse reste une période inaccessible chez l'Homme. Cependant, les modèles animaux présentent l'avantage de pouvoir l'étudier, dans le but de prévenir l'ELT. Ainsi, mon travail de thèse a consisté à mettre en évidence des marqueurs prédictifs de l'épileptogénèse, sur le plan cognitif et électrophysiologique *in vivo*, à partir du modèle pilocarpine. Les résultats ont montré que dès le stade précoce de l'épileptogénèse, des déficits de mémoire spatiale corrélaient avec une diminution de la puissance des oscillations thêta chez les animaux pilocarpine, sans modification jusqu'au stade chronique. Au même stade, une diminution de la puissance et de la fréquence des oscillations thêta lors du comportement d'exploration a été observée. L'activité interictale, activité paroxystique présente chez les patients entre leurs crises et caractéristique du stade épileptogène dans les modèles animaux, ne corrèle pas directement avec les déficits cognitifs mais diminue la puissance des oscillations thêta dans l'onde après la pointe au cours de l'épileptogénèse mais plus au stade chronique, ce qui suggère une importante modification du réseau avant le stade chronique. On a également décrit deux types d'activité interictale dont les propriétés (amplitude, nombre) et la dynamique au cours du temps sont modifiées juste avant la première crise spontanée, ce qui pourrait constituer, comme les déficits spatiaux et l'altération du rythme thêta, un marqueur prédictif de l'épileptogénèse. De plus, une augmentation du couplage entre l'hippocampe et le CE est observée au cours de l'épileptogénèse mais plus au stade chronique, alors qu'une modification du flux de l'information entre ces deux structures au stade épileptogène précoce persiste jusqu'au stade chronique, indépendamment de la présence ou non d'activité interictale. Ces résultats mettent en évidence la construction d'un réseau épileptogène, un changement majeur du réseau avant la première crise spontanée, et des marqueurs qui pourraient être prédictifs de l'épileptogénèse. L'ELT, les oscillations et les fonctions cognitives faisant intervenir des propriétés de réseau, tels les processus de synchronisation, l'enregistrement de 15 structures au sein du lobe temporal a montré, à partir du modèle pilocarpine, un réseau doté de caractéristiques plus « small-world » (SW) qui tendrait à se synchroniser plus localement, avec une perte des connexions longue distance. Ces résultats pourraient expliquer les altérations de réseau observées précédemment au cours de l'épileptogénèse. L'analyse SW et de cohérence, à l'échelle de ce réseau de structures, lors de différents états (comportementaux, processus cognitifs), mettent en évidence des changements de la dynamique lors de ces états, en conditions normales et pathologiques. Toutes ces modifications de réseau doivent être sûrement recrutées dans la mise en place d'un cerveau épileptique et des altérations cognitives associées.

## Mots clés

Epilepsie du lobe temporal ; épileptogénèse ; déficits cognitifs ; rythme thêta ; altérations de réseau ; électrophysiologie *in vivo* ; modèle pilocarpine ; rat.



## **Abstract**

Temporal lobe epilepsy (TLE) is the most common form of partial epilepsy in adults. TLE is characterized by a latent period during which TLE takes place. This period is called epileptogenesis. In TLE patients, epileptogenesis is unexplored. However, the use of animal models, like pilocarpine model, allows the study of epileptogenic processes, in order to try to prevent TLE. Thus, my PhD work tries to yield some predictive markers of epileptogenesis, in the pilocarpine model. We studied cognitive and electrophysiological *in vivo* alterations in this model. We showed that there are early and persistent spatial deficits that correlate with a decrease of the power of theta oscillations, i.e. during the early stage of epileptogenesis and the chronic stage. At the same time, there is also a decrease of power and frequency of theta rhythm during exploratory behaviors. Interictal-like activity (ILA) is a pathological activity present during epileptogenesis in experimental models. ILA does not correlate with cognitive deficits, but decreases theta power after the spike, i.e. in its wave, during epileptogenesis but not during the chronic stage anymore. This suggests an important network alteration before the chronic stage. Indeed, we described two types of ILA, whose properties (number, amplitude) and dynamics evolved during epileptogenesis with a major switch just before the first spontaneous seizure. All together, these results may constitute, with spatial deficits and theta rhythm alterations, predictive markers of epileptogenesis. Moreover, we showed an increase in the coupling, ILA-dependent, between the hippocampus and the entorhinal cortex, during epileptogenesis but not during the chronic stage, whereas a reversal of the information flow between these two structures occurs at the early stage of epileptogenesis and persists without any modification till the chronic stage. These results suggest the build-up of an epileptogenic network, a major switch of network properties just before the first spontaneous seizure, and some markers that could be predictive of epileptogenesis. TLE, oscillations and cognition involved processes at the network level, in particular synchronization processes. These processes could be possible via oscillations, which allow information transfer between structures of the network, in order to provide behavioral and cognitive processing. Recordings performed in 15 different structures of the temporal lobe showed, in pilocarpine animals, a network with more “small-world” (SW) features, with a higher local clustering and a loss of long-range connections. These results could explain cognitive and oscillatory alterations observed previously during epileptogenesis. SW and coherence analysis, at the network level, between signals during different brain-states (behaviors and cognitive processes) showed changes in dynamics occurring during these states, in normal and epileptogenic conditions. All these modifications in network activities may be involved in the construction of an epileptic brain and in associated cognitive deficits.

## **Key words**

Temporal lobe epilepsy; epileptogenesis; cognitive deficits; theta rhythm; network alterations; electrophysiology *in vivo*; pilocarpine model; rat.



*À mes parents, ma petite sœur,  
À mes grand-parents espagnols,  
À papy.*



# **Table des matières**

<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>5</b>

Quel type de dialogue s'opère entre les différentes régions cérébrales lors d'un état comportemental donné, en conditions normales et pathologiques ?

### **Chapitre I. Le lobe temporal**

<b>1. L'hippocampe</b>	<b>7</b>
<u>1.1 Structure</u>	10
<u>1.2. Types cellulaires</u>	10
<u>1.3. Connectivité intrahippocampique</u>	12
<u>1.4. Afférences et efférences externes</u>	14
<b>2. Le subiculum</b>	15
<b>3. Le Cortex Entorhinal</b>	17
<b>4. Les cortex péri- et post-rhinaux</b>	19
<b>5. L'amygdale</b>	20
<b>6. Le septum</b>	20
<u>6.1. Types cellulaires</u>	21
<u>6.2. Afférences et efférences</u>	21
<u>6.3. La voie septo-hippocampique</u>	23
<b>7. Le thalamus</b>	25
<b>8. Le noyau supramammillaire</b>	25
<b>9. Le cortex cingulaire postérieur</b>	25

Quel type de dialogue s'opère entre les différentes régions cérébrales lors d'un état comportemental donné ?

### **Chapitre II. En conditions normales**

#### **A. LES OSCILLATIONS**

<b>1. Généralités sur les oscillations</b>	<b>27</b>
<u>1.1 Les techniques d'enregistrement électro physiologiques <i>in vivo</i></u>	28
<u>1.2. Origine des oscillations</u>	28
<u>1.3. Rôle fonctionnel des oscillations</u>	29
<b>2. Rythmes cérébraux et réseaux impliqués</b>	<b>30</b>
<u>2.1. Définition</u>	31
<u>2.2. Les rythmes pendant l'état de veille</u>	31
2.2.1. <i>Le rythme thêta</i>	31
2.2.2. <i>Le rythme gamma</i>	48
2.2.3. <i>Les oscillations rapides de type « Sharp wave/Ripples »</i>	52
2.2.4. <i>Le rythme delta</i>	55
2.2.5. <i>Le rythme bêta</i>	55
<u>2.3 Les rythmes au cours du sommeil</u>	56
2.3.1. <i>Les oscillations de type « slow wave sleep»</i>	56
2.3.2. <i>Le rythme thêta</i>	57
2.3.3. <i>Le rythme gamma</i>	57
2.3.4. <i>Le rythme delta</i>	58
2.3.5. <i>Les oscillations de type SWR</i>	58

#### **B. LE TRAITEMENT COGNITIF**

<b>1. Les processus cognitifs</b>	<b>59</b>
<u>1.1. Le processus d'encodage</u>	60
<u>1.2. La consolidation mnésique</u>	60

1.3. Le processus de récupération	61
<b>2. La mémoire déclarative</b>	<b>62</b>
2.1. La mémoire spatiale	
2.1.1. Les représentations spatiales	63
2.1.2. Réaction à la nouveauté	64
2.1.3. Substrats cérébraux : études lésionnelles chez l'animal	65
2.1.4. Etudes de patients cérébrolésés	68
2.2. La mémoire non-spatiale	68
2.2.1. Etudes lésionnelles chez l'animal	69
2.2.2. Etudes de patients cérébrolésés	72

Quel type de dialogue s'opère entre les différentes régions cérébrales lors d'un état comportemental donné ?

### **Chapitre III. En conditions pathologiques**

#### **A. EPILEPSIE DU LOBE TEMPORAL**

<b>1. L'épilepsie</b>	<b>77</b>
1.1. Définition et caractéristiques	77
1.2. Zone épileptogène	78
<b>2. L'épilepsie du lobe temporal</b>	<b>78</b>
2.1. Définition et caractéristiques	78
2.2. Zone épileptogène dans les ELT	79
<b>3. L'épilepsie mésiale du lobe temporal</b>	<b>81</b>
3.1. Définition et caractéristiques	81
3.2. Réseaux épileptogènes	82
3.3. Activités rapides épileptiques	84
<b>4. Les modèles animaux d'ELT</b>	<b>89</b>
4.1. Les modèles d'épileptogénèse	89
4.1.1. Généralités	89
4.1.2. Modèle d'étude : le modèle pilocarpine	90
4.1.3. Autres modèles de l'ELT	92
4.2. Le Status Epilepticus	95
4.3. La période de latence	96
4.3.1. Définition	96
4.3.2. Caractéristiques	97
<b>5. Altérations morphologiques dans l'ELT</b>	<b>98</b>
5.1. Altérations morphologiques post-SE et post-ictales	99
5.1.1. Perte cellulaire	99
5.1.2. Bourgeonnement axonal	100
5.2. Conséquences de ces altérations	102
<b>6. Activités rythmiques paroxystiques</b>	<b>103</b>
6.1. L'activité interictale	103
6.1.1. Définition	103
6.1.2. Caractéristiques	104
6.1.3. Rôle des PI : protecteur ou précipitant	105
6.1.4. Activité des PI	107

6.1.5. Les différents types d'activité interictale	107
6.1.6. Mécanismes des PI : origine et propagation	108
6.1.7. Activité interictale et cognition	108
6.1.8. Activité interictale et rythmes cérébraux	108
6.1.9. Activité interictale et synchronie	109
6.2. L'activité ictale	109
<b><u>B. MODIFICATION DES ACTIVITES RYTHMIQUES DANS L'ELT</u></b>	<b>111</b>
1. Le rythme thêta	111
2. Le rythme gamma	112
3. Le rythme delta	112
4. Les SWS	112
5. Les oscillations très rapides de type « Ripples » et « Fast Ripples »	113
<b><u>C. ALTERATIONS COGNITIVES DANS L'ELT</u></b>	<b>113</b>
1. Chez les patients	113
1.1. Le Traitement antiépileptique	114
1.2. L'épilepsie proprement dite	114
1.3. Activité paroxystique	115
2. Dans les modèles animaux	117
2.1. Déficits cognitifs spatiaux	117
2.1.1. Généralités	117
2.1.2. Déficits spatiaux dans les différents modèles d'ELT	120
2.2. Causes potentielles de ces déficits	121
<b><u>D. L'EPILEPTOGENESE</u></b>	<b>123</b>
1. Définition et caractéristiques	123
2. Réorganisations fonctionnelles	124
3. Hypothèses concernant sa mise en place	124
<b><u>RESULTATS</u></b>	<b>126</b>
<b><u>Chapitre IV. Déficits cognitifs et altérations électro physiologiques de réseau au cours de l'épileptogenèse et de l'épilepsie</u></b>	
1. Contexte scientifique	126
2. Mon projet de thèse	126
<b><u>A. PARTIE MACROSCOPIQUE</u></b>	<b>129</b>
1. Etudes préliminaires de mise en place puis de mise au point au laboratoire	
1.1. Test permettant de discriminer simplement et rapidement la mémoire à court-terme et ses composantes spatiales et non-spatiales : le paradigme de détection de la nouveauté	129
1.2. Interface électro physiologique <i>in vivo</i>	134
2. Corrélations entre les déficits de mémoire spatiale et l'altération du rythme thêta dès le stade précoce de l'épileptogenèse	136
3. Conséquences de l'activité interictale sur le rythme thêta, au cours de l'épileptogenèse, chez l'Homme et dans le modèle pilocarpine	138
4. Etude de la dynamique des crises récurrentes et spontanées dans notre modèle d'ELT	142
4.1. Caractérisation du modèle réadapté	145
4.2. Caractérisation du processus d'épileptogenèse	146
5. Comportement, cognition et activité interictale au cours de l'épileptogenèse dans le modèle pilocarpine : comment ces paramètres interagissent entre eux ?	

5.1. Observations	149
5.2. Analyse descriptive de la dynamique d'apparition de l'activité interictale	150
5.3. Activité interictale et processus cognitifs – analyse détaillée	157
<b>6. Dynamique de l'activité interictale, couplage et flux de l'information entre l'hippocampe et le cortex entorhinal au cours de l'épileptogenèse dans le modèle pilocarpine</b>	<b>159</b>

**B. PARTIE MICROSCOPIQUE** 162  
Analyse extracellulaire du réseau temporel impliqué dans la genèse du rythme thêta, la mémoire spatiale et l'ELT, à l'aide de microélectrodes.

<b>1. Contexte scientifique et mise en place/au point de cette technique</b>	
1.1. Contexte scientifique	162
1.2. Phase de mise en place et mise au point	163
<b>2. Résultats préliminaires</b>	
2.1. Analyse des performances cognitives des animaux implantés	172
2.2. Analyse des oscillations « ripples », chez l'animal contrôle, épileptogène et épileptique	176
2.3. Analyse de l'architecture du réseau épileptogène et épileptique, i.e. réorganisé : étude « Small World »	183
2.3.1. Contexte scientifique	183
2.3.2. Concept du « Small World »	183
2.3.3. Analyse SW	187
2.3.4. Résultats préliminaires	187
2.3.5. Discussion	193
2.4. Comment les structures « se parlent » entre elles, lors d'un état comportemental et/ou processus cognitif donnés, en conditions normales et pathologiques	197
2.4.1. Contexte scientifique	197
2.4.2. Résultats préliminaires	198
2.4.3. Discussion	206

**Chapitre V. Discussion générale** 209

<b>1. Validité du modèle utilisé</b>	211
1.1. Le modèle pilocarpine	211
1.2. Comparaison avec d'autres modèles	212
1.3. Phase de latence et épileptogenèse	214
1.4. Déficits cognitifs	215
<b>2. Discussion des méthodes</b>	217
<b>3. Altérations électrophysiologiques</b>	220
3.1. Rythme thêta	220
3.2. Activité interictale	222
3.3. Activité ictale	224
<b>4. Hypothèses par rapport à nos travaux</b>	225
4.1. Déficit d'encodage	225
4.2. Déficits de consolidation	226
4.3. Phénomènes de synchronie via les oscillations	227
4.4. Synchronisation et connexions longue distance : le problème du « binding »	228
4.5. Mécanismes dynamiques pouvant sous-tendre les liens causaux entre rythme thêta, activité interictale et cognition	229
4.6. Marqueurs d'anticipation des crises	229
<b>5. Implications</b>	230
<b>6. Applications</b>	230
<b>7. Conclusion et Perspectives</b>	231

<b>Conclusion générale</b>	<b>233</b>
<b>Annexes</b>	<b>234</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>241</b>

***« Le travail éloigne de nous trois grands maux : l'ennui, le vice et le besoin. »***

Voltaire, *Candide*.



## Liste des abréviations

ACP	Analyse en composantes principales
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-Méthylisoazol-4-Propionate Acide
CA	Corne d'Ammon
CCK	Cholécystokinine
CE	Cortex entorhinal
CEm	CE médian
CPH	Cortex parahippocampique
CPA	Cortex pariétal associatif
CPF	Cortex préfrontal
CPFm	Cortex préfrontal médian
EEG	Electroencéphalogramme
ELT	Epilepsie du lobe temporal
ELTm	ELT mésiale
GABA	Acide Gamma-Amino-Butyrique
GD	Gyrus Denté
FR	« Fast Ripples »
ILA	Activité interictale (« Interictal-like activity »)
ip	Intrapéritonéal(e)
IN	Interneurones
j	jours
KA	Kainate
LiCl	Chlorure de lithium
LFP	Potentiel de champ local
LTP	Potentialisation à long terme
MEG	Magnétoencéphalographie
NMDA	N-Méthyl-D-Aspartate
O-LM	<i>Oriens -Lacunosum Moleculare</i>
PA	Potentiel d'action
PI	Pointe interictale
Pilo	Pilocarpine
PPS	Potentiel post-synaptique
PPSE	Potentiel post-synaptique excitateur
PPSI	Potentiel post-synaptique inhibiteur
PTZ	Pétylènetétrazol

PV	Parvalbumine
REM	« Rapid Eye Movement » (sommeil paradoxal)
RZE	Réseau de la zone épileptogène
RZP	Réseau de propagation
s	secondes
SE	<i>Status epilepticus</i>
SEEG	Stéréo-encéphalographie
SLM	<i>Stratum lacunosum moleculare</i>
SH	Sclérose hippocampique
SO	<i>Stratum oriens</i>
SPW	“Sharp wave”
SR	<i>Stratum radiatum</i>
SuM	Noyau supramammillaire
SW	Small World
SWR	“Sharp Wave Ripples”
SWS	“Slow Wave Sleep”
TBI	“Traumatic Brain Injury” (traumatisme crânien)
TF	Analyse temps-fréquence
ZE	Zone épileptogène





# INTRODUCTION GENERALE

L'**épilepsie** est une maladie qui touche une large part (1%) de la population mondiale et dont les mécanismes à l'origine de son développement restent encore mal connus aujourd'hui. L'hypothèse prédominante est restée pendant longtemps un déficit de l'équilibre excitation/inhibition suite à une agression initiale (choc, traumatisme crânien, convulsions fébriles, etc.) mais la question reste cependant ouverte. Il est bien établi que l'épilepsie est une **maladie des réseaux**, qui met en jeu non pas une mais plusieurs structures cérébrales connectées entre elles. En conditions normales, les structures cérébrales déchargent simultanément pour donner lieu à des oscillations, cruciales au comportement et à la cognition, comme par exemple lorsque l'on souhaite retenir un souvenir, ou bien encore s'orienter dans un environnement (dans ce cas, les structures mises en jeu sont principalement situées dans le lobe temporal, notamment au sein de l'hippocampe et des cortex rhinaux). En conditions épileptiques, ces structures se mettent, de manière synchrone ou non, à produire des activités pathologiques, dites paroxystiques, de très haute amplitude, conduisant parfois à une crise d'épilepsie, plus ou moins longue et plus ou moins sévère, selon les structures mises en jeu et l'étendue des aires cérébrales impliquées. En effet, un patient dont l'activité critique (de crise) touchera les structures temporales sera moins invalidé par sa crise (sensation épigastrique, angoisse) qu'un patient dont cette même activité impliquerait des structures impliquées dans le contrôle des mouvements (régions frontales). La sémiologie des crises dépend des structures impliquées dans ce réseau initial mais pas seulement, car d'autres facteurs sont en jeu. En effet, la sémiologie de la crise est aussi et surtout dépendante d'un autre réseau de structures, le réseau de propagation, mettant en jeu plus tardivement d'autres aires cérébrales. Par exemple, dans le cas de l'**épilepsie du lobe temporal (ELT)**, épilepsie qui a fait l'objet de ma thèse, le point de départ des décharges critiques se situe au niveau des structures du lobe temporal. Cependant, l'épilepsie peut secondairement impliquer d'autres structures connectées à celles activées initialement, conduisant à une sémiologie tardive par l'implication d'un vaste réseau de propagation. L'ELT peut aussi être secondairement généralisée. À ce fléau des crises d'épilepsie s'ajoutent, pour les patients épileptiques, des déficits cognitifs au cours de leurs périodes inter-critiques (entre leurs crises) : leurs plaintes concernent principalement la mémoire autobiographique (ils ne se rappellent plus de leurs dernières vacances par exemple) ou n'arrivent plus à se repérer dans l'espace (mémoire spatiale).

Beaucoup d'études ont été menées chez l'Homme et l'animal au stade chronique de la maladie (crises récurrentes et spontanées) pour essayer de trouver des traitements contre l'épilepsie, encore mal soignée à l'heure actuelle (30% de pharmacorésistance). Cependant, peu d'études ont été conduites pour comprendre les mécanismes à l'origine d'une telle perturbation morphologique et fonctionnelle. Pourtant, il s'agit de la période-clé pour identifier des marqueurs de prévention.

Ainsi, ma thèse porte sur cette période précédant l'épilepsie, appelée phase de latence, ou **épileptogénèse**, caractérisée par l'absence de crise d'épilepsie mais déjà par la mise en place d'activités pathologiques (El Hassar, 2007) et de déficits cognitifs (Rice, 1998 ; Hort, 1999). Les modèles animaux sont très pratiques pour ce type d'étude puisqu'ils présentent l'avantage de pouvoir étudier en détails cette période, totalement inexplorée chez les patients. Les modèles kainate et pilocarpine sont les modèles plus proches de l'ELT humaine (phase de latence, altérations morphologiques, sclérose hippocampique). J'ai utilisé le modèle pilocarpine car il s'agissait du modèle utilisé au laboratoire et sur lequel des études morphologiques et électrophysiologiques *in vitro* avaient déjà été menées au cours de la phase de latence. J'ai donc conservé ce modèle afin de l'explorer de manière complémentaire en conditions *in vivo*. Pour cela, j'ai développé la technique d'électrophysiologie *in vivo* au laboratoire (laboratoire exclusivement *in vitro* initialement). Ainsi, après plusieurs mois d'entraînement à la technique d'électrophysiologie *in vitro* (patch clamp) et de bibliographie sur mon projet de thèse, ma première année de thèse a ensuite consisté à installer et à mettre au point par moi-même la technique d'enregistrement *in vivo* sur le rat éveillé et libre de ses mouvements, enregistré pendant ses comportements mais aussi pendant un test de mémoire afin d'évaluer ses performances cognitives dès le stade précoce de l'épileptogénèse. Le but ultime de ce travail de thèse a été de mettre en évidence des marqueurs de cette phase d'épileptogénèse dans l'ELT.

Après une période consacrée aux études *in vivo* déjà menées sur le sujet, il m'est apparu que la littérature rapportait essentiellement des résultats comportementaux (Rice, 1998 ; Hort, 1999 ; Wu, 2001 ; Dos Santos, 2005): les animaux présentaient des déficits cognitifs, notamment spatiaux, dès l'épileptogénèse ainsi qu'au stade épileptique, mais sans résultat électrophysiologique associé. Les enregistrements *in vivo* réalisés dans ces études, en parallèle des tests comportementaux, avaient seulement pour but de confirmer que les animaux ne présentaient pas de profils critiques. Aucune étude n'avait été conduite sur le lien entre la cognition et tout autre indice électrophysiologique présent au cours de l'épileptogénèse (comme par exemple l'activité de pointes). J'ai alors réalisé une étude *in vivo*

en essayant d'établir des liens entre le rythme thêta - rythme majeur et indispensable au bon déroulement des processus cognitifs aussi bien chez l'Homme (Kahana, 1999) que chez l'animal (Vanderwolf, 1969 ; Buzsaki, 2002 ; 2006) - l'activité interictale, et les déficits cognitifs pendant la phase de latence chez les animaux traités à la « pilocarpine ».

Pour cela, j'ai commencé par implanter une électrode de champ d'assez gros diamètre, de l'ordre de 300µm, dans la couche CA1 de l'hippocampe, afin de répondre à une question simple, puisque cela n'avait jamais été étudié auparavant: Y a-t-il un lien entre les déficits cognitifs décrits dès l'épileptogénèse et le rythme thêta et/ou l'activité interictale? Cette question avait pour but d'identifier des marqueurs de prévention chez des patients à risque (par exemple après un traumatisme crânien). La présence d'activités paroxystiques pendant l'épileptogénèse et une éventuelle altération des caractéristiques (amplitude, fréquence) du rythme thêta a donc été la première étude de ma thèse. Pour mettre en évidence d'éventuels déficits cognitifs, et voir si les résultats coïncidaient avec ce qui avait été décrit dans la littérature concernant le déficit de mémoire spatiale *versus* non spatiale, j'ai également mis en place au laboratoire un test cognitif original, dont les premiers essais m'ont permis de confirmer la pertinence de ce test. J'ai choisi le test cognitif mis au point par le Dr Catherine Thinus-Blanc et ses collaborateurs (Poucet et al., 1986), car il discrimine très bien, et de manière originale (par rapport à des tests plus classiques comme la Piscine de Morris), le versant mémoire non-spatiale du versant mémoire spatiale via des tests consécutifs. De plus, ce test caractérise la composante « habituation » qui est également un critère important dans la mémoire à court-terme. Ce premier volet de mon travail, qui m'a valu d'importantes périodes de mises au point (électrophysiologie *in vivo*, modèle, test comportemental, chirurgie), a été très formateur puisqu'il m'a permis de surmonter la difficulté de monter par moi-même un projet *in vivo*, dans un laboratoire spécialisé dans l'*in vitro*. Cela m'a également permis de mieux considérer les problèmes encourus lorsque l'on fait des enregistrements *in vivo*, et de procéder à l'amélioration de détails techniques. Par la suite, la mise au point d'un second travail *in vivo*, plus précis, a ainsi été facilité. Ce second volet de ma thèse avait pour but d'élargir ma thématique de recherche, le premier travail ayant apporté des résultats concluants sur les liens fonctionnels existant entre les trois différentes variables (activités interictale, rythme thêta hippocampique et déficits cognitifs).

La seconde partie de mon travail de thèse s'articule autour d'un axe qui consiste à comprendre comment « se parlent » les structures entre elles, et à mettre en évidence leur degré de synchronie au cours de différentes tâches comportementales et cognitives. Les différentes structures enregistrées sont toutes interconnectées, et leur choix se justifie par leur

implication à la fois dans l'ELT, la genèse des activités critiques, intercritiques, la cognition et le rythme thêta. Ainsi, les structures auxquelles je me suis intéressée sont : l'hippocampe dorsal (couche pyramidale de CA1 ; CA3 ; Gyrus Denté), l'hippocampe ventral (au niveau des aires CA1 et CA3), le subiculum, le noyau supramammillaire, le cortex entorhinal, le thalamus, le cortex cingulaire postérieur, le cortex périrhinal. Puisque l'épilepsie est une maladie des réseaux, il semblait judicieux d'étudier la connectivité entre les structures impliquées dans cette pathologie. Il paraîtrait logique que l'épilepsie soit une maladie qui modifie la synchronie entre structures menant alors à des connections aberrantes, à des réseaux perturbés. Toute l'originalité de ce travail réside dans le fait qu'il s'agit d'une étude longitudinale pour chaque animal étudié qui est son propre contrôle et est exploré au stade contrôle, épileptogène et épileptique. Cette méthode de travail présente toutefois, malgré son efficacité et sa nouveauté, certains points ingrats puisque l'histologie, servant à vérifier que les électrodes sont bien implantées au sein des structures d'intérêt, se fait après sacrifice des animaux, c'est-à-dire à la fin de tout le travail expérimental.

Les résultats obtenus au cours de cette thèse sont présentés dans ce manuscrit, qui s'articule autour de six chapitres :

Dans une première partie, l'Introduction, je tâcherai de répondre à la question : « Quel type de dialogue s'opère entre les différentes régions cérébrales dans un état comportemental donné, en conditions normales et physiologiques ? » avec, dans un premier chapitre, la présentation des structures d'intérêt, au sein du lobe temporal, puis, dans un second chapitre, la réponse en conditions normales, enfin, dans un troisième chapitre, la réponse en conditions pathologiques, i.e. épileptiques (en prenant l'exemple de l'ELT). Dans ces deux derniers chapitres, j'aborderai les sujets traités au cours de ma thèse, à savoir les rythmes et la cognition, chez l'Homme et l'animal. Mon travail de thèse a principalement porté sur les travaux chez l'animal mais je pense qu'il est important, lorsqu'on étudie une pathologie humaine, d'en évoquer les aspects cliniques en faisant le parallèle chez l'Homme.

Dans une deuxième partie, i.e. un quatrième chapitre, je présenterai les résultats obtenus au cours de cette thèse sur les déficits cognitifs et les altérations électrophysiologiques/de réseau au cours de l'épileptogénèse et de l'épilepsie, principalement dans le modèle pilocarpine d'ELT. Dans une troisième partie, je discuterai mes résultats et, enfin, dans un dernier chapitre de conclusion, je rappellerai les principaux résultats mis en exergue au cours de cette thèse et je proposerai des perspectives de recherche à poursuivre sur ce thème.

# **INTRODUCTION**

Cette première partie s'articule autour d'une question centrale :

## **Quel type de dialogue s'opère entre les différentes régions cérébrales lors d'un état comportemental donné, en conditions normales et pathologiques ?**

Afin de répondre à cette question, il paraît tout d'abord nécessaire de présenter, dans un premier chapitre, les structures d'intérêt, principalement situées dans le lobe temporal. Dans un second chapitre, nous aborderons cette question chez le sujet sain, pour ensuite l'aborder, dans un troisième chapitre, en conditions pathologiques, i.e. épileptiques, en prenant l'exemple de l'épilepsie du lobe temporal.

L'objectif de cette thèse est en effet de mieux comprendre la dynamique de la réorganisation fonctionnelle des circuits au cours de l'épileptogénèse.

Ainsi, cette thèse s'organise autour des deux axes suivants :

- (i) en conditions normales, en décrivant tout d'abord les circuits étudiés, puis les activités générées par ces circuits, enfin les fonctions cognitives associées ;
- (ii) en condition pathologiques, i.e. épileptiques : en présentant tout d'abord ces conditions pathologiques, puis la réorganisation des circuits, ensuite la modification des activités et enfin les altérations cognitives.

# Chapitre I. Le lobe temporal

Chez l'Homme, le lobe temporal est une région du cerveau située dans la partie latérale et inférieure du cerveau (Figure 1).

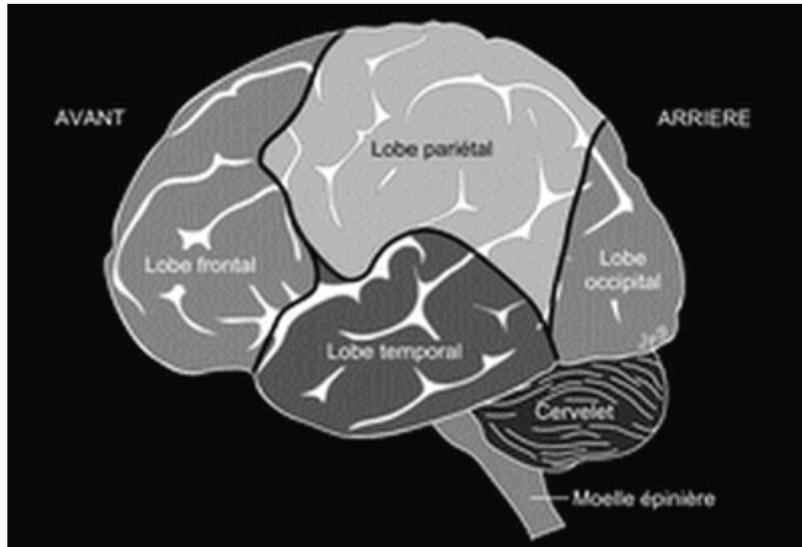


Figure 1

**Figure 1.** Localisation du lobe temporal dans le cortex cérébral humain (d'après [www.oecd.org/dataoecd](http://www.oecd.org/dataoecd))

C'est une zone impliquée dans de nombreuses fonctions cognitives, comme l'apprentissage et la mémoire. Le lobe temporal se compose de plusieurs structures, qui sont détaillées ci-dessous.

## 1. L'hippocampe

Chez l'Homme (Figure 2), l'hippocampe est une structure du télencéphale, appartenant au système limbique (Figure 3). Il se situe sur la face interne du lobe temporal, au-dessus de la cinquième circonvolution temporale. Pour chaque hippocampe, droit et gauche, on distingue l'hippocampe antérieur et l'hippocampe postérieur (ou « uncus »). L'hippocampe est divisé en deux : l'hippocampe proprement dit, formé de la Corne d'Ammon et du Gyrus Denté, et les structures parahippocampiques, le cortex entorhinal (CE) et le subiculum (Figure 4). Le CE représente la voie d'entrée de l'hippocampe, par laquelle les informations arrivent à l'hippocampe, et le subiculum la voie de sortie par laquelle les informations partent de l'hippocampe vers le reste du cerveau.

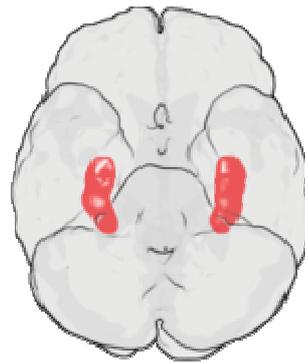


Figure 2

Figure 2. Localisation de l'hippocampe dans le cerveau humain (d'après [hyppocam.blogspot.com](http://hyppocam.blogspot.com))

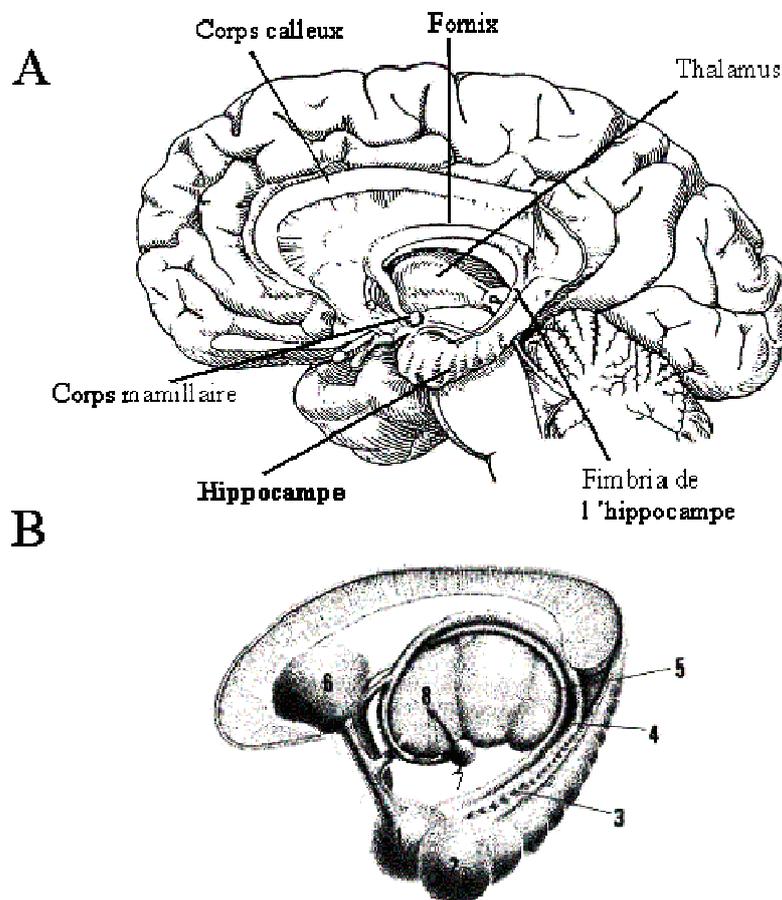
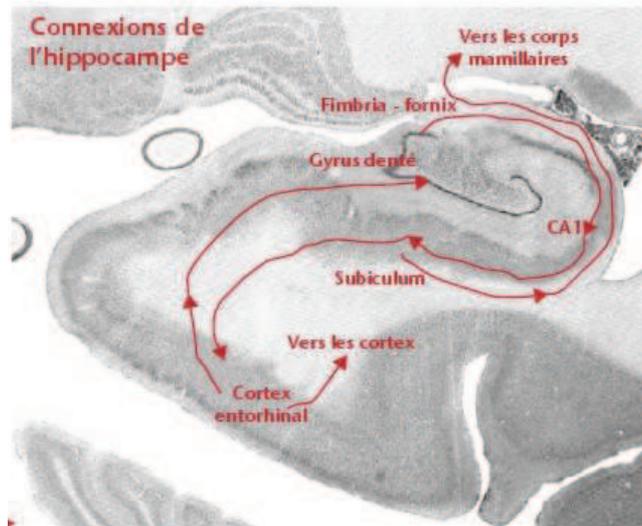


Figure 3

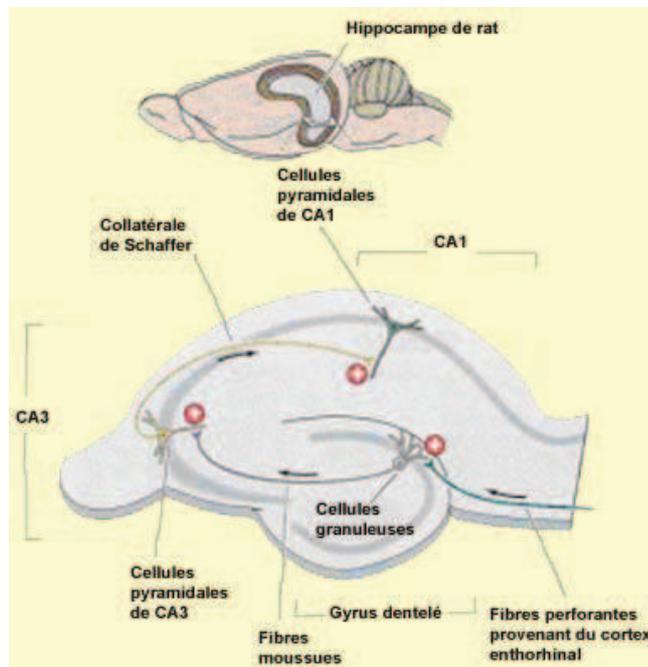
Figure 3. A. Coupe sagittale de l'hippocampe humain. B. Le système limbique chez l'Homme :  
 1. Amygdale, 2. Hippocampe, 3. Fimbria, 4. Fornix, 5. Strie terminale, 6. Septum, 7. Corps  
 mammillaire, 8. Thalamus.  
 (d'après [www.unige.ch/body.html](http://www.unige.ch/body.html))



**Figure 4**

**Figure 4.** L'hippocampe proprement dit (CA et Gyrus Denté) et ses structures parahippocampiques associées, le CE (voie d'entrée) et le subiculum (voie de sortie), chez l'Homme (d'après [www.john-libbey-eurotext.fr/e-docs](http://www.john-libbey-eurotext.fr/e-docs))

Chez le rat (Figure 5), l'hippocampe est une structure rostro-caudale. On distingue l'**hippocampe dorsal** et l'**hippocampe ventral**, correspondant respectivement à l'hippocampe antérieur et postérieur chez l'Homme. L'hippocampe de rat est également composé de la Corne d'Ammon et du Gyrus Denté.



**Figure 5**

**Figure 5.** Hippocampe de rat (d'après [lecerveau.mcgill.ca](http://lecerveau.mcgill.ca))

La Corne d'Ammon (CA) est subdivisée en quatre sous-parties, CA1, CA2, CA3 et CA4, (Lorente de Nö, 1934). Les aires CA1 et CA3 sont les plus étendues et les plus importantes sur le plan fonctionnel : l'aire CA1 est la voie de sortie de l'hippocampe. Elle possède des neurones principaux glutamatergiques de type pyramidaux, les cellules pyramidales. Les neurones de CA3 sont des cellules pyramidales plus grosses que celles de CA1, moins nombreuses, et qui présentent la particularité d'envoyer des collatérales récurrentes aux autres cellules pyramidales de CA3 (réseau local d'excitation récurrente (Amaral & Witter, 1989 ; Figure 8), faisant ainsi de cette couche une région très interconnectée de l'hippocampe (Amaral & Witter, 1995) contrairement à CA1, faiblement interconnectée. Les cellules de CA3 envoient plus d'afférences que celles de CA1 qui elles, reçoivent plus d'efférences que CA3. L'aire CA4 est plus communément évoquée aujourd'hui sous le nom de région polymorphe du hile du Gyrus Denté.

Le Gyrus Denté contient un grand nombre d'interneurones, notamment dans le hile, interneurones qui utilisent surtout l'acide gamma-amino-butyrique (GABA) comme neurotransmetteur (Houser, 2007).

## **1.1 Structure**

La **Corne d'Ammon (CA)** est subdivisée en différentes couches (Amaral & Witter, 1995) : (i) le *stratum oriens* qui contient les dendrites basales des cellules pyramidales, (ii) le *stratum pyramidale*, ou couche pyramidale qui contient les soma des cellules pyramidales, (iii) le *stratum lucidum* (uniquement dans CA3), qui contient les fibres moussues (axones des cellules granulaires), (iv) le *stratum radiatum* contenant les segments proximaux et moyen des dendrites apicales des cellules pyramidales, et (v) le *stratum lacunosum moleculare*, qui contient les dendrites distales des cellules pyramidales (Figure 6). Ces différentes couches contiennent également de nombreux IN qui sont distribués au sein de celles-ci (Figure 6).

Le **Gyrus Denté (GD)** est divisé en **trois parties** : (i) la région du **hile**, qui contient les neurones fusiformes (neurones non pyramidaux), (ii) la **couche des grains** qui contient les cellules granulaires, et (iii) la **couche moléculaire**.

## **1.2. Types cellulaires**

L'hippocampe est constitué de différents types cellulaires. On distingue tout d'abord deux grandes classes de neurones : (i) les **cellules principales**, i.e. les cellules pyramidales de

la CA, les cellules des grains du GD, et (ii) **les interneurones (INs)**. Les interneurones sont une population très hétérogène de neurones, qui varient non seulement par leur contenu neurochimique en peptide (somatostatine, neuropeptide Y, cholécystokinine) ou en protéines liant le calcium (parvalbumine, calbindine) mais également par leurs caractéristiques morphologiques et fonctionnelles. On peut distinguer trois grandes familles d'INs en fonction de la cible synaptique de l'arborisation axonale. La première famille est constituée d'INs innervant la région périsonomatique des cellules principales. Elle comprend deux types principaux d'interneurones : (i) les « cellules en panier » (ou « basket cells »), dont l'axone innerve le soma des cellules principales, et (ii) les interneurones axo-axoniques dont l'axone innerve le segment initial des cellules principales. La deuxième famille est constituée d'INs innervant les dendrites des cellules principales. Dans cette famille, on distingue de nombreux types cellulaires, comme les cellules bistratifiées, les cellules O-LM (« *Oriens-Lacunosum Moleculare* »), MOPP (« *MOlecular layer Perforant Path-associated* »), HICAP (« *Hilar Commissural-Associated Pathway-related* ») et HIPP (« *Hilar Perforant Path-associated* »), ces trois derniers types étant des neurones du GD, et les cellules trilaminaires – horizontales et radiales – au sein de CA3 (Freund & Buzsaki, 1996 ; Klausberger & Somogyi, 2008 ; Figure 6). Enfin, il existe une troisième famille d'INs dont l'axone innerve spécifiquement d'autres INs (Figure 6).

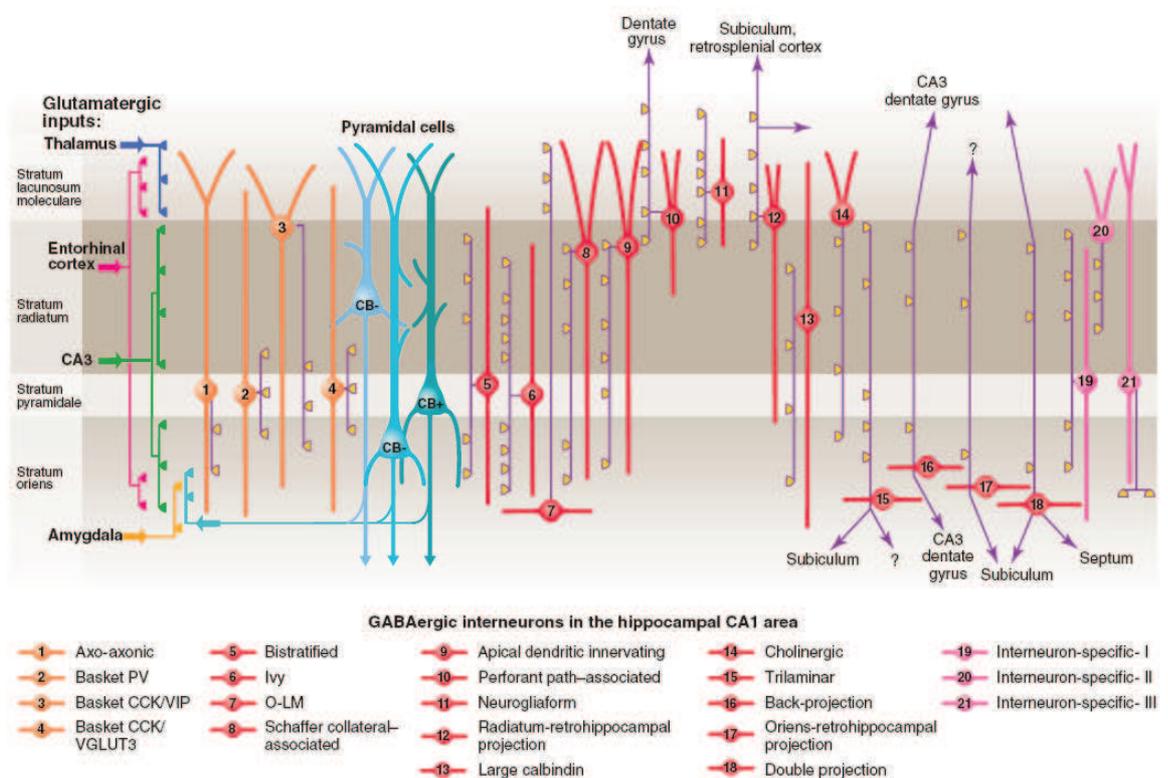


Figure 6

Figure 6. INs GABAergiques de la région CA1 de l'hippocampe  
(d'après Klausberger & Somogyi, 2008).

Lorsque ces IN hippocampiques sont activés par des afférences extrinsèques, ils participent à l'**inhibition « feed-forward »**. En revanche, lorsqu'ils sont activés par les collatérales récurrentes des axones des cellules pyramidales (comme dans CA3), ils participent à l'**inhibition « feed-back »** (Figure 7). Par exemple, les cellules O-LM ne sont activées que par des collatérales récurrentes des cellules pyramidales et donc participent principalement à l'inhibition « feedback » (elles reçoivent également une afférence extrinsèque).

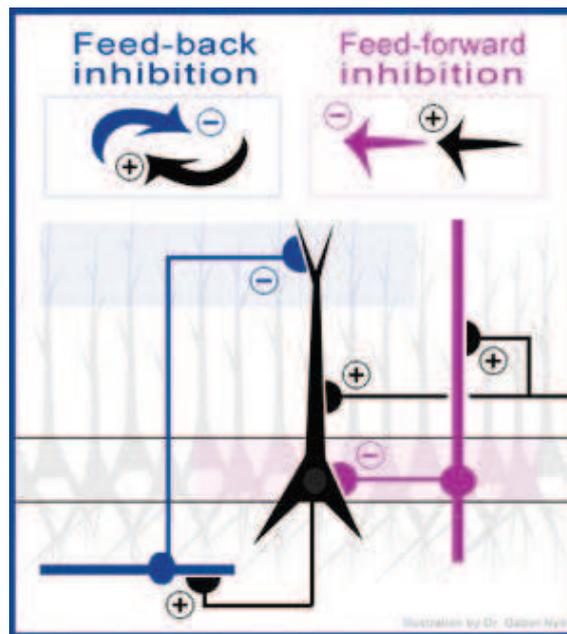


Figure 7

**Figure 7. Représentation schématique des deux formes d'inhibition fondamentales dans le cerveau, de type « feed-back » et « feed-forward ».** En noir, sont représentées les cellules principales excitatrices ; en violet et en bleu sont représentées les INs inhibiteurs de type « feed-forward » et « feedback », respectivement. Les « + » indiquent le phénomène d'excitation, les « - » le phénomène d'inhibition. Dans le cas de l'inhibition « feed-forward », quand un neurone distant excite un IN, il va aussi inhiber d'autres neurones; cependant, dans le cas de l'inhibition « feed-back », l'IN reçoit l'excitation de la même population neuronale excitatrice qui va inhiber en retour (d'après *Scholarpedia*, 3(9):4720).

### 1.3. Connectivité intrahippocampique

#### a) le circuit trisynaptique

Les différentes régions de l'hippocampe sont interconnectées entre elles via le **circuit trisynaptique** (Amaral & Witter, 1995) : les cellules des grains du Gyrus Denté envoient leurs projections axonales, les **fibres moussues**, vers *le stratum lucidum* de CA3. Ces dernières envoient leurs axones, les **collatérales de Schäffer**, innerver les cellules pyramidales de CA1 (Figures 8 et 9).

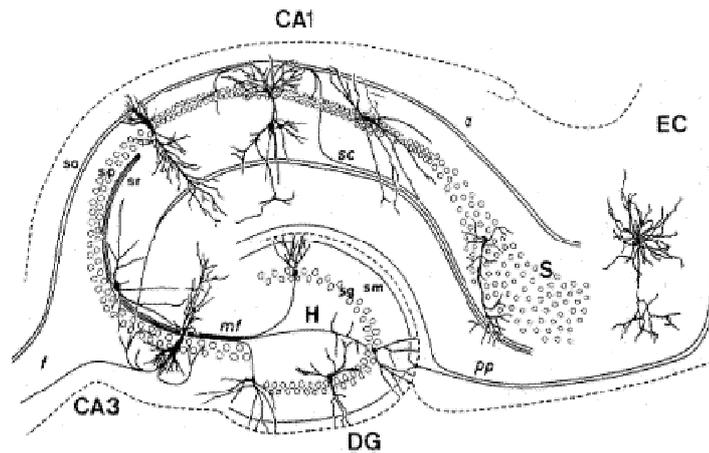


Figure 8

Figure 8. Coupe sagittale de l'hippocampe. Afférences intrinsèques, voie d'entrée (EC) et de sortie (subiculum) (d'après [en.wikivisual.com/index.php/Hippocampus](http://en.wikivisual.com/index.php/Hippocampus))

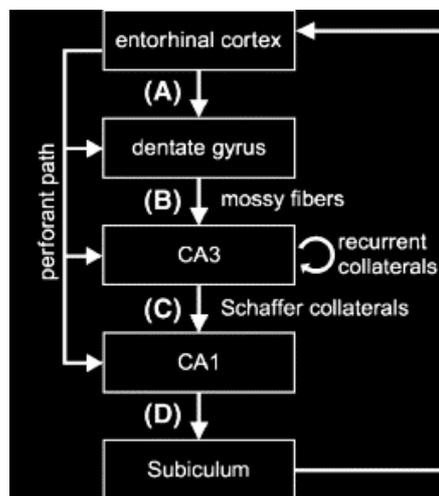


Figure 9

Figure 9. Afférences intrinsèques de l'hippocampe avec les différentes voies de transmission de l'information impliquées : (A) voie perforante ; (B) : voie des fibres moussues ; (C) : voie des collatérales de Schäffer ; (D) : connexion de CA1 vers le subiculum. Ensuite, le subiculum va innervier les couches profondes du CE (tiré de *Axmacher et al., 2006*).

## b) les autres voies possibles

De plus, les cellules de la couche II du cortex entorhinal (CE) envoient leurs axones projeter vers la couche des grains du Gyrus Denté via la **voie perforante**, les cellules de la couche III du CE vers la région CA1 via la **voie temporoammonique** (aussi appelée le **faisceau angulaire** ; Figures 10 et 11).

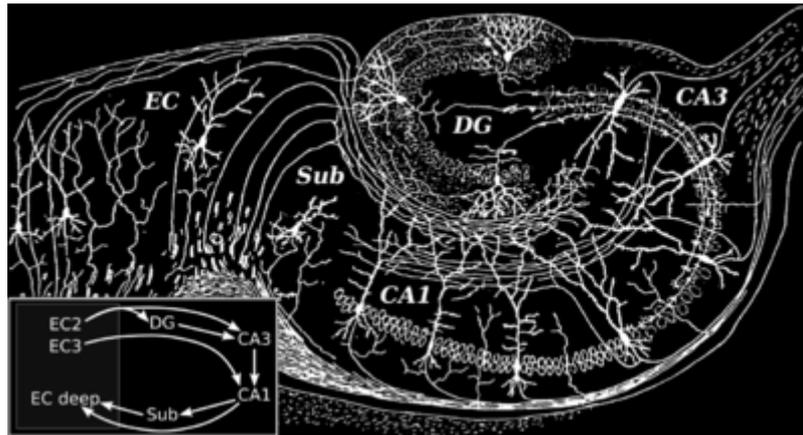


Figure 10

Figure 10. Circuit simplifié de l'hippocampe (DG: dentate gyrus. Sub: subiculum. EC: entorhinal cortex ; Ramon y Cajal) (tiré de [homepages.nyu.edu](http://homepages.nyu.edu))

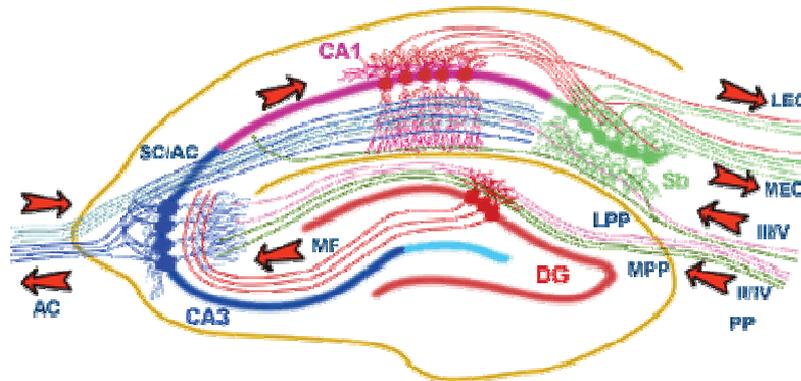


Figure 11

Figure 11. Le réseau hippocampique : l'hippocampe forme un réseau principal unidirectionnel, avec des afférences du CE qui forment des connexions avec le Gyrus Denté (DG) et les cellules pyramidales de CA3 via la voie perforante (PP) médiane (MPP) et latérale (LPP). Les neurones de CA3 reçoivent aussi des afférences du Gyrus Denté via les fibres moussues (MF). Ils envoient leurs axones vers les cellules pyramidales de CA1 via les collatérales de Schaffer (SC), et vers les cellules de CA1 dans l'hippocampe controlatérale via la voie commissurale (AC). Les neurones de CA1 reçoivent aussi des afférences directes de la voie perforante et envoient leurs axones vers le subiculum (Sb). En retour, ces neurones subiculaires envoient la principale efférence hippocampique vers le CE formant ainsi une boucle. (tiré de *Sharma et al., 2007*).

Enfin, les hippocampes ipsi- et controlatéral peuvent échanger des informations via les **fibres commissurales**, surtout chez le rat (Tamamaki et al., 1984).

## 1.4. Afférences et efférences externes

Les **afférences** et **efférences** de l'hippocampe sont nombreuses (Figure 12). La majorité des afférences de l'hippocampe proviennent du CE via la voie perforante, i.e. la couche II du CE projetée vers le Gyrus Denté. Les autres afférences de l'hippocampe sont constituées par la voie temporoammonique, i.e. la couche III du CE qui projette sur la région CA1, le subiculum qui innerve CA1, le noyau septo-hippocampique la région CA1 et le Gyrus Denté, le septum

médian qui projette sur CA1 (Freund & Antal, 1988 ; Freund & Buzsaki, 1996 ), le noyau reuniens du thalamus sur les dendrites de CA1 (Wouterlood et al., 1990), le noyau supramammillaire sur le Gyrus Denté et CA2/CA3a (Magloczky et al., 1994), le cortex cingulaire postérieur sur les régions CA1, CA3 et le Gyrus Denté (Jones & Witter, 2007), l'amygdale sur CA1 et CA3 (Pitkänen et al. ; 2000), et le cortex périrhinal sur CA1 (Suzuki & Amaral, 1990 ; Witter et al., 1988 ; 1989). Pour les efférences, les cellules pyramidales de CA1 projettent sur les cellules du subiculum, le complexe amygdalaire (Pitkänen et al. ; 2000), le septum médian via la voie fimbria-fornix, le CE et les corps mammillaires (dont le SuM) via les neurones non pyramidaux de la CA (Swanson & Cowan, 1977 ; Tamamaki et al., 1984). L'hippocampe projette également vers le cortex préfrontal (CPF).

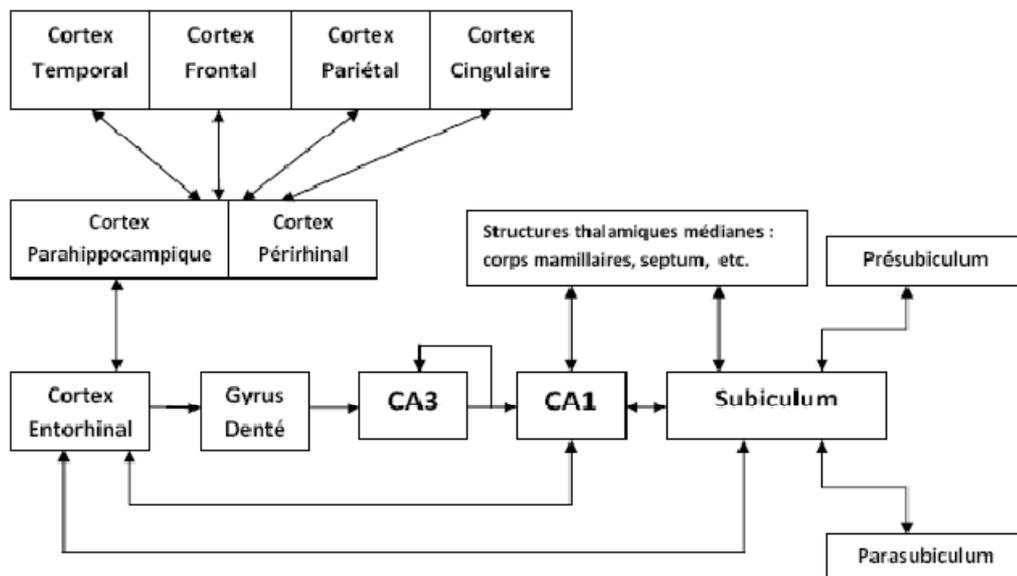


Figure 12

Figure 12. Les principales connexions intrinsèques et extrinsèques de l'hippocampe  
(d'après la revue O'Mara, 1995)

## 2. Le Subiculum

Le subiculum correspond à la partie la plus inférieure de la formation hippocampique (Figures 13 et 14). Chez l'Homme, il est situé juste au-dessous de l'uncus du lobe temporal (Figure 13). C'est la **principale voie de sortie de CA1**. Il joue notamment un rôle dans le traitement de l'information cognitive et sensorielle.

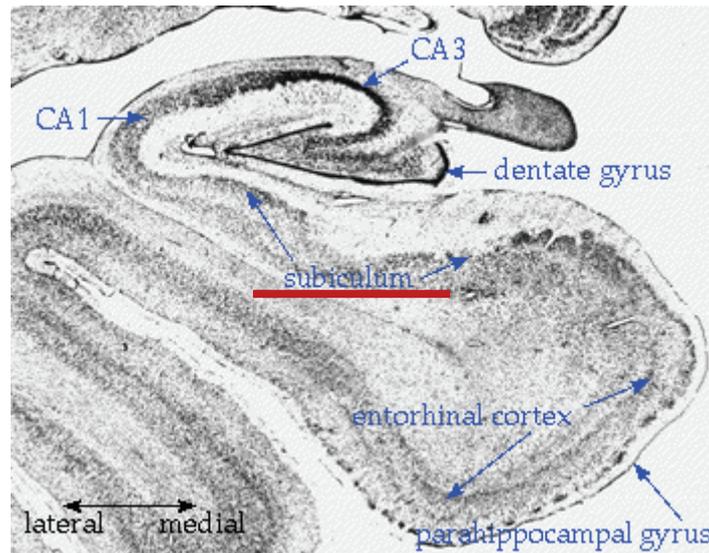


Figure 13

Figure 13. Le subiculum au sein de la formation hippocampique (hippocampe, CE, gyrus parahippocampique), chez l'Homme. (d'après [www.john-libbey-eurotext.fr](http://www.john-libbey-eurotext.fr))

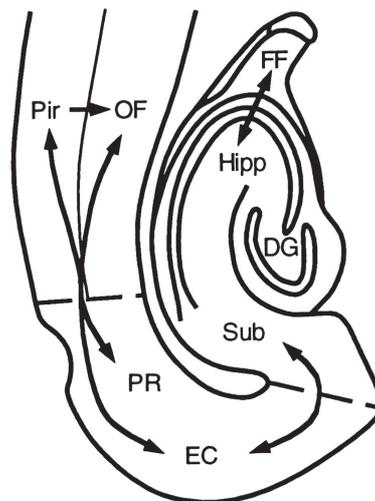


Figure 14

Figure 14. Le subiculum au sein de la formation hippocampique (cerveau de rat)  
 [EC : cortex entorhinal ; Pir : cortex piriforme ; OF : cortex orbitofrontal ; PR : cortex périrhinal ; Sub : subiculum ; DG : Gurus Denté ; Hipp : hippocampe ; FF : voire fimbria-fornix]

Le subiculum reçoit principalement des afférences de CA1, mais aussi de la couche III des neurones pyramidaux du CE, et innerve en retour ces deux structures (surtout vers les couches III et IV du CE), ce qui induit un système de deux boucles récurrentes. Le subiculum projette aussi vers le pré- et le parasubiculum, et reçoit également des projections du noyau reuniens du thalamus. Via le **fornix**, le subiculum innerve les corps mamillaires, les noyaux

thalamiques, l'amygdale; il innerve également le septum, le noyau accumbens et le CPF (Groenewegen et al., 1987 ; Figure 14).

Le subiculum possède également, comme l'aire CA3, des connections locales récurrentes.

### 3. Le Cortex entorhinal

Chez l'Homme, le cortex entorhinal (CE) se situe dans le lobe temporal interne, entre l'hippocampe et la scissure rhinale (Figure 15). Le CE est composé de six couches, divisées en deux catégories : (i) les couches superficielles -couches I à III-, et (ii) les couches profondes –couches V et VI. Comme l'hippocampe, il serait impliqué dans le traitement des informations spatiales.

Les neurones des couches superficielles du CE projettent vers toutes les régions de l'hippocampe (Steward, 1976 ; Witter 1993 ; Leung, 1995 ; Tamamaki, 1997 ; Dolorfo & Amaral, 1998). En retour, les neurones des couches profondes du CE sont les principales cibles des cellules pyramidales de CA1 et du subiculum (Swanson & Cowan, 1977 ; Beckstead, 1978 ; Köhler, 1986a, b ; van Haeften et al., 1995 ; Naber & Witter, 1998 ; Kloosterman et al., 2003). Cependant quelques efférences de CA1 ou du subiculum projettent vers les couches superficielles du CE (Köhler, 1985 ; van Haeften et al., 1995 ; Kloosterman et al., 2003). Ces dernières projettent également vers les couches profondes du CE (Köhler, 1986a, b ; Dolorfo & Amaral, 1998; van Haeften et al., 2003). Ces projections sont principalement excitatrices, envoyant des axones à la fois vers les cellules pyramidales et les IN (van Haeften et al., 2003).

Il existe deux voies, directe et indirecte, de projection du CE vers la région CA1 : les neurones de la couche III du CE projettent directement, via la **voie temporoammonique**, vers le *stratum lacunosum moleculare* de CA1, alors que les neurones de la couche II projettent de manière indirecte vers CA1, en innervant d'abord les cellules granulaires du GD via la voie perforante qui vont activer les cellules de CA3 via les fibres moussues, l'information arrivant à la fin dans le *stratum radiatum* de CA1 via les collatérales de Schäffer (Ishizuka et al., 1990 ; Li et al., 1994). En retour, les neurones de CA1 et du subiculum projettent vers les couches V et VI. Seulement quelques neurones des couches V et VI projettent vers l'hippocampe proprement dit (Chrobak et al., 2000). Les cellules étoilées du CE représentent la source majeure de l'entrée synaptique et excitatrice vers le Gyrus Denté (Segal and Landis, 1974b ; Steward, 1976) (Figure 15).

Le CE projette aussi, via les couches V et VI, vers le cortex périrhinal et le CPF médian (CPFm ; Siapas & Wilson, 1998). En retour, ces couches profondes (V et VI) reçoivent des signaux hippocampiques qui projettent aussi vers le néocortex et qui sont corrélés à une décharge simultanée de neurones au niveau d'au moins deux cibles néocorticales du CE (comme le cortex périrhinal et le CPFm). Les couches I-IV du CE, quant à elles, reçoivent des entrées corticales qui projettent vers l'hippocampe. Le CE envoie également des afférences vers le cortex cingulaire postérieur (Suzuki & Amaral, 1994a ; Insausti et al., 1997 ; Burwell & Amaral, 1998). Il reçoit des efférences du thalamus (noyau reuniens), du cortex cingulaire postérieur, du cortex périrhinal et du subiculum. Il existe aussi des connections réciproques entre le CE et l'amygdale (Amaral and Witter, 1995).

L'ensemble des informations issues des autres cortex convergent au sein du CE, avant d'être envoyées vers l'hippocampe via la voie perforante.

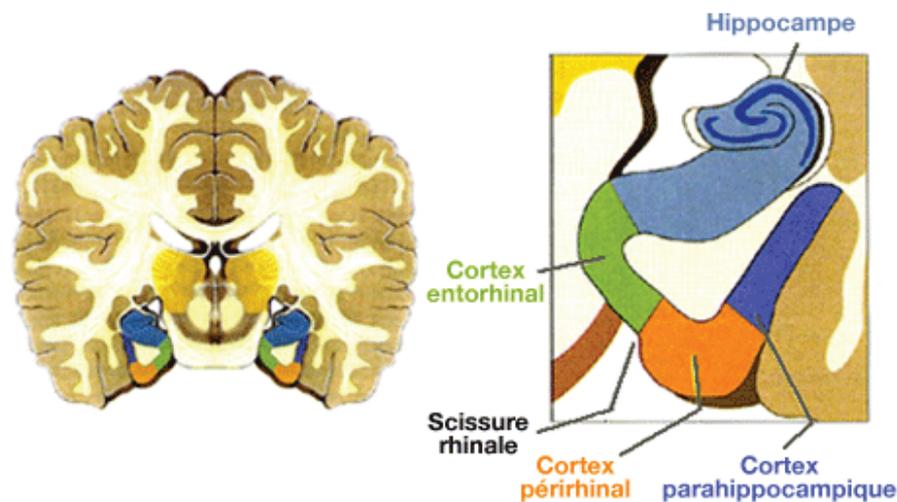


Figure 15

Figure 15. Coupe de cerveau humain : hippocampe et structures associées (CE, cortex périrhinal, cortex parahippocampique) par rapport à la scissure rhinale.

(d'après [http://le\\_cerveau/mcgill.ca](http://le_cerveau/mcgill.ca))

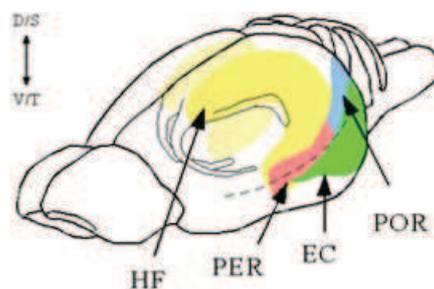


Figure 16

Figure 16. Formation hippocampique d'un cerveau de rat. En jaune, l'hippocampe (HF) ; en rose, le cortex périrhinal (PER), en vert, le CE (EC) et en bleu, le cortex postrhinal (POR).

(d'après [www.brown.edu/Research/Burwell-Lab/Research.html](http://www.brown.edu/Research/Burwell-Lab/Research.html))

## 4. Les cortex péri- et post-rhinaux

Chez l'Homme, le **cortex périrhinal** est une structure médiane du lobe temporal définie par deux régions : les aires 35 et 36 de Brodmann (Burwell, 2001; Figure 15). Il est entouré par le cortex postrhinal, le CE et les structures parahippocampiques. Chez le rat, le cortex périrhinal entoure le premier tiers postérieur du sillon rhinal. Il est bordé ventralement par le cortex entorhinal et dorsalement par le cortex auditif et le cortex extrastrié (Deacon et al., 1983 ; Burwell et al., 1995). Chez toutes les espèces étudiées, il est actuellement bien admis que le cortex périrhinal est un cortex associatif multimodal (Suzuki & Amaral, 1994a, b). Le cortex périrhinal reste décrit comme étant la principale interface entre la formation hippocampique et le néocortex (van Hoesen & Pandya, 1975a, b ; Suzuki & Amaral, 1994a, b ; Insausti et al., 1997). Il jouerait un rôle important dans la mémoire de reconnaissance à long-terme.

Grâce à l'utilisation de traceurs rétrogrades et antérogrades, des études histologiques ont montré chez le rat (Figure 16), comme chez d'autres espèces, (Kosel, 1981 ; Deacon et al., 1983 ; Guldin & Markowitsch, 1983), que le cortex périrhinal reçoit des afférences des cortex pariétal, temporal, occipital, insulaire et piriforme. Les cortex frontal, insulaire et piriforme projettent préférentiellement vers le cortex périrhinal ventral alors que les cortex temporal et occipital projettent essentiellement vers le cortex périrhinal dorsal. Le cortex périrhinal a également été décrit comme établissant un lien majeur entre les aires corticales associatives et la formation hippocampique et l'amygdale (Jones & Powell, 1970 ; Van Hoesen et Pandya, 1975a,b ; Deacon et al., 1983 ; Turner & Zimmer, 1984). Au sein de la formation hippocampique, le cortex périrhinal envoie principalement des entrées vers le CE, ainsi que vers le subiculum, à la fois chez le rat et le singe (van Hoesen et Pandya, 1975b ; van Hoesen et al., 1979 ; Kosel, 1981 ; Kosel et al., 1983 ; Burwell & Amaral, 1998). Certains auteurs ont décrit qu'il projetait également vers la région CA1 de l'hippocampe (Suzuki & Amaral, 1990 ; Witter et al., 1988 ; 1989) mais cela reste controversé (Liu & Bilkey, 1996 ; Canning & Leung, 1997). Les principales efférences du cortex périrhinal proviennent du CE, essentiellement de la partie rostro-latérale (Burwell and Amaral, 1998).

Le **cortex postrhinal** est une structure située au-dessus du CE. Il projette vers une partie de la région rostro-latérale du CE, mais également vers les parties caudales et médiales. Il jouerait un rôle dans la navigation spatiale.

Les projections des cortex péri- et post-rhinaux vers le CE ont pour origine les couches III et V et se terminent préférentiellement dans les couches II et III (Burwell and Amaral, 1998).

## 5. L'amygdale

Située en avant de l'hippocampe (Figure 17), l'amygdale appartient au « circuit de la peur » qui fait intervenir le thalamus, l'hippocampe et le noyau latéral basal amygdalien, ce dernier recevant des afférences du cortex et du thalamus et présentant des connections réciproques avec l'hippocampe.

L'amygdale projette vers le CE (couche III principalement et couche V ; Pitkänen et al.; 2000), le cortex périrhinal, la région CA3 et le subiculum. En retour, elle reçoit des projections de CA1, du CE, du cortex périrhinal, du thalamus et du subiculum (Pitkänen et al., 2000).

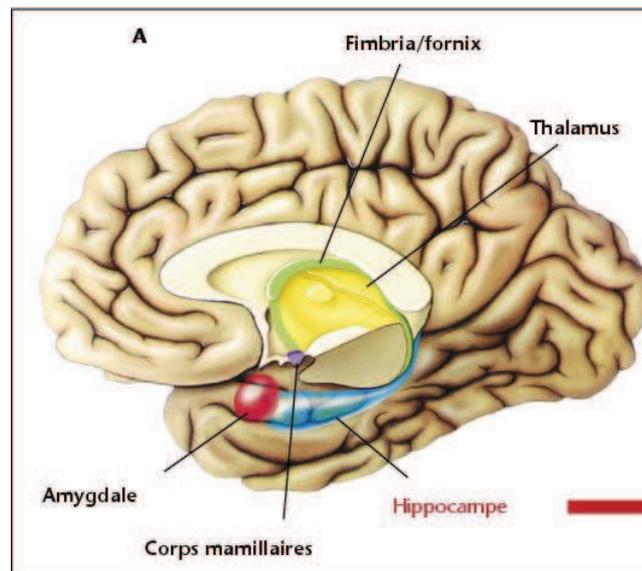


Figure 17

Figure 17. Coupe de cerveau présentant le système limbique, dont l'amygdale.  
(d'après [www.john-libbey-eurotext.fr](http://www.john-libbey-eurotext.fr))

## 6. Le Septum

Le septum se situe en avant de l'hippocampe. On distingue le **septum médian** et le **septum latéral** (Figure 18). Le septum médian, et plus particulièrement le complexe septum médian-bande diagonale de Broca (MS-DBB) jouerait un rôle important dans la genèse du rythme thêta ainsi que dans la mémoire spatiale.

## 6.1. Types cellulaires

Le **septum médian** contient, au moins, trois populations neuronales (Figure 18): GABAergiques, cholinergiques (Panula et al., 1984) et glutamatergiques (Manns et al., 2001 ; Sotty et al., 2003 ; Colom et al., 2005). Les neurones GABAergiques ont une distribution étendue dans cette structure (Esclapez et al., 1993 ; 1994), alors que les neurones cholinergiques sont confinés au complexe MS-DBB. Les neurones glutamatergiques quant à eux sont également très nombreux dans le complexe MS-DBB (Colom et al., 2005).

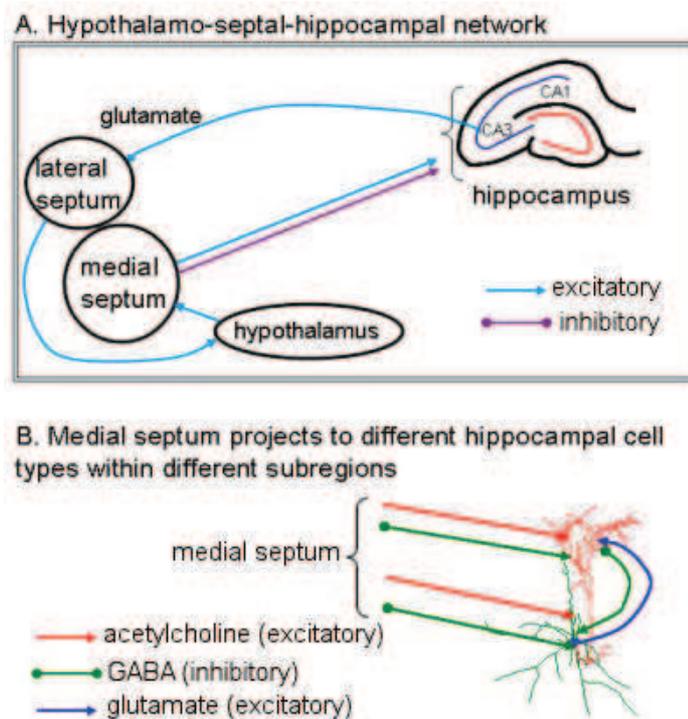


Figure 18

**Figure 18. A. Réseau hypothalamo-septo (septum latéral et médian)-hippocampique et connexions au sein de ce réseau** (en bleu, les connexions excitatrices, i.e. glutamatergiques, en violet, les connexions inhibitrices).

**B. Projection du septum médian vers les différents types cellulaires de l'hippocampe** (en rouge, les connexions excitatrices cholinergiques ; en vert, les connexions inhibitrices GABAergiques ; en bleu, les connexions excitatrices glutamatergiques) (d'après le site de l'Université de Washington, [www.pigeon.psy.tufts.edu/asc/mizumori/default.htm](http://www.pigeon.psy.tufts.edu/asc/mizumori/default.htm))

## 6.2. Afférences et efférences

Le **septum latéral** est la principale cible des projections de l'hippocampe (Figure 18). Les cellules pyramidales de la région CA1 et le subiculum projettent vers le septum latéral

rostral et ventral, tandis que les cellules pyramidales de CA3 projettent vers la partie caudale du septum latéral (Risold & Swanson, 1997). Il y a également quelques connexions entre l'hippocampe et le complexe MS-DBB via les IN, principalement GABAergiques, de l'hippocampe (Freund & Antal, 1988 ; Freund & Buzsaki, 1996; Figure 18).

Le septum (majoritairement le septum médian et le complexe MS-DBB ; Figures 19 et 20) envoie des projections, cholinergiques (40-50 %) et GABAergiques (10-20 %) vers l'hippocampe. Il innerve également le thalamus, l'hypothalamus, le noyau du raphé, l'aire tegmentale ventrale et le complexe mamillaire, dont le noyau supramammillaire (SuM). Il reçoit également des entrées de plusieurs noyaux hypothalamiques, dont le SuM, et du tronc cérébral (Vertes, 1992 ; Vertes et al., 1995 ; Risold & Swanson, 1997 ; Borhegyi & Freund, 1998 ; Borhegyi et al., 1998 ; Leranth et al., 1999). Les noyaux hypothalamiques ont des connexions bidirectionnelles avec le septum latéral, essentiellement rostral. La partie caudale du septum latéral projette vers l'hypothalamus latéral et vers le SuM qui projette en retour vers l'hippocampe et reçoit ses entrées censées réguler les états comportementaux, comme l'état de défense chez l'animal (Risold & Swanson, 1997). Bien que les nombreuses connexions réciproques entre le septum médian et le SuM indiquent plutôt un couplage fonctionnel bidirectionnel, les études de lésions et de stimulations peuvent seulement expliquer le rôle de la voie ascendante du SuM vers le septum médian (Vertes, 1988 ; 1992 ; Leranth & Kiss, 1996 ; Borhegyi & Freund, 1998 ; Kiss et al., 2000).

Le septum est relié à l'**hippocampe** par un faisceau de fibres, la **voie fimbria-fornix**, qui en retour lui envoie des projections excitatrices glutamatergiques et GABAergiques (Leranth & Frotscher, 1987a,b). Cette voie joue un rôle considérable dans la régulation du rythme thêta (cf. chapitre suivant) puisque les neurones cholinergiques activent les IN GABAergiques qui en retour inhibent les neurones cholinergiques (Buzsaki et al., 2002; Figure 18).

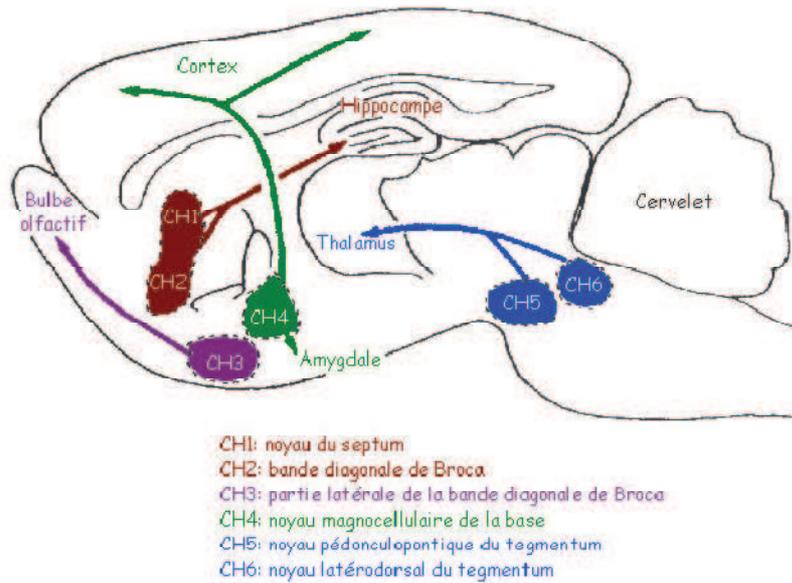


Figure 19

Figure 19. Complexe MS-DBB/hippocampe chez le rat (d'après Mesulam et al., 1983)

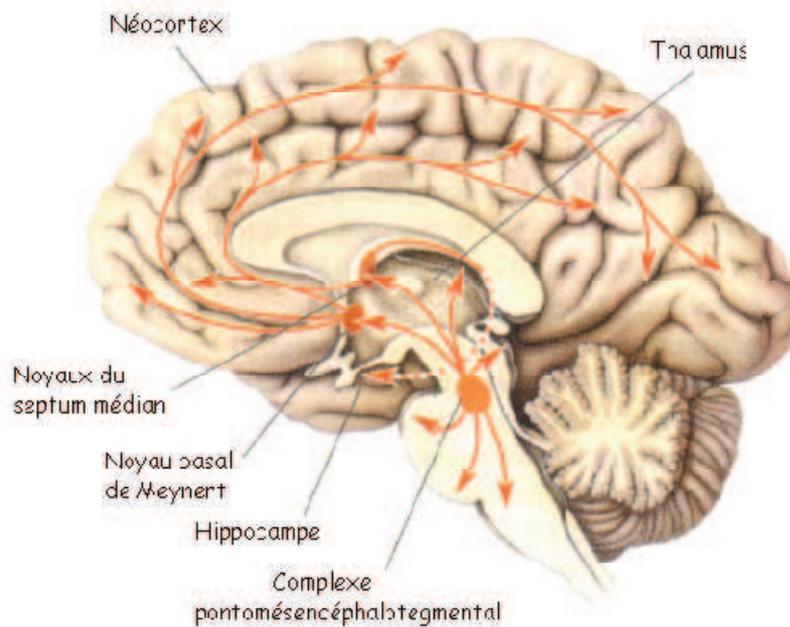


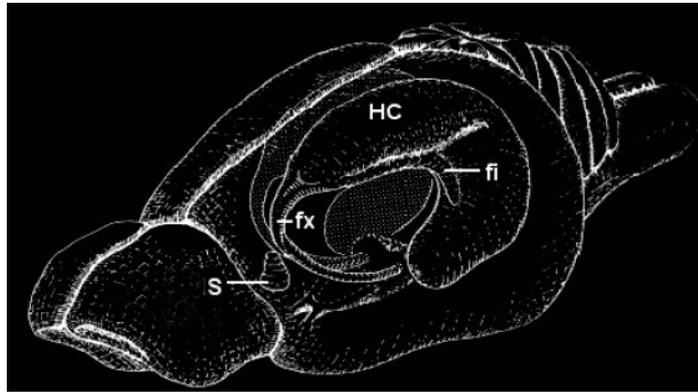
Figure 20

Figure 20. Complexe septum médian/hippocampe chez l'Homme (d'après [www.wikipedia.fr](http://www.wikipedia.fr))

### 6.3. La voie septo-hippocampique

La voie septo-hippocampique (Figure 21) fait partie des principales voies cholinergiques. Elle se compose du septum, de l'hippocampe, ainsi que de leurs afférences et efférences, et plus particulièrement de la boucle **MS-DBB/hippocampe**. Cette boucle est

formée par deux groupes de cellules cholinergiques qui se projettent sur l'hippocampe, un groupe situé dans le septum médian, le second dans la partie verticale de la bande diagonale de Broca (Amaral et Witter, 1995). Cette voie, par l'implication de l'hippocampe, joue un rôle important dans les processus mnésiques, notamment spatiaux (Brandner and Schenk, 1998 ; Leutgeb & Mizumori, 1999).



**Figure 21**  
**Figure 21. Organisation de la voie septo-hippocampique**  
(modifié d'après *Amaral & Witter, 1995*)  
HC= hippocampe ; S=septum ; fx = fornix ; fi = fimbria.

Les neurones glutamatergiques septo-hippocampiques projettent vers les régions CA1, CA3, et le Gyrus Denté ; leurs corps cellulaires sont situés au sein du réseau MS-DBB. De plus, alors que les neurones septo-hippocampiques cholinergiques envoient leurs axones pour faire synapse à la fois avec les cellules principales et les IN de l'hippocampe, les neurones GABAergiques septo-hippocampiques ne font synapse qu'avec les IN hippocampiques exclusivement (Freund & Antal, 1988). Chez l'Homme, l'entrée cholinergique induit une entrée modulatrice des cellules principales et des IN GABAergiques (Wainer et al., 1984 ; Frotscher & Leranth, 1988), l'entrée GABAergique, quant à elle, induit une importante désinhibition des cellules pyramidales. À eux deux, ils permettent une orchestration synchrone de l'ensemble de la formation hippocampique (Chrobak et al., 2000). Les neurones cibles des neurones glutamatergiques septo-hippocampiques restent, quant à eux, inconnus. Ce sont principalement les IN à calbindine de l'hippocampe qui innervent les terminaisons des neurones cholinergiques et GABAergiques du complexe MS-DBB (Amaral & Witter, 1995).

Il a également été décrit une voie ventrale reliant le septum à l'hippocampe, passant par l'amygdale (Milner & Amaral, 1984).

## **7. Le thalamus**

Le thalamus est une structure qui reçoit et oriente l'information vers les structures qui vont la traiter. C'est le relais des informations sensorielles (sauf olfactives) et motrices vers le cortex cérébral. Il est composé de plusieurs noyaux qui ont chacun leurs propres connexions.

Le thalamus projette vers les couches I, III et V du CE (Wouterlood et al., 1990). Le noyau reuniens du thalamus reçoit également des efférences du septum médian et représente le lien entre le réseau hippocampique et le CPFm (Vertes et al., 2007). En retour, le thalamus innerve le CE et le subiculum. Le thalamus ne possède pas de collatérales récurrentes locales (Buzsaki, 2006).

## **8. Le noyau supramammillaire**

Le noyau supramammillaire (SuM) est un noyau de l'hypothalamus qui établit des connexions réciproques avec le système septo-hippocampique (Vertes, 1988 ; Vertes, 1992). Il projette donc vers le septum médian et l'hippocampe (Haglund et al., 1984 ; Vertes, 1988 ; Vertes, 1992 ; Magloczky et al., 1994). Il est lié à la formation hippocampique via des connexions ascendantes, principalement vers le GD. La partie du SuM d'où partent les neurones qui projettent dans l'hippocampe dorsal se situent dans la partie latérale et la partie externe du SuM médian (Magloczsy et al., 1994).

Le SuM affecte la décharge des cellules hippocampiques (Kirk & Mc Naughton, 1991 ; Kirk & Mc Naughton, 1993 ; Mizumori et al., 1989a, b).

## **9. Le cortex cingulaire postérieur**

Le cortex cingulaire postérieur projette vers la région parahippocampique (i.e. le CE, avec lequel il partage des connexions réciproques (Suzuki & Amaral, 1994a ; Insausti et al., 1997 ; Burwell & Amaral, 1998), les cortex péri- et post-rhinaux, et le pré- et para-subiculum) et vers la formation hippocampique (CA1, CA3, GD, subiculum) (Jones and Witter, 2007).

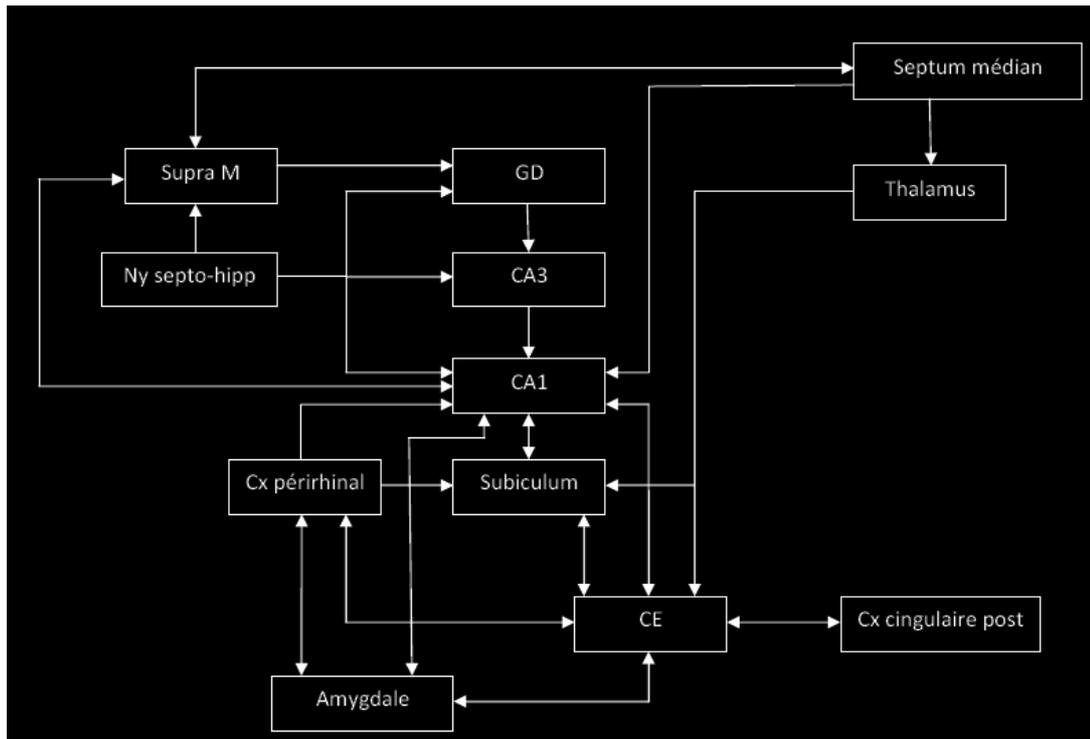


Figure 22

Figure 22. Réseau de structures du lobe temporal et ses connexions.

À l'issu de ce premier chapitre, nous avons vu que le lobe temporal, ou plus spécifiquement la formation hippocampique, constituait un vaste réseau qui faisait intervenir nombre d'afférences et d'efférences (Figure 22): les structures qui composent ce réseau sont toutes connectées entre elles ; ainsi, l'échange d'informations peut avoir lieu via des voies multiples. On a donc un système construit sous la forme de boucles réentrantes, propice à la genèse d'activités rythmiques, sujet que nous allons maintenant aborder dans le deuxième chapitre.

# Quel type de dialogue s'opère entre les différentes régions cérébrales lors d'un état comportemental donné ?

## Chapitre II. En conditions normales

Comme on vient de le voir, les régions du lobe temporal sont très interconnectées, ce qui favoriserait la genèse d'oscillations : la synchronisation des populations de neurones, au sein de différentes structures cérébrales spatialement séparées mais temporellement coordonnées, donne lieu à des oscillations. En retour, ces oscillations sont le support du traitement de l'information, puisqu'elles permettent la transmission de l'information d'un neurone à l'autre, i.e. elles permettent à ces deux neurones spatialement séparés d'être temporellement coordonnés au sein de différentes structures, ce qui permet à l'information d'être intégrée efficacement. De ce fait, les oscillations sont indispensables aux processus cognitifs.

Ainsi, dans ce deuxième chapitre, je vais commencer par aborder, en conditions normales, les oscillations, puis les fonctions cognitives, notamment celles impliquées dans la mémoire spatiale et non-spatiale, gérée par le lobe temporal.

### A. LES OSCILLATIONS

#### 1. Généralités sur les oscillations

Les oscillations dont il est question ici sont enregistrées *in vivo* et reflètent le potentiel de champ local, enregistré soit à l'aide d'électrodes de scalp (EEG) qui captent un signal global en surface, soit le plus souvent à partir d'électrodes intracérébrales qui permettent d'enregistrer l'activité rythmique de champ (LFP ou SEEG) au sein de différentes structures profondes.

Ainsi, avant d'aborder les oscillations cérébrales en elles-mêmes, je vais commencer par présenter les techniques qui permettent de les enregistrer *in vivo*, type d'électrophysiologie que j'ai utilisé au cours de ma thèse.

### **1.1. Les techniques d'enregistrement électrophysiologiques *in vivo***

Ce sont différents types d'enregistrements extracellulaires.

#### **L'enregistrement du potentiel de champ (ou LFP)**

L'enregistrement du potentiel de champ local (LFP, pour « local field potential ») reflète l'activité synaptique et unitaire (potentiels d'action ; PA), i.e. la sommation des potentiels postsynaptiques (PPS) et des courants intrinsèques. Le signal enregistré reflète la somme des courants locaux à la surface de l'électrode extracellulaire (à 50-350  $\mu\text{m}$  de l'électrode).

#### **La stéréocéphalographie**

La stéréocéphalographie (SEEG) est un cas particulier de LFP, développée pour pouvoir enregistrer l'activité cérébrale humaine avec une surface d'enregistrement plus étendue.

#### **L'électroencéphalogramme**

L'électroencéphalogramme (EEG) permet d'enregistrer, à l'aide d'électrodes de scalp simplement collées sur le crâne, des signaux de surface. Il s'agit là d'un signal intégré. Il a été mis au point dans les années 1910 à 1930 par un chercheur russe (V.V. Pravdich-Neminsky, 1913), puis par un psychiatre allemand (H. Berger, 1929), qui décrivit pour la première fois les rythmes des signaux EEG chez l'Homme.

Avant de passer à une analyse plus détaillée de chaque type d'oscillations, je vais commencer par faire un bref rappel sur leurs origines et leurs mécanismes.

### **1.2. Origine des oscillations**

L'origine neuronale des oscillations a été proposée par Freeman en 1991 (Freeman, 1991). L'auteur met en avant l'existence de connexions réciproques entre les cellules excitatrices et les cellules inhibitrices : 1) les neurones excitateurs sont excités ou cessent

d'être inhibés, 2) les neurones excitateurs excitent les neurones inhibiteurs, 3) les neurones inhibiteurs inhibent les neurones excitateurs, et sont donc de moins en moins activés, 4) les neurones inhibiteurs cessent leur activité, donc le cycle recommence. En effet, dans les réseaux de neurones, les oscillations sont produites lorsque les IN inhibent un grand nombre de cellules pyramidales, qui en retour envoient leurs projections vers les IN (Börgers & Kopell, 2005 ; Traub et al., 1996, 1997). Il existe également d'autres hypothèses, comme l'existence de « cellules pacemaker » : quand elles sont soumises à un stimulus approprié, ces cellules présentent des oscillations rythmiques de membrane (exemple dans le noyau réticulaire du thalamus, où une stimulation électrique de ce noyau entraîne une augmentation des oscillations dans les cortex somatosensoriel et auditif). Récemment, il a été proposé qu'en conditions physiologiques, le « bruit synaptique » (« synaptic noise ») est capable de produire des oscillations haute fréquence et qu'une augmentation de ce « bruit » additionnée aux mécanismes de couplage physiologique sont suffisants pour générer ces oscillations haute fréquence. Ainsi, des modifications (comme dans le cas de l'épilepsie) pourraient produire des oscillations haute fréquence anormales/aberrantes (Stacey et al., 2009).

Une question importante était de savoir si les oscillations sont la cause ou la conséquence de la synchronisation des activités neuronales. Il s'avère qu'elles sembleraient plutôt indissociables des synchronisations neuronales (Engel & Singer, 2001).

### **1.3. Rôle fonctionnel des oscillations**

Selon une première hypothèse, les oscillations neuronales seraient inévitables du fait de la connectivité du réseau : elles seraient des épiphénomènes. Selon cette hypothèse, toute activité s'accompagnerait de production de rythmes qui ne serait qu'un produit « dérivé » sans importance fonctionnelle particulière. Les physiiciens savent que même un faible couplage entre des systèmes oscillants peut conduire à des oscillations synchronisées, un phénomène étudié avec des pendules par le mathématicien hollandais Christian Huygens au dix-septième siècle (i.e. la **théorie des oscillateurs**). Les biologistes n'ont commencé que ces dernières années à en explorer les implications dans leur domaine.

Dans les années 80, Gray et Singer démontrent un **rôle fonctionnel des oscillations** (2<sup>ème</sup> hypothèse ; Gray et Singer, 1989). En effet, ils observent un caractère oscillatoire – oscillation de grande amplitude du potentiel de champ - au niveau du cortex visuel (aire 17) du chat en réponse à une stimulation sensorielle. Selon les auteurs, « les réponses oscillatoires pourraient fournir un mécanisme général par lequel les motifs d'activité dans des

régions spatialement séparées seraient temporellement coordonnées ». Plus tard, une telle hypothèse a pu être validée chez l'Homme par l'observation d'activités oscillatoires dans les signaux EEG (Tallon-Baudry et al., 1996) et MEG (magnétoencéphalographie ; Jensen et Tesche, 2002).

**Les oscillations sont classées selon différentes bandes de fréquence qui définissent les rythmes cérébraux, spécifiques d'un état cérébral donné.**

## **2. Rythmes cérébraux et réseaux impliqués**

Ma thèse se concentrant principalement sur les processus cognitifs et, par conséquent, sur les rythmes qui y sont impliqués, en conditions normales versus pathologiques, j'évoquerai donc plus en détails dans ce chapitre les oscillations thêta, gamma, et de type « sharp wave-ripples », essentielles au bon déroulement des processus d'apprentissage et de mémoire, puis je présenterai plus rapidement les autres activités rythmiques, i.e. delta et bêta, dont l'étude peut s'avérer nécessaire dans le contrôle de la spécificité d'un effet des premières.

### **2.1. Définition**

Un **rythme cérébral** est une oscillation dans une bande de fréquence donnée (Figure 23) qui émane de la décharge de neurones. L'amplitude des ondes cérébrales varie selon le lieu et la manière dont on les enregistre. On sépare les rythmes de basse fréquence (de 0 à 80 Hz) et de haute fréquence (à partir de 100Hz). La fréquence du rythme dépend de l'état de vigilance dans lequel se trouve le sujet (veille ou sommeil), de son comportement (s'alimente, effectue une tâche cognitive, etc.) et de son état de santé (normal ou pathologique, comme dans le cas de l'épilepsie).

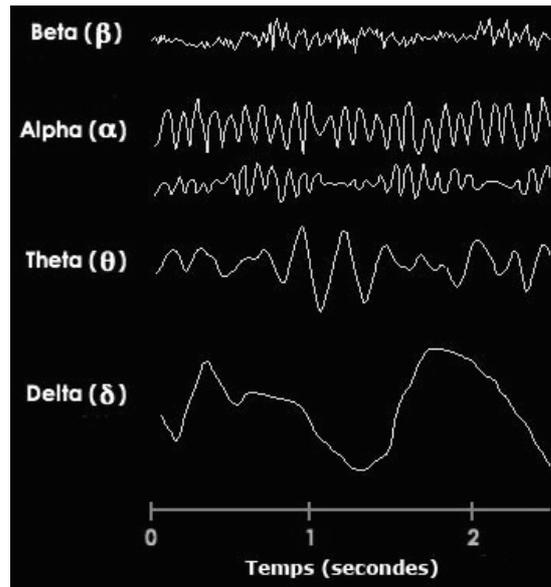


Figure 23

**Figure 23.** Les différents rythmes cérébraux et leurs bandes de fréquences correspondantes chez l'Homme. (d'après [http://le\\_cerveau.mcgill.ca](http://le_cerveau.mcgill.ca)).

Dans un premier temps, je ne vais présenter que les rythmes –et leurs mécanismes- présents pendant l'état de veille puis, dans un second temps, ceux présents pendant le sommeil spontané. Le sommeil est traité à part car il regroupe des rythmes différents.

## **2.2. Les rythmes pendant l'état de veille**

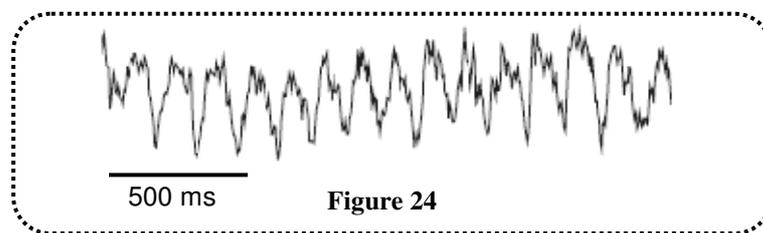
Dans cette partie, je vais simplement définir les rythmes présents à l'état de veille. Pour chaque rythme d'intérêt (thêta, gamma, « sharp wave-ripples »), je les définirai tout d'abord de manière générale, puis je détaillerai leurs propriétés, leurs générateurs, leurs caractéristiques au sein des différentes structures de la formation hippocampique, les fonctions comportementales et cognitives auxquelles ils sont associés. Les autres rythmes (delta, bêta) seront juste évoqués brièvement.

### **2.2.1. Le rythme thêta**

Le rythme thêta est le rythme le plus important dans l'étude de cette thèse, et je le présenterai de façon détaillée.

## a) Définition et caractéristiques générales

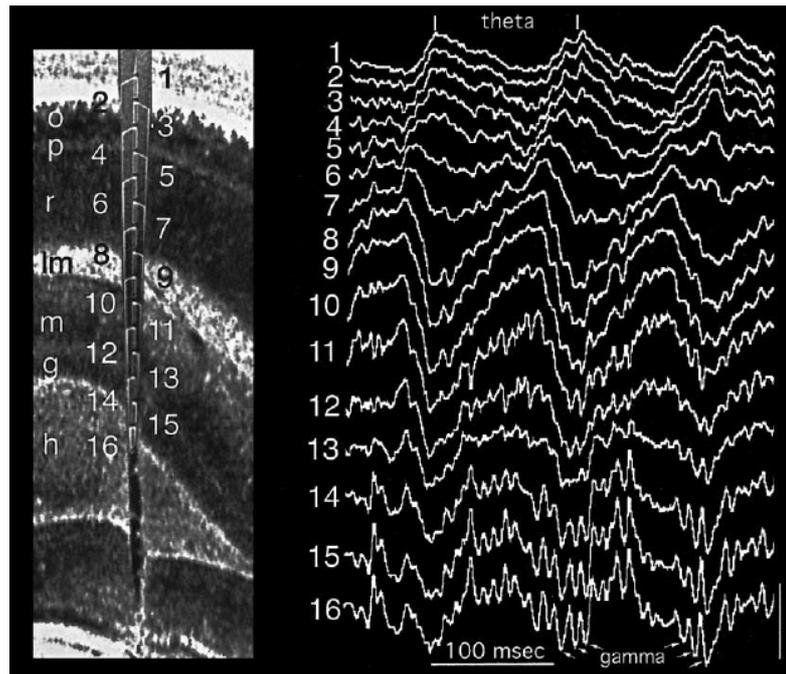
Le rythme thêta (Figure 24) est une oscillation lente et régulière du potentiel de champ de fréquence 4-12 Hz chez le rat, 4-8 Hz chez l'Homme (Green & Arduini, 1954). Chez le rat libre de ses mouvements, il est associé à des comportements bien spécifiques (Vanderwolf, 1969 ; Winson, 1972) que sont la navigation spatiale et le sommeil paradoxal (Buzsaki, 2006). Pendant les oscillations thêta, à la fois des cellules pyramidales et certains types d'IN déchargent (Buzsaki, 2002 ; Klausberger & Somogyi, 2008). Ces différents types d'IN participent à la synchronisation de l'activité des population de cellules pyramidales : par exemple, les INs de type O-LM sont indispensables au rythme thêta de CA1 (Gillies et al., 2002 ; Rotstein et al., 2005).



**Figure 24.** Exemple d'oscillations thêta (7 Hz) enregistrées à l'aide d'une microélectrode (50 µm) implantée dans la région CA1 de l'hippocampe (2 secondes d'enregistrement LFP) (d'après *mes enregistrements hippocampiques, cf. chapitre III, partie B.*)

Dans l'hippocampe, l'amplitude et la phase du rythme thêta sont fonction des différentes couches (Figure 25), mais au sein d'une même couche, elles sont relativement similaires le long de l'axe hippocampique (Buzsaki, 2002). Le thêta de plus grande amplitude et de fréquence la plus régulière est observé au niveau des dendrites apicales distales des cellules pyramidales de CA1, situées dans le *stratum lacunosum moleculare* (Buzsaki et al., 1986, Buzsaki, 2002 ; Brankack et al., 1993).

En plus de la formation hippocampique, le rythme thêta a également été observé dans de nombreuses autres structures, comme le subiculum, le cortex périrhinal, le cortex cingulaire et l'amygdale (Adey, 1967 ; Mitchell & Ranck, 1980 ; Alonso & Garica-Austt, 1987a, b ; Leung & Borst, 1987 ; Paré & Collins, 2000). Ces structures sont les principaux **générateurs de courant (dipôles)** du thêta de champ (i.e. extracellulaire ; Buzsaki, 2002) mais aucune de ces structures ne peut générer une activité thêta en soi : elles ne constituent donc **pas des générateurs du rythme thêta** (Buzsaki, 2002).



**Figure 25**

**Figure 25. Profil voltage- et couche-dépendant des oscillations thêta chez le rat.**

À gauche, un exemple de « silicon probe » au niveau de l'axe CA1-GD. Les chiffres indiquent les sites d'enregistrement, espacés de 100 µm. (o : *stratum oriens* ; p : couche pyramidale. ; r : *stratum radiatum* ; lm : *stratum lacunosum moleculare* ; g : couche des grains ; h : hile du GD).

À droite, oscillations thêta enregistrées au cours du comportement d'exploration chez l'animal. On note un changement de la phase du rythme à partir du *stratum oriens* jusqu'au *stratum lacunosum moleculare*. Les oscillations gamma imbriquées sur les oscillations thêta sont indiquées par des flèches (barres verticales : 1 mV ; tiré de *Bragin et al., 1995*).

Nous allons maintenant présenter quelles structures sont des générateurs de ce rythme.

## **b) Générateurs du rythme thêta**

Le mécanisme de genèse du rythme thêta reste encore un mystère (Kocsis, 2006). Il est néanmoins plus ou moins admis qu'il existe plusieurs oscillateurs distribués qui interagiraient entre eux, avec une importance plus ou moins conséquente pour le rythme, c'est-à-dire qu'ils pourraient jouer un rôle à eux seuls dans le maintien des oscillations thêta. Par exemple, le septum médian et le SuM (Petsche et al., 1962a, b) sont capables de générer des oscillations indépendantes dans la bande de fréquence thêta, après déconnexion de l'hippocampe et/ou d'autres structures (Kirk & Mc Naughton, 1991 ; Oddie et al, 1994 ; Thinschmidt et al., 1995 ; Kirk et al., 1996 ; Oddie et al, 1996), et de maintenir ce rythme fonctionnel.

Nous allons détailler les différentes structures proposées comme étant des générateurs du rythme thêta :

#### *le septum médian : premier « pacemaker » du rythme thêta*

Le septum médian, ou plus spécifiquement le complexe MS-DBB, fut le premier candidat proposé par Pestche (Petsche et al., 1962), il y a plus de quarante ans maintenant, comme étant le générateur du rythme thêta. En effet, des lésions de ce complexe abolissent complètement le rythme thêta hippocampique au sein de toutes les cibles corticales (Petsche et al., 1962 ; Leung et al., 1994).

#### *le noyau SuM*

En 1962 (Pestche et al., 1962), Pestche affirma que le SuM était le second candidat comme générateur du rythme thêta, ce qui n'est pas surprenant puisque le complexe MS-DBB et le SuM sont réciproquement connectés, comme on l'a vu précédemment. Il semblerait que selon l'état comportemental dans lequel se trouve l'animal, ce soit (i) les neurones du SuM, déchargeant de manière rythmique, qui pilotent l'oscillateur thêta du septum médian, ou bien (ii) l'inverse, c'est-à-dire que le SuM piloterait le thêta d'origine septale, ce qui semble aller ici dans le sens d'un **couplage dynamique bi-directionnel entre les générateurs de thêta sous-corticaux** (Kocsis, 2006). Le SuM semblerait plutôt avoir un rôle modulateur du rythme thêta.

#### *le cortex entorhinal*

Les cellules grilles de la couche II du CE envoient leurs projections vers les cellules granulaires du GD et vers les dendrites apicales distales des cellules pyramidales de CA3. Cependant, la suppression des entrées synaptiques du CE ne supprime pas entièrement le rythme thêta (Buzsaki, 2006).

#### *l'hippocampe*

##### ○ **L'aire CA3**

Le générateur de thêta de l'aire CA3 fonctionne aussi de manière relativement indépendante (Buzsaki, 2006). Les interneurons O-LM, qui innervent surtout les dendrites distales des cellules pyramidales et sont surtout innervés par les cellules pyramidales de CA1, sont également considérés comme un des contrôleurs du rythme thêta. Ils oscillent de manière

intrinsèque et individuelle à la fréquence thêta, comme les cellules cholinergiques septales (Buzsaki, 2006). La capacité à osciller de ces cellules se fait par l'intermédiaire du courant pacemaker  $I_h$  (Buzsaki, 2006). Les cellules O-LM doivent être synchronisées. Pour cela, la présence des cellules en corbeille, à décharge très rapide, est nécessaire (Buzsaki, 2006). Ces cellules déchargent en bouffées rythmiques à la fréquence thêta, induisant ainsi des courants inhibiteurs dans la zone périsonotique (Buzsaki, 2006 ; Gloveli et al., 2005).

#### ○ La région CA1 et le GD

Déjà en 1979, le Pr Buzsaki (Buzsaki, 1979b) écrivait que l'activité électrique provenant de CA1 et celle provenant du GD étaient en phase lorsque le rat dormait (oscillations lentes de type « Slow Wave Sleep ») et en inversion de phase lorsqu'il était en sommeil paradoxal ou pendant la veille, inversion plus prononcée lorsque le rat était en train de courir. Ces deux générateurs de thêta - l'aire CA1 et le GD - étaient donc ou non en phase selon les variations des états de vigilance et des états comportementaux du rat. Vingt ans plus tard, la présence de deux générateurs indépendants de thêta dans l'hippocampe fut confirmée (Kocsis et al., 1999), démontrant que ces générateurs étaient induits par le CE et par le circuit récurrent des cellules pyramidales de CA3. Ainsi, plus que des générateurs de thêta, la région CA1 et le GD seraient plutôt des générateurs de courant thêta. D'autres auteurs (Brazhnik & Fox, 1999), la même année, décrivaient un thêta provenant de la couche pyramidale de CA1 (ou « CA1 theta », thêta de CA1), et un thêta provenant d'une zone proche de la fissure hippocampique (ou « dentate theta », thêta du GD). La zone dendritique apicale des cellules pyramidales de CA1 et le *stratum lacunosum moleculare* seraient respectivement le reflet de l'efférence thêta de CA3 et des actions inhibitrices des cellules O-LM (Buzsaki, 2006). Il a été proposé un modèle pour le thêta dans CA1 (Leung, 1998) où les afférences vers les cellules pyramidales de CA1 seraient rythmiques et consisteraient en différentes entrées synaptiques qui pilotent les soma ou les dendrites distales. Dans le cas des somas, on parle de **thêta atropine-sensible**, de type cholinergique, contrôlé par le septum, et surtout par une série de potentiels postsynaptiques inhibiteurs (PPSI) sur les cellules pyramidales. Dans le cas des dendrites distales, on parle de **thêta atropine-résistant**, de type non-cholinergique, contrôlé par le CE.

L'activité rythmique thêta de l'hippocampe provient donc de plusieurs générateurs de courant distribués dans différentes couches et structures. Plusieurs couches de l'hippocampe, si ce n'est pas toutes, contribuent à un dipôle indépendant de thêta, et c'est la somme de tous

ces dipôles qui constitue le LFP (Montgomery et al., 2009 ; Shirvalkar & Bahar, 2009). Cependant, savoir ce qui pilote ces générateurs de courant reste encore une question ouverte.

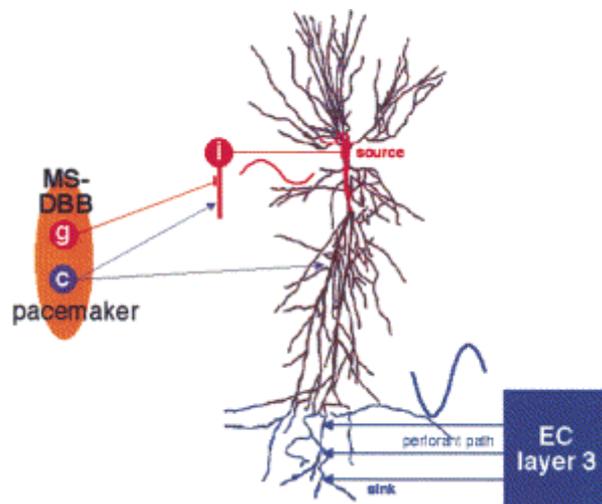


Figure 26

**Figure 26. Modèle “classique” de la genèse du courant thêta extracellulaire. Le complexe septum médian-bande diagonale de Broca (MS-DBB) est considéré comme étant le générateur du rythme thêta (« pacemaker »).** Les neurones cholinergiques (c) sont à l'origine d'une dépolarisation lente de leurs cibles postsynaptiques : les cellules pyramidales et les INs de type cellules en corbeille (i.e. « basket cells ») (i). Le complexe MS-DBB et les neurones GABAergiques (g) hyperpolarisent de manière rythmique les INs en corbeille (i). En retour, les PPSI rythmiques au niveau des cellules pyramidales induisent des courants périsonomatiques (en rouge, le dipôle thêta inhibiteur). Les PPSE rythmiques en provenance du CE sont responsables de la source active dans la région dendritique distale (bleu : dipôle exciteur de thêta). L'étendue relative et la relation de phase des dipôles inhibiteurs (somatiques) et excitateurs (dendritiques distaux) pourraient déterminer l'amplitude et la phase unique versus la distribution des oscillations thêta en fonction des différentes couches de l'hippocampe dans la région CA1. (adapté de *Buzsaki, 2002*).

**Les oscillations thêta de l'hippocampe émergent donc (i) de l'organisation en collatérales récurrentes du réseau intrinsèque hippocampique, comme l'aire CA3, (ii) des structures extra-hippocampiques (septum, SuM, CE), et (iii) des connections réciproques entre ces structures, tout cela formant une grande boucle impliquée dans la genèse du rythme thêta. Ensuite, ce dernier module nombre de cellules au sein de différentes structures.**

### c) Cellules modulées par le rythme thêta

Les cellules modulées par le rythme thêta ont été décrites dans de nombreuses structures (Pestche et al., 1962 ; Vinogradova et al., 1980 ; Kocsis & Vertes, 1992 ; Bassant & Poindessous-Jazat, 2001), comme le complexe MS-DBB (Brazhnik & Vinogradova, 1986 ; Colom & Bland, 1991 ; Borhegyi et al., 2004), le CE (Alonso and Garcia-Austt, 1987 ; Dickson et al., 1995 ; Chrobak and Buzsaki, 1998), le cortex périrhinal (Muir and Bilkey, 1998), le cortex cingulaire (Colom et al., 1988 ; Holsheimer, 1982 ; Leung and Borst, 1987), le CPF (Hyman et al., 2005 ; Jones and Wilson, 2005 ; Siapas et al., 2005), l'amygdale (Paré and Gaudreau, 1996), le thalamus antérieur (Vertes et al., 2001), les corps mammillaires et le noyau SuM (Kirk & Mc Naughton, 1991 ; Kocsis and Vertes, 1994 ; Oddie et al., 1994 ; Thinschmidt et al., 1995 ; Kirk et al., 1996 ; Oddie et al, 1996), ainsi que le subiculum (Anderson and O'Mara, 2003) et le néocortex (Sirota et al., 2008) (cf. exemples Figure 27).

Ainsi, le rythme thêta sert d'horloge interne pour la décharge des neurones et des rythmes plus rapides comme les oscillations gamma (Sirota et al., 2008) et les oscillations de type « ripples ».

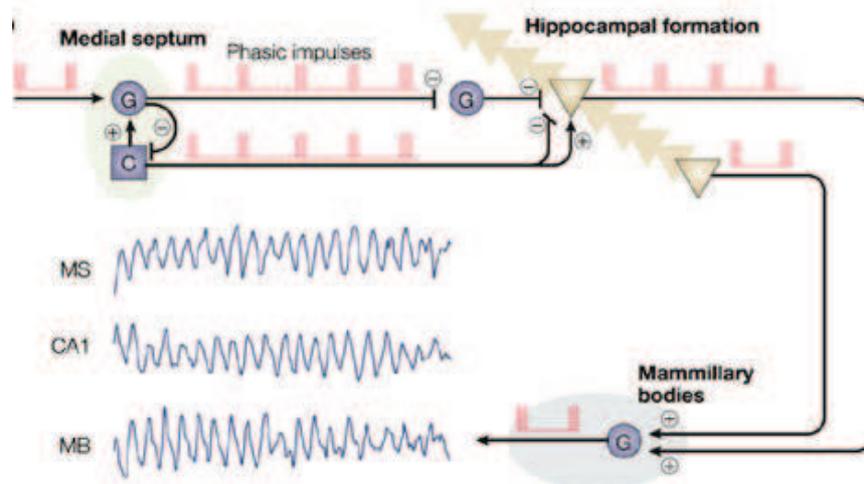


Figure 27

**Figure 27.** Des courants phasiques (« phasic impulses ») arrivent au septum médian (« medial septum » ; MS) qui possède à la fois des neurones GABAergiques (G) et des neurones cholinergiques (C). Ces afférences induisent des connexions excitatrices (flèches) et inhibitrices (traits plats) vers la formation hippocampique, qui ensuite relaie l'activité phasique vers les corps mammillaires. En bas, les enregistrements correspondent à des enregistrements chez l'animal, au sein de trois structures différentes, le septum médian (MS), la région CA1 et les corps mammillaires (MB pour « mammillary bodies »), dont le SuM. (adapté de Vann & Aggleton, 2004)

## **d) Caractéristiques au sein de la formation hippocampique**

### *Le rythme thêta septal*

La décharge de certains neurones du septum est associée au rythme thêta, celle d'autres non (Colom & Bland, 1991 ; Bland et Colom, 1993). Ceci dépend des systèmes cholinergique et GABAergique (Smythe et al., 1992). Les neurones GABAergiques sont ceux qui donnent la fréquence au rythme thêta, participant à la régulation de cette voie, notamment à la synchronisation des activités, alors que les neurones cholinergiques, à rythmicité plus lente, donnent l'amplitude (la puissance) au rythme thêta (Vinogradova et al., 1998). Une hypothèse est que les neurones cholinergiques serviraient à augmenter le nombre de cellules du septum en phase avec le rythme thêta et, par conséquent, à réguler l'amplitude du rythme thêta hippocampique (Lee et al., 1994). Les neurones glutamatergiques, quant à eux, ne sont pas rythmiques, ils ne sont donc pas impliqués dans la rythmicité septo-hippocampique et n'interviennent pas dans la genèse du rythme thêta.

Des études pharmacologiques révèlent que l'innervation cholinergique en provenance du septum médian est l'entrée synaptique la plus importante qui régule le rythme thêta hippocampique (Vinogradova et al., 1998). En effet, les agonistes cholinergiques (tels le carbachol), administrés de manière systémique, par infusion dans le septum (Monmaur & Breton, 1991) ou dans l'hippocampe (Rowntree & Bland, 1986 ; Colom et al., 1991), ou même appliqués directement sur tranches hippocampiques *in vitro* (Konopacki et al., 1987a, b, c), induisent du thêta (Vinogradova et al., 1998). Inversement, les antagonistes cholinergiques (tels la scopolamine) atténuent le rythme thêta (Kramis et al., 1975 ; Vinogradova et al., 1998).

L'intégrité de la projection GABAergique septo-hippocampique est suffisante pour maintenir l'activité thêta hippocampique. L'inhibition phasique des neurones cholinergiques du complexe MS-DBB par les neurones GABA de ce même complexe septal, suivi par un rebond de leur activité, pourrait sous-tendre le mécanisme par lequel le recrutement de toute la population neuronale de ce complexe aboutit à un patron d'activité rythmique synchrone à l'origine du rythme thêta hippocampique (Brazhnik & Fox, 1997).

### *Le rythme thêta entorhinal*

Chez le rat libre de ses mouvements, le rythme thêta est également généré dans le CEM (Mitchell & Ranck, 1980). Le rythme thêta entorhinal est présent de la couche VI à la couche III du CE, et est à peu près en phase avec le rythme thêta de CA1. Son amplitude minimum se

trouve entre la couche III et la couche I, et son inversion de phase au niveau des couches I-II avec une amplitude maximum au niveau de la couche I. Ces résultats montrent l'existence de sources neuronales du rythme thêta au sein du CE (Alonso & Garcia-Austt, I., 1987). La plupart des cellules du CE qui déchargent en phase avec le rythme thêta de CA1 se situent au niveau des couches superficielles (II-III) du CE, alors que les cellules du CEm déchargent de manière synchrone mais en opposition de phase avec le rythme thêta. Une organisation complexe dans la rythmicité de l'activité unitaire du CE est observée. Ainsi, les sources neuronales du rythme thêta entorhinal sont situées au niveau des couches superficielles, et les efférences du CE à travers la voie perforante doivent sûrement moduler de manière rythmique le patron de décharge des cellules pyramidales de l'hippocampe et des cellules granulaires du GD (Alonso & Garcia-Austt, II., 1987).

### *Le rythme thêta dans le SuM*

Comme on l'a vu précédemment, les neurones du SuM établissant des connexions réciproques avec le septum médian et l'hippocampe, le rythme thêta serait maintenu dans l'hippocampe après lésion du SuM et dans le SuM après lésions du septum médian. De plus, ces neurones pourraient être à l'origine d'une activation ascendante permettant la genèse du rythme thêta hippocampique (Kirk & Mc Naughton, 1993). En revanche, les cellules du SuM ne seraient pas pilotées par des projections descendantes de la formation hippocampique (Kocsis & Vertes, 1994) mais une relation entre deux générateurs de thêta hippocampiques – l'aire CA1 et le Gyrus Denté- et les différents types cellulaires au sein du SuM a pu être mise en évidence (Buzsaki, 2006). Le SuM médian ne contrôle la fréquence du rythme thêta hippocampique que partiellement chez le rat libre de ses mouvements. En effet, des lésions du SuM médian diminuent modestement (d'environ 0.4 Hz) la fréquence du thêta (Pan & Mc Naughton, 2002). Le blocage pharmacologique du SuM a également été décrit comme réduisant la fréquence du rythme thêta, après stimulation du tronc cérébral (Mc Naughton et al., 1995).

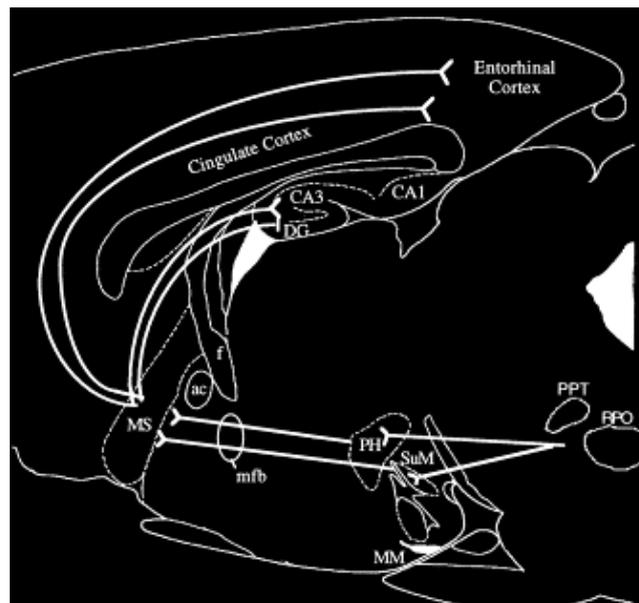
### *Le rythme thêta dans le circuit amygdalo-hippocampique*

Le circuit amygdalo-hippocampique (qui met en jeu notamment le noyau latéral rostral de l'amygdale ainsi que le cortex cingulaire postérieur) joue un rôle important dans le circuit de la peur, notamment dans le comportement de peur conditionnée (conditionnement de type Pavlovien). L'activité rythmique synchrone à la fréquence thêta augmente entre le noyau

latéral de l'amygdale et la région CA1 après le comportement de peur conditionnée, pour devenir significatif dans la confrontation avec le stimulus conditionnel de peur et l'expression du comportement d'évitement (« freezing »). La synchronisation dans la bande de fréquence thêta au sein de ce circuit amygdalo-hippocampique reflète un corrélat de peur conditionnée et pourrait être capable d'améliorer la communication neuronale lors des processus de récupération mnésique (cf. partie suivante ; Seidenbecher et al., Science, 2003).

### *Rythme thêta et réseau Noyau Incertus / Noyau réticulaire pontis oralis (RPO)*

Le noyau *incertus* (NI) a été récemment décrit comme constituant un relais entre les structures du tronc cérébral et le réseau MS-DBB dans le contrôle du rythme thêta hippocampique (Nuñez et al., 2006). Pour l'implication du noyau réticulaire *pontis oralis* (RPO) dans le rythme thêta, la première étude anatomique a été publiée en 2008 (Teruel-Martí et al., 2008) et met en évidence le recrutement de la voie RPO/MS-DBB via le NI dans la génération et la modulation du rythme thêta hippocampique (Figure 24).



**Figure 28**

**Figure 28. Circuit ascendant du rythme thêta, où le septum médian occupe une place centrale.**

Le circuit part du RPO et du noyau tegmental pédonculopontine (PPT), et monte vers le complexe MS-DBBv (ventrale), via les noyaux SuM et hypothalamique diencephalique postérieur caudal (PH).

**Le septum médian constitue un point critique pour ces voies ascendantes, qui en retour distribuent des afférences vers les régions limbiques comme le CE, le cortex cingulaire postérieur et la formation hippocampique. (tiré de Bland & Oddie, 1998).**

## **e) Rythme thêta et fonctions associées**

Les oscillations thêta ont été associées à deux fonctions principales : les mouvements volontaires et les processus cognitifs d'apprentissage et de mémoire (Grastyan et al., 1959 ; Vanderwolf, 1969).

### *Les mouvements volontaires*

Le rythme thêta a d'abord été identifié comme étant le rythme de l'hippocampe lors des mouvements volontaires du rat (Vanderwolf, 1969). Il a été décrit lorsque le rat court dans un environnement (O'Keefe & Nadel, 1978 ; Skaggs, 1996), dans une roue (Buzsaki, 1983 ; Hyman, 2003) ou sur un tapis roulant (Brankack, 1993), et comme marquant l'initiation de mouvements volontaires (Berg et al., 2006 ; Buño and Velluti, 1977 ; Macrides et al., 1982 ; Semba and Komisaruk, 1978). Cependant une étude a montré que le comportement exploratoire rythmique de mouvement des vibrisses, qui se produit à la même fréquence que le rythme thêta (Kleinfeld et al., 1999 ; Berg and Kleinfeld, 2003a, b) et simultanément au comportement de « sniffing » et de mouvement de tête lorsque l'animal explore de nouveaux objets n'est pas en phase (donc pas synchrone) avec le thêta hippocampique (Berg et al., 2006). La phase du rythme thêta est en revanche corrélée avec les réponses efférentes motrices, dont le comportement de sniffing (Macrides, 1982) et de mouvement des vibrisses (Semba & Komisaruk, 1984 ; Lerma & Garcia-Austt, 1985).

### *La navigation spatiale*

Le rythme thêta hippocampique est connu pour être fortement associé au traitement spatial chez les rongeurs (Buzsaki, 2005a, b ; Buzsaki, 2006) ainsi que chez le primate (Stewart & Fox, 1991) et chez l'Homme effectuant une tâche de navigation spatiale dans un environnement virtuel (Kahana et al., 2001). Selon le Pr Buzsaki, le meilleur terme pour définir le comportement associé au rythme thêta est la navigation (regroupant à la fois le mouvement et la navigation mnémonique), terme plus approprié selon lui que celui d'« exploration » car passer une centaine de fois par le même chemin n'est plus vraiment de l'exploration, et pourtant le thêta persiste (Buzsaki, 2006). Ce lien du thêta avec la navigation chez l'animal peut être corrélé à la mémoire sémantique et épisodique chez l'Homme (Buzsaki, 2005).

Ce point sur la relation entre thêta et navigation spatiale sera abordé plus en détails dans le paragraphe suivant (2.2.1.f), puisqu'il représente un point stratégique dans le cadre de ma thèse.

#### *Autres fonctions du rythme thêta*

Il a été proposé un rythme thêta qui serait dépendant des comportements de l'animal, un autre dépendant de la pharmacologie.

Par exemple, le Dr Bland, en 1986 (Bland, 1986), a montré que le thêta qu'il a nommé « de type 2 » pouvait être associé au comportement d'immobilité (état d'alerte) et aux processus sensoriels. D'autres auteurs (Partlo & Sainsbury, 1996) mettent en évidence deux types de thêta dépendant du comportement : un dit de « type 1 » (6-12 Hz ; Figure 29) apparaissant lors des mouvements volontaires de l'animal, un autre, dit de « type 2 » (4-9 Hz ; Figure 29), apparaissant quant à lui lorsque l'animal est immobile et lors de processus sensoriels. Un point intéressant qui a été soulevé est que la puissance spectrale du rythme thêta hippocampique serait non seulement influencée par le comportement en lui-même mais aussi par les comportements précédant ou suivant un comportement donné (van Lier et al., 2003). La puissance absolue du rythme thêta est en effet augmentée quand un comportement de « type1 » précède le comportement considéré, comparé à la situation où un comportement de « type2 » le précède. Ainsi la relation entre le thêta hippocampique et le comportement serait modulée par le **contexte séquentiel**.

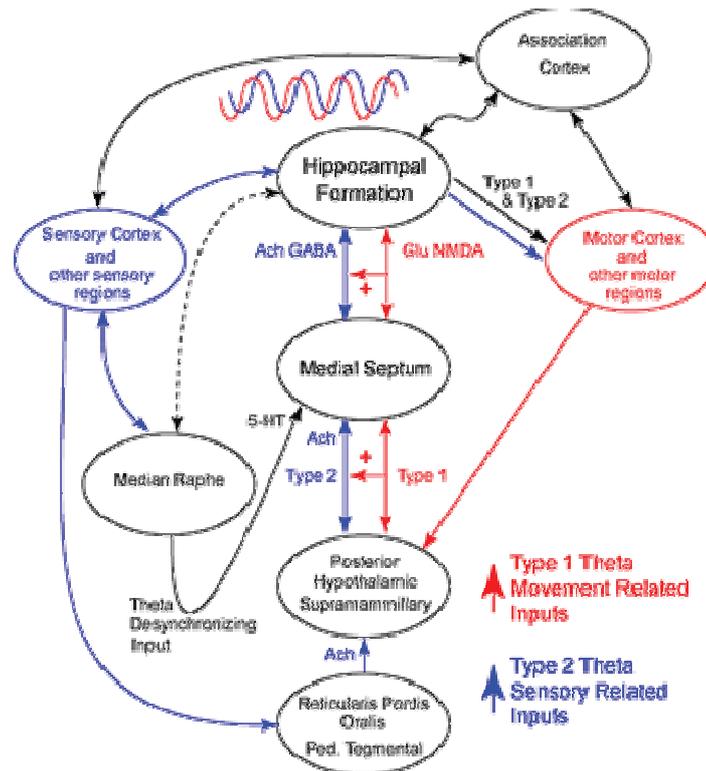


Figure 29

Figure 29. Circuits et neurotransmetteurs impliqués dans les deux types de thêta (type 1 et type 2) (d'après [http://le\\_cerveau.mcgill.ca](http://le_cerveau.mcgill.ca))

En ce qui concerne la pharmacologie, des auteurs (Partlo & Sainsbury, 1996) ont mis en évidence que le thêta qu'ils nomment de « type 1 » (6-12 Hz) est inhibé par les composés anesthésiques, contrairement à celui de « type 2 ». Cette dichotomie rappelle celle du Dr Vanderwolf, décrite en 1988 (Vanderwolf, 1988), concernant un thêta dit de « type 1 » dépendant du système sérotoninergique, et un thêta dit de « type 2 » dépendant du système cholinergique (Kramis & Vanderwolf, 1975), ces deux types de thêta n'étant pas sensibles aux mêmes types de lésions : le thêta de « type 1 » est diminué après lésion du CE, mais pas le thêta de « type 2 », alors que des lésions du septum abolissent les deux types de thêta dans l'hippocampe. Sainsbury & Partlo (1991) ont également montré que les agonistes noradrénergiques induisaient le thêta de « type 2 » mais inhibaient celui de « type 1 » chez le rat libre de ses mouvements (Figure 29).

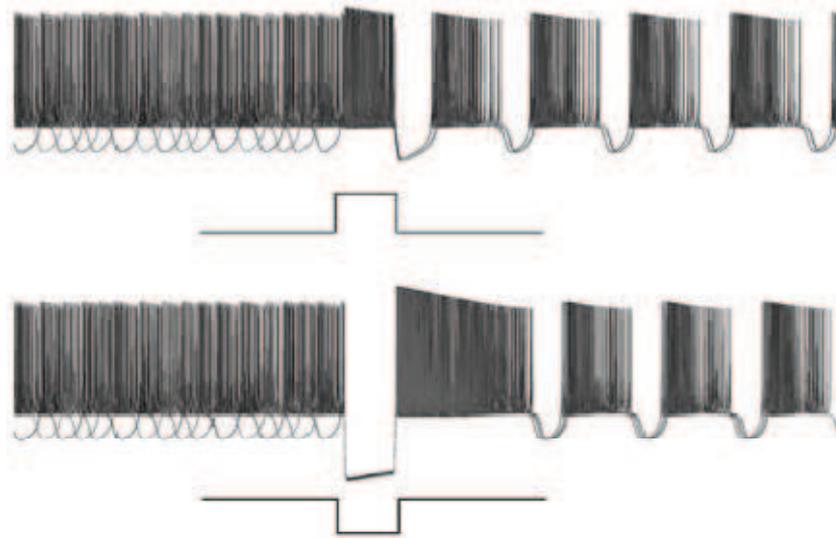
**Comme on vient de le voir, le rythme thêta, pendant l'état de veille, est associé aux mouvements volontaires et à la navigation spatiale. Je vais détailler ce dernier aspect puisqu'il s'agit là d'un point important de ma thèse.**

## **F) Rythme thêta et cognition**

Le rythme thêta est indispensable dans les processus de mémoire et d'apprentissage (O'Keefe & Nadel, 1978 ; Pavlides et al., 1988 ; Buzsaki, 1989a ; Huerta & Lisman, 1993), où le rôle des oscillations synchronisées dans cette bande de fréquence est crucial. L'effet sur ce rythme de drogues qui « potentialisent » la cognition démontre en effet son implication dans les processus cognitifs (Kinney, 1999). Ces drogues augmentent l'amplitude du rythme thêta hippocampique via la voie cholinergique (l'injection de scopolamine, antagoniste cholinergique, produit l'effet inverse).

Chez l'Homme, la synchronisation dans la bande de fréquence thêta est relative à l'encodage de nouvelles informations et aux performances de mémoire épisodique (Doppelmayr et al., 1998a). Chez les rongeurs, la présence du rythme thêta au sein de l'hippocampe et du CE est critique lors des processus d'apprentissage et de récupération mnésique puisqu'il est détecté par l'EEG lors de nombreux tests expérimentaux de mémoire à court-terme (cf. revue Vertes et al., 1995). Dans une étude ayant pour but de faire le lien entre comportements et propriétés de phase du potentiel de champ, différentes fonctions pour le rythme thêta ont été proposées: (i) la séparation des dynamiques d'encodage et de récupération (basée sur les travaux de Hyman et al., 2003 ; Brankack et al., 1993 ; Pavlides et al., 1988), (ii) l'amplification de la récupération de séquences dépendantes du contexte, (iii) un effet « tampon » pour de nouvelles informations au sein du CE pour l'encodage épisodique, et (iv) la facilitation des interactions temporelles entre le CPF et l'hippocampe (Hasselmo, 2005). La fonction d'encodage se produirait dans le creux de l'oscillation thêta de la fissure hippocampique, le processus de récupération, quant à lui, dans le pic de l'oscillation thêta de cette même fissure (Hasselmo, 2002a, b). L'activité thêta est cruciale pour certains processus cognitifs. Par exemple, si on lèse le septum, ou d'autres structures impliquées dans la genèse de ce rythme ou des courants à l'origine de ce rythme (cf. paragraphe b), cela entraîne des déficits de mémoire spatiale et non-spatiale (Ammassari-Teule, Maho & Sara, 1991 ; Givens & Olton, 1990 ; 1994). Il a également été proposé que le rythme thêta agirait comme un filtre sélectif qui à la fois potentialiserait et prolongerait l'entrée synaptique par laquelle il a été activé mais le protégerait également de l'interférence des stimuli externes qui pourraient arriver pendant le traitement ou l'encodage, tel un mécanisme d'attention sélective, pré-requis dans la formation d'une trace mnésique (Vinogradova et al., 1998). Le rythme thêta est si critique pour la formation hippocampique que la seule modification de sa fréquence est suffisante pour produire des dysfonctionnements. On sait qu'il existe une forte corrélation

entre rythme thêta et performances cognitives, mais le mécanisme précis par lequel le thêta influence le traitement cognitif est encore très mal caractérisé. Un mécanisme proposé par Williams & Givens (2003) serait le phénomène de remise à zéro de la phase (i.e. phénomène de « **phase-reset** » ; Figure 30) du thêta hippocampique, par lequel le thêta spontané se mettrait en phase avec les stimuli sensoriels entrants.



**Figure 30**

**Figure 30. Phénomène de remise à zéro de la phase (« phase-reset ») dans un ensemble de système oscillants.** Après l'envoi de courant, les phases des systèmes, distribuées dans l'intervalle considéré, deviennent plus liées. (tiré de *Klinshov & Nekorkin, 2008*).

Ce phénomène de « reset » doit recruter les signaux du stimulus sensoriel (*Williams & Givens, 2003*), stimulus qui atteint l'hippocampe via deux voies parallèles : 1) via le CE par la voie perforante, 2) via le septum médian par la voie septo-hippocampique. L'activation de la voie perforante et du fornix par stimulations électriques met en évidence ce phénomène: le phénomène de « reset » du thêta potentialiserait le processus d'encodage en dépolarisant les cellules granulaires du GD au moment où l'information cognitive arriverait du CE, cellules granulaires qui doivent répondre de manière optimale quand une information pertinente arrive du CE (*Williams & Givens, 2003*). La stimulation électrique du septum médian (*Buño et al., 1978 ; Garcia-Sanchez, 1978*) ou de ses structures afférentes (*Buño et al., 1978 ; Garcia-Sanchez, 1978 ; Gaztelu & Buño, 1982 ; Brazhnik et al., 1985 ; Brazhnik & Vinogradova, 1988a, b ; Pedemonte et al., 1998*) induit également ce phénomène. Ce phénomène de « reset » du thêta semblerait donc induire des conditions optimales pour la potentialisation à long-terme (LTP, *Hebb, 1949 ; McCartney et al., 2004 ; Figure 31*). Cette dernière est à la

base de l'apprentissage et serait facilitée via la modulation du taux de décharge des cellules pyramidales de l'hippocampe par le rythme thêta (Arai & Lynch, 1992). Ainsi le rythme thêta serait fortement impliqué dans les processus de plasticité synaptique où la phase de ce rythme semble avoir une importance capitale dans la LTP (Kahana, 2001). Dans le GD, la LTP est induite de manière préférentielle dans la phase positive du rythme thêta tandis que la dépression à long-terme (LTD) est favorisée dans le creux de ce même rythme (Huerta & Lisman, 1993).

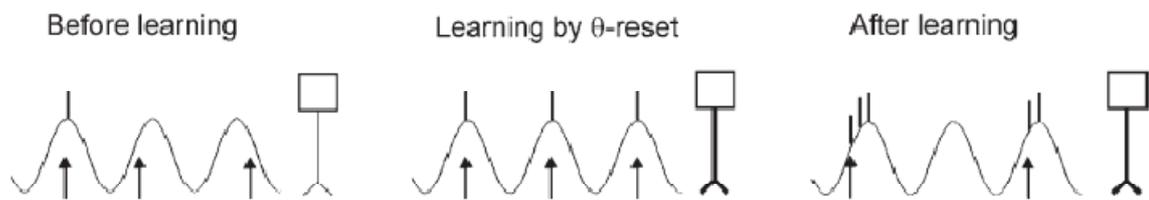


Figure 31

**Figure 31.** La spécificité du stimulus à encoder est augmentée par le phénomène de « phase-reset » de l'activité thêta. **À gauche** : avant l'apprentissage (« before learning »), seuls les stimuli arrivant pendant la phase dépolarisée de la cellule donnent lieu à des PA (première flèche). **Au centre** : l'apprentissage a lieu quand un stimulus induit un « reset » du thêta (« learning by theta-reset »), i.e. quand ce stimulus arrive à une phase particulière du rythme thêta. **À droite** : Après la potentialisation synaptique (LTP ; « after learning »), même les stimuli qui arrivent au cours des phases hyperpolarisées initient des bouffées de PA. Cette situation correspond à une cellule de lieu après apprentissage spatial (d'après *Axmacher et al., 2006*).

Dans un test d'approche locomotrice (Sinnamon, 2005a), l'augmentation de l'amplitude du rythme thêta reflète une phase préparatoire de traitement des indices et l'augmentation de sa fréquence le fait d'être prêt à agir selon ces indices. Dans le même type de test, mais cette fois avec une récompense (Sinnamon, 2005b), l'exécution instrumentale du mouvement module à la fois l'amplitude et la fréquence du rythme thêta, alors que la préparation à la locomotion module simplement sa fréquence. On pourrait citer d'autres exemples, mais l'idée est que **les variations d'amplitude et de fréquence du rythme thêta semblent être dépendantes du contexte**. La fréquence du rythme thêta hippocampique est très importante pour l'apprentissage (Pan et Mc Naughton, 1997 ; Mc Naughton et al., 2006). Ainsi, restaurer cette rythmicité restaurerait les performances d'apprentissage et de mémoire, comme par exemple lors d'un test de mémoire spatiale dans la piscine de Morris (Mc Naughton et al., 2006 ; Pan et Mc Naughton, 1997). Une étude sur l'activité de champ du rythme thêta hippocampique et sur la vitesse de locomotion en conditions de marche spontanée et de

marche forcée chez des rats après injection d'un agent antiépileptique qui augmente le temps passé à rester immobile/inactif, a montré que la vitesse de déplacement des rats influe sur le pic de fréquence du rythme thêta mais n'est pas suffisante à elle seule pour déterminer ce pic (*Bouwman et al., 2005*). D'autres facteurs sont donc mis en jeu dans la détermination du pic de fréquence thêta. De plus, à nouveau dans le test de la piscine de Morris, en dépit d'une fréquence thêta plus faible, par lésion du noyau SuM médian (Pan & Mc Naughton, 2002), l'apprentissage n'en est que peu modifié, ce qui suggère que le SuM médian peut moduler le rythme thêta et le comportement de manière indépendante (Pan & Mc Naughton, 2002). **Il n'y a donc pas toujours un lien entre comportement et fréquence thêta.**

L'augmentation globale de thêta seulement lors de tests dépendants de l'hippocampe pourrait refléter un traitement de l'information plus rapide lors des périodes de traitement cognitif (Montgomery & Buzsaki, 2009 ; Shirvankar & Bahar, 2009).

**Il existe donc un lien très fort entre rythme thêta et performances cognitives. Un mécanisme par lequel le premier influencerait la cognition serait le phénomène de « phase-reset », i.e. de remise à zéro de la phase, ou encore via un mécanisme attentionnel, où le rythme thêta agirait comme un filtre sélectif qui favoriserait l'attention, pré-requis pour le traitement cognitif. Les variations d'amplitude et de fréquence du rythme thêta semblent donc être modulées par le contexte, la fréquence n'étant pas toujours liée au comportement de l'animal. Ces phénomènes par lequel le rythme thêta potentialiserait/favoriserait les processus cognitifs nous amène à considérer l'implication de ce rythme dans les processus de plasticité synaptique.**

**Nous allons maintenant définir l'importance de ce rythme chez l'Homme.**

### **G) Le rythme thêta chez l'Homme**

Chez l'Homme, le rythme thêta est considéré comme appartenant à la bande de fréquence 4-8 Hz, contrairement à 4-12 Hz chez l'animal (Vanderwolf, 1969 ; Buzsaki, 2006), qui regroupe à la fois les rythmes thêta et alpha (8-12 Hz) dans l'espèce humaine. Il est observé principalement chez l'enfant, l'adolescent et le jeune adulte. Chez l'adulte, il apparaît lors de l'assoupissement (stade 1A du sommeil), et lors d'états de veille calme, comme la

méditation (Aftanas & Golosheykin, 2005), mais également lors du processus de mémorisation ou de tests de navigation spatiale en situation de réalité virtuelle (Kahana et al., 1999). Dans ce dernier cas, le rythme thêta est retrouvé à la fréquence 4-12 Hz (Kahana et al., 1999a; O'Keefe & Burgess, 1999), comme le thêta hippocampique chez l'animal (Buzsaki, 2006). Cependant, le Dr Caplan, en 2003 (Caplan, 2003), associait le thêta chez l'Homme à une intégration sensorimotrice et à un apprentissage spatial dans la bande 4-8 Hz, et non 4-12 Hz. Des données de MEG ont révélé que l'apprentissage spatial chez l'Homme dépendait à la fois du thêta hippocampique et parahippocampique (Cornwell et al., 2008). Les oscillations thêta marquent également, comme chez le rat, l'activation de l'hippocampe humain lors d'un test de mémoire de travail (Tesche & Karhu, 2000). Le phénomène de remise à zéro (« reset ») de la phase des oscillations thêta du GD par des stimuli comportementaux jouerait un rôle important dans la mémoire de travail chez l'Homme (Klimesh, 1999 ; Gevins, 1996 ; Tesche & Karhu, 2000). Cette dernière requiert la synchronisation, dans la bande de fréquence thêta (4-8Hz), du CPFm et des cortex associatifs postérieurs (Raghavachari, 2001; Gevins et al., 1997 ; Sarnthein, 1998).

Enfin, selon les Dr O'Keefe & Burgess (O'Keefe & Burgess, 1999), le rythme thêta aurait deux fonctions essentielles chez l'Homme. D'une part, il agirait tel un mécanisme de synchronisation, mettant l'hippocampe tout entier « à l'heure » et organisant son activité en fonction des aires cérébrales auxquelles il est connecté. D'autre part, il induirait un système périodique de « remise à l'heure » du système.

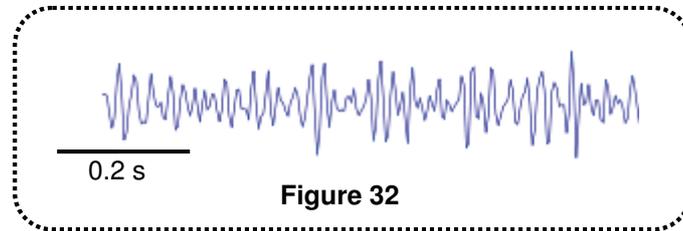
**Le rythme thêta est fortement associé aux processus cognitifs, chez l'animal mais aussi chez l'Homme, au niveau de la formation hippocampique et plus particulièrement de l'hippocampe. Dans ce contexte, le rythme thêta est très souvent associé aux oscillations gamma, également indispensables au bon fonctionnement des processus cognitifs.**

### **2.2.2. Le rythme gamma**

#### **A) Définition et caractéristiques générales**

Les oscillations gamma (30-80 Hz ; Figure 32) représentent des oscillations de membrane synchrones au niveau des cellules pyramidales (CA1, CA3), granulaires (GD) et étoilées (CE), induites par des PPSI rythmiques (Chrobak & Buzsaki, 1998). Elles sont surtout présentes dans l'hippocampe et le néocortex, mais aussi dans le CE et le subiculum. Elles

prennent naissance au niveau du **système récurrent de CA3 jusqu'à CA1, via des IN**, et impliquent des patrons de décharge intrinsèques des neurones locaux. Ces oscillations ont été impliquées dans le traitement de l'information et les fonctions cognitives supérieures (Gray, 1994 ; Singer & Gray, 1995).



**Figure 32.** Exemple d'oscillations gamma (1 seconde d'enregistrement).  
(d'après mes enregistrements hippocampiques, cf. chapitre III, partie B.)

Les oscillations gamma sont générées par de nombreux mécanismes, mais sont surtout dépendantes des cellules en corbeille, à décharge rapide, de l'inhibition via les récepteurs GABA<sub>A</sub>, des jonctions communicantes, appelées jonctions « gap », et de l'excitation via les récepteurs AMPA (Buzsaki et al., 1983 ; Whittington et al., 1995b ; Whittington et al., 2000 ; Wang & Buzsaki, 1996 ; Traub et al., 1996 ; Traub et al., 2004b ; Roopun et al., 2006 ; 2008).

## **B) Générateurs du rythme gamma**

Il y a deux générateurs majeurs du gamma : un oscillateur dans le GD, dépendant de l'entrée synaptique du CE, et le réseau intrahippocampique CA1-CA3 (Csicsvari et al., 2003). Le subiculum serait également un générateur du rythme gamma.

Le gamma entorhinal serait alors couplé aux oscillations dans le GD, le gamma dans CA1 dépendrait de l'entrée synaptique de CA3.

### *le rythme gamma hippocampique*

Les oscillations gamma (Montgomery & Buzsaki, 2007), au sein du *stratum lacunosum moleculare* de CA1 et du GD, sont principalement sous le contrôle de l'entrée synaptique du CE (Bragin et al., 1995 ; Charpak et al., 1995); la région CA3 quant à elle peut générer des oscillations gamma à partir des interactions entre les cellules pyramidales de CA3 et les cellules en corbeille (Bragin et al., 1995 ; Csicsvari et al., 2003 ; Mann & Paulsen, 2005). L'aire CA1 peut à elle seule générer des oscillations gamma portées par des réseaux locaux d'IN (Colling et al., 1998), les oscillations de CA1 projetant vers le subiculum via les axones des cellules pyramidales (Stanford et al., 1998).

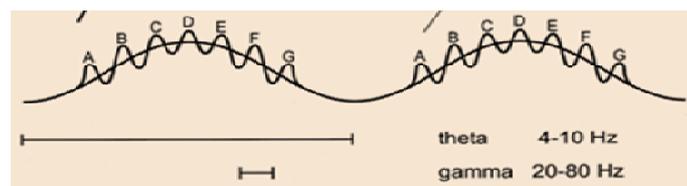
### *le rythme gamma dans le subiculum*

Tout comme CA1, le subiculum peut générer, seul, des oscillations gamma portées par des réseaux locaux d'IN. Le subiculum génère des oscillations gamma à la fois en réponse à une stimulation locale et aux oscillations gamma évoquées dans CA1 (Colling et al., 1998).

## **C) Interactions et principales différences entre les rythmes gamma et thêta**

Les oscillations gamma et thêta sont la plupart du temps couplées lors des mécanismes de plasticité synaptique associés aux processus d'apprentissage et de mémoire.

Chez l'animal, l'augmentation de l'activité gamma, corrélée au rythme thêta (Figure 33), a été observée au niveau des couches superficielles du CE et de CA1 (Chrobak & Buzsaki, 1998). De même, dans le néocortex humain, la phase du rythme thêta (4-8 Hz) module la puissance des oscillations gamma (80-150 Hz) (Canolty et al., 2006). Ce couplage transitoire entre les rythmes de haute et basse fréquence coordonne l'activité dans les différentes aires corticales afin d'établir une communication efficace entre les structures pendant les processus cognitifs chez l'Homme : **la phase du rythme thêta module la puissance du rythme gamma** avec une plus forte modulation pour les hautes amplitudes de thêta, comme montré lors d'un test de mémoire de reconnaissance de mots (Mormann et al., 2005) ou lors de l'encodage de séquences d'items ou spatiales (Jensen et al., 1996 ; Jensen & Lisman, 2005 ; Sirota et al., 2008).



**Figure 33**

**Figure 33.** Exemple d'oscillations thêta imbriquées dans des oscillations gamma. (d'après Axmacher et al., 2006)

## **D) Fonctions associées**

### *Comportements associés*

Chez l'Homme, le gamma est surtout observé pendant les comportements d'alerte et après stimulation sensorielle (cf. revue Bertrand & Tallon-Baudry, 2000). Chez l'animal, dans l'hippocampe, ces oscillations augmentent en association avec la locomotion et le comportement de toilettage (Hugues et al., 2008). Une augmentation des oscillations gamma

au niveau de la voie supramammillo-septo-hippocampique serait en effet associée à un comportement d'hyperlocomotion (Ma et Leing, 2007). Les oscillations gamma peuvent être également observées dans les couches CA1 et CA3 de l'hippocampe de rat lors des comportements d'exploration (Chrobak & Buzsaki, 1998). Il a été rapporté différents « gamma » à différentes bandes de fréquence (un haut gamma, autour de 90 Hz et plus ; et un bas gamma, autour de 50 Hz) selon le comportement associé (Tallon-Baudry, communication personnelle).

### *Processus cognitifs associés*

Les oscillations gamma, ainsi que les oscillations rapides (>80 Hz), en particulier dans les aires CA1/CA3 et le GD, auraient un rôle dans :

- la **communication neuronale** (information du monde extérieur vers le cerveau) : comme par exemple chez le rat éveillé, où les informations extérieures atteignent l'hippocampe via le CE par l'intermédiaire des oscillations gamma (Buzsaki, 1998) ;

- la **mémoire à long-terme** et les **performances cognitives** : par exemple, la synchronisation de l'activité neuronale dans la bande de fréquence gamma permet d'assembler (i.e. phénomène de « **binding** ») des représentations neuronales et de coupler l'activité de l'hippocampe et des cortex rhinaux pendant la formation de la mémoire déclarative (Fell et al., 2001). Il a également été démontré que ces oscillations consisteraient en un mécanisme physiologique par lequel l'activité des aires CA3-CA1 serait coordonnée pour permettre le rappel des mémoires dépendantes de l'hippocampe (Montgomery & Buzsaki, 2007). De plus, bloquer la transmission GABAergique (R GABA<sub>B</sub>) dans le septum médian activerait le gamma de l'hippocampe et, par conséquent, améliorerait les performances cognitives (Ma & Leing, 2007). Dans le CE, les oscillations gamma sont couplées à celles du hile du Gyrus Denté permettant ainsi une communication neuronale et une plasticité synaptique au niveau de la voie perforante.

Les oscillations gamma seraient ainsi plus un mécanisme neural qui permettrait la mise en relation d'informations diverses, agissant comme un canal de communication transitoire, plutôt que spécifiques d'une fonction cognitive précise. Les oscillations gamma apparaissent plus comme une activité indicatrice d'un état cérébral particulier. Par exemple, une modification de ces oscillations (puissance, fréquence, cohérence) dans une structure cérébrale donnée pourrait indiquer que le circuit neuronal considéré est engagé dans un mode de traitement particulier (Montgomery & Buzsaki, 2007), comme lors d'un test de mémoire de travail où la puissance et la cohérence de ces oscillations à l'interface CA3-CA1 sont

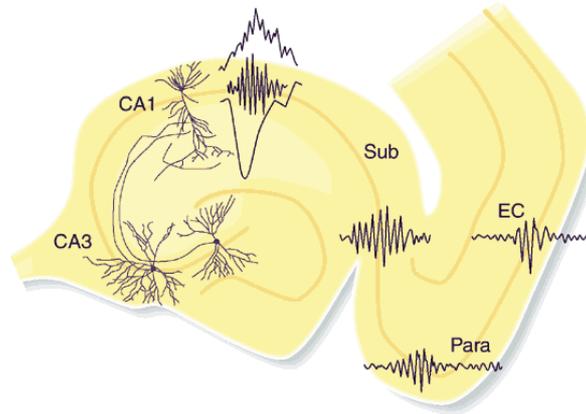
augmentées lors du traitement cognitif (prise de décision au niveau du point de choix dans un test de mémoire de travail ; Montgomery&Buzsaki, 2007). Dans ce cas, les oscillations gamma permettraient la coordination de l'activité CA3-CA1 pour un rappel des informations, dépendantes de l'hippocampe et préalablement encodées.

**Le rôle et la fonction des oscillations gamma ne sont donc pas encore très bien définis à l'heure actuelle, mais il semblerait que ces oscillations soient plus une activité générée par le réseau pour des besoins spécifiques, que véritablement associées à un comportement ou à un processus cognitif donné. Cependant, elles apparaissent complémentaires au rythme thêta auquel elles sont souvent associées pour le bon déroulement des fonctions cognitives, notamment lors de l'encodage d'informations. Après l'encodage, se met en place le phénomène de consolidation par lequel l'information est retenue (cf. partie suivante, B.), et ce processus se fait par l'intermédiaire d'oscillations appelées « sharp wave ripples ».**

### **2.2.3. Les oscillations rapides de type « Sharp wave/Ripples »**

#### **A) Définition et caractéristiques**

Les **oscillations de type « sharp wave »** (SPW, 0.5-4Hz ; Figure 34) sont des oscillations de large amplitude (1-3mV), apériodiques, qui ont pour origine le système récurrent des collatérales de CA3 et se propagent en aval, concomitantes à des changements de l'excitation et de l'inhibition dans la région CA3 (Miles & Wong, 1983 ; Buzsaki & Chrobak, 2005 ; Axmacher et al., 2006). Elles se propagent vers la région CA1 où elles induisent des bouffées de décharge de populations neuronales (Axmacher et al., 2006).



**Figure 34**

**Figure 34. Activités oscillatoires au sein de l'hippocampe, du CE, du subiculum, et du cortex parahippocampique.** La bouffée d'activité émergente de l'aire CA3 produit un potentiel de champ dans la couche dendritique de CA1 ainsi que des oscillations de type "ripples" (200 Hz) au sein de la couche pyramidale et une décharge des neurones phase-dépendante. En retour, l'efférence hippocampique produit une activité similaire de type SWR au sein du subiculum, parasubiculum (« Para ») et des couches profondes du CE (« EC »). Ainsi, les règles de plasticité synaptique gouverneraient l'émergence et le recrutement de groupes particuliers de cellules dans ces efférences hippocampiques. (d'après *Buzsaki & Chrobak, Nature Neuroscience, 2005*)

Dans la région CA1, les SPW sont surtout présentes dans le *stratum radiatum* où elles produisent un large PPSE de champ et reflètent la dépolarisation des dendrites apicales des cellules pyramidales par les collatérales de Schäffer, résultat de la décharge synchrone des cellules pyramidales de CA3 (Buzsaki et al., 1983 ; Buzsaki, 1986 ; Buzsaki, 1989a ; Buzsaki et al., *Science*, 1992 ; Buzsaki & Chrobak, 2005) : lors d'une seule SPW, dans une fenêtre temporelle de 50 à 100 ms, de nombreux neurones pyramidaux (de 50000 à 100000) déchargent en même temps au niveau de l'axe CA3-CA1-subiculum-CE, où une importante synchronisation a lieu entre les réseaux de neurones qui connectent l'hippocampe au néocortex (Chrobak and Buzsaki, 1996 ; Buzsaki & Chrobak, 2005). **Il pourrait s'agir de l'activité de réseau la plus synchrone du cerveau !** (Buzsaki & Chrobak, 2005). L'activation coordonnée des cellules pyramidales et des IN pendant les SPW est reflétée par des oscillations rapides extracellulaires appelées « **ripples** » (Buzsaki et al., 1983). Les mécanismes cellulaires et de réseau des « **ripples** » restent encore débattus.

## B) Générateurs des SWR

### *L'hippocampe*

Les **oscillations « ripples »** (140-200 Hz) se retrouvent au niveau de la région CA1 et ont pour origine CA3 (Buzsaki et al., 1983, Buzsaki, 2006). Leur amplitude maximale est observée au niveau de la couche pyramidale de CA1 (où elles sont généralement associées à une SPW dans le *stratum radiatum* ; Ylinen et al., 1995), mais elles sont également présentes au niveau du *stratum radiatum*.

### *Le cortex entorhinal*

Les « **ripples** » sont également présentes au niveau des **couches profondes du CE** (couches V-VI ; Chrobak et al., 2000), où elles apparaissent 5 à 30 ms après celles de CA1 (Chrobak & Buzsaki, 1996).

En revanche, le septum médian est complètement inhibé lors des « ripples » hippocampiques (Dragoi et al., 1999).

## C) Comportements et processus cognitifs associés

Au cours de l'état de veille, les SWR sont présentes lors d'états comportementaux caractérisés par l'absence de stimulation externe, tels les comportements de consommation, de veille calme et d'arrêt d'exploration dans un environnement (Axmacher et al., 2006 ; Csicsvari et al., 2007), sous-tendant alors, dans ce dernier cas, le processus de « réactivation inverse » -via les cellules pyramidales de CA1- de la séquence de lieu qui vient d'être encodée juste avant, i.e. au cours de l'exploration, pendant les périodes de thêta (Foster & Wilson, 2006).

Les SWR supporteraient le traitement « off-line » de la consolidation mnésique (Figure 35), qui a lieu essentiellement pendant le sommeil, au cours des oscillations lentes de type « slow wave sleep » (SWS ; **Chrobak & Buzsaki, 1996** ; cf. paragraphe suivant).

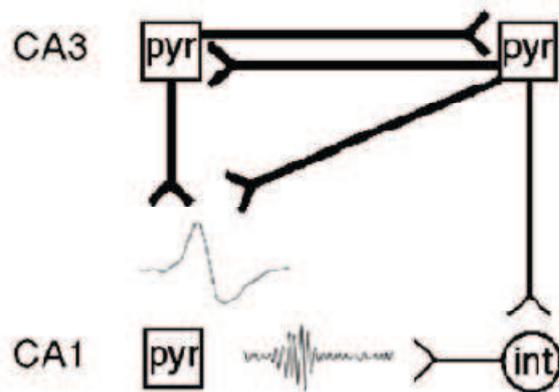


Figure 35

**Figure 35. Mécanisme potentiel sous-tendant les oscillations SWR.** Après l'inhibition sous-corticale, les réseaux des cellules pyramidales de CA3 (dotées de connexions récurrentes renforcées par le processus préalable de LTP dépendante de l'activité gamma) induit des bouffées de population de neurones au sein de la région CA1. De manière simultanée, les INs de CA3 sont activés et déchargent avec des trains de PA haute-fréquence (~200 Hz), qui contrôlent l'activité de la cellule pyramidale sur une période de l'ordre de la milliseconde (adapté de *Axmacher et al., 2006*).

#### 2.2.4. Le rythme delta

Pendant l'état de veille, les oscillations lentes delta (0.5-3.0 Hz) sont associées à un état de profonde détente, de léthargie, d'immobilité. Elles sont également le signe d'un cerveau en souffrance, le côté présentant des ondes lentes étant le côté qui souffre. Elles sont normales chez le très jeune enfant mais peuvent ensuite caractériser certaines lésions cérébrales, comme les lésions de la substance blanche par exemple.

#### 2.2.5. Le rythme bêta

Chez l'Homme, les oscillations bêta sont généralement comprises entre 20 Hz et 30Hz. Ce rythme caractérise une période d'activité intense, de concentration ou d'anxiété. Elles ont été enregistrées dans le cortex moteur lors de mouvements volontaires et dans l'hippocampe notamment (Sanes & Donoghue, 1993).

**La partie précédente décrit les oscillations chez l'animal/l'Homme vigile. Je vais maintenant aborder le sujet des oscillations au cours du sommeil, car une partie de mon étude porte sur les oscillations pendant le sommeil. J'insisterai, comme lors des processus de veille, sur les activités rythmiques thêta, gamma et SWR.**

## 2.3. Les rythmes au cours du sommeil

### 2.3.1. Les oscillations de type « slow wave sleep » (SWS)

Les oscillations de type SWS sont des oscillations présentes aussi bien chez l'Homme (Dang-Vu et al., 2008) que chez l'animal (Steriade, 2005) pendant les stades profonds (stades 3-4) de sommeil lent (non paradoxal), et constituent la période caractérisée par le plus grand nombre d'oscillations de type SWR (Wilson & Mc Naughton, 1994).

Cette oscillation lente (<1Hz), enregistrée dans la plupart des populations de neurones néocorticaux, se caractérise par une phase de dépolarisation, associée avec une haute fréquence de décharge, appelée « up state », et une phase hyperpolarisante où les neurones corticaux restent silencieux pendant plusieurs centaines de millisecondes (« down state ») (Steriade et al., 1993 ; 2001). Ces oscillations se produisent de manière synchrone au sein d'une large population de neurones ; on peut donc les observer sur l'EEG de scalp sous la forme d'ondes de grande amplitude (classiquement > 75  $\mu$ V, ou > 140  $\mu$ V, Molle et al., 2002 ; Massimini et al., 2004) et de basse fréquence (0-3 Hz ; Steriade et al., 1993).

Au cours des SWS, le réseau hippocampique se trouve dans un mode de consolidation de l'information (Figure 36 ; Holmes & Lenck-Santini, 2006).

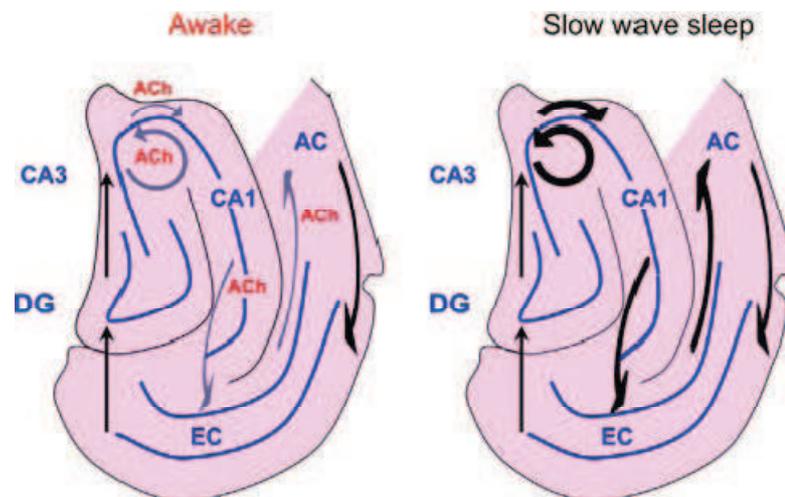


Figure 36

**Figure 36.** Modifications fonctionnelles du circuit de la formation hippocampique chez l'animal éveillé versus en phase de sommeil lent (SWS). (ACh : acétylcholine)

**À gauche :** lors de la veille, les afférences cholinergiques en provenance du septum inhibent les connexions récurrentes de CA3 ainsi que les connexions CA3-CA1-CE. L'information atteint l'hippocampe via le CE et arrive au niveau du GD et des aires CA1 et CA3. Le réseau hippocampique est dans un mode d'encodage/acquisition (cf. partie suivante, C.).

**À droite :** au cours des SWS, la modulation cholinergique de l'hippocampe est faible. Les connexions récurrentes de CA3 ainsi que les connexions CE-CA1-CA3 sont désinhibées, et le réseau hippocampique se trouve alors dans un mode de consolidation de l'information (cf. partie suivante, C.). (tiré de Holmes & Lenck-Santini, 2006).

### 2.3.2. Le rythme thêta

Alors que pendant l'état de veille, le rythme thêta est fortement associé au comportement de navigation et aux processus cognitifs, au cours du sommeil, le rythme thêta est caractéristique du **sommeil paradoxal** (REM pour « Rapid Eye Movement »; Jouvet, 1969 ; 2004).

Chez l'animal, au cours du sommeil paradoxal « tonique » (constituant la majeure partie -95%- du REM ; Montgomery et al., 2008), la synchronie du rythme thêta du GD et de CA3 est significativement plus importante que lors de l'état de veille chez l'animal (Montgomery et al., 2008). Lors du sommeil paradoxal « phasique » (Montgomery et al., 2008), la synchronie du rythme thêta est significativement plus importante au sein des régions CA1, CA3, et du GD (Montgomery et al., 2008).

Chez l'Homme, le rythme thêta est également présent pendant le sommeil paradoxal (Cantero et al., 2003). Il a une fréquence de 4-7Hz et apparaît sous forme de bouffées d'environ une seconde alors qu'il est continu chez les rongeurs. Une autre différence avec les rongeurs est qu'il n'est pas en phase avec le rythme gamma. Il n'y a pas de couplage fonctionnel entre le néocortex et l'hippocampe pendant les périodes thêta, ce qui est en faveur de l'existence de multiples générateurs du rythme thêta dans le cerveau humain, générateurs régulés, comme chez les rongeurs, de manière dynamique par les différents états du cerveau (veille, sommeil, ...). Chez l'Homme, pendant le sommeil paradoxal, s'effectue le passage d'un mode tonique à un mode phasique dans l'hippocampe (Cantero et al., 2003).

### 2.3.3. Le rythme gamma

#### *Sommeil paradoxal*

Chez l'Homme comme chez les rongeurs, le rythme gamma est présent au cours du sommeil paradoxal. Cependant, chez l'Homme, il n'est pas en phase avec le rythme thêta et les variations de puissance du rythme ne sont pas associées à la phase du thêta (Cantero et al., 2003). Chez l'animal, la synchronie gamma au sein du réseau GD-CA3 est significativement plus importante que pendant l'état d'éveil ; cependant, la puissance du gamma dans CA1 et la cohérence gamma au sein du réseau CA3-CA1 est significativement diminuée (Montgomery et al., 2008). De plus, les oscillations gamma deviennent plus synchrones entre les différents sites corticaux (Steriade et al., 1996a, 1996b).

### *Sommeil lent*

De même que pour le sommeil paradoxal, les oscillations gamma deviennent plus synchrones entre les différents sites corticaux lors du sommeil lent (SWS) (Steriade et al., 1996a ; b), et les informations préalablement « apprises », i.e. encodées, atteignent le CE via l'hippocampe par l'intermédiaire des oscillations gamma (Buzsaki, 1998).

#### **2.3.4. Le rythme delta**

Chez l'Homme comme chez l'animal, les oscillations delta, ou ondes lentes, correspondent aux fréquences comprises entre 0.5 et 4Hz. Elles sont essentiellement présentes lors des stades de sommeil lent (stades 2, 3 et 4).

**Les comportements mettant en jeu l'association des rythmes thêta-gamma conduisent à une augmentation de la corrélation de leurs décharges au cours de la période ultérieure de SWS, période caractérisée par le plus grand nombre d'oscillations de type SWR que nous allons maintenant présenter.**

#### **2.3.5. Les oscillations de type SWR**

Ces oscillations (Wilson & Mc Naughton, 1994) sont présentes lors du sommeil lent, au cours des SWS, où les neurones déchargent à la fréquence « ripples ». Elles assurent le processus de réactivation des séquences comportementales préalablement encodées pour ainsi permettre une récupération de l'information : les patrons d'activité neuronale appris lors de comportements qui requièrent l'association des oscillations thêta et gamma pendant la veille sont réactivés lors de ces oscillations SWR au cours du sommeil lent (SWS ; Nadasdy et al., 1999 ; Skaggs & Mc Naughton, 1996 ; Axmacher et al., 2006 ; Buzsaki, 2006). Cependant, il semblerait que les patrons d'activité plus longs ne seraient pas seulement réactivés au cours du sommeil lent, mais aussi lors du sommeil paradoxal (Louie & Wilson, 2001), caractérisé, de manière intéressante, à la fois par les rythmes thêta et gamma.

**Les oscillations (thêta, gamma, SWR) peuvent être générées de manière indépendante (le rythme gamma peut par exemple persister sans rythme thêta) ou interagir, selon la fonction attribuée à ces oscillations : le rythme gamma peut être associé au rythme thêta pour assurer le bon déroulement d'un processus**

**cognitif, ou mis en place par les activités de réseau pour agir tel un mécanisme neuronal à part entière ; quant au thêta, il peut également agir seul, tel un mécanisme attentionnel, ou assurer une fonction plus spécifique.**

## **B) LE TRAITEMENT COGNITIF**

La cognition occupe une place importante dans ce travail de thèse. Oscillations et cognition sont liées, comme on vient de le voir précédemment. En effet, les activités rythmiques et cognitives sont associées. Les oscillations sous-tendent la transmission de l'information entre structures, elles sont donc à la base du traitement cognitif. De manière générale, rappelons ici que le rythme thêta est associé à la navigation spatiale, les oscillations de type SWR au processus de consolidation mnésique, et le rythme gamma, souvent associé au rythme thêta, aux **processus cognitifs**, notamment spatiaux. Dans cette partie, toujours en conditions normales, je vais commencer par détailler les principaux processus cognitifs (encodage, rappel, consolidation). Puis je présenterai de manière générale la **mémoire déclarative**, pour ne m'attarder ensuite que sur deux sous-types de cette mémoire. Mon sujet de thèse portant essentiellement sur les processus cognitifs et les oscillations chez l'animal, il sera question par la suite de **mémoire spatiale** et **non-spatiale** comme aspects de mémoire déclarative. Je présenterai en détails ces deux types de mémoire pour ensuite détailler leurs substrats cérébraux, à partir d'études lésionnelles, à la fois chez l'Homme et l'animal.

### **1. Les processus cognitifs**

Pour que se produise le phénomène de mémoire, i.e. retenir un souvenir, une information, il faut tout d'abord encoder cette information (i.e. processus d'encodage), puis être capable de la rappeler (i.e. processus de rappel) et enfin s'en souvenir à plus ou moins long-terme (i.e. processus de consolidation mnésique ; Robertson, 2009 ; Figure 37). Je vais donc commencer par aborder ces trois processus qui constituent la base de tous types de mémoire.

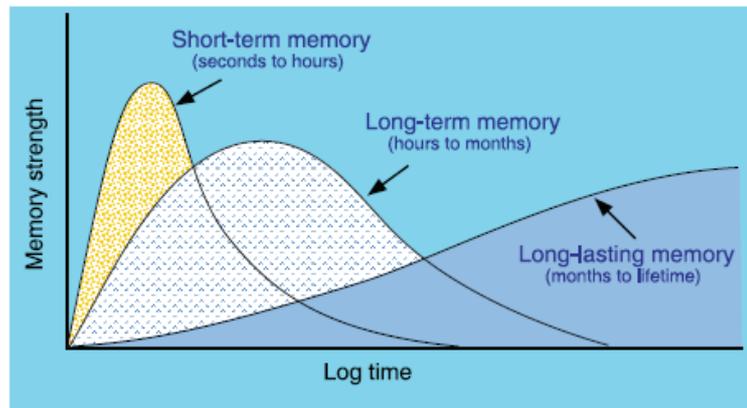


Figure 37

Figure 37. Classification, en fonction du temps, de la mémoire à court-terme (de secondes à heures), à long-terme (heures à mois) et définitive (mois à « à vie ») (tiré de *Mc Gaugh, Science, 2000*)

## 1.1. Le processus d'encodage

Le processus d'**encodage** est celui par lequel on met en mémoire les informations. L'activité oscillatoire dans l'aire CA3, notamment les oscillations bêta/gamma, est décrite comme étant impliquée dans les processus d'encodage. Plusieurs auteurs, via des modèles computationnels, ont montré que le réseau récurrent de CA3 semblait en effet impliqué dans la phase d'encodage (Marr, 1971 ; Wallenstein et al., 1998).

## 1.2. La consolidation mnésique

La **consolidation** est évaluée comme un changement de performance entre le test et le retest (Robertson et al., 2004). Selon l'hypothèse du Pr Buzsaki (Buzsaki, 1996), la consolidation mnésique s'expliquerait de la manière suivante: une bouffée d'oscillations de type SPW, initiée dans l'hippocampe pendant les événements de type SWS (i.e. lors du sommeil lent) et associée aux oscillations thêta/gamma, induirait le mécanisme par lequel la mémorisation de l'information serait relayée vers le cortex (Buzsaki, 1996). On parle de consolidation mnésique à différentes échelles de temps : à court-terme, à long-terme et à vie (Buzsaki, 1996 ; Mc Gaugh, 2000 ; Figure 37).

La **réactivation mnésique**, ou phénomène de « **replay** », c'est-à-dire une réactivation dans le même sens que la séquence comportementale initiale, se ferait de manière simultanée dans le cortex et l'hippocampe (de CA3 vers CA1) pendant le sommeil lent, au cours des SWS et des « ripples » (Buzsaki, 2006). Récemment, il a été rapporté qu'un des mécanismes physiologiques qui pourrait assurer cette coordination entre CA3 et CA1 se ferait via les

oscillations gamma (augmentation de la puissance et de la cohérence gamma; Montgomery et Buzsaki, 2007). Il existe également le phénomène de « **reverse replay** », qui « rejoue » la séquence comportementale préalablement encodée, mais dans le sens inverse. Chez l'animal, ce phénomène se déroule pendant l'état éveillé, entre deux essais de test par exemple, ou pendant les périodes d'arrêt juste après avoir couru dans une roue, par exemple. Sa durée est d'une centaine de millisecondes, et coïncide avec les « ripples » (Foster and Wilson, 2006). Les SWS se produisent de manière intermittente, en bouffées d'environ 100 ms, et compressent, dans le temps, approximativement de 20 fois des séquences comportementales courtes (Lee and Wilson, 2002 ; Ji and Wilson, 2007). Pendant le sommeil, l'information acquise pendant le test est ensuite ré-exprimée au niveau des circuits de l'hippocampe (Wilson & Mc Naughton, 1994). Au cours du sommeil paradoxal, caractérisé par les oscillations thêta et une désynchronie de l'EEG (qui caractérise également le comportement d'exploration pendant l'état d'éveil), il y a également une réactivation, mais cette fois, de séquences comportementales longues (de dizaines de secondes à plusieurs minutes) appartenant à de la mémoire épisodique (Louis and Wilson, 2001) mais pas de séquences courtes comme lors des SWS (Kudrimoti et al., 1999). D'autres auteurs (Plihal & Born, 1999) montrent que la consolidation de la mémoire spatiale fait intervenir les SWS mais pas le sommeil paradoxal, alors que la consolidation d'un test de discrimination visuelle semble faire intervenir les deux types de sommeil à la fois (Gais et al., 2000 ; Stickgold et al., 2000a, b, c ; Louie & Wilson, 2001).

### **1.3. Le processus de récupération**

Comme pour le processus d'encodage, l'activité oscillatoire dans CA3 via les oscillations bêta/gamma (20-24 Hz) est également impliquée dans les processus de récupération mnésique. Ce processus, également appelé « **processus de rappel** », est dépendant des structures néocorticales (Squire & Zola-Morgan, 1991) ; toutefois, il a également été rapporté que des lésions de la formation hippocampique induisaient des déficits de la récupération de l'information (Bolhuis et al., 1994).

Nous allons maintenant présenter, de manière générale, la mémoire déclarative, puisque la mémoire spatiale et non-spatiale, processus mnésiques d'intérêt de ce travail, sont des sous-types particuliers de cette mémoire.

## 2. La mémoire déclarative

La mémoire déclarative (Hasselmo & McClelland, 1999), celle par laquelle on va chercher de manière quotidienne des connaissances de faits ou d'événements précis (d'expériences passées nous concernant, ou bien de connaissances générales sur le monde) regroupe donc la mémoire épisodique (contextuelle) et sémantique (non contextuelle) (Buzsaki, 2005). Cette mémoire prend forme via des connexions bidirectionnelles entre le néocortex, la région parahippocampique et l'hippocampe, chacune de ces régions assurant une fonction bien précise dans ce type de mémoire (Eichenbaum, 2000) : les aires néocorticales sont impliquées notamment dans l'information motrice ou cognitive; la région parahippocampique régit la convergence de l'information et renforce le maintien des représentations mnésiques du néocortex. L'hippocampe, quant à lui, est impliqué dans l'encodage de séquences de lieux et d'évènements constituant la mémoire épisodique, et établit des relations entre eux. Certains auteurs avancent que cette mémoire dépendrait du circuit de l'hippocampe proprement dit (Cohen & Squire, 1980, chez l'Homme ; puis confirmé par Eichenbaum et al., 1996, chez l'animal).

Chez l'Homme, l'hippocampe et le cortex rhinal sont deux structures du lobe temporal médian qui jouent un rôle très important dans la mémoire déclarative ; l'hippocampe serait plus important que le CE pour le rappel de nouvelles informations apprises (Miller, 1998).

La bonne (versus mauvaise) formation de mémoire est accompagnée d'une augmentation initiale de la synchronisation gamma au niveau de la voie hippocampo-rhinale, suivie d'une désynchronisation plus tardive, ce qui indique que la mémoire déclarative effective est accompagnée d'une coopération directe et temporellement limitée entre les structures intracérébrales du lobe temporal médian (Fell et al., 2001, 2002). Tandis que la cohérence thêta est associée à un couplage relatif à l'encodage, la synchronisation gamma au niveau de la voie hippocampo-rhinale doit plutôt être relative aux processus de mémoire en permettant un couplage et découplage rapide de ces deux structures (Fell et al., 2003a, b). **La connectivité hippocampo-rhinale est donc un facteur clé dans la formation de la mémoire déclarative** (Fell et al., 2006).

De plus, l'activité couplée des oscillations thêta et gamma modifie de manière sélective à la fois les connexions de type « feed-forward » - fibres moussues et synapses de la voie perforante- et les collatérales récurrentes de CA3 via différents mécanismes.

**Ainsi, les oscillations thêta et gamma doivent représenter une base cellulaire lors des premières étapes mises en jeu dans la mémoire déclarative.**

## **2.1. La mémoire spatiale**

La mémoire spatiale est un type de mémoire déclarative contextualisée. Elle correspond à la capacité de se repérer dans un environnement donné à partir d'informations de lieu préalablement encodées (phase d'acquisition préalable). C'est sur ce type de mémoire que s'est en partie orienté mon travail de thèse. Dans cette partie, nous allons définir la notion de représentations spatiales, leur nature, puis expliquer le principe de réaction à la nouveauté, enfin préciser les substrats cérébraux qui sous-tendent cette mémoire, chez l'Homme et l'animal. Etant donné que nos études portent essentiellement sur l'animal, je ne m'attarderai pas sur les travaux chez l'Homme.

### **2.1.1. Les représentations spatiales**

#### **a) Définition**

Le « cognitivisme », courant développé notamment par Tolman dans les années 40, introduisit la notion de **représentations spatiales** selon laquelle l'animal, au cours de la phase d'apprentissage, construirait une « carte cognitive » de l'environnement dans lequel il évolue. Cette carte correspondrait aux relations spatiales d'angles et de distances entre les différents endroits de cet environnement (O'Keefe & Nadel, 1978). Selon Tolman (Tolman, 1948), les processus mis en jeu par l'animal pour s'orienter dans l'espace sont beaucoup plus complexes et flexibles que la simple association stimulus-réponse, comme le pensaient les « comportementalistes » tels que Hull (Hull, 1930 ; 1943) qui rejetaient la notion de processus mentaux. Selon Tolman, ces représentations spatiales reposent sur un codage allocentrique (i.e. qui repose sur des indices permanents, immuables, indépendants de la position de l'animal, comme par exemple les quatre points cardinaux) des relations spatiales. Depuis, la théorie des « cartes cognitives » a été confirmée par un grand nombre de travaux chez l'animal et chez l'Homme.

#### **b) Nature des représentations spatiales**

Dans leur ouvrage marquant, « The hippocampus as a cognitive map », les Dr O'Keefe & Nadel (O'Keefe & Nadel, 1978), sur la base de leurs travaux chez l'animal, ont montré qu'il existait deux types d'orientation spatiale : un système de « cartes » qui reprend le

concept des « cartes cognitives » introduit par Tolman, et un système de « routes ». Les représentations de type « **carte** » mettent en jeu des « cartes cognitives », sont organisées selon un référentiel **allocentrique** (référentiel stable, immuable, comme par exemple des indices de l'environnement ou les points cardinaux) alors que les représentations de type « **route** » (« taxon system ») reposent sur un système de guidage, et se situent dans un référentiel **égocentrique** (la référence est le sujet lui-même, donc instable, puisque les repères de position tels devant/derrière, droite/gauche sont modifiés selon la position du sujet). Ces deux systèmes d'orientation dans l'espace sont basés sur des informations de l'environnement (repères, indices visuels) mais l'utilisation de ces informations varie selon le type de traitement spatial : en effet, ces informations sont cruciales dans le système « route », alors que le système « carte » repose davantage sur les **relations** entre les différents repères.

### **2.1.2. Réaction à la nouveauté**

Le paradigme de détection de la nouveauté a été introduit en 1950, par Berlyne (Berlyne, 1950). Le test consistait à étudier, chez le rat, l'effet de l'introduction d'un nouvel objet dans un environnement préalablement exploré par l'animal, nouvel objet qui suscitait un regain d'exploration. Le paradigme de détection de la nouveauté débute en effet par une phase de familiarisation avec l'environnement, phase cruciale pour que l'animal puisse prendre connaissance des caractéristiques (dangers potentiels, sources de nourriture,...) de cet environnement. La diminution progressive de l'activité exploratoire correspond à une réduction du degré d'incertitude que représente toute situation nouvelle. Le regain d'exploration lorsqu'une modification est introduite dans l'environnement devenu familier traduit un processus de comparaison entre la situation initiale, mémorisée, et la situation nouvelle perçue. Ce paradigme permet donc d'appréhender indirectement les caractéristiques qui ont été intégrées spontanément par le sujet pendant la phase d'exploration initiale. Par la suite, ce paradigme a été très largement utilisé avec différentes espèces en effectuant, après la phase d'habituation, des modifications non spatiales (remplacement d'un objet) mais aussi spatiales (déplacement d'un objet, modification de la configuration initiale) permettant ainsi d'analyser la nature des représentations constituées par l'animal (cf. Thinus-Blanc, 1996 pour revue).

### 2.1.3. Substrats cérébraux : études lésionnelles chez l'animal

Il existe plusieurs types de mémoire. Chaque système de mémoire repose sur un réseau neural spécifique. Selon le siège des lésions, le syndrome amnésique est spécifique et dissocié (Figure 38). Ainsi, il est intéressant d'étudier les substrats neuronaux de nos deux types de mémoire d'intérêt via les études lésionnelles.

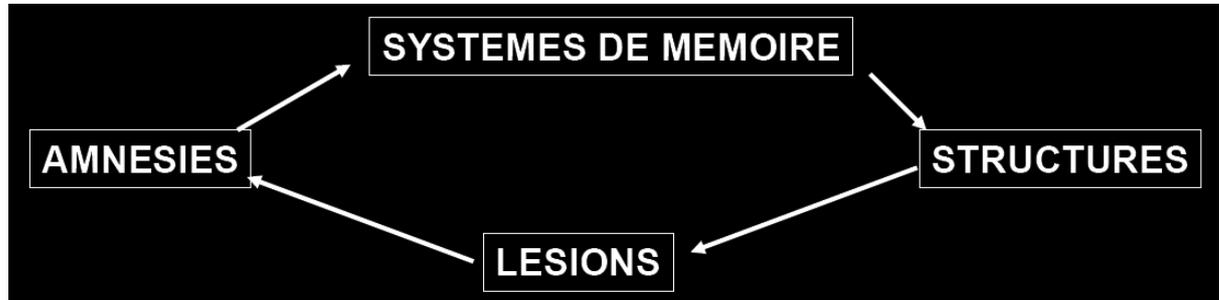


Figure 38

**Figure 38. Schéma montrant que les systèmes de mémoire impliquent différentes structures mises en évidence via des lésions, comme chez des patients lésés présentant des amnésies** (cf. le célèbre cas du patient H.M. (*Scoville & Milner, 1957*), présentant une amnésie sévère (de nouvelles informations) associée à une lésion de l'hippocampe : en effet, il avait subi une exérèse bilatérale de l'hippocampe afin de réduire ses crises d'épilepsie.

Nous allons aborder cette partie par la présentation des données obtenues par lésions cérébrales, tout d'abord dans l'hippocampe puis au sein des autres structures de la formation hippocampique.

Les tests couramment utilisés pour évaluer de tels déficits après lésions sont le test de la Piscine de Morris et le labyrinthe à huit bras.

#### a) L'hippocampe

La mémoire spatiale est particulièrement sensible aux lésions hippocampiques (O'Keefe & Nadel, 1978 ; Morris et al., 1982 ; Sutherland et al., 1982 ; Cassel et al., 1998 ; Moses et al., 2005 ; Cain et al., 2007), notamment à des lésions sélectives du GD (Sutherland et al., 1983), à l'inverse de la mémoire non-spatiale (Aggleton, 1986, Save et al., 1992a, b ; Jarrard, 1993 ; Galani et al., 1998).

L'hippocampe joue un rôle dans la représentation des relations entre indices environnementaux (Santini, 2000), en particulier dans un grand nombre de situations spatiales (e.g. Moses, 2005 ; Galani, 1998). Le comportement de réaction à la nouveauté (paradigme qui est utilisé dans la partie expérimentale de cette thèse) est affecté par des lésions de l'hippocampe. Les rats lésés sont le plus souvent hyperactifs et il n'y a pas d'habituation de l'activité exploratoire, ce qui est interprété comme reflétant un déficit de mémorisation des

caractéristiques de l'environnement nouveau. Ces animaux ne réagissent pas à un déplacement spatial mais, en revanche, le remplacement d'un objet familier par un objet nouveau induit des réactions exploratoires sélectivement dirigées vers cet objet, qui dépassent le niveau d'activité qu'ils ont encore à la fin de la phase pendant laquelle les rats contrôles s'habituent (Save et al., 1992a ; Save et al., 1992b). Ces résultats soulignent la fonction spatiale de l'hippocampe dont la lésion épargne le processus de perception des propriétés non spatiales des objets.

Mais ce n'est pas sa seule fonction : il est également impliqué dans le traitement et la rétention des informations spatiales et contextuelles (Jarrard, 1993). Les rats ayant des lésions de l'hippocampe sont capables d'apprendre une position spatiale en utilisant des stratégies non spatiales pour compenser le déficit de mémoire spatiale ; cependant, les résultats restent discutés (Pouzet, 2002). L'inactivation unilatérale de l'hippocampe dorsal de rat à l'aide de tétradotoxine (TTX, toxine qui bloque la décharge des neurones) permet d'avancer que l'apprentissage spatial peut être localisé à un seul hippocampe (Fenton & Bures, 1993). Cette étude montre également qu'il n'y a **pas de spécialisation hémisphérique gauche/droite pour l'apprentissage spatial chez le rat** (Fenton & Bures, 1993).

### **b) Autres structures de la formation hippocampique**

Des lésions des structures cérébrales associées à la formation hippocampique, e.g. le subiculum, le septum, les cortex (ento- et péri-) rhinaux et la région mamillaire, ou encore la déconnexion des projections hippocampiques vers le thalamus antérieur (*Warburton et al., 2000*), conduisent à des déficits équivalents à ceux causés par des lésions de l'hippocampe (*Dutar et al., 1995 ; Nagahara et al., 1995 ; Sziklas et al., 1996*).

#### *CE et subiculum*

Le CE, à l'interface entre l'hippocampe et le néocortex, joue un rôle pivot dans les processus mnésiques. Les rats avec des lésions du CE présentent un déficit spatial mais pas de déficit non-spatial (Van Cauter et al., 2008). Cependant, une ancienne étude montre le contraire (Galani et al., 1998) : selon ces auteurs, le CE serait utile pour traiter l'information spatiale, comme le subiculum, mais ces deux structures auraient plutôt un rôle dans la mémoire indépendante de l'hippocampe, i.e. non spatiale (Galani et al., 1998). Pourtant, il a été préalablement observé que des lésions du subiculum (Morris et al., 1990) et du CE (de la voie perforante ; Skelton & Mc Namara, 1992) affectaient l'acquisition dans le test de la

piscine de Morris. Le CE permettrait de maintenir des représentations stables de l'environnement au sein de l'hippocampe (Van Cauter et al., 2008); en effet, une perte cellulaire au niveau de la couche III du CE entraîne une dispersion des champs de lieu dans CA1 (Brun et al., 2008).

### *Septum*

Des lésions du septum induisent aussi des déficits spatiaux (Hagan et al., 1988 ; Kelsey & Landry, 1988 ; Brandner and Schenk, 1998 ; Leutgeb & Mizumori, 1999). Le système septo-hippocampique joue également un rôle très important dans l'orientation ainsi que dans le maintien en mémoire des informations spatiales (Olton, 1977). Ce même système signale un changement d'environnement inattendu par une réduction de la fréquence du rythme thêta, indépendamment de la vitesse de déplacement (Jeewajee et al., 2008). Des lésions du fornix (voie majeure afférente et efférente de l'hippocampe) abolissent l'apprentissage spatial chez le rat (O'Keefe, 1975, Cassel et al., 1998 ; Cain et al., 2006).

### *SuM*

Des lésions du SuM médian n'ont pas d'effet significatif sur l'apprentissage spatial (Jarrard, 1983 ; Sziklas & Petrides, 1993 ; Pan & Mc Naughton, 1997 ; 2002), mais sembleraient plutôt impliquées dans des aspects plus émotionnels (Beck & Fibiger, 1995 ; Wirtshafter et al., 1998).

### *Cortex pariétal associatif*

Le cortex pariétal associatif (CPA) quant à lui coopérerait avec l'hippocampe dans la formation de la mémoire spatiale (Save, 2005). Le CPA serait recruté dans l'élaboration d'une carte hippocampique basée sur des repères proximaux.

### *Cortex périrhinal*

L'implication du cortex périrhinal dans la mémoire spatiale n'est pas claire et reste controversée. Il est tantôt décrit comme n'étant pas impliqué dans ce type de mémoire, aussi bien chez le rat que chez le singe (Aggleton et Brown, 1999 ; Gaffan, 1995 ; Wan et al., 1999 ; Moses et al., 2005 ; Winters et Bussey, 2005), tantôt décrit comme occupant une place importante (Zola-Morgan et al., 1993), notamment en déstabilisant des champs de lieu des cellules hippocampiques (Muir & Bilkey, 2001). Cependant, des études mettant en évidence

l'importance des interactions hippocampe-cortex périrhinal dans l'intégration objet-lieu (Bussey, 2001) montrent que le cortex périrhinal semblerait critique pour la formation d'une mémoire spatiale à long-terme (Ramos et Vaquero, 2005) bien que moins impliqué dans des tests ciblant de manière spécifique la mémoire spatiale allocentrique (Machin, 2002). Des études faites chez des patients atteints d'épilepsie du lobe temporal (cf. chapitre suivant, **III.C.1.**) et présentant des lésions de l'hippocampe, du gyrus parahippocampique et de l'amygdale (Weniger, 2004) montrent que les cortex périrhinal et entorhinal contribuent de manière prédominante à l'apprentissage associatif et au rappel d'objets.

## **2.1.4. Etudes de patients cérébrolésés**

### **a) L'hippocampe**

Beaucoup d'études reposent sur des tests de mémoire spatiale initialement conçus pour l'animal et adaptés au sujet humain (par exemple, Kahana et al., 1999b ; Bohbot et al., 2002). Il est actuellement bien connu que la mémoire spatiale chez l'Homme implique dans une large mesure l'hippocampe postérieur, comme le démontre la célèbre étude des chauffeurs de taxis londoniens (Maguire et al., 2000). Par ailleurs, des patients présentant des lésions de l'hippocampe se sont avérés déficitaires dans des tests impliquant la mémoire spatiale (Smith & Milner, 1981, 1989 ; Rains & Milner, 1994 ; Abrahams et al., 1997 ; Milner et al., 1997 ; Bohbot et al., 1998 ; Kessels, 2001 ; Crane & Milner, 2005). Grâce à une version virtuelle de la piscine de Morris adaptée au sujet humain, l'hippocampe a ainsi pu être décrit comme étant la structure cérébrale critique dans les processus de mémoire spatiale et relationnelle. Cependant, une controverse persiste sur l'hémisphère dominant: certains auteurs avancent que la mémoire spatiale chez l'Homme est gérée par l'hippocampe droit (Nunn et al., 1998 ; Nunn et al., 1999 ; Bohbot, 1998 ; 2002 ; Parslow, 2005), d'autres avancent que l'hémisphère droit n'est pas le seul impliqué dans ce type de mémoire (Stepankova et al., 2004 ; Van Asselen et al., 2008). L'hippocampe droit apparaîtrait alors principalement impliqué dans la mémoire des lieux dans un environnement, notamment dans la mémoire de la position d'éléments dans une pièce, l'hippocampe gauche semblerait plus impliqué dans la mémoire (épisode) dépendante du contexte, et dans la mémoire autobiographique (Burgess et al., 2002). Cependant, ces données restent encore largement débattues.

## **b) Autres structures de la formation hippocampique**

### *La région parahippocampique postérieure*

La région parahippocampique postérieure jouerait un rôle très important dans la mémoire spatiale chez l'Homme (Nunn, 1998 ; Ploner et al., 2000 ; Janzen & van Turenhout, 2004), plus que l'hippocampe lui-même d'après certains auteurs (Bohbot, 1998 ; Bohbot, 2002) ainsi que dans la mémoire contextuelle (i.e. association objets-lieu) en général et pas nécessairement spatiale (Bar et al., 2008a, b; Polner et al., 2000 ; Bohbot and Corkin, 2007).

### *Le CE médian*

Le **CE médian** est impliqué dans le traitement de l'information spatiale (Hargreaves, 2005) et serait, semble-t-il, le foyer de représentations spatiales allocentriques (Fyhn et al., 2004). La **bande dorsolatérale du CE** jouerait également un rôle important dans le traitement de l'information spatiale, notamment via des neurones dont les champs de lieu (« place fields ») se situent dans les couches II et III et présentent des propriétés comparables à celles des cellules de lieu situées dans la région CA1 de l'hippocampe (Steffenach, 2005).

### *Le cortex postrhinal*

Le cortex postrhinal, quant à lui, serait impliqué dans la mémoire contextuelle (Norman & Eacott, 2005).

## **2.2. La mémoire non-spatiale**

La mémoire non spatiale consiste à retenir des informations concernant notamment les propriétés intrinsèques des objets.

L'exploration d'un nouvel environnement se traduit par une réduction de la fréquence du rythme thêta hippocampique (Jeevajee et al., 2008), et par l'apparition d'oscillations bêta (23-30 Hz) transitoires au sein de l'hippocampe (modèle souris, Berke et al., 2008).

### **2.2.1. Etudes lésionnelles chez l'animal**

#### *L'hippocampe*

La mémoire non spatiale serait indépendante de l'hippocampe, comme le démontre plusieurs études de lésions (Aggleton, 1986 ; Save et al., 1992b ; Jarrard, 1993). Cependant, à l'heure actuelle, ce concept reste encore controversé puisque d'autres études (Bunsey & Eichenbaum, 1996 ; Wood et al., 1999 ; Wood et al., 2000 ; Clark et al., 2002) montrent que

l'hippocampe et les structures associées (notamment le subiculum) sont également impliqués dans les processus mnésiques non spatiaux. L'entrée synaptique en provenance du septum serait alors le mécanisme qui améliorerait le traitement de l'information nouvelle dans l'hippocampe en le protégeant notamment de quelconques interférences, tel un filtre attentionnel (Vinogradova, 2001). L'hippocampe jouerait en effet un rôle dans l'identification des objets (Galani, 1998 ; Moses, 2005), indépendamment de leur localisation spatiale.

#### *Interactions hippocampe (dorsal, ventral) - CPF*

Des lésions du cortex préfrontal (CPF), de l'hippocampe dorsal –lésion unilatérale (couplée à une lésion du CPF ipsi- ou controlatérale) ou bilatérale- et de l'hippocampe ventral ont été effectuées chez l'animal. Les résultats montrent que dans le test du labyrinthe radial, ces sujets présentent des déficits cognitifs consécutifs à une lésion bilatérale du CPF, à une lésion bilatérale de l'hippocampe dorsal (mais pas ventral) et à une lésion unilatérale de l'hippocampe dorsal couplée à une lésion du CPF controlatéral (mais pas ipsilatéral) (*Izaki et al., 2008b*). Ces résultats permettent d'écarter la mise en jeu de l'hippocampe ventral dans ce type de mémoire, et renforcent l'hypothèse d'une contribution de la relation hippocampe dorsal – CPF.

#### *Le septum*

Le septum n'est pas impliqué dans la mémoire non spatiale puisque des lésions de cette structure n'ont pas d'effet sur la capacité à résoudre des tests non spatiaux (Gallagher & Holland, 1992 ; Kelsey & Vargas, 1993). Il en va de même pour des lésions du fornix (i.e. voie par laquelle le septum est relié à l'hippocampe ; Mc Donald & White, 1994).

#### *Les cortex ento- et péri-rhinaux*

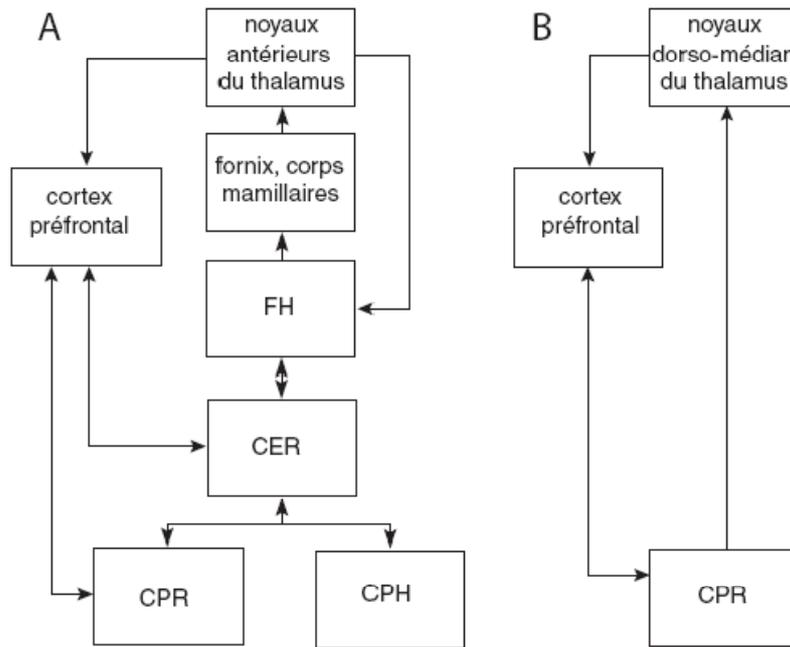
Le CE est impliqué dans la mémoire non spatiale: chez le singe, les cellules du CE reçoivent des infos sensorielles concernant les propriétés intrinsèques des objets; en retour, leur activité véhicule l'information concernant ces objets stockée dans la mémoire à court-terme (Suzuki et al., 1994a, b).

Le cortex périrhinal est impliqué dans la mémoire de reconnaissance visuelle chez le singe (*Zola-Morgan, 1989 ; Suzuki et al., 1993*) et le rat (Mumby & Pinel, 1994 ; Gaffan et al., 1995 ; Ennaceur et al., 1996 ; Eichenbaum et al., 1996 ; Bussey et al., 1999 ; Winters et al., 2004, 2006 ; Winters & Bussey, 2005; Mumby et al., 2007), comme par exemple lors de

la discrimination visuelle d'items nouveaux (versus items familiers) pour lesquels les neurones du cortex périrhinal sont fortement activés (Wan et al., 1999). Cependant, l'équipe du Pr Squire défend l'hypothèse selon laquelle des lésions de l'hippocampe seraient suffisantes pour induire des déficits de mémoire de reconnaissance (singé: Zola-Morgan et al., 2000 ; rat: Clark et al., 2002), attribuant alors non pas au cortex périrhinal mais à l'hippocampe une place centrale dans ce type de mémoire, hypothèse qui s'oppose à celle d'Aggleton et Brown (Aggleton & Brown, 1999). Il y a quelques années, ces chercheurs (Aggleton & Brown, 1999 ; Brown & Aggleton, 2001) ont proposé un mécanisme de traitement de l'information parallèle fondé sur une double dissociation anatomo-fonctionnelle entre le cortex périrhinal et l'hippocampe, mise en évidence chez le rat et le singe (Aggleton et Brown, 1999 ; Gaffan, 1995). Des lésions du cortex périrhinal conduisent à un déficit de mémoire de reconnaissance visuelle mais pas de mémoire spatiale, et inversement concernant les effets des lésions de l'hippocampe. Lors d'un test de comparaison de paires visuelles chez le singe, la comparaison d'items mettant en jeu un objet à une place donnée fait intervenir le cortex périrhinal, l'hippocampe et les aires du CPH, suggérant une interaction entre ces structures (activité de réseau) pour une bonne récupération mnésique (Bachevalier et Nemanic, 2008).

### *Le thalamus médian*

Le thalamus médian serait impliqué dans l'apprentissage de stratégies comportementales (dans le test de la piscine de Morris ; Cain et al., 2007). Le noyau dorso-médian du thalamus, selon le modèle d'Aggleton et Brown proposé en 1999 (Aggleton et Brown, 1999 ; Brown et Aggleton, 2001 ; Figure 39), serait impliqué, avec le cortex périrhinal et le CPF, dans le système permettant la reconnaissance de la familiarité, alors que les noyaux antérieurs du thalamus appartiendraient au système permettant de rappeler le contexte d'un stimulus déjà-vu (mémoire épisodique), système impliquant un plus vaste réseau de structures (réseau hippocampo-(fornix)-mammillo-thalamo-cingulaire).



**Figure 39**

(CPH : cortex parahippocampique, CPR : cortex périrhinal, CER : cortex entorhinal, FH : formation hippocampique)

**Figure 39** : Modèle (simplifié) proposé par Aggleton et Brown, en 1999. **A.** Système permettant de rappeler le contexte (épisode) d'un stimulus déjà vu. **B.** Système permettant le jugement de familiarité. (d'après Aggleton et Brown, 1999)

## 2.2.2. Etudes de patients cérébrolésés

### a) L'hippocampe

L'hippocampe contient deux circuits de mémoire qui peuvent être dissociés fonctionnellement : le système direct CE-CA1, nécessaire et suffisant pour la mémoire de reconnaissance, et le réseau CA3-CA1 pour le processus de rappel (Wood, 2000; Brun et al., 2002). Chez l'Homme comme chez le singe, les lésions qui touchent l'hippocampe seul sont déjà source de déficits cognitifs significatifs. Ensuite, en fonction de l'étendue de la lésion, selon qu'elle touche, en plus de l'hippocampe, le CE, ou le CE et le cortex périrhinal, les déficits cognitifs vont être proportionnellement plus sévères (Squire & Zola-Morgan, 1996).

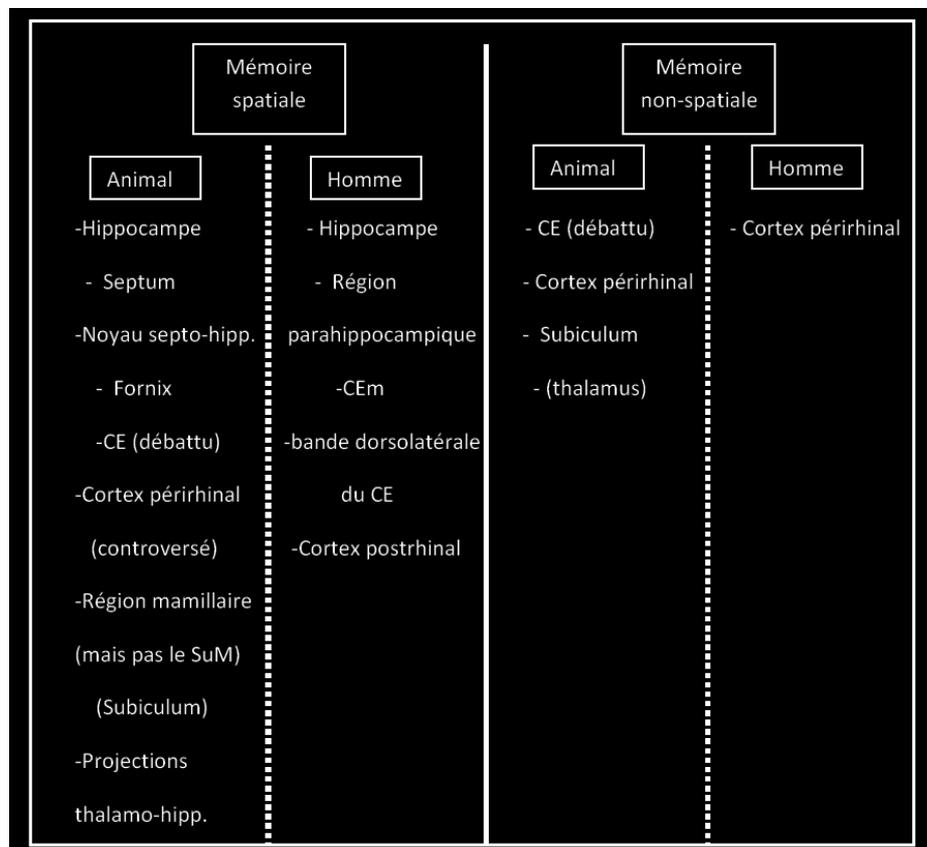
### b) Les cortex rhinaux

Le **CE latéral** est impliqué dans l'information non spatiale (Buzsaki, 2005; Hafting, 2005 ; Hargreaves, 2005). Le **cortex périrhinal** semblerait impliqué dans la mémoire de reconnaissance visuelle chez l'Homme (Buffalo et al., 1998, Aggleton et Brown, 1999 ; Barbeau et al., 2004), mais cela reste controversé ; en effet, certains auteurs avancent que des

lésions de l'hippocampe suffiraient à produire des déficits de mémoire de reconnaissance (Manns & Squire, 1999 ; Buffalo et al., 1998). Il existerait une dissociation rhinale (cortex postrhinal/cortex périrhinal) chez l'Homme pour la mémoire contextuelle/non contextuelle (test de reconnaissance des objets ; Norman & Eacott, 2005). Alors que la mémoire contextuelle (objets-place) serait gérée par le **cortex postrhinal**, la mémoire non contextuelle (objets) serait gérée par le **cortex périrhinal**.

### c) Le cortex cingulaire antérieur

Le cortex cingulaire antérieur (ou cortex rétrosplénial), quant à lui, serait impliqué dans la consolidation et l'encodage de la mémoire à long-terme (Frankland et al., 2004).



**Figure 40**

Figure 40. **Schéma récapitulatif des structures impliquées dans la mémoire spatiale et non-spatiale, chez l'Homme et chez l'animal.** (« noyau septo-hipp » : noyau septo-hippocampique ; *projections thalamo-hipp* » : projections thalamo-hippocampiques).

*En résumé,*

Il est actuellement admis que la mémoire spatiale fait intervenir des représentations spatiales comme l'avaient avancé les cognitivistes il y a maintenant plusieurs décennies (Tolman, 1948). Quelques années plus tard fut développé le paradigme de détection de la nouveauté qui, après une phase de familiarisation du sujet avec son environnement, permet de tester ses capacités spatiales (déplacement d'un objet) et non-spatiales (remplacement d'un objet) lors de tests consécutifs. L'hippocampe est la structure de la mémoire spatiale par excellence ; pour la mémoire non-spatiale, les résultats restent discutés. En lésant les structures associées à la formation hippocampique, on cause des déficits équivalents aux lésions de l'hippocampe, déficits d'autant plus sévères que la lésion est étendue. Des lésions du SuM médian n'ont cependant pas d'effet significatif sur l'apprentissage spatial, mais plutôt sur des aspects plus émotionnels. L'implication du cortex périrhinal dans la mémoire spatiale reste, elle, controversée. La mémoire non-spatiale, quant à elle, est partiellement gérée par le cortex périrhinal (Figure 40).

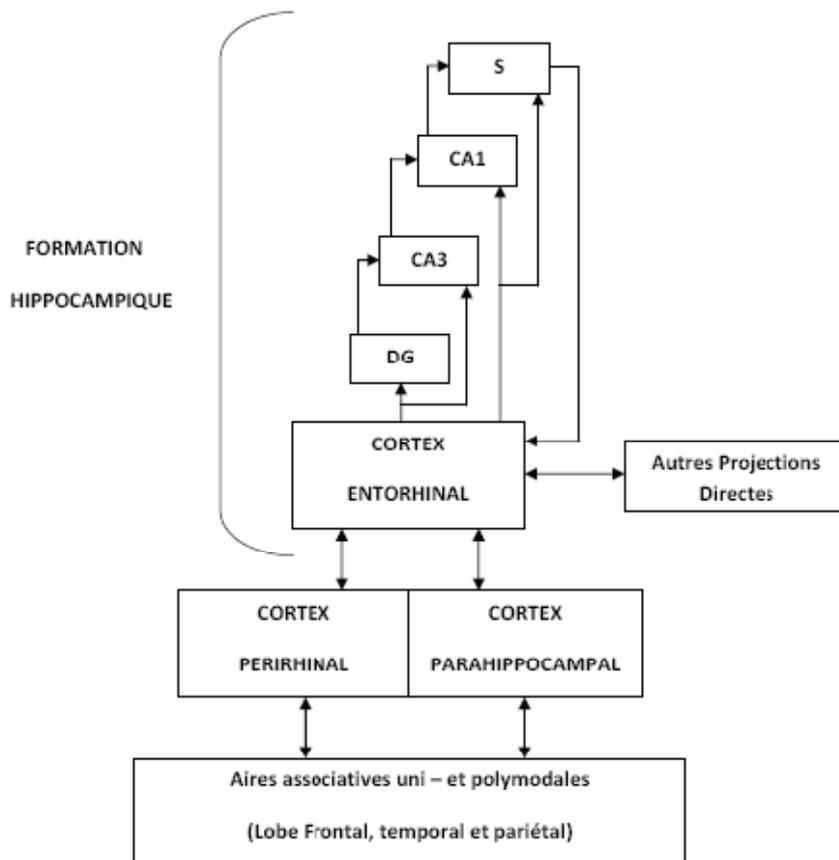


Figure 41

Figure 41. Schéma du système de mémoire régi par le lobe temporal médian. Le CE est la source majeure des projections vers la région hippocampique. Près des 2/3 des afférences corticales vers le CE proviennent du cortex périrhinal et du cortex parahippocampique qui, en retour, reçoivent des projections des aires frontales, temporales et pariétales. Le CE reçoit également d'autres afférences du cortex orbitofrontal, insulaire, et du gyrus temporal supérieur. Toutes ces projections sont réciproques (tiré de Squire & M-Zola, 1996).

Après avoir abordé la connectivité du réseau temporal, les activités oscillatoires et les processus comportementaux et cognitifs qui en découlent, chez le sujet animal et humain sain, je vais maintenant aborder ces différents points en conditions pathologiques, en prenant l'exemple de l'épilepsie du lobe temporal. Je commencerai tout d'abord par présenter cette maladie neurologique, puis les modèles couramment utilisés pour l'étudier sur le plan expérimental, pour enfin aborder le devenir des activités rythmiques et cognitives dans de telles conditions pathologiques.

*« Les neurones, ces papillons mystérieux de l'âme,  
dont les battements d'ailes pourraient - qui sait -  
clarifier un jour le secret de la vie mentale. »*

*Ramòn y Cajal*

# Quel type de dialogue s'opère entre les différentes régions cérébrales lors d'un état comportemental donné ?

## Chapitre III. En conditions pathologiques

Avant d'évoquer les oscillations et les processus cognitifs en conditions pathologiques, nous allons tout d'abord présenter l'épilepsie du lobe temporal, condition pathologique qui a fait l'objet de ma thèse.

### A. Epilepsie du Lobe Temporal

#### 1) L'épilepsie

##### **1.1. Définition et caractéristiques**

L'**épilepsie** est la maladie neurologique la plus fréquente après la migraine (elle touche environ 1% de la population mondiale).

La **sémiologie**, i.e. l'étude des symptômes, des épilepsies est double: on distingue les épilepsies **généralisées** (avec un départ simultané aux deux hémisphères, des anomalies critiques et intercritiques bilatérales et synchrones aux deux hémisphères) et les épilepsies **partielles**, comme l'**épilepsie du lobe temporal** (cf. chapitre I ; **ELT**), dont le départ de la crise ne concerne qu'un seul hémisphère, mais qui peut ensuite se généraliser aux deux.

L'**étiologie**, i.e. l'étude des causes, des épilepsies, est triple. En effet, on distingue les épilepsies **symptomatiques** (cause reconnue), **idiopathiques** (seule l'épilepsie est responsable du syndrome épileptique) et **cryptogéniques** (la cause reste inconnue).

L'épilepsie est en général divisée en deux grandes catégories : l'épilepsie d'origine génétique et l'épilepsie dite « **acquise** » décrite comme provenant d'une agression initiale (comme un traumatisme crânien, une méningite, etc.) et survenant généralement après une période de latence.

## 1.2. Zone épileptogène

La zone épileptogène (**ZE**) est l'ensemble des structures cérébrales impliquées dans la genèse des activités paroxystiques (épileptiques). Dans les épilepsies partielles, la ZE se traduit le plus souvent par une **décharge rapide de bas voltage** qui implique souvent plusieurs régions simultanément en début de crise (Bancaud & Talairach, 1965, Kahane et al., 2006 ; Bartolomei & Wendling, 2009). Avant l'apparition de cette décharge rapide, il y a une synchronisation des structures impliquées dans la ZE, qui est parfois progressive, et souvent associée à une **augmentation/apparition de pointes interictales** ; d'autres fois, elle est plus rapide à se mettre en place (Spencer & Spencer, 1994 ; Bartolomei et al., 2001). C'est comme si plusieurs secondes avant le début de la crise, un renforcement des relations entre structures de la ZE se mettait en place pour aboutir à un phénomène de synchronisation des activités de ces structures (démarrage quasi-synchrone des décharges rapides dans les structures cérébrales distantes).

La ZE se distingue de la **zone lésionnelle** (Jasper, 1954) qui, comme son nom l'indique, constitue la zone du cerveau où la lésion initiale s'est produite (dysplasie corticale, malformation corticale périnatale, méningiome, gliome, etc.) et la **zone irritative** (Jasper, 1954), siège des activités pathologiques qui surviennent entre les crises (cf. paragraphe 6). La zone irritative peut ou non englober la zone lésionnelle et/ou la ZE.

## 2) L'épilepsie du lobe temporal

### 2.1. Définition et caractéristiques

L'épilepsie du lobe temporal (**ELT**) est la forme d'épilepsie partielle la plus fréquente chez l'adulte. Souvent d'origine symptomatique, mais pas toujours, son pronostic chirurgical est relativement bon.

L'étiologie des ELT peut être divisée en 4 groupes, de manière très schématique : (1) les formes associées à la sclérose hippocampique (SH), (2) les formes associées à des lésions autres que la SH (tumeurs neurodéveloppementales, dysplasies corticales focales, cavernomes, etc.), (3) les formes génétiques (formes méiales et formes latérales liées au gène LGI1) et (4) les ELT cryptogéniques (20%). Ces ELT sont pharmacorésistantes dans un nombre important de cas, bien qu'il n'y ait pas d'étude spécifique sur la pharmacorésistance des ELT.

Les patients ELT qui résistent aux traitements doivent être observés en « phase 1 », phase d'exploration non invasive (monitoring EEG-vidéo, imagerie par résonance magnétique (IRM), tomographie par émission de positons (TEP), SPECT (« single photon emission

computed tomography») pour localiser la zone épileptogène et proposer une résection chirurgicale. Une « phase 2 » d'exploration invasive est, dans certains cas, nécessaire, le patient devant alors faire l'objet d'une intervention chirurgicale pour l'implantation d'électrodes intracérébrales (SEEG), afin de définir plus précisément la ZE et s'assurer que sa résection n'aura pas de séquelles sur les fonctions cérébrales.

## 2.2. Zone épileptogène dans les ELT

L'organisation de la ZE dans les ELT est complexe telle que révélée et analysée par les enregistrements SEEG. On distingue trois **types d'ELT**, selon la **localisation** de la **ZE dans le lobe temporal** (Bartolomei et al., 1999 ; Maillard et al., 2004), lobe temporal qui fut décrit comme étant la région clé pour la genèse des crises (Ryvlin et al., 2002).

- **mésial** : le plus fréquent, caractérisé par une décharge tonique limitée aux structures mésiales, suivie d'une décharge plus tardive, phasique, au niveau du néocortex temporal (Figure 40).

- **latéral** : la décharge tonique ictale reste limitée au néocortex temporal, mais peut se propager, secondairement, aux structures mésiales.

- **mésio-latéral** ou **latéro-mésiale** (Figure 42): caractérisé par une décharge rapide de bas voltage, à la fois au niveau des structures mésiales et des structures latérales (Figure 43).

Puis plus récemment, deux autres types ont été décrits (Kahane & Bartolomei, 2010) :

- **temporo-polaire** : le pôle temporal jouerait un rôle important dans la propagation des crises, celles-ci commenceraient la plupart du temps par une décharge rapide de bas voltage, mais les signes cliniques et la perte de contact seraient plus précoces que pour les ELT mésiales.

- **temporal « plus »** : ce sous-type réfère à une forme d'épilepsie multi-lobaire où les crises impliqueraient un réseau épileptogène complexe incluant le lobe temporal et les structures qui lui sont adjacentes, comme l'insula, le cortex orbitofrontal, la jonction pariéto-orbito-occipitale (cf. épilepsies temporo-insulaires, temporo-périsylviennes, etc. (Ryvlin & Kahane, 2005), comme illustré sur la figure ci-dessous (Figure 42) :

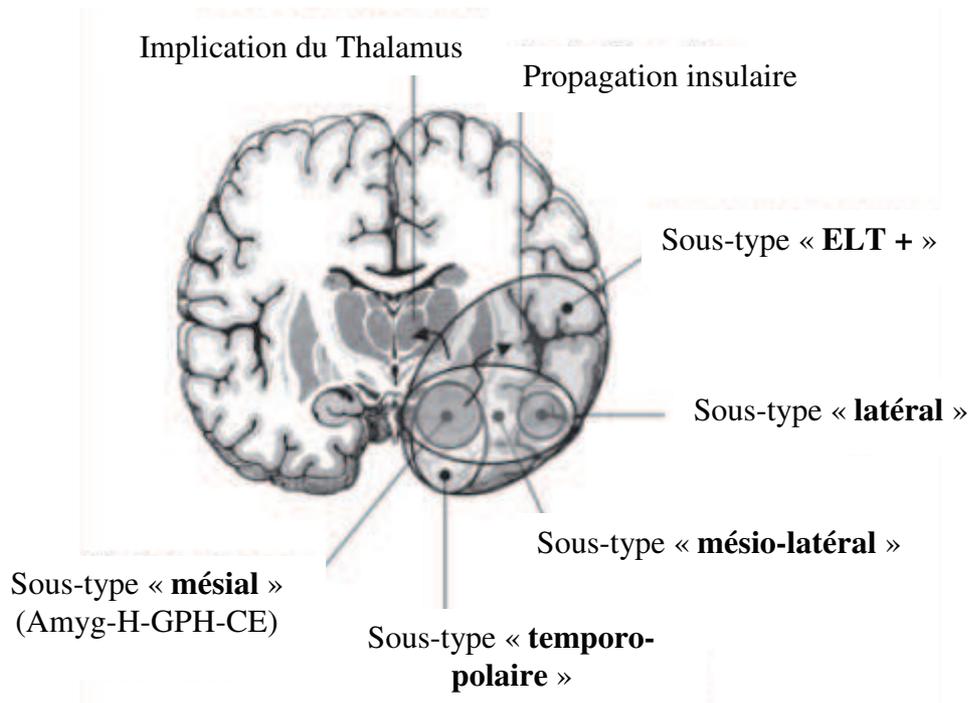


Figure 42

**Figure 42. Spectre de l'ELT associé à une sclérose hippocampique** (cf. paragraphe 5. de cette partie). Il doit y avoir un **continuum entre un réseau focal centré sur les structures mésiotemporales et un réseau beaucoup plus étendu qui s'étend bien au-delà des limites du lobe temporal.**

Amyg : amygdale ; H : hippocampe ; GPH : gyrus parahippocampique ; CE : cortex entorhinal ; ELT + : « ELT plus » (adapté de *Kahane & Bartolomei, 2010*).

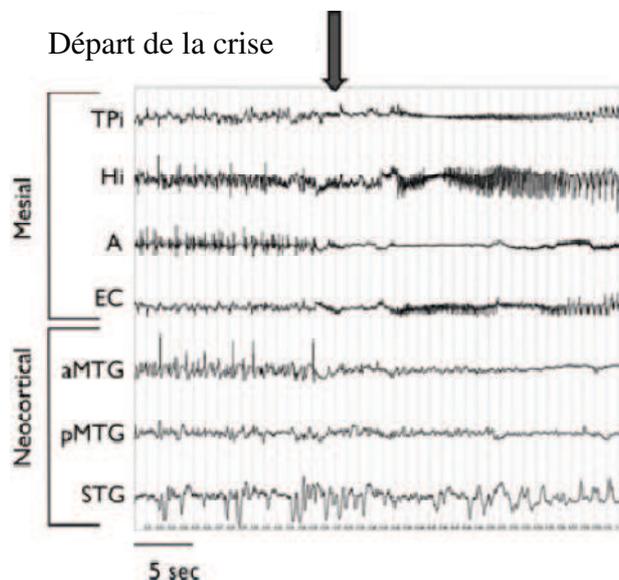


Figure 43

**Figure 43. Exemple de crise méso-latérale enregistrée chez un patient à partir d'enregistrements EEG intracérébraux. Au départ, la crise recrute de nombreuses structures méso-latérales (A : amygdale ; Hi : hippocampe ; EC : cortex entorhinal ; TPi : pôle temporal interne), puis les structures du néocortex temporal (aMTG : partie antérieure du gyrus temporal moyen ; pMTG : partie postérieure du gyrus temporal moyen ; STG : gyrus temporal supérieur).** (adapté de *Bartolomei et al., 2005*).

D'autres formes d'ELT sont associées à des réseaux plus complexes intéressant à la fois le lobe temporal et les cortex voisins comme les cortex insulo-operculaires. Ces formes sont regroupées sous la terminologie proposée par les docteurs Kahane et Ryvlin « d'épilepsies temporales plus » (Barba et al, 2007 ; Ryvlin & Kahane, 2005).

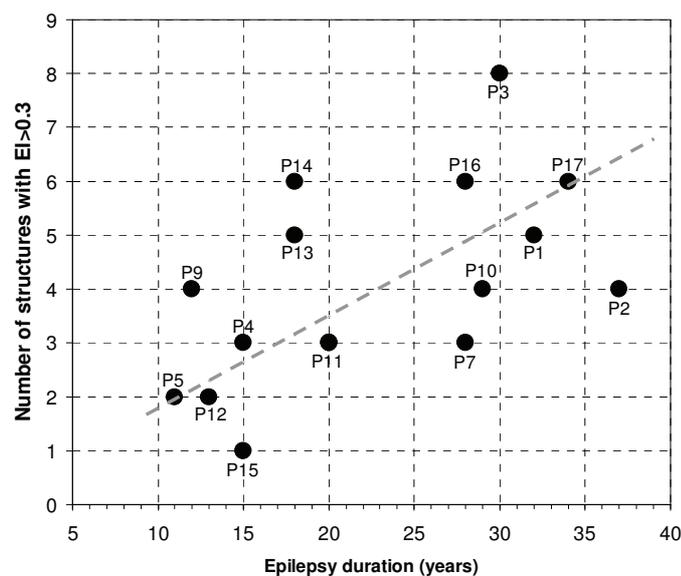
### **3) L'épilepsie mésiale du lobe temporal**

#### **3.1. Définition et caractéristiques**

Il s'agit de l'épilepsie la plus commune chez l'adulte, généralement pharmaco-résistante (Sharma et al., 2007). L'épilepsie mésiale du lobe temporal (ELTm) est le type d'ELT le plus fréquemment exploré dans une optique chirurgicale. Elle se caractérise chez la plupart des patients par une sclérose hippocampique (perte neuronale des champs CA1 et CA3).

L'ELTm est le prototype du modèle de réseau épileptogène, en particulier au niveau de la genèse des crises qui naissent dans un réseau de structures mésiales. En général l'hippocampe et/ou le CE sont les structures « leader » dans ce réseau mais d'autres régions peuvent être également affectées comme le pôle temporal interne ou le cortex parahippocampique (Figure 43 ; Bartolomei et al., 2008).

L'ELTm est un processus qui évolue graduellement dans lequel l'épileptogénicité du lobe temporal tend à augmenter avec le temps (Figure 44).



**Figure 44**

**Figure 44. Indice d'épileptogénicité qui montre que le nombre de structures épileptogènes au sein du lobe temporal augmente avec la durée de l'épilepsie. Ainsi, l'ELTm est un processus continu qui évolue avec le temps, i.e. la durée de l'épilepsie (tiré de Bartolomei et al., 2008).**

### 3.2. Réseaux épileptogènes

Il existe deux types d'activités différentes par lesquels peuvent débuter des crises mésales : 1) l'hippocampe est «leader» : les crises débutent par des pointes amples, biphasiques, visibles dans l'hippocampe, et à un rythme inférieur à 3 Hz, suivies d'une décharge rapide; 2) le CE est « leader » : les crises débutent d'emblée par une décharge rapide qui affecte en général l'hippocampe, le CE et l'amygdale (Bartolomei et al., 2005).

Un des points-clés à retenir dans le cadre de l'épilepsie est qu'au concept de foyer épileptique se substitue maintenant celui de « **réseau** » qui rend mieux compte des propriétés de distribution spatiale et d'organisation temporelle des processus épileptiques. Les crises d'épilepsie partielles impliquent en effet un ensemble de structures cérébrales connectées entre elles: par exemple une crise latéro-mésiale implique à la fois le néocortex temporal et les structures temporales internes (Figure 45).

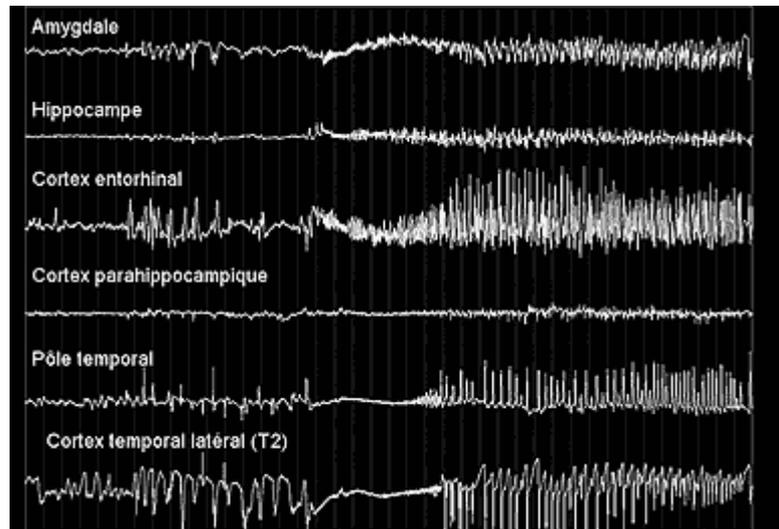
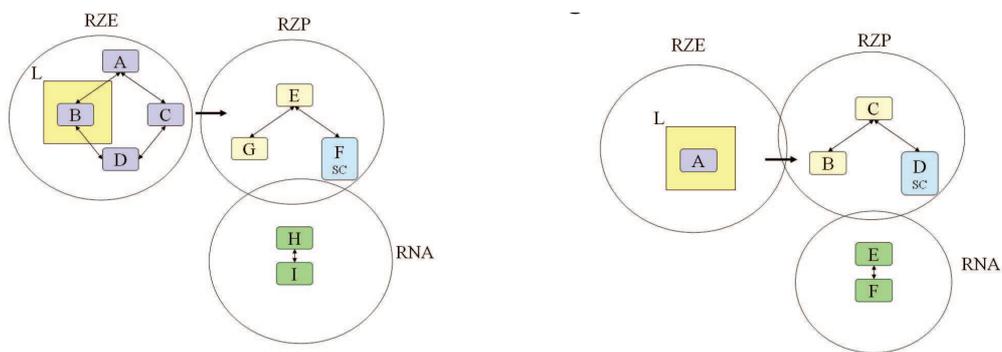


Figure 45

**Figure 45. Décharges critiques impliquant à la fois le néocortex temporal et les structures temporales internes (crise latéro-mésiale) chez un patient ayant une lésion corticale et basale temporale (tiré de Bartolomei et al, 2005).**

Les crises d'épilepsie partielles impliquent plusieurs réseaux (i.e. le « modèle des réseaux épileptogènes »): un **réseau dit de la zone épileptogène (RZE ; Figure 46)** qui se caractérise par une synchronisation des activités cérébrales quelques secondes avant l'arrivée de la décharge rapide et un **réseau de propagation (RZP ; Figure 46)** qui se caractérise par une propagation de l'activité critique avec une resynchronisation des structures. Sur un plan électrophysiologique, il y a une différence entre les activités enregistrées dans le RZE et dans le RZP (Figure 47), notamment en ce qui concerne les oscillations rapides. Le RZE est

caractérisé par le phénomène de corrélation/décorrélation (c'est-à-dire de synchronisation/désynchronisation) (Bartolomei et al., 2005b; 2009), puisqu'il se désynchronise ensuite transitoirement et semble surtout lié à la présence de rythmes rapides. Au contraire, les structures impliquées dans le RZP présentent la propriété d'être corrélées (synchronisées) entre elles, souvent sur de longues distances, et sur des activités plus lentes (rythmes thêta, alpha). Il y a alors une diminution des corrélations entre structures de la ZE, on parle aussi de découplage fonctionnel, et une augmentation des corrélations entre structures des réseaux de propagation, à l'origine des signes cliniques (on parle ici de couplage fonctionnel pour une activation des réseaux physiologiques lors de certaines crises temporales, comme lors du chantonnement, ou des sensations de déjà vu/déjà vécu (Bartolomei et al., 2004)).



**Figure 46**

**Figure 46. Modèles de l'organisation critique dans une épilepsie partielle. À gauche : Réseau de la ZE (RZE), À droite : ZE focale (RZP : réseau de propagation).** Les structures sont représentées par des lettres (A, B, etc.). Un premier système donne naissance à la décharge critique rapide, le RZE. Un deuxième système est impliqué dans la propagation de la décharge, le RZP, et certains systèmes cognitifs ne sont pas impliqués (RNA : réseaux non affectés). L représente l'éventuelle lésion épileptogène. Celle-ci fait partie du RZE. Fsc (*à gauche* ; ou Dsc *à droite*) représente une structure sous-corticale, telle le thalamus, etc. (d'après *Bartolomei et al., 2005*).

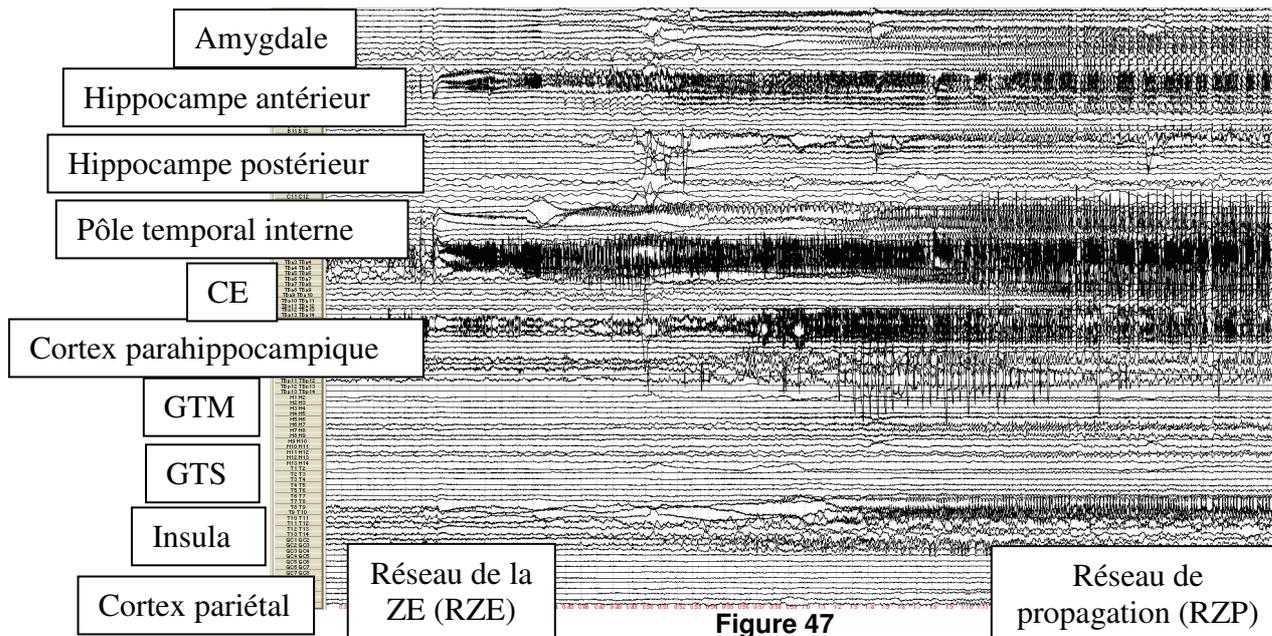


Figure 47

**Figure 47. Activité critique chez un patient atteint d'ELTm obtenue par SEEG (phase pré-chirurgicale). On voit que la crise affecte plusieurs réseaux de structures en même temps, le réseau de la ZE (RZE) et le réseau de propagation (RZP), avec un départ plus précoce pour certaines structures (GTM : gyrus temporal moyen ; GTS : gyrus temporal supérieur). (d'après Bartolomei et al., communication personnelle).**

### 3.3. Activités rapides épileptiques

Les mécanismes de ces activités rapides épileptiques sont encore mal connus. Ces activités seraient décorrélées, c'est-à-dire « désynchronisées », chez des patients épileptiques (Wendling et al., 2003). Pendant ces activités rapides, il semble que l'énergie du signal dans les différentes bandes de fréquence varie beaucoup mais se concentre notamment dans la bande de fréquence gamma: ce phénomène rapproche ces activités gamma épileptiques des « ripples » qui sont aussi des activités rapides décorrélées dans l'espace (Grenier et al., 2001), mais différent des activités gamma physiologiques – cognitives- qui elles, sont brèves et spatialement corrélées.

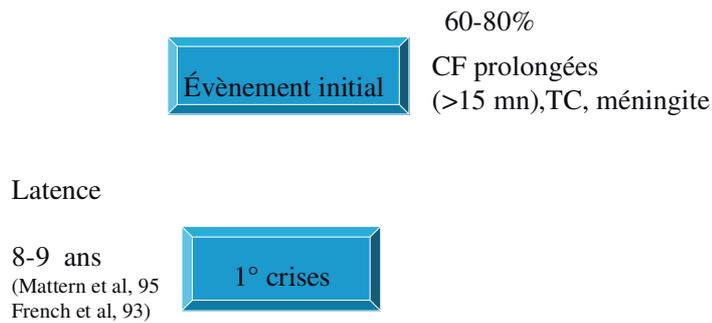
Au cours des crises d'épilepsie partielles, les structures cérébrales impliquées sont le siège d'oscillations caractéristiques qui peuvent se synchroniser ou au contraire se désynchroniser transitoirement. Ces oscillations épileptiques perturbent alors les rythmes physiologiques à l'origine des processus cognitifs ; ainsi ces derniers peuvent être altérés, même à distance du site d'origine de la décharge, pour donner lieu aux déficits cognitifs dont se plaignent les patients ELT entre leurs crises. En effet, dans ce type d'épilepsie en particulier, le système limbique, impliqué dans les processus cognitifs, est principalement affecté. Sur ce sujet, différents auteurs (Gloor, 1990 ; Halgren & Chauvel, 1993 ; Barbeau et

al., 2005) ont rapporté que la décharge épileptique pourrait reconstruire de manière transitoire un réseau neural impliqué dans la mémoire déclarative, notamment dans le cas de récupération de souvenirs. Ces phénomènes seraient apparemment plus fréquents après stimulation des cortex rhinaux (cortex entorhinal et périrhinal) qu'après stimulation de l'hippocampe ou de l'amygdale (Bartolomei et al., 2004b). Lorsqu'on stimule un sujet au niveau de ces structures temporales, on observe en effet une modification du signal au niveau des structures limbiques notamment, contemporaine à l'évocation par le sujet de ses souvenirs. Ceci s'explique par la mise en place d'un réseau transitoire synchronisant les structures mésiales du lobe temporal, en particulier l'hippocampe et les cortex rhinaux, majoritairement dans la bande thêta, lors de la décharge associée au rappel des souvenirs (Barbeau et al., 2005). Ce réseau neural pourrait alors mimer les réseaux physiologiques impliqués dans les processus mnésiques, notamment ici dans le rappel des souvenirs. Ces travaux permettent également de confirmer le rôle d'oscillations synchronisées dans la bande thêta lors des processus cognitifs, notamment mnésiques (Fell et al., 2003). On peut également donner l'exemple du chantonnement, qui, selon le même principe que pour le rappel des souvenirs, implique une synchronisation entre le gyrus temporal supérieur et le cortex frontal inférieur (Bartolomei et al., 2002).

La sémiologie clinique des crises dépend donc de ces phénomènes qui, dans certains cas, peuvent mimer un processus cognitif normal et ainsi donner lieu à un comportement physiologique, ou, au contraire, entraîner une forte perturbation dans le fonctionnement cérébral normal (Bartolomei et al., 2005a). Cela pourrait expliquer le déclenchement des crises d'épilepsie par les patients ELT lors des tests cognitifs (Helmstaedter et al., 1992); en effet, ces deux phénomènes (crises et processus cognitifs) recrutent/activent les mêmes circuits temporeux.

Pendant la période intercritique, les patients atteints d'ELTm présentent des troubles cognitifs, portant surtout sur la mémoire épisodique, en rapport avec les activités intercritiques et la perte neuronale probablement.

Cette épilepsie s'installe en général dans une dynamique qui va être mimée dans les modèles animaux: évènement initial (convulsions fébriles), période de latence et redémarrage d'une épilepsie dans la deuxième enfance (Figure 48).



**Figure 48**

**Figure 48. Profil d'évolution de l'ELT** (d'après F. Bartolomei, communication personnelle)

À l'heure actuelle, beaucoup de questions persistent sur les mécanismes mis en jeu au stade épileptique chez l'Homme. Cependant, le stade épileptogène est une période inexploitée chez l'Homme. L'épileptogénèse est pourtant la période cruciale dans la compréhension des mécanismes mis en jeu dans le développement de l'ELT, à partir d'une agression initiale (Figure 49). Ainsi, un des avantages des modèles animaux est de pouvoir avoir accès à cette période.

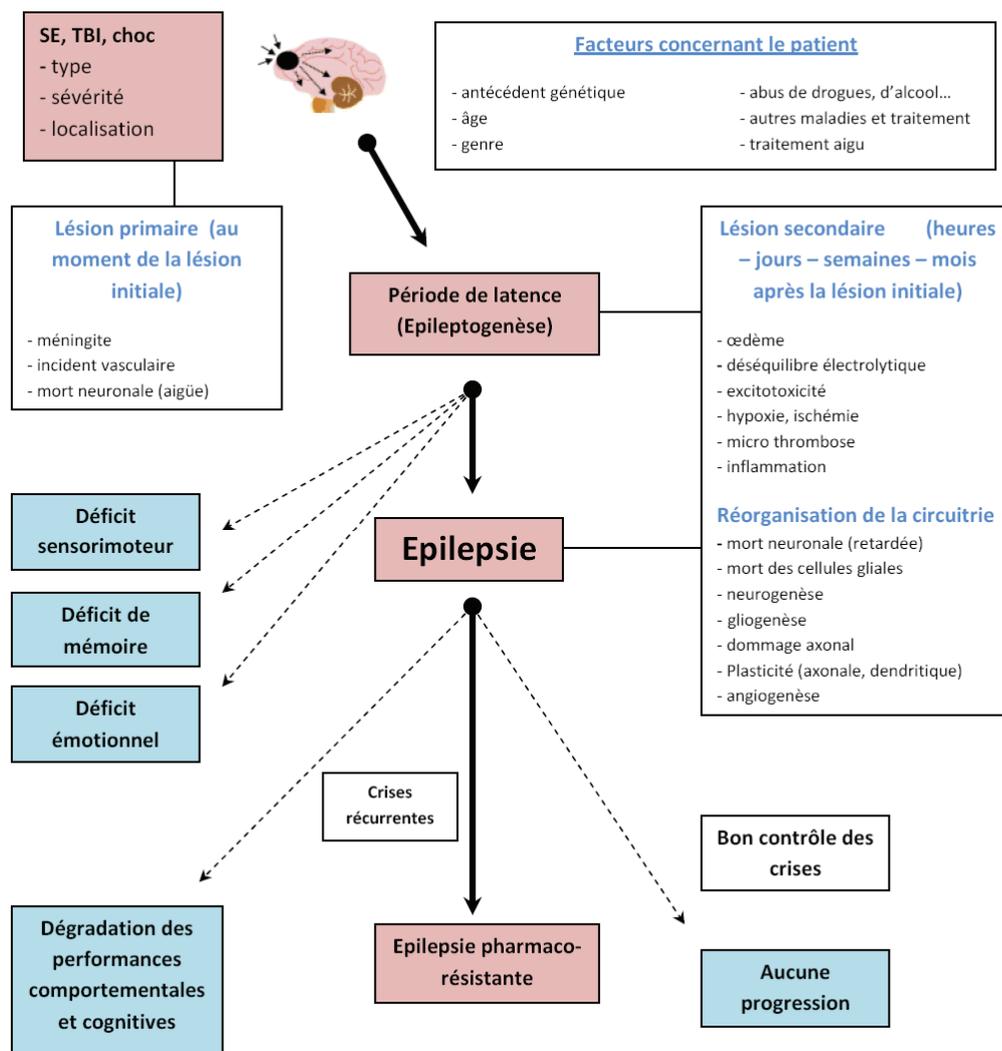


Figure 49

Figure 49. Résumé des facteurs contribuant à l'évolution des processus à l'origine de l'épilepsie après un *status epilepticus* (SE), un traumatisme crânien (TBI), ou un choc. Les conséquences d'une lésion primaire peuvent varier selon le type, la sévérité et la localisation de la lésion. Cette lésion de départ perturbe un grand nombre de processus parallèles (cellulaires, moléculaires) qui conduisent à diverses altérations fonctionnelles, comme des déficits de mémoire, et l'épileptogenèse. Chez les animaux immatures, ces altérations peuvent également perturber le développement. La période épileptogène peut varier de plusieurs semaines à plusieurs mois voire années. Au cours de cette période, la réorganisation de la circuiterie conduit à une hyperexcitabilité permanente et à l'apparition de crises récurrentes et spontanées. Il semblerait que des altérations neurobiologiques persistent au-delà de l'apparition de ces crises récurrentes et spontanées (i.e., après le diagnostic de l'épilepsie), probablement dues aux crises en elles-mêmes, au SE, ou à la progression de la maladie, i.e. de l'épilepsie. (tiré de *Pitkanen et al., 2007*).

*En résumé,*

L'épilepsie est divisée en deux grandes catégories : l'épilepsie d'origine génétique et l'épilepsie dite « acquise » provenant d'une lésion initiale. On distingue ensuite les épilepsies partielles et les épilepsies généralisées, puis les épilepsies symptomatiques, idiopathiques et cryptogéniques. L'épilepsie du lobe temporal (ELT), épilepsie d'intérêt ici, est une épilepsie symptomatique partielle relativement pharmacorésistante qui peut être spécifiée en 4 sous-types, caractérisés par la localisation de la zone épileptogène (ZE): mésial, mésio-latéral, latéro-mésial, et latéral. L'ELT mésiale (ELTm) est l'épilepsie la plus commune chez l'adulte. Elle se caractérise chez la plupart des patients par une sclérose hippocampique. De ce fait, l'hippocampe est considéré comme la structure d'intérêt majeur pour l'étude de ce type d'épilepsie et comme celle étant à l'origine des crises mésiales.

Ensuite, un point important est la notion de « réseau » de structures impliqués dans l'ELT. On distingue le réseau de la ZE (RZE) qui se caractérise par une synchronisation des activités cérébrales quelques secondes avant l'arrivée de la décharge rapide, par le phénomène de corrélation/décorrélation et est associé aux rythmes rapides ; le réseau de propagation (RZP) qui se caractérise par une propagation de l'activité critique avec une resynchronisation des structures sur des rythmes lents. Les mécanismes des activités épileptiques rapides sont encore mal connus.

Chez l'Homme, les mécanismes et la dynamique temporelle de l'installation d'une épilepsie après un événement initial ne sont pas bien connus, ce qui justifie d'étudier l'épileptogénèse chez des modèles animaux d'ELT.

## 4) Les modèles animaux d'ELT

### 4.1 Les modèles d'épileptogénèse

#### 4.1.1. Généralités

Les modèles animaux sont de bons outils pour l'étude de l'ELT et plus particulièrement pour explorer sa phase d'épileptogénèse, ainsi que pour évaluer l'efficacité des drogues anti-épileptiques (AEDs) lors du stade chronique. Le principal avantage de ces modèles expérimentaux est le nombre important d'expériences électrophysiologiques et pharmacologiques possibles, permettant un nombre suffisant de sujets pour obtenir des résultats pertinents. L'autre grand avantage des modèles animaux est qu'on peut avoir accès à l'épileptogénèse, inaccessible chez l'Homme à l'heure actuelle, mais pourtant fondamentale dans la compréhension des mécanismes qui aboutissent au développement de l'épilepsie proprement dite. Cependant, il ne faut pas oublier qu'un modèle reste un modèle et contient donc ses limites, limites dont il faut rester conscient dans l'interprétation et l'application à l'Homme des résultats obtenus et que j'évoquerai dans le chapitre V.

Les caractéristiques que doit présenter un **bon modèle d'épileptogénèse** sont les suivantes: -une **pathologie similaire (même profil lésionnel)**, - une **phase de latence** (i.e. la période qui précède l'épilepsie proprement dite, caractérisée par l'absence de crises récurrentes et spontanées et souvent assimilée au processus d'épileptogénèse ; cf. *partie D.* de ce chapitre) après le *status epilepticus* (SE) initial, - un **stade chronique** (i.e. l'épilepsie proprement dite) hyperexcitable, et - l'émergence des **crises récurrentes et spontanées** après la phase de latence (Figure 44 ; White, 2002).

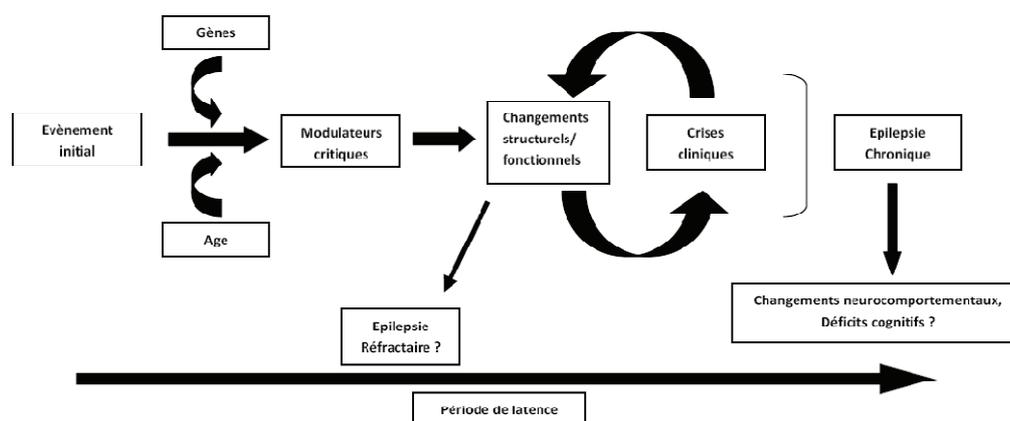


Figure 50

Figure 50. Initiation, développement et progression de l'épilepsie (stade chronique) (adapté de White et al., 2002).

Il existe **cinq grands types de modèles spécifiques de l'épileptogénèse** : le modèle d'embrasement (plus connu sous le nom de modèle « kindling »), les modèles *status epilepticus* (SE ; kainate –KA-, pilocarpine, lithium-pilocarpine, SE induit électriquement), les modèles « TBI » (« Traumatic Brain Injury »), et deux modèles d'hyperexcitabilité dépendants de l'âge, mimant les crises d'hyperthermie et d'hypoxie néonatales. Cependant, ces deux derniers modèles ont été moins bien caractérisés.

Les modèles d'ELT les plus couramment utilisés pour l'étude des processus épileptogènes ou pharmacologiques sont les **modèles SE** (pilocarpine et KA) et le **modèle kindling** (Löscher, 2002). Malheureusement, l'absence d'une drogue prévenant l'épilepsie chez l'Homme empêche la validation clinique d'un modèle expérimental en particulier, donc l'utilisation de plusieurs modèles est le meilleur moyen de pallier ce problème, renforçant ainsi la validité et la pertinence des résultats expérimentaux obtenus en vue d'application clinique. En effet, entre modèles (même post-SE), les processus caractérisant l'épileptogénèse diffèrent (Löscher, 2002).

Les modèles les mieux validés sont les modèles ELTm, car ils se caractérisent par une période de latence, le développement de crises motrices spontanées et par un spectre lésionnel (sclérose hippocampique) identique à celui observé chez les patients ELTm. Parmi ces modèles, les modèles Pilocarpine et KA sont les plus proches de l'ELTm chez l'Homme (ainsi que le modèle de stimulation électrique, mais celui-ci reste plus contraignant que les modèles pilocarpine et KA). Le modèle pilocarpine est toutefois connu pour être plus délétère (moindre taux de survie des animaux) que le modèle KA. Cependant, concernant la perte cellulaire, notamment au sein des champs CA1 et CA3, le modèle KA semble plus destructeur (Nadler, 1981a, b ; Ben Ari, 1985 ; Leite et al., 1996). En effet, pour le modèle pilocarpine, les résultats sont discutés (Covolán & Mello, 2000, en faveur d'une perte cellulaire des champs hippocampiques, *versus* Obenaus et al., 1993 ; Boulland et al., 2007, en faveur d'une moindre perte).

#### **4.1.2. Modèle d'étude : le modèle pilocarpine**

Ce modèle fut développé chez le rat par le Dr Turski et collaborateurs, en 1983 (Turski et al., 1983), puis largement étudié ensuite (Cavalheiro et al., 1991 ; Mello et al., 1993 ; Priel et al., 1996).

## *La pilocarpine*

C'est un agoniste des récepteurs cholinergiques de type muscarinique. Une hypothèse sur le mode d'action de cette drogue est qu'elle bloquerait la conductance potassique (ions K<sup>+</sup>), augmentant ainsi la dépolarisation des neurones, donc l'excitabilité cérébrale. Les effets systémiques (300-350 mg/kg) de la pilocarpine sont reconnus comme étant suffisamment inhibés par le pré-traitement avec l'antagoniste muscarinique, la méthylscopolamine (0.5-1.0 mg/kg) (Cavalheiro et al., 2006).

## *Caractéristiques*

Suite à l'injection de pilocarpine, plusieurs manifestations « cliniques » (comportements stéréotypés) peuvent être observées sur les animaux. Ces manifestations ont été décrites en 5 stades (Racine, 1972) bien distincts et plus ou moins progressifs, selon la sensibilité des animaux à l'injection : (i) **stade 1** : l'animal est figé, et présente des **mâchonnements**, (ii) **stade 2** : l'animal présente des **clonies de la tête**, (iii) **stade 3** : **clonies des pattes antérieures**, (iv) **stade 4** : l'animal se dresse sur ses pattes postérieures et présente des clonies des pattes avant, (v) **stade 5** : l'animal déclenche une **crise généralisée**, souvent violente. Parfois, le stade 4 se caractérise par le comportement du « chien mouillé ». Généralement, le stade 5 aboutit ensuite assez rapidement à un *status epilepticus* (SE ; cf. paragraphe 4.2).

## *Le Protocole*

Ce modèle implique une injection intrapéritonéale (ip) de scopolamine, agent anti-cholinergique qui ne passe pas la barrière hémato-encéphalique, permettant ainsi d'éviter les effets périphériques de la pilocarpine, 30 min avant l'injection ip de pilocarpine (de 300 à 350 mg/kg selon les auteurs ; Cavalheiro, 1987, 1995, 2006; Priel, 1996 (dépendant de l'âge) ; Leite, 2002a; Mello, 1993).

Certains auteurs appliquent le protocole d'injections répétées (toutes les 20 min) de pilocarpine, à plus faibles doses (100mg/kg, ip), jusqu'à ce que les animaux déclenchent un SE, ce qui semble être efficace chez la souris (Gröticke et al ; 2007): les auteurs obtiennent en effet un taux supérieur de souris qui développent un SE avec un fort taux de survie, et moins de variabilité inter-souris comparé à une seule injection de pilocarpine (Gröticke et al., 2007).

### *Altérations morphologiques*

Dans ce modèle, les altérations morphologiques sont nombreuses. Les principales sont :

- une **mort neuronale importante**, en particulier des **INs** (Sanabria et al., 2006) de la CA : de type O-LM, axo-axoniques (Obenaus et al., 1993 ; Houser & Esclapez, 1996 ; Dinocourt et al., 2003), et du hile (Obenaus et al., 1993), ainsi que les fibres moussues du hile (Obenaus et al., 1993 ; Dinocourt et al., 2003 ; Boulland et al., 2007). Cette mort neuronale est également associée à une **gliose** qui consiste en un développement exagéré des cellules gliales.

- une **plasticité neuronale** caractérisée par un **bourgeonnement axonal** et une **synaptogenèse réactive** des cellules granulaires (Mello et al., 1993 ; Boulland et al., 2007) mais pas seulement. Il a en effet été observé un bourgeonnement des cellules pyramidales de CA1 (Esclapez et al., 1999).

Ces modifications aboutissent à une réorganisation des réseaux temporeux.

### *Limites du modèle*

Les limites du modèle pilocarpine sont les suivantes: c'est un modèle qui est relativement invasif, avec un taux important de mortalité (Goffin et al., 2007), impliquant des remaniements morphologiques de nombreuses structures, et bilatéral, ce qui rend impossible l'étude des corrélations au niveau des deux hémisphères, contra- ou ipsilatéral à la ZE, pour comparer si par exemple il s'agit d'une ELT droite (ZE à droite) ou gauche (ZE à gauche). De plus, ce modèle mime l'ELT humaine avec comme point de départ de l'épilepsie un SE, qui correspond à un état de mal chez l'Homme. Or l'état de mal comme origine de l'ELT n'est vrai que pour une faible proportion de patients ; de plus, ce SE est induit chez des animaux adultes, alors que la majorité des patients ELT ont une épilepsie (sa condition initiale) qui démarre bien avant l'âge adulte.

#### **4.1.3. Autres modèles de l'ELT**

##### *Le modèle Kainate*

Comme le modèle pilocarpine, le modèle kainate (KA ; Nadler et al., 1978 ; Contestabile & Fonnum, 1983 ; Ben Ari et al., 1985 ; Stafstrom et al., 1993 ; Hellier et al., 1998) est un modèle SE. Il implique l'injection ip -ou intra-hippocampique unilatérale- d'acide kaïnique, un agoniste du glutamate, qui induit, après deux semaines environ, des crises

d'épilepsie récurrentes et spontanées, une perte cellulaire dans les régions CA1 et CA3 (Nadler et al., 1981 ; Ben Ari et al., 1985 ; Leite et al., 1996) et une dispersion des cellules granulaires du GD. Ce modèle, comme le modèle pilocarpine, mime les crises d'épilepsie que l'on retrouve dans l'ELT humaine mais de manière beaucoup moins focale, plus invasive (touche un plus grand nombre de structures). L'injection intracérébroventriculaire (Nadler et al., 1978) ou intrahippocampique (Longo & Mello, 1998), à l'origine d'une lésion beaucoup plus focale que l'injection intrapéritonéale, donne naissance à des crises d'épilepsie focale. Cependant, contrairement au modèle pilocarpine, il présente une phase de latence plus variable (Williams et al., 2009 ; Longo & Mello, 1998).

### *Le modèle Lithium-pilocarpine*

Le lithium-chlorure (LiCl ; (Liu et al., 2007) est injecté en ip (3mEq/kg) suivi, environ 20h plus tard, d'une injection de méthylatropine (ip, 1mg/kg), puis, 30 min après, d'une injection de pilocarpine (30 mg/kg, ip), pour induire le SE (la méthylatropine correspond à la scopolamine dans le modèle pilocarpine). Le but du LiCl serait de potentialiser la susceptibilité des rats à la pilocarpine, augmentant ainsi le nombre de rats développant un SE suite à l'injection de cette drogue, sans augmenter le taux de mortalité (Jope et al., 1986a, b ; Clifford et al., 1987 ; Turski et al., 1989). Cependant, une étude montre qu'au contraire le pré-traitement par du LiCl chez les rats diminue significativement le nombre d'animaux qui développent un SE (Gröticke et al., 2007).

Dans ce modèle (Peredery et al., 2000), les rats présentent des lésions qui débutent dans la substance noire réticulaire, l'aire CA1, le cortex piriforme et les noyaux thalamiques, et qui persistent environ jusqu'à 50j post-SE. Ces lésions, 50 à 60j post-SE, ont été décrites comme comparables au modèle pilocarpine à la fois sur le plan quantitatif et qualitatif (Bureau et al., 1994) : les mêmes structures étaient soit endommagées de manière identique (lésion de même taille), soit épargnées.

### *Le modèle de l'embrassement (ou « kindling »)*

Ce modèle (Lehmann et al., 1998), contrairement aux modèles chimiques (pilocarpine, KA), se caractérise par l'absence de phase de latence, ce qui fait de ce modèle un modèle d'épileptogénèse et non d'épilepsie. Cependant, les modifications dues à chaque stimulation entraînent un état permanent d'hyperexcitabilité. Chez certains animaux, les changements de plasticité associés aux crises répétées peuvent aussi induire des déficits cognitifs et de la

pharmacorésistance (Pitkanen & Sutula, 2002). Il existe également un modèle dérivé du modèle classique de kindling, le modèle **kindling pétylènetétrazol (PTZ)**. C'est un modèle typiquement utilisé comme modèle d'épilepsie-absence ou d'épilepsie généralisée, plus que d'ELT. Il s'agit du modèle de choix dans l'étude des mécanismes fonctionnels des épilepsies cryptogéniques (sans sclérose hippocampique) (cf. White, 2002 ; Sutula, 1990 (revue) ; Hannesson & Corcoran, 2000 ; Cavazos & Sutula, 1990 ; Morimoto et al., 2004).

### *Les modèles post-traumatiques*

Les modèles post-traumatiques (TBI, Lowenstein et al., 1992) miment les cas de traumatismes lésionnels (traumatisme crânien notamment) comme origine de l'épilepsie, très fréquents chez le jeune adulte comme facteur prédisposant de l'épilepsie (Annegers, 1996). Ces modèles sont très utiles pour comprendre les mécanismes de l'épileptogenèse et l'épilepsie post-traumatique, afin de pouvoir mettre en place des traitements adaptés (Pitkanen et al., 2006).

### *Le modèle des convulsions fébriles*

Le modèle des convulsions fébriles (Hjeresen & Diaz, 1988) mime les crises fébriles chez l'enfant ayant été victime d'une hyperthermie (30% des enfants ayant subi un tel choc déclenchent des crises fébriles ; Baram et al., 1997). Ce modèle chez le rat nouveau-né, que l'on soumet à un choc hyperthermique (air chaud ou eau chaude), a donc pour but d'étudier l'effet des crises hyperthermiques sur le cerveau en développement, la question étant de savoir si les crises fébriles contribuent au développement d'un foyer d'épilepsie partielle à l'âge adulte ou pas. Cette question reste controversée aujourd'hui (White et al., 2002), même s'il semblerait que ce soit le cas (Baram et al., 2002). Cependant, la pathologie des crises fébriles chez l'Homme a été clairement décrite comme différente de ce modèle chez l'animal.

### *Le modèle d'hypoxie néonatale*

L'hypoxie, principale cause des crises néonatales, augmente de deux à cinq fois le risque de développer une épilepsie ultérieure (**Jensen et al., 1992**) : 30 % des nouveaux-nés qui survivent à ces crises développeront de l'épilepsie plus tard. Ce modèle consiste à reproduire un des événements précipitants de la pathologie humaine, mimé chez l'animal en exposant de manière aiguë les rats nouveaux-nés (P10) à un phénomène d'hypoxie pendant 15

minutes ce qui, en l'absence de lésion cérébrale antécédente, conduit au déclenchement de crises aiguës (Jensen et al., 1995). Il s'agit d'un modèle âge-dépendant.

#### *Le modèle du SE induit électriquement*

Ce modèle (Bertram & Cornett, 1994 ; Nissinen et al., 2000) se caractérise par la stimulation tétanique du faisceau angulaire pendant plus de 90 minutes qui va aboutir, dans la plupart des cas, au développement d'un SE. La majorité des rats ayant développé un SE présentent une augmentation progressive du nombre de crises, après le déclenchement de la première crise spontanée. Les autres rats (33%) ne présentent pas d'activité critique progressive (Gorter et al., 2001). La différence entre ces deux groupes de rats se retrouve au niveau de l'extension de leur lésion, où les rats avec une activité critique progressive présentent des lésions plus étendues, comparé aux rats avec une activité critique non-progressive (Gorter et al., 2001).

#### *Le modèle du SE continu*

Ce modèle consiste en la stimulation intermittente (trains de 20Hz pendant 10s) de la voie perforante pendant 30 minutes pour déclencher un SE chez l'animal, SE qui va perdurer sur plusieurs heures (Mazarati et al., 1998). Trois jours après cette stimulation, les modifications neuronales sont visibles dans l'hippocampe, le CE, le cortex piriforme, le septum, l'amygdale, le cortex cingulaire, le thalamus et le subiculum, sans aucune différence entre l'hémisphère stimulé et l'hémisphère controlatéral. Ce modèle se caractérise aussi par une phase de latence qui précède le stade chronique (Mazarati et al., 2002).

## **4.2. Le Status Epilepticus**

Le *status epilepticus* (SE) correspond à une crise d'épilepsie persistante, d'au moins 30 minutes (Figure 51 ; Klitgaard et al., 2002 ; Curia et al., 2008). Dans les modèles animaux d'ELT, le SE mime l'agression initiale chez l'Homme et constitue ainsi l'élément déclencheur qui va être à l'origine d'une cascade de modifications à différents niveaux (au niveau des gènes, des protéines, de la mort neuronale, etc.) qui vont aboutir au développement et à l'installation de l'épilepsie après une phase de latence (cf. paragraphe suivant). Dans le modèle pilocarpine, le SE est déclenché suite à un ou plusieurs « stade 5 » (i.e. crises généralisées). La force du SE est définie (i) par le nombre de crises « stade 5 » qui le précèdent, (ii) par le temps entre l'injection de pilocarpine et son déclenchement, (iii) par les

signes comportementaux (stades) qui lui sont associés : un SE de « stade 2 » sera considéré moins fort qu'un SE de « stade 4 ». Environ 80 % des animaux injectés à la pilocarpine développeront un SE. Cette sensibilité serait fonction de l'âge des animaux. Le SE est stoppé par une injection de diazépam : les animaux s'arrêtent progressivement de trembler, bien qu'à l'EEG, l'activité de crise persiste généralement sur plusieurs heures après l'injection. Enfin, la majorité des animaux ayant déclenché un SE développeront de l'épilepsie, du moins avec le modèle pilocarpine (Cavalheiro et al., 1991 ; Mello et al., 1993 ; Priel et al., 1996). Cependant, des variances ont été rapportées (77%, Goffin et al., 2007 ; 61%, dos Santos et al., 2005). Au laboratoire, ce taux est de 100%.

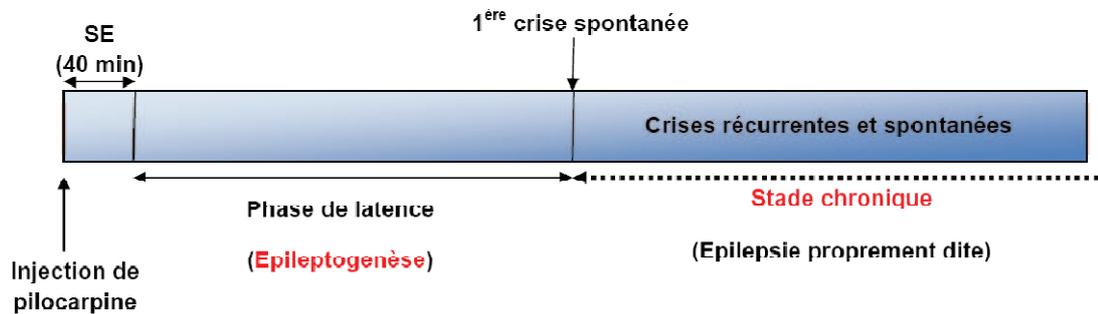


Figure 51

Figure 51. Schéma du modèle pilocarpine d'ELT.

## **4.3. La période de latence**

### **4.3.1. Définition**

La phase de latence est définie comme la période entre l'agression initiale (lésion, traumatisme crânien, ...) et l'apparition des crises récurrentes et spontanées (Figure 51). Elle est souvent assimilée au processus d'épileptogenèse (White et al., 2002). Il s'agit de la période post-SE dans les modèles animaux. Cette période peut offrir une fenêtre thérapeutique pour la prévention de l'épileptogenèse et, par conséquent, pour la prévention du développement des crises spontanées et de l'épilepsie (Herman, 2002). Cependant, cette période reste finalement relativement mal caractérisée (sa nature précise, son évolution, la progression du développement des crises spontanées) en dépit de son importance pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de l'épileptogenèse, bien que certains pensent que l'ELT est un processus dynamique qui n'est pas entièrement défini par sa période de latence (Williams et al., 2007 ; Hellier et al., 1998, 1999). Une question essentielle subsiste alors quant à la définition de cette période: est-ce qu'elle est définie simplement par l'intervalle de temps entre le SE et la première crise spontanée (Williams et al.; 2009) ou est-ce que ses

limites temporelles coïncident plutôt avec la fin de l'épileptogenèse et le début de l'épilepsie (Williams et al., 2007) ? Cette question reste ouverte et controversée à l'heure actuelle.

#### **4.3.2. Caractéristiques**

Ce qui est sûr, c'est que le « silence » de la période de latence est uniquement comportemental (absence de crises récurrentes et spontanées), étant donné que l'activité EEG paroxystique existe chez tous les rats étudiés.

Chez l'Homme, des études sur la durée moyenne de cette phase de latence ont montré que celle-ci est très variable (French et al., 1993 ; Mathern et al., 1995), mais la plus significative est estimée à environ sept ans (French et al., 1993). La variabilité dans l'estimation de cette période de latence chez l'Homme peut être due en partie à la nature de la lésion précipitante, à la prédisposition génétique du sujet à développer de l'épilepsie, et au manque de fiabilité dans le report du patient du premier vrai événement ictal spontané, convulsif ou non-convulsif) (Sarkisian, 2001a, b; Moshe, 2001).

Dans les modèles animaux (Williams et al., 2007), la phase de latence dépend du modèle animal et de la sévérité de la lésion. Les mesures de cette phase sont dépendantes de la méthode et de la durée/qualité de l'enregistrement continu des crises. En effet, il est très important d'enregistrer en continu (24h/24, 7j/7) les animaux pour ne pas manquer l'apparition de la première crise afin de pouvoir estimer correctement la durée de la phase de latence. Dans leur étude, Hellier et collaborateurs, en 1999 (Hellier et al., 1999), ont enregistré en continu, une semaine post-SE, 26 rats ayant reçu une injection de KA. Ils ont trouvé que 81% des rats n'ont pas déclenché de crises pendant cette période ; 5 rats en ont déclenché une ou plus pendant cette même période, et 2 rats ont eu une à deux crises dans les deux jours qui ont suivi le SE, mais plus d'autres jusqu'à la fin de la semaine, ce qui suggère que les crises précoces sont associées à un SE sévère plutôt qu'à un réel processus épileptogène. Après la première crise, la fréquence des crises tendrait à augmenter, jusqu'à l'atteinte d'un plateau à un certain moment (Bertram & Cornett, 1993, 1994 ; Hellier et al., 1998). Dans ces conditions, la probabilité de développer des crises serait fonction du temps après la première crise, et la phase de latence, par conséquent, ne correspondrait pas exactement à la période d'épileptogenèse; ou plutôt, l'épileptogenèse devrait être définie par le temps passé pour atteindre un plateau dans la fréquence des crises, plutôt que par celui pour atteindre la première crise spontanée. Dans le cas de ces deux hypothèses, la durée de la phase de latence doit être relative soit à la fréquence « plateau » des crises, soit au taux de progression vers la fréquence « plateau ». Si les changements dans le taux de crises sont

l'expression de multiples mécanismes épileptogènes, comme par exemple dans le GD (Gorter et al., 2001) ou d'autres aires du cerveau, une augmentation progressive du nombre de crises avec un éventuel plateau -comme une fonction du temps après le SE- devrait, de manière plus exacte, représenter l'épileptogenèse, plus que la période de latence proprement dite. Le degré selon lequel l'augmentation du taux de crises est progressif et selon lequel la progression représente plus exactement le processus d'épileptogenèse doit dépendre du modèle animal. Cela doit être congruent avec ce qui se passe chez l'Homme, pour lequel la nature de la lésion initiale doit influencer le développement de l'épilepsie. Des études sur des modèles animaux d'ELT avec des taux de crises relativement faibles n'ont pas relaté d'augmentation progressive dans le taux de crises (Mazarati et al., 2002 ; Bragin et al., 2004). Dans le modèle du SE induit électriquement, Gorter et collaborateurs, (Gorter et al.; 2001) ont reporté deux populations distinctes de rats épileptiques : ceux avec un taux élevé de crises présentaient une augmentation progressive alors que ceux avec un taux faible de crises n'en présentait pas. D'autres animaux, cependant, n'ont pas d'augmentation évidente dans leur taux de crises au cours du temps, ce qui implique que d'autres mécanismes physiologiques non progressifs sont recrutés dans ces cas-là. Il est aussi concevable que la courbe représentant la fréquence des crises en fonction du temps post-SE dépende du type d'épilepsie ( focale ou multifocale).

**On ne sait toujours pas à l'heure actuelle si phase de latence rime avec épileptogenèse, i.e. si leurs limites temporelles coïncident exactement, mais ce qui est sûr en revanche est que le « silence » de la phase de latence ne se caractérise que par l'absence de crises récurrentes et spontanées.**

Nous allons maintenant présenter les altérations morphologiques de l'ELT : tout d'abord les présenter, qu'elles soient dues au SE ou aux crises, puis évoquer leurs conséquences.

## **5) Altérations morphologiques dans l'ELT**

Dans l'ELT, les altérations morphologiques peuvent être de deux types : soit elles sont provoquées suite au SE (stade épileptogène), soit suite aux crises récurrentes et spontanées (stade chronique, i.e. épileptique).

## 5.1. Altérations morphologiques post-SE et post-ictales

### 5.1.1. Perte cellulaire

#### *L'hippocampe*

Le SE est préférentiellement associé à des dégâts histologiques détectables dans l'hippocampe et dans les aires relatives à l'hippocampe, le plus connu étant la sclérose temporale mésiale (Gorter et al., 2001 ; Liu et al., 1995 ; Cavazos et al., 1991 ; Houser et al., 1990 ; Sutula et al., 1989). Cette perte neuronale hippocampique a été rapportée aussi bien chez l'Homme (patients ELT ; (Plate et al., 1993; Wieser et al., 1993) que dans les modèles animaux, traités au KA (Ben Ari, 1985) ou à la pilocarpine (Liu et al., 1994; Turski et al., 1983 ; 1984). Dans ces deux modèles, les lésions sont identiques dans pratiquement toutes les mêmes aires cérébrales mais ce qui diffère c'est le profil temporel et l'intensité de ces lésions : en général, elles sont plus précoces dans le modèle pilocarpine que dans le modèle KA même si la sclérose reste un phénomène tardif (apparaît plusieurs mois après SE). La dégénérescence neuronale serait liée à la durée du SE (toujours chez la souris adulte pilocarpine) : une perte des cellules de CA1 et rarement du GD est observée après un SE de 60 min, de CA1 et de la couche des cellules des grains après 90 min de SE, et de CA1, CA3 et du GD après 120 min de SE (Gröticke et al., 2007).

#### *Le cortex entorhinal*

Au stade épileptique, des études chez l'Homme (Du et al., 1993 ; Mikkonen et al., 1998) et dans les modèles animaux (modèle pilocarpine : Du et al., 1995; Kumar & Buckmaster, 2006 ; SE induit électriquement : Gorter et al., 2003) ont également rapporté une atteinte des couches II et III du CE, notamment de la couche III du CEm. Cependant, au laboratoire, dans l'une des études de ma thèse (Chauvière et al., 2009), nous n'avons quantifié qu'une très faible perte cellulaire des couches II, III, V-VI du CE chez des rats sacrifiés au stade chronique (40 jours post-SE).

#### *Autres structures de la formation hippocampique*

Le **cortex piriforme** est également lésé au stade épileptique, dans le modèle pilocarpine (40% de mort cellulaire à 7 jours post-SE, 46% à 2 mois ; Chen et al., 2007) et le modèle KA (Ebert et al., 2002), ainsi que l'**amygdale**, tant dans les modèles animaux que chez l'Homme (Tuunanen et al., 1996 ; pour revue, cf. Pitkänen et al., 1998). La lésion touche également le **néocortex** (modèle pilocarpine ; Sanabria et al., 2002). Dans le modèle

d'embrasement, au stade épileptique, le **subiculum** semble être épargné alors que les rats injectés à la pilocarpine, au même stade, montrent une perte cellulaire de 30%.

Après la crise initiale, il y a aussi une perte de certains INs : les INs GABAergiques du hile (Obenaus et al., 1993 ; Houser & Esclapez, 1996 ; Houser et al., 1999) et les cellules O-LM (Cossart et al., 2001b), alors que d'autres INs, les cellules en corbeille, sont résistants.

Comme déjà mentionné précédemment (modèle pilocarpine), la perte cellulaire est également associée à une **gliose**. La gliose pourrait jouer un rôle dans l'épileptogenèse en s'associant aux modifications neuronales présentes dans la sclérose hippocampique.

### 5.1.2. Bourgeoisement axonal

Un **bourgeoisement axonal** se met également en place : les fibres moussues du GD font de nouveaux contacts synaptiques avec les cellules de la couche moléculaire interne (Figure 52 ; Houser, 1999). Souvent, la perte neuronale et la réorganisation des fibres moussues coexistent, mais cette dernière peut aussi avoir lieu de manière isolée. Les réarrangements qui ont lieu au niveau du GD (migration des cellules du hile, bourgeoisement axonal et croissance des dendrites basales des cellules du hile (Ribak et al., 2000 ; Mikkonen et al., 1998) induisent des connexions excitatrices récurrentes, à l'origine d'une augmentation de l'excitabilité (Wuarin & Dudek, 1996 ; Esclapez et al., 1999). Ce phénomène de bourgeoisement axonal des fibres moussues au niveau du GD a été décrit à la fois chez l'Homme (Sutula et al., 1989 ; Mikkonen et al., 1998) et dans les modèles animaux (Wuarin & Dudek, 1996 ; Sutula et al., 1998 ; Shao & Dudek, 2005).

Ainsi, les atteintes morphologiques peuvent être à l'origine des crises (Holmes, 2002) et, dans certaines conditions, les crises peuvent elles aussi causer des lésions cérébrales, aussi bien chez les patients (*Kälviäinen et al., 1998*) que dans les modèles animaux (*Parent et al., 1997*, modèle pilocarpine).

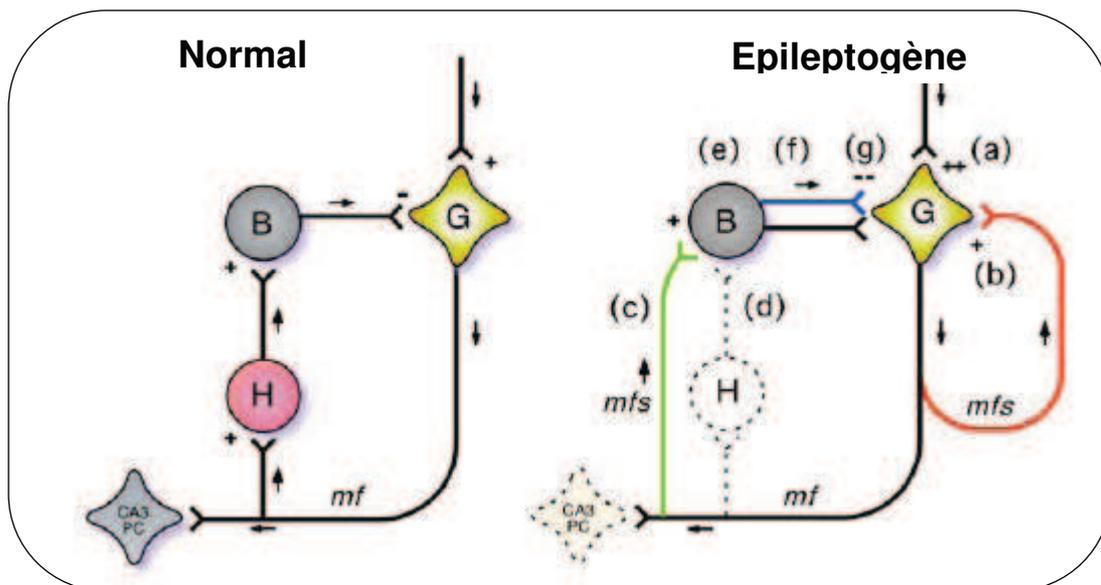


Figure 52

**Figure 52. Exemple de réorganisation synaptique excitatrice et inhibitrice du GD au cours de l'épileptogénèse.** G : cellules des grains ; B : cellules en corbeille (« basket cells ») ; H : cellules du hile ; PC : cellules pyramidales ; mf : bourgeonnement des fibres moussues (« mossy fiber sprouting »). **La réorganisation synaptique excitatrice de l'hippocampe épileptogène inclut : (a) une potentialisation synaptique glutamatergique, (b) un bourgeonnement des fibres moussues, qui peut être à l'origine de la création de nouvelles voies excitatrices.** Il y a également une réorganisation synaptique au niveau des systèmes inhibiteurs, qui inclut : (c) un bourgeonnement des fibres moussues sur les IN, (d) la réduction de l'excitation sur les IN inhibiteurs (hypothèse des cellules en corbeille silencieuses : « basket cells dormancy »), (e) une perte sélective des IN contenant la somatostatine et une inhibition dendritique diminuée, (f) un bourgeonnement axonal des IN GABAergiques et contenant le neuropeptide Y, et (g) une réduction de l'inhibition sur les neurones excitateurs. Certaines de ces modifications pourraient être dues aux altérations de la configuration en sous-unités du récepteur GABA (d'après Morimoto et al., 2004).

**Les altérations post-SE consistent principalement en une perte neuronale et une plasticité réactionnelle (bourgeonnement axonal; synaptogénèse), majoritairement au sein du GD, mais touchent également les autres aires de l'hippocampe et les structures de la formation hippocampique.**

**Je vais maintenant présenter les conséquences de ces altérations sur l'équilibre excitation/inhibition, dont une modification serait liée de façon causale à l'épilepsie.**

## 5.2. Conséquences de ces altérations

La réorganisation de la circuiterie, notamment au niveau des connexions entre neurones et entre structures, laisse présager des changements au niveau des activités rythmiques. Les transmissions glutamatergiques et GABAergiques agissant (de manière simpliste, car le phénomène est plus compliqué que ça) comme des forces qui permettent l'émergence d'oscillations, une altération de l'une ou l'autre va perturber l'activité rythmique, comme par exemple la réduction de l'inhibition des cellules de la couche II du CE (modèle pilocarpine, Kobayashi et al., 2003a, b), de l'inhibition des cellules de la couche V du CE (modèle pilocarpine, de Guzman et al., 2008) ou encore la réorganisation synaptique due à la perte des neurones pyramidaux de la couche III du CE (Kumar et al., 2007). Cependant, les résultats de cette étude (Kumar et al., 2007) ont montré que la diminution de l'inhibition récurrente (Kumar & Buckmaster, 2006) était à l'origine de l'hyperexcitabilité et de l'hypersynchronie des cellules étoilées de la couche II du CE, mais pas l'augmentation de l'excitation récurrente (modèle pilocarpine, Kumar et al., 2007). L'hyperexcitabilité des cellules étoilées de la couche II du CE est attribuée, du moins en partie, à une perte des IN GABAergiques et de l'entrée synaptique inhibitrice (Kumar & Buckmaster, 2006). De plus, une dérégulation de la voie temporoammonique est cruciale dans la genèse et/ou la propagation de l'activité critique au sein de l'hippocampe (Ang et al., 2006 ; Avoli et al., 2006). Malgré ces altérations, il y a quand même des IN résistants, donc moins d'inhibition ne veut pas forcément dire moins d'IN ou moins d'IN fonctionnels mais la perte de certaines cellules pyramidales entraîne par conséquent une perte des afférences excitatrices activant les IN, et donc une diminution de l'inhibition (i.e. hypothèse des « IN dormants » ; Sloviter et al., 1991). Ce déséquilibre entre excitation et inhibition (i.e. plus d'activités glutamatergiques et moins d'activités GABAergiques) serait suffisant pour induire de l'activité interictale et faciliter sa propagation (El-Hassar et al., 2007b).

Les dommages structurels et fonctionnels de l'inhibition GABA ont été bien documentés dans les modèles animaux (Doherty & Dingledine, 2001 ; Gorter et al., 2001). Cependant, la manière dont ces modifications, dans la fonction de réseau, induisent une condition épileptique chronique reste encore très floue.

Le SE est préférentiellement associé à des dégâts histologiques de l'hippocampe et de ses aires associées, le plus connu étant la sclérose temporale mé mediale. Cette lésion semblerait plus être la cause du SE en lui-même que celle des crises spontanées ultérieures (stade chronique). La perte cellulaire et la réorganisation synaptique qui en découlent, ainsi que le développement ultérieur des crises spontanées, semblent proportionnels à la durée du SE initial. Ces atteintes morphologiques sont à l'origine des crises et, dans certaines conditions, les crises peuvent elles aussi causer des lésions cérébrales, aussi bien chez les patients que dans les modèles animaux. Les modifications sont variables d'un modèle à l'autre, on retrouve plus ou moins l'atteinte des mêmes structures de la formation hippocampique, ce qui varie est la taille de chaque lésion. Dans tous les cas, ces altérations présentent des conséquences néfastes sur la balance excitation-inhibition et restent la cause majoritaire du développement de l'épilepsie, et sûrement de l'apparition des activités paroxystiques (i.e. critiques et intercritiques).

## **6) Activités rythmiques paroxystiques**

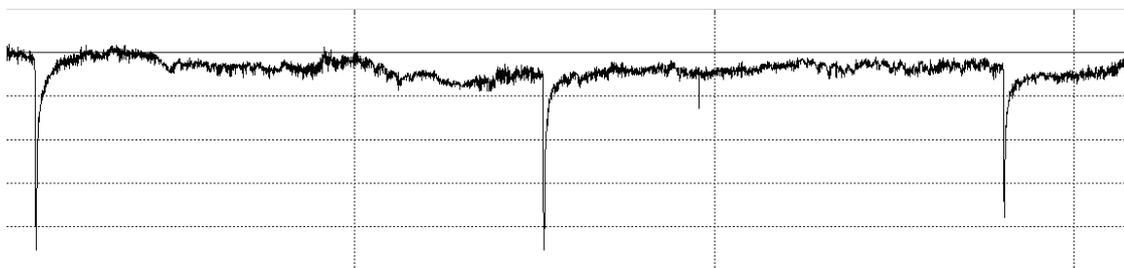
En épilepsie, on distingue deux types d'activités paroxystiques : l'**activité interictale** (ou **activité intercritique**, i.e. « entre les crises »), et l'**activité ictale** (ou **activité critique**, i.e. « de crise »). L'**activité interictale** correspond à une activité pathologique cérébrale, présente à la fois pendant l'épileptogénèse et l'épilepsie dans les modèles animaux, et entre les crises chez les patients ELT (on ne peut conclure sur la période d'épileptogénèse puisqu'elle reste inexplorée chez l'Homme). L'**activité ictale**, quant à elle, est la marque d'une activité pathologique continue (chez l'Homme du moins, au stade épileptique) puisqu'elle constitue l'activité de crises d'épilepsie proprement dite.

### **6.1. L'activité interictale**

#### **6.1.1. Définition**

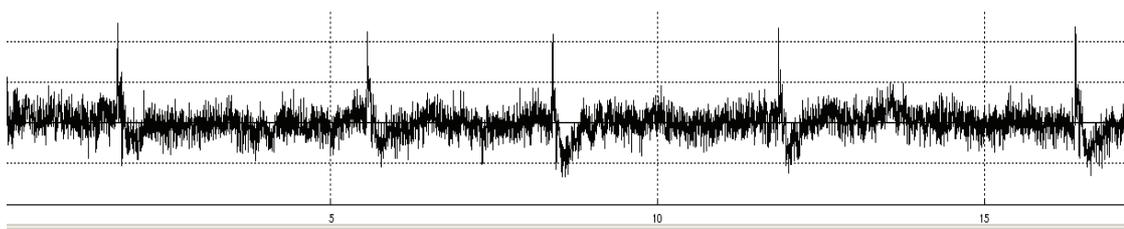
L'activité interictale (ou « pointes interictales » (PI); De Curtis & Avanzini, 2001), à la fois chez les patients et dans les modèles animaux d'épilepsie focale, est caractérisée sur l'EEG par une phase ascendante, correspondant à une dépolarisation de grande amplitude (>50 $\mu$ V) qui met en œuvre la synchronisation d'une large population de neurones déchargeant

en même temps (Pollen, 1964 : premiers enregistrements intracellulaires), habituellement suivie d'une onde lente qui dure plusieurs centaines de millisecondes (50-200ms) et correspondant à une grande hyperpolarisation (Pollen, 1964 ; Kooi, 1966 ; Chatrian et al., 1974 ; Gotman, 1980 ; Prince & Connors, 1986 ; Figures 53 et 54), ce qui suggère un rôle actif de l'inhibition (De Curtis et al., 1998). Elle est souvent associée à des événements EEG rapides. L'activité interictale est le premier signe d'une activité pathologique survenant après le SE chez des animaux qui vont développer des crises (Hellier et al., 1999 ; Mazarati et al., 2002 ; Shah et al., 2004 ; El-Hassar et al., 2007a). Les oscillations rapides, comprises entre 80 et 500 Hz, sont également considérées comme de l'activité paroxystique chez les patients ELT, comme les « fast ripples », ou les « ripples » rapides, interictaux, observés dans le GD et dans le CE (Bragin et al., 2000 ; Urrestarazu et al., 2007).



**Figure 53**

**Figure 53. Exemple de pointes intercritiques (ou activité interictale) positives (i.e. vers le bas) enregistrées à partir d'une électrode bipolaire dans l'hippocampe de rat.**



**Figure 54**

**Figure 54. Exemple de pointes intercritiques (ou activité interictale) négatives (i.e. vers le haut) enregistrées à partir d'une électrode bipolaire dans l'hippocampe de rat.**

### 6.1.2. Caractéristiques

#### *Origine*

Les PI auraient soit pour origine le CE et se propageraient vers l'hippocampe, soit pour origine CA3 (D'Antuono et al., 2002).

### *Caractère périodique*

Les PI ont tendance à se reproduire de manière périodique (Chatrian et al., 1964 ; Figures 46 et 47). La périodicité des PI, hypothèse mise en avant la première fois par Lebovitz, en 1979 (Lebovitz, 1979), serait un processus inhibiteur régulé localement, initié par la PI elle-même et qui supprimerait la décharge neuronale pendant plusieurs secondes au site de la genèse de la PI.

### *Mode de décharge sous-jacent*

Une seule PI est associée à une décharge en bouffée caractérisée par une séquence de PA rapides entre 200 et 500Hz, se superposant à une dépolarisation lente (« PDS » pour « paroxysmal depolarizing spike »). Les PDS peuvent apparaître de manière spontanée, ou suite à l'application de traitements pro-convulsifs (Prince & Wong, 1981 ; Avoli & Williamson, 1996).

### *L'inhibition post-PI*

Les PI se terminent par une dépression transitoire, i.e. l'onde après la pointe, qui suit et est associée avec une décharge neuronale massive synchrone établie pendant la PI elle-même. Cette dépression est associée à une inhibition (GABA<sub>A</sub> et GABA<sub>B</sub>). On parle alors d'inhibition post-PI (de Curtis et al., 1998), à la fois dans les modèles animaux (de Curtis et al., 2001) et chez les patients (de Curtis et al., 2005).

#### **6.1.3. Rôle des PI : protecteur ou précipitant**

Il a été proposé que cette inhibition post-PI augmenterait le seuil d'émission d'une autre PI et protégerait ainsi de la propagation des PI et de la genèse des crises (Wilkus et al., 1978 ; Engel et al., 1981 ; Swartzwelder et al., 1987 ; Jefferys, 1989 ; Barbarosie & Avoli, 1997). Ce contrôle des décharges ictales par l'activité interictale s'effectuerait par l'intermédiaire de mécanismes locaux inhibiteurs, indépendants du circuit trisynaptique classique (GD-CA3-CA1 ; Avoli et al., 2006).

Les PI initiés dans CA3 exerceraient un contrôle inattendu sur la capacité du CE à générer des décharges ictales, ce qui rendrait CA3 critique comme point de contrôle dans le déclenchement des décharges ictales à point de départ entorhinal (Avoli et al., 2002). Les collatérales locales des axones de CA1 (plus clairsemés que d'autres régions hippocampiques, comme CA3) faciliteraient la propagation des décharges épileptiformes mais comme leur

propagation est unidirectionnelle (vers le subiculum), il n'y aurait pas d'activation réentrante de CA3 (Orman et al., 2008). Ainsi, si on coupe les collatérales de Schäffer, pour mimer la condition épileptique dans laquelle la perte cellulaire dans CA3 induit la perte du contrôle de CA3 sur le CE, on abolit l'activité interictale dans CA1, le GD et le CE mais on rétablit les décharges ictales dans le CE qui se propagent via le GD vers CA3. **L'activité interictale ayant pour origine CA3 peut donc réduire, plutôt que soutenir, la capacité du CE à générer des événements ictaux** (Barbarosie & Avoli, 1997, études *in vitro*).

Le contrôle de l'excitabilité entorhinale par l'activité sortant de l'hippocampe (Kloosterman et al., 2003) suggère que les décharges interictales doivent en effet interférer avec les événements ictaux (Janszky et al., 2001). Si c'est le cas, une stimulation rythmique basse fréquence (0.25-1.5 Hz) d'un cerveau épileptique, qui mimerait alors l'activité interictale ayant pour origine CA3, devrait protéger contre le développement des crises (Barbarosie & Avoli, 1997), palliant ainsi à la perte des collatérales de Schäffer (Avoli & Barbarosie, 1999). Ici, l'activité interictale contrôle donc plus que ne promeut les événements ictaux, et **l'intégrité fonctionnelle des neurones de CA3 doit représenter un point de contrôle critique dans l'ELT**. Cette proposition, cependant, est en désaccord avec ce qui a été obtenu dans des modèles de décharge épileptiforme, dans lesquels les événements interictaux conduisent à des crises électrographiques. La contradiction peut être expliquée en considérant les PI comme un phénomène hétérogène qui reflète le recrutement de différents mécanismes (conductances synaptiques) et réseaux neuronaux dans différentes régions du cerveau épileptique (Avoli et al., 2006). D'autres références, chez d'autres modèles animaux, appuient l'hypothèse d'une action « anti-crisis » de l'activité interictale (Swartzwelder et al., 1987 ; Barbarosie & Avoli, 1997 ; Librizzi & de Curtis., 2003). Cependant, il a été rapporté que les PI seraient influencées par l'activité ictale et ne pourraient donc pas être considérées comme des signes indépendants d'épileptogénicité (Janszky et al., 2001). Les neurones de la couche III du CEm exerçant une inhibition « feed-forward » très importante sur les neurones pyramidaux de CA1, une hypothèse serait que l'altération de l'inhibition de ces neurones hippocampiques pourrait entraîner une propagation des crises entorhinales. En effet, les résultats d'une étude montre que finalement, sans tenir compte de l'augmentation de la susceptibilité du CEm à générer des crises chez des rats épileptiques, la perte de l'inhibition « feed-forward » et l'augmentation de l'excitabilité des cellules pyramidales de CA1 favorisent la propagation de l'activité épileptiforme du CEm vers CA1 via la voie temporoammonique en évitant la boucle hippocampique trisynaptique classique (Wozny et

al., 2005). **Les PI exerceraient donc soit un effet protecteur, soit un effet précipitant de la genèse des crises épileptiques.**

Les avis restent donc partagés sur le rôle pro- ou anti- épileptogène des PI et plusieurs études sur l'activité interictale apparaissant après le SE sont nécessaires avant de tenter d'établir son rôle dans l'épileptogénèse. C'est à partir de ces observations que s'est en partie basée ma thèse (cf. ma 6<sup>ème</sup> étude du chapitre suivant, partie A).

#### **6.1.4. Activité des PI**

Dans l'ELT, des PI de différentes durées et amplitudes, séparés spatialement et temporellement, peuvent être observées. La survenue des PI est fonction des états de vigilance, aussi bien chez les patients ELT que dans les modèles animaux (Kellaway, 1985). En effet, les PI sont beaucoup plus abondantes pendant le sommeil non paradoxal (sommeil lent) que pendant les états de veille ou de sommeil paradoxal au cours desquels elles sont presque inexistantes (Kellaway, 1985 ; Sammaritano et al., 1991 ; Terzano et al., 1991 ; Mendez & Radtke, 2001 ; Foldvary-Schaefer & Grigg-Damberger, 2006 ; Kotagal & Yardi, 2008). Il a récemment été rapporté que les états caractérisés par des oscillations lentes, comme lors des SWS (sommeil lent) ou pendant l'anesthésie à l'uréthane (Wolansky et al., 2006) facilitaient la genèse, le maintien et la propagation des PI dans l'hippocampe (Nazer & Dickson, 2009). Il a également été décrit que les PI cessaient au point de départ des crises et que leur fréquence ne change pas ou bien diminue avant le départ de la crise chez les patients épileptiques (Lieb et al., 1978 ; Lange et al., 1983 ; Gotman & Marciani, 1985 ; revue: Gotman, 1991) ainsi que dans les modèles animaux d'épilepsie focale (Ralston, 1958 ; Elazar & Bloom, 1974 ; Gotman, 1984 ; Leung, 1990).

#### **6.1.5. Les différents types d'activité interictale**

Il y a plusieurs décennies déjà, deux types d'activité interictale avaient été caractérisés par le Pr Buzsaki (Buzsaki et al., 1989, 1991) : un premier type dit de « type1 » correspondant à une amplification de l'activité des systèmes associatifs intrahippocampiques (majorité de l'activité interictale), un second type correspondant à des polarités positives dans le *stratum radiatum* des aires CA1 et CA3 qui se propagent très vite (>1.5m/sec.) et qui reflèteraient la dépolarisation somatique ainsi que la décharge des cellules pyramidales due à des effets non synaptiques (Buzsaki et al., 1991).

Dans le modèle génétique d'épilepsie-absence (van Luijtelaar & Coenen, 1986), deux types de PI ont également été caractérisés, mais de telles caractéristiques n'ont pas encore été

prises en évidence pour l'activité interictale dans l'ELT, mais feront l'objet d'une des études de ma thèse (cf. ma 6<sup>ème</sup> étude du chapitre suivant, partie A).

#### **6.1.6. Mécanismes des PI : origine et propagation**

Pour connaître l'origine et la propagation de ces activités épileptiformes dans le système limbique, certains auteurs (Nagao et al., 1996) valident la pertinence des études *in vitro* sur tranches combinant à la fois hippocampe et CE et confirment ainsi que le CE est l'aire d'origine de ces événements épileptiformes. Une autre étude a montré, par détection d'immunoréactivité à la somatostatine, que le CE serait responsable de la genèse, de la régulation et/ou de l'expression de l'activité interictale dans l'ELT (Deutch et al., 1991). Le thalamus semble également jouer un rôle important dans l'épileptogenèse limbique.

On sait actuellement que des mécanismes non synaptiques sont impliqués dans la mise en place des PI, des mécanismes synaptiques dans leur propagation (De Curtis & Avanzini, 2001).

Comment des modifications de l'efficacité synaptique ou la formation de nouvelles connections synaptiques peuvent donner naissance aux PI reste à élucider (El-Hassar, 2007a), bien qu'il soit indiscutable que la plasticité soit une caractéristique fondamentale des réseaux neuronaux (modèle kindling, Morimoto et al., 2004).

#### **6.1.7. Activité interictale et cognition**

Il a été proposé (Zhou et al., 2007b) que les PI contribueraient aux déficits cognitifs en altérant la décharge des PA de manière cellule-spécifique : en effet, elles induiraient une diminution de la décharge de PA post-PI pour les IN mais pas pour les cellules pyramidales, i.e. les cellules de lieu dans ce cas, lorsque des rats épileptiques sont testés dans un environnement familier. Les PI ont également été largement étudiées et décrites comme étant délétères (Aarts et al., 1984 ; Kasteleijn-Nolst Ternite et al., 1990a,b ; Binnie et al., 1987 ; cf. revue Holmes & Lenck-Santini, 2006) et leurs fréquences plus associées aux déficits cognitifs que celles des crises en elles-mêmes.

#### *PI et hypothèse d'« anti-binding »*

Le rythme gamma, faisant intervenir la boucle hippocampe-néocortex, est très intense et hypersynchrone au début des décharges épileptiformes (modèle KA). Ensuite, pendant les décharges, l'activité gamma est diminuée, d'où l'hypothèse du phénomène d'« over-binding » mise en avant au tout début des crises, qui serait à l'origine de la formation de mauvaises

associations dues à des modifications synaptiques inadéquates. Ainsi, l'activité interictale est considérée comme un mécanisme d'« anti-binding », similaire au phénomène de « non-apprentissage » quand les PI sont présentes au cours du sommeil (Medvedev, 2001). Au tout début des crises, le gamma a une très forte cohérence entre l'hippocampe et le néocortex qui va ensuite très fortement diminuer, tout comme sa puissance (Medvedev, 2002): cela va dans le sens d'une désynchronisation du mécanisme de protection contre l'« over-binding » ; c'est comme si les PI remettaient à zéro (phénomène de « reset ») l'état fonctionnel du cerveau (i.e. phénomène de « binding » temporel des activités neuronales, ou la « théorie des réseaux neuronaux »). Ce mécanisme d'« anti-binding » des PI est très intéressant dans la mesure où ces phénomènes de mauvaises associations pourraient expliquer les phénomènes de « déjà-vu » à l'aura des crises, résultant entre autres d'une très haute synchronie gamma.

#### **6.1.8. Activité interictale et rythmes cérébraux**

Chez des patients présentant une ELT mésiale, la puissance relative du rythme thêta est diminuée, comparé aux mesures de ces mêmes patients dans les aires non épileptogènes, et cette diminution de thêta serait en partie due à l'activité interictale (Bettus et al., 2008). Curieusement, les pointes seraient plus influentes du côté non-épileptogène, dans la zone de propagation. Ces résultats laissent également penser à une réduction de disponibilité d'assemblées neuronales dans l'hippocampe et le cortex rhinal pendant la formation mnésique (Mormann et al., 2007).

#### **6.1.9. Activité interictale et synchronie**

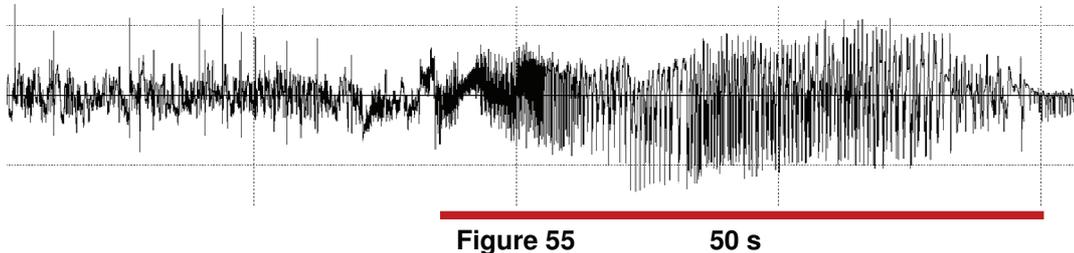
Pendant l'état interictal, une augmentation du degré d'interdépendance entre les signaux a également été observée. Ces résultats semblent être en accord avec l'étude préalable faite par Mormann et collaborateurs (Mormann et al.; 2005) qui décrit une augmentation locale dans la synchronie interictale (analyse de cohérence de phase) chez des patients avec une ELTm. Des aires avec une synchronie locale augmentée doivent être un marqueur de cortex épileptogène.

### **6.2. L'activité ictale**

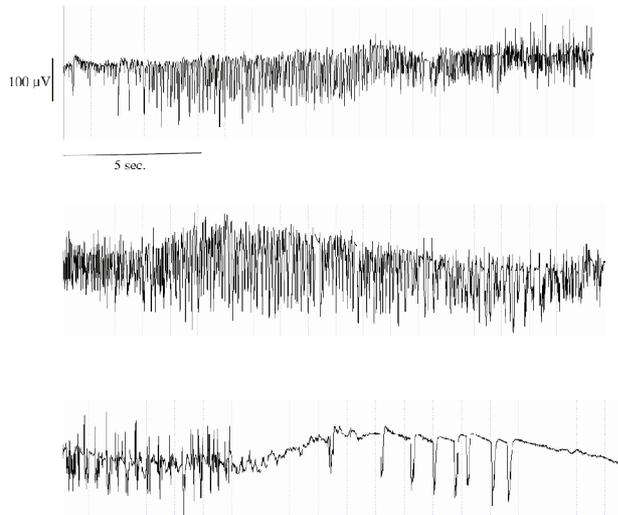
L'activité ictale n'est pas systématiquement le reflet, dès les premières crises tout du moins (quelques jours après SE), d'un état épileptique stable. Elle serait plutôt le marqueur

d'un réseau très instable et très hyperexcitable, après avoir déclenché un fort SE (Hellier et al., 1999 ; Williams et al., 2009 ; Figures 55 et 56).

Chez l'animal, l'hippocampe est la structure qui a le plus bas seuil de genèse des crises et la plus susceptible de développer des lésions neuronales et des réorganisations de sa circuiterie, en raison des nombreuses décharges épileptiformes présentes dans cette structure (cf. revue de Morimoto et al., 2004). Le subiculum, en fonction de son degré d'excitabilité, laisserait ou non se propager les activités critiques dans le sens : CE -> CA3 ou CA1 -> CE. Le CEm, serait, quant à lui, la cible potentielle majeure dans l'initiation et la propagation de l'activité critique au sein de l'hippocampe (Schwob et al., 1980 ; Clifford et al., 1987 ; Du et al., 1993 ; Du et al., 1995 ; Nagao et al., 1996 ; Ribak et al., 1998 ; Yilmazer-Hanke et al., 2000 ; Dawodu and Thom, 2005). La couche III du CE joue un rôle de frein très important, empêchant (i) l'activité excitatrice de se propager des couches profondes vers les couches superficielles, (ii) les neurones de la couche II de répondre à l'afférence en provenance du néocortex ou des couches profondes du CE (Chrobak et al., 2000). Si ce frein n'existe plus, la transmission excitatrice facilitée peut ainsi donner naissance à une activité critique. Enfin, les circuits thalamo-limbiques réguleraient l'activité des crises limbiques.



**Figure 55. Exemple de crise hippocampique (obtenu par SEEG) chez un patient atteint d'ELT.**



**Figure 56**

**Figure 56. Exemple de crise hippocampique (obtenu par EEG intracérébral dans l'hippocampe) chez un rat épileptique (ELT, modèle pilocarpine).** On peut noter que la durée de la crise est similaire à celle chez l'Homme, présentée ci-dessus (Figure 56).

## **B. Modification des activités rythmiques dans l'ELT**

Dans cette seconde partie du chapitre III, nous allons évoquer les mêmes activités rythmiques que celles présentées en conditions normales (cf. Chapitre II), mais en conditions pathologiques, i.e. pendant l'ELT, que l'on vient de présenter dans le chapitre précédent. Le but de cette partie est de présenter comment se comportent ces activités dans l'ELT, à la fois chez l'Homme et l'animal, et de décrire les activités émergentes, présentes seulement en conditions épileptiques.

### **1. Le rythme thêta**

Il est actuellement bien admis que la synchronisation neuronale est augmentée chez les patients épileptiques (état critique et intercritique) surtout au niveau des fréquences thêta et delta (Clemens et al., 2000 ; 2004 ; 2007a, b).

Chez l'animal, des chercheurs (Colom et al., 2006), à partir de l'hypothèse que (i) la région septale diminuait la susceptibilité de l'hippocampe à devenir hyperexcitable grâce au rythme thêta (modèle pilocarpine) et que (ii) le rythme thêta chez les rats épileptiques (stade chronique) avait une amplitude plus faible (de 20%) et une fréquence plus élevée (de 3.38 à 4.25 Hz) que les rats contrôles, ce qui suggérerait que les générateurs et les « pacemakers » du

rythme thêta étaient affectés au cours de l'épilepsie, ont observé que les décharges épileptiformes étaient fortement réduites par rapport au thêta spontané, induit sensoriellement (pincement de la queue du rat) ou chimiquement (carbachol, Miller et al., 1994). Ceci suggère que l'induction de thêta dans le septum médian inhibe les crises et diminue l'activité interictale, alors qu'une lésion du septum médian par exemple abolit totalement le thêta hippocampique, diminuant ainsi le seuil de déclenchement des crises d'épilepsie. Dans cette étude, le thêta apparaît comme un état fonctionnel résistant aux crises! La présence du thêta serait alors responsable de la réduction de la fréquence des décharges épileptiques, conférant un effet antiépileptique au rythme thêta.

## **2. Le rythme gamma**

Dans les modèles animaux, après le SE, les oscillations gamma sont des marqueurs de développement des crises. Présentes au niveau de l'amygdale et du circuit thalamocortical, elles sont le témoignage d'une dépression étendue, mais surtout d'activité épileptiforme.

## **3. Le rythme delta**

Avec les techniques d'EEG et de neuroimagerie, le rythme delta a été quantifié chez les patients ELT; pour cela, ils ont mesuré l'activité delta chez plusieurs patients, ainsi que chez des sujets contrôles, en ne considérant que les parties sans pointes ni artéfacts. Leur étude n'a révélé aucune différence significative entre les deux groupes (Bernasconi et al., 1999).

## **4. Les SWS**

L'augmentation locale de SWS pendant le sommeil, après apprentissage, est associée à une amélioration des performances au test après le sommeil (Huber, Nature, 2004). Les docteurs Tassinari et collaborateurs, en 2006 (Tassinari et al., 2006), ont avancé l'hypothèse qu'une activité pathologique focale prolongée pendant le sommeil, comme par exemple une crise épileptique, interférerait avec les SWS locaux au site du foyer épileptique et perturberait ainsi les processus neuraux, et, probablement, les changements de plasticité locale associée à l'apprentissage et aux autres fonctions cognitives.

## **5. Les oscillations très rapides de type « Ripples » et « Fast Ripples »**

Ces deux types d'activité rapide sont plus communément regroupés sous le terme d'« oscillations haute fréquence » ou « oscillations très rapides ». Les « ripples » et les « fast ripples » coexistent dans le CE des patients avec une ELT mésiale, et sont plutôt intercritiques. Chez ces derniers, la perte cellulaire hippocampique et la réorganisation synaptique augmenteraient le ratio « ripples »/« fast ripples » (Staba et al., 2007).

Les « fast ripples » sont indépendantes des « ripples » (Bragin et al., 2002). Contrairement à ces dernières, qui apparaissent à la fois en conditions normales et épileptiques, les « fast ripples » ne se retrouvent que dans des conditions pathologiques, i.e. épileptiques (Foffani et al., 2007) ; ainsi, leur présence pourrait être considérée comme un marqueur d'un réseau épileptique. Cependant, les oscillations de type « ripples » ont été récemment décrites comme pathologiques si elles sont présentes dans le GD (Engel et al., 2009). De plus, les « fast ripples » se distinguent des oscillations de type « ripples », au niveau LFP, par leur plus haute fréquence (250-600 Hz) et l'inversion de polarité au niveau des couches moyennes du CE. Enfin, les « fast ripples » reflèteraient des mécanismes pathologiques locaux et apparaîtraient seulement dans des aires cérébrales qui génèrent des crises spontanées (Bragin et al., 2002).

### **C. Altérations cognitives dans l'ELT**

Comme pour la partie précédente, nous allons évoquer ici, dans cette troisième partie du chapitre III, les mêmes activités cognitives que celles présentées en conditions normales (cf. Chapitre II), mais pendant l'ELT. Le but de cette partie est de présenter l'altération de ces activités dans cette pathologie, et de décrire les causes à l'origine des déficits cognitifs, à la fois chez l'Homme et l'animal.

#### **1) Chez les patients**

Les déficits cognitifs sont fréquents chez les patients ELT (Helmstaedter & Kockelmann 2006). On distingue trois types distincts de profils cognitifs chez les patients ELT: 1) légèrement déficitaires (47% des sujets) ; 2) déficits de mémoire (24%), et 3) déficits de mémoire, des fonctions exécutives (29%). Ces trois profils ont des résultats bien différents,

qui dépendent notamment du type d'épilepsie clinique et de l'évolution cognitive (Hermann, 2007).

Chez les patients ELT, trois facteurs peuvent être à l'origine des déficits cognitifs dont ils se plaignent entre leurs crises : l'épilepsie proprement dite, i.e. la pathologie en elle-même, l'activité paroxystique (ictale et interictale), et le traitement antiépileptique.

### **1.1. Le Traitement antiépileptique**

Le traitement antiépileptique que doivent prendre les patients pour tenter de diminuer/stopper la fréquence de leurs crises est à considérer dans l'évaluation de leurs performances cognitives puisque les drogues antiépileptiques présentent des effets néfastes non négligeables sur les processus cognitifs (Meador, 2005 ; Cornaggia, 2006 ; Ortinsky & Meador, 2004 ; Mattson, 2004 ; Drane & Meador, 1996 ; Devinsky, 1995).

Les patients ELT présentent en effet des déficits de mémoire et de langage en rapport avec le traitement antiépileptique qu'ils prennent (Meador, 2002 ; Devinsky, 1995 ; Mattson, 2004 ; Ortinsky & Meador, 2004 ; Meador, 2005 ; 2006), déficits qui sont d'autant plus importants que le traitement est lourd (Meador, 2002). En principe, les effets de ces drogues sur le comportement et la cognition sont généralement modérés, mais peuvent jouer un rôle fondamental chez l'enfant (Campos-Castello, 2006). Enfin, il semblerait que ces effets dépendent de l'hémisphère impliqué.

### **1.2. L'épilepsie proprement dite**

Le déclin cognitif chez les patients ELT présentant une sclérose unilatérale de l'hippocampe est progressif (Marques et al., 2007). Cependant d'autres auteurs mentionnent plutôt qu'il y aurait une phase critique au cours du développement (au cours de l'enfance et notamment au stade de la puberté) pendant laquelle la mémoire épisodique serait plus facilement altérée (Helmstaedter & Elger, 2009). Le syndrome d'ELTm est caractérisé par des déficits cognitifs et neuropsychologiques bien définis qui atteignent le quotient intellectuel, le langage, ainsi que les fonctions visuo-spatiales (Hermann et al., 1997 ; Robertson et al., 2008 ; Butler et al., 2008 a, b). Les patients ELTm présenteraient des déficits de mémoire et de langage, en rapport avec des altérations morphologiques de l'hippocampe et du cortex périrhinal (Alessio, 2006 ; Abrahams et al., 1997 ; 1999 ; Ploner et al., 2000 ; Guerreiro et al., 2001), et une diminution bilatérale de l'activation cérébrale (évaluée par IRM fonctionnelle) au sein des lobes temporaux méiaux, plus prononcée du côté ipsilatéral au départ des crises,

et proportionnelle à la **durée de l'épilepsie** (Cheung et al., 2006), cette dernière étant négativement corrélée avec la mémoire verbale et visuelle (Cheung et al., 2006). Cette étude (Cheung et al., 2006) suggère que l'ELT affecterait d'abord les processus mnésiques de manière progressive, fonction de la durée de l'épilepsie, en réduisant l'activation cérébrale bilatérale des réseaux impliqués, réduction qui, en retour, va à son tour affecter la mémoire (Cheung et al., 2006). En effet, **il semblerait que l'épilepsie soit un processus dynamique dont l'épileptogénicité évolue avec la durée de l'épilepsie** (Bartolomei et al., 2008 ; Aubert et al., 2009 ; Tassi et al., 2009 ; van Dellen et al., 2009). Enfin, l'effet du SE sur la cognition serait fonction du type et de l'étiologie de l'épilepsie, de la sévérité du SE et de l'âge du patient (Helmstaedter, 2007).

Ainsi se pose la question de savoir quand est-ce qu'apparaissent les déficits cognitifs : est-ce avant ou après les crises? (cf. ma 1<sup>ère</sup> étude, chapitre suivant).

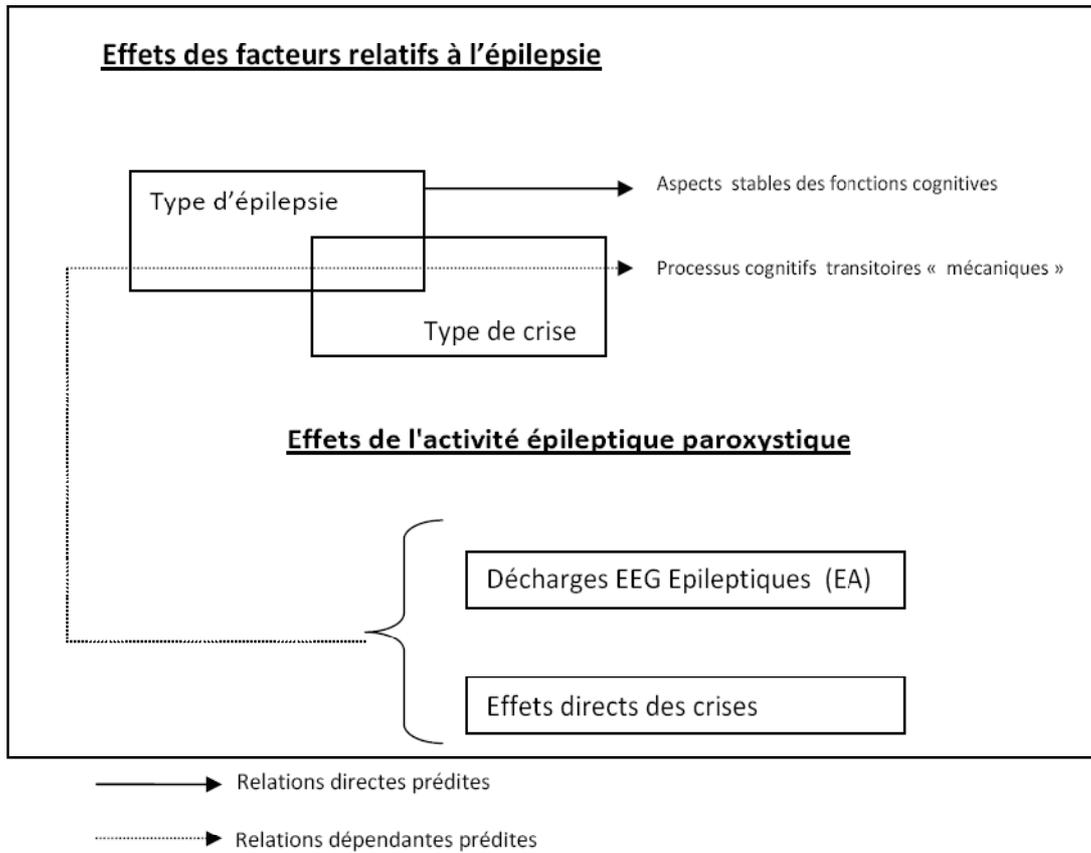
### **1.3. Activité paroxystique**

En plus des modifications anatomo-fonctionnelles engendrées par l'épilepsie proprement dite, l'activité paroxystique en elle-même altère également la cognition.

**À la fois l'activité ictale, interictale et post-ictale chez l'Homme présentent des effets délétères sur les processus cognitifs** (Aldenkamp et al., 1996 ; Aldenkamp, 1997 ; Majak and Pitkänen, 2004). Nous allons nous intéresser spécifiquement aux effets de l'activité interictale sur la cognition, puisque ce travail de thèse traite seulement de cette activité.

L'**activité interictale** entraîne des effets cognitifs transitoires (« TCI » pour « Transient Cognitive Impairment », cf. revue Holmes & Lenck-Santini, 2006), associés à la latéralité des PI : les décharges à gauche sont associées à des erreurs à un test de mémoire verbale (faisant intervenir préférentiellement l'hémisphère gauche, hémisphère généralement dominant pour ce type de mémoire), tandis que des décharges à droite sont liées à des déficits lors de tests non verbaux (Aarts et al., Brain, 1984). Cependant, une autre étude ne trouve pas de TCI chez des patients qui présentent malgré tout une activité interictale pendant le test (Aldenkamp et al., 1996), dans ce cas-là, une hypothèse serait de dire que l'effet de l'activité interictale sur les mécanismes cognitifs transitoires doit sûrement s'accumuler et, par conséquent, agir

seulement sur les fonctions cognitives les plus stables (Figures 57 et 58). Le type d'épilepsie et le type de crises jouent un rôle non négligeable dans l'altération de la cognition (Figure 57).



**Figure 57**

**Figure 57. Schéma de prédiction des effets des facteurs relatifs à l'épilepsie sur les fonctions cognitives** (tiré de Aldenkamp & Arends, 1996).

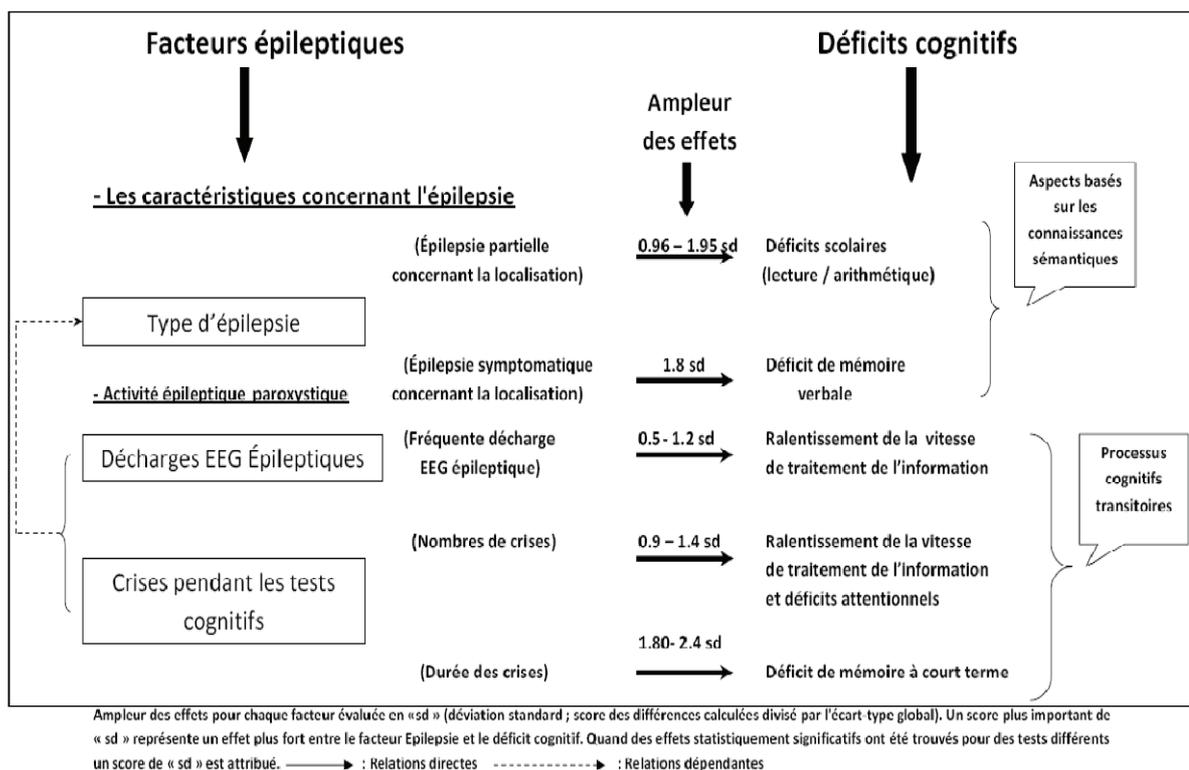


Figure 58

Figure 58. Schéma résumant les relations entre facteurs épileptiques et déficits cognitifs (tiré de Aldenkamp & Arends, 1996).

## 2) Dans les modèles animaux

Les animaux épileptiques présentent des déficits cognitifs importants, notamment de mémoire spatiale (Leite et al., 1990 ; Letty et al., 1995 ; cf. revue Meador, 2007), mémoire sur laquelle nous allons focaliser ici.

Nous allons donc tout d'abord présenter de quoi dépendent les déficits spatiaux de manière générale dans l'ELT, puis les détailler dans les différents modèles d'ELT, enfin présenter les causes possibles à l'origine de tels déficits.

### 2.1. Déficits cognitifs spatiaux

#### 2.1.1. Généralités

Les déficits cognitifs spatiaux (dans le test de la piscine de Morris) sont fonction : 1) du **modèle d'ELT** : les déficits à ce test sont présents chez les rats dont les crises récurrentes et spontanées sont induites – chimiquement (modèle KA et pilocarpine), - par kindling, - électriquement, - par fluorothyl, crises induites au stade néonatal mais rats testés à l'âge

« adolescent »), et - génétiquement (Kearney et al., 2001 ; Majak & Pitkänen, 2004) ; 2) du **fond génétique** (i.e. la souche des rats) : la capacité à compenser ces déficits seraient également fonction de la souche des animaux utilisés dans les modèles, tant chez le rat (Hort et al., 2000) que chez la souris (Royle et al., 1999) : en effet, les rats Long Evans sont un peu déficitaires dans le test de la piscine de Morris quelques jours après SE par rapport aux rats contrôles, mais ils récupèrent très vite contrairement aux rats Wistar qui maintiennent leurs déficits et ne récupèrent jamais (Hort et al., 2000) ; 3) de la **fréquence des crises récurrentes et spontanées** (Figure 60 ; Sutula et al., 1995 ; Kotloski et al., 2002, modèle kindling ; Nissinen et al., 2000, SE induit par stimulation électrique de l'amygdale) ; 4) **de la sévérité des crises** (Mohajeri et al., 2003) : en effet, des crises d'épilepsie sévères abolissent complètement l'apprentissage dans le test de la piscine de Morris (Mohajeri et al., 2003 ; modèle pilocarpine, souris) ; 5) de la **sévérité de la lésion**, elle-même fonction de la durée du SE ; Mello & Cavalheiro, 1989 ; Fujikawa, 1996) ; 6) de l'**âge des animaux lors de leur premier SE** car le cerveau immature apparaît moins sensible à l'activité critique (Holmes, 1991), en raison d'une moindre propagation de cette activité, ou bien de neurones plus résistants au phénomène d'entrée dans la voie de l'apoptose (Stafstrom et al., 1993 ; cf. revue Lado et al., 2000 ; Kubova et al., 2002 ; Cilio et al., 2003) ; 7) de l'**étendue du réseau impliqué par la crise** (cf. revue Hannesson & Corcoran, 2000, modèle kindling) : en effet, le kindling de différentes structures du lobe temporal n'engendrera pas les mêmes types de déficits cognitifs : le kindling de l'hippocampe dorsal induira des déficits spatiaux (dans le test de la piscine de Morris) contrairement au kindling du cortex périrhinal, de l'hippocampe ventral ou encore de l'amygdale, ces deux derniers provoquant des déficits lors d'un test d'évitement ; 8) de la **latence entre le SE et le premier jour de test**, afin de laisser les animaux suffisamment récupérer du SE (Hort et al., 1999 ; cf. revue Hannesson & Corcoran, 2000 ; Leung et al., 1994), 9) des **conditions environnementales et « sociales » avant le SE** : en effet, il a été démontré qu'un environnement enrichi (Figure 59) améliorerait les performances cognitives, à la fois chez le rat (Akman et al., 2003) et la souris (Duffy et al., 2001), mais pas pour tous les types de tests (Teather et al., 2002) ; cependant, la privation maternelle les réduisait (Huang et al., 2002b) ; 10) des **drogues antiépileptiques** : l'impact de ces drogues sur la cognition dépend de la (ou des) drogue(s) utilisée(s) (Bolanos et al., 1998) ; 11) du **phénomène de « réserve mentale »** selon lequel les performances cognitives des rats avant SE (stade contrôle) aurait une influence sur les performances cognitives de ces mêmes rats après SE, mais ce facteur semble dépendant du type de test et reste controversé (Akman et al., 2003 ; Leung et al., 1994 ; 1996).

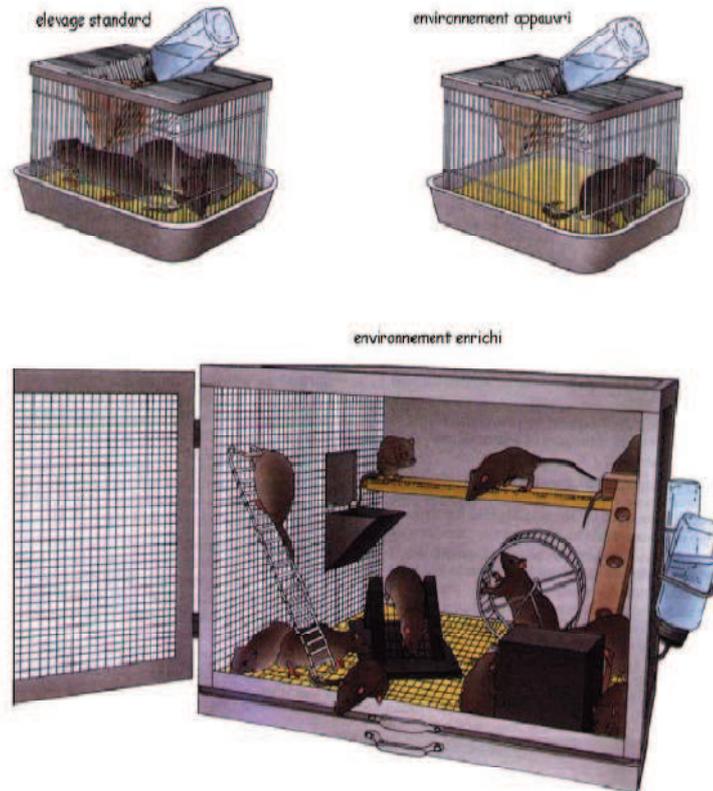


Figure 59

Figure 59. Présentation des conditions d'un environnement enrichi (en bas), comparé à un environnement standard (en haut, à gauche) et à un environnement appauvri (en haut, à droite). L'environnement enrichi favoriserait la plasticité cérébrale et permettrait au cerveau d'être plus à même de faire face à une éventuelle agression cérébrale. (d'après une communication personnelle du Dr W.S. Marcantoni).

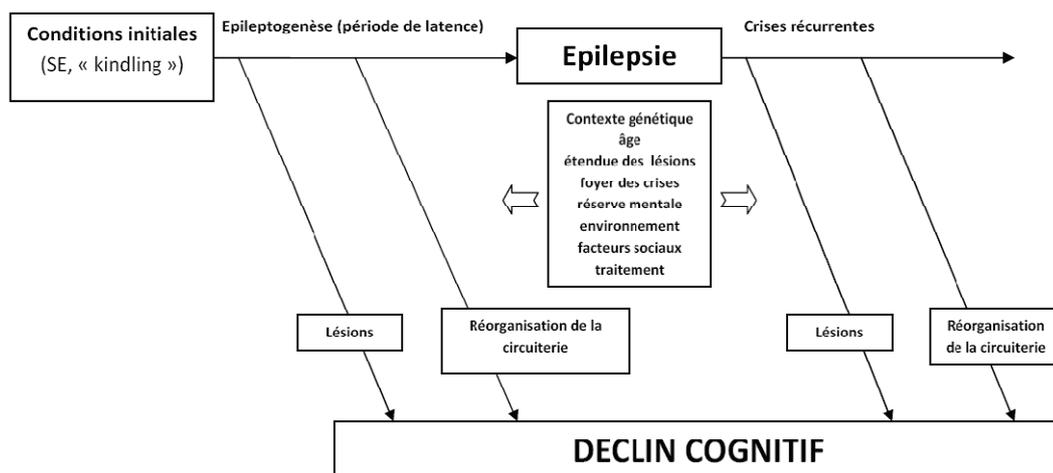


Figure 60

Figure 60. Schéma récapitulatif des principaux facteurs relatifs aux crises associés avec le déclin cognitif pendant le développement et l'évolution de l'épilepsie (tiré de Majak & Pitkänen, 2004).

Les déficits cognitifs seraient, en revanche, **indépendants de la durée du SE** (Gröticke et al., 2007) : en effet, chez des souris épileptiques (modèle pilocarpine), une équipe de chercheurs a utilisé toute une batterie de tests (anxiété, dépression, motricité, et mémoire spatiale). Après avoir tout d'abord montré que toutes les souris ayant développé un SE devenaient épileptiques, ils ont ensuite observé que l'apprentissage et la mémoire étaient altérés chez ces souris, et ce indépendamment de la durée du SE (Gröticke et al., 2007).

### 2.1.2. Déficiets spatiaux dans les différents modèles d'ELT

#### *Modèles SE (pilocarpine, KA, Li-Pilo)*

Les modèles limbiques ont le plus largement été étudiés sur le plan cognitif. Les tests les plus couramment utilisés sont la piscine de Morris, le labyrinthe radial à 8 bras ou encore le labyrinthe surélevé. Dans le test de la piscine de Morris, des déficits de mémoire spatiale ont été mis en évidence à la fois dans le **modèle Li-Pilo**, (Wu et al., 2001 (rats immatures); Rutten et al., 2002 ; Detour et al., 2005 ; Liu et al., 2007), avec un rôle positif pour l'environnement enrichi comparé aux rats n'en ayant pas bénéficié (Rutten et al., 2002), le **modèle pilocarpine** (Rice et al., 1998 ; Hort et al., 1999 ; dos Santos et al., 2005) et le **modèle KA** (à la fois chez le rat jeune et adulte, Mikulecka et al., 2000). Cependant, il a été observé que les animaux chroniques ne seraient pas déficitaires dans un test de reconnaissance d'objet, mais présenteraient une diminution d'anxiété (Detour et al., 2005 ; **modèle Li-Pilo**).

#### *Modèles de l'embrassement (« kindling »)*

Ce modèle est délétère sur le comportement exploratoire et sur l'apprentissage spatial à long-terme (Lopes da Silva et al., 1986 ; Cammissuli et al., 1997) : en effet, le renforcement synaptique (Leung & Shen, 1991) et la fréquence des crises (Kotloski et al., 2002) auraient un impact sur la sévérité des déficits cognitifs. Cependant, une étude met l'accent sur un effet des crises plus que de l'hippocampe « kindlé » en lui-même (McNamara et al., 1992). Le modèle PTZ serait également très délétère sur les processus cognitifs (test de la piscine de Morris ; Szyndler et al., 2006) associé à une diminution sélective et à long-terme de la concentration de glutamate au sein de l'hippocampe notamment, ce qui confirme le dysfonctionnement général du système glutamatergique cérébral, et qu'une diminution sélective du glutamate dans l'hippocampe doit conduire à une détérioration des processus de mémoire et

d'apprentissage chez les rats « kindlés » (Szyndler et al., 2006), mettant en avant le rôle de ce neurotransmetteur dans les processus cognitifs et notamment dans la LTP.

Le « kindling » partiel de l'hippocampe, en revanche, affecte la rétention mais pas l'acquisition dans la version spatiale du labyrinthe radial ; cependant, la rétention de la version indicée de ce même test n'est pas altérée (Leung et al., 1996).

De manière intéressante, le « kindling » au niveau de l'hippocampe dorsal ou ventral n'a pas les mêmes effets : sur le plan cognitif, les rats « kindlés » au niveau de l'hippocampe ventral présentent un déficit dans un test d'évitement, tandis que les rats « kindlés » au niveau de l'hippocampe dorsal présentent un déficit très sévère dans la mémoire à court-terme et l'apprentissage spatial (Gilbert et al., 2000 ; Hannesson et al., 2001).

Les rats PTZ et « kindlés » au niveau de l'amygdale ne présentent pas de déficit de mémoire à court-terme (Becker et al., 1992).

### *Induction de PI par stimulations*

Chez l'animal, l'induction de PI au sein de l'hippocampe (par stimulations des fibres commissurales), lors d'un test de reconnaissance d'objets, entraîne des déficits de mémoire spatiale et non spatiale (Shatskikh et al., 2006).

## **2.2. Causes potentielles de ces déficits**

### *Connectivité*

La mémoire est un processus dépendant de **l'intégrité de la connectivité du réseau** puisque les performances mnésiques sont rétablies lorsque la connectivité du réseau l'est aussi (*Horn et al., 1993 ; Horn et al., 1996*).

### *Plasticité*

La **plasticité synaptique** tient également un rôle essentiel dans les processus de mémoire (Fischer et al., 2005). L'effet des crises en elles-mêmes sur les processus de plasticité et de mémoire (i.e. l'étude des crises induites pour traiter les patients souffrant de désordres affectifs sévères) provoque des déficits cognitifs transitoires en phase post-critique (Reid & Stewart, 1997). L'activité de crise provoque une saturation de la LTP, en consommant et en réduisant ainsi la plasticité hippocampique disponible pour le traitement de l'information et interfère avec les processus de consolidation mnésique (Lopes da Silva et al., 1986 ; Reid &

Stewart, 1997 ; Kotloski et al., 2002 ; Aldenkamp & Arends, 2004a, b, c ; Majak & Pitkanen, 2004 ; Holmes & Lenck-Santini, 2006 ; Meador, 2007 ; Butler & Zerman, 2008).

### *Réorganisations morphologiques*

Le **bourgeonnement dendritique** et la **synaptogenèse** joueraient un rôle important dans la récupération de l'apprentissage et de la mémoire ; l'implication du processus de **neurogenèse** au sein du GD n'est pas à exclure non plus (Fischer et al., 2007).

### *Epileptogenèse*

L'effet de l'épileptogenèse sur la mémoire a été testé à partir du test d'aversion conditionnelle et montre que l'aversion formée à partir du cerveau post-SE est, de manière intéressante, capable d'utiliser la part cérébrale préservée pour la formation de cette trace mnésique (Sroubek et al., 2001). Cette dernière serait d'ailleurs facilitée chez des animaux ayant été soumis, avant de développer leur SE, à des conditions d'environnement enrichi (Teather et al., 2002 ; Duffy et al., 2001) ou à un entraînement physique (courir dans une roue), notamment lors de tests de mémoire spatiale (test de la piscine de Morris ; exploration d'objets).

### *Activité post-ictale*

Un autre mécanisme à l'origine des déficits cognitifs observés après l'activité de crises serait que la modulation directe par le GABA des oscillations bêta/gamma (20-24 Hz) dans CA3, via l'afférence du Gyrus Denté, pourrait empêcher une trop importante excitation et ainsi perturber le stockage de l'information au sein du réseau hippocampique (Treviño et al., 2007).

**Les déficits cognitifs, chez l'Homme comme dans les modèles animaux, sont causés et modulés par plusieurs facteurs. Ainsi leur étude n'est pas simple, d'autant plus qu'il est maintenant bien admis que les drogues antiépileptiques présentent des effets néfastes sur la cognition.**

**Je vais maintenant aborder la partie la plus intéressante et cruciale selon moi dans l'étude de la prévention de l'épilepsie, à savoir le processus qui conduit à son développement, l'épileptogenèse, et dont l'étude a constitué cette thèse.**

## D. L'Épileptogenèse

L'étude de l'épileptogenèse dans les modèles expérimentaux (Pitkänen et al., 2007) est cruciale puisque cette période est inaccessible chez l'Homme et vise (i) à contribuer à identifier les patients à risque et (ii) à prévenir et/ou modifier les processus épileptogènes afin d'éviter le déclenchement de l'épilepsie proprement dite. Or cette période a été très peu étudiée, notamment *in vivo*.

### 1. Définition et caractéristiques

Le terme « épileptogenèse » désigne la période post-SE précédant l'épilepsie, pendant laquelle se mettent déjà en place les processus qui vont aboutir au déclenchement de l'épilepsie (apparition de crises récurrentes et spontanées). En effet, se développent dès lors des réorganisations fonctionnelles, notamment au niveau de l'hippocampe, comme on le verra dans le paragraphe suivant.

Cette période comporte **deux stades**, caractérisés *in vitro* (El Hassar et al., 2007a): (i) un stade « précoce », de 3 à 5 jours après le développement du SE, caractérisé par une diminution du ratio de la transmission glutamatergique par rapport à la transmission globale (i.e. glutamatergique et GABAergique) reçue par les cellules pyramidales de CA1, et (ii) un stade « tardif », de 7 à 10 jours après le SE, caractérisé quant à lui par une augmentation de ce même ratio. Quant à la transmission GABAergique, elle reste inchangée au niveau des somas, mais est diminuée au niveau des dendrites des cellules pyramidales. De plus, cette étude confirme que l'hyperexcitabilité est présente dès le stade précoce de l'épileptogenèse, mais qu'elle n'est pas suffisante à elle seule pour générer des crises (El Hassar, 2007b). Sur le plan électrophysiologique *in vivo*, cette étude a mis en évidence la présence d'activité interictale dès le stade précoce de l'épileptogenèse.

Bien que l'épileptogenèse doit, par définition, avoir lieu pendant la période de latence, elle pourrait également continuer après la première crise spontanée, et progressivement augmenter la probabilité (et ainsi la fréquence) des crises récurrentes et spontanées (Williams et al., 2009). De ce point de vue là, l'apparition de la première crise spontanée ne serait pas une finalité en soi de l'épileptogenèse, mais peut-être simplement un marqueur parmi d'autres de l'évolution d'un réseau pathologique.

## 2. Réorganisations fonctionnelles

On note une réorganisation synaptique des systèmes excitateurs, avec la formation de nouvelles synapses excitatrices, chez l'Homme et chez l'animal (Sutula & Dudek, 2007 ; Sutula et al., 1998) et un bourgeonnement des fibres moussues, à l'origine de nouvelles connexions excitatrices et d'une potentialisation synaptique glutamatergique. Il y a également une réorganisation synaptique des systèmes inhibiteurs, avec un bourgeonnement des fibres moussues sur les IN inhibiteurs, une perte sélective des IN à somatostatine, une diminution de l'inhibition dendritique et un bourgeonnement axonal des IN GABAergiques contenant le neuropeptide Y. La réorganisation synaptique de ces deux systèmes ainsi que l'augmentation de facteurs de transcription et de gènes du cytosquelette induisent une plasticité synaptique aberrante, laquelle conduit à une réorganisation du système glutamatergique et GABAergique (Houser, 1999), et des changements dans la composition en sous-unités des récepteurs, comme au sein du GD, où une excitation récurrente –aberrante- s'est formée, à l'origine d'un réseau hyperexcitable susceptible de déclencher des crises spontanées. Les collatérales axonales des cellules pyramidales de CA1 bourgeonnent aussi dans le *stratum oriens* et pénètrent dans le *stratum radiatum*, région qui normalement n'est pas innervée par ces collatérales dans le tissu sain (Esclapez et al., 1999). Le bourgeonnement progressif induit par les crises du modèle du « kindling » a montré que seules quelques crises répétées suffisent à altérer la connectivité et l'organisation de la circuiterie (Sutula & Dudek, 2007).

Au cours de l'épileptogénèse, le rôle du bourgeonnement des fibres moussues au sein de la couche moléculaire interne du GD est controversé : s'il est présent et abondant, il semble être fortement associé au développement d'une épilepsie progressive après un SE limbique (Gorter et al., 2001), tout comme la perte des cellules du hile, facteur décrit comme crucial dans le devenir post-SE (Gorter et al., 2001). La présence d'une sclérose des champs ammoniens de l'hippocampe, la perte cellulaire et la réorganisation synaptique qui en découlent, contribueraient à l'épileptogénèse (Houser et al., 1990 ; Mikkonen et al., 1998 ; Arellano et al., *Brain*, 2004).

## 3. Hypothèses concernant sa mise en place

Deux hypothèses clés sur l'ELT ont été d'une part que l'épileptogénèse serait due à une réduction de l'inhibition GABAergique et, d'autre part, que cette réduction d'inhibition émanerait de la mort des IN GABAergiques (Dudek & Shao, 2003; revue Dudek & Sutula, 2007). Cependant, la sclérose temporale méssiale résulterait en premier d'une perte des

cellules glutamatergiques principales (Liu et al., 1994) plutôt que d'une perte des IN GABAergiques. De plus, bien que plusieurs études chez l'animal aient prouvé l'évidence d'une diminution de l'inhibition GABAergique dans plusieurs aires corticales, d'autres en revanche ont également montré que parfois il n'y avait pas de changement ou même plutôt une augmentation de l'inhibition GABAergique lors des différents stades de l'épileptogénèse (Bernard et al., 1998 ; Esclapez et al., 1997). D'autres encore montrent que l'inhibition GABAergique altérée émanerait d'autres mécanismes que la perte neuronale. Il a été récemment proposé que quelques épisodes de type ictal suffiraient à provoquer des modifications rapides et durables de l'équilibre excitation/inhibition au niveau des réseaux hippocampiques, et contribuerait, par conséquent, au processus progressif d'épileptogénèse (*Lopantsev et al., 2009 ; Dudek, 2009*).

**L'épileptogénèse est par conséquent une période clé à explorer dans le but de chercher à prévenir l'ELT, et à agir au niveau thérapeutique pour empêcher le développement de l'épilepsie chronique. Pour terminer ce troisième chapitre, un schéma récapitulatif sur l'ELT (condition initiale, phase aigüe, phase de latence, stade chronique) est proposé, à différents stades de la maladie (Figure 61).**

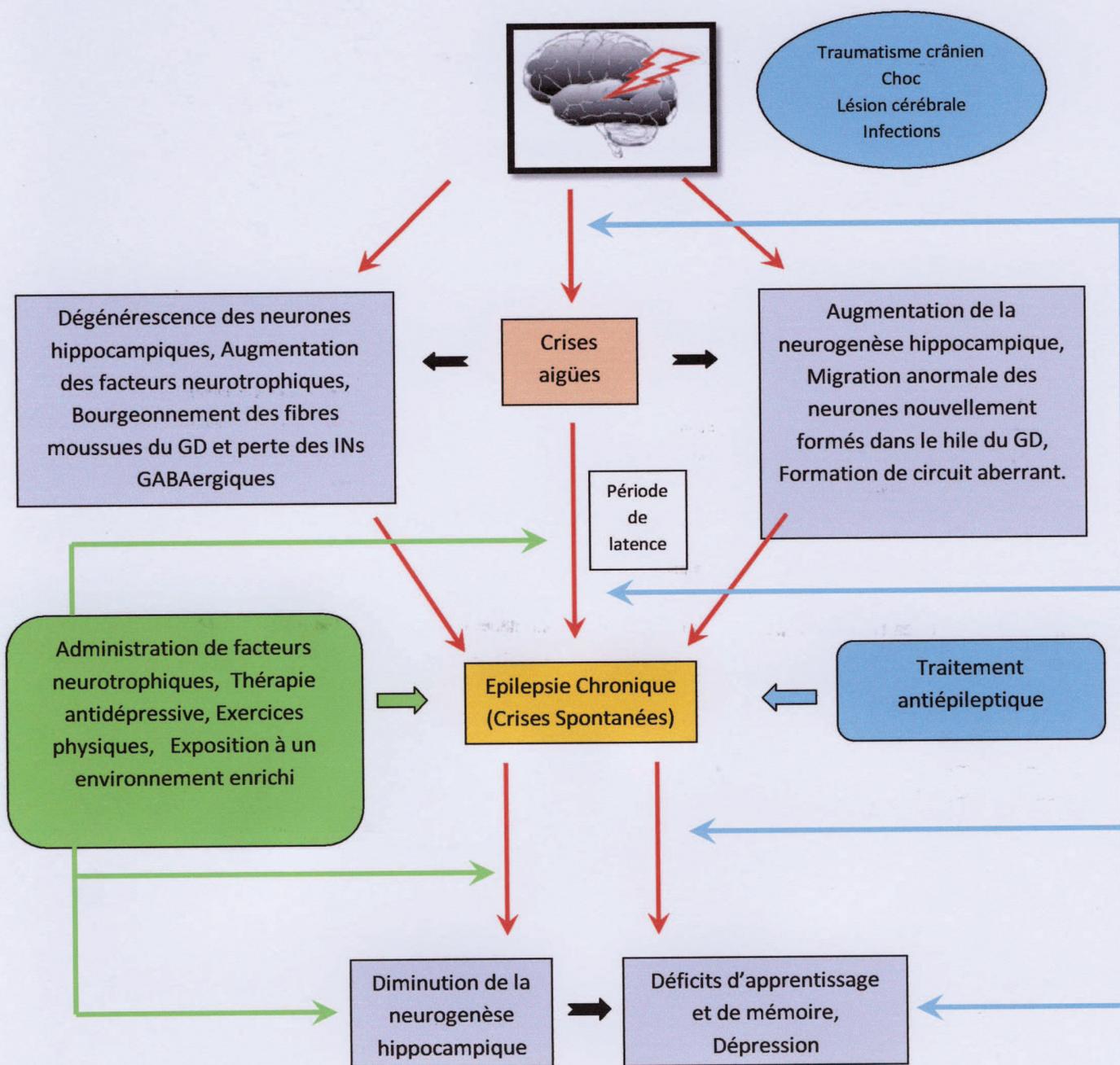


Figure 61

Figure 61. Schéma récapitulatif qui montre qu'à partir d'une lésion initiale se met en place à différents niveaux (morphologiques, cognitifs, activités de réseau) le processus d'épileptogénèse. Le schéma propose également des stratégies, à différents stades de la maladie (tiré de Pitkanen et al., 2007).

# **Chapitre IV.**

## **Déficits cognitifs et altérations électrophysiologiques de réseau au cours de l'épileptogenèse et de l'épilepsie**

### **1. Contexte scientifique**

Le contexte d'étude dans lequel s'est inscrit mon projet de thèse a été l'observation, lors d'études préliminaires *in vivo* réalisées par Mathieu Milh, doctorant à l'INMED, d'une diminution de la fréquence et de la puissance du rythme thêta chez des animaux chroniques, i.e. épileptiques (modèle pilocarpine), et de l'apparition d'activité interictale tôt après le SE, i.e. au stade précoce de l'épileptogenèse (El-Hassar et al., 2007a). Des études préalables de lésions de structures temporales comme l'hippocampe, le septum, le CE (cf. chapitre II.A) ont montré également que ces dernières induisaient une perte significative du rythme thêta. Ces lésions sont également à l'origine de déficits cognitifs (cf. chapitre II.B), déficits cognitifs dont se plaignent souvent les patients ELT entre leurs crises. Ainsi, à partir de ces résultats, mon projet de thèse a consisté à étudier les relations entre le rythme thêta, les déficits cognitifs et l'activité interictale, de manière originale, au cours de l'épileptogenèse.

### **2. Mon projet de thèse**

La première partie de ma thèse a consisté en la mise au point de la technique d'électrophysiologie *in vivo* au laboratoire et d'un test cognitif de réaction à la nouveauté. Ensuite, je suis allée me former quelques jours à Strasbourg, dans l'équipe d'A. Nehlig, pour apprendre la technique d'implantation d'électrodes, puis j'ai eu l'opportunité d'aller présenter mes résultats préliminaires dans le laboratoire du Pr G. Buzsaki, à Newark. Tout ceci m'a pris un an et 4 mois, avant d'acquérir mes premières données qui ont servi à ma première étude (Article 1).

Ensuite, mon projet a consisté à caractériser l'épileptogenèse, sur le plan électrophysiologique et cognitif, au sein du modèle pilocarpine de l'ELT, dans le but d'essayer de mettre en évidence des marqueurs de cette période. Les seuls enregistrements

EEG qui étaient rapporté dans les études avaient été réalisés uniquement dans le but de s'assurer que les animaux évalués sur le plan cognitif présentaient (période chronique) ou non (phase de latence) un profil de crises récurrentes et spontanées. En effet, il avait été uniquement démontré que les animaux ayant développé un SE suite à l'injection de pilocarpine présentaient des déficits cognitifs, de type spatial notamment, dès le stade épiléptogène, puis au stade chronique, dans des tests classiques comme la piscine de Morris ou le labyrinthe radial à huit bras (Rice et al., 1998 ; Dos Santos et al., 1998 ; Hort et al., 1999 ; cf. chapitre II.B).

La caractérisation de l'épileptogénèse a consisté, dans la première étude de ma thèse, à évaluer les déficits cognitifs (mémoire spatiale, dépendante de l'hippocampe, versus non spatiale, indépendante de l'hippocampe), le rythme thêta hippocampique, très impliqué dans les processus cognitifs, et l'activité de décharges interictales, présente chez les patients ELT entre leurs crises et qui avait été mise en évidence au préalable au laboratoire (El Hassar, et al., 2007b). L'évaluation des déficits cognitifs a été étudiée grâce à un paradigme original de réaction à la nouveauté, développé par Berlyne, en 1950, puis adapté par le Dr C. Thinus-Blanc et collaborateurs, en 1996 (cf. chapitre II.B), paradigme qui permet de discriminer les performances de mémoire spatiale et non spatiale lors de deux tests successifs. Cette étude a fait l'objet d'un article dans *Journal of Neuroscience*, et sera présentée dans la partie 2. En parallèle, au laboratoire, des études menées *in vitro* venaient de mettre en évidence une défaillance progressive de la résonance thêta au niveau des dendrites des cellules pyramidales de CA1 (déficit du courant  $I_h$ ). Ma collaboration à ce projet se justifiait par l'apport de données complémentaires *in vivo*, afin de montrer qu'un tel déficit du courant  $I_h$  était associé à un déficit des oscillations thêta *in vivo* et pourrait ainsi être l'un des mécanismes sous-tendant l'altération du rythme thêta que je venais d'observer, au cours de l'épileptogénèse. Cet article est présenté en annexe et sera brièvement discuté.

Après avoir caractérisé le rythme thêta, l'activité interictale, la mémoire spatiale et non-spatiale au cours de l'épileptogénèse, et cherché à corréler les deux premières activités par rapport aux performances spatiales, la suite logique de mon projet était de regarder l'effet de l'activité interictale sur le rythme thêta à différents stades de l'épileptogénèse et de l'épilepsie (partie 3).

À l'issue de ces premières études, je me suis rendue compte que deux types de pointes ressortaient de l'observation de mes signaux EEG hippocampiques, types de pointes qui pouvaient coexister, apparaître à la suite l'un de l'autre ou de manière indépendante, à différents stades de l'ELT. Pour ne pas compliquer la présentation de ma première étude

(Article 1), j'ai utilisé le terme d'activité interictale sans en spécifier les différents types. Cependant, il me semblait très intéressant de décrire et de quantifier la dynamique de ces deux patrons d'activité qui pouvait être selon moi informative de l'état du réseau dans une étude à part, qui fait l'objet de la partie 6.

Ensuite, dans le but de mieux caractériser le modèle sur le plan de l'activité ictale, j'ai enregistré en continu (24h/24, 7j/7), à partir du déclenchement de leur SE, des rats pilocarpine implantés à la fois dans l'hippocampe et le CE, en quantifiant (1) le jour d'apparition après injection de leur première crise, (2) la fréquence quotidienne de leurs crises, (3) l'évolution de cette fréquence et (4) l'atteinte de la « fréquence plateau », si elle existe (*Williams et al., 2009*, modèle KA). Au vu des résultats (partie 4) sur les différents types de profils critiques et l'implication des deux structures enregistrées, j'ai cherché à mieux caractériser ces deux grandes périodes, l'épileptogénèse et l'épilepsie, dont les limites temporelles restent encore floues à l'heure actuelle, par l'étude du couplage et du flux de l'information entre l'hippocampe et le CE lors des périodes interictales (*Bartolomei et al., 2004*), dans le modèle pilocarpine.

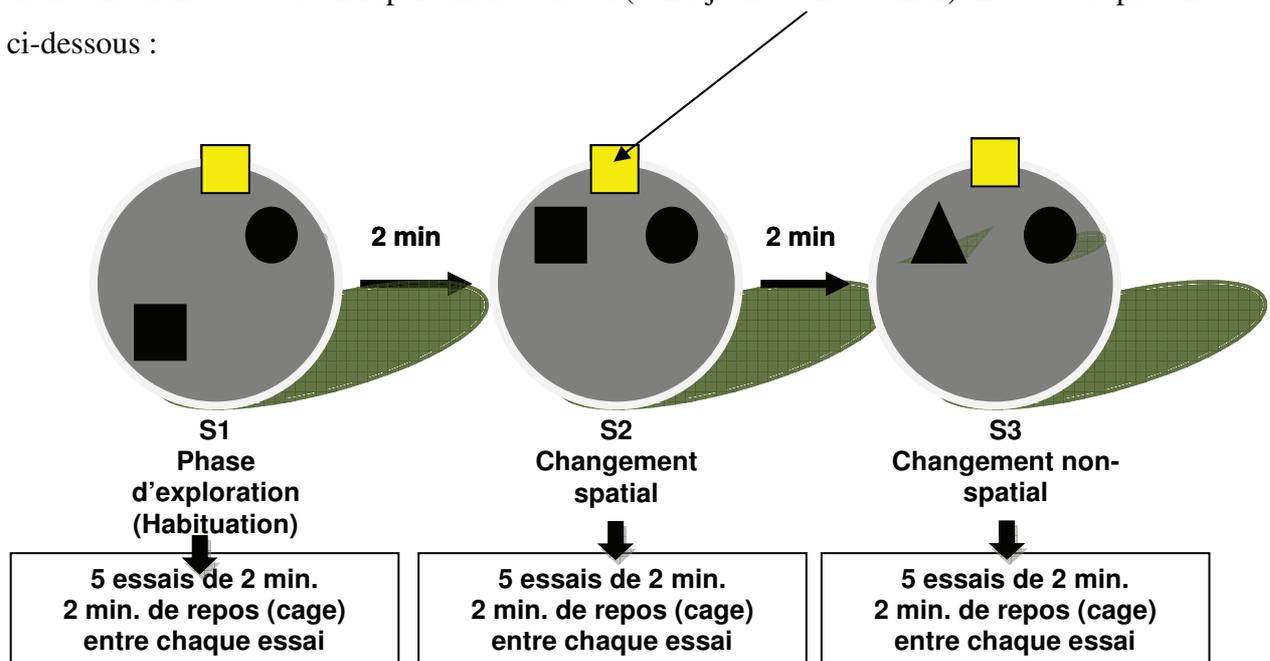
Ainsi, après un premier projet extracellulaire visant à obtenir, à l'échelle macroscopique, des résultats préliminaires pour caractériser l'épileptogénèse sur le plan cognitif, rythmique et pathologique, puis à comprendre l'organisation de ces différents marqueurs entre eux, à l'échelle d'une, voire deux structures (hippocampe / CE), la mise en place d'un deuxième projet, plus précis, et à l'échelle d'un véritable réseau temporel, se justifiait pour essayer de comprendre comment, au sein de ce réseau, impliqué à la fois dans la genèse du rythme thêta, les processus de mémoire spatiale, non spatiale, et dans l'ELT, les structures se « parlent » entre elles, dans la genèse d'oscillations rythmiques pour un comportement ou un état cognitif donné, en conditions normales versus pathologiques.

# A. Partie macroscopique

## 1. Etudes préliminaires de mise en place puis de mise au point au laboratoire :

- 1.1. Test permettant de discriminer simplement et rapidement la mémoire à court-terme et ses composantes spatiales et non-spatiales : le paradigme de détection de la nouveauté

Avant de commencer les expériences proprement dites pour répondre aux différentes questions qui constituent mon projet de thèse, j'ai dû tout d'abord installer, puis mettre au point, au laboratoire, le paradigme expérimental (*Poucet et al., 1986*) qui servirait à mettre en évidence les performances cognitives -hippocampe-dépendantes, i.e. spatiales, et non hippocampe-dépendantes, non spatiales- des différents groupes d'animaux (groupe contrôle et groupe expérimental) testés. Ce paradigme nécessitait, pour que les animaux présentent un regain d'intérêt pour la nouveauté (changement spatial ou non-spatial), qu'ils se soient d'abord habitués à l'environnement vide dans lequel aurait lieu le test, puis aux objets, avant de modifier les composantes, spatiales ou non-spatiales. L'habituation à l'environnement vide se faisait pendant l'heure précédant le test. L'environnement est une arène circulaire dotée d'un repère/indice visuel (carré jaune collé au mur). Le test est présenté ci-dessous :



Les tests préliminaires consistaient donc à définir :

-le nombre d'essais nécessaires pour mesurer la composante « habituation », i.e. le nombre d'essais nécessaires pour que le temps passé à explorer les objets au cours des essais soit significativement diminué (notamment chez les animaux contrôles): il fallait trouver le bon compromis entre la diminution d'exploration (habituation, test S1) et le fait que l'animal ne soit pas lassé et inactif lors des essais suivants (réaction au changement spatial (test S2) et non-spatial (test S3))

-les objets à utiliser (couleurs, matière, type,...)

-l'éclairage de la pièce, de l'environnement de test,

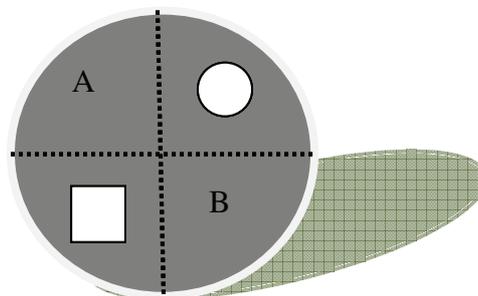
-si les animaux ne présentaient pas une préférence pour un quadrant de l'environnement (arène circulaire) en particulier, ou pour un objet en particulier.

-si les rats de souche Wistar, connus pour être plus résistants au SE que les rats de souche Long-Evans, étaient aussi performants que ces derniers, réputés pour être meilleurs que les rats Wistar dans des tâches cognitives.

Les résultats de ces études préliminaires ont abouti aux conclusions suivantes :

- le bon compromis pour le nombre d'essais par test, notamment pour la première phase d'habituation (phase S1), est de **5 essais de 2 minutes pour chaque test, avec 2 minutes de repos entre chaque essai**, où l'animal est remis dans sa cage ; en effet, en commençant par des tests de 3 essais, les animaux (contrôles et latents) ne présentaient pas d'habituation aux deux objets, comme montré ci-dessous (graphiques A et B),

avec :

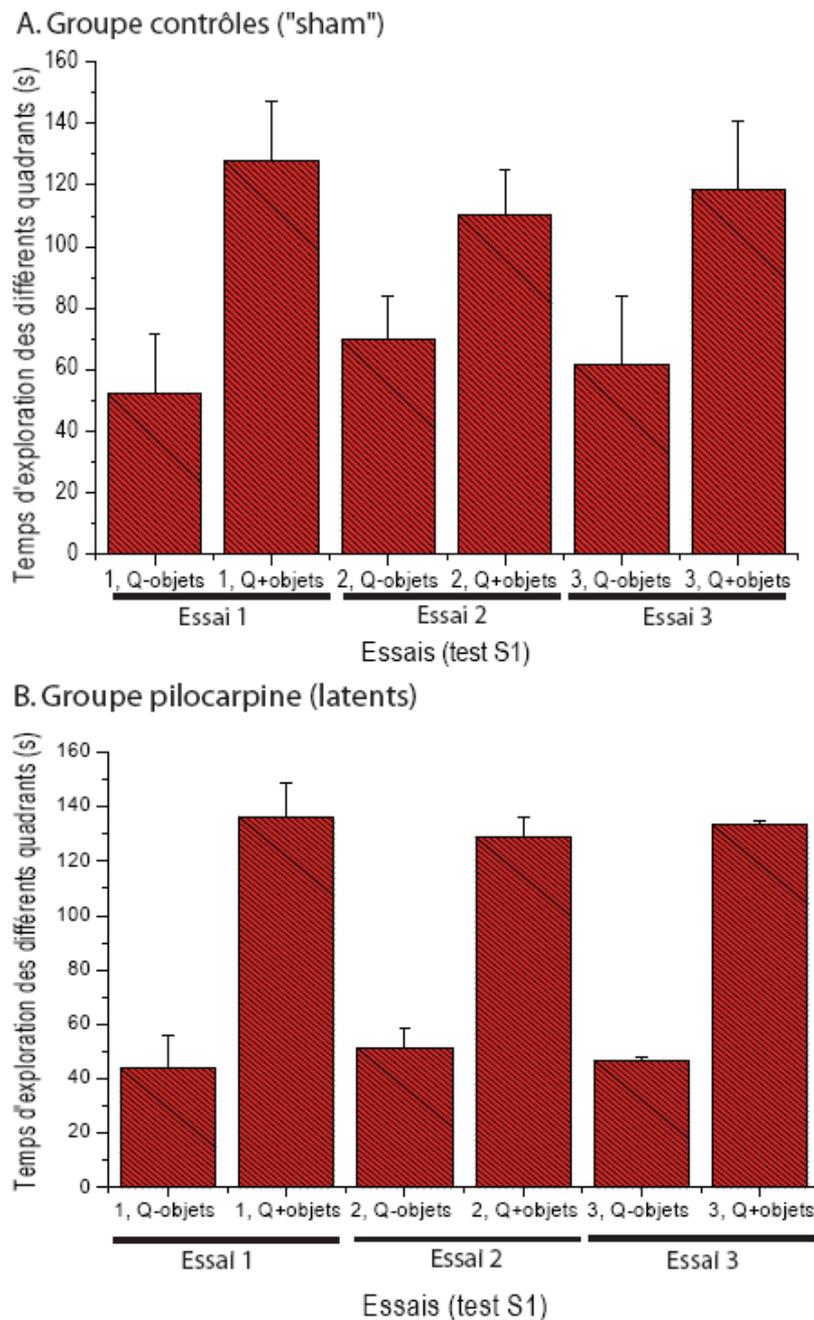


#### Environnement de test (test S1)

avec : - A et B : les quadrants de l'environnement de test sans objets

- les deux autres quadrants : quadrants de l'environnement de test avec objets

(Dans tout le chapitre, nous parlerons de **rats « SE »**, ou « traités », ou encore « pilocarpine », pour évoquer les rats ayant développé un SE suite à l'injection de pilocarpine, i.e. allant développé de l'épilepsie (stade épileptogène, aussi appelés « latents » dans ce cas-ci) ou déjà épileptiques (stade chronique, appelés aussi « chroniques » dans ce cas-là), versus « **non-SE** », i.e. n'ayant pas déclenché de SE suite à l'injection de pilocarpine et qui représentent les véritables contrôles (cf. Article 1, étude suivante), au même titre que les rats n'ayant pas reçu l'injection de pilocarpine mais une solution saline à la place (rats « sham »). Ainsi, les rats non-SE et les rats « sham » appartiennent au groupe des animaux contrôles).



**Histogrammes présentant le temps passé (s) au cours des 3 essais du test S1, dans les quadrants avec (« Q+objets ») ou sans objets (« Q-objets »), A. chez les animaux contrôles (n=7) et B. chez les animaux latents (stade épileptogène, n=4).**

Au vu de ces résultats, il était donc nécessaire de rajouter des essais, afin de faire ressortir le phénomène d'habituation au moins chez les animaux contrôles, pour pouvoir ensuite interpréter correctement les réactions au test spatial (S2) et non-spatial (S3) qui suivent. 25 essais, puis 15 puis 10 pour le test S1 ont été essayés, à la fois chez des animaux contrôles et expérimentaux : les résultats montraient (i) que ces nombres d'essais étaient trop importants pour les animaux contrôles, impliquant un test trop long, par conséquent, les animaux auraient pu ne pas réagir à la nouveauté en raison de lassitude au test ; (ii) que les animaux chroniques présentaient quand même un phénomène d'habituation au bout de 15 essais, contrairement à 5 essais pour les animaux contrôles.

Ainsi le bon compromis a été de choisir 5 essais de 2 minutes (cf. Article 1).

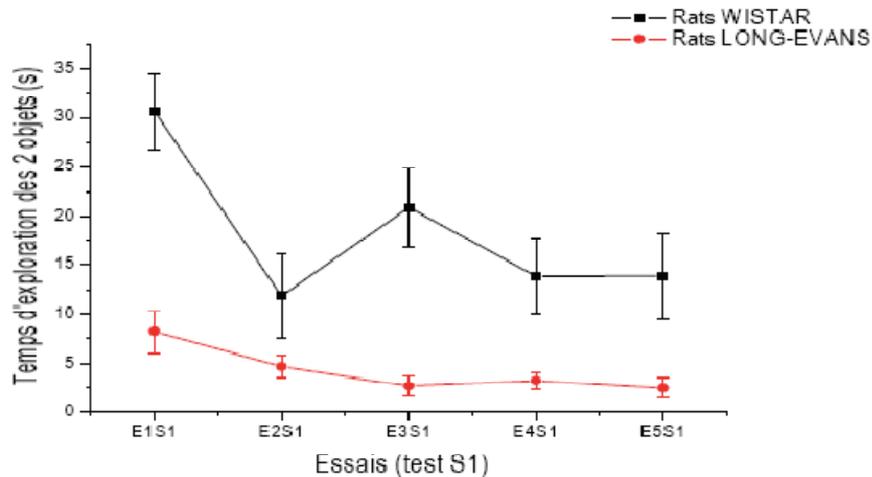
- au sein des groupes « quadrants avec objets » et « quadrants sans objets », ces animaux (contrôles et latents) ne présentaient pas de préférence pour un quadrant particulier, si ce n'est pour les quadrants avec objets comparés aux quadrants sans objets, ce qui confirmait dès les premières séries d'animaux que le paradigme donnait des résultats attendus. Les animaux ne présentaient pas non plus de préférence pour un objet en particulier (de nombreux essais préliminaires furent réalisés pour s'en assurer, que ce soit concernant les quadrants et les objets, afin d'être sûr de ne pas biaiser l'interprétation des résultats).

-les objets utilisés seraient de couleur foncée (gris/noir) -puisque de toute façon les rats ne distinguent pas les couleurs mais les contrastes-, assez lourds pour que l'animal ne puisse pas les déplacer en les explorant, et de formes différentes (cylindre, cube, pyramide).

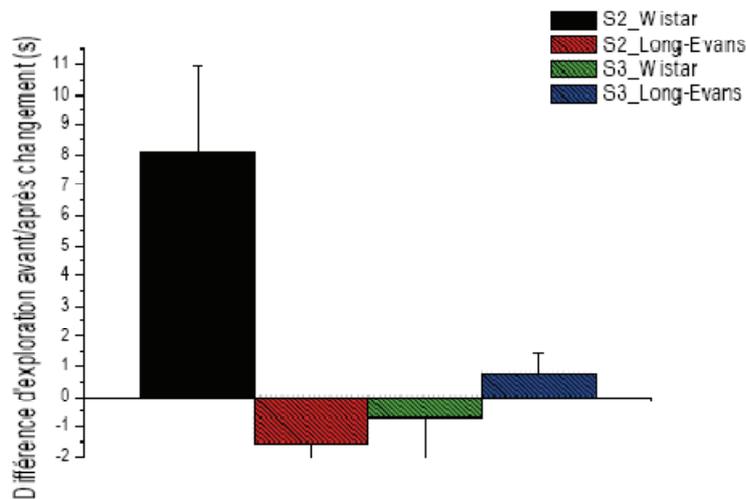
-l'éclairage de la pièce devait être assez faible, pas dirigé directement vers l'arène circulaire, mais plutôt indirect (spots), et surtout homogène (i.e. le sol de l'arène de test devait être éclairée en tous points pareil),

-les rats de souche Wistar n'étaient pas moins performants que les rats Long-Evans pour les trois tests (S1, phase d'habituation ; S2, mémoire spatiale ; S3, mémoire non-spatiale) comme les résultats ci-dessous le montrent :

### A. Phase d'habituation aux deux objets (test S1)



### B. Réaction à la nouveauté. Déplacement d'objet (test S2) et au remplacement (test S3)



**A. Comparaison des courbes d'habituation de rats contrôles de souche Wistar (n=18) versus Long-Evans (n=10) aux 5 essais du test S1 ; B. Histogrammes présentant la différence de temps passé à (i) explorer l'objet après (E1S2) versus avant (E5S1) déplacement (gauche), (ii) explorer l'objet après (E1S3) versus avant (E5S2) remplacement (droite) pour les 2 souches de rats (avec E1, E2, E3, E4, E5, les 5 essais pour chaque test (S1, S2, S3); cf. Article 1).**

La phase d'habituation présentée par les rats Long-Evans est relativement nette, mais moins prononcée que celle des rats Wistar. Il en va de même pour la réaction au déplacement et au remplacement (la performance des rats Wistar au test S3, avec une grande variabilité, est discutée dans l'article 1). Ainsi, vu que les rats Wistar sont connus pour être plus résistants à la pilocarpine, j'ai conservé cette souche de rats qui donnait des résultats significatifs à ces tests cognitifs.

Ainsi, cette étape préliminaire de mise au point du test cognitif a permis de mettre en évidence des résultats concluants (i) quant à l'intérêt des rats contrôles (souche Wistar) pour ce test (i.e. exploration des objets et réaction au changement), (ii) quant à l'observation de déficits cognitifs chez les rats SE, déficits préalablement décrits au cours de l'épileptogénèse et du stade chronique dans des tests plus classiques comme la piscine de Morris.

## 1.2. Interface électrophysiologique *in vivo*

Dès mon arrivée au laboratoire, après avoir appris la technique *in vitro* de « patch clamp », je me suis très vite orientée vers un projet plus intégré à l'échelle de l'animal entier, l'électrophysiologie *in vivo*, qui correspondait mieux à la thématique sur laquelle je souhaitais travailler au cours de ma thèse, d'où les essais préliminaires sur le test cognitif puisque la thématique *in vivo* s'orientait vers un projet basé sur la cognition. Cependant, le laboratoire, et en particulier l'équipe que j'ai intégrée à Marseille, était spécialiste de l'électrophysiologie *in vitro*, mais pas *in vivo*, ce qui m'a valu une longue et difficile période de mise en place de cette technique d'enregistrement au laboratoire, vu que ce dernier était exclusivement doté de matériel et de postes d'enregistrement *in vitro*.

Ainsi, il a fallu que je monte par moi-même mon propre poste *in vivo*, et que j'apprenne à confectionner les électrodes et toute la connectique permettant d'enregistrer les animaux à partir d'une électrode bipolaire dans l'hippocampe puis, plus tardivement, dans le CE. Pour cela, je suis allée me former dans le laboratoire d'A. Nehlig (3 jours), à Strasbourg, où l'on m'a appris à confectionner les électrodes bipolaires et à les implanter au sein de l'hippocampe. Pour le reste (connectique), j'ai dû apprendre par moi-même.

À partir de là s'est mise en place une période très fastidieuse d'essais techniques, d'entraînement à la chirurgie, de multiples tests de la connectique en vue d'obtenir la configuration la plus adaptée, i.e. la moins génératrice de bruit, afin de recueillir le meilleur signal hippocampique possible (meilleur rapport signal/bruit), dépendant de la qualité de la connectique au moment de la chirurgie (qualité des soudures, etc.) et de celle reliant l'animal au système d'acquisition (Deltamed, Paris, France). Au bout d'un mois, j'ai obtenu des enregistrements préliminaires à la fois chez l'animal contrôle, latent et épileptique, résultats que je suis allée présenter au Pr Buzsaki et aux membres de son équipe (Newark, USA). À mon retour, je suis allée présenter mes résultats au Pr Bartolomei qui m'a confirmé la concordance des évènements paroxystiques observés sur mes EEG avec ceux des patients ELT, i.e. la présence d'activité interictale chez mes animaux latents et chroniques. À partir de

là, j'ai pu commencer ma série d'enregistrements afin de répondre à la première question de ma thèse, que je vais présenter maintenant.

Cependant, auparavant, j'aimerais souligner qu'un des facteurs limitant de ce projet a été que les rats injectés à la pilocarpine étaient très nerveux, très agressifs, ce qui rendait très difficile leur connexion EEG : en effet, je devais maintenir les animaux de manière assez forte pour les connecter au système d'enregistrement. Les animaux devaient par conséquent ressentir un stress important avant l'expérience, et ressentir le stress de l'expérimentateur. Heureusement, avant le test cognitif, les animaux restaient enregistrés une heure dans l'environnement vide (sans objets), où ils récupéraient très rapidement du stress post-connexion (ils restaient rarement prostrés, inactifs, plus de 5 minutes). Il est également arrivé que les animaux se déconnectent complètement lors de cette manipulation délicate de connexion.

## 2. Corrélations entre les déficits de mémoire spatiale et l'altération du rythme thêta dès le stade précoce de l'épileptogenèse

### **Article 1: Early deficits in spatial memory and theta rhythm in experimental temporal lobe epilepsy**

*(Chauvière et al., 2009)*

Il a été décrit, dès l'épileptogenèse, des déficits de mémoire spatiale, notamment dans des tests comme la piscine de Morris, ou encore le labyrinthe radial à huit bras (Hort et al., 1999 ; Rice et al., 1998; Liu et al., 2003; Dos Santos et al., 2005). Cependant, aucune étude électrophysiologique n'avait été faite *in vivo* sur les rythmes et activités paroxystiques qui pourraient accompagner de tels déficits.

Mon premier projet d'enregistrements extracellulaires à l'aide d'une électrode de champ (300  $\mu$ m) dans la région CA1 de l'hippocampe avait donc pour but de mettre en évidence, dès le stade précoce de l'épileptogenèse, et au cours de l'épilepsie, des marqueurs potentiels d'épileptogénicité qui pourraient ou non corrélérer avec les déficits cognitifs. Cette étude originale présente l'avantage d'être longitudinale (chaque animal est son propre contrôle).

Cette étude montre que dès le stade précoce de l'épileptogenèse (4 jours après SE), il y a déjà des déficits de mémoire spatiale (hippocampe-dépendants) mais pas de déficits de mémoire non spatiale (hippocampe-indépendants), une altération du rythme thêta, en puissance et en fréquence, lors des comportements d'exploration de l'animal dans un environnement, mais également une diminution de la puissance de ce rythme lors du test spatial (la fréquence n'avait pas pu être analysée en raison d'une trop grande variabilité interindividuelle) corrélée aux déficits spatiaux. L'activité interictale, présente chez les animaux injectés à la pilocarpine et ayant développé un SE, n'interfère pas directement avec les déficits cognitifs spatiaux puisqu'il n'existe aucune corrélation entre ces deux variables.

**Ces anomalies électrophysiologiques et cognitives, observées dès 4 jours post-SE, persistent sans modification tout au long de l'épileptogenèse et au stade chronique et pourraient ainsi constituer des marqueurs prédictifs de l'épileptogenèse.**

# Early Deficits in Spatial Memory and Theta Rhythm in Experimental Temporal Lobe Epilepsy

Laetitia Chauvière,<sup>1</sup> Nadia Rafrafi,<sup>1</sup> Catherine Thinus-Blanc,<sup>1</sup> Fabrice Bartolomei,<sup>1,2</sup> Monique Esclapez,<sup>1</sup> and Christophe Bernard<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Inserm–U751, Université de la Méditerranée, 13005 Marseille, France, and <sup>2</sup>Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille Hôpital La Timone, 13005 Marseille, France

Patients with temporal lobe epilepsy (TLE), the most common form of epilepsy in adults, often display cognitive deficits. The time course and underlying mechanisms of cognitive decline remain unknown during epileptogenesis (the process leading to epilepsy). Using the rat pilocarpine model of TLE, we performed a longitudinal study to assess spatial and nonspatial cognitive performance during epileptogenesis. In parallel, we monitored interictal-like activity (ILA) in the hippocampal CA1 region, as well as theta oscillations, a brain rhythm central to numerous cognitive processes. Here, we report that spatial memory was altered soon after pilocarpine-induced status epilepticus, i.e., already during the seizure-free, latent period. Spatial deficits correlated with a decrease in the power of theta oscillations but not with the frequency of ILA. Spatial deficits persisted when animals had spontaneous seizures (chronic stage) without further modification. In contrast, nonspatial memory performances remained unaffected throughout. We conclude that the reorganization of hippocampal circuitry that immediately follows the initial insult can affect theta oscillation mechanisms, in turn, resulting in deficits in hippocampus-dependent memory tasks. These deficits may be dissociated from the process that leads to epilepsy itself but could instead constitute, as ILA, early markers in at-risk patients and/or provide beneficial therapeutic targets.

## Introduction

Cognitive deficits remain a major complaint in temporal lobe epilepsy (TLE), the most common form of partial epilepsy in adults (Engel et al., 2007). The origin of cognitive comorbidity remains widely unknown. Many contributing factors have been proposed (Cornaggia et al., 2006), including seizures themselves (Aldenkamp and Arends, 2004; Majak and Pitkanen, 2004; Marques et al., 2007), the abnormal electrical activities that occur between seizures (Aldenkamp and Arends, 2004), antiepileptic drugs (Meador, 2006), and the reorganization of the underlying neuronal circuitry (Morimoto et al., 2004). Seizures and the interictal activity (IA) that consistently occurs between seizures could negatively impact upon cognitive function, via saturation of long-term synaptic plasticity and interference with memory consolidation (Lopes da Silva et al., 1986; Kotloski et al., 2002; Aldenkamp and Arends, 2004; Majak and Pitkanen, 2004; Holmes and Lenck-Santini, 2006; Meador, 2007; Butler and Zeman, 2008).

Experimental models of TLE display a seizure-free (latent) period after an initial insult (Herman, 2002; White, 2002; Engel et

al., 2007). The initial insult triggers a chain of network alterations which evolve temporally and spatially during epileptogenesis (Herman, 2002; El-Hassar et al., 2007). Hippocampal networks are hyperexcitable already during the latent period (El-Hassar et al., 2007), and EEG displays interictal-like activity (ILA), similar to the IA measured between seizures (Staley et al., 2005; El-Hassar et al., 2007). Classical tests demonstrate spatial memory deficits already during the latent period (Rice et al., 1998; Hort et al., 1999; Dos Santos et al., 2005). The first goal of this study was to determine the time course of cognitive deficits during epileptogenesis. We also wished to determine whether nonspatial hippocampal-independent memory was preserved to verify the specificity of cognitive alterations. For that purpose, we used a modification of the “novel object exploration” test (Berlyne, 1950). When a feature of a previously explored environment is modified, animals display a renewal of exploratory activity selectively directed toward the unfamiliar feature. In this test, previously stored spatial and nonspatial information serves as a reference for novelty detection. Rats with hippocampal lesions display spatial, but not nonspatial, memory deficits (Save et al., 1992a). This paradigm is thus suitable to dissociate treatments which selectively affect spatial or nonspatial memory.

The second goal of this study was to correlate cognitive alterations with ILA and theta rhythm (4–12 Hz), which plays a key role in cognitive processes in both humans (Kahana et al., 1999) and rodents (Buzsaki, 2006). Since decreased and increased theta activity correlate with cognitive deficit and improvement, respectively (Kinney et al., 1999; Nolan et al., 2004; McNaughton et al., 2006), compromised theta activity during epileptogenesis could be an important contributing factor for cognitive dysfunction.

Received Sept. 30, 2008; revised Feb. 23, 2009; accepted Feb. 27, 2009.

This work was supported by Inserm and Agence Nationale de la Recherche ANTARES. L.C. has a Fondation pour la Recherche Médicale fellowship. We thank C. Silva and M.-P. Nesa for assistance with histological experiments, Astrid Nehlig for training L.C. with depth EEG recordings, M. Milh for making the first measurements of theta activity during epileptogenesis, and D. Turner and C. Flynn for critically reading this manuscript.

Correspondence should be addressed to Laetitia Chauvière, Inserm–U751, Université de la Méditerranée, 27, Boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France. E-mail: laetitia.chauviere@univmed.fr.

C. Thinus-Blanc's present address: UMR 6146, CNRS, Université de Provence, 3, place Victor Hugo, 13331 Marseille, France.

DOI:10.1523/JNEUROSCI.4699-08.2009

Copyright © 2009 Society for Neuroscience 0270-6474/09/295402-09\$15.00/0

Using the pilocarpine model of TLE, we report an early and persistent deficit of spatial memory during epileptogenesis, whereas nonspatial memory remained unaffected. Decreased theta activity in the hippocampus correlated with cognitive deterioration, whereas interictal activity did not. We suggest that cognitive alterations may result from a decreased ability to generate adequate theta activity and that both alterations may constitute early markers of epileptogenesis in at-risk patients.

## Materials and Methods

**Animals.** All tests were performed during the light phase of the cycle on 18 adult male Wistar rats (200–250 g; Charles River).

**Electrode implantation.** Rats were anesthetized with ketamine (1 mg/kg)/xylazine (0.5 mg/kg) and placed in a stereotaxic apparatus. One bipolar steel electrode was implanted in the dorsal hippocampus (3.8 mm anteroposterior, 1.5 mm mediolaterally, and 3.0 mm dorsoventral from the bregma). Three stainless-steel cortical electrodes were screwed on the skull (two screws in the right and left frontal cortex, and the reference in the cerebellum).

**Treatment.** Twenty-five rats received intraperitoneal injections of pilocarpine hydrochloride (310 mg kg<sup>-1</sup>), 30 min after an intraperitoneal injection of scopolamine injection (1 mg/kg). Status epilepticus (SE) was stopped by diazepam (8 mg/kg) after 40 min. Eight animals displayed stage 5 seizures but did not develop SE (non-SE group). These animals did not become epileptic within 3 months, and their behavioral, cognitive, and EEG activities remained intact. They were included in the control group, which also included two sham-treated rats, which received saline injection instead of pilocarpine. All drugs were obtained from Sigma.

**In vivo depth EEG recordings.** Recordings were performed before (1 h), during, and after (1 h) the task (Deltamed). The same protocol was performed 4, 7, 10, 25, and 40 d after treatment for each rat. A video-system (Video Track; View Point) was used to quantify behavior during recording sessions. The first spontaneous seizure occurred between 12 and 16 d after SE. The 4, 7, and 10 d post-SE corresponds to latent period time points. At 25 and 40 d, animals were epileptic (chronic period). It is important to note that EEG monitoring during the induction procedure is critical. We noted that electrographic status epilepticus (continuous electrographic seizure, SE) started as soon as the first overt behavioral manifestation. After diazepam injection, most animals stopped any behavioral manifestation, but in 50% of the cases, electrographic and/or behavioral SE did not stop. We have performed continuous 24/24 h 7/7 d recordings after pilocarpine injection (seven animals). We noted that two animals displayed a strong SE after pilocarpine injection. By strong SE, we mean many stage 5 seizures before the development of SE and a strong behavioral activity during the SE. These animals displayed another seizure within 12 h (usually during the night). No other seizures were observed till the beginning of the chronic period. All animals that experienced SE after pilocarpine injection developed spontaneous seizures, which were electrophysiologically recorded and/or observed behaviorally ( $n = 19$ ).

**Behavioral testing.** An open field (80 cm in diameter, 80 cm high) was used, with a yellow cue card affixed on the wall. Lighting was directed to the ceiling to provide a homogeneous dim illumination of the open field. Before the task, the rat was put in the open field for 1 h to allow it to explore, first, the novel environment without any object. Exploration is crucial for spatial learning and considered as a necessary stage for gathering information of the surrounding environment and for building up a spatial representation of this new environment (Thinus-Blanc, 1996). The rat was then removed and replaced in its home cage during 10 min. The task consisted of three sessions. In the first session, two objects (a cylinder and a parallelepiped) were placed in the open field. The parallelepiped (10 cm of side, 7.0 cm of height) was considered as the reference object. The other object was a cylinder (7.0 cm of diameter and 7.0 cm of height). In the second session, the cylinder was displaced. In the third session, this object was removed and replaced by a triangular prism (7.0 cm of height, 14.0 × 10.0 cm of side). All three objects were made of light gray-colored plastic with a black top, and they were heavy enough to

prevent rats from moving them. They could not be distinguished by olfactory cues. Pilot studies (our unpublished data) showed that there were no preferences for either of the objects, or for their location in the open field. Each session consisted in five 2 min trials. Rats were placed in the field in pseudo-randomly determined locations from one session to the other. Between each trial and each session, there were 2 min of rest during which the rat was replaced in its home cage. Exploration of the objects was quantified by the Video Track system, which detects the nose of the animal in 2 cm zones around the objects.

**Data analysis.** Power spectrum was analyzed using a 512-point fast Fourier transform. For each exploration period, we obtained the absolute power and the median frequency of hippocampal theta rhythm (4–12 Hz) every 2 s (AMADEUS software). We used 200 × 2 s exploration periods for each rat. The movement artifacts and the periods of ILA discharges were manually removed of the analysis. The hippocampal EEG trace was filtered with a bandpass filter at 4–12 Hz to obtain the median frequency of theta rhythm each 2 s.

**Statistical analysis.** Behavioral data were analyzed using the Wilcoxon test, a nonparametric test that compares two paired samples (for the data before treatment, and for comparisons between the exploration of two objects for each group after treatment, for the three sessions), the unpaired Mann–Whitney test (for comparisons between the two groups, after treatment, for the three sessions), and the paired Friedman test (to measure the performances stability for each group all along the six testing days). We also used the Kruskal–Wallis test, a nonparametric test that compares many unpaired samples [for comparisons between the two groups for the first session (S1), all along the five trials]. The absolute power and frequency of theta rhythm was compared between experimental and control rats using a Student's *t* test for unpaired samples and a one-way ANOVA followed by Bonferroni's *post hoc* test. Spearman correlation was used to measure the correlation between cognition and theta rhythm power and between cognition and interictal-like activity. Data are expressed as mean ± SEM. The significance level was set at  $p < 0.05$ . Statistical analysis was performed using SPSS software.

**Histological experiments.** At the end of the electrophysiological experiments, 7–40 d after injections, all the rats were deeply anesthetized with ketamine (1 mg/kg)/xylazine (0.5 mg/kg) and perfused intracardially with a fixative solution containing 4% paraformaldehyde in 0.12 M sodium phosphate buffer (PB), pH 7.4. After perfusion, the brains were postfixed in the same fixative for 1 h at room temperature (RT), rinsed in 0.12 M PB for 1.5 h, immersed in a cryoprotective solution of 20% sucrose in PB overnight at 4°C, quickly frozen on dry ice, and sectioned coronally at 40 μm with a cryostat. Every tenth section was stained with cresyl violet to determine the general histological characteristics of the tissue within the rostral–caudal extent of the hippocampal formation including the entorhinal cortex, as well as to verify electrode placement. Its position within the CA1 region of the hippocampus was confirmed in all reported animals (supplemental Fig. S4, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material).

In addition, to conduct a more detailed quantitative stereological study of neuronal populations within the hippocampus, dentate gyrus, and medial entorhinal cortex, immunohistochemical experiments for the detection of neuronal-specific nuclear protein (NeuN) were performed on sections selected at regular intervals within the rostrocaudal extend of these structures (see below).

**Immunohistochemical methods.** Free-floating sections were first rinsed for 30 min in 0.02 M potassium PBS (KPBS; 16 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 150 mM NaCl, pH 7.4), incubated for 30 min in 1% hydrogen peroxide to block endogenous peroxidases, and rinsed in KPBS. Sections were then incubated for 1 h at RT in KPBS containing 0.3% Triton X-100 (KPBS–Triton) and 3% normal horse serum (NHS; Vector Laboratories), and overnight at RT in NeuN monoclonal antibody (MAB 377; Millipore Bioscience Research Reagents) diluted 1:4000 in KPBS–Triton containing 1% NHS. After these steps, sections were rinsed for 30 min in KPBS and incubated for 1 h at RT in biotinylated horse anti-mouse IgG (Vector Laboratories) diluted 1:200 in KPBS containing 3% NHS. Sections were then rinsed in KPBS, incubated for 1 h at RT with an avidin–biotin–peroxidase complex solution prepared according to the manufacturer's recommendations (Vector Laboratories). After several rinses in

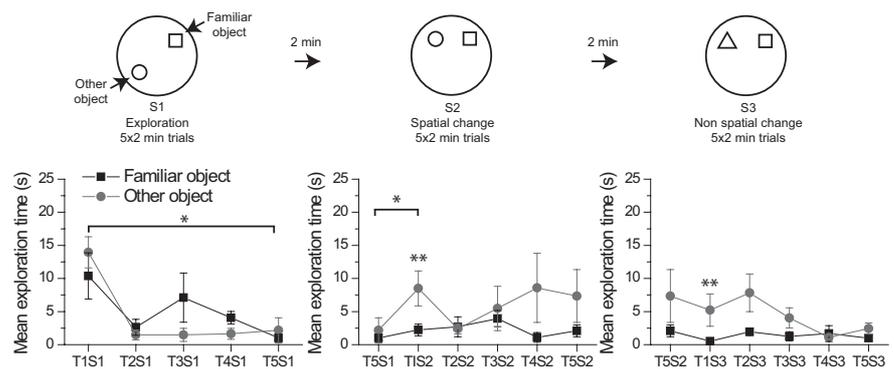
KPBS, sections from control and pilocarpine-treated animals were processed for the same time (10 min) in 0.04% 3–3-diaminobenzidine-HCl and 0.006% hydrogen peroxide diluted in KPBS. The sections were then rinsed in KPBS, mounted on gelatin-coated slides, dried, dehydrated, and coverslipped with permount (Fisher Scientific; Electron Microscopy Sciences).

**Quantitative analysis.** In this study, we estimated the total numbers of NeuN-labeled neurons in the CA1 and CA3 pyramidal cell layers, as well as in layers I–II, III, and V–VI of the medial entorhinal cortex, in one cerebral hemisphere of control and pilocarpine-treated animals, by using the optical fractionator method (West et al., 1991; West, 1999). These analyses were performed with a computer-assisted system using the Stereo Investigator software (MicroBrightField Bioscience). The computer-assisted system included a PC connected to a color video camera (CX 9000; MicroBrightField Bioscience) connected to a Nikon microscope (E901; Nikon). The neurons were counted with a 60× objective. For the hippocampus, starting from a random position, the number of sections analyzed was 12 and 6 for the entorhinal cortex. In each section, the CA1 and CA3 pyramidal cell layers were delineated as described in previous stereological studies (West et al., 1991; Dinocourt et al., 2003). The borders of the medial entorhinal cortex were identified according to Mulders et al. (1997) and Paxinos and Watson (2005). Neurons were counted within a probe volume defined by the counting frame and the dissector height. The dissector height (20 μm) used in this study is the real thickness of sections (24 μm) minus 2 μm on each side of the section to exclude the regions showing irregularities because of cut processes. The real thickness of sections (24 μm) resulted from shrinkage of the sections (40 μm thick) after histological treatment. The size of the counting frame was 50 × 50 μm and of the counting grid was 400 × 400 μm, for the CA1 and CA3 pyramidal cell layers. The size of the counting frame was 50 × 50 μm and of the counting grid was 300 × 300 μm for the different layers of the medial entorhinal cortex. Only neurons within the counting frame or overlapping the right or superior border of the counting frame, and which came into focus while focusing down through the dissector height, were counted. The average number of neurons counted per layer in each animal is indicated in supplemental Table S6, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material. The precision of each estimate was controlled by measuring the coefficient of error (CE), which is the mean of the coefficients of error of the individual estimates (West et al., 1991; West, 1999). The CE was 10% or less for each estimated number of labeled neurons, and the mean CE is indicated in supplemental Table S6, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material. The total numbers of neurons labeled per layer and per cerebral hemisphere for each animal were estimated by the software. The total number of neurons in all layers of the medial entorhinal cortex was obtained by summing the number of cells in layers I–II, III, and V–VI for each animal. The average estimated total number of labeled neurons ± SEM was calculated for each group of control and pilocarpine-treated rats (supplemental Table S6, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material). The data were analyzed statistically with a mixed-model ANOVA and Student's *t* test to determine significant differences in the number of neurons per layer between groups (control and pilocarpine-treated rats). The extent of neuron loss in pilocarpine-treated rats was calculated with the following formula:  $[100 - (100 \times \text{average estimated number of neurons in pilocarpine-treated rats} / \text{average estimated number of neurons in control rats})]\%$ .

## Results

### Spatial memory impairment during epileptogenesis

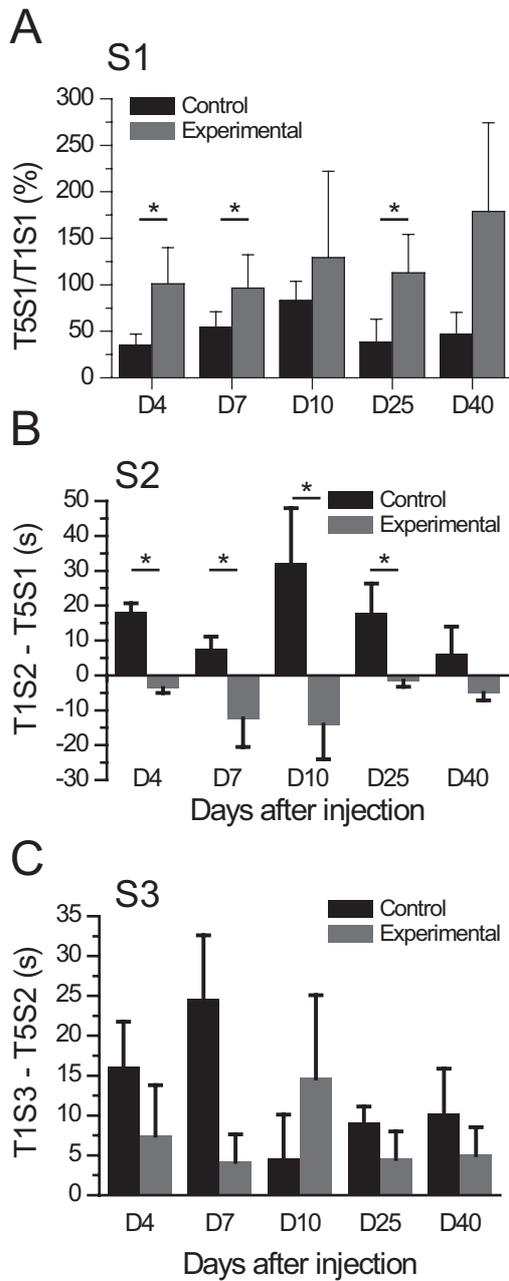
The reaction-to-a-change task (Fig. 1) was performed to assess cognitive abilities for hippocampus-dependent spatial and



**Figure 1.** Spatial and nonspatial performances before treatment. Top, Experimental paradigm. During the S1 session, animals explore the two new objects (5 trials of 2 min each). One object is moved to a different quadrant, and animals are allowed to explore (S2 session, 5 trials of 2 min each). One object is then replaced (S3 session, 5 trials of 2 min each). Bottom, Mean duration (sec) spent exploring the familiar object (black squares) and the other object (red circles) during session 1 (left histogram), session 2 (central histogram), and session 3 (right histogram). There was a significant habituation for both objects between the first (T1S1) and the last (T5S1) trial ( $p < 0.0001$ ;  $n = 18$ ). Object displacement led to renewed exploration, as compared with the time spent exploring the object in the last trial of S1 (T5S1; T1S2/T5S1:  $p = 0.009$ ,  $n = 18$ ). Object replacement led to renewed exploration, but it did not reach significance during T1S3 (T5S2/T1S3:  $p = 0.225$ ,  $n = 18$ ), because the animals were still displaying increased interest in the displaced object during T5S2. However, the exploration time of the familiar object was significantly smaller than the time spent exploring the new object, showing that animals had detected the novelty ( $p = 0.049$ ;  $n = 18$ ). Data are expressed as means ± SEM and \* $p < 0.05$ .

hippocampus-independent nonspatial memories (Thinus-Blanc, 1996), 7 d before injection (D7). Each animal thus served as its own control in this longitudinal study. Rats ( $n = 18$ ) were initially placed in an open field containing two different objects and were allowed to explore (S1). Exploration quickly diminished across the five trials (Fig. 1) ( $p < 0.0001$ ), as animals habituated to the objects. After habituation, one object was displaced (second session, S2), leading to increased exploration of the displaced object (Fig. 1), as compared with the exploration of this object during the last trial of S1 [trial 1 (T1)S2: mean duration of displaced object exploration:  $8.5 \pm 2.6$  s,  $p < 0.05$  vs T5S1:  $1.0 \pm 0.6$  s] and to the exploration of the reference object (Fig. 1) (T1S2 of reference object:  $2.2 \pm 0.9$  s,  $p < 0.05$ ), which remained at the same level as at the end of session S1. After the fifth trial of the S2 session, one object was changed (third session, S3). There was a trend toward increased exploration of the new object compared with the exploration of the displaced object in the last trial of S2 (T5S2), but it failed to reach significance (T1S3: mean duration of new object exploration:  $5.3 \pm 2.4$  s,  $p = 0.225$  vs T5S2) (Fig. 1) because of the reaction to the spatial change persisted across the five trials of the S2 session. However, there remained a preference for novelty, since the time spent exploring, in T1S3, the new object was greater than the time spent exploring the familiar object (new object,  $5.2 \pm 2.4$  s; familiar object,  $0.5 \pm 0.3$ ;  $p < 0.05$ ).

After 1 week rest (D0), animals received either saline ( $n = 2$ ) or pilocarpine ( $n = 16$ ). Animals that did not exhibit pilocarpine-induced SE but did show evidence of generalized (stage 5) seizures after treatment ( $n = 4$ ) were included in the control group. Cognitive performance was then evaluated 4, 7, 10, 25, and 40 d after the injection (D4, D7, D10, D25, and D40). Experimental animals that exhibited SE ( $n = 12$ ) did not show any habituation of exploratory activity between the first trial (T1S1) and the fifth trial (T5S1) of S1. This result was found as early as D4 and persisted without further modification during epileptogenesis (Fig. 2A; supplemental Table S1, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material) ( $p = 0.250$ ). The control group still displayed habituation between T1S1 and T5S1 at D4, D7, and D25.



**Figure 2.** Early and persistent deficit in spatial memory task in experimental TLE. **A**, Ratio of the time spent exploring both objects during T5S1 versus the time spent exploring both objects during T1S1, during the latent and chronic periods. A ratio <100% indicates less exploration, i.e., habituation. Experimental animals ( $n = 12$ ) did not present any habituation of exploration of the two objects, between the first and the fifth trial for all testing days after SE (D4, D7, D25, and D40;  $p > 0.05$ ) compared with the control group ( $n = 6$ ), except at D10 and D40, where there was instead a significant decrease of exploration between T3S1 and T5S1 for the control group, caused by a delayed reaction to the objects. There was no significant effect ( $p > 0.05$ ) all along the five testing days, for both groups. **B**, Difference between the time (s) spent exploring the displaced object in T1S2 and the time (s) spent exploring the same object in T5S1 (T1S2–T5S1) 4, 7, 10, 25, and 40 d after injection. Positive values indicate renewed exploration, hence spatial memory function (control/experimental,  $*p < 0.05$ ). Experimental animals ( $n = 12$ ) did not present any significant interest for the spatial change as compared with controls animals ( $n = 6$ ; experimental/control,  $p < 0.05$ ). There was no significant effect ( $p > 0.05$ ) all along the five testing days, for both groups. **C**, Difference between the time (s) spent exploring the new object in T1S3 and the time (s) spent exploring the former object in T5S2 (T1S3–T5S2) 4, 7, 10, 25, and 40 d after injection. Positive values indicate renewed exploration, hence nonspatial memory function ( $*p < 0.05$ ). Experimental ( $n = 12$ ) and control ( $n = 6$ ) animals displayed a significant interest to novelty (control/experimental,  $p > 0.05$ ). There was no significant effect ( $p > 0.05$ ) all along the five testing days, for both groups. Data are expressed as means  $\pm$  SEM.

However, at D10 and D40, there was instead a significant decrease of exploration between T3S1 and T5S1 for control animals, caused by a delayed reaction to the objects ( $n = 6$ ) (Fig. 2A; supplemental Table S1, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material) ( $p < 0.05$ ).

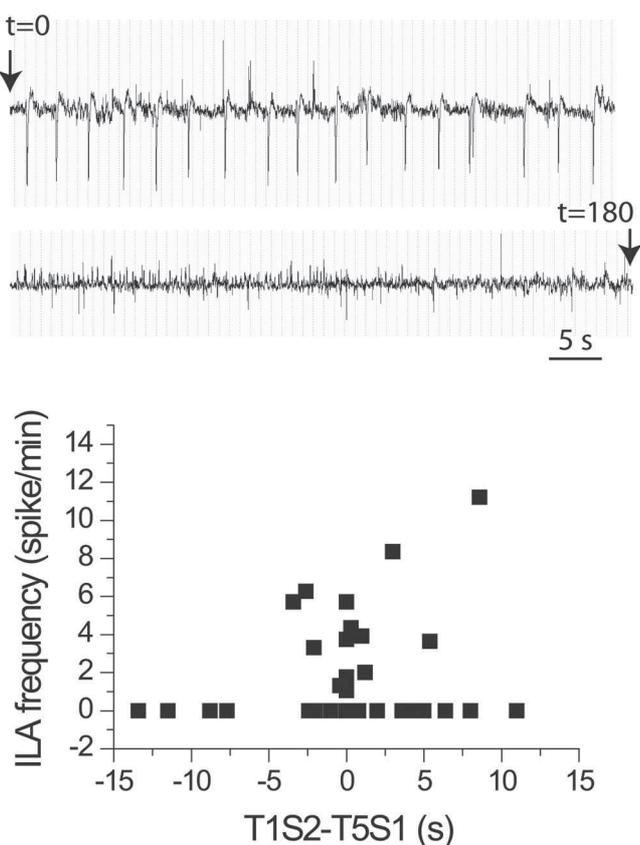
Experimental animals did not show any preference for the displaced object in S2, already at D4, indicating a deficit of spatial memory. In contrast, the control group showed the normal increased exploration of the displaced object (Fig. 2B; supplemental Table S2, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material) (control/experimental,  $p < 0.0001$  at D4). The deficit of spatial memory persisted at all later time points in the experimental group (Fig. 2B; supplemental Table S2, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material) ( $p < 0.05$ ), except at D40, where a trend was found between the two groups ( $p = 0.06$ ). Spatial memory performance remained stable in the control group (Fig. 2B; supplemental Table S2, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material). The deficit in the reaction to the spatial change in experimental animals was not attributable to a simple deficit in motor or exploratory activities, since animals did explore objects (supplemental Table S1, supplemental Fig. S1, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material). There is, however, a tendency for experimental rats to explore less than the control group; this tendency becoming significant only at D25 and D40 (Fig. 2A; supplemental Table S1, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material) ( $p < 0.05$ ).

In contrast to the spatial memory task, experimental animals displayed an interest for the nonspatial change ( $p < 0.05$  at D4, D7, and D25) (Fig. 2C), which was indistinguishable from the control group at all time points (Fig. 2C; supplemental Table S3, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material) ( $p = 0.399$ ). This suggests that hippocampus-independent nonspatial memory is not affected in experimental TLE.

To ascertain that the relatively low level of object exploration of the experimental animals was not attributable to anxiety (i.e., to a preference for the periphery of the open field), the pathways of the animals recorded by the Videotrack system were visually inspected. None of the experimental animals moved exclusively around the borders of the field; instead, they crossed the center of the field several times (supplemental Fig. S1, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material). If some anxiety-related behavior cannot be excluded on the basis of the lower level of exploration, the fact that the experimental rats did react to the nonspatial change allows us to discard the possibility that their lack of reaction to the spatial change was exclusively related to anxiety.

To rule out the possibility that our initial group assignment procedure could have biased our results, we retrospectively examined the initial cognitive performance of both the experimental and control groups. There was no statistical difference for habituation or reaction-to-a-change between both groups (S2,  $p = 0.573$ ; S3,  $p = 0.759$ ). Therefore, the initial cognitive performances were similar for all animals before treatment.

Finally, there was no statistical difference for the cognitive performances of the two groups across the six testing days after saline or pilocarpine treatment: cognitive processing of both spatial and nonspatial tasks was stable in the control group (S2,  $p = 0.282$ ; S3,  $p = 0.491$ ), and nonspatial performance was not affected during epileptogenesis in experimental animals ( $p = 0.896$ ). Moreover, the repetition of the task at the different testing days did not affect a global level decrease of exploratory activity (Fig. 2A,B).



**Figure 3.** Lack of correlation between ILA and spatial deficit in experimental animals ( $n = 25$ ). Top, Typical burst of ILA lasting 3 min recorded at D10 during rest. Note that the pattern evolves from large amplitude and slow to shorter amplitude and faster spike and waves. Bottom, There was no correlation between ILA frequency and spatial cognitive deficit measured as the T1S2–T5S1 difference ( $r = 0.015$ ;  $p = 0.913$ ).

These findings indicate that the deficit of spatial processing is an early and persistent phenomenon in experimental animals and that nonspatial processing is not affected for the cognitive tasks considered here.

#### Lack of correlation between cognitive deficits and interictal activity

Extracellular field recordings revealed that ILA appeared in bursts in the hippocampus 7 d after SE in all animals, except for one rat, which displayed ILA at D4. Spatial cognitive deficits did not correlate with the mean frequency (number of spike-and-waves per minute, in 1 h) of ILA measured before the task at D7, D10, and D25 (Fig. 3) (Spearman correlation;  $p = 0.9$ ).

#### Cognitive deficits correlate to decreased theta activity during epileptogenesis

Experimental animals displayed decreased absolute power and median frequency of theta rhythm at all time points when compared with the control group during exploratory activity in the open field, 1 h before and after the task (Fig. 4A–C; supplemental Table S4, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material) ( $p < 0.0001$  for both power and frequency). During the task, the absolute power of theta rhythm was also decreased in experimental animals at all time points (Fig. 4D) in S1 (habituation of exploratory activity;  $p < 0.0001$ ) and S2 (spatial change;  $p < 0.0001$ ). In contrast to exploration in the open field in the absence of objects, theta frequency was variable during the S1, S2, and S3

tasks between rats in both sham and experimental groups, precluding direct comparisons.

Spearman correlation between the mean duration of object-displaced exploration and the absolute theta power during T1S2 at all time points revealed a significant positive correlation between the decrease in theta power and the cognitive deficits in experimental animals (Fig. 4E) ( $r = 0.5$ ;  $p = 0.00002$ ). In contrast, there was no correlation between the mean duration of new object exploration and the absolute theta power during T1S3 (data not shown;  $p = 0.263$ ).

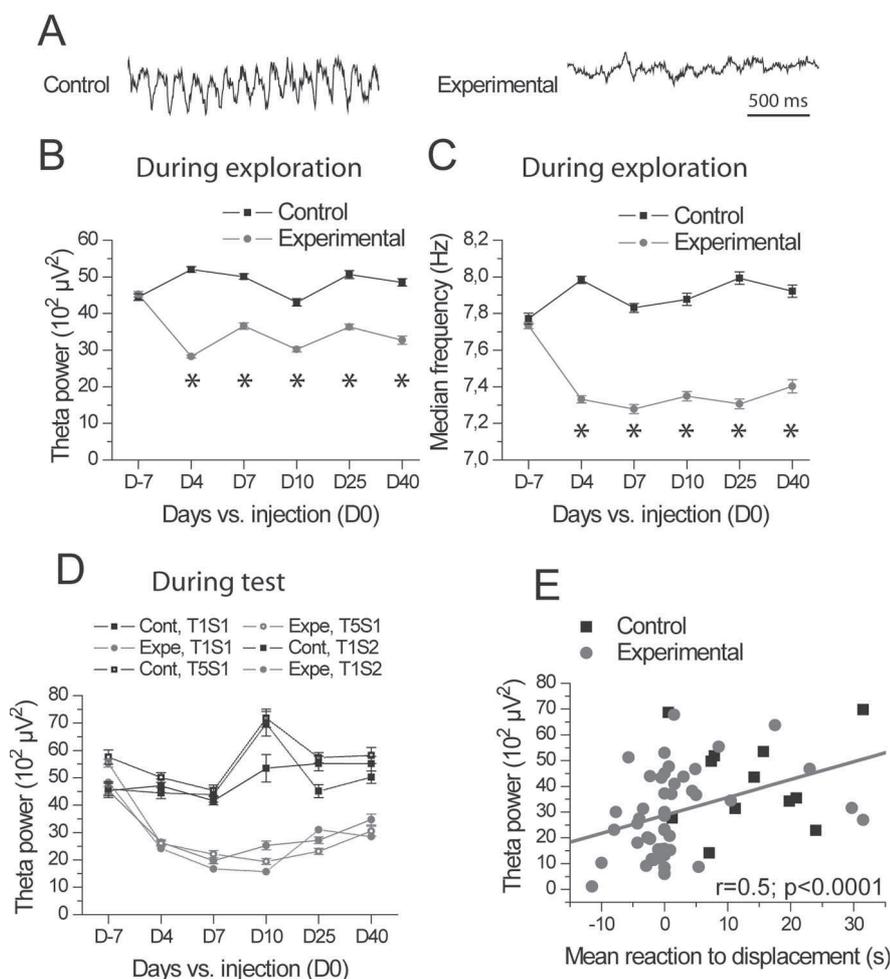
Global EEG power spectrum (0–100 Hz) as well as gamma rhythm (40–80 Hz) measured before and after the task remained stable in both experimental and control groups at all time points (supplemental Fig. S2, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material). The decrease of theta power in experimental rats thus appears to be particular to this bandwidth.

Since speed of movement affects theta power (Maurer et al., 2005), we evaluated this parameter in sham and experimental animals. There was no speed difference between the experimental and the control groups (supplemental Fig. S3, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material), suggesting that theta decrease is not attributable to a loss of activity of experimental rats, or to a general sick state of the animal (see also supplemental Fig. S1, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material).

#### Pattern of cell loss in experimental animals

Decreased theta power in experimental animals could result from a lesion attributable to the recording electrode and/or excitotoxic damage induced by SE. Histological analysis revealed a lack of marked damage caused by the recording electrode (supplemental Fig. S4, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material) and of a major cell loss in this model. The pattern of neuronal damage observed in the hippocampus and dentate gyrus in pilocarpine-treated animals after a 40-min-long SE was very similar to that described previously in pilocarpine-treated animals after 2–3-h-long SE (Obenaus et al., 1993; Esclapez et al., 1999; Dinocourt et al., 2003; Boulland et al., 2007). It included a cell loss restricted to the hilus of the dentate gyrus and stratum oriens of CA1 that contrasts with a good preservation of neurons in all other layers of the hippocampus and dentate gyrus including the CA1–CA3 pyramidal cells and dentate granule cell layers (supplemental Fig. S5, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material). No obvious cell loss was observed in the medial entorhinal cortex (supplemental Fig. S6, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material), in contrast to the previously reported major cell loss described in animals that experienced longer-lasting SE (Clifford et al., 1987; Du et al., 1995; Kumar and Buckmaster, 2006).

Because, in the pilocarpine model, partial sclerosis was described in the hippocampal pyramidal cell layers (Liu et al., 1994) as well as in layers II and III of the medial entorhinal cortex (Du et al., 1995; Kumar and Buckmaster, 2006), we conducted a quantitative stereological analysis of the total number of neurons in these regions to estimate eventual subtle cell loss. This analysis revealed a slight neuronal loss in all CA1–CA3 pyramidal cell layers of pilocarpine-treated rats compared with control animals. In CA1, the estimated total number of neurons was reduced by 10% as compared with control [pilocarpine (pilo),  $303360 \pm 7039$ ; control,  $337920 \pm 3866$ ;  $p < 0.01$ ], whereas in CA3 the estimated total number of neurons was reduced by 13% (pilo,  $207360 \pm 4796$ ; control,  $238080 \pm 3104$ ;  $p < 0.005$ ) (supplemental Table S5, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material; Fig. 5A). In the medial entorhinal cortex, the quantitative



**Figure 4.** The amount of loss of theta activity positively correlates to spatial cognitive deficits in experimental animals ( $n = 12$ ). **A**, Examples of theta activity recorded during exploration in a control and in an experimental animal at D7. Note the decrease in amplitude and frequency in the experimental animal. **B, C**, Evolution of hippocampal theta (4–12 Hz) absolute power (**B**) and mean frequency (**C**) after SE in control ( $n = 6$ ) and experimental animals, during exploratory behavior ( $*p < 0.0001$ ). Note the stability of the recordings in controls and the early and significant ( $*p < 0.0001$ ) decrease in theta power and frequency in experimental animals. **D**, Theta power is also decreased as soon as D4 during sessions 1 and 2 in experimental animals ( $*p < 0.0001$ ). **E**, Spearman correlation between theta (4–12 Hz) absolute power during T1S2 and spatial memory performance evaluated as the difference of the time (s) spent exploring the displaced object during T1S2 and T5S1. Theta power correlates with spatial memory ( $r = 0.5$ ;  $p = 0.0002$ ; experimental,  $n = 25$ ; control,  $n = 8$ ). Data are expressed as means  $\pm$  SEM.

analysis showed a slight cell loss in all layers. However, the cell loss was a little more pronounced in layers I–II ( $8\%$ ; pilo,  $80784 \pm 1087$ ; control,  $88128 \pm 1517$ ;  $p < 0.05$ ) than in layer III ( $4\%$ ; pilo,  $114048 \pm 1746$ ; control,  $119232 \pm 1389$ ;  $p < 0.05$ ) and layers V–VI ( $3.6\%$ ; pilo,  $186624 \pm 2604$ ; control,  $193536 \pm 1087$ ;  $p < 0.05$ ) (supplemental Table S5, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material; Fig. 5B).

## Discussion

Using a longitudinal study, we have demonstrated that experimental animals exhibit spatial memory deficits soon after the initial insult and that this deficit persists without further modification during epileptogenesis. In contrast, nonspatial memory does not seem affected. Our results reveal that the spatial memory deficit correlates with a decrease of the absolute theta power but less directly to ILA.

### Behavioral assessment

The reaction-to-a-change paradigm used here allows us to test whether the animal has correctly encoded the spatial relation-

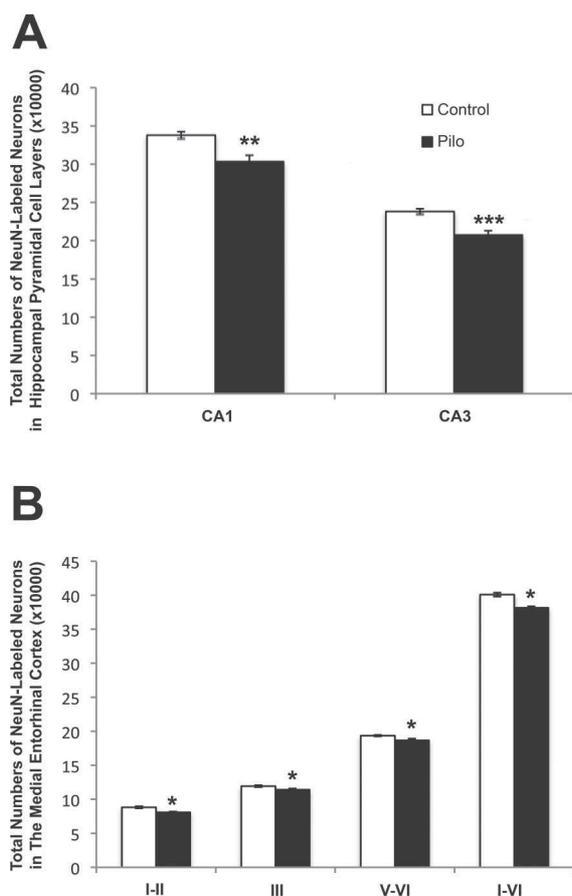
ships between objects and their intrinsic (nonspatial) properties (Poucet et al., 1986). In both tests (object displacement and replacement), a comparison between the memory of the initial situation and the modified one is necessary. Hippocampal place cell disruption (Liu et al., 2003; Zhou et al., 2007; Lenck-Santini and Holmes, 2008), which would prevent adequate orientation of the animal in its environment, may negatively impact on spatial memory performance. Trace reactivation induces memory consolidation during immobility states or sleep (Chrobak and Buzsaki, 1994), a process which likely occurs in our behavioral paradigm during the 2 min of inter-trial rest. Spontaneous trace reactivation of the previous trial exploration may have not occurred in experimental animals. The deficit of habituation, which follows the same temporal profile, could be linked to similar functional alterations.

General hippocampal damage disrupts the reaction to a spatial change, leaving intact those to a new object (Morris, 1981; Aggleton et al., 1986; Save et al., 1992b). The spatial deficits found in epileptic animals (Rice et al., 1998; Hort et al., 1999; Dos Santos et al., 2005) could stem from cell loss and the reorganization of the underlying hippocampal structures (Morimoto et al., 2004; Engel et al., 2007), including inflammatory processes (Gobbo and O'Mara, 2004). The lack of reaction to a spatial change was not attributable to a nonspecific hypo-activity or to a general sick state in experimental animals, since interest to novelty was preserved. Our results extend previous data obtained in classical tasks such as the Morris Water Maze (Rice et al., 1998; Hort et al., 1999; Liu et al., 2003; Dos Santos et al., 2005), as the reaction-to-a-change task allows assessing both hippocampus-dependent spatial memory and nonhippocampus-dependent nonspatial memory in two consecutive tests.

The reorganization of hippocampal structures is an early phenomenon, starting soon after the initial SE, and continuing during epileptogenesis and the chronic period (Morimoto et al., 2004; El-Hassar et al., 2007). Cognitive deficits also appeared early after the initial insult and were not further modified during epileptogenesis. Network modifications that occur at later stages may be more relevant to the process of epileptogenesis and the formation of stable epileptogenic networks. Extra-limbic structures appear to sustain less damage (Morimoto et al., 2004), which may explain why nonspatial memory is not affected. Since we have only used a reaction to novelty paradigm, we cannot rule out that other nonspatial memories could be affected.

### Effect of ILA on cognitive processes

In humans, cognitive activity can impact on ILA in a complex manner, as task difficulty influences epileptiform discharges (Kasteleijn-Nolst Trenité and Vermeiren, 2005). In the current



**Figure 5.** Slight cell loss of NeuN-labeled neurons in the CA1–CA3 hippocampal pyramidal cell layers (**A**) and all layers of the medial entorhinal cortex (**B**). \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.005$ . Data are expressed as means  $\pm$  SEM.

study, however, there was no relationship between ILA and the memory tasks themselves, as all possible combinations were found (ILA at rest, which persisted during the task; ILA at rest, which stopped during the task; no ILA at rest, which started during the task) (supplemental Table S6, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material). Thus, we found no correlation between spatial cognitive deficits and ILA measured before the task. However, we cannot rule out more complex correlations, such as the presence of ILA in structures connected to the CA1 region and not recorded here. Alternatively, ILA could have a negative impact when occurring during critical periods, e.g., trace reactivation (Chrobak and Buzsaki, 1994; Csicsvari et al., 2007) or place cell replay (Foster and Wilson, 2006; Molter et al., 2007). In epileptic patients, IA, unlike seizures, has no direct effect on cognition (Aldenkamp et al., 2001). However, IA has a small impact during “mechanistic” cognitive processes, such as attention or mental speed tasks (Aldenkamp et al., 2004).

### Theta rhythm

Theta rhythm (4–12 Hz) is involved in many cognitive processes and, in particular, in spatial learning and memory (Hasselmo et al., 2002; Buzsaki, 2006). A loss of hippocampal theta rhythm results in spatial memory impairment in rats (Winson, 1978). Here, we found proportionality between cognitive performance for hippocampus-dependent tasks and theta power in the hippocampus. The largest amplitude theta in the hippocampus is observed in CA1 stratum lacunosum moleculare, where afferents

from layer three entorhinal cortex synapse on pyramidal cell distal dendrites (Buzsaki, 2006). Although our recording electrodes were located close to stratum lacunosum moleculare (supplemental Fig. S4, available at [www.jneurosci.org](http://www.jneurosci.org) as supplemental material), their size did not allow the specific measurement of entorhinal cortex-driven theta. The recorded field rather reflects a global mean theta field in the CA1 region. Additional studies with multisite linear probes are necessary to determine the spatio-temporal evolution of theta dipoles during epileptogenesis.

Theta rhythm was significantly decreased in both power and frequency during exploratory behaviors in the open field, before and after the task. During the task, theta power was also decreased, but changes in theta median frequency could not be accurately measured because of a large variability between rats. Theta rhythm impairment may have also disturbed memory encoding and retrieval (Yamaguchi et al., 2004; Buzsaki, 2006). In addition to decreased theta power and frequency, a lack of coordination between theta generators/controllers may affect cognitive performance. In humans, unsuccessful memory formation during encoding is associated with a general decrease of rhinal–hippocampal coherence and decreased theta oscillations (Fell et al., 2001, 2006). It will be important to determine whether synchrony is modified in different limbic structures. Alterations in theta oscillations followed the same temporal profile as spatial memory performance, further supporting the covariance of the two phenomena, with the reorganization of the underlying circuitry as a potential general mechanism. The loss of some entorhinal cortex neurons (Du et al., 1995; Kumar and Buckmaster, 2006), septal GABAergic cells (Garrido Sanabria et al., 2006), CA1 oriens-lacunosum moleculare GABAergic interneurons (Cossart et al., 2001; Dinocourt et al., 2003; Dugladze et al., 2007), altered theta amplification mechanisms (Marcelin et al., 2009), as well as inflammatory processes (Gobbo and O’Mara, 2004), early during epileptogenesis may play a direct role in theta impairment, since these cell types are strongly involved in theta generation/control.

### Validity of the model

Pilocarpine injection triggers an SE, followed by a seizure-free latent period, before the occurrence of spontaneous recurrent seizures. The analysis of temporal pole networks reveals considerable modifications, which evolve in time, eventually leading to hippocampal sclerosis (Morimoto et al., 2004; El-Hassar et al., 2007). A similar remodeling has been found in patients with TLE (Du et al., 1993; Plate et al., 1993; Mathern et al., 1996). The alterations in spatial memory and theta rhythm we describe may be a direct consequence of the initial injury resulting from the status epilepticus (cell loss, transcriptional, translational, and post-translational modification, etc.). The extent of the reorganization soon after SE may explain why cognitive function and theta oscillations are not further altered when animals have spontaneous seizures. In contrast, in the kindling model of TLE where there is no SE, the cognitive decline parallels the number of seizures (Kotloski et al., 2002). This suggests that the time course of cognitive and theta dysfunctions depend upon the initial condition leading to epilepsy. Whether the results we describe are relevant to post-SE modifications and/or epileptogenesis in human remains an open question. However, they provide working hypotheses that can be tested in at-risk patients.

### Conclusion

Cognitive functions and pathological neural activities (ILA and seizures) share the same underlying circuitry. This circuitry is

considerably remodeled after SE, many parameters undergoing modification with specific temporal profiles. Some of these alterations may contribute to both cognitive deficits and pathological activities, whereas others may be specific. Network remodeling occurs on a very fast time scale after SE, leading to rapid disruption of theta activity and spatial memory impairment. These modifications, together with the occurrence of ILA, may constitute early markers of epilepsy. It remains to be determined whether theta activity and spatial memory deficits are dissociated from epileptogenesis per se, i.e., whether they are a direct consequence of network remodeling. Interestingly, memory deficits and morpho-functional reorganization of the hippocampus occur in other neurological pathologies, e.g., Huntington's disease (Kohl et al., 2007) and Alzheimer's disease (Allen et al., 2007). The alterations we describe may bear a more general value, outside the epilepsy field.

## References

- Aggleton JP, Hunt PR, Rawlins JN (1986) The effects of hippocampal lesions upon spatial and non-spatial tests of working memory. *Behav Brain Res* 19:133–146.
- Aldenkamp A, Arends J (2004) The relative influence of epileptic EEG discharges, short nonconvulsive seizures, and type of epilepsy on cognitive function. *Epilepsia* 45:54–63.
- Aldenkamp AP, Arends J, Overweg-Plandsoen TC, van Bronswijk KC, Schyns-Soeterboek A, Linden I, Diepman L (2001) Acute cognitive effects of nonconvulsive difficult-to-detect epileptic seizures and epileptiform electroencephalographic discharges. *J Child Neurol* 16:119–123.
- Aldenkamp AP, Arends J, Verspeek S, Berting M (2004) The cognitive impact of epileptiform EEG-discharges; relationship with type of cognitive task. *Child Neuropsychol* 10:297–305.
- Allen G, Barnard H, McColl R, Hester AL, Fields JA, Weiner MF, Ringe WK, Lipton AM, Brooker M, McDonald E, Rubin CD, Cullum CM (2007) Reduced hippocampal functional connectivity in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 64:1482–1487.
- Berlyne D (1950) Novelty and curiosity as determinants of exploratory behaviour. *Br J Psychol* 41:68–80.
- Boulland JL, Ferhat L, Tallak Solbu T, Ferrand N, Chaudhry FA, Storm-Mathisen J, Esclapez M (2007) Changes in vesicular transporters for gamma-aminobutyric acid and glutamate reveal vulnerability and reorganization of hippocampal neurons following pilocarpine-induced seizures. *J Comp Neurol* 503:466–485.
- Butler CR, Zeman AZ (2008) Recent insights into the impairment of memory in epilepsy: transient epileptic amnesia, accelerated long-term forgetting and remote memory impairment. *Brain* 131:2243–2263.
- Buzsáki G, ed (2006) *Rhythms of the brain*. New York: Oxford UP.
- Chrobak JJ, Buzsáki G (1994) Selective activation of deep layer (V–VI) retrohippocampal cortical neurons during hippocampal sharp waves in the behaving rat. *J Neurosci* 14:6160–6170.
- Clifford DB, Olney JW, Maniotis A, Collins RC, Zorumski CF (1987) The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. *Neuroscience* 23:953–968.
- Cornaggia CM, Beghi M, Provenzi M, Beghi E (2006) Correlation between cognition and behavior in epilepsy. *Epilepsia* 47 [Suppl]2:34–39.
- Cossart R, Dinocourt C, Hirsch JC, Merchán-Pérez A, De Felipe J, Ben-Ari Y, Esclapez M, Bernard C (2001) Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. *Nat Neurosci* 4:52–62.
- Csicsvari J, O'Neill J, Allen K, Senior T (2007) Place-selective firing contributes to the reverse-order reactivation of CA1 pyramidal cells during sharp waves in open-field exploration. *Eur J Neurosci* 26:704–716.
- Dinocourt C, Petanjek Z, Freund TF, Ben-Ari Y, Esclapez M (2003) Loss of interneurons innervating pyramidal cell dendrites and axon initial segments in the CA1 region of the hippocampus following pilocarpine-induced seizures. *J Comp Neurol* 459:407–425.
- Dos Santos JG Jr, Longo BM, Blanco MM, Menezes de Oliveira MG, Mello LE (2005) Behavioral changes resulting from the administration of cycloheximide in the pilocarpine model of epilepsy. *Brain Res* 1066:37–48.
- Du F, Whetsell WO Jr, Abou-Khalil B, Blumenkopf B, Lothman EW, Schwarcz R (1993) Preferential neuronal loss in layer III of the entorhinal cortex in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 16:223–233.
- Du F, Eid T, Lothman EW, Köhler C, Schwarcz R (1995) Preferential neuronal loss in layer III of the medial entorhinal cortex in rat models of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 15:6301–6313.
- Dugladze T, Vida I, Tort AB, Gross A, Otahal J, Heinemann U, Kopell NJ, Gloveli T (2007) Impaired hippocampal rhythmogenesis in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:17530–17535.
- El-Hassari L, Milh M, Wendling F, Ferrand N, Esclapez M, Bernard C (2007) Cell domain-dependent changes in the glutamatergic and GABAergic drives during epileptogenesis in the rat CA1 region. *J Physiol* 578:193–211.
- Engel J Jr, Pedley TA, Aicardi J, Dichter MA, Moshé S, eds (2007) *Epilepsy. A comprehensive textbook*, Ed 2. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Esclapez M, Hirsch JC, Ben-Ari Y, Bernard C (1999) Newly formed excitatory pathways provide a substrate for hyperexcitability in experimental temporal lobe epilepsy. *J Comp Neurol* 408:449–460.
- Fell J, Klaver P, Lehnertz K, Grunwald T, Schaller C, Elger CE, Fernández G (2001) Human memory formation is accompanied by rhinal-hippocampal coupling and decoupling. *Nat Neurosci* 4:1259–1264.
- Fell J, Fernández G, Lutz MT, Kockelmann E, Burr W, Schaller C, Elger CE, Helmstaedter C (2006) Rhinal-hippocampal connectivity determines memory formation during sleep. *Brain* 129:108–114.
- Foster DJ, Wilson MA (2006) Reverse replay of behavioural sequences in hippocampal place cells during the awake state. *Nature* 440:680–683.
- Garrido Sanabria ER, Castañeda MT, Banuelos C, Perez-Cordova MG, Hernandez S, Colom LV (2006) Septal GABAergic neurons are selectively vulnerable to pilocarpine-induced status epilepticus and chronic spontaneous seizures. *Neuroscience* 142:871–883.
- Gobbo OL, O'Mara SM (2004) Post-treatment, but not pre-treatment, with the selective cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib markedly enhances functional recovery from kainic acid-induced neurodegeneration. *Neuroscience* 125:317–327.
- Hasselmo ME, Hay J, Ilyn M, Gorchetnikov A (2002) Neuromodulation, theta rhythm and rat spatial navigation. *Neural Netw* 15:689–707.
- Herman ST (2002) Epilepsy after brain insult: targeting epileptogenesis. *Neurology* 59:S21–S26.
- Holmes GL, Lenck-Santini PP (2006) Role of interictal epileptiform abnormalities in cognitive impairment. *Epilepsy Behav* 8:504–515.
- Hort J, Brożek G, Mares P, Langmeier M, Komárek V (1999) Cognitive functions after pilocarpine-induced status epilepticus: changes during silent period precede appearance of spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia* 40:1177–1183.
- Kahana MJ, Sekuler R, Caplan JB, Kirschen M, Madsen JR (1999) Human theta oscillations exhibit task dependence during virtual maze navigation. *Nature* 399:781–784.
- Kasteleijn-Nolst Trenité DG, Vermeiren R (2005) The impact of subclinical epileptiform discharges on complex tasks and cognition: relevance for aircrew and air traffic controllers. *Epilepsy Behav* 6:31–34.
- Kinney GG, Patino P, Mermet-Bouvier Y, Starrett JE Jr, Gribkoff VK (1999) Cognition-enhancing drugs increase stimulated hippocampal theta rhythm amplitude in the urethane-anesthetized rat. *J Pharmacol Exp Ther* 291:99–106.
- Kohl Z, Kandasamy M, Winner B, Aigner R, Gross C, Couillard-Despres S, Bogdahn U, Aigner L, Winkler J (2007) Physical activity fails to rescue hippocampal neurogenesis deficits in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Brain Res* 1155:24–33.
- Kotloski R, Lynch M, Lauersdorf S, Sutula T (2002) Repeated brief seizures induce progressive hippocampal neuron loss and memory deficits. *Prog Brain Res* 135:95–110.
- Kumar SS, Buckmaster PS (2006) Hyperexcitability, interneurons, and loss of GABAergic synapses in entorhinal cortex in a model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 26:4613–4623.
- Lenck-Santini PP, Holmes GL (2008) Altered phase precession and compression of temporal sequences by place cells in epileptic rats. *J Neurosci* 28:5053–5062.
- Liu X, Muller RU, Huang LT, Kubie JL, Rotenberg A, Rivard B, Cilio MR, Holmes GL (2003) Seizure-induced changes in place cell physiology: relationship to spatial memory. *J Neurosci* 23:11505–11515.
- Liu Z, Nagao T, Desjardins GC, Gloor P, Avoli M (1994) Quantitative eval-

- uation of neuronal loss in the dorsal hippocampus in rats with long-term pilocarpine seizures. *Epilepsy Res* 17:237–247.
- Lopes da Silva FH, Gorter JA, Wadman WJ (1986) Kindling of the hippocampus induces spatial memory deficits in the rat. *Neurosci Lett* 63:115–120.
- Majak K, Pitkanen A (2004) Do seizures cause irreversible cognitive damage? Evidence from animal studies. *Epilepsy Behav* 5 [Suppl]1:S35–S44.
- Marcelin B, Chauvière L, Becker A, Migliore M, Esclapez M, Bernard C (2009) h channel-dependent deficit of theta oscillation resonance and phase shift in temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis* 33:436–447.
- Marques CM, Caboclo LO, da Silva TI, Noffs MH, Carrete H Jr, Lin K, Lin J, Sakamoto AC, Yacubian EM (2007) Cognitive decline in temporal lobe epilepsy due to unilateral hippocampal sclerosis. *Epilepsy Behav* 10:477–485.
- Matherly GW, Babb TL, Leite JP, Pretorius K, Yeoman KM, Kuhlman PA (1996) The pathogenic and progressive features of chronic human hippocampal epilepsy. *Epilepsy Res* 26:151–161.
- Maurer AP, Vanrhoads SR, Sutherland GR, Lipa P, McNaughton BL (2005) Self-motion and the origin of differential spatial scaling along the septo-temporal axis of the hippocampus. *Hippocampus* 15:841–852.
- McNaughton N, Ruan M, Woodnorth MA (2006) Restoring theta-like rhythmicity in rats restores initial learning in the Morris water maze. *Hippocampus* 16:1102–1110.
- Meador KJ (2006) Cognitive and memory effects of the new antiepileptic drugs. *Epilepsy Res* 68:63–67.
- Meador KJ (2007) The basic science of memory as it applies to epilepsy. *Epilepsia* 48 [Suppl]9:23–25.
- Molter C, Sato N, Yamaguchi Y (2007) Reactivation of behavioral activity during sharp waves: a computational model for two stage hippocampal dynamics. *Hippocampus* 17:201–209.
- Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ (2004) Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog Neurobiol* 73:1–60.
- Morris RG (1981) Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn Motiv* 12:239–260.
- Mulders WH, West MJ, Slomianka L (1997) Neuron numbers in the pre-subiculum, parasubiculum, and entorhinal area of the rat. *J Comp Neurol* 385:83–94.
- Nolan MF, Malleret G, Dudman JT, Buhl DL, Santoro B, Gibbs E, Vronskaya S, Buzsáki G, Siegelbaum SA, Kandel ER, Morozov A (2004) A behavioral role for dendritic integration: HCN1 channels constrain spatial memory and plasticity at inputs to distal dendrites of CA1 pyramidal neurons. *Cell* 119:719–732.
- Obenaus A, Esclapez M, Houser CR (1993) Loss of glutamate decarboxylase mRNA-containing neurons in the rat dentate gyrus following pilocarpine-induced seizures. *J Neurosci* 13:4470–4485.
- Paxinos G, Watson C (2005) *The rat brain in stereotaxic coordinates*, Ed 5. Burlington, MA: Academic.
- Plate KH, Wieser HG, Yasargil MG, Wiestler OD (1993) Neuropathological findings in 224 patients with temporal lobe epilepsy. *Acta Neuropathol* 86:433–438.
- Poucet B, Durup M, Thinus-Blanc C (1986) A study of exploratory behaviour as an index of spatial knowledge in hamsters. *Anim Learn Behav* 14:93–100.
- Rice AC, Floyd CL, Lyeth BG, Hamm RJ, DeLorenzo RJ (1998) Status epilepticus causes long-term NMDA receptor-dependent behavioral changes and cognitive deficits. *Epilepsia* 39:1148–1157.
- Save E, Poucet B, Foreman N, Buhot MC (1992a) Object exploration and reactions to spatial and nonspatial changes in hooded rats following damage to parietal cortex or hippocampal formation. *Behav Neurosci* 106:447–456.
- Save E, Buhot MC, Foreman N, Thinus-Blanc C (1992b) Exploratory activity and response to a spatial change in rats with hippocampal or posterior parietal cortical lesions. *Behav Brain Res* 47:113–127.
- Staley K, Hellier JL, Dudek FE (2005) Do interictal spikes drive epileptogenesis? *Neuroscientist* 11:272–276.
- Thinus-Blanc C, ed (1996) *Animal spatial cognition. Behavioral and neural approaches*. Singapore: World Scientific.
- West MJ (1999) Stereological methods for estimating the total number of neurons and synapses: issues of precision and bias. *Trends Neurosci* 22:51–61.
- West MJ, Slomianka L, Gundersen HJ (1991) Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. *Anat Rec* 231:482–497.
- White HS (2002) Animal models of epileptogenesis. *Neurology* 59:S7–S14.
- Winson J (1978) Loss of hippocampal theta rhythm results in spatial memory deficit in the rat. *Science* 201:160–163.
- Yamaguchi Y, Aota Y, Sato N, Wagatsuma H, Wu Z (2004) Synchronization of neural oscillations as a possible mechanism underlying episodic memory: a study of theta rhythm in the hippocampus. *J Integr Neurosci* 3:143–157.
- Zhou JL, Lenck-Santini PP, Zhao Q, Holmes GL (2007) Effect of interictal spikes on single-cell firing patterns in the hippocampus. *Epilepsia* 48:720–731.

## Discussion

Les résultats obtenus dans cette étude peuvent être discutés selon différents points. Tout d'abord, lorsque l'on étudie une pathologie, dans le but de mettre au point des traitements chez l'Homme, il est toujours limitant de travailler sur un modèle animal (cf. discussion générale). Pour cela, une des meilleures confirmations des résultats chez l'animal est de les valider en utilisant plusieurs modèles. Ainsi, l'application des résultats à l'Homme est à faire avec prudence, puisque même si ce modèle est reconnu pour être très similaire à l'ELT humaine, il s'en éloigne aussi selon plusieurs limites (cf. discussion générale). De plus, les électrodes bipolaires avec lesquelles j'ai obtenu les EEG analysés dans l'article ont un diamètre de l'ordre de 300 $\mu$ m, ce qui réduit le champ d'étude. Cette étude macroscopique se justifiait afin d'obtenir des résultats préliminaires sur ce qui n'avait encore jamais été étudié auparavant. De pareilles électrodes permettaient en effet d'évaluer la puissance/fréquence du rythme thêta, mais pas de connaître de quelle structure il provenait, ni même d'être sûr de la couche de l'hippocampe à l'origine du signal enregistré. Ainsi, des variations de thêta interindividuelles pouvaient être dues au fait que pour différents rats, l'électrode captait le signal d'une couche différente de CA1 (tous les rats étudiés avaient leur électrode dans CA1, confirmé après vérification histologique) et on sait en effet que les différents dipôles de thêta au sein de l'hippocampe sont couches-dépendants (Montgomery et al., 2009). Enfin, pour ne pas compliquer la présentation de cette étude, j'ai moyenné à tous les temps étudiés (4, 7, 10, 25 et 40 jours après SE) la puissance du rythme thêta, la fréquence de l'activité interictale avant le test et les performances cognitives au test spatial, afin de regarder s'il y avait une quelconque corrélation entre les deux premières variables et la dernière. Ainsi, je n'ai pas trouvé de corrélation entre la fréquence de l'activité interictale avant le test et les déficits spatiaux. Cependant, une corrélation significative existe à 7 jours post-SE, mais plus après, ce qui n'est pas inintéressant pour évaluer l'évolution de l'état du réseau (cf. étude 5). Pour l'analyse du rythme thêta, j'aurais pu séparer le « thêta cognitif » (8-12 Hz) du « thêta moteur » (4-7 Hz) mais mes analyses préalables ne révélaient rien de significatif et cette dichotomie restant controversée et discutable, j'ai préféré considérer le rythme thêta hippocampique dans son intégralité (4-12 Hz).

### **3. Conséquences de l'activité interictale sur le rythme thêta, au cours de l'épileptogénèse, chez l'Homme et dans le modèle pilocarpine**

#### **Article 2: "Disruption of theta oscillations by interictal activity in temporal lobe epilepsy »**

*(Krieg \*, Chauvière \* et al., 2010 ; soumis à Journal of Neuroscience)*

\* « Equally contributing authors »

À partir de l'étude précédente qui montre que l'activité interictale n'est pas corrélée, en tout cas pas directement, avec les déficits cognitifs spatiaux, une hypothèse était qu'elle aurait un impact sur la puissance du rythme thêta, vu que les déficits cognitifs spatiaux sont positivement corrélés avec une diminution de la puissance du rythme thêta (cf. étude précédente). Cette étude avait donc pour but de tester cette hypothèse, à la fois chez l'Homme (patients ELT, avec ou sans sclérose hippocampique, implantés en SEEG en vue d'une phase d'exploration pré-chirurgicale) et chez l'animal (modèle pilocarpine). Ce dernier a été testé au stade épileptogène précoce (7 jours post-SE), tardif (10 jours post-SE) et au stade chronique (25 jours post-SE). Les résultats, chez l'animal, montrent que c'est bien le cas : dans l'onde après la pointe, la puissance du rythme thêta est significativement diminuée, diminution qui apparaît significative de plus en plus tardivement après la pointe (de 200 à 600 ms) au cours de l'épileptogénèse, mais plus au stade chronique, ce qui va dans le sens d'une évolution de l'état du réseau impliqué. En effet, à 25 jours après SE, la variance des oscillations thêta est la plus importante (comparé à 7 et 10 jours). De plus, une corrélation négative est observée entre les déficits cognitifs et l'activité interictale, au stade précoce de l'épileptogénèse, mais plus après, confirmant cette évolution du réseau. Chez l'Homme, l'activité interictale diminue également l'énergie dans la bande de fréquence thêta (4-8 Hz) chez 3 patients sur 5, patients présentant un hippocampe controlatéral non épileptogène (génère des pointes mais pas de crises). En revanche, chez 2 patients sur 5, présentant un hippocampe ipsilatéral épileptogène (sclérosé), il n'y a pas d'effet de la pointe sur le rythme. Cela peut s'expliquer par le fait que ces patients ont des sites d'enregistrement situés au niveau des régions sclérotiques. Cependant, l'activité interictale ne perturbe pas la phase du rythme thêta (pas de phénomène de « phase-reset », i.e. pas de remise à zéro de la phase) et peut apparaître à n'importe quelle phase du rythme (pas de phénomène de « phase-locking »). Ainsi, ces résultats montrent que l'activité interictale a le même impact sur les oscillations

thêta chez l'animal au cours de l'épileptogenèse et chez les patients ELT avec un hippocampe relativement intact, ce qui suggère que l'effet de l'activité interictale serait dénoté pour des circuits pas encore trop réorganisés. **Ce travail montre que l'activité interictale serait délétère sur les processus cognitifs au cours de l'épileptogenèse, via l'altération du rythme thêta.**

The Journal of Neuroscience

<http://jneurosci.msubmit.net>

Transient impairment of theta rhythm by interictal spikes in epilepsy

Christophe Bernard, Inserm

Julien Krieg, INSERM U751

Laëtitia Chauvière, INSERM U751

Manling Ge, INSERM U751

Antoine Ghestem, U751

Fabrice Bartolomei, INSERM U751

Christian Bénar, INSERM

Commercial Interest: No

**Transient impairment of theta rhythm by interictal spikes in epilepsy**

**Abbreviated title: Interictal spikes transiently impair theta rhythm**

**Julien Krieg\*, Laetitia Chauviere\*, Manling Ge\*, Antoine Ghestem, Fabrice Bartolomei, Christian Bénar, Christophe Bernard**

\* equally contributing authors

**Inserm UMR 751, Université de la Méditerranée, Marseille, France**

Corresponding author  
Christophe Bernard  
INSERM U 751  
27 Bd Jean MOULIN  
13385 MARSEILLE CEDEX 05  
Tel: 33 (0)4 91 29 98 06  
Fax: 33 (0)4 91 78 99 14  
[christophe.bernard@univmed.fr](mailto:christophe.bernard@univmed.fr)

8 Figures, 1 Table

XX pages

Abstract, 215 words; Introduction, 494 words; Discussion, 1499 words.

**Key words:** Temporal lobe epilepsy, Theta Rhythm, Epileptiform, Hippocampus, Rat, Human

**Acknowledgements:** Supported by funds INSERM and ANR MINOS, and by a fellowship to LC from FRM. MG was supported by the Ministry of Education in China. We thank Pr. P. Chauvel and Pr. J. Régis for their clinical and surgical assessments of patients.

## Abstract

Epileptic circuits in temporal lobe epilepsy (TLE) are characterized by the presence of different types of interictal activities, in particular spikes followed by a wave (SW). Theoretical and *in vitro* experimental arguments suggest that SWs could have an inhibitory action, raising the possibility that they may interfere with cognitive processes. To address this issue we investigated the impact of SWs on theta oscillations, a rhythm central to numerous cognitive functions, in the hippocampus of patients with intractable epilepsy and in an experimental rat model of TLE during epileptogenesis. We found that SWs were not phase locked to and were not phase resetting theta oscillations. However, SWs transiently impaired theta oscillations during rest periods in patients and exploration in experimental animals. This effect was prominent in non-epileptogenic structures in patients and during the early stage of epileptogenesis in experimental TLE. We propose that the mobilization of GABAergic circuits during SWs transiently exhausted the ability of the system to generate oscillations. A transient impairment of theta oscillations may affect specific cognitive events such as encoding, replay or consolidation, as suggested by the negative correlation we found between Interictal activity and performance in a spatial memory task in experimental TLE. We propose that interictal spikes, via their negative impact on theta rhythm, can have deleterious consequences on cognition.

## Introduction

Interictal activity (IA), an electrophysiological signature of an epileptic brain, takes various shapes, ranging from rapid spikes, poly-spikes, to spikes and waves (SWs), i.e. spikes immediately followed by a wave (Alarcon et al., 1997; Demont-Guignard et al., 2009). At a macroscopic scale, IA likely involves reverberating networks in a reorganized circuitry (Buzsaki et al., 1989; Buzsaki et al., 1991; Cossart et al., 2001; El-Hassar et al., 2007; Demont-Guignard et al., 2009). At the cellular level, the spike and wave seem produced by the synchronous discharge of glutamatergic neurons and the activation of GABAergic circuits, respectively (De Curtis M. et al., 1998; de and Avanzini, 2001; Demont-Guignard et al., 2009).

The role, function, and impact of IA are not clearly established. In experimental models of temporal lobe epilepsy (TLE), IA appears at early stages of epileptogenesis, the process that leads to epilepsy (Hellier et al., 1999; Mazarati et al., 2002; Shah et al., 2004; Cobos et al., 2005; Staley et al., 2005; El-Hassar et al., 2007; Williams et al., 2009; White et al., 2009). IA may not only be directly involved in the construction of epileptogenic networks (Staley et al., 2005; Bartolomei et al., 2008), but also be predictive of the development of epilepsy (Williams et al., 2009). Functionally, IA may be causally related to seizure genesis since it can occur before seizure onset (King et al., 1997; Bartolomei et al., 2004; Palmieri, 2006), but an anti-epileptogenic role of IA has also been proposed (Gotman, 1991; Avoli et al., 2002). At a more integrated level, IA may have a negative impact on cognitive functions (Kasteleijn-Nolst Trenite et al., 1988; Kasteleijn-Nolst Trenite et al., 1990a; Kasteleijn-Nolst Trenite et al., 1990b; Liu et al., 2003; Lenck-Santini and Holmes, 2008), but the issue remains debated (Aldenkamp et al., 2001). The lack of a clear picture may reflect the fact that the role, function, and impact of IA may depend upon the cognitive state, the type of spike

generated and time (during epileptogenesis). We thus focused on exploration in animals and rest state in patients, and on SWs. Exploration and rest are characterized by sustained theta (4-10 Hz) oscillations, a rhythm central to numerous cognitive processes (Buzsaki, 2006). Since theta oscillations depend upon the recruitment of GABAergic circuits (Buzsaki, 2002; Gloveli et al., 2005; Buzsaki, 2006), and since the wave in SWs engages GABAergic circuits (De Curtis M. et al., 1998; de and Avanzini, 2001; Demont-Guignard et al., 2009), we hypothesized that SWs would transiently alter theta oscillations, hence cognitive functions.

We performed a longitudinal study during epileptogenesis to test the impact of SWs on theta rhythm in the pilocarpine model of TLE, and validated our results in patients. Here we show that SWs transiently decreased theta rhythm power after the spike, the inhibitory effect varying during epileptogenesis. SWs had a similar impact on theta rhythm recorded in patients during rest. The possible functional impact of the SW-induced disruption of a rhythm central to numerous cognitive processes is discussed.

## Materials and Methods

**Animals.** Recordings were performed during the light phase of the cycle on a total of 10 adult male Wistar rats (200-250g, Charles River, France).

**Electrode implantation.** Rats were anesthetized with ketamine (1mg/kg)/xylazine (0.5mg/kg) and placed in a stereotaxic apparatus. One bipolar steel electrode was implanted in the dorsal hippocampus (3.8 mm antero-posterior, 1.5 mm medio-laterally and 3.0 mm dorso-ventral from the bregma). Three stainless-steel cortical electrodes were screwed on the skull (two screws in the right and left frontal cortex, and the reference in the cerebellum).

**Treatment.** 10 rats received intraperitoneally (ip) injections of pilocarpine hydrochloride (310 mg kg<sup>-1</sup>), 30 min after a preliminary scopolamine injection (1mg/kg). Status epilepticus (SE) was stopped by diazepam (8 mg/kg) after 40 minutes. Furthermore, their electrophysiological (e.g. theta rhythm), behavioral and cognitive physiological properties were similar to saline treated and control animals (Chauviere et al., 2009).

**In vivo depth EEG recordings.** Extracellular recordings (Deltamed, Paris, France), were performed during the light phase, in a circular openfield (80 cm in diameter, 80 cm high) at fixed time points (Day 7, D10, D25 and D40). Behaviours were noted, in particular exploration behaviours. For more details, see (Chauviere et al., 2009). The sampling rate of this recording system was 256 Hz. A video-system (Video Track, View Point, France) was used to quantify behaviour during recording sessions.

**Epileptic patients.** Intracortical electrodes (SEEG) are routinely implanted in drug-resistant patients for their pre-surgical evaluation. We selected a set of five patients

satisfying the following conditions. (i) Recording sites included the hippocampus contralateral to the epileptogenic zone (P1, P2 and P3, as determined *post hoc*) and the hippocampus ipsilateral to the epileptogenic zone (P4 and P5). (ii) Rest periods with and without interictal spikes could be identified and extracted. (iii) Interictal spikes had a shape with a large depolarisation followed by a slow-wave (SW). The five patients satisfying these conditions were informed of data collection and analysis, and gave their consent. Clinical information is provided in Table 1. The sampling rate of the recording was 256 Hz. It is important to note that TLE patients are now very rarely explored with SEEG, since neurosurgery is usually decided straight away following the phase 1 evaluation. This explains the relatively low number of patients who could be analyzed (given our selection criteria for inclusion).

### **Data Selection**

To assess the presence of spikes during theta ongoing rhythms, we have considered time periods during which rats were exploring the open field, before and after pilocarpine induced SE. Seven rats (Rat 1 to Rat 7) out of 10 were exhibiting IAs bursts during these periods and the corresponding recordings were then used in the study of the dynamic relationship of IAs and the dominant theta background. In order to mark periods with theta activity without spikes, we reviewed signals both before and after pilocarpine injection. Theta activity was identified using Time-Frequency plots. With these criteria, six rats (Rat 5 to Rat 10) out of 10 displayed theta activity without spikes. They were used to estimate the general stability of theta rhythm.

In order to help in the marking of spike peaks, electrophysiological data was filtered by a Basic FIR low-pass filter at a cut-off frequency of 15Hz (preserving the theta frequency

band). Then, SWs were marked at the maximum amplitude of smoothed spikes. These time markers were copied on the unfiltered dataset. SWs were then epoched so that we kept signal before and after the chosen spike for 2 seconds. Artefacts rejection was applied so that no spurious signal, apart from slow waves (0.5 to 2Hz), could be visually detected in 1-second interval before and after the selected SWs (Figure 1). A SW was selected for further analysis if it occurred at least one second after the preceding spike and wave, and one second before the next spike, during IA bursts while the rat was exploring. This selection procedure removed possible bias induced by the preceding wave on the rhythm occurring before the analyzed spike. For each animal, at each time point during epileptogenesis, at least 100 SWs were extracted from recordings to be analysed. The same methodology was applied per patient in human datasets during rest periods.

Finally, at each time point of epileptogenesis (D7, D10 and D25 post SE, all rats) and before injection (rat 5 to 10), we selected control epochs of theta rhythm without the presence of IAs, during exploration in animals and rest in patients.

### **Signal Processing and Statistical Tests**

For each dataset, we applied wavelet transforms with Gabor atoms on each trials, with an oscillatory coefficient  $\xi=3$ . Then, the mean value of time-frequency plane across trials was calculated (Figure 2A).

This method can reveal ongoing oscillatory signals, which can neither be seen on the mean ERP nor on the Wavelet Transform of the mean ERP. Time 0 was taken at the peak of the spike. The power in the theta band for each trial was first determined before the spike from -800 to -200 ms, and was called the theta baseline energy. The -200 ms limit was chosen so as to be far enough of the onset of the spike. In the post-spike period, from +200

to + 1000 ms, we used 4 consecutive time intervals; lasting 200 ms each (termed respectively A, B, C, and D intervals). The +200ms limit was found to be far enough from the spike (considering all spikes from all datasets), so that the energy due to the spike was not contaminating the underlying oscillation in the theta frequency band. The ratio of energy of theta band after the spike, in those intervals, against the baseline energy (before the spike), was then calculated. The same procedure was performed in periods devoid of SWs (control dynamic). To ensure that border effects did not bias the analysis, all wavelet transforms were applied in 4s-long time windows, whereas measurements were displayed from -800 to 1000ms.

To test the impact of IA on theta rhythm, we compared for each of the 7 rats (Rat 1 to Rat 7), and each of the recordings day, the distribution of the energy ratio (A/Baseline, B/Baseline, C/Baseline and D/Baseline) from datasets with spikes against datasets without spikes during exploration episodes. To test if the median of the distributions of energy ratios was significantly different, we used a 100 trial permutation analysis using the Wilcoxon test. Means of original distributions were considered as statistically different if the p-value ( $<0.05$ ) was counted in 5% of lowest p-value of all permutations.

In a previous study, we reported that theta rhythm was compromised soon after the initial SE, its power being reduced by 50% and its mean frequency slightly shifted toward lower values (Chauviere et al., 2009). Theta oscillations are not stable sinusoids *in vivo* in physiological conditions; e.g. their amplitude constantly varies, even during a given brain state (Buzsaki, 2006). Such instability is thus a characteristic, intrinsic property of the neuronal networks. We used the Rat 5 to Rat 10 subset (in which theta periods without spikes could be identified) to characterize the stability of theta before SE and during the epileptogenesis during exploration periods without SW (each animal is thus its own control).

To this aim, we calculated the ratio between the power during the baseline of our trials without SW (*Epre*), and the mean power through periods A, B and C (200 to 800 ms, *Epost*). Ten iterations of uniform random selection of 100 trials into exploration data for those 6 rats were taken in the longitudinal study. Thus 600 power ratios were used to measure the energy ratio variance before SE and during epileptogenesis. During one iteration, we obtained four distributions of energy ratios relative to longitudinal steps of epileptogenesis. We found that the logarithm ratios ( $\log(Epre/Epost)$ ) had a normal distribution ( $p < 0.05$ ). Then, each distribution belonging to one step of epileptogenesis was compared to each other with a classical t-test on the variance of those distributions. The statistical threshold of distribution with different variance was set at  $p = 0.05$ . All measures were performed using MATLAB 2009 (The Mathworks, Natick, MA). In patients, one hundred and twenty trials during rest were extracted in datasets (5 patients, 600 trials in total) for empirical comparison with energy ratios distributions of rats.

We used the Phase Locking Factor (PLF, (Lachaux et al., 1999)) to test if spike occurrence was dependent upon the phase of the underlying theta cycle. Phase locking across trials (in 3-20Hz frequencies; Gabor wavelet,  $\xi = 3$ ) in the pre-spike period was compared with phase locking in the post-spike period (baseline: 200 to 800ms) for each rat (rats 1 to 7), during each epileptogenesis time points (Day 7, D 10 and D25).

Theta oscillations can be perturbed, and even reset, by strong external excitatory inputs (see, Zugaro et al., 2005). Since SWs correspond to the firing of a large population of neurons, probably driven by strong excitatory inputs (Demont-Guignard et al., 2009), we tested whether SWs could reset theta ongoing oscillations. In order to rigorously quantify phase reset, we used the Second Trigonometric Moment across trials (Martinez-Montes et al., 2008), which measures the “phase alignment” across trials, after removing the mean

potential to each trial. The phase alignment of ongoing rhythms (in 3-20Hz frequencies; Gabor wavelet,  $\xi=3$ ) is considered as the phase reset dynamic if it is coherent with a drop in power variance. We compared the post-spike and the pre-spike phase alignment (baseline: -800 to -200ms) for each rat (rats 1 to 7), during each epileptogenesis time points (Day 7, D10 and D25).

### **Data Simulation**

To check the validity of our analysis method, we tested each recording using two sets of simulations. Our goal was to determine whether energy variations of theta rhythm stemmed from the spectral shape of the SWs or were due to the intrinsic theta dynamic in the hippocampal network. Simulations were based on the simple hypothesis of additivity between the energy of the spike and the energy of the ongoing rhythm. The models were based on the recorded dataset. For each model, the same number of trials than in the real dataset was created. Each simulated trial included a 6 Hz sine wave with random uniform distribution of phases across trials. Each trial had the same power envelope. This envelope was chosen so that the amplitude of the ongoing rhythm from -800 to 1000 ms was equal to the mean amplitude of the baseline of the original dataset with the mean spike removed to each trial. Then, for each real datasets, the mean spike across trials was calculated, and simply added on each simulated sine wave. In model 1, the shape of the spike was not modified across trials. In model 2, the amplitude and width of spike was changed to mimic the size variation of spikes measured during recordings (Fig. 1). It also allowed us to vary the spectral power of the spike and its resulting impact on the theta rhythm. Variable spike shape was obtained by splitting the original mean spike potential in constant shorter time interval across trials. Spike amplitude was distributed between 5% and 100% of the original

mean spike potential. This procedure resulted in a population of spikes in Model 2, which average amplitude was half of the mean spike potential as compared to Model 1. For some datasets, before addition on ongoing rhythms, the mean spike potential was previously multiplied by an empirical coefficient (the same for both simulations) so that energy at the peak of the spike in Model 1 was equal to the mean spike energy in the real dataset.

In the post-spike period, two theta rhythm power dynamics were simulated for each model. In the first case, the power of the theta rhythm is left unchanged. In the second case, theta ongoing energy decreased from -200 to 200ms where it reaches 70% of the baseline power. The latter envelope was smoothed with the wavelet filter used in power estimations (Gabor,  $\xi=3$ ). Our aim was to validate our detection method, i.e. whether variation of theta ongoing rhythms can be observed, in 200 ms long windows, despite the presence of a spike and wave.

## **Results**

### **General properties of theta oscillations and SWs**

The reorganization of the neuronal networks during epileptogenesis (Morimoto et al., 2004; El-Hassar et al., 2007), may alter not only the basic features of theta rhythm (Chauviere et al., 2009) but also its stability. We thus measured the variance of the power of theta oscillations during epileptogenesis, taking as a reference point the theta rhythm recorded in each animal during exploratory activity, seven days before pilocarpine injection. Each experimental animal (rat 5 to 10) was thus its own control. At all time points, the distribution of  $\log(E_{pre}/E_{post})$  followed a normal distribution ( $p<0.05$ ), which was fitted by a Gaussian function. The width of the Gaussians at 7 and 10 days (no difference between both functions) was larger than that measured before pilocarpine injection ( $p<0.05$ , Fig. 3).

It was further increased at D25, during the chronic period ( $p < 0.05$ , Fig. 3). These results indicate that theta becomes increasingly unstable during epileptogenesis. As previously reported (Chauviere et al., 2009), theta was stable in sham animals analyzed over a 40 days period, their distributions being similar at different recording times (not shown).

Interestingly, theta rhythm displayed the same instability in patients (Fig. 3). Taking each clinical pattern into consideration, P4 and P5 with ipsilateral recordings to the hippocampal sclerosis showed empirical higher rhythm variance than P1, P2 and P3. It is obviously not possible to know the properties of theta before the patients became epileptic or before they had their initial insult, but the homology with experimental animals suggests that the stability of theta rhythm is also altered in patients (at least with the test used here) and that this instability is coherent with the degree of the hippocampal alteration.

In experimental TLE, IA mostly occurred as bursts of spikes (Fig. 1B). We selected bursts of spikes mainly composed of SWs. The amplitude and duration of the spike and of the wave showed a tendency to decrease during each of these bursts (Fig. 1B). In patients, SWs did not show such clear temporal organization (Fig. 1B). SW dynamics during epileptogenesis will be analyzed in a different study.

Exploratory activity in experimental animals and rest states in patients were characterized by the presence of both theta rhythm and IA. We then analyzed the relationship between theta oscillations and SWs.

### **SWs are not phase-locked on theta and do not reset theta phase**

Theta oscillations correspond to different alternating sources and sinks of currents along the somato-dendritic axis of pyramidal cells in the CA1 region of the hippocampus (Buzsaki, 2002; Montgomery et al., 2008). Some of these sources and sinks represent the

result of the activation of GABAergic and glutamatergic circuits, which would render the network reluctant or prone to generate other types of activities. For example, gamma rhythm (40-80 Hz) is often nested into theta, with a preference to the trough of the oscillation, where principal neurons are most depolarized (Sirota et al., 2008). A similar mechanism could be at play for SWs, i.e. their time of occurrence would depend on the phase of the underlying theta rhythm. If this hypothesis were correct, SWs would appear phase locked to theta oscillations. A rapid inspection of the datasets did not reveal obvious phase locking of spikes on the theta rhythm, which would have appeared as at least one clear theta cycle preceding each spike SW at the same phase on most trials (e.g. Fig. 1). In order to rigorously quantify phase locking, we used PLF (Lachaux et al., 1999). Figure 4A shows the time frequency plane of PLF measures. For visualisation, significant phase locking activity ( $p < 0.01$ ) were averaged across rats (rat 1 to 7) at three stages of epileptogenesis, 7, 10 and 25 days following SE. PFL did not reveal robust phase locking of SWs in the underlying theta activity during the pre spike period (Fig. 4A). Similar results were obtained with the dataset obtained in TLE patients (not shown).

A rapid inspection of the datasets did not reveal obvious phase reset, which would have appeared as at least one clear and constant theta cycle after each SW on each trial (e.g. Fig. 1). Figure 4B shows the time frequency plane of STM measures during epileptogenesis. There was no phase reset of the theta rhythm induced by spike dynamic in the post-spike period (Fig. 4B). However, during the chronic period, some animals showed an enhancement of the STM response after the spike (light blue band). Looking at signal variance dynamics in each dataset (data not shown), those phase alignments may arise from the increase in signal variance in the post-spike period in chronic stages of epilepsy, without phase resetting

dynamics. Thus, the enhancement of STM activity in the theta band after the spike is an artefact of both the morphology of the wave and the theta instability, not a simple manifestation of an installed theta phase reset mechanism. Similar results were obtained with the dataset obtained in TLE patients (not shown).

Together, these results show that SWs are not phase locked to theta oscillations, and they do not strictly reset their phase across trials.

### **Theoretical analysis of SW impact on theta rhythm**

The analysis of the impact of SW on theta presented in the next section is based on wavelet decomposition and theta power measurement. Power measurements were performed in time windows of 200 ms length after each spike, which represents 1.2 average theta cycles (at 6Hz), i.e. at the limit of the time resolution of the analysis technique. Furthermore, the relatively long duration of the spike and wave adds energy in the theta frequency band. In order to test the validity of our analysis technique, we performed computer simulations. An artificial sine wave, which amplitude was the average of the measured theta oscillations *in vivo*, was generated, using the recordings performed in Rat 3 at D25 (Fig. 5A). We then applied the mean spike potential of the dataset on the simulated theta rhythm. In one set of simulations, we used one SW with fixed shape, whilst in the other set, we changed the SW properties (amplitude and duration), to take into account SW variability (Fig. 1). In both cases, there was a transient increase in power, demonstrating that the SW does provide by itself energy in the theta band (Fig. 5B). We conclude that the shape of SWs may induce an increase in power in the theta band on each trial.

In the second set of simulations, we wanted to test the validity of the method of analysis. Instead of using oscillations with constant amplitude, the amplitude of theta sine

waves started to decrease at -200 ms to reach 70% of the original value at time 0 (Fig. 5C, red dots). In the presence of SWs, the decrease in power in the post-spike period was masked by the increase in theta power due to the spike shape (Fig. 5C). After the wave, the energy corresponds to that of the theta oscillation, showing that the time windows used here are sufficient to detect variations in theta power. We conclude that decrease in theta power after the spike will be systematically underestimated in real datasets.

### **Transient decrease in theta power induced by SWs during epileptogenesis**

Figure 6 shows the impact of SWs on theta rhythm during exploration, and the longitudinal evolution of this disturbance. At D7, a large decrease in theta energy is found in the early post-spike period (Fig. 6A). All rats tested showed a significant drop in theta energy (35%) between 200ms to 400ms (period A). The energy of theta rhythm recovered its initial power between 600ms and 1000ms (periods C and D). The effect of SWs on theta oscillations may depend upon the baseline energy of theta oscillations. Separating the datasets between high and low baseline theta power led to similar results at D7 (Figs. 6B-C).

At D10 (Fig. 6, middle column), the decrease in power is smaller (20%) than at D7, and significant for 6 out of 7 animals, but showed a tendency to last longer than at D7. The same behaviour was found in high and low energy conditions.

At D25 (Fig. 6, right column), only 2 animals displayed decreased theta energy after the SW. However, in high theta energy conditions in the pre-spike period the decrease was significant and long lasting for a majority of animals.

Together, these results show that SWs have a strong negative, but transient, impact on theta energy at an early stage of epileptogenesis. At later stages, the effect is less strong, but more sustained, in particular in high theta energy baseline conditions.

### **SW effect on theta rhythm in epileptic patients**

Using the same methodology as described above, we found a significant decrease in theta energy during the early post-spike period in 3 out of 5 patients (Fig. 7). Patients P1, P2 and P3 showed a transient decrease in theta energy between 200 and 600 ms post SW. In addition, P1 and P2 displayed a large rebound increase in power between 600 and 1000 ms. Simulations (Fig 7C) suggest that increases in energy are explained by the spectral shape of the slow wave which, according to our chosen time-frequency parameters, is bringing energy in the theta band power. This is clearly apparent in P2, where the energy of the SW masked the decrease in theta power during the A period. Finally, P4 and P5 did not show any significant decrease or increase of theta rhythm in the post-spike period, which could be explained by the fact that the recording sites were located in sclerotic regions (see discussion). This suggests that SWs have the same effect on theta oscillations in patients with a relatively intact hippocampus as in animals during the early stage of epileptogenesis.

### **Interictal activity correlates with cognitive deficits at an early stage of epileptogenesis**

Since theta oscillations are central to numerous cognitive processes (Buzsaki, 2006), and since the present results show that SWs can alter theta dynamics, in particular at D7, can SWs have a negative impact on cognitive performance? In a previous study, we found that hippocampus-dependent spatial memory was impaired soon after SE, whilst hippocampus-independent non-spatial memory was preserved (Chauviere et al., 2009). However, we did not find a correlation between interictal activity and cognitive performance in the spatial memory task, when pooling all experimental days (Chauviere et al., 2009). The present study revealed that SW activity is particularly present at an early stage of

epileptogenesis (not shown, it is the subject of a forthcoming study), and that SW effect on theta is prominent at D7. We thus went back to the behavioural study and extracted the data collected at D7, and investigated the animals displaying IA at D7 during the test. We now found a significant negative correlation between the frequency of SWs and performance during the spatial task (Figure 8).

## DISCUSSION

These results show that IA has a transient negative impact on theta oscillations at an early stage of epileptogenesis in experimental animals and in the non-epileptogenic hippocampus in patients. Since theta rhythm is strongly associated with cognitive performance, the transient inactivation of theta oscillations by SWs may contribute to the cognitive deficits found in experimental and human TLE.

### **Validity and limitations of the study**

The theoretical approach shows that interictal events with low frequency spectral components do provide power in the theta band. The decrease in theta energy detected after the peak of SWs was thus underestimated, in particular during the chronic stage. Although the discrete 200 ms analysis window was at the limit of energy dynamic estimations, modelling showed that theta dynamics could be captured with 200 ms long windows. We have focused our analysis on SW events, but many forms of interictal spikes exist (Alarcon et al., 1997; Demont-Guignard et al., 2009), in particular short spikes without waves. The latter occurred at a greater frequency than SWs in experimental TLE, in particular during late stages of epilepsy (not shown), preventing us to reliably analyze their effect of theta dynamics. However, our goal was to analyze the impact of the wave, which is supposed to be the result of the activation of GABAergic circuits.

We have shown that theta stability decreased during epileptogenesis. Our estimation was based on the variance of the ratio of power quantities between baseline and ABC periods. Theta stability was thus measured during 2s-long windows, which cannot reflect the global dynamics of theta oscillations. However, testing for the amplitude stability in those

time intervals revealed coherent differences during epileptogenesis steps. Further studies may test the hypothesis of theta stability as a marker of the evolution of hippocampal tissue damaging in TLE patients.

Recording sites were located in the CA1 stratum lacunosum moleculare in animals, because theta has a maximal power there (Buzsaki, 2002), and in the hippocampus in patients. There are different theta generators in the hippocampus (Buzsaki, 2002; Kocsis and Kaminski, 2006; Montgomery et al., 2008), but the use of bipolar electrodes did not allow us to investigate the location of sources and sinks, and the impact of SWs on the different generators. This issue needs to be addressed with multisite linear probes. However, the fact that effects could be measured with large size electrodes, in particular in patients, is in favour of a global effect of SWs on the network.

Finally, although not the focus of the present study, we noted that SW tended to extinguish all frequency bands (up to 128 Hz), in particular the gamma band (40-80 Hz), consistent with the global Inhibitory nature of the wave. Bouts of high frequency oscillations (gamma) are associated to cognitive processes such as binding and encoding (Buzsaki, 2006), and their transient extinction may have a negative cognitive outcome (see below).

### **IA phase reset/locking and its genesis mechanism**

Modelling studies suggest that the reorganization of the circuitry in the CA1 region is sufficient to enable SW genesis within CA1 (El-Hassar et al., 2007), but other generators may exist, e.g. the entorhinal cortex, which also constitutes a theta generator (Buzsaki, 2006). If SW and theta share the same circuitry, do they interact with each other? The lack of phase locking suggests that the different phases of theta oscillations provide neither favouring nor opposing conditions for the occurrence of SWs. The lack of phase reset suggests that SWs do

not drive the genesis of theta oscillations. Studies performed *in vitro* outside an oscillatory context suggest that SWs can emerge locally, via the recruitment of a local population of neurons (de la Prida et al., 2006). The transition to IA is associated with an increase in synaptic/firing noise (de la Prida et al., 2006), suggesting a mechanism involving stochastic resonance (Stacey et al., 2009). If such a mechanism is also at play *in vivo*, SWs could occur locally, independently from the global network dynamics, and without a strong impact on it.

### **Impact of SWs on theta rhythm**

We found that IA decreased theta power after the spike in experimental and human TLE. The impact of SWs was more important at an early stage of epileptogenesis in experimental TLE, before the occurrence of spontaneous seizures. At that stage, although reorganized, the inhibitory pathways are still partly functional (El-Hassar et al., 2007). If the wave indeed recruits GABAergic pathways (De Curtis M. et al., 1998; Demont-Guignard et al., 2009), we can propose that the wave transiently used local GABAergic resources, to the detriment of theta oscillations, which also depend upon the activation of GABAergic circuits (Gloveli et al., 2005; Buzsaki, 2006). After the wave, the local network recovered to its pre-SW state. The impact of SWs on theta tended to decrease later during epileptogenesis, in particular during the chronic period (D25) and in low baseline theta energy conditions, although it is important to note that SW effect was underestimated because the shape of interictal spikes provided energy in the theta band. The further impairment of GABAergic circuits during the chronic stage (El-Hassar et al., 2007), may have a dual functional impact: (i) the degradation of theta oscillations in terms of stability (present study), and power and frequency (Chauviere et al., 2009), and (ii) the difficulty to recruit GABAergic circuits. However, in high theta energy conditions, SWs had a dampening effect on theta, which was

more long lasting than during the latent period. During the chronic period, the surviving interneurons are hyperactive (Cossart et al., 2001), and fire bursts of action potentials (Esclapez et al., 1997). In this context, the activation of GABAergic circuits would be more sustained, prolonging the effect on theta.

The recordings performed in patients are consistent with this general functional scheme. One patient (P4) with hippocampal sclerosis displayed low energy theta, perhaps because only few neurons remain to generate a field potential, with no effect of SWs on theta oscillations. The other patient with hippocampal sclerosis (P5) displayed particular SWs, with a wave prolonging the spike, which should correspond to a prolonged depolarization of neurons (Demont-Guignard et al., 2009). In contrast, in the three patients (P1, P2, P3) recorded in the contralateral (to the epileptogenic zone) hippocampus, SWs had the same effect on theta, as in experimental animals. The circuitry in these hippocampi is likely less reorganized/damaged than that of epileptogenic regions, with more intact GABAergic circuits, which could correspond to the early stage of epileptogenesis in experimental animals.

### **Possible effects on cognitive performance**

Theta rhythm is altered in human and experimental TLE (Mormann et al., 2005; Bettus et al., 2008; Chauviere et al., 2009). One function of theta rhythm is to provide a time metric. Information is carried by the precise timing of action potential firing at specific phases of theta oscillations. A degradation of the stability of theta oscillations, as reported here, could negatively impact on this timing mechanism and alter information processing and coding. Consistent with this scheme, hippocampal place cell fields, which require precise firing of cells during theta cycles (O'Keefe and Recce, 1993; Tsodyks et al., 1996), are

unstable in experimental animals (Liu et al., 2003; Lenck-Santini and Holmes, 2008). The transient dampening of theta rhythm by SWs could have a similar effect, although it would be short-lived, lasting 1-2 theta cycles, perhaps not long enough to negatively impact on coding spatial location. However, encoding, replay, or transfer of memory occurs during very few cycles, information being highly compressed in time (Buzsaki, 2006). If these processes are activated during the wave of a spike, they will likely be disrupted. As a result, encoding new information and long-term memory storage would be altered, deficits that are found in human and experimental TLE (Helmstaedter and Kockelmann, 2006; Chauviere et al., 2009; Helmstaedter and Elger, 2009). Consistent with this scheme, we found a negative correlation between SW activity and cognitive performance. However, caution must be exerted, as correlation does not mean causality. As a working hypothesis, we propose that SWs could have a direct deleterious effect on cognition at an early stage of epileptogenesis. Later, SWs have less impact on theta, because during the chronic stage the neuronal circuits are more severely damaged, this disorganization being the main cause of cognitive deficits.

### **Conclusion**

Whether or not IA should be treated is a controversial topic in epilepsy research, because its effect may depend upon the type of IA, the context (brain states) and most importantly time (when during epileptogenesis). In our conditions, we found that SWs can transiently impair theta rhythm in human and experimental TLE, and that interictal activity correlates with cognitive degradation in experimental animals when the circuitry is not too damaged. This is consistent with the proposed general inhibitory “anti-epileptogenic” action of IA, a property that disappears with the degradation of the neuronal circuitry (Avoli et al., 2002). Our conclusions may apply to other pathologies. Since interictal activity occurs in

Alzheimer Disease models at very early stages (Palop et al., 2007), it may also have a direct negative impact on cognitive performance.

## Reference List

Alarcon G, Garcia Seoane JJ, Binnie CD, Martin Miguel MC, Juler J, Polkey CE, Elwes RD, Ortiz Blasco JM (1997) Origin and propagation of interictal discharges in the acute electrocorticogram. Implications for pathophysiology and surgical treatment of temporal lobe epilepsy. *Brain* 120 ( Pt 12):2259-2282.

Aldenkamp AP, Arends J, Overweg-Plandsoen TC, van Bronswijk KC, Schyns-Soeterboek A, Linden I, Diepman L (2001) Acute cognitive effects of nonconvulsive difficult-to-detect epileptic seizures and epileptiform electroencephalographic discharges. *J Child Neurol* 16:119-123.

Avoli M, D'Antuono M, Louvel J, Kohling R, Biagini G, Pumain R, D'Arcangelo G, Tancredi V (2002) Network and pharmacological mechanisms leading to epileptiform synchronization in the limbic system in vitro. *Prog Neurobiol* 68:167-207.

Bartolomei F, Chauvel P, Wendling F (2008) Epileptogenicity of brain structures in human temporal lobe epilepsy: a quantified study from intracerebral EEG. *Brain* 131:1818-1830.

Bartolomei F, Wendling F, Regis J, Gavaret M, Guye M, Chauvel P (2004) Pre-ictal synchronicity in limbic networks of mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 61:89-104.

Bettus G, Wendling F, Guye M, Valton L, Regis J, Chauvel P, Bartolomei F (2008) Enhanced EEG functional connectivity in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 81:58-68.

Buzsaki G (2002) Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 33:325-340.

Buzsaki G (2006) *Rhythms of the Brain*. New York: Oxford University Press Inc.

Buzsaki G, Hsu M, Slamka C, Gage FH, Horvath Z (1991) Emergence and propagation of interictal spikes in the subcortically denervated hippocampus. *Hippocampus* 1:163-180.

Buzsaki G, Ponomareff GL, Bayardo F, Ruiz R, Gage FH (1989) Neuronal activity in the subcortically denervated hippocampus: a chronic model for epilepsy. *Neuroscience* 28:527-538.

Chauviere L, Raftafi N, Thinus-Blanc C, Bartolomei F, Esclapez M, Bernard C (2009) Early deficits in spatial memory and theta rhythm in experimental temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 29:5402-5410.

Cobos I, Calcagnotto ME, Vilaythong AJ, Thwin MT, Noebels JL, Baraban SC, Rubenstein JL (2005) Mice lacking *Dlx1* show subtype-specific loss of interneurons, reduced inhibition and epilepsy. *Nat Neurosci* 8:1059-1068.

Cossart R, Dinocourt C, Hirsch JC, Merchan-Perez A, De FJ, Ben-Ari Y, Esclapez M, Bernard C (2001) Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. *Nat Neurosci* 4:52-62.

De Curtis M., Manfredi A, Biella G (1998) Activity-dependent pH shifts and periodic recurrence of spontaneous interictal spikes in a model of focal epileptogenesis. *J Neurosci* 18:7543-7551.

de la Prida LM, Huberfeld G, Cohen I, Miles R (2006) Threshold behavior in the initiation of hippocampal population bursts. *Neuron* 49:131-142.

de Curtis M, Avanzini G (2001) Interictal spikes in focal epileptogenesis. *Prog Neurobiol* 63:541-567.

Delorme A, Makeig S (2004) EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG dynamics including independent component analysis. *J Neurosci Methods* 134:9-21.

Demont-Guignard S, Benquet P, Gerber U, Wendling F (2009) Analysis of intracerebral EEG recordings of epileptic spikes: insights from a neural network model. *IEEE Trans Biomed Eng* 56:2782-2795.

El-Hassar L, Milh M, Wendling F, Ferrand N, Esclapez M, Bernard C (2007) Cell domain-dependent changes in the glutamatergic and GABAergic drives during epileptogenesis in the rat CA1 region. *J Physiol* 578:193-211.

Esclapez M, Hirsch JC, Khazipov R, Ben-Ari Y, Bernard C (1997) Operative GABAergic inhibition in hippocampal CA1 pyramidal neurons in experimental epilepsy. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:12151-12156.

Gloveli T, Dugladze T, Saha S, Monyer H, Heinemann U, Traub RD, Whittington MA, Buhl EH (2005) Differential involvement of oriens/pyramidal interneurons in hippocampal network oscillations in vitro. *J Physiol* 562:131-147.

Gotman J (1991) Relationships between interictal spiking and seizures: human and experimental evidence. *Can J Neurol Sci* 18:573-576.

Hellier JL, Patrylo PR, Dou P, Nett M, Rose GM, Dudek FE (1999) Assessment of inhibition and epileptiform activity in the septal dentate gyrus of freely behaving rats during the first week after kainate treatment. *J Neurosci* 19:10053-10064.

Helmstaedter C, Elger CE (2009) Chronic temporal lobe epilepsy: a neurodevelopmental or progressively dementing disease? *Brain* 132:2822-2830.

Helmstaedter C, Kockelmann E (2006) Cognitive outcomes in patients with chronic temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 47 Suppl 2:96-98.

Kasteleijn-Nolst Trenite DG, Bakker DJ, Binnie CD, Buerman A, Van RM (1988) Psychological effects of subclinical epileptiform EEG discharges. I. Scholastic skills. *Epilepsy Res* 2:111-116.

Kasteleijn-Nolst Trenite DG, Siebelink BM, Berends SG, van Strien JW, Meinardi H (1990a) Lateralized effects of subclinical epileptiform EEG discharges on scholastic performance in children. *Epilepsia* 31:740-746.

Kasteleijn-Nolst Trenite DG, Smit AM, Velis DN, Willemsse J, Van Emde BW (1990b) On-line detection of transient neuropsychological disturbances during EEG discharges in children with epilepsy. *Dev Med Child Neurol* 32:46-50.

King D, Spencer SS, McCarthy G, Spencer DD (1997) Surface and depth EEG findings in patients with hippocampal atrophy. *Neurology* 48:1363-1367.

Kocsis B, Kaminski M (2006) Dynamic changes in the direction of the theta rhythmic drive between supramammillary nucleus and the septohippocampal system. *Hippocampus* 16:531-540.

Lachaux JP, Rodriguez E, Martinerie J, Varela FJ (1999) Measuring phase synchrony in brain signals. *Hum Brain Mapp* 8:194-208.

Lenck-Santini PP, Holmes GL (2008) Altered phase precession and compression of temporal sequences by place cells in epileptic rats. *J Neurosci* 28:5053-5062.

Liu X, Muller RU, Huang LT, Kubie JL, Rotenberg A, Rivard B, Cilio MR, Holmes GL (2003) Seizure-induced changes in place cell physiology: relationship to spatial memory. *J Neurosci* 23:11505-11515.

Martinez-Montes E, Cuspinada-Bravo ER, El-Deredy W, Sanchez-Bornot JM, Lage-Castellanos A, Valdes-Sosa PA (2008) Exploring event-related brain dynamics with tests on complex valued time-frequency representations. *Stat Med* 27:2922-2947.

Mazarati A, Bragin A, Baldwin R, Shin D, Wilson C, Sankar R, Naylor D, Engel J, Wasterlain CG (2002) Epileptogenesis after self-sustaining status epilepticus. *Epilepsia* 43 Suppl 5:74-80.

Montgomery SM, Sirota A, Buzsaki G (2008) Theta and gamma coordination of hippocampal networks during waking and rapid eye movement sleep. *J Neurosci* 28:6731-6741.

Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ (2004) Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog Neurobiol* 73:1-60.

Mormann F, Fell J, Axmacher N, Weber B, Lehnertz K, Elger CE, Fernandez G (2005) Phase/amplitude reset and theta-gamma interaction in the human medial temporal lobe during a continuous word recognition memory task. *Hippocampus* 15:890-900.

O'Keefe J, Recce ML (1993) Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus* 3:317-330.

Palmini A (2006) The concept of the epileptogenic zone: a modern look at Penfield and Jasper's views on the role of interictal spikes. *Epileptic Disord* 8 Suppl 2:S10-S15.

Palop JJ, Chin J, Roberson ED, Wang J, Thwin MT, Bien-Ly N, Yoo J, Ho KO, Yu GQ, Kreitzer A, Finkbeiner S, Noebels JL, Mucke L (2007) Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease. *Neuron* 55:697-711.

Shah MM, Anderson AE, Leung V, Lin X, Johnston D (2004) Seizure-induced plasticity of h channels in entorhinal cortical layer III pyramidal neurons. *Neuron* 44:495-508.

Sirota A, Montgomery S, Fujisawa S, Isomura Y, Zugaro M, Buzsaki G (2008) Entrainment of neocortical neurons and gamma oscillations by the hippocampal theta rhythm. *Neuron* 60:683-697.

Stacey WC, Lazarewicz MT, Litt B (2009) Synaptic noise and physiological coupling generate high-frequency oscillations in a hippocampal computational model. *J Neurophysiol* 102:2342-2357.

Staley K, Hellier JL, Dudek FE (2005) Do interictal spikes drive epileptogenesis? *Neuroscientist* 11:272-276.

Tsodyks MV, Skaggs WE, Sejnowski TJ, McNaughton BL (1996) Population dynamics and theta rhythm phase precession of hippocampal place cell firing: a spiking neuron model. *Hippocampus* 6:271-280.

White A, Williams PA, Hellier JL, Clark S, Edward DF, Staley KJ (2010) EEG spike activity precedes epilepsy after kainate-induced status epilepticus. *Epilepsia* (in press, available on line).

Williams PA, White AM, Clark S, Ferraro DJ, Swiercz W, Staley KJ, Dudek FE (2009) Development of spontaneous recurrent seizures after kainate-induced status epilepticus. *J Neurosci* 29:2103-2112.

Zugaro MB, Monconduit L, Buzsaki G (2005) Spike phase precession persists after transient intrahippocampal perturbation. *Nat Neurosci* 8:67-71.



## Figure legends

**Fig. 1. Extraction of SWs in animal and human datasets. (A)** Example of the superposition of all spikes from the same dataset of a typical burst of IA from patient 1 during rest (top) and from rat 7 at D25 after SE during exploration (bottom). Epochs with artefacts were removed from the datasets. All events were centred on the peak of the spike, which was taken as the origin of times. All events were characterized by the presence of a wave after the spike with reversed polarity. The lack of at least one clear theta cycle before and after the spike, suggests that there was no obvious phase-locking or phase-reset mechanisms, respectively. **(B)**. ERPimage (EEGlab 7, (Delorme and Makeig, 2004)) of the dataset shown in **(A)**. Spikes are chronologically plotted while they happen in the burst from bottom to top in each ERPimage. The colour code indicates the field potential value. In rat 7, the amplitude of the spike and of the wave decreased as the burst progressed. In contrast, the spike properties appeared constant in patient 1.

**Fig. 2. Analysis of SW impact on theta rhythm. (A)** Two representative datasets were obtained from rat 5 at D7 post SE. In the first dataset, IA occurred during theta oscillations (top), whilst in the second dataset theta oscillations occurred without IA (bottom), during exploration. Left panel. Mean time-frequency plane for all trials with and without spikes. The theta oscillation remains stable in the absence of spike (bottom). In contrast, the spikes produced a clear transient extinction of all oscillations up to 20 Hz (top). Note that theta returned to baseline (pre-spike) values around 700 ms after the peak of the spike. The shape of spike provided high-energy values in all frequency bands. Right panel. Dynamics of the power of the dominant theta frequency band. Power at 7Hz is displayed for both datasets (with and without IA). The time windows of interest are the baseline time window before

the spike, and the periods A, B, C and D after the spike. Note the lack of change in power in the dataset without spike (bottom). In contrast, the power was transiently decreased after the spike(top). Note that the shape of the red curve represents the power at 7 Hz of the signal. The fact that the shape of the curve between baseline and the A/B/C/D periods resembles that of the SW is incidental, it only represents the energy provided by the SW. **(B)** From left to right: The power in periods A, B, C, and D is plotted as a function of baseline power for each spike in the with-spike condition (top panels). The percentage of spikes inducing a decrease in energy is indicated in each condition. In the A period, 96% of the spikes are followed by a decrease in theta energy. The effect of spikes on theta decreases away from the spikes. In the absence of spike there is no effect on theta dynamics (bottom panel). The colour of the dots indicates the time occurrence of SWs during the burst (bright green: first spike; bright red: last spike). The effect of SWs on theta did not depend upon the time of occurrence of the spike during the bursts.

**Fig. 3. Theta stability decreases during epileptogenesis. (A)** Examples of raw EEG signals recorded in Rat 5 during exploration before injection (BI), and at D7, D10 and D25 after SE. Note the degradation of theta stability and amplitude over time. **(B)** Gaussian distributions fitted to the distribution of  $\log(E_{pre}/E_{post})$  across trials and at different time points during epileptogenesis. The distribution obtained from the human dataset is also shown. The variance of those distributions was considered as a measure of the stability of ongoing theta rhythms. In rats, the variance of the distribution “before injection” was significantly less than at D7, D10 and D25 ( $p < 0.05$ ). There was no statistical difference between D7 and D10 (i.e. during the latent period,  $p = 0.7$ ). At D25, the variance was statistically different as compared

to all other days ( $p < 0.05$ ). Note that the distribution in patients is similar to that found in animals during the latent period ( $p < 0.05$  as compared to rats before injection).

**Fig. 4. Longitudinal study of phase locking/reset of SWs on theta rhythm.** *From left to the right: three informative days on the epileptogenesis, D7, D10 and D25 post SE; From top to bottom: (A) Measurement of PLF to reveal phase locking. All measures have been averaged across 7 analysed rats for visualization. Phase locking would have appeared as a high energy band/blob (hot colour) in the theta band in the pre-spike period, which was not the case. (B) Measurement of STM relative to phase reset estimations. All STM measures have been averaged across 7 analysed rats for visualization. There was no obvious phase reset mechanism. (C) Mean evoked spike potentials have been averaged across all 7 analysed rats. There was no phase reset dynamic of theta rhythm after the spikes, and no phase locking preceding or succeeding spikes. The size of the averaged spike across rats decreased during epileptogenesis.*

**Fig. 5. The shape of SWs adds energy in the theta band.** (A) Examples of simulated data (top line: model 1; bottom line: model 2). From left to right: (i) Example of three trials of theta oscillations (6 Hz) with different phases at time 0. The amplitude of these oscillations is equal to the mean power during the baseline period (-800 to -200ms) in the original dataset (Rat 3 Day 25). (ii) Model 1: The mean SW of the real dataset is added on each trials seen in (i); Model 2: same method than in model 1, but the amplitude and width of the mean potential is monotonically decreasing until it reaches 5% of the amplitude of the original mean SW. (iii) Result of the addition of SWs with oscillations. (iv) Mean of 50 trials. The baseline is flat because of the addition of enough sine waves with random phases. When

using model 1, the mean of all trials corresponds to the SW in (ii). When using model 2, the mean of all trials is a SW with smaller amplitude, because the amplitude is decreasing in the dataset. **(B)** Effect of SWs on the power of stable theta oscillations. In the absence of SW, the power in the theta band is constant throughout the window (red dots). Both model 1 (red curve) and model 2 (green curve) induce an increase in theta energy (red arrow). This increase is due to the energy provided by the wave of the SW in the theta band. The supply of energy is larger for model 1 than for model 2, since, in the latter, the amplitude and width were decreasing across trials. Following this transient increase, the energy returned to baseline levels. The blue curve shows the analysis of the experimental dataset. Note the transient increase in energy after the spike (red arrow) as predicted by the model. **(C)** Effects of SWs on the power of theta oscillations displaying a decrease in energy during the spike. The power of the SW in the theta band masks the decrease in the underlying theta. If a decrease in theta power occurs during SW activity in the real dataset, it will be underestimated.

**Fig. 6. SWs transiently impair theta oscillations during epileptogenesis.** **(A)** The time course of theta energy was measured in the entire dataset at D7 (left column), D10 (middle column) and D25 (right column) post SE. Theta power was significantly decreased (blue curve) in period A at D7 in all rats (7/7). Theta power then returned to baseline values, with only one animal (1/7) displaying a statistically significant decrease in theta power late after the SW. Note the stability of theta energy in the absence of SW (red curve). At D10, most animals (6/7) displayed a transient decrease in theta power, although to a lesser extent (20%). At D25, the decrease was found in 2 out of 7 animals, but with a rebound between A and B periods, perhaps due to the energy provided by SWs themselves (e.g. Figs. 5 and 6). Note

that theta energy did not return to baseline values during the 1000 ms long time window. Trials with high **(B)** and low **(C)** energy of baseline theta were extracted from the dataset. The impact of SWs in high-energy conditions became more apparent at D25, while their effect was less in low energy conditions at D10 and D25. Note that the rebound becomes more apparent in low energy conditions. In low (high) baseline conditions, the energy tended to increase (decrease) after time 0 in the absence of SW, since high (low) energy theta oscillations have a greater probability of occurrence after low (high) theta oscillations.

**Fig. 7. Impact of SWs on ongoing theta rhythm in epileptic patients (P1 to P5, from top to bottom).** **(A)** Mean SW across trials during rest for each patient. **(B)** Analysis of theta dynamic during periods with- and without-spikes (blue and red lines, respectively). Statistically significant periods of decrease/increase of theta power are marked by two stars (\*\*,  $p < 0.05$ ). The decrease in A to C windows did not reach significance for P4. **(C)** Simulation of the effect of experimental SWs on the ongoing rhythm (blue line: real data theta dynamic; red line: model 1; green line: model 2).

**Fig. 8. Spatial memory deficit correlates with interictal activity at D7.** The experimental paradigm is detailed in Chauviere et al. (Chauviere et al., 2009). **(A)** Briefly, animals were placed in an openfield with two objects (session 1 - S1 - was composed of 5 trials – T1 to T5 - of 2 min each). The yellow square indicates a spatial cue. One object was then displaced (session 2 - S2 - was composed of 5 trials of 2 min each). Finally, the displaced object was replaced by a new one (session 3 - S3 - was composed of 5 trials of 2 min each). If animals encoded the location of the object, they explored the displaced one during S2 (hippocampus-dependent spatial memory test). If animals coded the nature of the object,

they explored the new one during S3 (hippocampus-independent non-spatial memory test). The difference between the time spent exploring the displaced object during the first trial of session 2 and the time spent exploring this object the fifth trial of session 1 (S2T1-S1T5) measured the renewed interest of animals for the displaced object. Negative values indicate lack of interest for the displaced object. **(B)** Among the 25 animals explored at D7, we selected those with IA during the test. There was a significant negative correlation between ILA frequency and spatial cognitive performance (Spearman correlation test,  $r=-0.4$ ;  $p=0.008$ ).

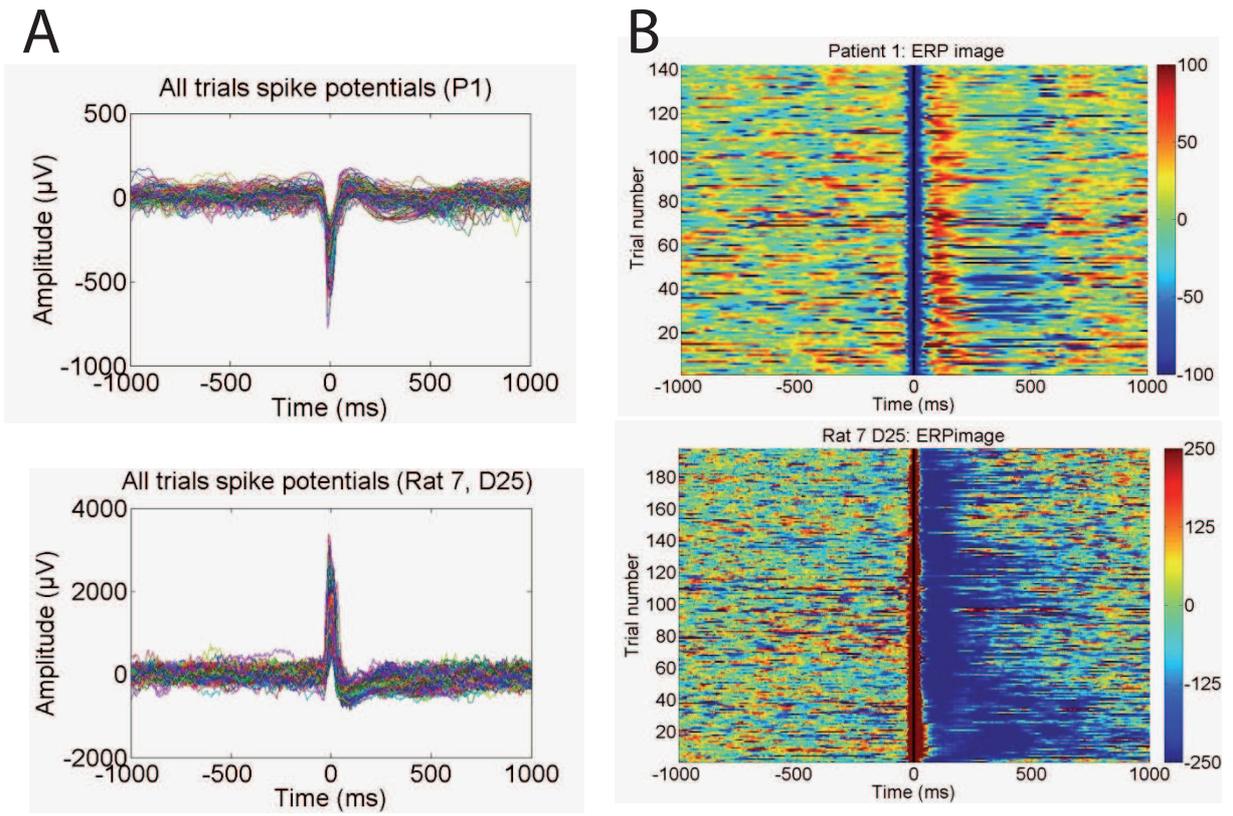


Figure 1

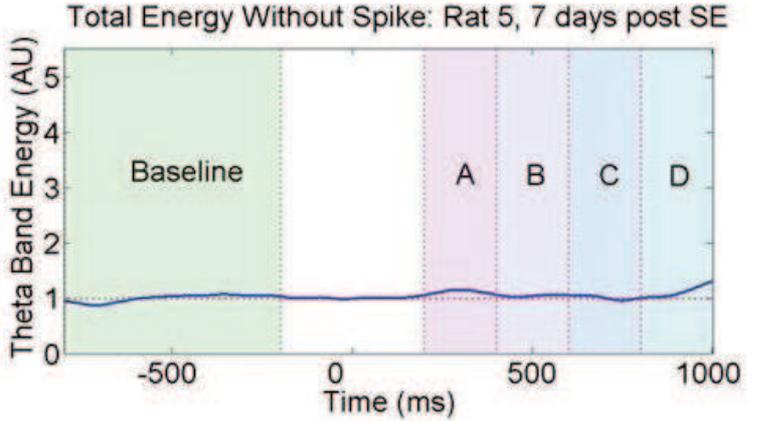
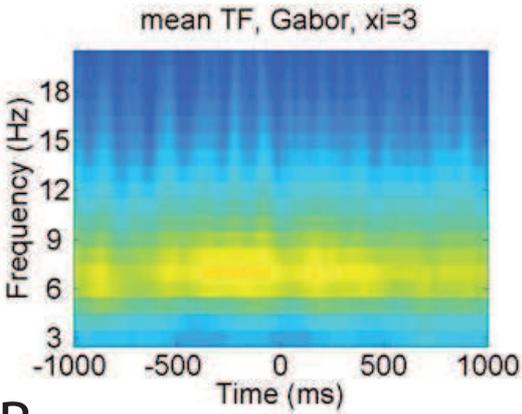
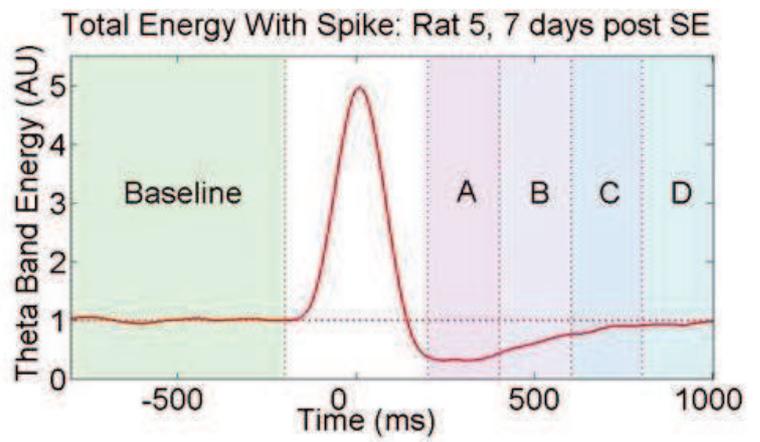
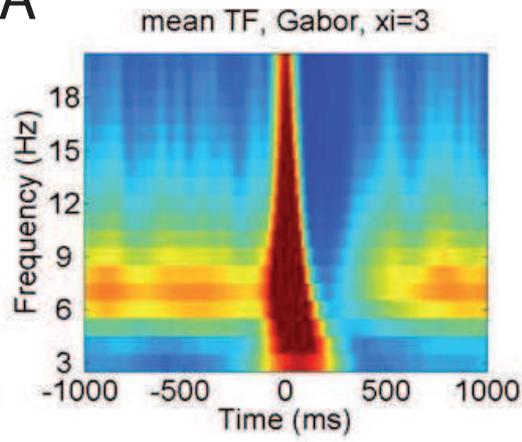
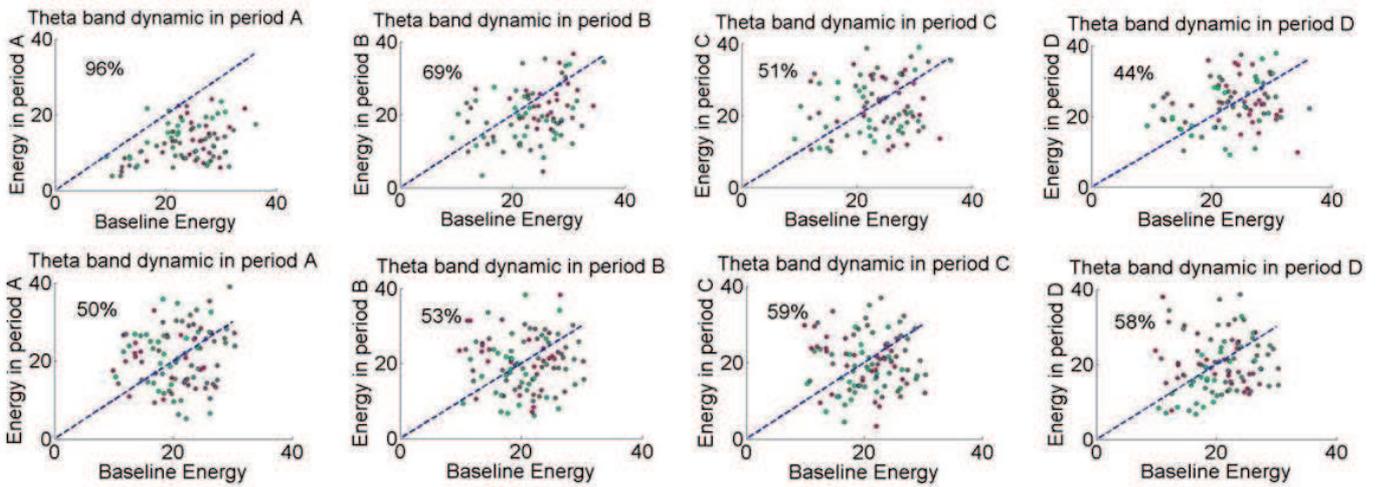
**A****B**

Figure 2

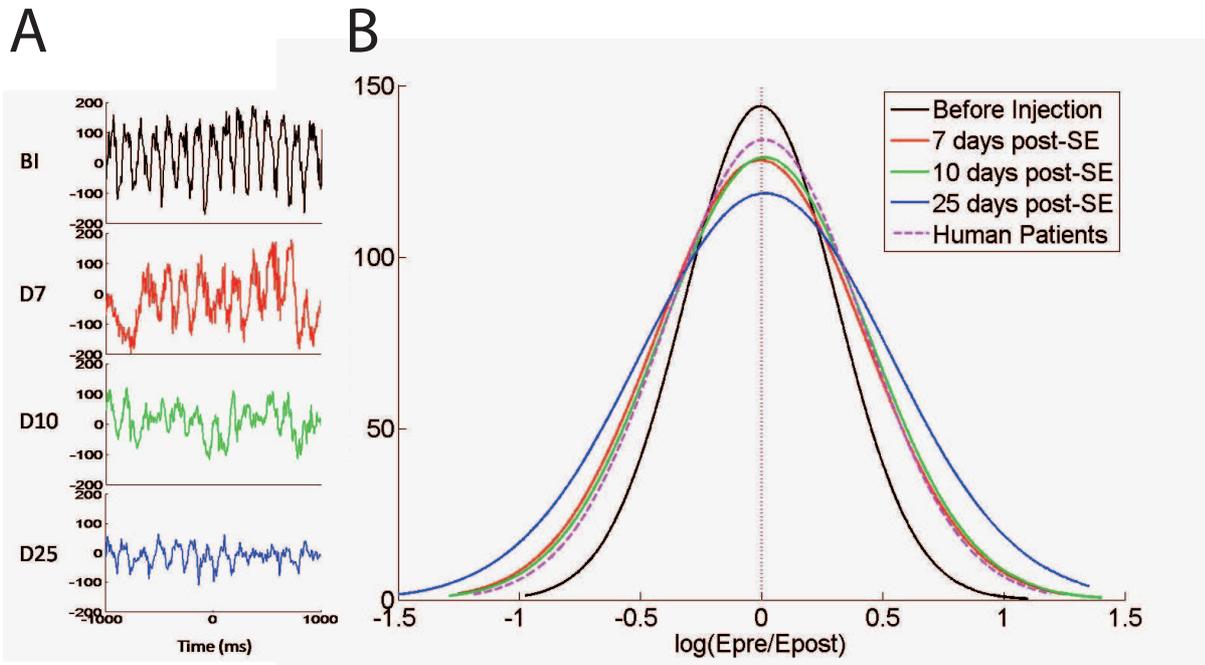


Figure 3

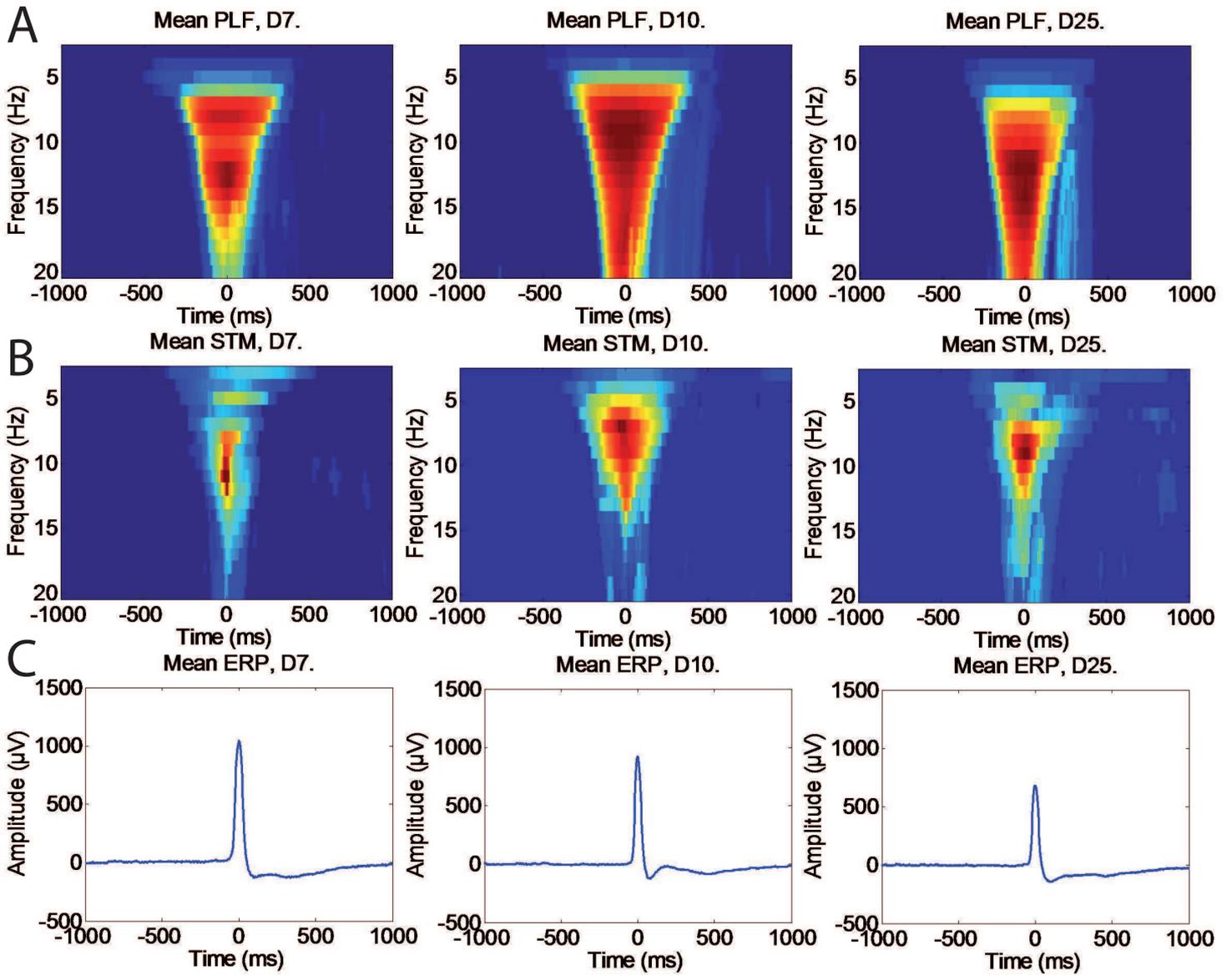


Figure 4

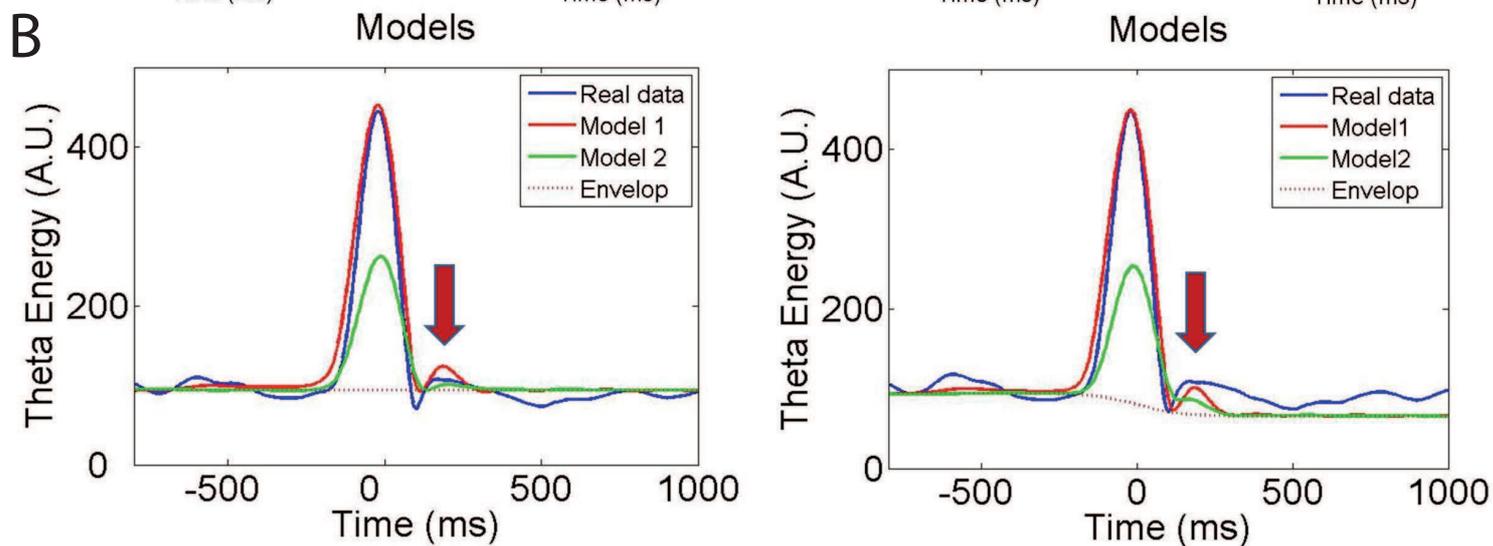
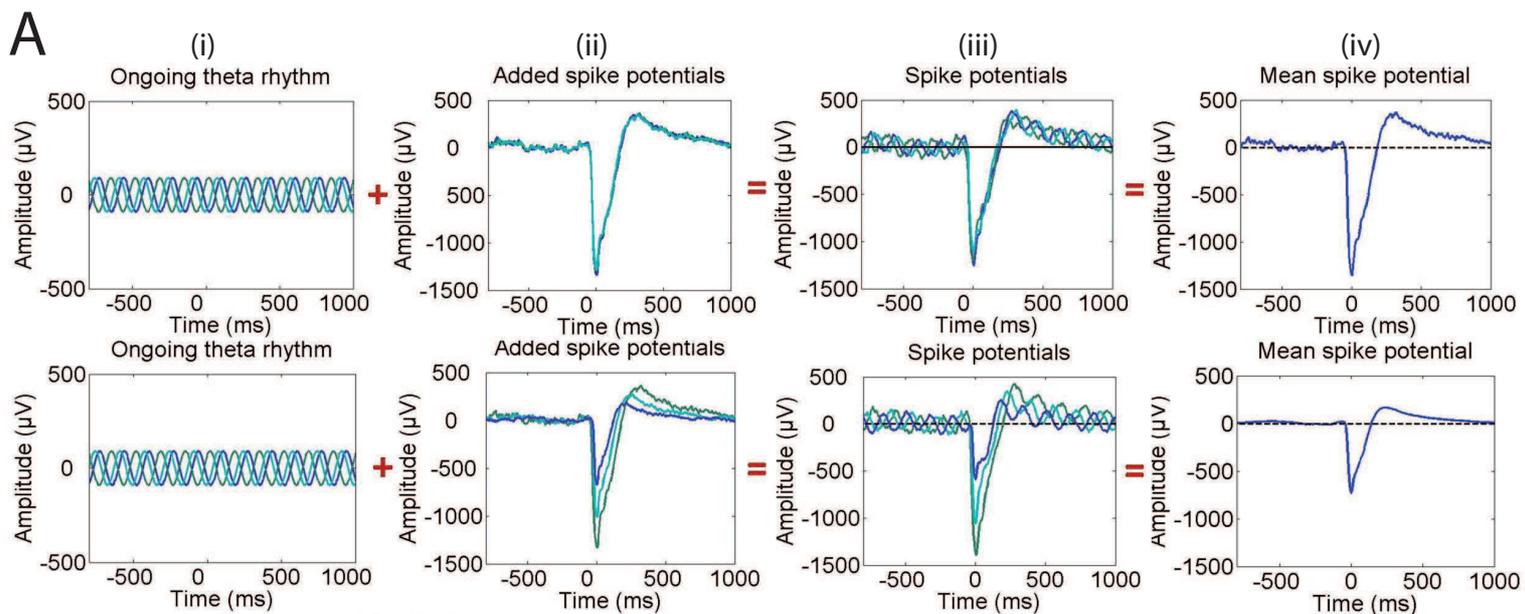


Figure 5

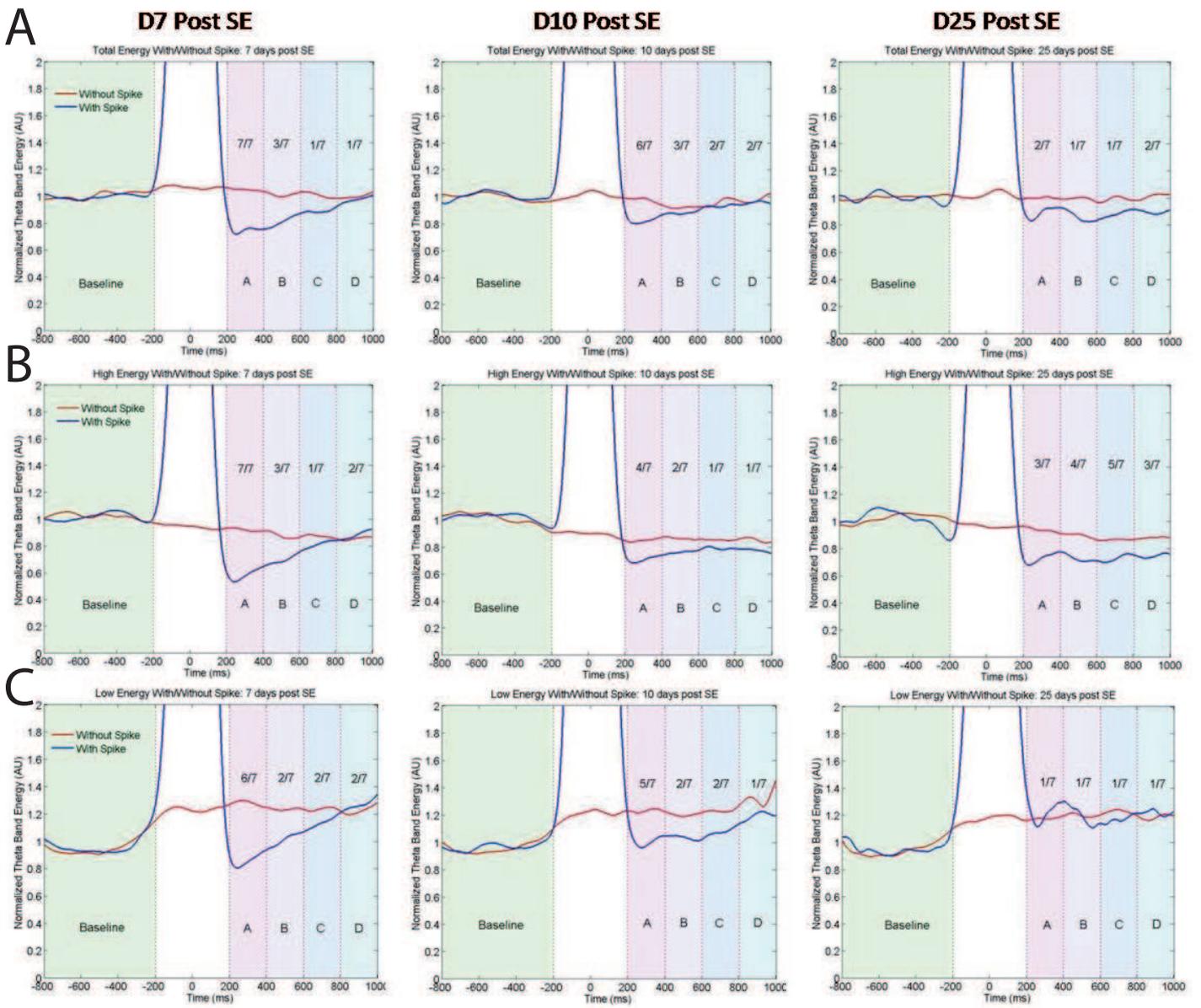


Figure 6

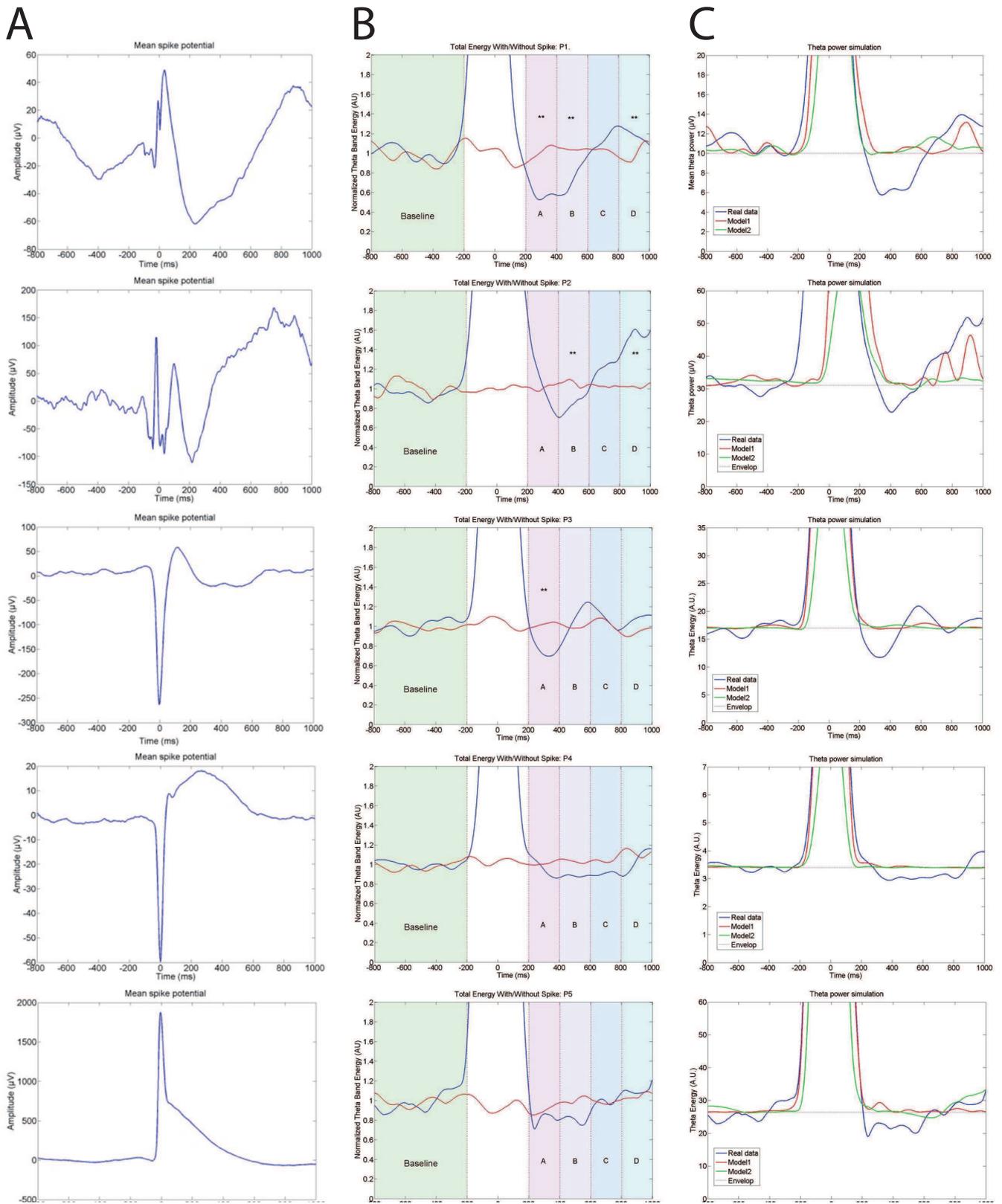


Figure 7

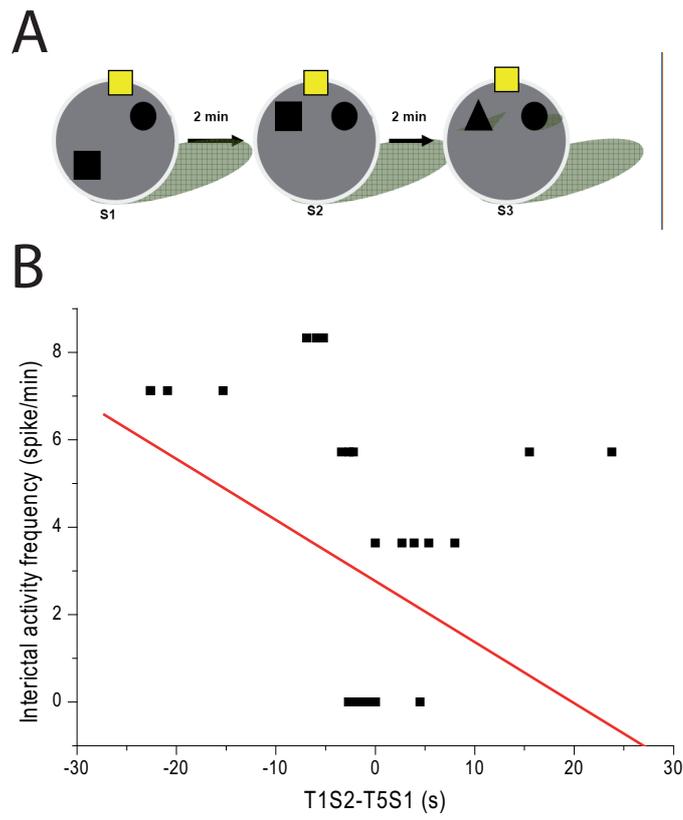


Figure 8

Table 1: Pathological characteristics of epileptic patients

Patients	age	sex	MRI	Side of recording
P1 (TS)	37	M	normal	left
P2 (BL)	28	M	normal	left
P3 (DM)	49	M	MCD (neocortex)	right
P4 (CL)	38	M	HS	left
P5 (GL)	31	M	HS	right

MCD : malformation of cortical development

HS : hippocampal sclerosis

## Discussion

Plusieurs points de cette étude peuvent être discutés. Le premier réside dans le fait que chez l'Homme, la bande de fréquence prise en compte est 4-8 Hz, bande de fréquence différente de celle considérée chez l'animal (thêta hippocampique, 4-12 Hz) enregistrée lors du comportement d'exploration (Vanderwolf, 1969 ; Buzsaki, 2002, 2006). Ainsi, chez l'Homme, le rythme thêta ne correspond pas au même comportement, puisque les patients sont enregistrés au repos, et l'animal en conditions d'exploration, comportement associé spécifiquement au rythme thêta. L'analyse ne se fait donc pas selon les mêmes critères puisque dans de telles conditions, le rythme thêta est majoritaire et assez ample chez l'animal, alors qu'il est minoritaire chez l'Homme et n'assume pas de fonctions particulières, ni ne recrute les mêmes réseaux sous-tendant la bande de fréquence considérée dans l'un (l'animal) et l'autre cas (patients ELT). Ensuite, on peut se demander si l'impact d'une telle diminution transitoire de puissance du rythme thêta pourrait être à l'origine de déficits cognitifs de mémoire spatiale : en effet, lors de ma première étude (A.2), j'ai démontré que ces deux variables étaient positivement corrélées. Ici, on observe que l'activité interictale corrèle également avec ces déficits seulement en phase d'épileptogenèse précoce (7j post-SE) et plus après (10, 25 et 40 jours post-SE), contrairement au rythme thêta qui corrèle avec ces déficits jusqu'au stade épileptique. Cela suggère que l'activité interictale, ou en tout cas les mécanismes qui la sous-tendent (i.e. la synchronisation d'un grand nombre de neurones), sont précurseurs de la réorganisation de l'état du réseau qui se met en place aux alentours de 4-7j post-SE (étude A.2). En effet, l'activité interictale apparaît avant cette période (cf. étude A.6), même si elle commence à se stabiliser à ce moment, stabilité qui doit être la marque d'un réseau suffisamment réorganisé pour induire des altérations de réseau stables et durables (déficits cognitifs, oscillations thêta). De plus, la synchronisation entre neurones longue distance (hippocampe-CE ; étude 6) est augmentée durant la phase d'épileptogenèse précoce (4 et 7j post-SE), puis commence à diminuer au stade tardif (10j post-SE) pour revenir à la ligne de base (cf. valeurs contrôles, et conditions épileptogènes sans activité interictale) au stade chronique (40j post-SE). Il faudrait maintenant faire des études *in vitro* afin de pouvoir étudier les mécanismes sous-jacents, au niveau cellulaire et à celui des assemblées de cellules. Le réseau qui génère la pointe pourrait être différent de celui qui génère le rythme thêta. En effet, il a été proposé, suite à des études *in vitro*, que la pointe serait un processus qui serait plutôt généré localement (Miles & Wong, 1983), alors qu'il est bien admis que les oscillations thêta sont des oscillations de réseau.

#### **4. Etude de la dynamique des crises récurrentes et spontanées dans notre modèle d'ELT**

Le modèle d'ELT que j'ai utilisé au cours de ma thèse est le modèle pilocarpine, modèle de choix au laboratoire lorsque je suis arrivée, et que j'ai ensuite adapté à des doses de 310 mg/kg de pilocarpine, et à 40 minutes de SE.

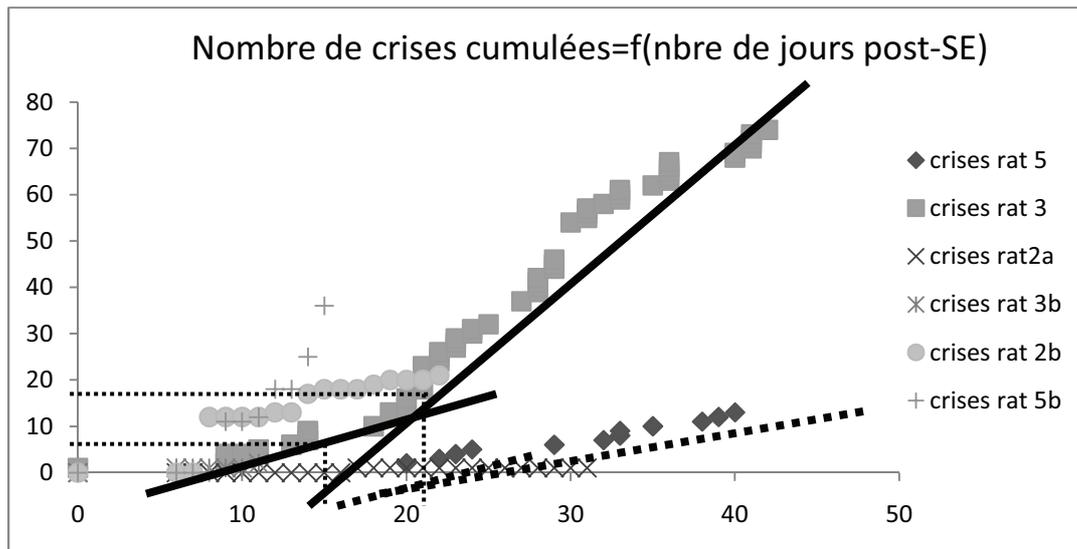
Le but de cette étude est double : (i) caractériser ce modèle aux doses et durée du SE que j'ai moi-même réadaptées ; (ii) essayer de caractériser l'épileptogenèse, dans la mesure où ma thèse porte sur la caractérisation de cette phase dont les limites temporelles restent encore largement débattues actuellement, même si il semble de plus en plus évident qu'elle ne s'arrête pas forcément quand la première crise spontanée se produit mais semblerait plutôt correspondre à un processus continu qui se caractériserait par l'atteinte d'une fréquence-plateau du taux de crises (Williams et al., 2009). Des travaux récents semblent en effet confirmer que l'épileptogenèse est un processus continu qui évolue avec la durée de l'épilepsie, chez l'Homme (Bartolomei et al., 2008 ; Aubert et al., 2009 ; Tassi et al., 2009 ; van Dellen et al., 2009) et plus récemment chez l'animal (Williams et al., 2009, Kadam et al., 2010). L'étude que j'ai réalisée ici s'inscrit donc dans ce double contexte, à partir duquel j'ai étudié la dynamique des crises dans notre modèle chez des rats enregistrés en continu et implantés avec une électrode bipolaire dans l'hippocampe et le CE.

Dans le tableau ci-dessous, j'ai ainsi répertorié, pour chaque rat enregistré en continu, le jour de première crise, la fréquence et la dynamique de ses crises spontanées, puis j'ai précisé pendant combien de temps l'animal a été suivi en continu (i.e. jusqu'à l'arrêt de l'enregistrement, soit parce que l'animal est mort, souvent suite à une crise très violente, soit par sa déconnexion définitive, souvent après une ou plusieurs crises violentes) :

Rats	Jour de 1 <sup>re</sup> crise	Fréquence des crises	Dynamique des crises	Durée de l'enregistrement continu
Rat 3a	7 jours	3 crises en 3 jours	3 crises le même jour	10 jours post-SE
Rat 1	7 jours	193 crises en 6 jours	1 <sup>er</sup> jour : 20crises; 2 <sup>e</sup> : 19 ; 3 <sup>e</sup> : 65 ; 4 <sup>e</sup> : 26 ; 5 <sup>e</sup> : 23 ; 6 <sup>e</sup> : 34 ; 7 <sup>e</sup> : 8 dont la dernière est un SE qui a entraîné la mort	13 jours post-SE
Rat 2a	7 jours	2 crises en 16 jours	1 crise à 17 jours 1 crise à 31 jours	23 jours post-SE
Rat 3b	6 jours	2 crises en 6 jours	1 crise à 6 jours 1 crise à 11 jours	12 jours post-SE
Rat 2b	8 jours	22 crises en 14 jours	-les 5 1 <sup>res</sup> crises (8 <sup>ème</sup> jour post-SE) : 1crise/heure, puis 5 crises en 1 heure, puis 2 crises en 1 heure, puis autre crise au 12 <sup>ème</sup> jour post-SE, -puis au 14 <sup>ème</sup> jour, puis 2*2 crises consécutives en 2 heures, -puis une autre au 15 <sup>ème</sup> jour, -puis au 18 <sup>ème</sup> jour, -puis au 19 <sup>ème</sup> jour, -puis grosse et dernière crise au 22 <sup>ème</sup> jour	22 jours post-SE
Rat 5b	9-10 jours	36 crises en 6-7 jours	-3 1 <sup>re</sup> crises en 1 heure, <b>puis 5 crises</b> en 1 heure, <b>puis 2 crises</b> en 1 heure, puis <b>+1 crise</b> 3 heures + tard, <b>+ 1 crise</b> à 11jours - <b>puis 6 crises</b> à 12jours (puis s'est déconnecté), - <b>puis 7</b> (toutes les heures pratiquement) à 14jours, dont 4 la même heure, puis <b>11</b> à 15jours dont 2 la même heure, puis s'est de nouveau déconnecté à 16jours post-SE	16 jours post-SE
Rat 3 (SE très violent et très précoce post-injection pilocarpine)	9 jours	74 crises en 33 jours (+ crises précoces post-SE)	-4 crises à 9 jours -1 à 11 jours -3 à 14 jours -1 à 17 jours -1 à 18 jours -3 à 19 jours -4 à 20 jours -7 à 21 jours -3 à 22 jours -3 à 23 jours	42 jours post-SE

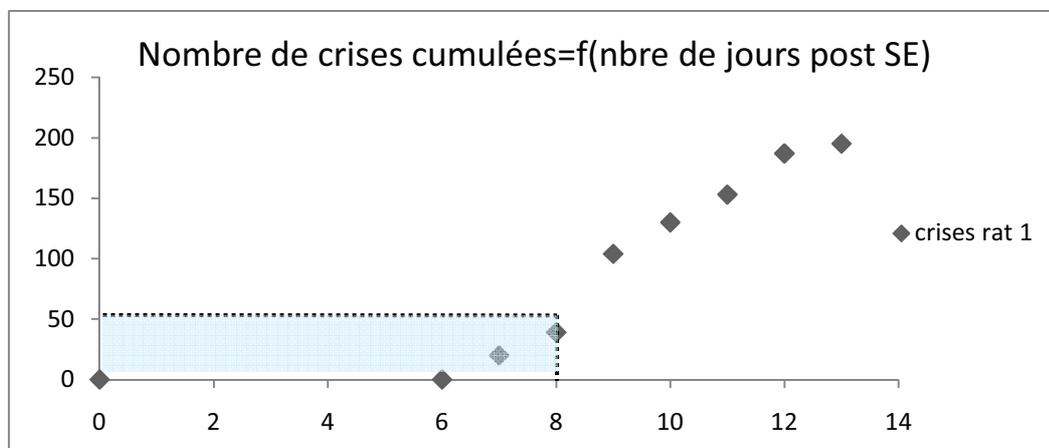
			-2 à 24 jours -1 à 26 jours -5 à 27 jours (Hippocampe seul) -4 à 28 jours (Hippocampe seul) -4 à 29 jours (Hippocampe seul) -8 à 30 jours (Hippocampe seul) - 3 à 31 jours -1 à 32 jours - 3 à 33 jours - 1 à 35 jours - 5 à 36 jours - 2 à 40 jours - 4 à 41 jours -1 à 42 jours	
<b>Rat 5</b> (SE très léger/calme et très tard post- injection pilocarpine)	20jours	13 crises en 20 jours (+ crises précoces post-SE)	-1 à 20 jours -1 à 22 jours -2 à 23 jours -puis déconnecté 3 jours -1 à 28 jours -1 à 30 jours - 1 à 32 jours - 2 à 33 jours - 1 à 35 jours - 1 à 38 jours - 1 à 39 jours - 1 à 40 jours	42 jours post-SE

Ces résultats sont représentés ci-dessous, avec pour chaque rat, en abscisses, les différents jours après SE et en ordonnées, le nombre de crises spontanées cumulées:



————— : Pentas des courbes du rat 3 (exemple pour un rat)  
 - - - - - : Pentas des courbes du rat 5 (exemple pour un autre rat)

Les résultats du rat n°1 sont présentés sur un graphique à part (mêmes axes que le précédent) puisqu'en raison de son nombre de crises très important, on perdait la dynamique des courbes des autres rats (aplatissement des données) :



**4.1. Caractérisation du modèle réadapté** (injection de 310 mg/kg de pilocarpine, durée du SE de 40 minutes)

Ces résultats montrent (i) qu'en moyenne, pour ces 8 rats enregistrés en continu, le jour moyen de première crise est de **9.1 +/- 1.6 jours**, (ii) que la fréquence moyenne des crises est de **5.88 +/- 1.35 crises/jour**. Dans leur article de 2007, les Dr Goffin et collaborateurs (Goffin et al., 2007) ont enregistré en continu 29 rats mâles Wistar jusqu'à 23 jours après SE (modèle pilocarpine, 360 mg/kg, i.p., et si les rats n'avaient pas développé de SE dans les 45 minutes,

ils les réinjectaient, avec des doses plus faibles de pilocarpine, à raison de 110 mg/kg pour la 1<sup>ère</sup> dose, 60 mg/kg pour les suivantes). Ils ont observé que ces rats déclenchaient leurs **premières crises spontanées** en moyenne à **7.2 ± 3.6 jours après SE**, de **fréquence moyenne 2.6 ± 1.9 crises/jour** et de **durée moyenne 47.0 ± 7.0 sec**. Ces résultats sont assez comparables aux nôtres, en tenant compte de la variabilité interindividuelle (par exemple, le *rat 2a* a déclenché 2 crises en 16 jours versus le *rat 1*, qui lui a déclenché 193 crises en 6 jours). Celle-ci confirme là aussi les résultats obtenus par Goffin et collègues (2007). Ainsi, le modèle pilocarpine que j'ai réadapté reproduit les caractéristiques du modèle utilisé à des doses et durée du SE plus élevées. Pour ce qui est des altérations morphologiques, elles ont été validées dans l'article de l'étude 2 (Article 1).

Pour la plupart des rats que j'ai enregistrés, des crises entre 1 (la nuit qui suit le déclenchement du SE) et 3 jours après le SE surviennent, probablement dues au SE lui-même, mais à ce moment-là, elles ne seraient pas représentatives d'un réseau épileptique, mais plutôt la marque d'un réseau hyperexcitable et largement remanié/perturbé juste après le SE, et/ou d'un fort SE (Hellier et al., 1999). Ces crises n'ont pas été prises en compte dans cette étude.

#### **4.2. Caractérisation du processus d'épileptogenèse**

Les résultats de cette étude vont à l'encontre d'études anciennes qui estimaient cette phase de latence entre 10 et 18 jours (Arida et al., 1999 ; Hoexter et al., 2005 ; Leite & Cavalheiro, 1995 ; Priel et al., 1996) mais confirment des études plus récentes (Gorter et al., 2001 ; Dudek et al., 2006 ; Goffin et al., 2007 ; Williams et al., 2009). Ensuite, compte tenu de la variabilité interindividuelle, **le processus d'épileptogenèse semblerait associé avec la durée et la sévérité du SE chez les rats adultes** (Goffin et al., 2007). En effet, le rat 5 ayant déclenché un SE très léger (i.e. 5 heures après l'injection de pilocarpine, comportement : stade 2) a déclenché sa première crise spontanée à 20 jours post-SE, contrairement au rat 3, ayant déclenché un SE très fort (i.e. 15 minutes après l'injection de pilocarpine, après 3 « stades 5 », comportement: stade 4) a déclenché sa première crise spontanée à 9 jours post-SE.

De plus, les courbes ci-dessus ont l'allure de sigmoïdes qui s'apparentent assez avec les résultats d'études récentes faites à partir d'autres modèles : KA (Williams et al., 2009) et d'hypoxie périnatale (Kadam et al., 2010). Au vu de ces courbes, il semblerait, notamment pour les 2 rats enregistrés en continu jusqu'à 40 jours post-SE (rats 3 et 5), qu'il y ait deux paliers (i.e. deux pentes différentes): un premier, quelques jours après la première crise spontanée, qui pourrait correspondre à la signature d'un réseau épileptogène stabilisé, puis un second, qui pourrait être caractéristique de l'épilepsie proprement dite, installée et durable.

Cependant, il aurait été intéressant d'enregistrer plus longtemps les animaux en continu (10 semaines dans l'article de Williams et al., 2009, avec le modèle KA, même s'il est vrai qu'en général dans ce modèle, les animaux développent leurs premières crises plus tardivement que dans le modèle pilocarpine (Dudek et al., 2006). Nous discuterons ces résultats dans le chapitre V (cf. discussion générale).

Comme mentionné juste avant, je n'ai pas tenu compte, dans l'analyse, des crises précoces déclenchées juste après le SE (1-2 jours), cependant, j'ai observé qu'elles étaient inversement proportionnelles à la force du SE. En effet, le rat 5 ayant déclenché un SE très léger a déclenché 4 crises dans la nuit ayant suivi le SE, puis déclenché 38 crises en 2 jours ; cependant, il a déclenché sa première crise spontanée à 20 jours après SE. Quant au rat 3, qui a au contraire développé un SE très fort, il n'a développé que 2 crises restreintes à l'hippocampe (ni dans le CE ni dans le cortex) le lendemain et sa première crise spontanée à 9 jours post-SE. Cependant, il présentait de l'activité interictale en continu, durant 2 jours post-SE. Par contre, le rat 5 ne présentait pas d'activité interictale continue post-SE, les premières bouffées de « type 1 » sont apparues dans le CE 2 jours post-SE, puis le lendemain dans l'hippocampe. Ces résultats sont discutés ci-dessous.

## **Discussion**

Dans ce paragraphe, nous discuterons simplement des conséquences fonctionnelles de ces crises précoces post-SE. Nous discuterons plus largement des résultats ci-dessus dans le prochain chapitre de discussion générale.

Sur le plan fonctionnel, ces crises pourraient être à l'origine d'une réorganisation de la circuiterie et de remaniements du réseau plus rapides. Lors des crises, la connectivité longue distance est altérée chez les patients épileptiques (Guye et al., 2006) et la topologie des réseaux change quand l'activité ictale se met en place (Ponten et al., 2007). Il a également été montré qu'un découplage dans la bande bêta précède de plusieurs minutes la crise d'épilepsie ; ainsi, si cette bande est le support des synchronisations longue distance, elle pourrait permettre à la ZE d'être intégrée au fonctionnement cérébral et d'être contrôlée par les aires qui la composent. Cependant, une défaillance de ces oscillations (si en retour les crises d'épilepsie modifient les oscillations) pourrait empêcher la ZE d'être contrôlée par les régions saines et ce serait sous l'influence de facteur(s) additionnel(s) que son activité basculerait vers la crise. Ainsi, l'activité critique précoce après SE pourrait plus rapidement entraîner des modifications des oscillations qui, en retour, faciliteraient la genèse et la

propagation des activités critiques. Cependant, tout ceci est loin d'être simple étant donné que nos résultats, pour prendre l'exemple des deux rats enregistrés en continu jusqu'à 40 jours post-SE, montrent que le rat 5, ayant déclenché plusieurs crises dans la nuit qui a suivi le SE puis énormément (une quarantaine) les deux jours suivants, a déclenché sa première crise spontanée de manière assez tardive, tandis que le rat n'en ayant pas déclenché beaucoup juste après le SE a déclenché sa première crise à 9 jours post-SE. On serait donc tenter de penser que l'activité critique développée de manière précoce puisse être un phénomène « protecteur » (ou « compensateur ») mis en place spontanément par le système pour contrebalancer les altérations post-SE, dans le cas d'un SE faible. En revanche, pour un SE fort, le système n'est peut-être pas à même de contrecarrer de telles réorganisations, ou à un coût énergétique trop important par rapport aux bénéfices que cela pourrait générer sur le réseau. L'homéostasie cérébrale, dans ce dernier cas, n'est peut-être pas « contrecarrable », ou peut-être qu'à l'échelle d'un réseau si remanié ponctuellement après SE, les conséquences mises en place par le système ne sont pas visibles à notre niveau d'analyse (mais l'est peut-être au niveau des canaux ioniques), ou peut-être insuffisantes, contrairement à l'activité critique précoce après un SE faible (réseau peu remanié). L'activité interictale, en revanche, serait peut-être la marque de processus homéostatiques mis en place par le système après un fort SE (le rat ayant développé un fort SE en présence de manière continue au cours des 2 jours qui suivent le SE). L'homéostasie est en effet une propriété qui permet au système de s'adapter suite à une agression initiale pour maintenir une activité normale (Marder & Goaillard, 2006). Par conséquent, une modification de l'activité de réseau est à interpréter avec prudence ; en effet, savoir si une telle altération est une conséquence de l'ELT subie par le système (suite au SE, puis aux crises précoces) ou un processus homéostatique mis en place par le système reste une question ouverte et délicate.

## **5. Comportement, cognition et activité interictale au cours de l'épileptogénèse dans le modèle pilocarpine : comment ces paramètres interagissent entre eux?**

À partir de l'étude précédente qui visait à mieux définir les limites de l'épileptogénèse, ce travail consiste à étudier les caractéristiques de cette période, notamment grâce aux propriétés et à la dynamique de l'activité interictale au cours du temps, au niveau de l'hippocampe et du réseau hippocampe-CE. Cependant, avant de s'intéresser à une telle question (étude 6), nous allons tout d'abord commencer par étudier s'il y a une relation entre activité interictale et états cérébraux (états comportementaux et processus cognitifs) au cours de l'épileptogénèse, dans notre modèle pilocarpine.

### **5.1. Observations**

Tout d'abord, il semble important de préciser qu'en arrivant au laboratoire, face aux EEG hippocampiques (CA1) des rats que j'avais enregistrés (étude 2), une première phase d'observation de ces EEG s'est avérée nécessaire afin de pouvoir discriminer l'activité interictale au cours de l'épileptogénèse de ce qui n'en était pas (versus des événements pointus physiologiques), en comparant les enregistrements des animaux ayant développé un SE des animaux n'en ayant pas développé (i.e. les « rats non-SE ») comparés aux rats purement contrôles, i.e. « sham » (ayant reçu de la solution saline à la place de la pilocarpine). Mes critères de sélection de l'activité interictale, en plus du fait que ces événements ne se retrouvaient pas chez les animaux contrôles, étaient le profil de cette activité pathologique sous forme de bouffées, i.e. son caractère reproductible (Chatrian, 1964). Ensuite, j'ai aussi observé que les rats non-SE présentaient globalement le même profil électrophysiologique que les rats « sham » : en effet, s'ils présentaient quelques événements pointus isolés, rares et sûrement dus à l'effet lésion (minime), ou des oscillations de type « SPW » de courte durée, ils ne présentaient jamais de bouffées d'activité interictale comme fréquemment retrouvés sur les EEG des animaux latents (i.e. au stade épileptogène) et chroniques (i.e. au stade épileptique) (cf. études 2 et 6). Un seul rat, parmi tous ceux que j'ai enregistrés à des temps précis, ne présentait pas du tout d'activité interictale sur les 3 heures d'enregistrement (à 7 et 10 jours post-SE) malgré une lésion vraiment très importante. Il était donc d'autant plus intéressant d'étudier ses rythmes en conditions comportementales et cognitives. Cependant, il s'est malheureusement déconnecté à 10 jours post-SE, ce qui a empêché toute comparaison

avec les enregistrements au stade chronique (25 et 40 jours post-SE). L'analyse de ce rat a montré une analogie avec la moyenne des autres rats SE, c'est-à-dire une importante diminution de la puissance et de la fréquence du rythme thêta après SE, sans changement ensuite entre 4, 7 et 10 jours après SE; sur le plan comportemental, curieusement, au stade épileptogène (à 4, 7 et 10 jours post-SE), il ne présentait pas d'habituation à la session S1 (cf. la moyenne des autres rats), ni de réaction au test spatial (cf. la moyenne des autres rats), ni même au test non spatial comparé aux autres animaux SE (comparé à la moyenne des autres rats). En revanche, à 25 et 40 jours après SE, l'animal étant maintenant déconnecté, il présentait une habituation au test S1, réagissait à la nouveauté des tests S2 et S3. Est-ce le fait de ne plus être connecté au système d'enregistrement EEG ? Cependant, lors des enregistrements, les animaux ne paraissaient nullement gênés et ceux qui voulaient vraiment explorer les objets, malgré le câble qui les reliait au système d'acquisition, pouvaient le faire sans problèmes, en montant même aisément sur les objets.

Toujours à partir de l'observation des EEG hippocampiques (région CA1) qui ont donné lieu à l'étude 2 (Article 1), j'ai classé l'activité interictale en **deux types**, que j'ai définis selon leurs critères morphologiques (durée de la pointe, durée de l'onde, amplitude de la pointe, amplitude de l'onde). Ces critères ont tout d'abord été définis à l'œil, puis quantifiés et analysés dans l'étude 6 (étude suivante). Commençons tout d'abord par définir ces deux types de pointes (dont une description détaillée est faite dans l'article de l'étude suivante) : un premier type, que j'ai appelé « **type1** », très ample et avec une onde après la pointe relativement bien prononcée (longue et ample), un second type, appelé « **type2** », caractérisé par une moindre amplitude et durée de la pointe et par l'absence d'onde lente après la pointe.

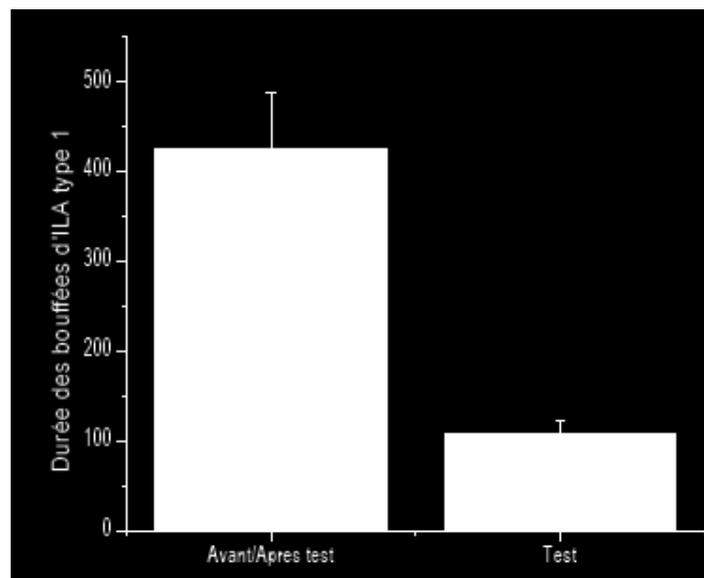
## **5.2. Analyse descriptive de la dynamique d'apparition de l'activité interictale**

Comme décrit plus haut, à partir de l'observation des EEG qui ont donné lieu à l'étude 2 (Article 1), j'ai décrit deux types d'activité interictale ainsi que leur dynamique d'apparition, selon les conditions comportementales et cognitives, au cours des 3 heures d'enregistrement, pour chaque animal SE. L'activité interictale, que ce soit de type1 ou de type2, se produit quelque soit le comportement, mais plus souvent lors du comportement d'exploration/sniffing, où la fréquence est également la plus élevée (cf. ci-dessous), et lors des conditions de test proprement dit (i.e. les 2 min d'essais). Cette activité interictale se produit aussi lors d'autres comportements et peut s'arrêter pendant le même comportement ou lors d'un autre comportement (plus fréquemment la veille calme).

Ainsi, avant d'étudier la dynamique de ces deux types d'activité interictale (étude 6), il me semblait judicieux d'étudier l'influence du comportement et des processus cognitifs sur cette activité, étude complémentaire aux études 2 et 6.

### **a) Durée des bouffées**

Je me suis alors intéressée à la durée des bouffées d'activité interictale **de type 1** avant/après le test, i.e. en conditions hors-test, versus pendant les tests cognitifs. Les résultats moyennés à tous les temps (7j, 10j, 25j, n=7 rats SE) sont présentés ci-dessous :

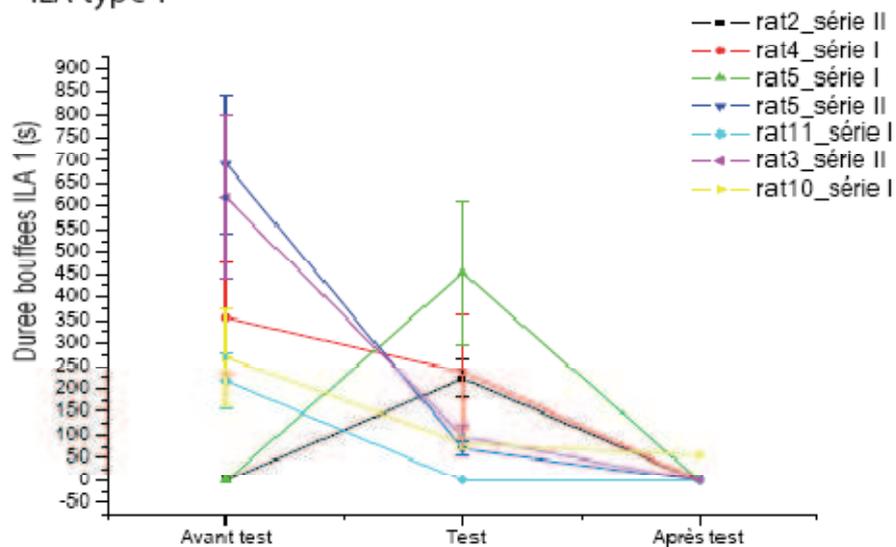


**Histogrammes représentant la durée des bouffées (s) d'activité interictale avant et après le test versus pendant le test (S1, S2, S3) moyennée à tous les temps (7, 10 et 25j post-SE) pour tous les rats (n=7) ayant présenté de l'activité interictale durant les 3 heures d'enregistrement.**

Ces résultats montrent qu'en conditions hors test (avant et après test), la durée (et le nombre : pendant les tests : 38.27 +/- 4.09 pointes; avant/après test : 158.12 +/- 29.07 pointes ;  $p < 0.001$ ) des bouffées était significativement plus importante (424.01 +/- 63.55 sec.) que lors des conditions de test (107.21 +/- 13.97 sec ;  $p < 0.001$ ).

Ensuite, si on distingue, pour les 7 rats ayant présenté de l'activité interictale de type 1 durant les 3 heures d'enregistrement, les conditions avant test des conditions après test, on obtient les courbes ci-dessous :

### A. ILA type 1

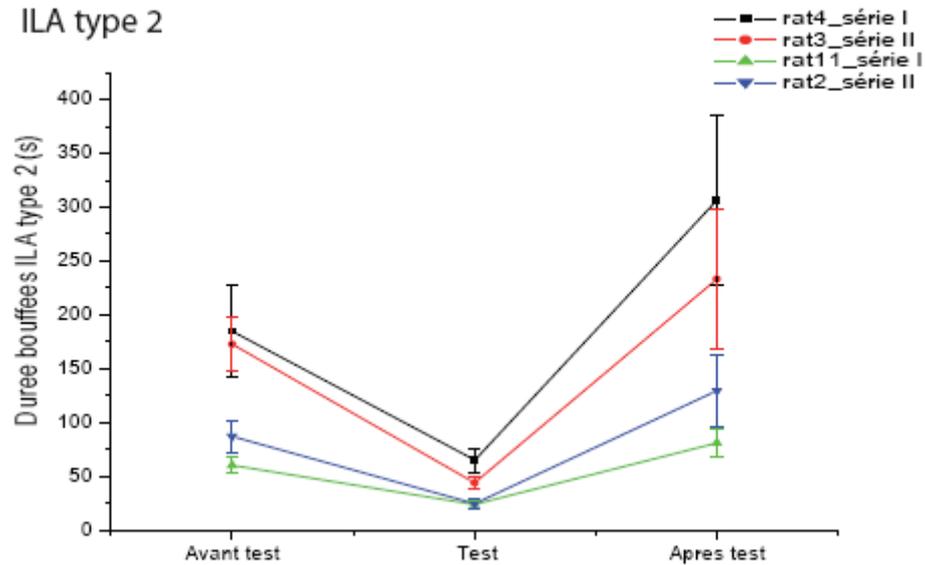


**Courbes représentant la durée des bouffées (s) d'activité interictale (ILA) de « type 1 » lors de trois conditions : avant, pendant et après le test (S1, S2, S3), moyennée à tous les temps (7, 10 et 25j post-SE) pour les 7 rats ayant présenté de l'activité interictale de « type 1 » durant les 3 heures d'enregistrement ( $p < 0.05$  pour tous les rats et toutes les conditions, sauf pour les rats 10 et 11 de la série I, entre les conditions de test versus après test).**

Au vu de ces courbes, on constate tout d'abord (i) que la présence d'activité interictale après le test est rare; en effet, elle n'apparaît que chez un seul rat (rat 10, série I), et encore il s'agit d'une bouffée très courte de seulement 56 secondes pendant le sommeil ; (ii) une importante variabilité qui implique qu'il n'y ait pas de différences significatives entre les rats dans les trois conditions (avant/pendant/après le test). Cependant, si l'on regarde pour chaque rat, la tendance est la suivante : lorsque l'activité interictale de « type 1 » est présente avant le test, la durée de ses bouffées diminue en conditions cognitives (test) et disparaît après le test ; s'il n'y en a pas avant le test, elle apparaît lors du test.

Ainsi, sur les 3 heures d'enregistrement (1h avant test/1h de test/1h après test), il était rare que tous les animaux traités présentent de l'activité interictale de « type 1 » à chaque condition et à tous les temps. Pour le « type 2 », la probabilité était encore moindre. Le graphique ci-dessous présente les résultats des rats ( $n = 4$ ) ayant présenté de l'activité interictale de « type 2 » à chaque condition (avant/test/après test) à un même temps :

## B. ILA type 2



**Courbes représentant la durée des bouffées (s) d'activité interictale (ILA) de « type 2 » lors de trois conditions : avant, pendant et après le test (S1, S2, S3), moyennée à tous les temps (7, 10 et 25j post-SE) pour les 4 rats ayant présenté de l'activité interictale de « type 2 » durant les 3 heures d'enregistrement ( $p < 0.001$  pour tous les rats et toutes les conditions, i.e. avant test *versus* pendant, et pendant test *versus* après ;  $p > 0.05$  pour tous les rats entre avant *versus* après test).**

Au vu de ces courbes, on constate très clairement que pour les 4 rats ayant présenté de l'activité interictale de « type 2 », la durée des bouffées avant le test diminue lors des conditions de test pour ensuite revenir au niveau précédent (i.e. avant le test). La tendance est à une augmentation très nette après le test, avec une durée encore plus importante qu'avant le test. Cependant, l'importante variabilité s'explique par le fait que la dynamique d'augmentation de la durée des bouffées d'activité interictale de « type 2 » est progressive après le test (résultats non présentés ici) : juste après le test, le réseau continue à générer des bouffées d'ILA relativement courtes, puis la durée des bouffées augmente avec le temps post-conditions de test, et se stabilise, souvent à une valeur plus importante que lors des conditions avant test. Ceci pourrait s'expliquer par des modifications de réseau (« mode encodage » hippocampique pendant le test) lors de ces deux conditions successives (conditions de test *versus* après test), et l'évolution progressive traduirait le temps nécessaire pour que le réseau se réadapte aux nouvelles conditions (i.e. après test). Cependant, on ne peut pas conclure davantage sur l'épileptogenèse car les rats n'ayant pas été enregistrés en continu, on ne sait pas s'ils ont une épileptogenèse différente ou non (jour de première crise, évolution de la fréquence des crises, etc.).

Ainsi, il semblerait que l'activité cognitive module la durée des bouffées des deux types d'activité interictale (« type 1 » et « type 2 »).

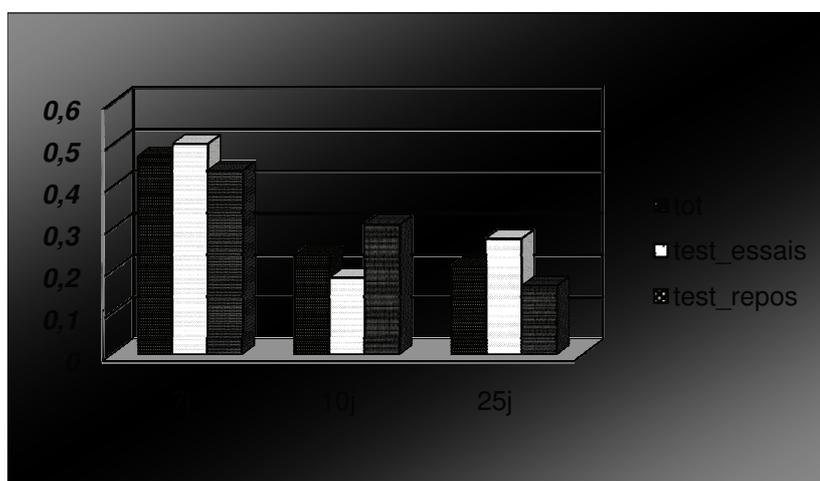
## b) Fréquence

### - Processus cognitifs

Si maintenant on distingue, **pendant le test**, les phases d'essais proprement dites versus les phases de repos (entre les essais, lorsque l'animal est remis dans sa cage), à chaque temps (7, 10, 25 jours après SE), on obtient les résultats suivants :

Temps après SE	« tot »	SEM	« test_essais »	SEM	« test_repos »	SEM
7j	0.47	0.07	0.50	0.06	0.44	0.05
10j	0.24	0.04	0.18	0.05	0.31	0.05
25j	0.21	0.02	0.28	0.03	0.16	0.03

et le graphique correspondant :



Graphique représentant la fréquence moyenne (nombre de pointes / seconde ; en abscisses) de l'activité interictale, en fonction des jours post-SE (7, 10 et 25 jours), lors de trois conditions : pendant le test (sans différencier phases d'essais et phases de repos entre les essais ; «*tot*»), pendant les essais (test proprement dit, «*test\_essais*») et pendant les phases de repos (entre les essais, pendant lesquels l'animal est remis dans sa cage, «*test\_repos*»), moyennée à tous les temps (7, 10 et 25j post-SE) pour les 7 rats ayant présenté de l'activité interictale durant les 3 heures d'enregistrement.

(dans les 3 conditions :  $p < 0.05$  entre 7j et 10j (sauf pour les conditions de repos lors du test « test\_repos ») et entre 7j et 25j, mais pas entre 10j et 25j ; une tendance ( $p = 0.056$ ) est à noter pour « test\_repos »).

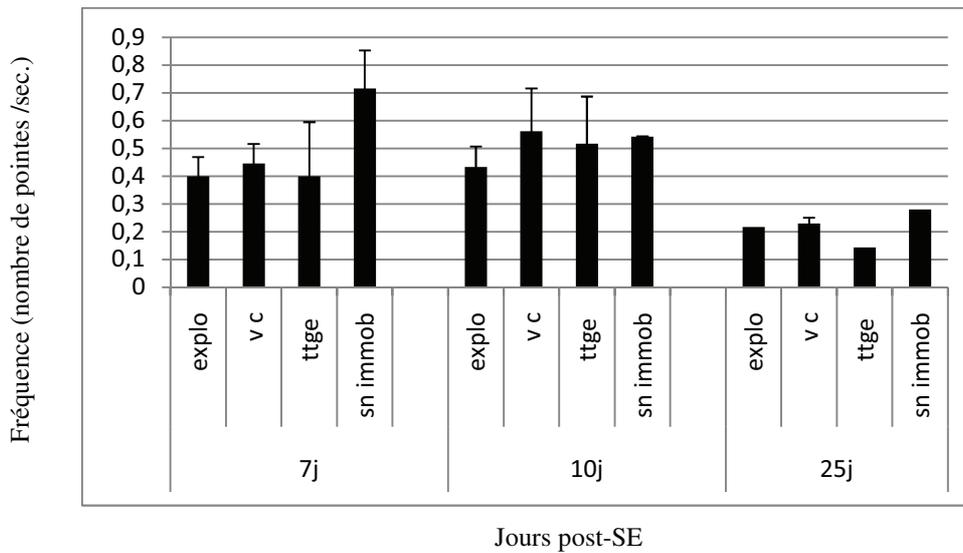
Comme pour la durée des bouffées d'activité interictale, ces résultats suggèrent que **les processus cognitifs doivent moduler l'activité interictale** (codée en fréquence ici). Cependant, il n'y a pas de règle selon qu'il s'agit des phases de repos (quand l'animal est remis dans sa cage entre deux essais) ou d'essais lors des différents tests, et ce pour les deux types d'activité interictale, même si pour le « type 1 » la tendance est en faveur d'une fréquence souvent plus stable entre les essais, et une augmentation en fin d'essai (résultats non présentés). De plus, rien ne ressort non plus lorsque l'on considère les différents tests (S1 : phase d'habituation, S2 : mémoire spatiale, S3 : mémoire non-spatiale), pour les deux types d'activité interictale (résultats non présentés).

Pour un même animal, à un temps donné, **l'activité interictale de « type 1 »** présente généralement le même profil de pointes. Pendant le test, il y a généralement une augmentation de la fréquence des pointes au milieu ou en fin de bouffée, plus souvent à la fin, avec une fréquence plus ou moins similaire aux conditions hors test, mais avec moins de pointes par bouffées et des bouffées plus courtes, comme on vient de le voir. Souvent, l'activité interictale est plus stable entre les essais *versus* pendant, avec une augmentation de la fréquence en fin d'essai. Concernant les **activités interictales de « type 2 »**, pendant le test, elles arrivent vraiment par bouffées (souvent courtes), à une fréquence plus ou moins identique (entre 0.7-0.8 et 1 Hz), comparé aux conditions hors test (avant/après test) où elles s'apparentent plutôt à du « bruit de fond pathologique ». Concernant leur fréquence d'apparition en fonction des conditions (comportementales et cognitives), il ne semble pas y avoir de règle, même si la tendance est à une fréquence d'apparition plus élevée lors du comportement de veille calme et lors des phases de repos pour les conditions cognitives. De plus, il y a généralement plus de pointes dans la première bouffée.

## - **Comportement**

J'ai également observé que la modulation de la fréquence des activités interictales par le **comportement** était fonction de leur type (« type 1 » ou « type 2 »):

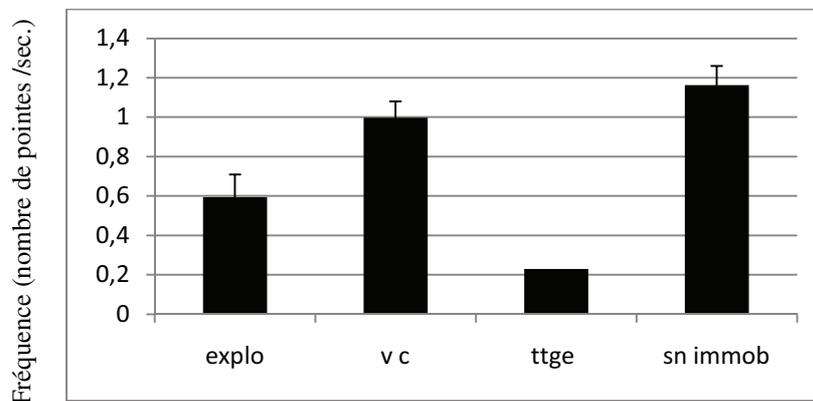
- **Activité interictale de « type 1 » :**



(avec, comme comportements : « explo » pour exploration ; « vc » pour veille calme ; « ttge » pour toilettage, et « sn immob » pour sniffing immobile).

- **Activité interictale de « type2 » :**

(exemple à 40 jours car peu d'activité de « type2 » à tous les temps durant les 3 heures d'enregistrement) :



(avec, comme comportements : « explo » pour exploration ; « vc » pour veille calme ; « ttge » pour toilettage, et « sn immob » pour sniffing immobile).

Il semble que la fréquence des pointes de « type 2 » soit plus modulée par le comportement que les pointes de « type 1 », ce qui suggère que ces deux types d'activité interictale font intervenir des mécanismes sous-jacents distincts.

### **c) Rythmes précédant l'activité interictale**

Ensuite, j'ai essayé de classer les pointes pendant (essais et phases de repos) et avant/après la tâche cognitive en fonction des rythmes (prédominants) qui les précédaient (i.e. que du gamma ; thêta et gamma ; que du thêta ; que du delta ; delta et gamma ; delta et thêta ; etc.), dans le but de voir s'il y avait une influence du nombre de pointes sur le rythme thêta selon ce classement des pointes, et une modification des rythmes avant la pointe lorsque la bouffée de pointes se poursuivait après la tâche cognitive. Il en ressort que pendant la tâche, la majorité des pointes sont précédées de manière prédominante par des oscillations gamma seules, ou des rythmes thêta et gamma, alors qu'avant/après la tâche, les pointes sont essentiellement précédées de gamma avec peu de delta et de thêta, et de delta et gamma, ce qui était attendu (vu que les rythmes thêta et gamma sont les rythmes de la cognition). Ainsi, en plus d'examiner s'il existait une corrélation entre la fréquence des pointes et la puissance du rythme thêta, j'ai également recherché s'il y avait un éventuel effet sur la puissance des oscillations gamma, oscillations souvent associées au rythme thêta dans les processus cognitifs. Aucune corrélation significative n'a été trouvée, comme pour le rythme thêta, et ce pour chaque test (S1, S2, et S3) et phases de repos entre les tests (S1, S2, S3).

### **d) Morphologie et polarité**

J'ai également étudié la morphologie et la polarité de l'activité interictale. La morphologie n'est pas modifiée selon les conditions comportementales, mais elle peut varier d'un rat à l'autre. Il en va de même pour la polarité qui ne semble pas être fonction des états comportementaux. Elle peut varier chez un même rat au cours des 3 heures d'enregistrement, mais c'est assez rare, et quand cela se produit, cette polarité est indépendante du comportement en cours.

## **5.3. Activité interictale et processus cognitifs - analyse détaillée**

Dans l'étude 2, j'ai mis en évidence l'absence de corrélation entre l'activité interictale (quantifiée avant le test) et les déficits cognitifs spatiaux de manière globale (moyenne à tous les temps). Cependant, si on regarde plus en détails, à partir de la distinction de l'activité interictale en deux types de pointes (« type1 », « type2 »), on trouve qu'à 7 jours post-SE, la fréquence moyenne des pointes de « type1 » avant le test est significativement corrélée aux performances cognitives spatiales des rats SE (corrélation de Spearman,  $p=0.035$ ). En revanche, il n'y a plus de corrélation à 10 jours ( $p=0.639$ ) et à 25 jours ( $p=0.486$ ) post-SE. De plus, le seul rat qui présentait, durant les 3 heures d'enregistrement, de l'activité interictale

dans l'hippocampe à 4 jours post-SE a les performances cognitives les plus faibles au test de mémoire spatiale (-13.4 sec [entre le temps passé à explorer l'objet avant (dernier essai de S1) et après (premier essai de S2) le changement spatial, comparé à la moyenne pour tous les autres rats SE : -1.88 sec]). Nous discuterons ces résultats dans le chapitre suivant.

Ainsi, nous pouvons conclure de cette étude que l'activité interictale hippocampique, au stade précoce de l'épileptogenèse, semble avoir un impact en tant que tel sur les processus cognitifs hippocampe-dépendants, i.e. spatiaux, alors qu'aux stades plus tardifs, comme au stade chronique, elle n'influe plus directement sur la cognition, le réseau impliqué dans cette dernière étant sûrement déjà suffisamment altéré pour que l'activité interictale puisse encore exercer un effet propre. Le comportement et les processus cognitifs semblent également moduler l'activité interictale, i.e. la durée de ses bouffées, le nombre de pointes dans celles-ci, et sa fréquence. Ainsi, l'activité interictale serait fonction des états cérébraux (comportementaux et cognitifs), ce qui justifie d'être **prudent lorsque l'on veut étudier sa dynamique au cours du temps** (cf. étude suivante). De plus, il est important de noter ici que l'on n'a analysé que l'activité interictale présente (enregistrée) dans la couche CA1 de l'hippocampe. Cependant, elle peut être générée dans d'autres régions, et simplement propagée dans la région CA1. C'est peut-être cette activité interictale, générée au sein des autres régions de la formation hippocampique, qui est importante et informative de l'état du réseau.

## **6. Dynamique de l'activité interictale, couplage et flux de l'information entre l'hippocampe et le cortex entorhinal au cours de l'épileptogénèse dans le modèle pilocarpine.**

### **Article 3: Dynamics of interictal-like activity and information flow during epileptogenesis in experimental temporal lobe epilepsy**

(article en préparation)

L'étude 3 ne nous informe pas sur les limites temporelles des phases d'épileptogénèse et d'épilepsie proprement dite. La présente étude vise à mieux caractériser ces deux grandes périodes clés, pour tenter de définir la fenêtre temporelle pendant laquelle agir pour mettre en place des traitements préventifs chez des patients à risque (i.e. ayant été victime d'un traumatisme crânien, de convulsions fébriles, ou de tout autres lésions, telles que les malformations corticales, etc.).

Ainsi, à partir de l'observation des EEG qui ont donné lieu à l'étude 2, j'ai défini deux types de pointes hippocampiques (cf. étude précédente), qui se différenciaient par l'amplitude et la durée de la pointe et de l'onde après la pointe, et dont il semblait intéressant d'étudier la dynamique au cours du temps. Cette dynamique pourrait être informative de l'état du réseau (i.e. épileptogène ou déjà épileptique). La réorganisation de la circuiterie étant l'un des mécanismes qui sous-tend la genèse de l'activité interictale, une idée était d'étudier le couplage et le flux de l'information entre l'hippocampe et le CE, deux structures fortement impliquées dans l'ELT et la genèse de l'activité interictale, et d'essayer de les corrélérer à la dynamique de l'activité interictale.

Les résultats de ce travail montrent qu'il y a une importante modification de la dynamique (amplitude, nombre et durée des deux types de pointes) juste avant la première crise spontanée, changement qui est également observé au niveau du couplage entre l'hippocampe et le CE (augmentation avant la première crise puis diminution) et au niveau du flux de l'information entre ces deux structures (le CE devient leader chez les animaux dès 1 jour post-SE, sans modification ultérieure au stade épileptogène et épileptique, contrairement à l'hippocampe chez les animaux contrôles). Ainsi ces modifications pourraient participer à la construction d'un réseau épileptogène et constituer des marqueurs prédictifs de l'épilepsie.

## Neurobiology of Disease

### Specific alterations in interictal activity and information flow between temporal lobe structures precede epilepsy onset

**Abbreviated title:** Dynamics of interictal activity and information flow during epileptogenesis

Laetitia Chauvière<sup>1</sup>, Thomas Doublet<sup>1</sup>, Antoine Ghestem<sup>1</sup>, Fabrice Wendling<sup>3</sup>, Monique Esclapez<sup>1</sup>, Fabrice Bartolomei<sup>2</sup>, Christophe Bernard<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> INSERM-U751, Université de la Méditerranée, 27, Bd Jean Moulin, 13005 Marseille, France

<sup>2</sup> AP-HM Hôpital La Timone, 13005 Marseille, France

<sup>3</sup> INSERM U642, Université de Rennes 1, Campus de Beaulieu 35042 Rennes, France

Correspondence should be addressed to: Laetitia Chauvière

INSERM-U751, Université de la Méditerranée, 27, Bd Jean Moulin, 13005 Marseille, France

laetitia.chauviere@univmed.fr

5 figures

Supplemental: 3 figures

19 pages

**Key words:** interictal activity, epileptogenesis, synchronisation, hippocampus, EC, pilocarpine model.

**Acknowledgements:** Supported by Inserm. L.C. has a FRM fellowship.

## Abstract

Temporal lobe epilepsy (TLE) is often preceded by a latent, seizure-free, period, during which interictal-like activity (ILA) is already present, and could be predictive of the chronic epileptic state. We thus analyzed the dynamics of ILA during epileptogenesis *in vivo* in pilocarpine-treated animals, an experimental model of TLE. We distinguished two types of interictal spikes: type1, with a large and slow spike followed by a long-lasting wave, and type2, with a small and fast spike without wave. Continuous recordings in the hippocampus and the entorhinal cortex (EC) revealed that the number and amplitude of type1 spikes started to decrease, whilst the number of type2 spikes increased, several days before the first spontaneous seizure. The alterations in ILA patterns thus mark the transition of the system to an epileptic state; they could be used as a predictive biomarker. Since ILA activity, role and impact depend upon the functional state of the EC and the hippocampus, we analyzed information transfer between these two structures. Using epochs of behavioural rest, we show that the coupling between both regions increased during the latent period and returned to control level during the chronic stage. The information flow between the two structures was permanently reversed at an early stage of epileptogenesis during rest, with the EC now driving the hippocampus. The functional impact of the change of information flow between the hippocampus and the EC is discussed in the context of the construction of an epileptogenic network and hippocampus-dependent cognitive deficits.

## Introduction

The development of chronic epilepsy, like temporal lobe epilepsy (TLE), can be the result of an initial insult, e.g. a status epilepticus or a brain trauma (Annegers, 1996). This initial insult is followed by a latent, seizure-free, period till the occurrence of the first spontaneous seizure. Epileptogenesis, the process leading to chronic epilepsy and a steady state of seizure activity, can take several years in human and a few weeks/months in animal models (French et al., 1993; Mathern et al., 1995; Williams, 2009). The initial insult is followed by considerable network modifications (ref). Some of these modifications appear to be permanent after the initial insult; others evolve during epileptogenesis (El-Hassar, 2007). One central question in epilepsy research and its treatment is thus to determine whether specific time-dependent alterations are causally linked to landmarks of the natural history of the disease, such as the first spontaneous seizure and the steady state of seizure activity. In order to unravel these key network parameters, it is essential to first identify *in vivo* macroscopic markers, which point at critical changes in the circuit. Interictal activity could constitute one such marker.

Studies performed in experimental models of TLE show that interictal-like activity (ILA) precedes by several days or weeks the occurrence of the first spontaneous seizure (Staley, 2005; El-Hassar, 2007). Although the role, function or impact of these interictal spikes remain elusive (Avoli, 2006) and although the presence, absence or a change in interictal activity does not appear to be predictive of seizure occurrence during the chronic phase (Lange, 1983; Gotman, 1985); ILA during the latent period may herald epileptogenesis and the chronic phase of the disease (White, 2009; Williams, 2009). Whether ILA displays specific dynamics features indicating/predicting the occurrence of the first spontaneous seizure, a pivotal network event, is not known. Experimental and theoretical arguments suggest that ILA properties may change during epileptogenesis. The modifications that occur

within the GABAergic and glutamatergic circuitry during epileptogenesis are consistent with the concurrent increase in frequency of interictal-like events, as predicted by modelling studies (Cossart, 2001; El-Hassar, 2007; Demont-Guignard, 2009; White, 2009). The shape of interictal-like spikes also appears to critically depend upon the way GABAergic and glutamatergic sub-networks are recruited (El-Hassar, 2007; Demont-Guignard, 2009).

Investigating ILA dynamics is important, not only to determine key time points during the construction of an epileptogenic network, but also to study their role during epileptogenesis. In analogy with the kindling phenomenon, ILA may have a direct network modifying action (Morimoto, 2004). Since the intracellular correlate of interictal spikes is a burst of action potentials overriding a large depolarization, ILA may trigger synaptic plasticity, and thus participate directly in the construction and/or maintenance of an epileptogenic network (Staley & Dudek, 2006; Dzhala & Staley, 2003). Alternatively, ILA could have an anti-epileptic action, depending upon the integrity of the EC-hippocampus network (Avoli, 2002, 2006). These different roles/functions of interictal spikes are not exclusive of one another. Various types of interictal spikes have been identified on the EEG (Buzsaki et al., 1989; Buzsaki et al., 1989; Demont-Guignard, 2009). Changes in ILA properties (occurrence, shape, amplitude, duration etc.) during epileptogenesis may both reflect a different functioning state of the underlying neuronal circuitry, and have different functional consequences on the network (Avoli, 2002, 2006; Demont-Guignard, 2009).

As a first step to address these issues, we analyzed the dynamics and properties of interictal spikes *in vivo* during the latent and chronic periods in pilocarpine-treated animals, an experimental model of TLE. We show that ILA evolves from large and slow spike and wave to small and fast spikes during epileptogenesis, and that a major switch in ILA occurs before the occurrence of the first spontaneous seizure. Since ILA functional impact may depend upon the integrity of the EC-hippocampus network (Avoli, 2002, 2006), we studied

the relationships between both structures. We report that the flow of information between the hippocampus and the EC is persistently modified at early stages of epileptogenesis. Our data provide important information about the constitution of an epileptogenic network. Changes in ILA dynamics and properties are predictive of the first seizure, suggesting that key network modifications occur at the same time, as evidenced by as an increased coupling and a change in dialogue between the hippocampus and the EC.

## **Material and Methods**

**Animals.** Recordings were performed during the light phase of the cycle on 13 adult male Wistar rats (200-250g, Charles River, France).

**Electrode implantation.** Rats were anesthetized with ketamine (1mg/kg)/xylazine (0.5mg/kg) and placed in a stereotaxic apparatus. One bipolar steel electrode was implanted in the dorsal hippocampus (3.8 mm antero-posterior, 1.5 mm medio-laterally and 3.0 mm dorso-ventral from the bregma) and the EC (5.8 mm antero-posterior, 5.6 mm medio-laterally and 9.0 mm dorso-ventral from the bregma). Three stainless-steel cortical electrodes were screwed on the skull (two screws in the right and left frontal cortex, and the reference in the cerebellum).

**Treatment.** Thirteen rats received intraperitoneally (ip) injections of pilocarpine hydrochloride (310 mg kg<sup>-1</sup>), 30 min after an ip injection of scopolamine injection (1mg/kg). Status epilepticus (SE) was stopped by diazepam (8 mg/kg) after 40 minutes. Four animals displayed stage 5 seizures, but did not develop SE. They were included in the sham group, because in the previous study (Chauvière et al., 2009), we found that sham-treated and non-SE animals had the same electrophysiological, behavioral and cognitive physiological activity (over a 2 month long period).

**In vivo depth EEG recordings.** Extracellular recordings were performed continuously (24h/24, 7/7 days; Deltamed, Paris, France) for 5 rats, compared to the others 4 rats that were recorded at fixed time points (D7, D10, D25 and D40). The sampling rate of this recording system is 512 Hz and no filters were applied on the EEG to further analyses. A video-system (Video Track, View Point, France) was used to quantify behaviour during recording sessions. The first spontaneous seizure occurred between 7 and 20 days following SE (Chauvière et al., 2009).

**Data analysis.** ILA and ILA bursts were automatically detected and analyzed (amplitude, duration, time interval) using Clampfit (Molecular Device) and Amadeus (F. Wendling, INSERM, Rennes, France) softwares. Since the criteria and the number of type1 and type2 ILA in one burst are representative of all bursts at a given day, we decided to only take into account a few bursts per day (between 3 and 5 bursts), instead of all bursts at each time point. In these bursts, we analyzed type1 ILA dynamics by combining all type1 spikes (i.e. with large and smaller amplitude), for the sake of simplicity; the same procedure was used for type2 spikes. Then, the cross- correlation and the directionality of intracerebral EEG recordings and the influence of ILA were estimated as a function of time by using nonlinear regression analysis (Lopes da Silva et al., 1989; Pijn et al., 1990; Wendling et al., 2001; Meeren et al., 2002; Pereda et al., 2005). This analytical method may be used to measure the degree and direction of functional coupling between neuronal populations. Details of the method can be found in previous studies (Bartolomei et al., 2004; Wendling et al., 2001). In brief, nonlinear regression analysis provides a parameter, referred to as the nonlinear correlation coefficient  $h_2$ , which takes its values in  $[0, 1]$ . Low values of  $h_2$  denote that signals X and Y are independent. On the other hand, high values of  $h_2$  mean that signal Y may be explained by a transformation (possibly nonlinear) of signal X, i.e. signals X and Y are dependent. In addition to the estimation of  $h_2$ , a second quantity is evaluated that brings information on the causal property of the association. This quantity, referred to as the direction index D, takes into account both the estimated time delay between signals X and Y (latency) and the asymmetrical nature of the nonlinear correlation coefficient  $h_2$  (values of the  $h_2$  coefficient are different if the computation is performed from X to Y or from Y to X). Values of parameter D range from  $-1.0$  (X is driven by Y) to  $1.0$  (Y is driven by X). We used for the analysis a 200 seconds window sliding by steps of 50 seconds. Rest (during quiet

immobility) epochs were chosen to analyze and compare h2 and DIR values for the two different groups.

**Statistical analysis.** Significance of interictal criteria, ILA number, and h2/DIR data were tested using the Student *t* test for independent epochs, the Kruskal-Wallis and the Mann-Whitney tests. For correlation analysis, we used the Spearman correlation.

**Histological Experiments.** At the end of the electrophysiological recordings, all the rats were deeply anesthetized with ketamine (1mg/kg)/xylazine (0.5mg/kg) and perfused intracardially with a fixative solution containing 4% paraformaldehyde in 0.12 M sodium phosphate buffer, pH 7.4 (PB) to verify the electrode placement. After perfusion, the brains were postfixed in the same fixative for 1 hour at room temperature (RT), rinsed in 0.12 M PB for 1.5 hours, immersed in a cryoprotective solution of 20% sucrose in PB overnight at 4°C, quickly frozen on dry ice, and sectioned coronally at 40 µm with a cryostat. Every tenth section was stained with Cresyl Violet in order to determine the general histological characteristics of the tissue within the rostral–caudal extent of the hippocampal formation including the EC, as well as to verify electrode placement. Its position within the CA1 region of the hippocampus and EC was confirmed in all reported animals (e.g. Chauvière et al., 2009).

## Results

Animals that did not develop a SE after pilocarpine injection were used as sham animals (n=4). They presented neither interictal activity nor seizures during the time course of the study. All animals displaying a status epilepticus (SE) became epileptic; i.e. they had spontaneous and recurrent seizures (n=9). They started to generate ILA soon after the SE, well before the occurrence of the first spontaneous seizure (Hellier et al. 1999; Mazarati et al., 2002; Shah et al., 2004; Cobos et al. 2005; Staley et al. 2005; El-Hassar et al., 2007; White et al., 2009; Williams et al., 2009). We thus started to characterize the pattern of activity and the time-dependent evolution of ILA after SE.

### *Two types of interictal-like spikes identify two types of ILA bursting patterns*

As previously reported in the denervated dorsal hippocampus (Buzsaki et al., 1989; Buzsaki et al., 1991), we observed the occurrence of two major types of interictal-like spikes in the hippocampus. Type1 spikes are characterized by a spike with a large amplitude and long duration followed by a long-lasting wave (Fig. 1A). Type2 spikes have small and short spikes (Fig. 1B). A global analysis of interictal-like spikes during the latent and chronic periods revealed that type1 spikes displayed larger amplitude ( $645 \pm 13$  mV) and longer duration ( $77 \pm 3$  ms) of the spike, and larger amplitude ( $195 \pm 5$  mV) and longer duration ( $432 \pm 8$  ms) of the wave (Fig. 1A; n=4326 type1 spikes recorded at days 7, 10, 25 and 40 days after SE); as compared to type2 spikes, which displayed smaller amplitude ( $492 \pm 11$  mV) and duration ( $25 \pm 1$  ms) of the spike, and smaller amplitude ( $18 \pm 3$  mV) and duration ( $50 \pm 7$  ms) of the wave (Fig. 1B; n=22647 type2 spikes recorded at days 7, 10, 25 and 40 days after SE). Each of the four criteria was significantly different between type1 and type2 spikes ( $p < 0.001$ ).

Interictal spikes were recorded in both the hippocampus and EC. They could occur synchronously or independently from one another (Supplemental Figure 1). ILA in the EC had generally no wave after the spike (Supplemental Figure 1). In contrast to the hippocampus, it was not possible to clearly identify in the EC different types of interictal spikes or bursting patterns (see below). We therefore focused our analysis on hippocampal ILA.

The analysis of electrophysiological signals recorded 24/7 in the hippocampus revealed that type1 ILA appeared 1-2 days after SE in a continuous fashion (Supplemental Figure 1). Then, ILA occurred in bursts of spikes (Figs. 1C-D). The vast majority of spiking activity (95%) took place during bursts, i.e. isolated spikes (outside bursts) were infrequent events both during the latent and chronic periods. When occurring, they were essentially type2 spikes (not shown). The analysis of the properties of interictal spikes within bursts identified two patterns of bursts. Type A bursts started with type1 spikes and ended with type2 spikes (Fig. 1C). At the beginning of type A bursts, type1 spikes had a large spike, which amplitude and duration decreased as the burst progressed, till the activity converted to type2 spikes, i.e. when the wave disappeared. Type B bursts were characterized by the presence of type2 spikes only (Fig 1D).

### ***Dynamics of ILA during the latent and chronic periods***

Since type A bursts are characterized by a transition from type1 to type2 spikes, we investigated the dynamics of this transition during epileptogenesis. A typical example is presented in Fig. 2. At an early stage of epileptogenesis (D7), type A bursts started with type1 ILA with small spike amplitude and short duration, with a large and long-lasting wave. As the burst progressed, the spike amplitude and duration increased, whilst the wave remained

unchanged. The amplitude and duration of type1 spikes then started to decrease, till the wave disappeared, marking the transition to type2 ILA with smaller and faster spikes. Later during epileptogenesis (D10), there was no build-up of type1 spikes. The spike amplitude was maximal at the burst onset, and steadily declined till the end of the burst. The transition to type2 spikes was also identified by an abrupt loss of the wave. At later stages (D25 and D40, i.e. during the chronic phase), the same pattern was observed with a progressive decrease of spike amplitude and a transition to type2 spikes. The analysis of the intrinsic dynamics of ILA within type A bursts at four discrete time points during epileptogenesis in this typical example suggests that the amplitude of type1 spikes starts to decrease during the latent period and the early chronic period (D25), then increases later into the chronic period (D40). In the meantime, the number to type1 spikes appeared to steadily decrease during epileptogenesis whereas the number of type2 spikes appeared to increase.

However, for type2 ILA in type B bursts, at each time point, there is no dynamic inside the bursts: amplitude and duration of the spike and wave remain stable along the bursts (data not shown).

In order to obtain a more accurate temporal distribution of these changes, we then performed a longitudinal analysis of type1 and type2 spikes in type A bursts, as well as type2 spikes in type B bursts, in continuously recorded SE rats (n=5) and in some rats recorded at specific time points (D4, D7, D10, D25 and D40; n=4). We focused on the number and amplitude of spikes, since these parameters appear to be most representative of activity changes.

Type1 number and amplitude was maximal during the acute phase, at day 1 (D1), then started to decrease (amplitude: from D3 to D25 versus D1,  $p < 0.001$ ; number: from D5 to D25 versus D1,  $p < 0.05$ ; Fig. 3A). Both parameter remained globally stable during the latent

period, and finally reached a steady state during the chronic stage (D13 vs. D5:  $p=0.22$ ; D40 vs. D15:  $p=0.087$ ). The amplitude of type2 spikes in type A bursts steadily increased from D3 to D25 ( $p<0.001$  from D7 to D25 versus D5), whilst their number only showed a transient increase at D8 (Fig. 3B). The amplitude of type2 spikes in type B bursts decreased at D5 ( $p<0.001$ ), increased between D5 and D14 ( $p<0.001$  vs. D5), before reaching a steady state till D20, and then decreased (from D25 to D40,  $p<0.001$  versus D20; Fig. 3C). Their number showed a transient increase at D14 (D14:  $p=0.05$ ), before decreasing again (Fig. 3C; D40 vs. D15:  $p=0.043$ ). This analysis reveals dynamical features in type1 and type2 spikes during epileptogenesis. The patterns evolve in time, probably reflecting changes in the underlying neuronal circuits. However, the natural history of epilepsy in these animals, and possibly the network changes, are specific for each animal (Williams et al., 2009). Therefore, using the time of SE as the reference time to describe the dynamics of ILA changes may not be the most appropriate, as the speed of epileptogenesis is different between animals (Williams et al., 2009). We thus used the time of the first spontaneous seizure (SZ1), in the rats recorded continuously ( $n=5$ ), as the reference time point, as it indicates the start of the chronic phase, but not necessarily the end of epileptogenesis (Williams et al., 2009).

### *Changes in ILA dynamics before the first spontaneous seizure*

Using SZ1 as the reference time point, we observed that the number and amplitude of type1 spikes started to increase ( $p<0.001$ ) during the acute phase, and steadily decreased ( $p<0.001$ ) six days prior to SZ1, with a rebound one day after SZ1 ( $p<0.001$ ), before reaching a steady state two days after SZ1 (Fig. 3D). The amplitude of type2 spikes in type A bursts decreased and then increased before SZ1. After SZ1 there was a transient increase, followed by stabilization (Fig. 3E). The number of type2 spikes only displayed a transient increase just

before and after SZ1 (Fig. 3E). The amplitude and number of type2 spikes in type B bursts decreased prior to SZ1 ( $p < 0.001$ ), then steadily increased after it ( $p < 0.001$  for all time points, except at D11:  $p = 0.02$ ; D13:  $p = 0.04$ ; Fig. 3F). Finally, we found that the duration of all spikes (type1, type2 in type A bursts, type2 in type B bursts) steadily decreased before SZ1, increased after it, returning close to baseline level (Figs. 3G-I). Several days before SZ1, there is thus a gradual concomitant decrease in type1 and increase in type2 spikes in type A bursts; whilst type2 spikes in type B bursts decreased before SZ1. In parallel, the duration of all spikes decreases before SZ1. These changes identify a clear switch, or network signature, in ILA activity before the first spontaneous seizure. We then investigated whether ILA bursts also displayed specific dynamical features during epileptogenesis.

### ***Burst dynamics during epileptogenesis***

Since hundreds of ILA bursts can occur per day in a given animal after SE, we first randomly picked a few bursts (5 for each type) per day and quantified the time spent in type 1 and type 2 activities in type A and type B bursts at different time points during epileptogenesis ( $n = 9$ ). We found that the time spent in type2 ILA in type B bursts decreased after SE till D6 ( $p < 0.001$ ), the averaged day for SZ1, then plateaued until D40 without any change for the total ILA bursts duration (Fig. 4,  $p = 0.304$ ). Since type1 spikes display specific dynamic patterns during epileptogenesis, we also quantified the time spent in type 1 activity in type A bursts. At D1 most ILA activity was composed of type1 spikes. The duration of type1 spike activity then decreased till D6 ( $p = 0.012$ ), remained so till D14 (Fig. 4,  $p = 0.972$ ) before increasing (D25:  $p = 0.013$ ) and stabilizing till D40 (Fig. 4,  $p = 0.811$ ). Burst duration also followed a simple pattern, with a steady decrease till SZ1, with the duration of type1 spike activity increasing slightly during the chronic period. Since type1 ILA number remains

the same or even decreased along time, the increase in the time spent in type1 activity suggests a change in frequency. The mean time interval between type1 spikes indeed decreased between D7 and D10 ( $p=0.04$ ), then greatly increased between D10 and D25 ( $p<0.001$ ; D7: 4013 $\pm$  ms; D10: 3325 $\pm$  ms; D25: 7640 $\pm$ ; D40: 4264  $\pm$  ms). For type2 spikes in type A bursts, it significantly increased at D40 ( $p<0.001$ ), compared to before (D7-D10,  $p=0.479$ ; D7: 2093  $\pm$ ; D10-D25:  $p=0.933$ ; D10: 4236  $\pm$ ; D25: 3970  $\pm$ ; D40: 7986  $\pm$  ; ); in type B bursts, it increased at D10 (D7: 2672  $\pm$ ; D10: 3911 $\pm$ ,  $p=0.003$ ) then at D40 (D25: 3321  $\pm$ ; D40: 4797  $\pm$ , D10-D25:  $p=0.243$ ; D25-D40:  $p<0.001$ ).

A detailed longitudinal analysis of all type A and type B bursts during epileptogenesis did not reveal further information (Supplemental Figure 2). There were more type B than type A bursts, in particular during the chronic period, whilst their duration was shorter. Considering the time spent per day in ILA (number  $\times$  duration), there was no difference between type A and type B bursts, which averaged 7h/day each. However, the time spent in type B bursting activity tended to decrease before SZ1, before reaching a steady state. The behaviour of type B burst patterns thus follows the behaviour of type2 spikes (number and amplitude) within type B bursts before SZ1, supporting that major changes in network dynamics occur before SZ1.

The changes in ILA patterns during epileptogenesis may be causally linked to reorganizations of the underlying circuitry (Morimoto et al., 2004; El Hassar, 2007; Demont-Guignard, 2009), in particular within the hippocampus as well as between the EC and the hippocampus, which form recurrent excitatory loops central to ILA genesis/propagation (Dzhala & Staley, 2003; Avoli, 2002; 2006). If this hypothesis is correct, we reasoned that it would translate, at a macroscopic scale, to modifications in the way these structures process and transfer information. We thus studied the coupling and information flow between the hippocampus and the EC, and tried to relate them to changes in ILA activity patterns.

### *Dynamics of the coupling between the hippocampus and EC during rest periods*

Since information flow depends upon behavioural and cognitive states (Buzsaki, 2006), we focused our analysis on rest epochs during quiet immobility, because these periods were stable, reproducible and unambiguously defined during the whole course of the study. We distinguished rest periods with and without ILA in SE animals (n=9), first combining type1 and type2 spike-containing epochs. The coupling (mean  $h_2$  values, which measure how two signals are dependent upon one another) between the hippocampus and the EC was similar in the SE and sham groups at all measured time points (Fig.5A; compared to D-7; D4:  $p=0.968$ ; D7:  $p=0.137$ ; D10:  $p=0.091$ ; D25:  $p=0.763$ ). There was a transient increase of  $h_2$  at D1, including in sham animals, suggesting that pilocarpine-induced stage 5 seizures (for the sham group) or SE (for the experimental group), as well as the injection of the various drugs at D0 produced a transient modification of network dynamics, e.g. (Tejada, 2010). During rest periods with ILA,  $h_2$  was back to D-7 values at D4 (Fig. 5A; sham/SE with ILA:  $p=0.330$ ; SE without ILA/SE with ILA:  $p=0.06$ ) after the transient increase at D1. The values of  $h_2$  increased again from D4 to D10 (D7: sham/SE with ILA:  $p=0.029$ ; SE without ILA/SE with ILA:  $p<0.001$ ; D10: sham/SE with ILA:  $p<0.001$ ; SE without ILA/SE with ILA:  $p<0.001$ ), and finally decreased back to pre-treatment values (D40: SE without ILA/SE with ILA:  $p=0.768$ ). We did not include  $h_2$  values at D40 for the sham group, since only two animals were recorded past D25. However, the values were similar to the SE group without ILA (Fig. 5A), i.e. back to control levels. There is thus a transient increase in the coupling between the hippocampus and the EC, around the time when animals experience their first spontaneous seizure. An increase in  $h_2$  between the hippocampus and the EC could be explained by the sole presence of ILA. However,  $h_2$  values were not correlated with the number of spikes at all time points ( $r=-0.055$ ;  $p = 0.4$ ; Supplemental Figure 3). Together,

these results suggest that the transient increase in  $h_2$  indicates altered network dynamics around SZ1, a time around which the hippocampus and EC become tightly linked.

We then investigated whether the changes in  $h_2$  values were correlated with the type of spiking activity (Fig. 5B). The coupling was maximal at D1 for type1 spikes, at a time when type1 spikes dominate the activity, decreased at D4, increased until D10 before decreasing again till D40 to D-7 (pre-SE) values (Fig. 5B). The  $h_2$  values measured during type2 spike activity followed the same pattern in type A and type B bursts. The coupling increased from D4 to D10 and then decreased back to D-7 values at D40 (Fig. 5B). Together, these results show that the coupling between the EC and the hippocampus evolve dynamically during epileptogenesis, but with a time course different from that of type1 and type2 spikes. In the absence of ILA, the coupling is the same in SE and sham animals throughout. When ILA is present, the coupling increased during the early phase of epileptogenesis, before returning to ILA-free values during the chronic stage.

### ***Permanent reversal in the direction of the information flow between the hippocampus and the EC during rest periods***

When studying information flow between two structures, it is important to assess not only the strength of the coupling but also the directionality of the flow, i.e. whether one structure leads (or drives) the other. We thus measured the information flow (DIR index) between the hippocampus and the EC. Whereas the hippocampus is the leader structure in control animals without any change along the different time points ( $p=1.000$ ), the flow of information was completely reversed at all time points during epileptogenesis, both in epochs with and without ILA (Fig. 5C), with the EC now acting as leader. The change in directionality was independent of the type of spike or burst (Fig. 5D). We conclude that the

SE permanently altered the direction of information flow between the hippocampus and the EC at rest, and that this change is independent of the presence of ILA.

## **Discussion**

All together, these results show a switch in ILA dynamics just before the first spontaneous seizure and a modification of information flow between the hippocampus and the EC as soon after the initial SE.

## **Two types of ILA**

ILA, a direct consequence of the reorganization of the circuitry, appears early during epileptogenesis (Hellier et al., 1999; Mazarati et al., 2002; Shah et al., 2004; Staley et al., 2005; El-Hassar et al., 2007; Williams, 2009; White, 2009). As described before (Buzsaki et al., 1989; 1991), we could distinguish two types of spikes depending upon the duration and amplitude of both the spike and the wave. The amplitude and duration of the spike is classically considered as a direct reflection of the number of cells firing in synchrony (a population spike mostly involving the firing of excitatory cells), whilst the amplitude and duration of the wave would correspond to the activation of inhibitory pathways (Demont-Guignard et al., 2009). Changes in spike or wave amplitude and duration would thus mark modifications in the recruitment of glutamatergic and GABAergic circuits. The mechanisms underlying ILA remain poorly understood, but the involvement of local feedback and feedforward circuits seem to play a key role (Buzsaki et al., 1989; 1991; Miles).

## **Two types of ILA bursting patterns**

Most ILA activity occurred in burst. The way bursts of spikes start and end is not known, but they most likely involve reverberating circuits (Buzsaki et al., 1989; Dzhala &

Staley, 2003). We could distinguish two types of bursts. Type A bursts were characterized by a type1 to type2 spike transition, i.e. by an abrupt loss of the wave. Before the transition occurred, type1 spike amplitude and duration decreased (Fig. 2), suggesting a large reduction in cell firing. The reduction in spike duration, indicating increased firing synchrony, should have led to increased spike amplitude if the same neuronal population was involved in its genesis. The decrease in spike amplitude thus indicates a large reduction in the number of firing cells. As less pyramidal cells get activated, the recruitment of feedback GABAergic circuits could fail when a threshold is reached. Interestingly, the transition to wave-less activity was not abrupt, as the activity switched back and forth between type1 and type2 spikes during some time (Fig. 2). We propose that small circuits involving few neurons firing in synchrony generate type2 spikes, whilst type1 spikes involve larger but less synchronous cell populations recruiting feedback GABAergic circuits. The continuous decline of spike amplitude in type A bursts could be due to the exhaustion of circuit resources (energy, inactivation of ionic channels, replenishment of vesicles etc.) and/or dynamic changes such as short-term depression. The frequency of spikes is between 0.2 and 1 Hz, i.e. in the range of that used to trigger long-term depression of excitatory synapses (Bear & Malenka).

Type B bursts were defined by the presence of type2 spikes only, suggesting raising the possibility that local circuits can get activated without the recruitment of feedback inhibitory pathways, perhaps because the system is in a reluctant state. Type B bursts, although not as long lasting, were more numerous than type A bursts. They became predominant as epileptogenesis progressed, which correlated with the progressive degradation of inhibitory circuits (El-Hassar, 2007).

## **ILA dynamics along the time course of epileptogenesis**

Although interictal activity does not appear to be a good predictor of seizures (Gotman, 1991), ILA may constitute a biomarker predictive of the development of epilepsy (White et al., 2009). Going a step further, we quantified ILA dynamics, and found that the number/amplitude/duration of type1 ILA and total ILA bursts duration started to decrease several days before SZ1. These changes could thus constitute a biomarker predictive of the occurrence of the first seizure. Such macroscopic changes indicate that specific alterations happen in the underlying circuitry before SZ1, which can now be investigated *in vitro*. It will be important to determine whether these changes are an epiphenomenon related to mechanisms precipitating the system to the first spontaneous seizure or whether they are causally related to the occurrence of the first seizure.

The number and duration of bursts fluctuated after SZ1, which is consistent with the proposal that epileptogenesis is a continuous process that extends much beyond the first spontaneous seizure in experimental (Williams, 2009) and human (Bartolomei et al., 2008) TLE.

## **An epileptogenic or preventive role for type1 ILA?**

Two opposing roles have been assigned to ILA: maintaining the network in an epileptogenic state, or protecting it against seizures (Barbarosie & Avoli, 1997; 1999; Avoli, 2002; 2006). Type 1 ILA, followed by a prolonged period of inhibition (de Curtis et al., 1998), could be protective from EC seizures emergence (Engel et al., 1982; Swartzwelder et al., 1987; Barbarosie & Avoli, 1997; Librizzi & de Curtis, 2003; de Curtis et al., 2001; Avoli et al., 2006). The decrease in ILA number before SZ1 is consistent with this scheme.

ILA can also trigger synaptic plasticity (Staley, 2006), thus leading to the build-up of an epileptogenic network that can extend to other structures. Type2 ILA may play a role in this pro-epileptogenic phenomena whereas type1 ILA could have a protective action; or, instead, both ILA types could participate in the build-up of an epileptogenic network (Bartolomei et al., 2008; Aubert et al., 2009; Tassi et al., 2009; van Dellen et al., 2009). The answer to this question may be time-dependent (during epileptogenesis) and context/brain state-dependent.

### **Coupling and information flow evolution for ILA types**

A change in information flow between hippocampus and EC in epileptic tissue has been proposed to favor the induction of *in vitro* seizures (Avoli, 2002; 2006). Our *in vivo* findings are consistent with this proposal: EC becomes the leading structure (for the hippocampus) during rest periods in experimental animals, as compared to similar periods measured in the same animals before the induction of SE. This modification occurred soon after SE and persisted during epileptogenesis. It could be associated with the early and persistent spatial deficit observed in experimental animals (Chauvière et al., 2009) and with seizure genesis/propagation. The underlying mechanisms likely include the post-SE reorganization of the neuronal circuitry. The initial SE triggers the loss of O-LM interneurons, which control the entorhinal input in the hippocampus (Cossart et al., 2001). As a consequence, the temporoammonic pathway is largely facilitated and its activation can trigger burst firing in CA1 (Cossart et al., 2001). Interestingly, the change in directionality did not depend upon the presence of ILA. Of course, directionality represents a metaparameter of system dynamics; and we cannot rule out the fact that rest periods in

experimental animals are different from control. Yet, these results suggest that the way the system is processing/transmitting information is dramatically changed after SE.

Although directionality was modified in experimental animals, the coupling between the hippocampus and the EC was similar to control groups during rest epochs without ILA. The increase in coupling at D1 in sham animals most likely reflect transient modifications triggered by pilocarpine-induced seizures (sham animals had acute seizures but no SE). The coupling in the presence of ILA was increased early during epileptogenesis. Since there was no relationship between the number of spikes and coupling, we propose that the increased coupling merely reflect changes in the circuitry, within and between both structures. Facilitated transfer of information between the hippocampus and the EC may facilitate the construction of an epileptogenic network. Interestingly, late during epileptogenesis, the coupling returned to control levels, even in the presence of ILA, a result that could be explained by the progressive degradation of the circuitry.

In conclusion, we have shown that specific alterations occur several days before the first spontaneous seizure, and that they can be identified at a macroscopic electrophysiological scale. The molecular mechanisms need now to be determined. The changes in coupling and information flow between the hippocampus and the entorhinal cortex may not only represent the construction of an epileptogenic network but also be causally related to the functional cognitive deficits found in TLE. These dynamical changes provide key indications about where and when to intervene.

## Figure legends

**Figure 1.** A. Example of type 1 ILA, with the four criteria considered for ILA analysis: amplitude of the spike, of the wave, duration of the spike, and of the wave. B. Example of type 2 ILA. Note the difference in amplitude and shape as compared to type 1 ILA. C. Example of type A burst, with the evolution from type 1 high amplitude and a long wave ILA (first 12 sec part) to lower amplitude and duration type 1 ILA along the burst (second 120 sec part) to faster and much lower amplitude and duration type 2 spike-and-waves discharges (200 sec). D. Example of type B burst period (120 sec), with only type 2 ILA.

**Figure 2.** Evolution of the four criteria at D7, D10, D25 and D40.  $\longrightarrow$  indicates when switch activity (i.e. from type 1 to type 2 ILA) occurs (\*:  $p < 0.05$ , means  $\pm$  SEM). We can see that at all time points (D7 and D10 during the latent period, D25 and D40, during the chronic stage) the switch occurs, that means that type1 ILA evolves in type 2 ILA (type A burst), but at D40, there remains, at least predominantly, only type B ILA burst, with only type2 ILA, since no switch occurs. Therefore, ILA bursts present an evolution along the different time points that could be indicative about network state.

**Figure 3. Left.** Evolution of both number and amplitude ( $\mu$ V) for type 1 and (B) type 2 ILA, in type A and B (C) bursts, from D1 to D40 (days after SE). **Middle.** Evolution of both number and amplitude ( $\mu$ V) for type 1 (D) and type 2 ILA, in type A (E) and B (F) bursts, centered on the first spontaneous seizure (SZ1; for animals recorded continuously). **Right.** Evolution of spike duration, for type 1 (G) and type 2 ILA, in type A (H) and B (I) bursts, centered on the first spontaneous seizure (SZ1; for animals recorded continuously). \*:  $p < 0.05$ ; \*\*:  $p < 0.001$  (means  $\pm$  SEM).

**Figure 4.** Total duration (sec) of both ILA burst (A and B) and of type1 spikes in type A bursts, at different time points, from D1 to D40 days after SE. Note that both decreased

between D6 and D1 for the former then plateaus without any change till D40, D4 for the latter, then remain stable till D14, increase at D25 and remain stable at D40. \*:  $p < 0.05$  (means  $\pm$  SEM) —————► indicates when SZ1 occurs.

**Figure 5. Top.** h2 (A) and DIR (C) values for control and experimental (“pilo”) groups (both with and without ILA), at D-7 (before treatment), D4, D7, D10, D25 and D40 (days after SE). \*:  $p < 0.05$  (means  $\pm$  SEM). **Bottom.** h2 (B) and DIR (D) values for control and experimental (“pilo”) groups for type 1 and type 2 ILA, in type A and type B bursts, at D-7 (before treatment), D4, D7, D10, D25 and D40 (days after SE). \*:  $p < 0.05$  (means  $\pm$  SEM).

## References

- Annegers JF, Rocca WA, Hauser WA. (1996) Causes of epilepsy: contributions of the Rochester epidemiology project. *Mayo Clin Proc.* 71, 570-5. Review.
- Aubert S, Wendling F, Régis J, McGonigal A, Figarella-Branger D, Peragut JC, Girard N, Chauvel P, Bartolomei F. (2009) Local and remote epileptogenicity in focal cortical dysplasias and neurodevelopmental tumours. *Brain.* 132(Pt 11):3072-86.
- Avoli M, Biagini G, de Curtis, M. (2006) Do interictal spikes sustain seizures and epileptogenesis? *Epilepsy Currents* 6, 203-207.
- Avoli M, D'Antuono M, Louvel J, Köhling R, Biagini G, Pumain R, D'Arcangelo G, Tancredi V. (2002) Network and pharmacological mechanisms leading to epileptiform synchronization in the limbic system in vitro. *Prog Neurobiol.* 68(3):167-207.
- Barbarosie M, Avoli M. (1997) CA3-driven hippocampal-entorhinal loop controls rather than sustains in vitro limbic seizures. *J Neurosci.* 17, 9308-14.
- Bartolomei F, Chauvel P, Wendling F. (2008) Epileptogenicity of brain structures in human temporal lobe epilepsy: a quantified study from intracerebral EEG. *Brain* 131, 1818-30.
- Bartolomei F., Wendling F., Régis J., Gavaret M., Guye M., Chauvel P. (2004) Pre-ictal synchronicity in limbic networks of mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research* 61, 89-104.
- Bear MF, Malenka RC. (1994) Synaptic plasticity: LTP and LTD. *Curr Opin Neurobiol.* 4, 389-99.
- Buzsáki G, Ponomareff GL, Bayardo F, Ruiz R, Gage FH. (1989b) Neuronal activity in the subcortically denervated hippocampus: a chronic model for epilepsy. *Neuroscience.* 28, 527-38.
- Buzsáki G, Hsu M, Slamka C, Gage FH, Horváth Z. (1991) Emergence and propagation of interictal spikes in the subcortically denervated hippocampus. *Hippocampus.* 1, 163-80.
- Chauvière L, Raftafi N, Thinus-Blanc C, Bartolomei F, Esclapez M, Bernard C. (2009) Early deficits in spatial memory and theta rhythm in experimental temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci.* 29, 5402-10.
- Cossart R, Dinocourt C, Hirsch JC, Merchán-Pérez A, De Felipe J, Ben-Ari Y, Esclapez M, Bernard C. (2001) Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. *Nat Neurosci.* 4, 52-62.
- De Curtis M, Manfredi A, Biella G. (1998) Activity-dependent pH shifts and periodic recurrence of spontaneous interictal spikes in a model of focal epileptogenesis. *J Neurosci.* 18, 7543-51.
- De Curtis M, Librizzi L, Biella G (2001) Discharge threshold is enhanced for several seconds after a single interictal spike in a model of focal epileptogenesis. *Eur J Neurosci.* 14, 174-8.

Demont-Guignard S, Benquet P, Gerber U, Wendling F. (2009) Analysis of intracerebral EEG recordings of epileptic spikes: insights from a neural network model. *IEEE Trans Biomed Eng.* 56, 2782-95.

Dzhala VI, Staley KJ. (2003) Transition from interictal to ictal activity in limbic networks in vitro. *J Neurosci.* 23, 7873-80.

El-Hassar L, Milh M, Wendling F, Ferrand N, Esclapez M, Bernard C (2007a) Cell domain-dependent changes in the glutamatergic and GABAergic drives during epileptogenesis in the rat CA1 region. *J Physiol.* 1, 193-211.

Fernandes de Lima VM, Pijn JP, Nunes Filipe C, Lopes da Silva F. (1990) The role of hippocampal commissures in the interhemispheric transfer of epileptiform afterdischarges in the rat: a study using linear and non-linear regression analysis. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 76, 520-39.

French JA, Williamson PD, Thadani VM, Darcey TM, Mattson RH, Spencer SS, Spencer DD. (1993) Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann Neurol.* 34, 774-80.

Gotman J, Marciani MG. (1985) Electroencephalographic spiking activity, drug levels, and seizure occurrence in epileptic patients. *Ann Neurol.* 17, 597-603.

Gotman J. (1991) Relationships between interictal spiking and seizures: human and experimental evidence. *Can J Neurol Sci.* 18, 573-6. Review

Hellier JL, Dudek FE. (1999) Spontaneous motor seizures of rats with kainate-induced epilepsy: effect of time of day and activity state. *Epilepsy Res.* 35, 47-57.

Lange HH, Lieb JP, Engel J Jr, Crandall PH. (1983) Temporo-spatial patterns of pre-ictal spike activity in human temporal lobe epilepsy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 56, 543-55.

Librizzi L, de Curtis M. (2003) Epileptiform ictal discharges are prevented by periodic interictal spiking in the olfactory cortex. *Ann Neurol.* 53, 382-9.

Mathern GW, Pretorius JK, Babb TL. (1995) Influence of the type of initial precipitating injury and at what age it occurs on course and outcome in patients with temporal lobe seizures. *J Neurosurg.* 82(2):220-7.

Mazarati A, Bragin A, Baldwin R, Shin D, Wilson C, Sankar R, Naylor D, Engel J, Wasterlain C. (2002) Epileptogenesis after self-sustaining status epilepticus. *Epilepsia* 43, 74-80.

Miles R, Wong RK. (1983) Single neurones can initiate synchronized population discharge in the hippocampus. *Nature.* 306, 371-3.

Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ. (2004) Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog Neurobiol.* 73, 1-60.

- Pereda E, Quiroga RQ, Bhattacharya J. (2005) Nonlinear multivariate analysis of neurophysiological signals. *Prog Neurobiol.* 77, 1-37. Review.
- Shah MM, Anderson AE, Leung V, Lin X, Johnston D. (2004) Seizure-induced plasticity of h channels in entorhinal cortical layer III pyramidal neurons. *Neuron.* 44, 495-508.
- Staley J. K., Hellier J.L., Dudek F. E. (2005) Do Interictal Spikes Drive Epileptogenesis? *The Neuroscientist* 11, 272-276.
- Staley J. K., Dudek F.E. (2006) Interictal Spikes and Epileptogenesis. *Epilepsy Currents* 6, 1-4.
- Swartzwelder HS, Lewis DV, Anderson WW, Wilson WA. (1987) Seizure-like events in brain slices: suppression by interictal activity. *Brain Res.* 410, 362-6.
- Tassi L, Meroni A, Deleo F, Villani F, Mai R, Russo GL, Colombo N, Avanzini G, Falcone C, Brammerio M, Citterio A, Garbelli R, Spreafico R (2009) Temporal lobe epilepsy: neuropathological and clinical correlations in 243 surgically treated patients. *Epileptic Disord.* 11, 281-92.
- Tejada S, González JJ, Rial RV, Coenen AM, Gamundí A, Esteban S. (2010) Electroencephalogram functional connectivity between rat hippocampus and cortex after pilocarpine treatment. *Neuroscience.* 165, 621-31.
- van Dellen E, Douw L, Baayen JC, Heimans JJ, Ponten SC, Vandertop WP, Velis DN, Stam CJ, Reijneveld JC. (2009) Long-term effects of temporal lobe epilepsy on local neural networks: a graph theoretical analysis of corticography recordings. *PLoS One.* 4(11):e8081.
- Wendling F., Bartolomei F. (2001) Modélisation des signaux SEEG et interprétation des mesures de relation dans les crises temporales : une approche de l'étude des réseaux épileptogènes. *Epileptic Disorders* 3, 67-78.
- White A, Williams PA, Hellier JL, Clark S, Edward Dudek F, Staley KJ. (2009) EEG spike activity precedes epilepsy after kainate-induced status epilepticus. *Epilepsia.* 2009 Oct 20.
- Williams PA, White AM, Clark S, Ferraro DJ, Swiercz W, Staley KJ, Dudek FE. (2009) Development of spontaneous recurrent seizures after kainate-induced status epilepticus. *J Neurosci.* 29(7):2103-12.

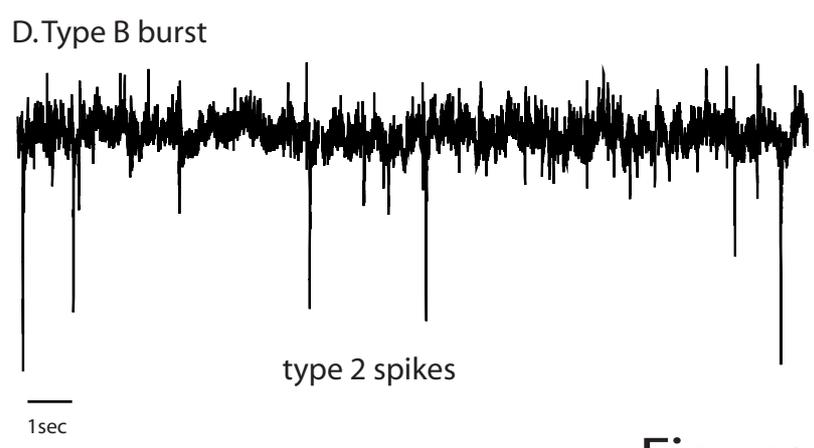
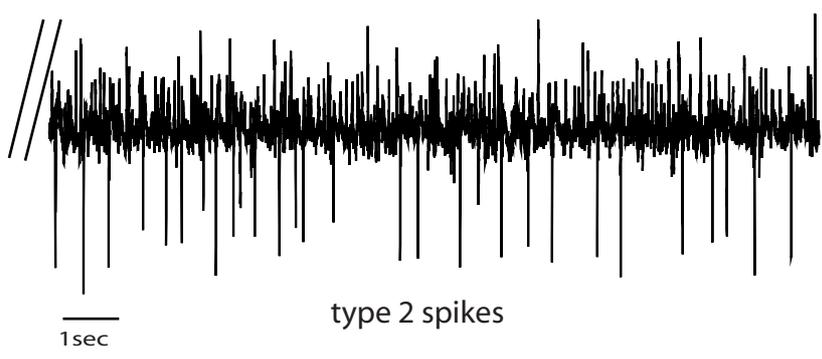
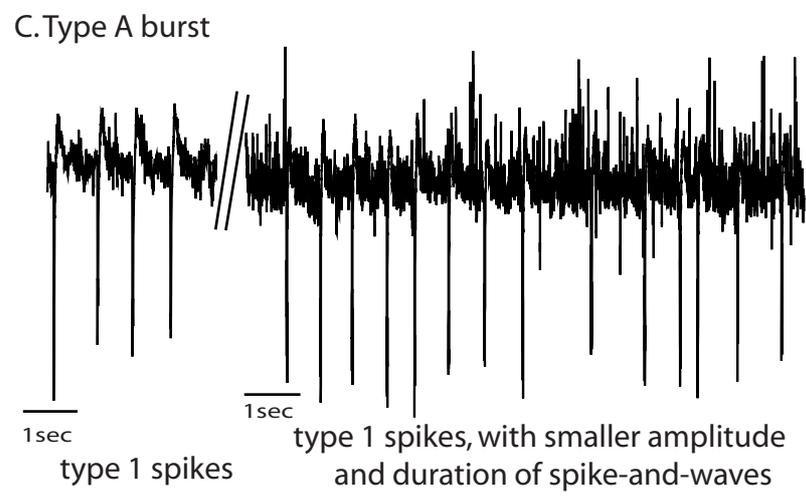
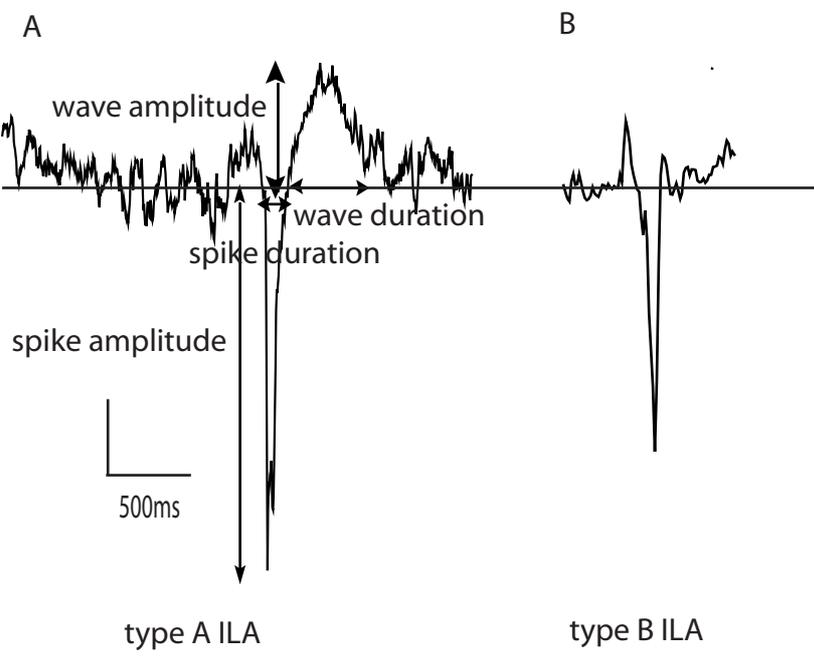


Figure 1

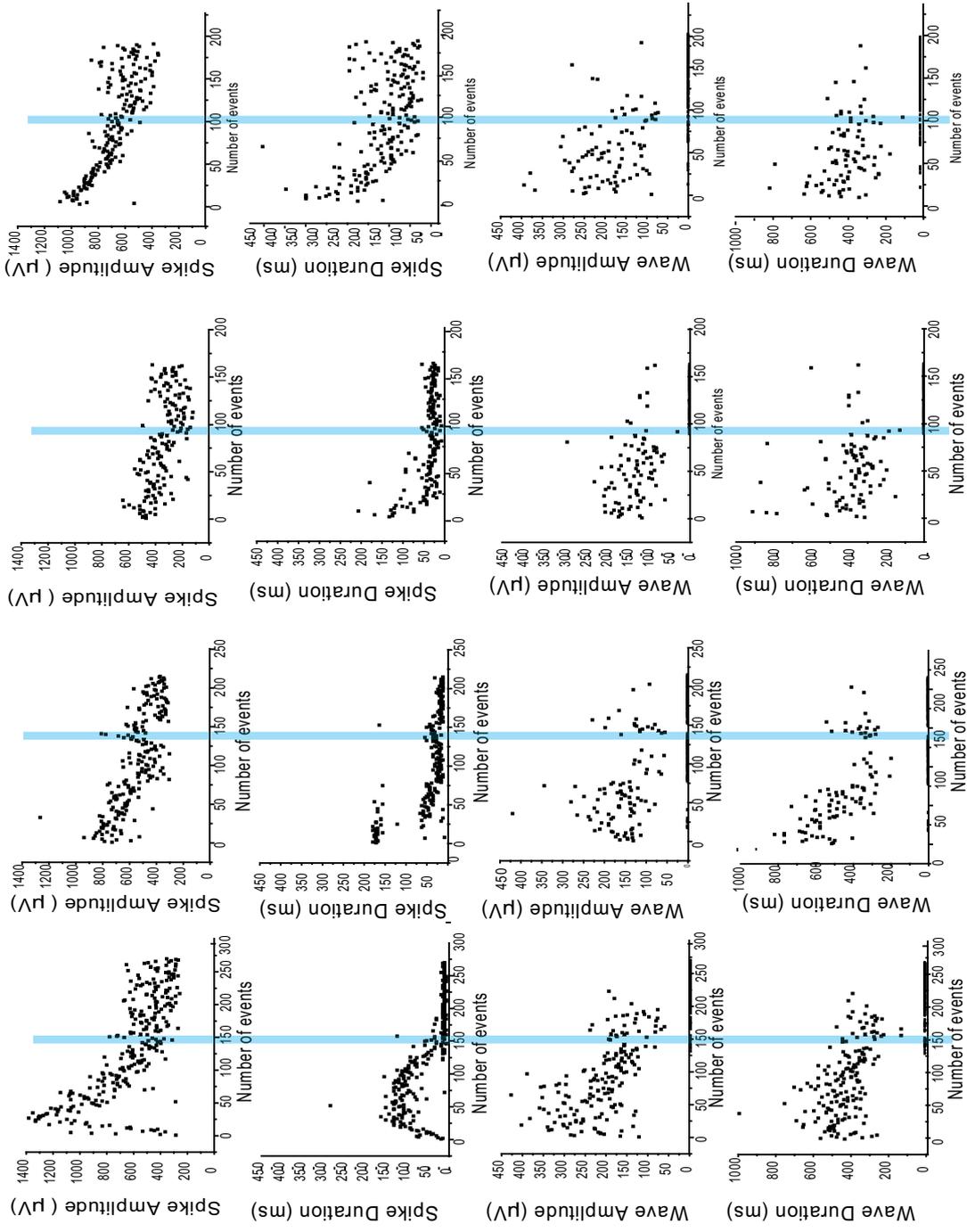


Figure 2

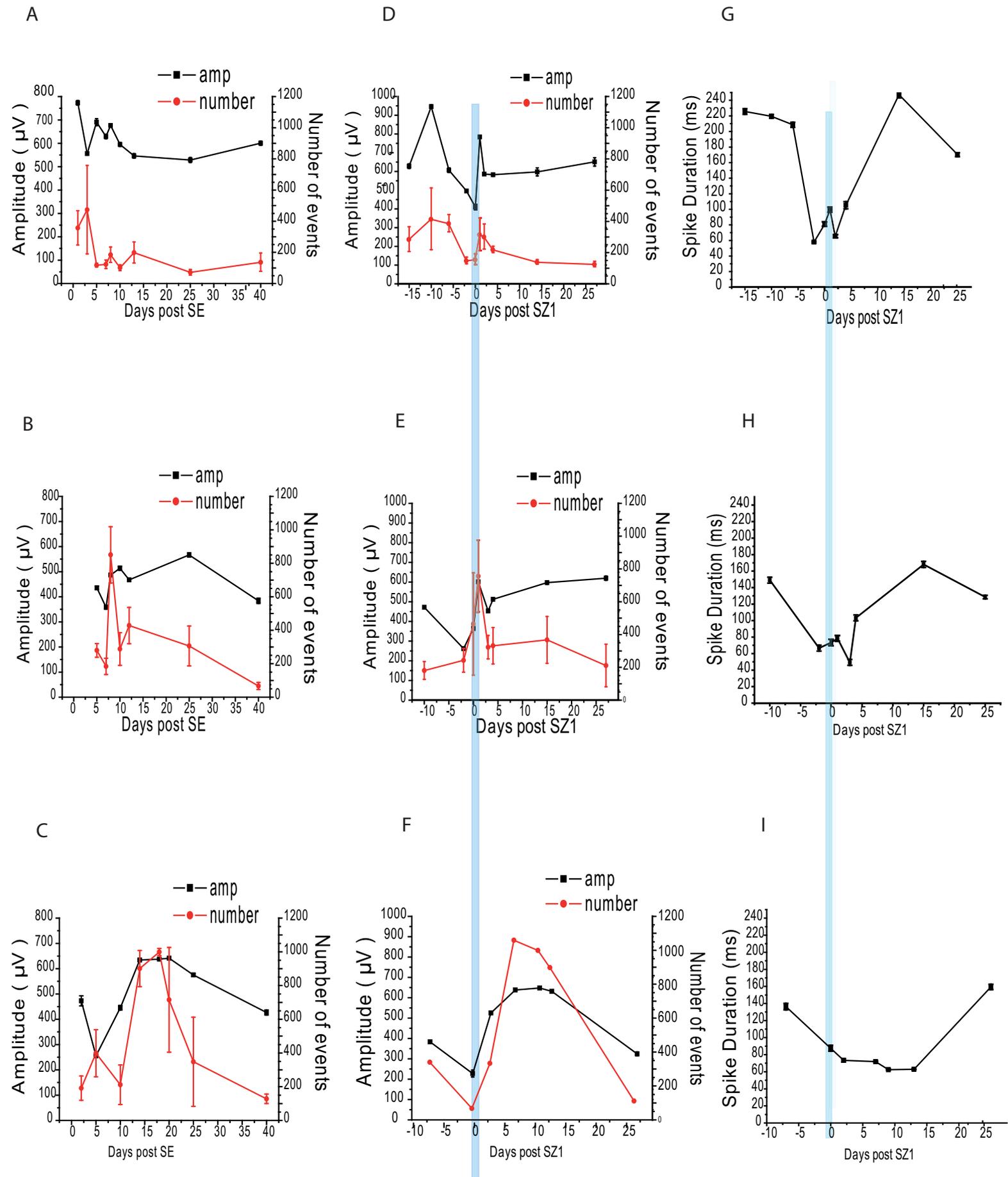


Figure 3

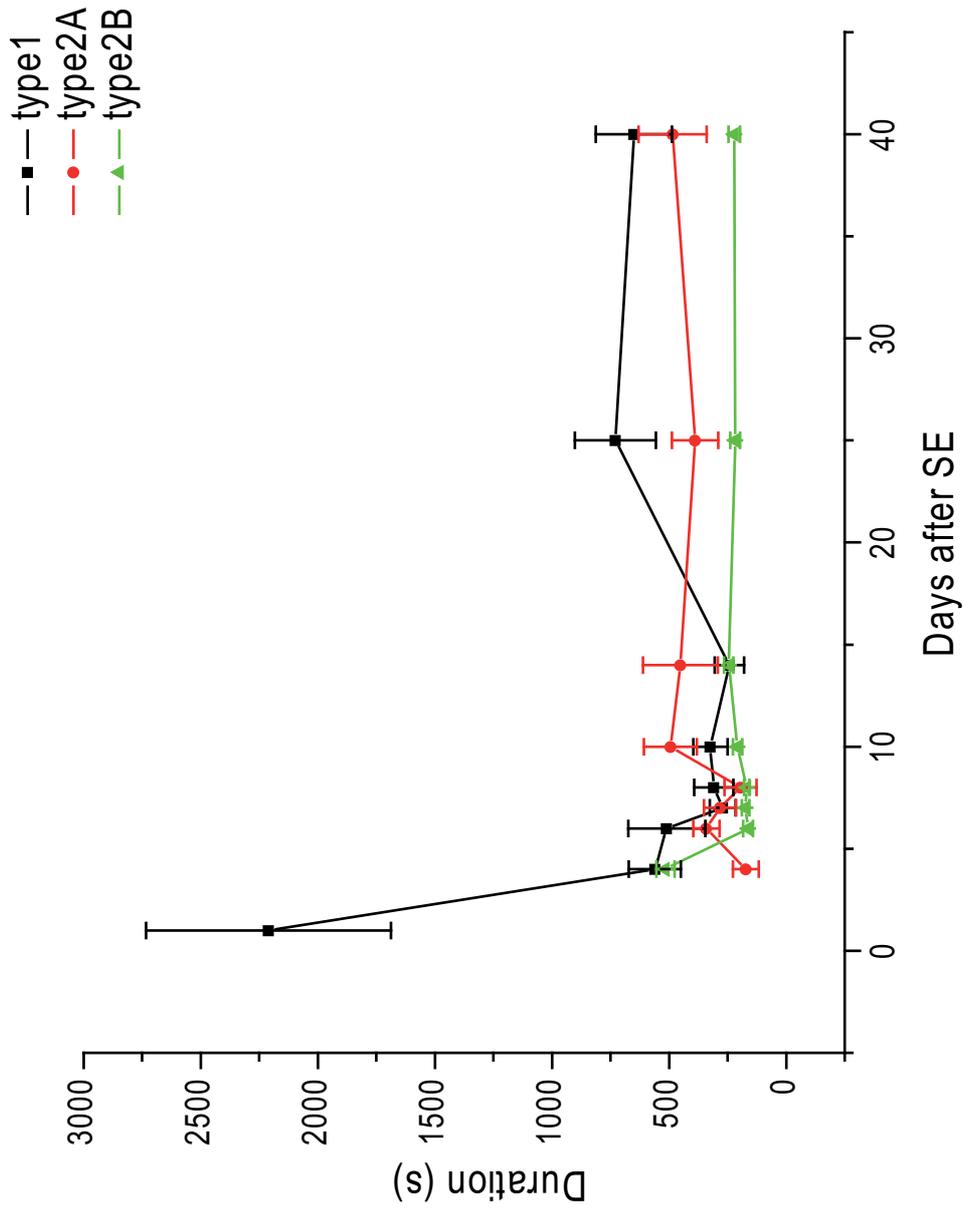


Figure 4

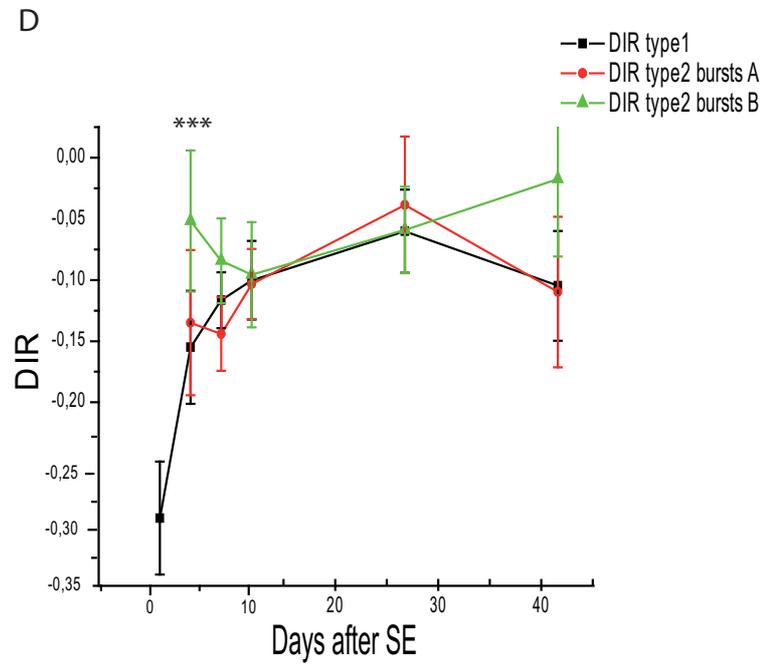
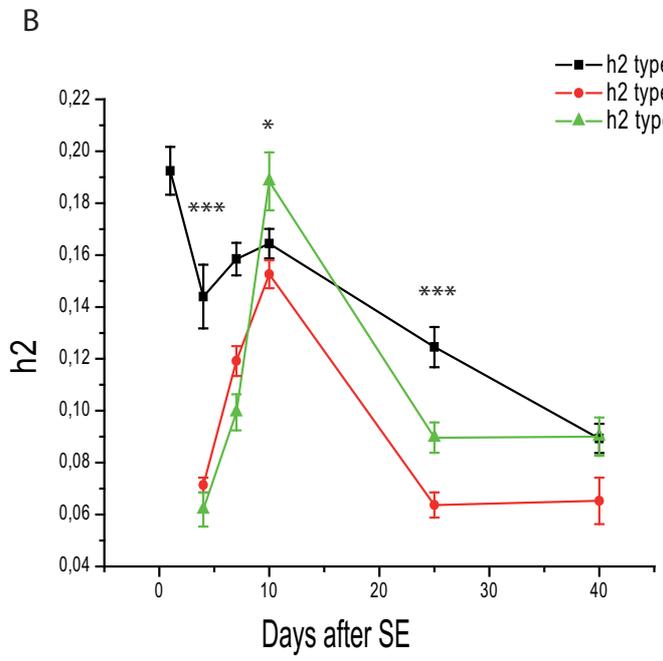
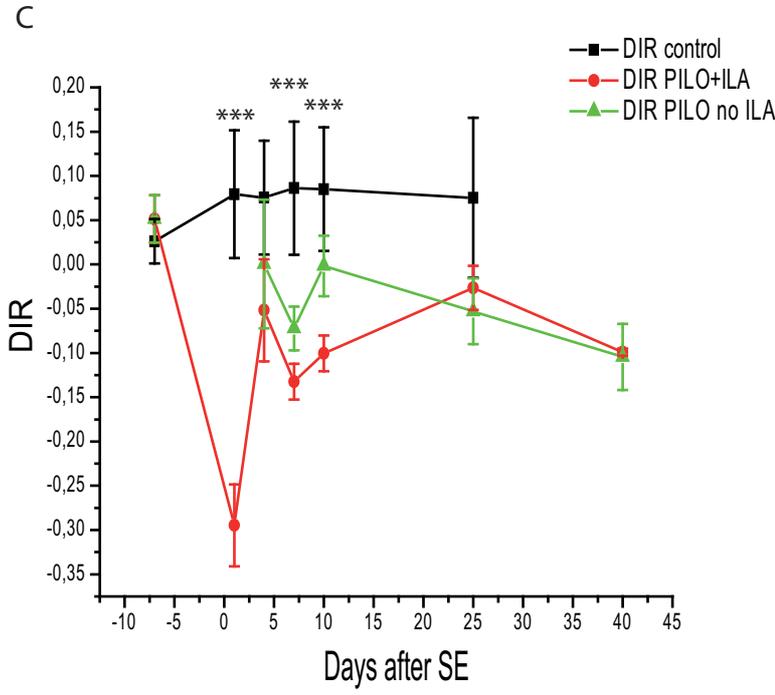
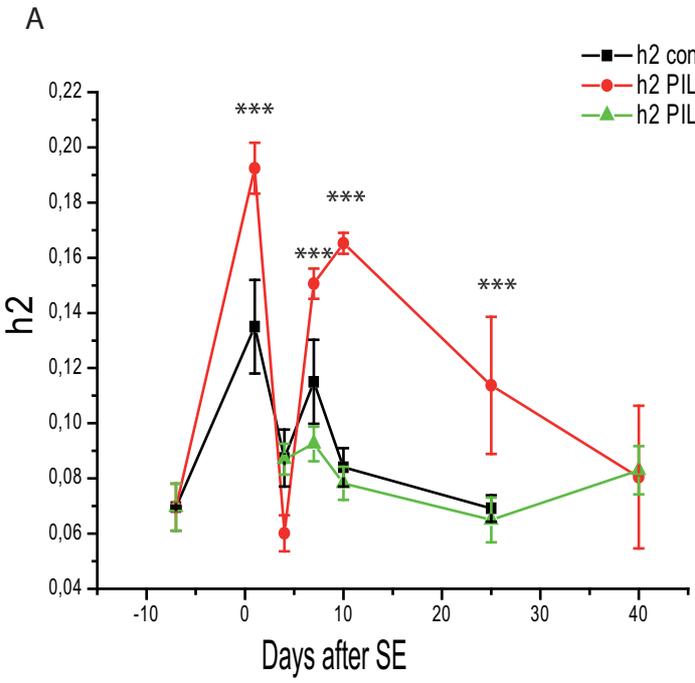
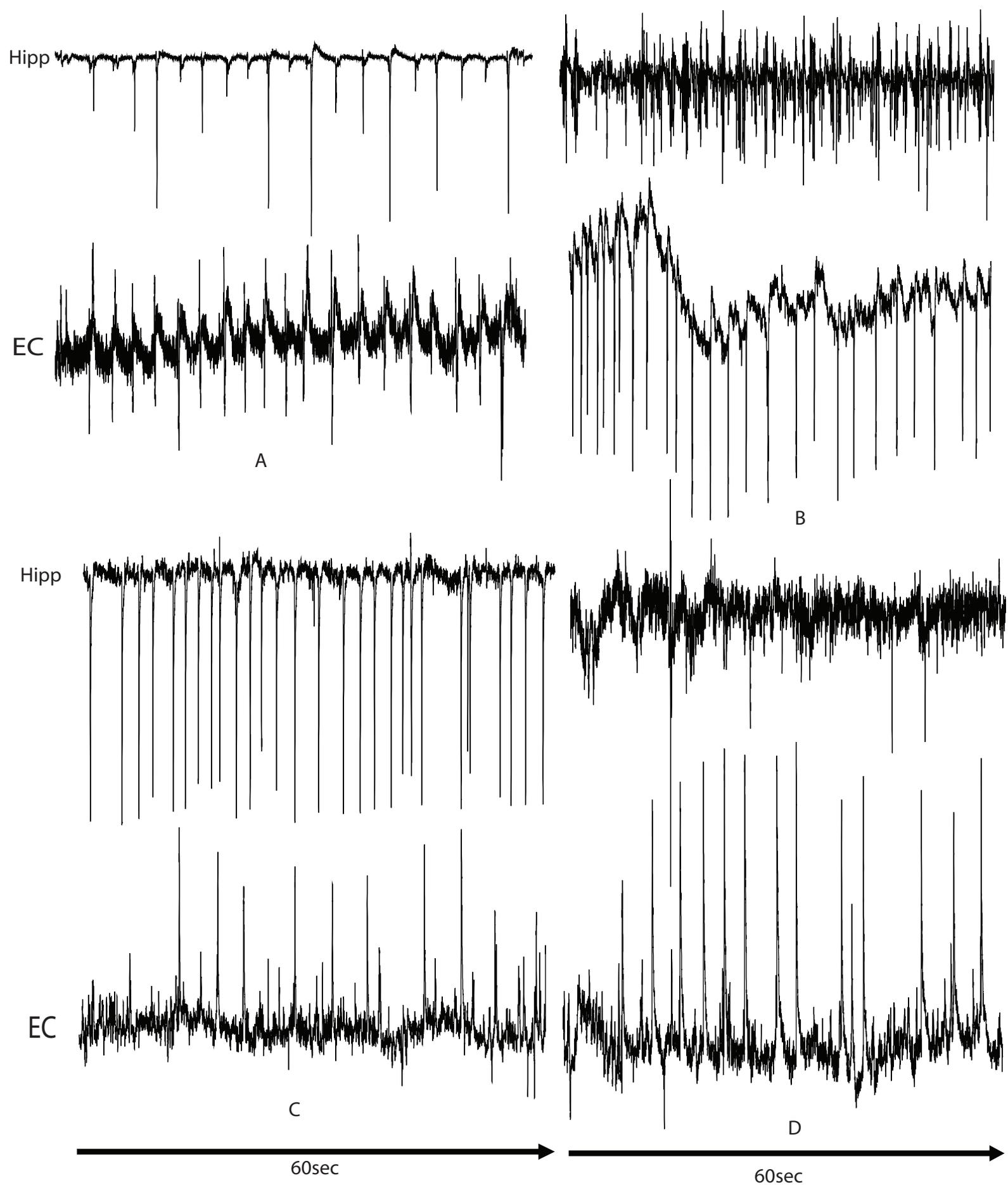
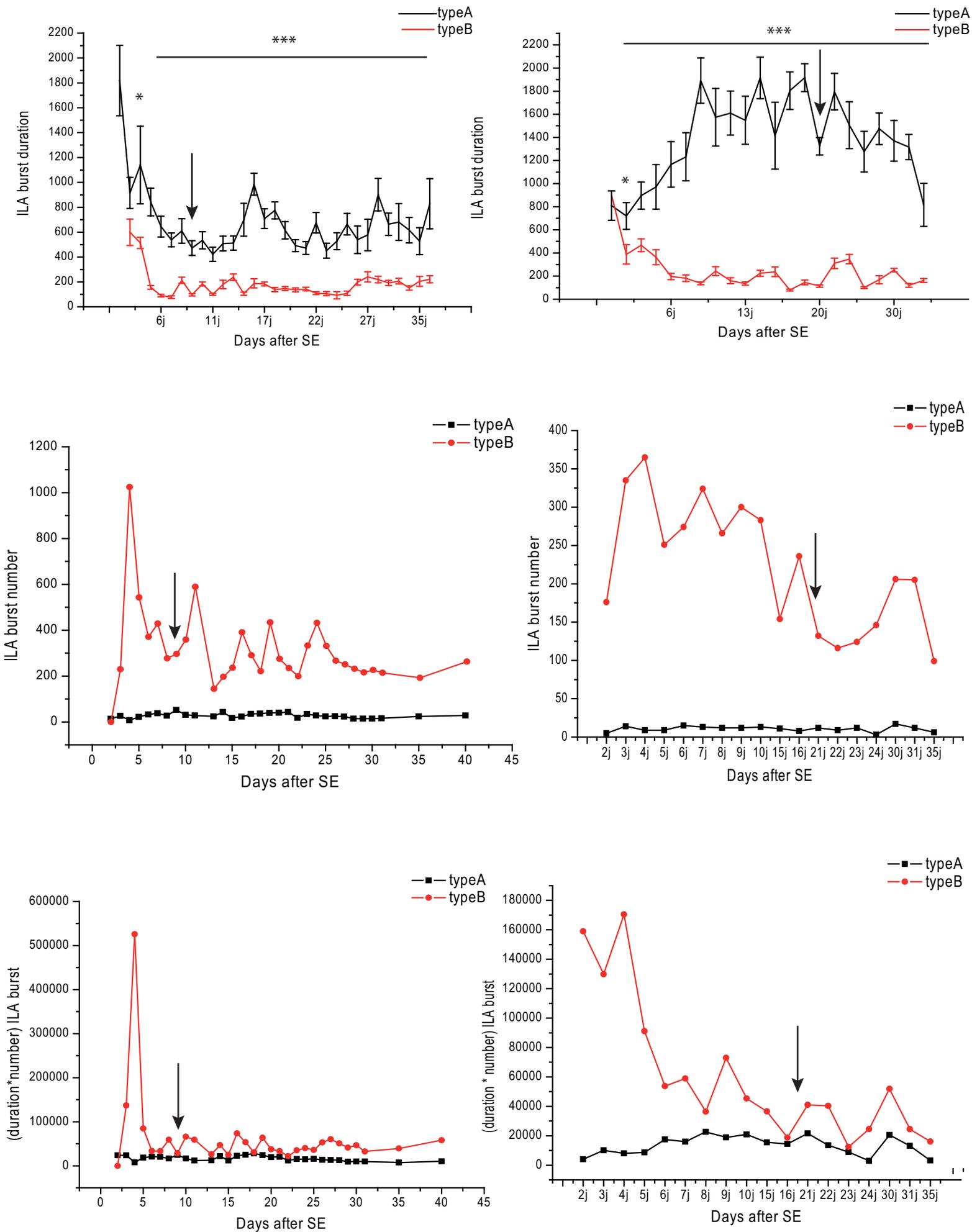


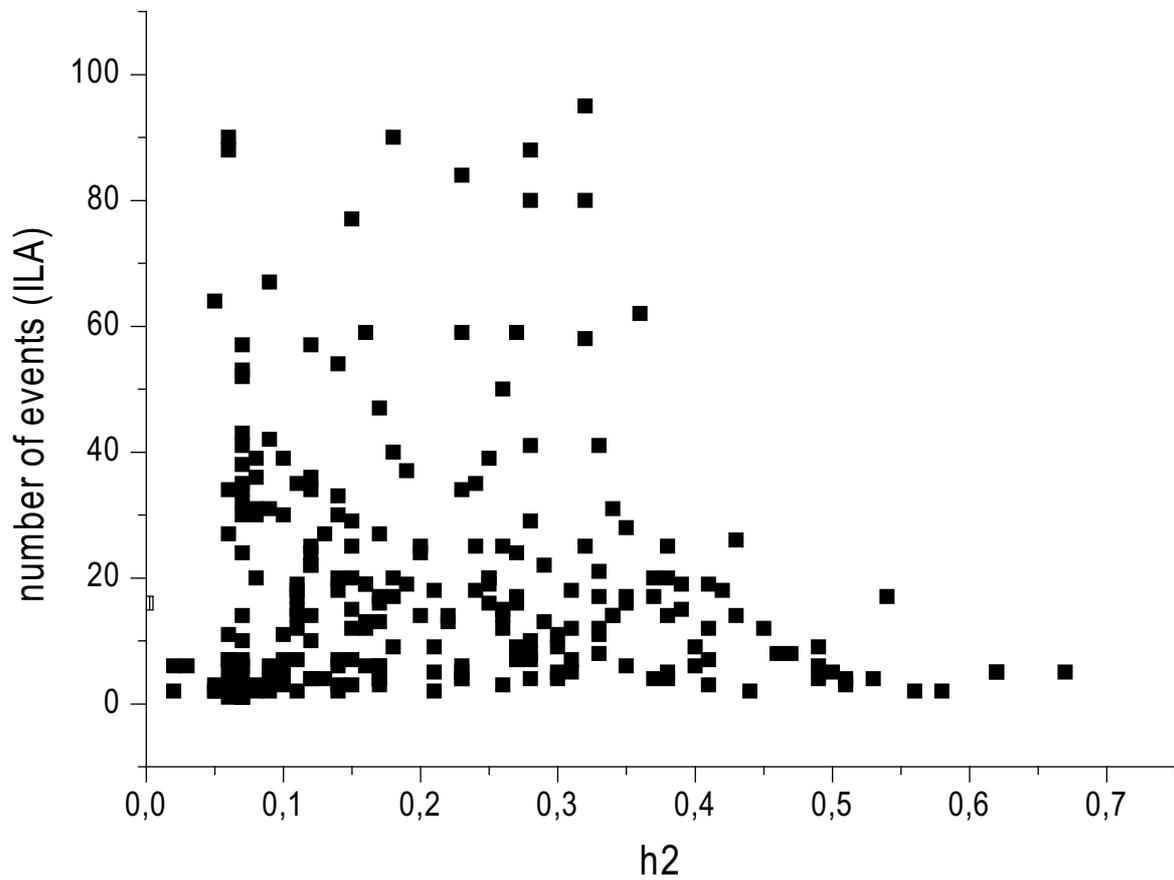
Figure 5



Supplemental Figure 1. A. Continuous ILA at D1, only type 1 ILA, both in hippocampus and EC. B. ILA in EC only, not in the hippocampus, at D3. C. ILA in both structures, at D6, but either synchronous, or independent. D. ILA in EC only, at D7. We precise that at D1, ILA appears only continuously, then ILA number decreases, and both type 1 and type 2 ILA occur; thus, the time spent by the TLE network generating ILA in hippocampus and EC is lower than at 1-2 days after SE.



Supplemental Figure 2. Evolution and comparison, during the time course of epileptogenesis (from D1 to D40) of type A and type B bursts duration (top), number (middle) and number\*duration (bottom), for two rats (left and right) recorded continuously. Arrows correspond to SZ1 occurrence. Means +/- SEM; \*:  $p < 0.05$ ; \*\*\*:  $p < 0.001$ .  $\longrightarrow$  :SZ1 occurrence



**Supplemental Figure 3.** Correlation between the number of ILA discharges and h2 values, at all time points (from D1 to D40). We observed that there is no correlation between both variables (Spearman correlation,  $r=-0.055$ ;  $p = 0.4$ ).

## Discussion

Comme je l'ai montré dans l'étude précédente, l'activité interictale semblerait être fonction des états comportementaux, ce qui justifie d'être **prudent lorsque l'on veut étudier sa dynamique au cours du temps**. Ainsi, cela peut constituer une limite à ce travail dans la mesure où une bouffée d'activité interictale peut apparaître pendant plusieurs comportements, et même si cette dernière n'est pas inhibée par un comportement en particulier (cf. étude précédente), sa fréquence est peut-être modulée selon les différents comportements pendant lesquels elle apparaît.

Un autre point à soulever est que le couplage (et le flux de l'information) entre l'hippocampe et le CE fut analysé par la méthode non-linéaire du h2. Une des limites de cette méthode, comme des méthodes non-linéaires en général (cf. chapitre suivant), est que si l'hippocampe et le CE font intervenir un générateur commun (non enregistré), l'analyse va trouver des corrélations entre ces deux structures dues au générateur commun, alors qu'en fait, elles ne le sont pas. Cette limite, en fait, n'est pas due à la méthode du h2 proprement dite, mais à la difficulté d'étudier toutes les régions d'intérêt : en effet, si l'on considère seulement deux régions (hippocampe et CE ici), on ne peut pas aller plus loin qu'analyser le couplage et le flux de l'information entre ces deux régions.

Une suite logique à cette étude serait de comparer le couplage et le flux de l'information entre l'hippocampe et le CE lors des périodes ictales, pré-ictales et post-ictales, au cours de l'épileptogénèse (lorsque les crises arrivent juste après le SE) et de l'épilepsie (crises récurrentes et spontanées). L'intérêt serait de les comparer avec les mesures trouvées chez les mêmes animaux en périodes interictales afin de pouvoir renseigner sur l'état du réseau : on s'attendrait à ce que le couplage soit différent pour des crises post-SE, i.e. synonymes d'un réseau hyperexcitable et complètement remanié dû au SE, comparé à des crises spontanées au stade chronique, qui elles sont de véritables signatures d'un réseau épileptique.

Dans la suite de ce chapitre, nous allons maintenant considérer un véritable réseau, à l'échelle du lobe temporal et de ses principales connexions (cf. chapitre I). En effet, les oscillations, les fonctions cognitives et l'ELT sont une histoire de réseaux. Ainsi, l'extrapolation a ses limites et se limiter à une seule voire deux structures lorsque l'on étudie ces phénomènes *in vivo* présentent un biais dans l'interprétation. En effet, on ne sait pas si ce que l'on regarde est généré, propagé, ou s'il dépend d'un générateur commun ; on ne peut qu'émettre des hypothèses. Ainsi, la deuxième partie de ce chapitre étudie plusieurs aspects, à l'échelle de ce réseau. Les enregistrements restent extracellulaires, mais l'électrode, de plus faible impédance, enregistre plus finement le signal LFP et l'activité unitaire au sein des différentes structures du réseau. Je ne parlerai ici que des résultats préliminaires obtenus à partir des données LFP.

Après avoir présenté le contexte scientifique et détaillé la technique utilisée, je présenterai les résultats cognitifs des rats implantés (cf. étude 2), puis je m'intéresserai aux oscillations de type « ripples », à l'analyse de l'architecture du réseau et à ses éventuelles conséquences fonctionnelles (analyse de cohérence). Ces résultats sont préliminaires, et permettront de poser des hypothèses de travail.

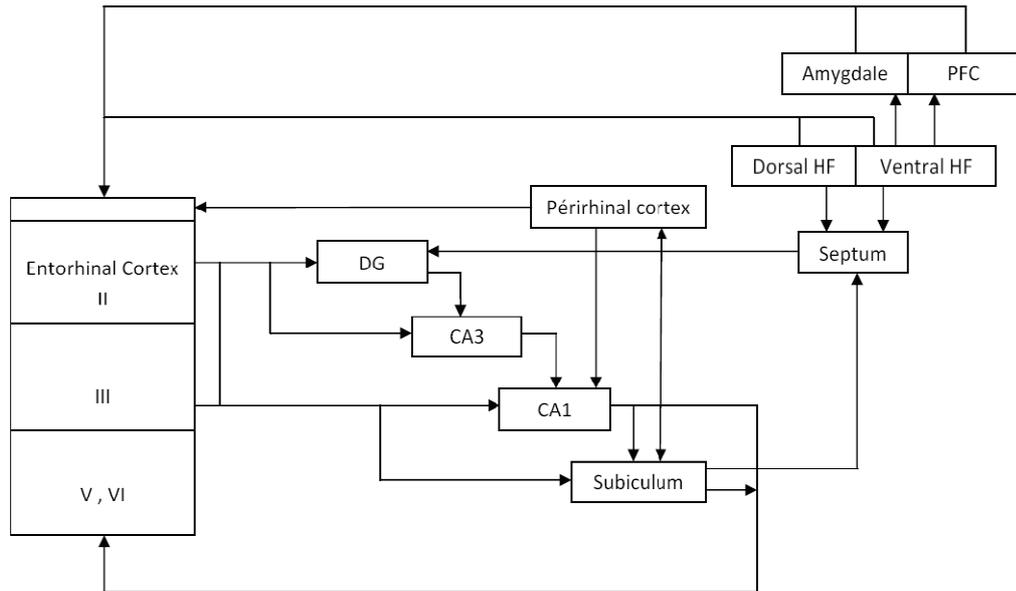
## **B. Partie microscopique**

### **Analyse extracellulaire du réseau temporal impliqué dans la genèse du rythme thêta, la mémoire spatiale et l'ELT, à l'aide de microélectrodes.**

#### **1. Contexte scientifique et mise en place/au point de cette technique**

##### **1.1. Contexte scientifique**

À l'échelle macroscopique, les résultats de la première partie de ma thèse montrent qu'il y a des déficits de mémoire spatiale tôt après le SE, qui persistent sans changement au cours de l'épileptogénèse et de l'épilepsie et qui corrèlent positivement avec une diminution significative du rythme thêta, mais pas avec la fréquence de l'activité interictale précédant le test, cette dernière jouant sûrement un rôle indirect sur la cognition, puisqu'elle diminue la puissance du rythme thêta après la pointe. De plus, les résultats montrent que la dynamique de l'activité interictale bascule juste avant la première crise spontanée, qu'il y a une augmentation de couplage entre l'hippocampe et le CE et un changement dans le flux de l'information entre ces deux structures (le CE devient « leader ») avant la première crise spontanée. Ces modifications semblent participer à la construction d'un réseau épileptogène et faire partie de ce qui entraîne la genèse de la première crise. De plus, on sait maintenant que l'épilepsie et la cognition sont une affaire de réseaux, réseau du lobe temporal dans le cadre de l'ELT et de la mémoire spatiale, faisant intervenir plusieurs structures qui « travaillent ensemble » ; ainsi, il semble indispensable d'étudier ces structures en parallèle, ce qui n'a jamais été fait jusqu'à présent. Les structures considérées sont l'hippocampe (les aires CA1, CA3 et le GD), i.e. le circuit trisynaptique, le CE, le septum médian, le noyau septo-hippocampique (ou septum latéral), le noyau supramammillaire, le thalamus, le cortex cingulaire postérieur, et le subiculum, en raison de leur implication dans les processus cognitifs de mémoire spatiale et non-spatiale, de genèse du rythme thêta, et dans l'ELT. De plus, ces différentes structures sont étroitement interconnectées.



**Circuit anatomique du réseau de structures (et leur interconnexions) considérées dans cette seconde partie de mon projet de thèse.**

À partir de l'enregistrement LFP de ces différentes structures, il s'agissait de comprendre comment ces dernières se « parlent » entre elles lors d'un comportement ou processus cognitif donné, en conditions normales et pathologiques, i.e. épileptiques (ELT). En effet, les microélectrodes (50  $\mu\text{m}$  de diamètre) de champ utilisées ont permis l'enregistrement de sites beaucoup plus précis, permettant de spécifier des couches particulières de l'hippocampe, qui ont leur importance dans le rythme thêta par exemple, ou d'autres structures extra-hippocampiques qui, comme on l'a vu précédemment, jouent également un rôle important et complémentaires aux fonctions hippocampiques, que ce soit dans la genèse du rythme thêta, la mémoire spatiale et non-spatiale, et l'ELT.

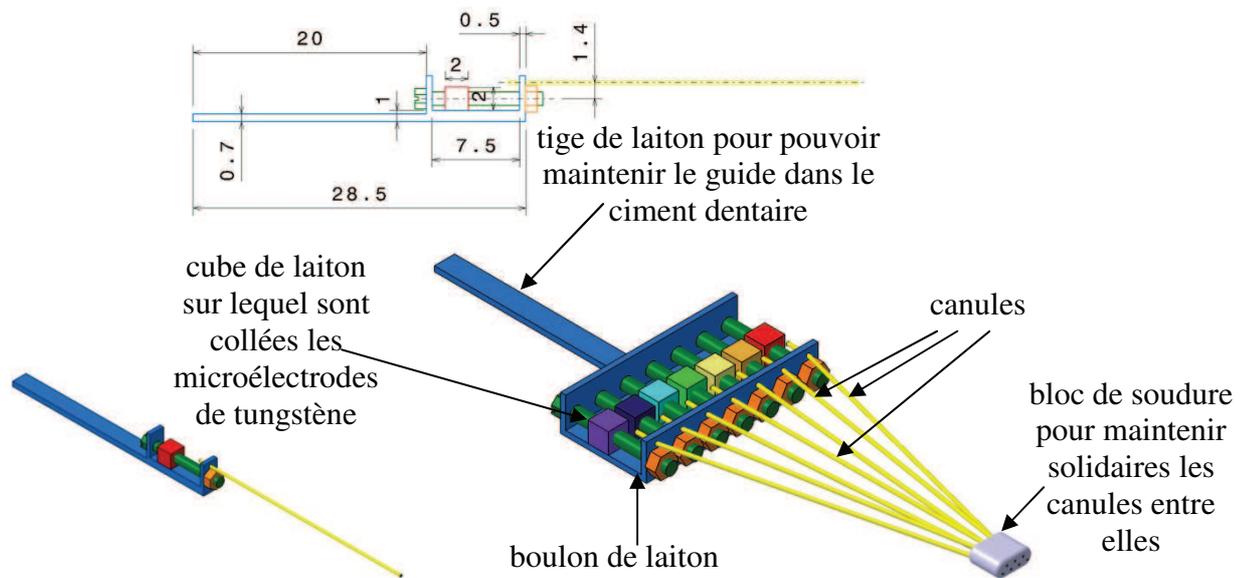
## **1.2. Phase de mise en place et mise au point**

Cette deuxième partie de ma thèse m'a demandé plus d'un an et demi de mise en place et d'expériences.

Il a tout d'abord fallu que je trouve un micromécanicien (Brice Detailleur, CMRCN, Luminy, Marseille) qui accepte de confectionner le système de guidage (pièces-guides, ou «microdrive») des microélectrodes, qui permettrait de faire monter ou descendre l'électrode implantée dans le cerveau, en fonction du nombre (profondeur) et du sens (monter/descendre) de tours de vis (1 tour de vis=300 $\mu\text{m}$ ) nécessaires. Ces pièces-guides étaient en laiton et faites à façon car leur encombrement sphérique sur le crâne de l'animal, pour viser les structures

d'intérêt au moment de la chirurgie, était tel que des « microdrives » uniques pour chaque structure à implanter était impossible, et qu'une centaine de microns était cruciale dans les dimensions de chaque pièce-guide à confectionner. Les microélectrodes, trop fines, devaient tout d'abord être guidées par un système de canules, solidarisées entre elles et fixées au système de pièces-guides qui permettait de faire descendre le tout à l'intérieur du cerveau, à la profondeur voulue.

#### a) Système de guidage, et confection des canules/microélectrodes



**Exemples de systèmes de guidage -et dimensions- confectionnés à façon : le premier à une vis, le second à 7 vis (nous en avons utilisé à 2, 4 et 5 vis ; non représentés sur ce schéma).**

L'avantage de ces systèmes de guidage conçus à façon est que les microélectrodes de tungstène qui sortent des différentes canules fixées à ces « microdrives », puis qui sont collées au petit cube qui monte et qui descend, sont indépendantes les unes des autres, i.e. elles peuvent être descendues (nombre de tours) de la profondeur souhaitée indépendamment les unes des autres, vu que chaque électrode a une vis qui lui est propre.

Ensuite, il a fallu procéder à l'essai de différents types de matériau (tungstène, acier inoxydable, fils de platine) pour les microélectrodes, afin d'optimiser le rapport signal/bruit. C'est le tungstène qui a été choisi, même pour les électrodes qui étaient censées récupérer de l'activité unitaire, car plus résistant que le platine qui ne fournit pas de meilleur signal LFP et/ou unitaire. Ensuite, il a fallu apprendre et maîtriser la chirurgie d'implantation de ces systèmes de « guide » et des microélectrodes. Pour cela, je suis allée me former dans le

laboratoire du Pr Berthoz, au Collège-de-France à Paris, dans l'équipe du Dr Sidney Wiener, avec Michaël Zugaro et son équipe (1 mois), qui m'ont appris comment confectionner les canules, les « microdrives », comment implanter les électrodes (chirurgie longue d'au moins 5-6 heures) et beaucoup de détails/astuces pratiques, notamment sur l'acquisition du signal via le système d'enregistrement Neuralynx. J'ai ensuite eu la possibilité de suivre avec eux leurs expérimentations, et de me rendre compte de détails techniques comme la présence parfois inévitable de bruit et d'artéfacts lors des enregistrements. Concernant l'utilisation du système Neuralynx, je suis ensuite partie me former dans le laboratoire du Dr Dirk Isbrandt, en Allemagne (Hamburg, 5 jours).

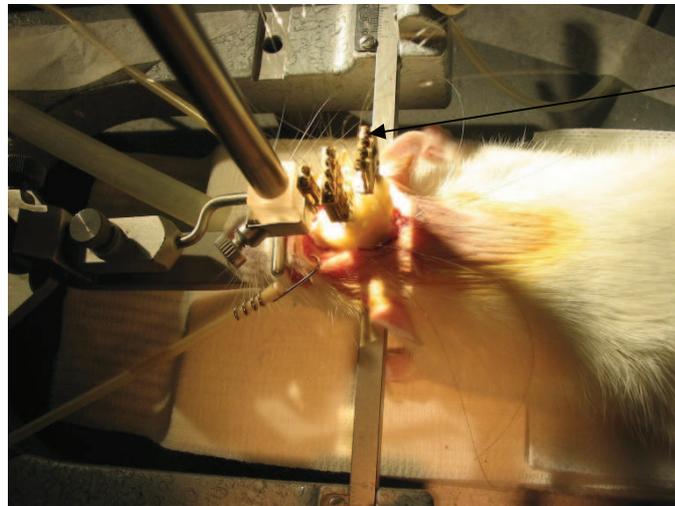
### **b) Chirurgie d'implantation**

Le rat est tout d'abord anesthésié à l'aide d'un mélange de xylazine/kétamine (*cf. partie Méthodes de l'article 1*) puis placé dans un appareil stéréotaxique sur une couverture chauffante où sa température est soigneusement contrôlée et maintenue tout au long de la chirurgie entre 37 et 38 °C.

La chirurgie consiste à implanter plusieurs microélectrodes de tungstène afin de couvrir l'essentiel du réseau temporel. On doit déposer les canules à la surface du cerveau, i.e. implanter chaque microélectrode de la longueur dont dépassent ces électrodes des canules (quelques millimètres), longueur soigneusement mesurée avant la chirurgie afin de savoir combien de millimètres soustraire pour connaître le nombre de tours restants à faire après la chirurgie pour viser la structure d'intérêt. Tout d'abord, il fallait implanter le « guide » à 2 vis (guide les électrodes implantées dans le noyau septo-hippocampique et le septum médian), puis celui à 5 vis (guide les électrodes implantées dans le noyau supramammillaire, le GD, la région CA1 (2 électrodes) et la région CA3) et enfin celui à 4 vis (guide les électrodes implantées dans le subiculum, l'hippocampe ventral, les couches superficielles du CE, le cortex périrhinal). Le cortex périrhinal, impliqué dans la mémoire non-spatiale (*cf. chapitre II*) est donc aussi une structure d'intérêt ; cependant, son emplacement très latéral dans le cerveau rendait difficile l'accès via le « guide » à 4 vis. À la place, la structure visée était le CE latéral, ce qui n'était pas inintéressant (au contraire) d'enregistrer à la fois les couches profondes (CE latéral) et superficielles (CE médian) du CE (impliquées dans la genèse des SWR et du rythme thêta, respectivement ; *cf. chapitre II*). Chaque microélectrode peut donc être descendue d'un nombre de tours spécifiques, indépendamment des autres microélectrodes sur le même « guide ». En plus de ces microélectrodes, étaient implantées deux canules soudées entre elles et dont les microélectrodes (toujours de tungstène) qui en sortaient étaient

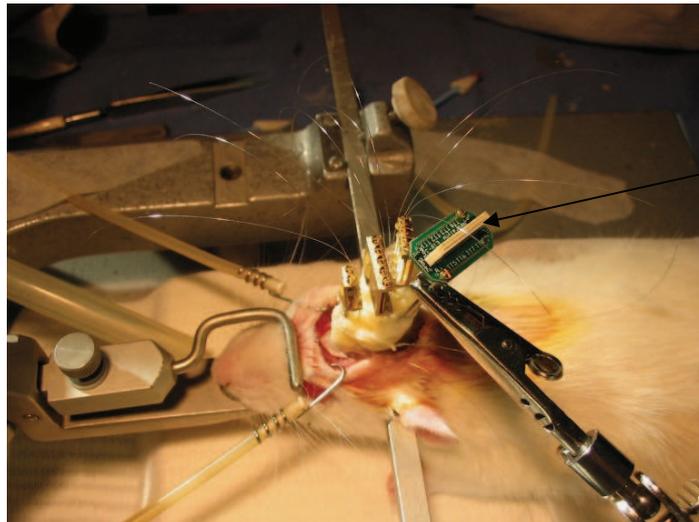
directement descendues lors de l'implantation ; ces électrodes visaient le thalamus (noyau ventromédian) et le cortex cingulaire postérieur. Deux vis frontales (cortex frontal, une dans chaque hémisphère) et deux vis de référence dans le cervelet (une servant de référence, l'autre de masse, i.e. l'électrode de terre), d'environ un millimètre, étaient vissées sur le crâne, et des fils de tungstène étaient enroulés autour de ces quatre vis, pour être ensuite connectés, comme les microélectrodes, à la carte d'acquisition. Enfin, des vis d'ancrage (une dizaine, dont 4 latérales) étaient fixées sur le crâne, pour permettre une meilleure tenue du ciment dentaire qui recouvre le tout.

Toutes ces électrodes (les microélectrodes, les quatre électrodes enroulées autour des vis du cortex frontal et des deux vis de référence) sont ensuite connectées à une carte d'acquisition, laquelle est reliée à un préamplificateur, de gain 1 (sert simplement à minimiser le bruit entre le système d'acquisition et la carte d'acquisition), qui est lui-même relié au système d'acquisition Neuralynx. L'électrode de masse est également soudée à une plaque de bronze, qui sert de « chapeau » permettant de protéger l'ensemble (le système de guidage, le préampli, et les électrodes, le tout fixé à l'aide de ciment dentaire sur le crâne de l'animal). Cette plaque de bronze sert de « cage de Faraday » sur la tête de l'animal car du crâne au préampli, rien ne protège du « bruit » environnant.



Système  
« guide »  
(« microdrive »)

**Exemple d'un rat implanté avec trois systèmes de guidage : à 2, 4 et 5 vis.**



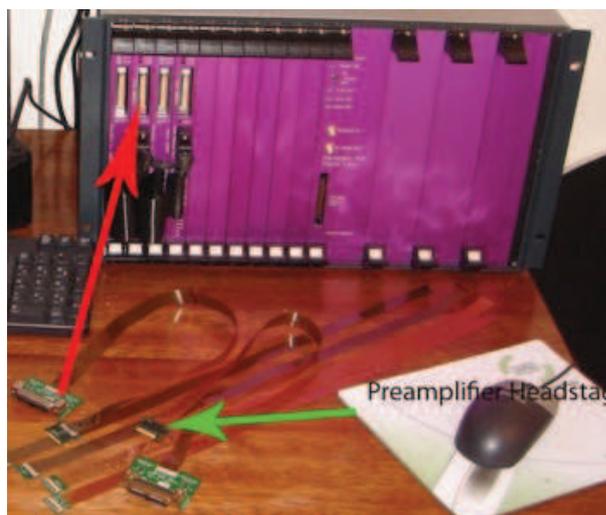
Carte  
d'acquisition

**Exemple du même rat implanté avec ici la fixation de la carte d'acquisition à laquelle sont reliées toutes les électrodes qui sortent des canules ou enroulées autour de vis.**

Un des facteurs limitant de cette étude était la longueur de la chirurgie (10 heures pour les premières chirurgies, puis 8 heures, puis 5 heures pour les dernières) qui augmentait la probabilité de perdre les animaux, qui mourraient souvent à la fin (arrêt respiratoire pendant la chirurgie ou bien ne se réveillaient pas de l'anesthésie). Le contrôle automatique de la température tout au long de la chirurgie, dès que l'animal était anesthésié, jusqu'à ce qu'il en soit remis, a beaucoup facilité la survie des animaux.

### **c) Acquisition du signal et enregistrement des données**

Le système d'enregistrement Neuralynx (ci-dessous) permet d'enregistrer jusqu'à 64 canaux et a une fréquence d'échantillonnage de 32 556 Hz.



**Système d'acquisition Neuralynx**

C'est un système digital, c'est-à-dire que le gain fixé durant l'enregistrement pour la visualisation des signaux à l'écran est celui qui est enregistré ultérieurement et ne peut plus être modifié, ce qui représente une contrainte/limite à ce système. Ce dernier permet d'enregistrer le signal LFP ainsi que l'activité unitaire de chaque structure enregistrée, mais également la vidéo de l'animal enregistré (système de « vidéotracking ») et d'annoter en temps réel ce que fait l'animal. Je n'ai pu m'intéresser, par faute de temps, qu'à l'exploitation des données LFP.

#### **d) Analyse des données**

Les données sont tout d'abord sous-échantillonnées à l'aide d'un logiciel Neuralynx, à 2.5 kHz, puis coupées, à l'aide d'un autre logiciel Neuralynx, selon le fichier « Evènements » généré lors de l'expérimentation, fichier qui regroupe les comportements de l'animal (avec les temps associés) notés en temps réel lors de l'expérimentation. Enfin, les données sont converties en format lisible par le logiciel Matlab (logiciel pour lequel je suis allée me former à Lyon (formation INSERM) pendant 4 jours), puis par la « toolbox » « eeglab », à partir de laquelle les données sont lues et analysées. Les programmes permettant de convertir les fichiers du format Neuralynx en format Matlab ont été créés au laboratoire, tout comme l'interface « STFplot » permettant de faire rapidement une analyse temps-fréquence sur les signaux lus dans « eeglab », l'interface permettant la détection automatique des oscillations « ripples » (cf. étude 2 de cette partie) ainsi que l'interface permettant le calcul de la cohérence entre paires de signaux et l'évolution de la synchronisation entre chacune des structures au cours du temps (pour étudier la dynamique d'un comportement donné par exemple). Ces analyses sont bien sûr faites à partir de fichiers propres (sans artéfacts ni signal saturé ni activité interictale) que je génère à partir d'« eeglab ».

#### **e) Paradigme expérimental**

Le paradigme expérimental utilisé dans cette étude microscopique est le même que celui utilisé précédemment lors de l'étude 2 (partie A de ce chapitre) : les animaux sont tout d'abord placés dans l'arène circulaire pendant une heure, où ils s'habituent à l'environnement, leurs comportements sont soigneusement notés (début/fin du comportement) en temps réel, puis sont remis dans leur cage avant le test. Celui-ci consiste toujours en trois sessions de tests consécutifs (S1, S2, S3, cf. Article 1), puis les animaux sont de nouveau enregistrés pendant une heure après le test dans le même environnement, leurs comportements étant toujours soigneusement notés en temps réel.

De plus, les animaux, hors des conditions expérimentales ci-dessus (avant/test/après test), sont également enregistrés, le matin ou l'après-midi, dans leur cage, où leurs comportements là aussi sont notés, afin de toujours pouvoir associer à une activité rythmique un état comportemental ou un processus cognitif donné. Ils sont également enregistrés, après chaque expérience de test (3 heures), à courir dans une roue. En effet, le fait de courir dans une roue génère chez le rat un rythme thêta dit « moteur », qui sert de référence aux autres types de rythmes thêta, « exploratoire » (exploration de l'environnement) et « cognitif » (test spatial), qui font à la fois intervenir la composante spatiale et locomotrice (cf. Article 1). Ce thêta « moteur » est, quant à lui, directement associé à l'activité locomotrice, i.e. à la distance parcourue (nombre de tours effectués dans la roue, en un temps donné).

#### **f) Protocole d'injection pilocarpine après l'implantation des microélectrodes**

Ce protocole était utilisé au laboratoire quand je suis arrivée. En l'appliquant tout d'abord de manière identique (i.e. avec les mêmes doses de pilocarpine (350 mg/kg) et la même durée de SE (3 heures)), je me suis vite rendue compte que les animaux étaient assez mal en point après la crise initiale, et beaucoup mourraient pendant ou après cette dernière. Ainsi, j'ai essayé de revoir à la baisse la dose de pilocarpine injectée (310 mg/kg) et la durée du SE (40 minutes), en prenant soin de vérifier que les critères histologiques (notamment une migration des cellules du hile, visible assez facilement chez les animaux pilocarpine après histologie), comportementaux (notamment une hyperactivité et une agressivité importantes, ainsi que le développement de crises récurrentes et spontanées une dizaine de jours post-SE environ) et électrophysiologiques (activité interictale et ictale, cf. partie A.5 de ce chapitre) étaient conformes à ceux communément décrits et observés dans l'équipe, ce qui a été le cas. Une étude (Gröticke et al., 2007) a en effet démontré qu'une durée minimale de 30 minutes de SE était requise pour induire les réorganisations de la circuiterie nécessaires au développement de l'ELT. Le protocole que j'avais ainsi revu à la baisse était moins invasif et plus d'animaux survivaient. J'ai également mis au point un protocole de « nursing » des animaux, pendant les 4 jours qui suivaient le SE, qui consistait à leur donner régulièrement (3 fois/jour minimum), à la seringue : à boire de l'eau sucrée puis de l'eau seule, ainsi qu'à manger une mixture de Blédine (celle conçue pour les nourrissons à la base) aux multi-céréales et/ou au chocolat mélangée à de l'eau. Les animaux adoraient cette mixture, ils se remettaient ainsi assez rapidement du SE, et, par conséquent, étaient assez en forme pour pouvoir faire les tests cognitifs dès le 4<sup>ème</sup> jour post-SE. Ensuite, après les avoir nourris à la seringue, la mixture et l'eau sucrée étaient déposées dans des coupelles dans la cage, qu'en

principe l'animal venait manger/boire presque immédiatement au bout du 2<sup>ème</sup> jour post-SE (avant, les animaux n'ont pas ce réflexe et doivent être impérativement nourris à la seringue très régulièrement). Pour les animaux les plus faibles, i.e. ceux ayant fait un SE très fort (plusieurs stades 5 à la suite avant le déclenchement du SE, avec beaucoup de stéréotypes, de tremblements) et qui ne voulaient pas se nourrir (boire surtout) à la seringue, une injection intrapéritonéale de 5 mL de NaCl et/ou de glucose était administrée quelques heures post-SE, voire également le lendemain si cela s'avérait nécessaire.

Ainsi, pour cette seconde partie de mon projet de thèse, la première question qui se posait était d'adapter ce protocole, invasif, qui avait été utilisé comme décrit juste avant durant mes deux premières années de thèse sans finalement trop de difficulté (peu de perte des animaux), au protocole déjà invasif auquel avait été soumis les animaux (i.e. une longue anesthésie, renouvelée au moins 3 fois pendant la chirurgie, l'implantation des 13 microélectrodes et des nombreuses vis –une quinzaine. À cela s'ajoute le poids du « chapeau », d'environ 17 à 20 grammes, qu'il est important de bien estimer car le poids de l'animal –i.e. sans le chapeau- est discriminant pour l'injection de pilocarpine. Il ne s'agissait pas ici d'augmenter les doses de pilocarpine, par rapport à ma première étude, chez ces animaux déjà fragilisés par la lourde chirurgie dont ils avaient fait l'objet au préalable.

Après de nombreuses tentatives d'injecter la pilocarpine aux animaux implantés une semaine auparavant, pas un seul survivait plus de quelques heures après le SE, ils mourraient tous après l'injection de Valium (8 mg/kg), de quelques minutes à plusieurs heures (en général), d'un arrêt respiratoire, et il était impossible de les réanimer, ou, le cas échéant, ils faisaient de nouveau un autre arrêt respiratoire peu de temps après ou bien développaient une crise un peu plus tard (telle une crise de tétanie, raidissant leurs membres et finissant par mourir par arrêt respiratoire). Dans ces conditions (injection une semaine après l'implantation), un seul animal a survécu au SE, mais le lendemain, il ne voulait pas se nourrir, et malgré les injections de solution saline et de glucose, l'animal n'a tenu que 3 jours mais dans un état critique, même « nursé » presque toute la journée, il a fini par mourir après une crise assez forte dont il ne s'est pas remis. J'ai essayé d'injecter plus de Vallium (10 mg/kg) ou de réitérer les injections jusqu'à ce que le SE se calme à l'EEG, mais c'était pareil, les animaux mourraient même plus rapidement, je pense que les multiples injections accélèrent le processus. Ensuite, j'ai décidé d'attendre plus longtemps (i.e. deux semaines au lieu d'une) après la chirurgie, afin que les animaux récupèrent mieux du SE. Cependant, au début, les animaux ne survivaient toujours pas plus de quelques heures après l'injection de Valium. Lorsqu'on a commencé à contrôler la température des animaux pendant la chirurgie

et jusqu'à ce qu'ils se réveillent, les animaux semblaient récupérer plus vite et après deux semaines de récupération post-implantation, deux animaux ont survécu, les autres mourraient toujours.

On a alors songé à un autre protocole, qui consistait à faire l'inverse, c'est-à-dire de commencer par injecter les animaux à la pilocarpine, et d'implanter, deux semaines après, ceux qui avaient développé un SE et avaient bien récupéré. Selon ce protocole, la perte était moindre : les animaux survivaient (n=3 sur 5) assez bien à la chirurgie; cependant, on perdait le caractère longitudinal de l'étude où les animaux n'étaient plus leurs propres contrôles. Malheureusement, la durée de vie de ces trois rats ayant survécu fut écourtée par un problème technique, un court-circuit au niveau des points de contact de la carte d'acquisition qui envoyait du courant (court-circuit au niveau des pins de stimulation) au lieu d'enregistrer, ce qui induisait chez ces animaux, latents ou chroniques, des crises d'épilepsie quasi-immédiates, assez violentes, qui ont abouti à la mort.

Au final, sur plus d'une vingtaine d'animaux implantés avec le système de « guide » et de microélectrodes et plus d'un an et demi d'essais/d'expériences, seulement deux animaux ayant déclenché un SE (dits « rats SE » dans la suite du chapitre) ont pu être suivis sur du long terme (stade contrôle, i.e. avant injections, puis au stade latent et chronique) et deux animaux contrôles (i.e. n'ayant pas développé de SE suite à l'injection pilocarpine), ces derniers étant indispensables pour comparer l'évolution au cours du temps des enregistrements, compte tenu de la variabilité qu'il peut y avoir lorsqu'on enregistre plus de 40 jours un animal avec de nombreuses microélectrodes (le risque est que le signal se dégrade). Ces animaux sont donc pris comme référence dans ces études longitudinales. Les trois animaux ayant survécu au second protocole (injection avant l'implantation) seront rajoutés à l'analyse des rats précédents au stade latent et/ou chronique.

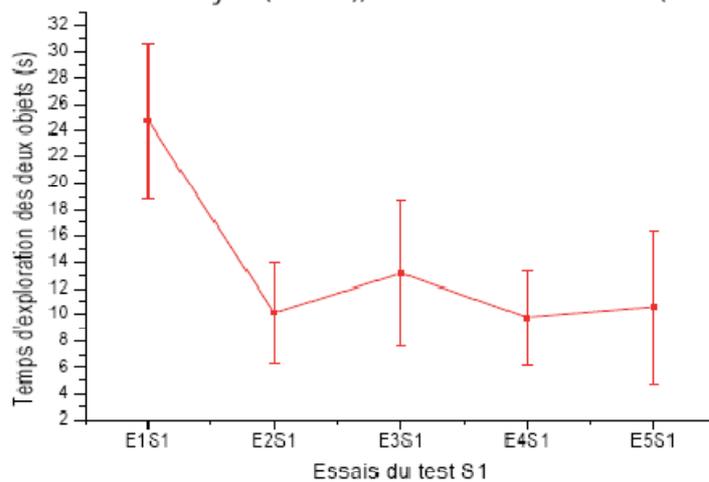
## 2. Résultats préliminaires

### 2.1. Analyse des performances cognitives des animaux implantés

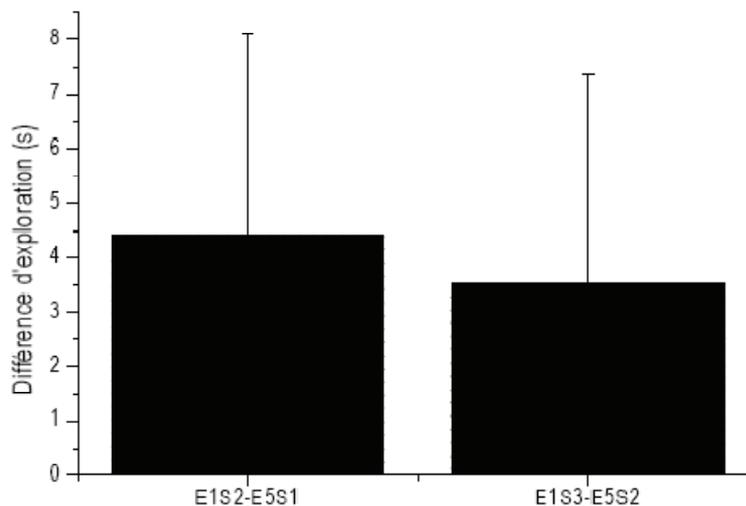
À partir de la technique *in vivo* présentée juste avant, l'enregistrement des animaux devait aboutir à plusieurs études, la première étant de retrouver les résultats cognitifs observés dans l'étude A.2 (Article 1). Ainsi, tous les rats enregistrés avant traitement (i.e. avant injections, ayant survécu à la chirurgie, n=11) puis ceux ayant survécu au SE ou n'en ayant pas déclenché (rats non-SE ou « sham »), ont présenté les comportements suivants :

- Avant traitement (tous les animaux sont contrôles) :

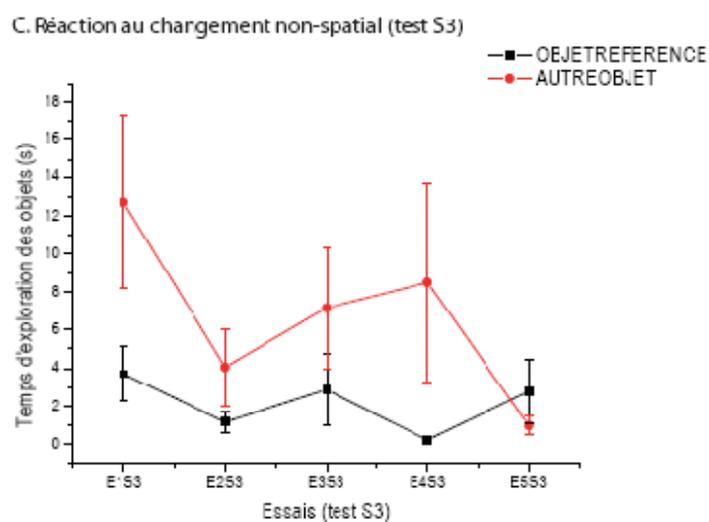
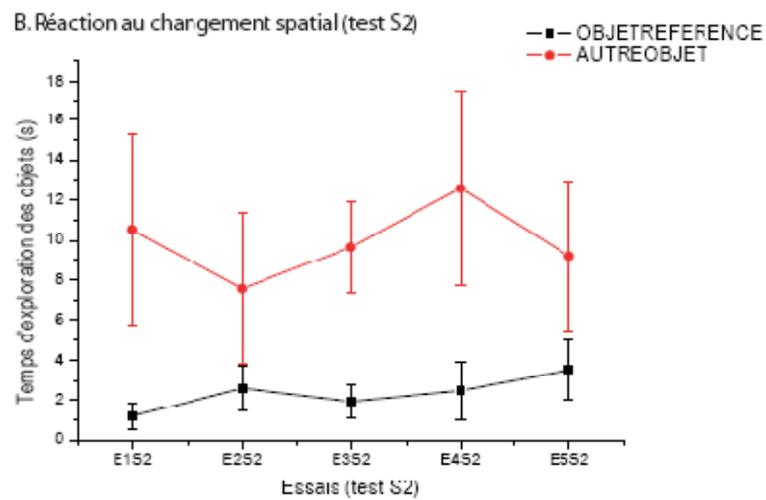
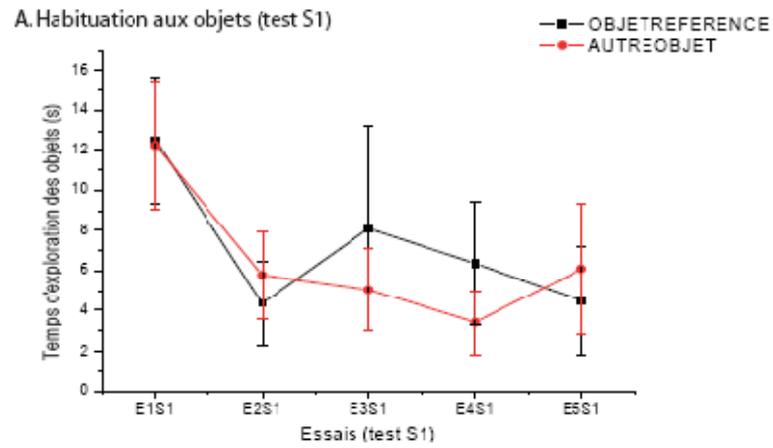
A. Habituation aux deux objets (test S1), en conditions contrôles (avant traitement)



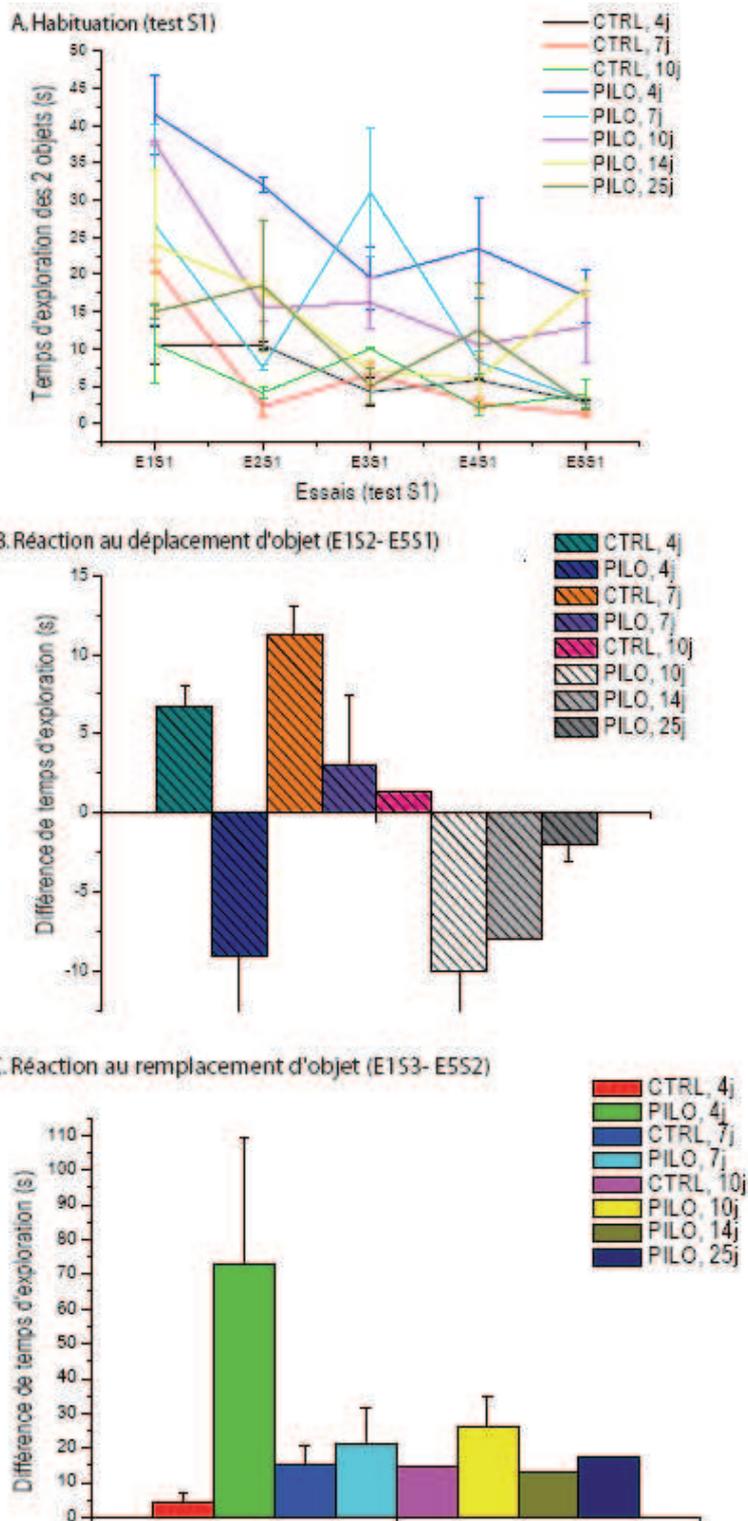
B. Réaction à la nouveauté: au déplacement (test S2) et au remplacement (test S3) d'objet, en conditions contrôles (avant traitement)



Et si on présente maintenant les résultats pour chacun des deux objets, comme présenté dans l'étude A.2 (Article 1), on obtient les graphiques suivants :



- Après traitement :



« CTRL » : rats contrôles ; « PILO » : rats SE (modèle pilocarpine, latents (4, 7, et 10j post-SE) ou chroniques (14 et 25j post-SE)).

Ces résultats confirment les résultats observés et publiés dans l'Article 1: les animaux injectés à la pilocarpine ne présentent pas de réaction au changement spatial (test S2 ; à part à

7j post-SE mais compte-tenu de la variabilité, l'effet n'est pas significatif), avec une préférence pour l'objet de référence (résultats non présentés ici), contrairement aux animaux contrôles qui eux réagissent à l'objet déplacé. En revanche, ils réagissent (i.e. présentent un regain d'exploration) au changement non-spatial (test S3), i.e. à l'objet nouveau, comme le groupe contrôle. Pour la phase d'habituation aux deux objets (test S1), les animaux SE habituent aux objets au cours des 5 essais de test (sauf à 14j), comme le groupe contrôle, ce qui diffère des résultats obtenus dans l'étude A.2, où les animaux ne présentaient pas d'habituation à ce test : on peut penser que les animaux, lors de ce second projet, étaient moins gênés par leur système de connexion (câble moins lourd) ce qui rendait peut-être plus facile l'exploration (on constate en effet sur ces courbes que les animaux pilocarpine ont un niveau d'exploration de départ plus élevé que les animaux contrôles, et ce à tous les temps). Ainsi, avec un niveau d'exploration de départ important, il est plus facile de présenter une habituation comparé à niveau d'exploration de départ déjà faible (cf. étude A.2 où le contraire est observé, les animaux contrôles présentaient un taux d'exploration plus élevé que les animaux SE).

## **2.2. Analyse des oscillations « ripples », chez l'animal contrôlé, épileptogène et épileptique**

### **a) Contexte scientifique**

À partir des résultats que je viens de présenter, qui montrent des déficits significatifs et précoces de mémoire spatiale chez les animaux traités, et qui confirment ceux de l'étude A.2, une idée était de comparer chez les animaux contrôlés versus épileptiques s'il y avait une quelconque différence dans les propriétés et caractéristiques des oscillations de type « ripples » (fréquence, durée, nombre, etc.) pendant et après le test versus avant, étant donné qu'il est bien admis que les « ripples » sous-tendent la cognition, en particulier la consolidation mnésique à court-terme (cf. chapitre II.B).

Une hypothèse était que le nombre de « ripples » (pendant le test, et/ou lors des phases de repos, entre les essais, où l'animal « rejouerait » la séquence comportementale des 2 minutes d'essais précédentes (cf. chapitre II.B)) pourrait suivre la courbe d'exploration des animaux, i.e. qu'il diminuerait lorsque l'animal s'habitue aux objets (test S1), qu'il augmenterait lorsque l'animal présente un regain d'exploration pour l'objet déplacé (test S2), puis qu'il diminuerait de nouveau pour réaugmenter lorsque l'animal présenterait un regain d'exploration pour l'objet nouveau (test S3) puis diminuer à nouveau jusqu'à la fin du test. De plus, on s'attendait à ce que les animaux contrôlés présentent (i) plus de « ripples » pendant les phases de repos (où se produirait le phénomène de « replay », cf. chapitre II.B.) par rapport aux phases de test proprement dites (lors des 2 minutes d'essais), (ii) plus de « ripples » lors du test (phases d'essais et de repos) comparé à avant le test, mais (iii) moins de « ripples » comparé à après le test où le processus de consolidation devrait se mettre en place, après le processus d'encodage lors des phases de repos, (iv) un nombre, fréquence, amplitude, ou nombre de cycles différents des animaux SE, ce qui pourrait ainsi expliquer en partie les déficits cognitifs observés chez ces derniers (étude A.2).

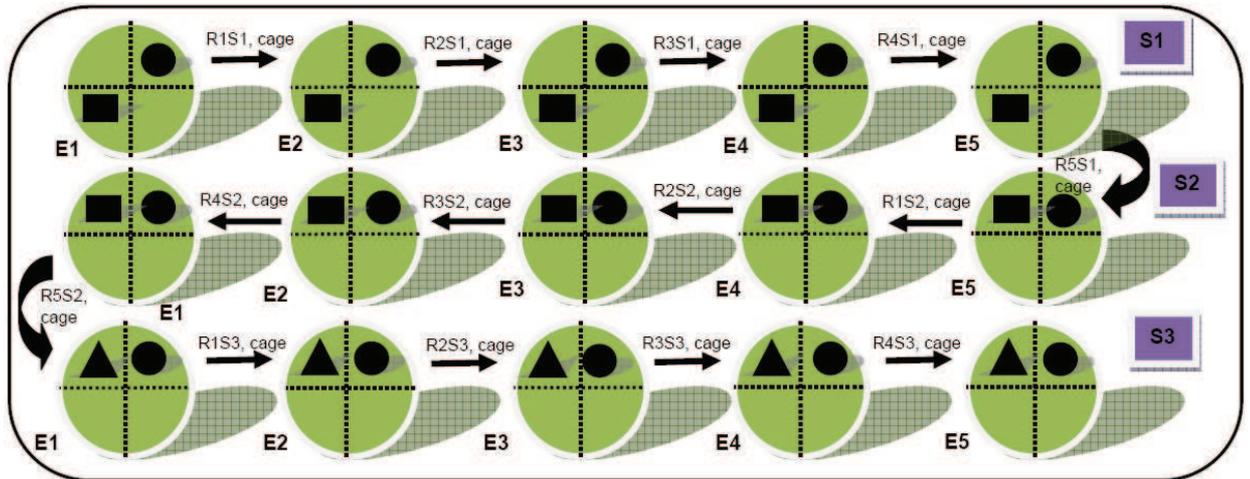


Figure 62

Figure 62. Rappel du test cognitif (avec les phases d'essais (E1S1, E2S1, ...) et les phases de repos (R1, R2, R3,...) au cours des tests S1 (phase d'habituation), S2 (déplacement d'un objet, mémoire spatiale) et S3 (nouvel objet, mémoire non-spatiale).

## b) Résultats

Les résultats préliminaires présentés ci-dessous ont été obtenus à partir de l'analyse (logiciel Matlab) des enregistrements d'un animal contrôle et d'un animal SE (pour voir si une tendance se dessinait dans les résultats obtenus), lors des conditions de test cognitif (cf. Article 1), tous deux enregistrés longitudinalement. Le but de cette étude préliminaire était d'essayer de corrélérer, chez chaque animal, (i) au repos (l'animal est remis dans sa cage 2 minutes entre deux essais de test) ou (ii) pendant le test (2 minutes d'essais), le nombre de « ripples » qu'il présente dans l'aire CA1 avec ses performances cognitives.

Les oscillations « ripples » ont tout d'abord été détectées visuellement, puis par un détecteur qui utilisait la méthode TF (technique de détection basée sur l'analyse temps-fréquence, et considérant les hautes fréquences (oscillations « ripples », 100-250 Hz) et les basses fréquences (« SPW », 0.5-3Hz), puis contrôlées de nouveau visuellement après détection automatique (afin d'éliminer les faux-positifs, et de rajouter les non détectées, le cas échéant).

Ci-dessous un exemple d'enregistrement d'oscillations « ripples » dans l'hippocampe :

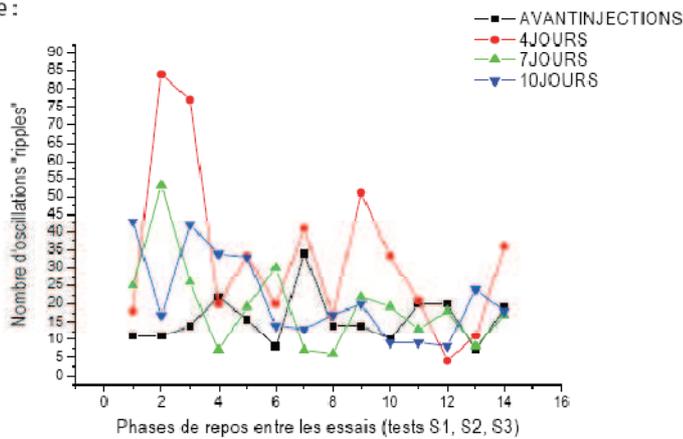


**Exemple d'oscillation « ripple » enregistrée pendant le sommeil (heure qui suit le test)**

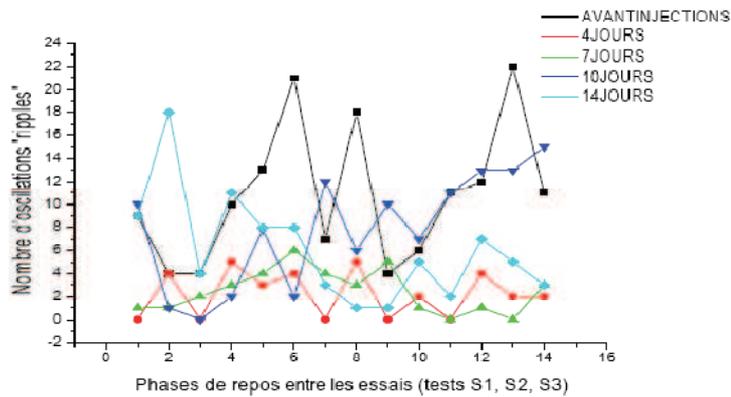
(la voie rose correspond au signal LFP enregistré dans le GD, les voies violette et bleue celles de l'aire CA1 (couche pyramidale), enfin le canal du bas correspond au signal LFP de la région CA3). On note bien ici que l'oscillation « ripple » est présente et a une amplitude maximale au niveau de la région CA1.

Les résultats de l'analyse sont les suivants :

A. Rat contrôle :



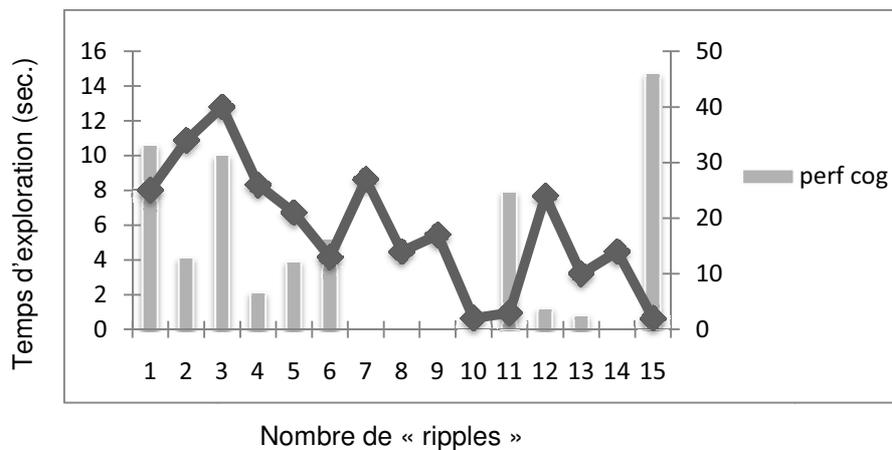
B. Rat SE :



**Courbes présentant l'évolution du nombre d'oscillations « ripples » au cours des phases de repos entre les essais (tests S1, S2 et S3), chez l'animal contrôle (A) et SE (B).**

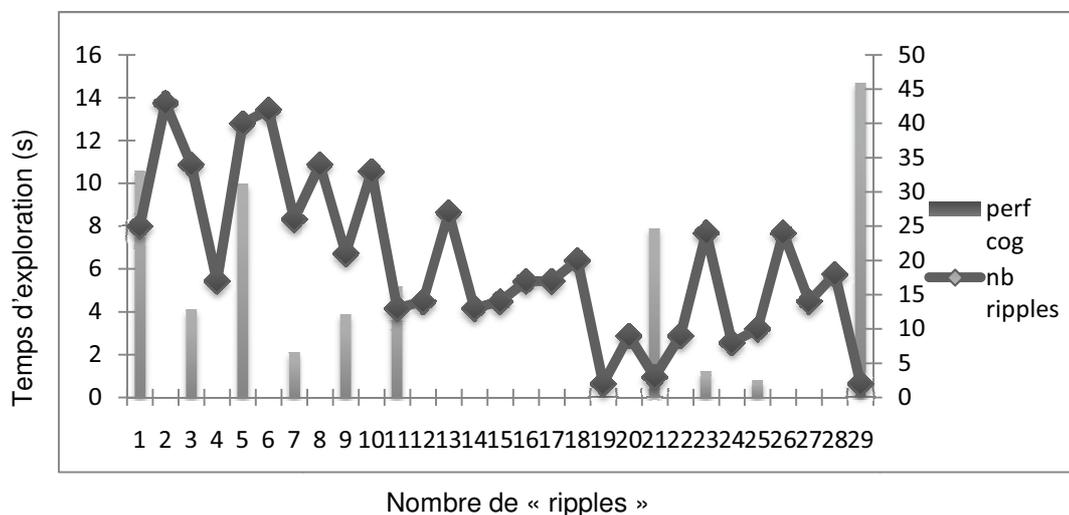
En abscisses : « 1 » correspondant à la 1<sup>ère</sup> phase de repos (R1S1) du 1<sup>er</sup> essai (E1S1 ; cf. Figure 61)

L'analyse a ensuite été faite plus en détails chez l'animal contrôlé, pour voir s'il y avait une corrélation entre la fréquence des « ripples » pendant le test et les performances cognitives (moyennées avant injection, et à 4, 7, et 10 jours post-SE). Si l'on considère le nombre de « ripples » pendant les essais (de 1 à 15 le nombre d'essais : 5 pendant le test S1, 5 pendant le test S2, et 5 pendant le test S3), et les performances cognitives au cours de ces essais (« perf cog » ; évaluées comme le temps passé à explorer (i) les 2 objets pendant les 5 essais de S1, (ii) l'objet déplacé pendant les 5 essais de S2, (iii) l'objet remplacé au cours des 5 essais de S3), on obtient le graphique suivant :



(avec « perf cog » = 0 signifie l'absence d'exploration de l'objet d'intérêt)

Si l'on considère maintenant le nombre de « ripples » (« nb ripples »), à la fois pendant les essais et les phases de repos entre les essais, au cours des trois tests consécutifs, avec l'alternance essais (1, 3, 5, 7, etc.) - phases de repos (2, 4, 6, 8, etc. ; S1 : de 1 à 10 ; S2 : de 10 à 20 ; S3 : de 20 à 29), on obtient le graphique suivant :

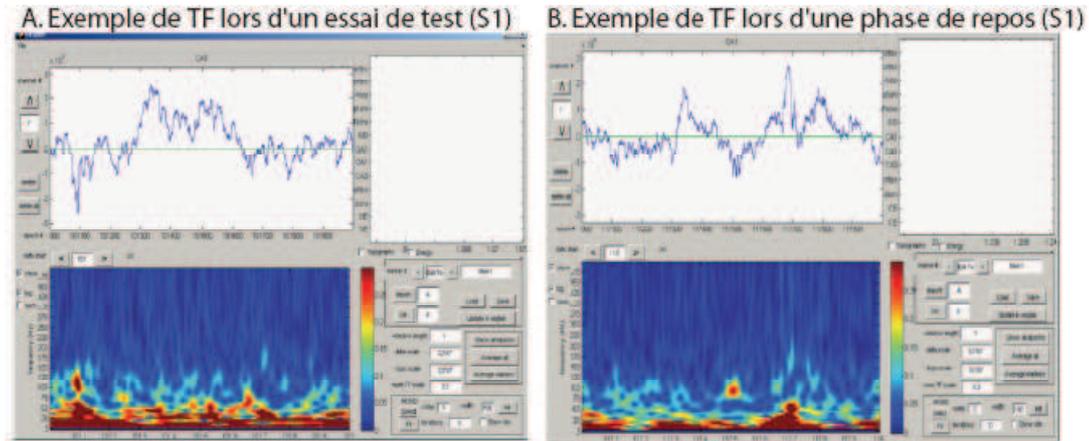


Il n'y a donc pas de corrélation entre le nombre de « ripples » au cours des essais ( $p=0.705$ ; corrélation de Pearson) ou au cours des phases de repos ( $p=0.307$ ; corrélation de Pearson) avec les performances cognitives lors des essais, du moins pour ce rat-ci. Cependant, on note une relation qui va dans le sens attendu : en effet, le nombre de « ripples » diminue au fur et à mesure des essais de la session S1, comme associé au phénomène d'habituation, puis réaugmente au 2<sup>ème</sup> essai de S2, rediminue, puis réaugmente au 2<sup>ème</sup> essai de S3 et rediminue, suivant là aussi la courbe attendue concernant le regain d'exploration aux tests S2 et S3. L'absence de corrélation chez l'animal contrôle ne permet donc pas de conclure sur un quelconque effet chez l'animal SE, d'où l'absence d'une étude similaire chez ce rat.

En revanche, si l'on regarde en détails les résultats, on voit qu'il y a une diminution des « ripples » au cours des différents tests (S1, S2, S3), pour le rat contrôle à 4, 7 et 10 jours après traitement, ainsi que pour le rat SE à 7 et 14 jours (ce n'est pas significatif à 4 et 10 jours), avec un rebond à S3 à 10 jours. Cependant, ce rebond n'apparaît que là. Enfin, le nombre de « ripples » est plus important de manière générale lors des phases de repos, comparé aux essais, ce qui coïnciderait avec leur fonction de consolidation de la mémoire à court-terme.

La fréquence des « ripples » avant et pendant le test n'a pu être comparée à celle après le test, ce qui aurait été intéressant d'analyser chez le rat contrôle et SE car l'information (les différences entre les deux) se trouve peut-être dans les conditions post-test, où la consolidation de l'information préalablement encodée au cours des tests (S1, S2, S3) doit sûrement se mettre en place. Cependant, l'impact de cette différence ne pouvait être mesuré que 3 jours plus tard, lors de la prochaine expérimentation (les animaux étaient testés à 4, 7, et 10 jours post-SE au stade latent ; à 25 et 40 jours post-SE au stade chronique), ce qui pouvait être discutable. Il aurait fallu prévoir une autre période d'enregistrement, après les 3 premières, i.e. suivant l'heure après le test (avant test/test/**après test**), en s'assurant que l'animal a dormi un certain temps (pour que se produise le phénomène de consolidation) avant de le retester.

J'ai également réalisé une analyse temps-fréquence des « ripples » au cours des différents essais et phases de repos, mais rien de très probant ne semblait se dessiner entre les deux groupes (contrôle et expérimental):



### c) Discussion

Une des limites à cette étude (d'où l'arrêt des analyses à n=1 rat par « groupe ») -et qui constitue une des limites aux études longitudinales en général- est que l'électrode peut bouger dans le cerveau au cours du temps, notamment chez les rats SE, dont on sait que les ventricules gonflent après SE et peuvent ainsi entraîner des modifications de placement d'électrodes. Ainsi, après l'implantation de l'électrode dans la région CA1 (i.e. dans la couche pyramidale ou le *stratum radiatum*), je vérifie de manière électrophysiologique son emplacement, grâce à l'observation des « ripples » à l'écran après chirurgie et connexion de l'animal au système d'acquisition, puis au cours du temps, avant de démarrer chaque enregistrement, pour voir si les « ripples » sont bien toujours présentes à l'EEG, et de même amplitude (cf. même couche de l'hippocampe). Toutefois, si en raison du SE l'électrode bouge et vient se placer dans le *stratum lacunosum moleculare*, où il est impossible d'enregistrer un signal à la fréquence « ripples », on ne saura pas si l'absence de « ripples » sur l'EEG est due aux conséquences d'un réseau remanié chez les animaux SE, ou tout simplement parce que l'électrode a bougé et enregistre maintenant le signal d'une couche où normalement aucune fréquence « ripples » ne peut être observée. La vérification histologique n'ayant lieu qu'à la fin des enregistrements, lorsque l'animal est sacrifié, elle ne rend compte de l'emplacement de l'électrode qu'à la fin des enregistrements mais pas au début (si l'électrode a bougé, l'histologie ne sera pas informative). Pour cela, il aurait fallu faire plus d'études histologiques, où l'animal serait sacrifié après chaque temps d'enregistrement.

Cependant, en raison du fait qu'il était déjà très difficile d'obtenir des rats implantés qui survivent après le SE, de telles études histologiques à chaque temps m'auraient demandé au moins un an de thèse en plus pour avoir un profil histologique (un animal) à chaque temps. Sans ces études histologiques, le moyen de pallier ce biais potentiel serait d'établir une analyse temps-fréquence, au cours du temps, du signal LFP pour un comportement dont on sait être assez stable, comme le sommeil paradoxal. En effet, au cours du sommeil paradoxal, le thêta est généralement pur et ample ; cependant, son amplitude dépend des couches de l'hippocampe au sein desquelles on enregistre le thêta de champ (Montgomery et al., 2009). Ainsi, si sa dynamique reste la même au cours du temps, cela peut être un bon contrôle pour vérifier que l'électrode n'a pas bougé de place. Pour cela, il faudrait comparer également avec la variabilité au cours du temps chez des animaux contrôles (« sham » et non-SE), qui seraient notre référence pour l'interprétation des données.

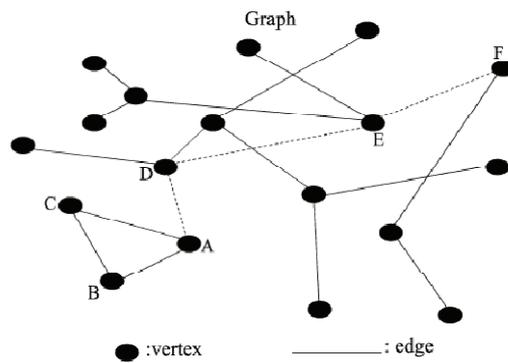
## **2.3. Analyse de l'architecture du réseau épileptogène et épileptique, i.e. réorganisé : étude « Small World »**

### **2.3.1. Contexte scientifique**

L'épilepsie, et plus précisément le SE dans les modèles animaux, entraîne une mort des cellules glutamatergiques et des IN GABAergiques, le bourgeonnement des fibres moussues et d'autres cellules pyramidales de l'hippocampe, voire du subiculum, et une synaptogenèse abondante. Par conséquent, la connectivité entre les neurones s'en trouve perturbée : ils perdent leurs cibles post-synaptiques, comme dans le GD, à l'origine d'importantes modifications de synchronisation, et les IN auraient alors tendance à se synchroniser entre eux localement. Ainsi, le substrat morphologique du réseau neuronal s'en trouve altéré et, par conséquent, on peut s'attendre à des modifications de l'architecture du réseau. Dans ce contexte, les analyses globales de l'architecture des réseaux impliqués par la méthode de l'analyse « Small World » (SW) nous est apparue particulièrement intéressante. L'architecture du réseau modifiée pourrait ainsi induire un réseau plus SW (Watts & Strogatz, 1998) et ainsi peut-être modifier les activités oscillatoires et leurs propriétés, comme je l'ai observé lors de mes précédentes études. L'architecture SW est un processus dynamique car elle évalue des connexions fonctionnelles et non pas physiques. Ainsi, l'intérêt porte sur ces connexions fonctionnelles, savoir comment l'épilepsie agit sur elles.

### **2.3.2. Concept du « Small World »**

Le cerveau représente un volume important avec de nombreux neurones ( $10^{11}$  chez l'Homme) qui établissent de très nombreuses connexions entre eux (5000 connexions / neurone). Pour simplifier, si on considère seulement 50 neurones, pour connecter chacun de ces neurones à tous les autres, il faut 1225 connexions bidirectionnelles. Cependant, dans la réalité, le cerveau fait en sorte que les neurones soient connectés aux autres seulement via une petite partie d'entre eux. Pour connaître le minimum de liens établi par un neurone vers une de ces cibles, une solution à cette question est la « théorie des graphes » (Bollobas, 1985 ; Hayes, 2000a, b). Un graphe est la représentation symbolique du réseau, défini de manière abstraite comme un ensemble de nœuds (ou vertex, « nodes ») liés. Un nœud est un point terminal ou un point d'intersection d'un graphe, i.e. un neurone. Les nœuds sont connectés par des liens (ou segments, « edges »), i.e. un axone (Figure 63).

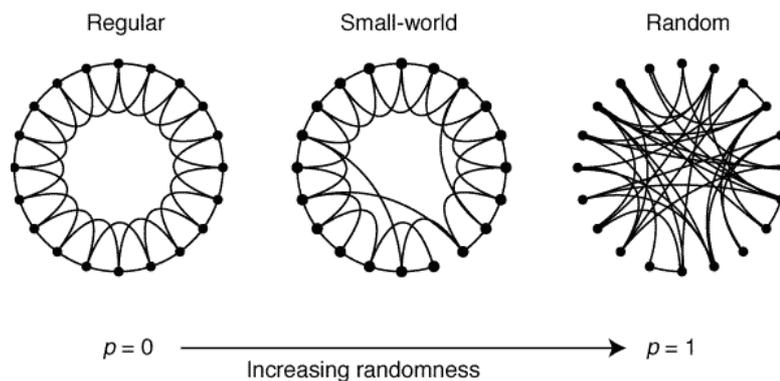


**Figure 63**

**Figure 63. Explication schématique d'un graphe, avec ses segments (« edges ») et ses éléments (« vertex »).** (d'après Stam et al., *Cerebral Cortex*, 2007).

Dans les réseaux cérébraux, les liens sont dirigés. La « route » est une séquence ininterrompue de liens. Ainsi, trouver toutes les « routes » possibles dans un graphe est important pour moyenniser le flux de transmission de nœuds à nœuds (i.e. de neurone à neurone dans notre cas). Un graphe aléatoire (« random » ; Erdős & Rényi, 1959) ne forme pas de « clusters », i.e. de nœuds fortement connectés. Plus le nombre de neurones du réseau est important, plus le nombre de liens pour connecter les nœuds au graphe est petit. Ainsi, construire des réseaux plus complexe et plus large avec en outre un plus grand nombre de neurones n'implique pas une augmentation linéaire de la connectivité, bien qu'il nécessite encore une impressionnante augmentation d'associations (« wiring »). À partir de là en principe (avec la théorie des graphes), on peut associer  $10^{11}$  neurones avec  $5 \times 10^{14}$  synapses disponibles. Dans un système de graphes « random », si chaque neurone reçoit, disons, 100 entrées synaptiques (i.e. « inputs »), chaque neurone doit donner naissance, en moyenne, à 100 signaux de sortie (i.e. « outputs »), puisque la somme de ce qui entre et de ce qui sort est identique. Si on se base sur un neurone pyramidal cortical, chaque neurone peut transmettre de l'information à  $5 \times 10^3$  de leurs pairs sélectionnés au hasard. Les neurones du second ordre, connectés au hasard à leurs  $5 \times 10^3$  pairs, les connecteront à  $2.5 \times 10^7$  cibles en deux pas seulement (synapses). Ainsi, selon cette conception mathématique des graphes « random », on peut aller d'un neurone à un autre neurone dans le cerveau humain à travers seulement trois synapses (Braitenberg & Schütz, 1998). Cependant, cela laisse à penser qu'il n'y aurait que des connexions locales dans le cerveau, ce qui ne reflète pas la réalité. En effet, ce n'est pas le cas dans les cortex visuel, auditif, frontal ou encore moteur, bien qu'il est vrai que la plupart des connexions entre les neurones soit locale dans la majorité des structures cérébrales. Cependant, une telle « navigation cérébrale » n'est pas possible via seulement trois synapses.

En considérant la plupart des connexions locales, on peut construire un autre graphe (autre que le graphe « random »), dans lequel il y aurait un fort « clustering » local. Cependant, dans ce cas, un autre dilemme apparaît. Dans un graphe avec des connexions seulement entre des « clusters » neuronaux adjacents (locaux), cela prendrait littéralement des milliers de synapses pour « naviguer » dans le cerveau à partir d'un neurone, par exemple dans le cortex visuel vers un neurone du cortex moteur. Ainsi, les nombreuses étapes synaptiques et le temps mis pour les parcourir représentent la principale limitation du cortex cérébral, hormis le fait qu'il partage de nombreuses informations traitées avec tous les autres neurones. Deux règles d'organisation – le degré de « clustering » local et le degré de séparation entre les aires distantes du cerveau («synaptic path length », i.e. distance à parcourir via les synapses) - rivalisent l'une avec l'autre. Cette dernière règle correspond au nombre moyen de synapses entre les paires de neurones choisis au hasard, soit la longueur de la voie la plus directe entre les neurones les plus distants. Les connexions « random » peuvent réduire les degrés de séparation, alors que la densité des connexions locales augmente avec l'effet du « clustering ». Ainsi, les deux types de connectivités sont nécessaires dans le cortex cérébral, et la « circulation » longue distance à travers le cerveau peut être parcourue via une quantité restreinte de connexions. Cependant, il est actuellement bien connu qu'aux connexions locales s'ajoutent les connexions longue-distance. En revanche les règles qui déterminent le ratio « optimal » de ces deux types de connexions reste à déterminer. Si la connectivité fonctionnelle doit être maintenue avec l'augmentation du nombre de neurones, ensuite la longueur moyenne axonale qui connecte les neurones doit être diminuée. Le résultat est une vitesse réduite avec le délai de conduction axonale. Pour remédier à ce problème, la contribution des Dr Watts et Strogatz, en 1998 (Watts & Strogatz, 1998) a été importante : en effet, ces auteurs décrivent un réseau « small world » (Buchanan, 2003 ; Strogatz, 2003 ; Watts, 2003) qui sont des graphes « random » basiques mais dotés d'un « clustering » local (Figure 64).



**Figure 64**

**Figure 64. Les réseaux « Small-world » combinent l'avantage d'une organisation locale régulière (i.e. graphe « regular ») et d'une connectivité aléatoire (i.e. graphe « random »).** À partir d'un ensemble de  $n$  sommets (« vertex ») et de  $k$  cotés (« edges ») par vertex constituant le réseau de type « regular », chaque côté est redistribué de manière aléatoire avec une probabilité  $p$ . Cela permet de construire un graphique entre le réseau de type « regular » ( $p=0$ ) et de type « random » ( $p=1$ ), à une position intermédiaire (SW) de probabilité  $0 < p < 1$  (Watts & Strogatz, 1998). Un réseau SW a de nombreux « vertex » avec peu de connexions, mais en nombre suffisant cependant car sinon le réseau devient déconnecté. Pour cela, il faut que  $n \gg k \gg \ln(n) \gg 1$ , avec  $k \gg \ln(n)$  pour qu'un réseau « random » soit connecté (Bollabas, 1985). (d'après Watts & Strogatz, Nature, 1998).

Supposons que chaque cercle soit un neurone, et que les lignes représentent les connexions axonales. Si on augmente un peu l'échelle des graphiques ci-dessus (Figure 63) pour que chaque neurone soit connecté à 10 de ses pairs adjacents (plutôt que 4 comme montré ci-dessus), on aura 5000 connexions synaptiques et un degré de « clustering » de 0.67 (cf. Coefficient de « clustering »,  $C$ , qui rend compte de la densité de connectivité locale, i.e. fraction moyenne de neurones voisins directement connectés à un autre), une mesure que les auteurs introduisent dans leur article pionnier (Watts & Strogatz, 1998). Si maintenant on considère 50 connexions avec 50 nouveaux liens placés au hasard (1% de l'ensemble), le degré de « clustering », i.e. le coefficient  $C$ , passe à 0.65, soit diminuée de manière très négligeable. En revanche, le nouveau graphe généré possède des propriétés complètement différentes. Sans le 1% de liens placés au hasard, mais à la place des connexions longue distance, la voie synaptique (« synaptic path length ») moyenne (i.e. le degré de séparation neuronale au sein du réseau) est d'environ 50, ce qui est beaucoup trop long pour réaliser une quelconque fonction étant donné la longue conduction axonale et les délais synaptiques. Avec les liens « random » rajoutés (les 1%), ce taux chute à 7. De nombreux exemples réels suivent cette architecture de réseau « small world », testés par les auteurs Watts & Strogatz : les lignes de puissance, le réseau d'acteurs d'Hollywood, le réseau neuronal de l'espèce *C. Elegans*. Cependant, les auteurs ont oublié de tester le cerveau des Mammifères qui malheureusement ne répond pas à cette architecture, comme ils l'ont réalisé plus tard (livre de

Watts, *Six Degrees*, 2003). Le nombre de liens « random » pour maintenir la longueur des voies synaptiques à emprunter augmente beaucoup moins que la taille du réseau. En d'autres termes, plus le réseau est vaste, plus l'impact de chaque lien « random » (aléatoire) sur l'efficacité de la connectivité du réseau est important. Pour 20 billions de neurones dans le cortex cérébral humain, organisés principalement en « clusters », une proportion beaucoup plus petite de liens axonaux est nécessaire pour réaliser la même longueur de voie synaptique que dans le cerveau beaucoup plus petit d'une souris.

### *En résumé,*

Les réseaux constitués par des systèmes dynamiques couplés sont utilisés pour modéliser des systèmes dans différents domaines (physiques, biologiques, etc.). L'architecture de ces réseaux tend à être soit complètement régulière/ordonnée (réseau appelé « **regular** »), soit complètement aléatoire (réseau appelé « **random** »). Un réseau « **small world** » (SW) se situe entre ces deux extrêmes (Watts & Strogatz, 1998), il ajoute du « désordre » à un réseau « regular » sans être complètement « random ».

Les modèles de systèmes dynamiques avec un couplage SW auraient une vitesse de propagation du signal plus élevée que pour les autres types de réseaux, et une aptitude à être plus facilement synchronisables ; par exemple, les maladies infectieuses se propageraient plus facilement dans les réseaux SW que dans les réseaux de type « regular ». De même, dans les modèles neuraux, le SW faciliterait l'apparition d'activités épileptiques, que nous ne détaillerons pas ici (Netoff et al., 2004 ; Ponten et al., 2007, 2009 ; Schindler et al., 2008).

### **2.3.3. Analyse SW**

L'analyse SW, en plus des coefficients C et L, définis dans le paragraphe précédent, se caractérise par (i) un coefficient de synchronie (« syn ») et (ii) l'index de SW (« index ») caractérisé par le rapport C/L, qui représente la configuration du réseau. D'autres paramètres existent mais ne nous les évoquerons pas ici, vu que nous ne les avons pas utilisés.

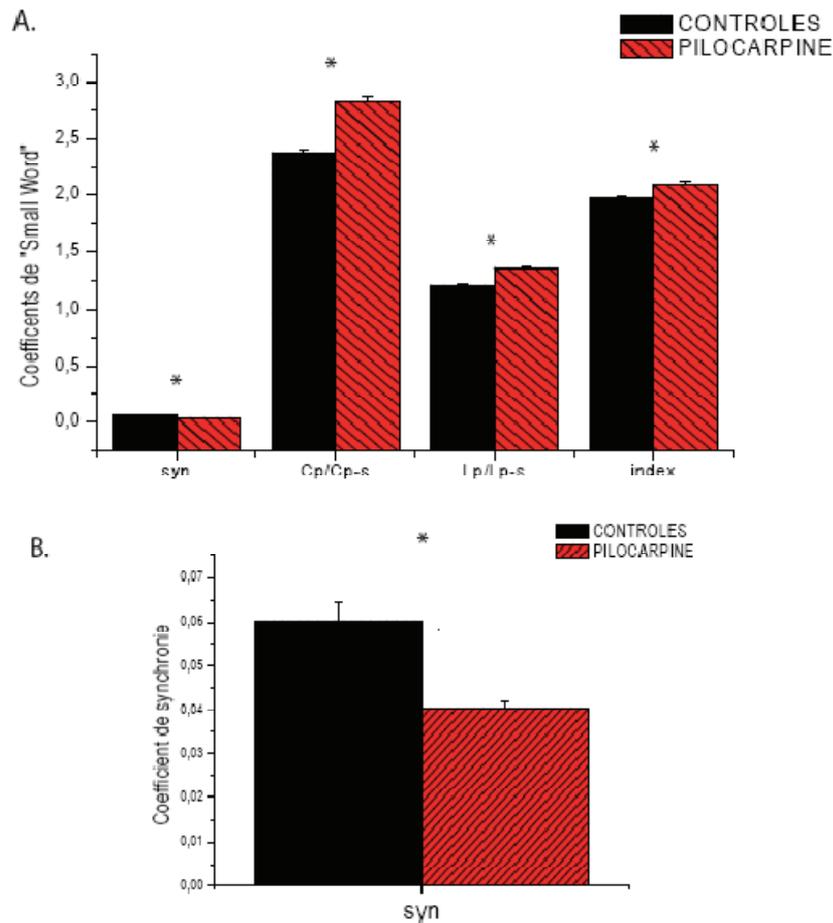
### **2.3.4. Résultats préliminaires**

Ainsi, cette analyse dans le cadre de ma thèse vise à étudier l'architecture globale du réseau impliqué à la fois dans la genèse du rythme thêta, la mémoire spatiale, non-spatiale, et l'ELT.

Les résultats que je vais présenter, via l'analyse linéaire de « SL » (« synchronisation likelihood », cf. chapitre suivant ; Pereda et al., 2005 ; Wendling et al., 2009) faite grâce au logiciel « digeeeg » développé par CJ Stam, à Amsterdam, et à partir d'un  $k=3$  (conseillé dans l'étude de Watts & Strogatz, 1998 et utilisé, entre autres, dans l'étude de Stam et al., 2007 et de Ponten et al., 2007, pour un réseau ayant un même nombre de structures considérées dans l'analyse) ont été obtenus à partir de (i) 2 rats pilocarpine enregistrés longitudinalement, au stade contrôle (avant traitement), épiléptogène (à 1, 4, 7 et 10 jours post-SE) et chronique (à 25 et 40j post-SE), (ii) 2 rats contrôles enregistrés aux même temps, un n'ayant soit pas développé de SE suite à l'injection de pilocarpine (rat non-SE), l'autre n'ayant pas reçu l'injection mais une solution saline à la place (rat « sham »), (iii) 5 rats enregistrés au stade contrôle (avant traitement), et (iv) 4 rats SE au stade chronique (25 jours post-SE). Les rats non-SE sont considérés comme des animaux contrôles (Article 1). Ces quatre rats sont dotés de 15 électrodes implantées, dont 13 microélectrodes et deux électrodes frontales (vis), avec un réseau hippocampo (CA1, GD)-thalamo-cingulo-mammillo-septo-EC-subiculaire, vérifié histologiquement.

#### **a. En conditions comportementales (au repos)**

Ces analyses ont été faites pour des comportements bien distincts. J'ai tout d'abord étudié l'architecture du réseau pendant la **veille calme** (l'animal est au repos, immobile les yeux ouverts), pour les deux groupes d'animaux implantés, en conditions contrôles (i.e. avant injections ; n=5 rats) et chronique (i.e. à 25 jours post-SE ; n=4 rats). Les résultats sont les suivants :

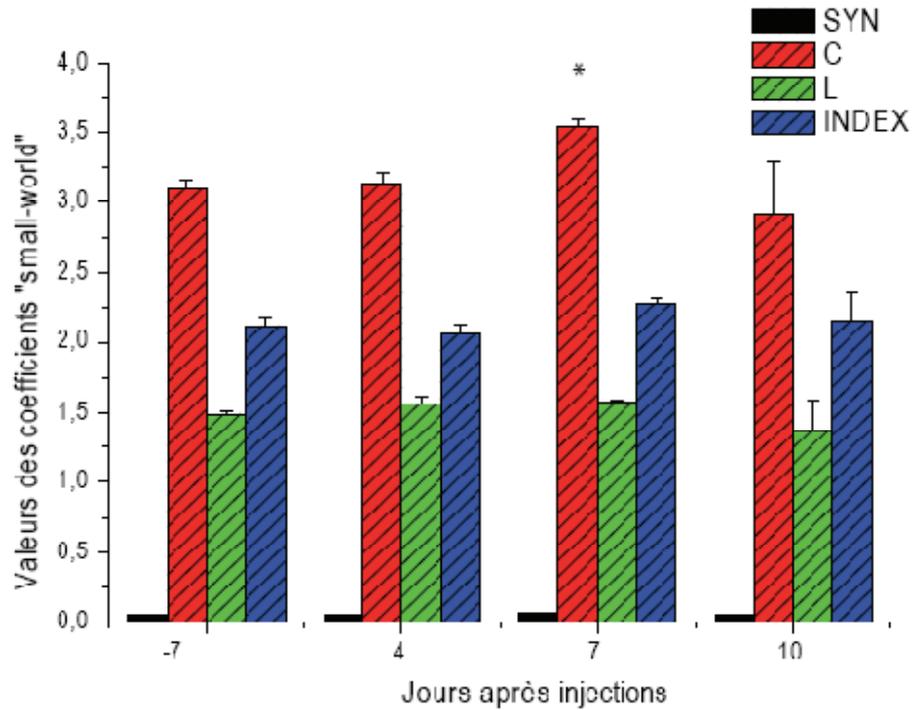


**A. Comparaison des coefficients de « small-world » et B. coefficient de synchronie (détail de celui présenté en A.) pour les animaux contrôles, i.e. avant injections, et pilocarpine, au stade épileptique précoce (i.e. à 25j post-SE), en conditions de repos (veille calme).**

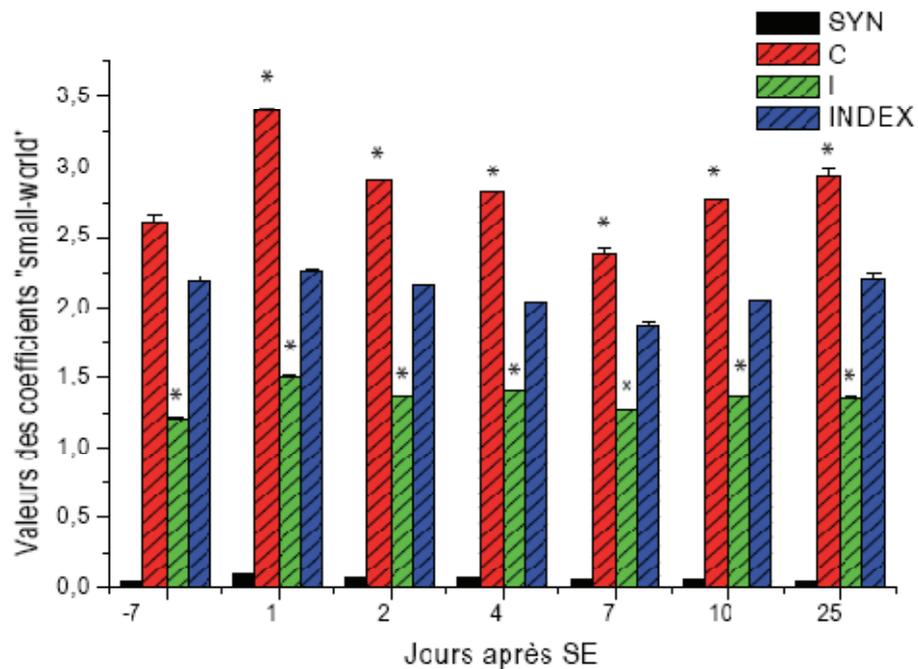
Ces résultats ( $p < 0.001$  à tous les temps et pour tous les coefficients) démontrent une augmentation des indices C et L, i.e. une augmentation du « clustering » local mais une diminution des connexions longue distance, et une diminution de la synchronie à 25 jours (au stade chronique précoce). Ces résultats (i) suggèrent un réseau qui serait moins synchrone en lui-même, les structures interagissant moins entre elles, (ii) confirment la baisse de synchronie à 25 jours post-SE, constatée entre l'hippocampe et le CE dans l'étude A.6.

Ensuite, je me suis intéressée, toujours lors du **comportement de veille calme**, à l'évolution au cours du temps de ces différents coefficients, pour le groupe d'animaux enregistrés longitudinalement (contrôles,  $n=2$  ; SE,  $n=2$ ). Les résultats sont les suivants :

### A. Animaux contrôles



### B. Animaux SE



#### Coefficients de « small-world » pour les animaux enregistrés longitudinalement :

**A. Rats contrôles** (un « sham » et un « non-SE »), enregistrés avant traitement (j-7), puis à 4, 7 et 10j après traitement ; **B. Rats pilocarpine**, (conditions contrôles, i.e. avant injections (j-7), au stade épileptogène (1, 2, 4, 7 et 10j post-SE) et épileptique (25j post-SE)), **en conditions de repos (veille calme)**.

Ces résultats, préliminaires, montrent tout d'abord une augmentation de la synchronie (coefficient « syn ») après traitement comparé à avant ( $p < 0.001$ ) chez les animaux SE enregistrés longitudinalement, avec une diminution à 25 jours post-SE ( $p < 0.05$ ). Cette diminution au stade chronique précoce vient confirmer là encore la baisse de couplage (méthode du h2) démontrée dans l'étude A.6 entre l'hippocampe et le CE au stade chronique. Les coefficients C et L suivent la même évolution que l'indice de synchronie ( $p < 0.001$ ) mais sans diminution à 25 jours. Ainsi, l'index (C/L) est augmenté de 1 à 25 jours après injections, avec une forte augmentation à 1 et 2 jours post-SE, ce qui est attendu vu qu'il s'agit de la phase aiguë, caractérisée par un réseau complètement désorganisé/remanié et une activité interictale très ample et continue (cf. étude A.6). De plus, ces résultats montrent une augmentation, chez les rats contrôles, du coefficient de « clustering » à 7 jours post-SE seulement ; cependant, c'est le seul temps où une différence est notée, contrairement aux animaux SE où cette augmentation persiste au stade épiléptogène et épiléptique. Ces résultats suggèrent (i) **un réseau plus synchrone au stade épiléptogène comparé au stade contrôle** (avant injections), **mais plus au stade chronique**, (ii) **que l'évolution du réseau chez les rats SE tend vers un réseau plus SW** (un C plus élevé et un L plus élevé).

J'ai ensuite reproduit exactement la même étude que celle que je viens de présenter en conditions de veille calme, mais cette fois pendant le **comportement d'exploration** de l'animal (l'animal est dans l'environnement de test, mais sans objets). Les résultats sont les mêmes que lors des conditions de repos, et viennent ainsi confirmer ceux de l'étude précédente, avec un réseau qui tend à être plus SW en conditions épiléptogènes et épiléptiques, pour un comportement donné.

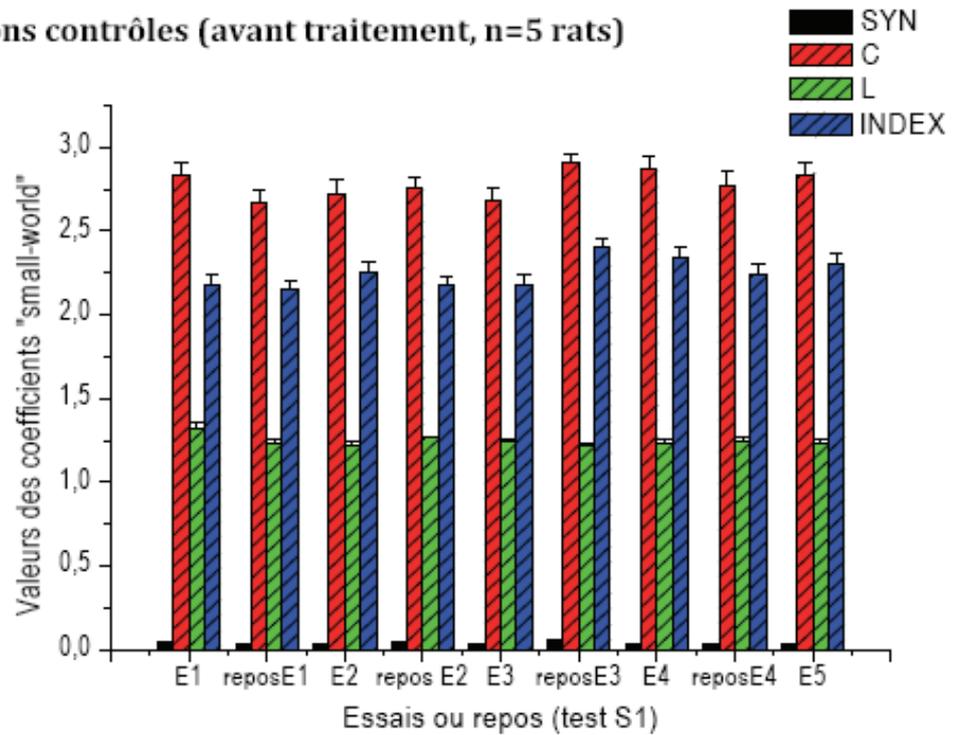
### **b. En conditions cognitives**

Enfin, dans la logique des études qui ont fait l'objet de ma thèse, une question était de savoir comment se comportait le réseau lors d'un traitement cognitif spécifique, si son architecture tendait également vers un réseau SW comme on vient de le présenter lors des conditions de repos et d'exploration de l'animal (i.e. en conditions comportementales données). Une première question était de regarder s'il y avait une différence entre les groupes (contrôle/SE), puis au sein d'un même groupe.

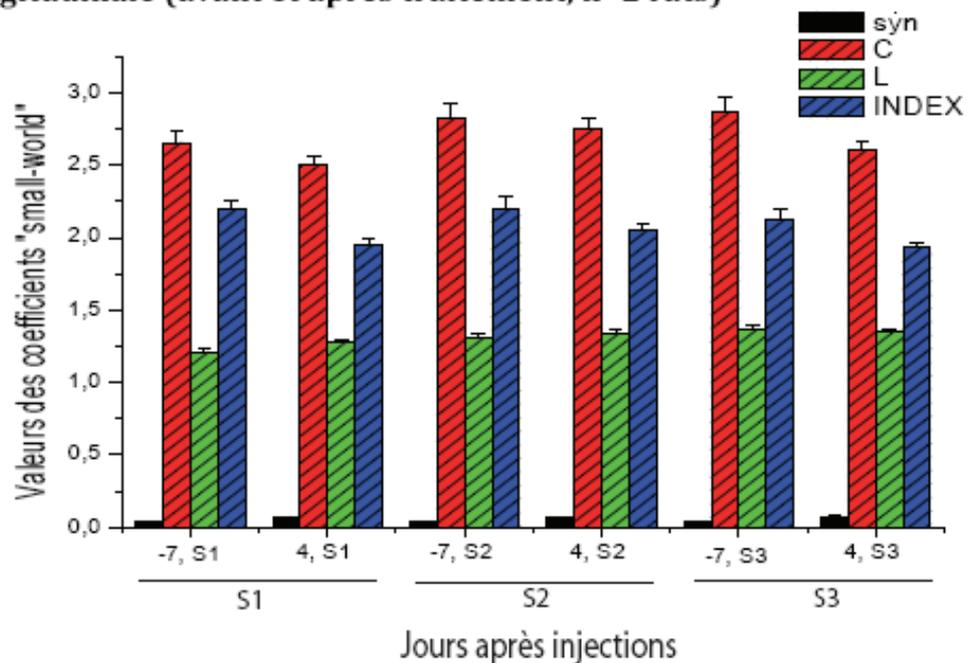
Regardons comment le réseau se comporte lors des tests S1, S2, S3, lors des phases d'essais et de repos, (i) tout d'abord pour le groupe contrôle ( $n=5$  rats, avant traitement, test

S1), puis (ii) pour les 4 rats enregistrés longitudinalement (n=2 rats contrôles, n=2 rats SE, tests S1, S2, S3), à deux temps différents (avant injections versus à 4 jours post-SE) :

**A. Conditions contrôles (avant traitement, n=5 rats)**



**B. Etude longitudinale (avant et après traitement, n=2 rats)**



**Coefficients de « small-world » pour A. les rats contrôles** (n=5), enregistrés avant traitement (j-7), au cours des différents essais (E1, E2, E3, E4, E5) et phases de repos (repos E1, repos E2, etc.) du test S1, **B. les rats enregistrés longitudinalement** (avant traitement, n=2 ; versus à 4 jours post-SE, n=2), lors d'un essai du test S1, puis S2, puis S3.

Chez les animaux contrôles (**graphique A**), on constate que les coefficients de SW sont relativement stables lors du test S1, à la fois lors des phases d'essais (E1, E2, E3, E4, E5) et de repos (entre les essais ; repos E1, repos E2, etc.). Si l'on compare aux conditions comportementales, on note, de manière intéressante, une diminution des coefficients de synchronie (syn ; veille calme : 0.0511 +/- 0.0013 ; test cognitif (moyenne des essais) : 0.0374 +/- 0.0007), ainsi que des coefficients C et L, ce qui suggère qu'**en conditions normales, l'architecture du réseau serait sensible aux états comportementaux (état-dépendants)**.

L'étude longitudinale (**graphique B**) compare les coefficients lors de différentes phases d'essais de test (S1, S2, S3) ou de repos (entre les essais), au stade contrôle et à 4 jours post-SE. Elle met en évidence une augmentation de la synchronie (syn), un coefficient C plus bas, un L plus élevé (sauf pour le test S3, où L est inchangé), et, par conséquent, un index plus faible. Cela suggère un « clustering » local plus faible mais plus de connexions locales (moins de connexions longue distance), ce qui va dans le sens d'un réseau plus « random ». Cependant, ceci va dans le sens complètement opposé des résultats obtenus juste avant, en conditions comportementales de veille calme, suggérant que les deux conditions doivent sûrement faire intervenir des processus et/ou structures bien distincts.

Si l'on compare maintenant ces coefficients pour le groupe d'animaux SE, à un même temps, en conditions comportementales versus cognitives, on constate : (i) que la synchronie est augmentée pour les 3 tests (S1, S2, S3), (ii) que C est augmenté (mais pas à S2), et (iii) L diminué, ce qui va dans le sens inverse des animaux contrôles. Avec plus d'animaux, il serait intéressant de regarder si l'architecture du réseau est ou n'est pas modifiée (alors qu'elle le devrait) selon les conditions cognitives (test S1, S2, S3).

### **2.3.5. Discussion**

Ces résultats préliminaires suggèrent un réseau qui serait plus synchrone au stade épileptogène, moins au stade chronique (du moins à 25 jours post-SE) comparé à avant injections, avec une augmentation du « clustering » local et une augmentation des connexions locales, les structures interagissant moins à longue distance mais se synchronisant en revanche plus sur elles-mêmes, probablement à l'origine de l'activité interictale (stade épileptogène) puis ictale (stade chronique), vu que C et L restent inchangés au stade épileptogène et chronique. Ceci peut probablement s'expliquer via (i) la perte neuronale, où un grand nombre de cibles postsynaptiques de plusieurs neurones est perdu, (ii) une diminution du « feedback » inhibiteur.

Ces résultats présentent cependant, lors d'un comportement donné, une variabilité chez les rats contrôles à 7 jours post-SE. Cette variabilité peut s'expliquer par le fait qu'un d'entre eux est un rat « non-SE » (i.e. pas un vrai « sham »). Il a quand même reçu la pilocarpine même s'il n'a pas développé de SE et a présenté de l'activité interictale à l'EEG ainsi que des comportements stéréotypés associés. Comme je l'ai montré dans l'étude A.6, les rats non-SE, à 1 jour post-SE, présentent un couplage hippocampe-CE (valeur  $h_2$ ) significativement plus important que les rats « sham », confirmant ainsi que le réseau est fortement perturbé après l'injection de pilocarpine. Des phénomènes de plasticité réactionnelle mis en place après l'injection doivent sûrement avoir lieu, même s'ils ne sont pas suffisants pour induire le processus d'épileptogénèse. Ils reviennent en effet rapidement à la normale (les animaux non-SE ne présentent plus de différences de couplage avec les animaux contrôles 4 jours après traitement, comparé aux animaux SE). Ainsi, ces modifications peuvent expliquer une légère augmentation de C à 7 jours, même si globalement, il a un comportement proche du « vrai » rat contrôle (« sham »). Cette variabilité (rat non-SE) est indicative de la variabilité « physiologique » au cours du temps et doit être prise comme référence dans l'interprétation des résultats des rats SE.

Ce qu'il faut également prendre en considération dans ce type d'analyse est le coefficient  $k$ , dont la valeur a été fixée à 3 dans l'étude (normalement  $3 < k < 5$ , Watts & Strogatz, 1998 ; Stam et al., 2007, pour un réseau d'une quinzaine de structures) mais il serait intéressant d'essayer d'autres valeurs (van Dellen et al., 2009, *partie Méthodes*) puisque ce coefficient est fixé de manière aléatoire. De plus, lorsqu'on utilise ces méthodes de matrice de corrélation, il faut être prudent quant à la manière dont on sélectionne (« coupe ») les données (lors de la présence d'artéfacts ou de saturation du signal), à cause des effets de bords de l'analyse en ondelettes (Gabor) qui, selon les méthodes de calcul utilisées par les logiciels, nécessitent de sélectionner des périodes de signal plus ou moins éloignées de là où on a coupé s'il y avait, par exemple, un artéfact ou une saturation du signal. Cependant, dans notre étude, la stabilité des résultats coupés et non-coupés, à un temps donné, est assez homogène pour chaque époque de signal analysé (résultats non présentés), ce qui permet d'écarter ce phénomène.

Enfin, si l'architecture n'était pas modifiée (i.e. état-indépendante) en conditions cognitives versus comportementales chez les rats SE, comparée aux animaux contrôles, cela pourrait être informatif, notamment si cela était dépendant du type de test (S1, S2, S3). En effet, cela pourrait être corrélé aux performances cognitives des animaux SE, qui présentent des déficits qu'à certains types de tests. Une altération des oscillations sous-tendant ces états

cérébraux pourrait être à l'origine d'une absence de remaniement de l'architecture du réseau entre état comportemental et processus cognitif, empêchant la synchronisation, i.e. la transmission de l'information entre structures, à l'origine des déficits cognitifs.

Pour conclure sur cette étude préliminaire de l'analyse SW des données LFP, la tendance chez les rats SE est à un réseau plus SW (un C plus élevé et un L plus élevé) en conditions comportementales données (i.e. de repos et d'exploration dans cette étude), ce qui confirme une étude en cours au laboratoire par le Pr Bartolomei chez des patients ELT. Cependant, en conditions cognitives, la tendance est à un réseau plus « random », ce qui va dans le sens des résultats de l'étude de van Dellen et collaborateurs (van Dellen et al., 2009) qui montrent que le réseau des patients ELT aurait tendance à être plus aléatoire (« random »), caractérisé par un coefficient C faible et un coefficient L relativement élevé. Cependant cette étude (van Dellen et al., 2009) est discutable puisqu'elle prend en considération les données de patients anesthésiés obtenues par électrocorticographie, via les électrodes de type « grilles », l'anesthésie jouant probablement un rôle dans les variations de l'état du réseau. De plus, la technique utilisée n'étant pas intracérébrale, les résultats ne paraissent pas très robustes.

Le message important ici est que **l'architecture du réseau et les processus de synchronisation semble être état-dépendants** (« brain-state »), c'est-à-dire dépendants de l'état dans lequel se trouve engagé le cerveau (comportement, processus cognitif). Les résultats sont identiques pour différents comportements (veille calme, exploration) mais différents lorsque l'on analyse l'architecture du même réseau en conditions cognitives. On peut émettre plusieurs hypothèses : soit les structures engagées dans ces différents processus (comportementaux, cognitifs) sont différentes (d'où des « clusters » de structures « qui se parlent » différents), soit les neuromodulateurs, à l'origine de l'émission de PA et de modifications synaptiques sont modifiés et modifient ainsi l'architecture du réseau (cf. Figure ci-dessous, adaptée de *Gervasoni et al., 2004*).

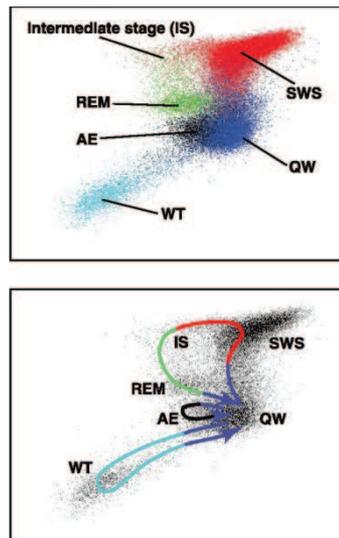


Figure 65

**Figure 65. Etats comportementaux et espace 2D des états. Haut :** une couleur code un état comportemental donné, chaque « cluster » correspond à un état comportemental donné. **Bas :** Les transitions entre les états peuvent être définies comme des trajectoires spécifiques connectant différents « clusters », avec une vitesse et une durée caractéristique. Les comportements considérés sont : le sommeil paradoxal (“REM”), le sommeil lent (“SWS”), la veille calme (“QW”), le sniffing immobile (mouvements des vibrisses, l’animal est immobile ; « WT »), exploration (« AE »), stade intermédiaire de sommeil (« IS »). (adaptée de *Gervasoni et al., 2004*).

Une question serait de savoir si l’épilepsie remanie complètement l’espace des états (les « clusters ») ou si elle les déplace simplement dans cet espace 2D. En effet, le problème n’est pas simple. Les structures engagées dans les différents états peuvent être différentes entre les animaux contrôles et épileptiques : en effet, si après le SE et les crises chroniques, le réseau est remanié avec des connexions aberrantes (et/ou moindres connexions longue distance), l’architecture s’en trouve altérée car les « clusters » (de structures qui « se parlent ») seraient de ce fait complètement remaniés.

Un plus grand nombre d’animaux devront être enregistrés longitudinalement pour confirmer ces résultats préliminaires, un plus grand nombre d’états comportementaux (comme le sommeil paradoxal, le sommeil lent) et cognitifs (tous les essais de S1, S2, S3, et leurs phases de repos entre les essais), à tous les temps (avant traitement, épiléptogénèse, épilepsie) devront aussi être considérés, afin de voir comment évolue la dynamique de ces états chez les animaux contrôles (« sham », non-SE) et pilocarpine (SE).

## **2.4. Comment les structures « se parlent » entre elles, lors d'un état comportemental et/ou processus cognitif donnés, en conditions normales et pathologiques ?**

Après l'étude SW, qui consistait à caractériser l'architecture du réseau temporel dans son ensemble, la question qui en découle est « où », i.e. entre quelles paires de structures le réseau est-il modifié ? Pour répondre à cette question, la méthode de **cohérence** est celle qui semble s'appliquer le mieux.

### **2.4.1. Contexte scientifique**

La cohérence est une méthode linéaire qui mesure la corrélation linéaire entre deux signaux comme une fonction fréquentielle. Il s'agit de la transformée de Fourier (FFT, cf. chapitre suivant) de l'équation de la fonction de cross-corrélation (fonction qui mesure la corrélation linéaire entre 2 variables X et Y comme une fonction du temps) normalisée par leurs fonctions de densité spectrale individuelles. Pour une fréquence donnée, si la cohérence est égale à 0, l'activité des signaux à cette fréquence est linéairement indépendante ; si la cohérence est égale à 1, il existe une corrélation linéaire maximale entre les signaux à cette fréquence. La cohérence est sensible à la fois aux relations de phase et d'amplitude entre les signaux. Il s'agit d'une mesure de synchronisation entre deux électrodes, i.e. de la constance de phase entre deux signaux dans une bande de fréquence donnée.

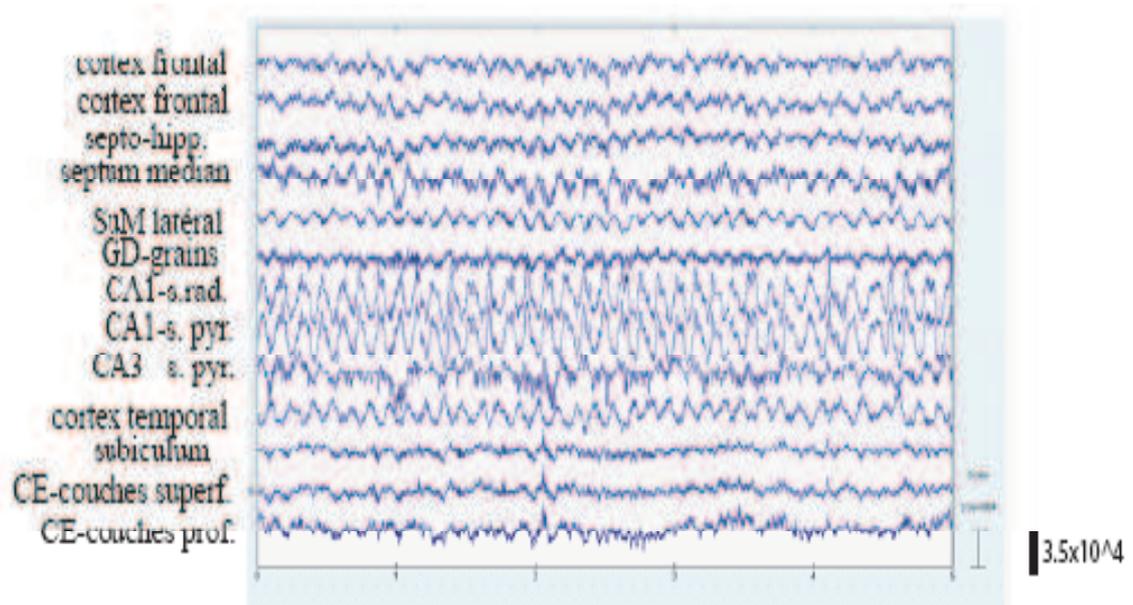
La cohérence a été une méthode de choix pour l'analyse de nos signaux car l'étude SW nous ayant montré que l'architecture du réseau semblait perturbée chez les animaux SE, avec une perte des connexions longue distance et une augmentation du « clustering » local, une question était de rechercher plus précisément entre quelles structures la connectivité était modifiée, afin de comparer la cohérence par paires de structures.

Je vais tout d'abord commencer par présenter les résultats chez l'animal contrôle, puis en conditions pathologiques, chez l'animal épileptique.

## 2.4.2. Résultats préliminaires

### a) Analyses

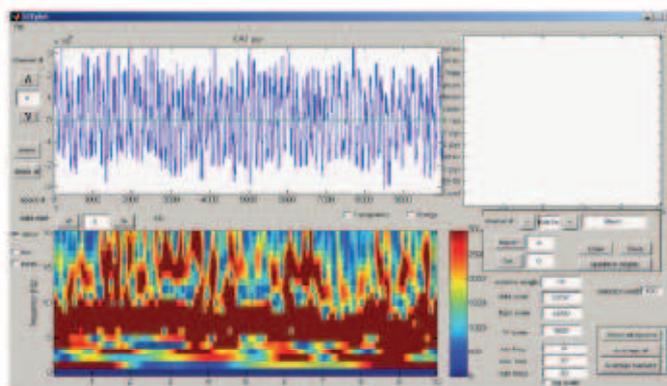
Je me suis intéressée à l'analyse du sommeil paradoxal, comportement connu pour avoir un signal LFP assez stable, sans artéfacts de mouvements (l'animal dort) et caractérisé par un thêta assez pur et ample (entre 5 et 10 Hz dans l'exemple ci-dessous), notamment au sein de l'hippocampe, comme présenté ci-dessous :



A. Exemple d'une époque de 5 sec. de sommeil paradoxal chez un rat en conditions contrôles

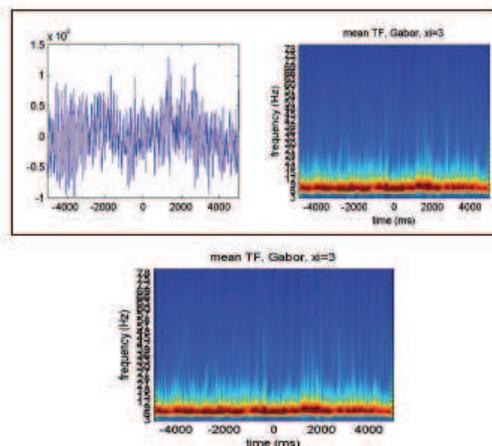
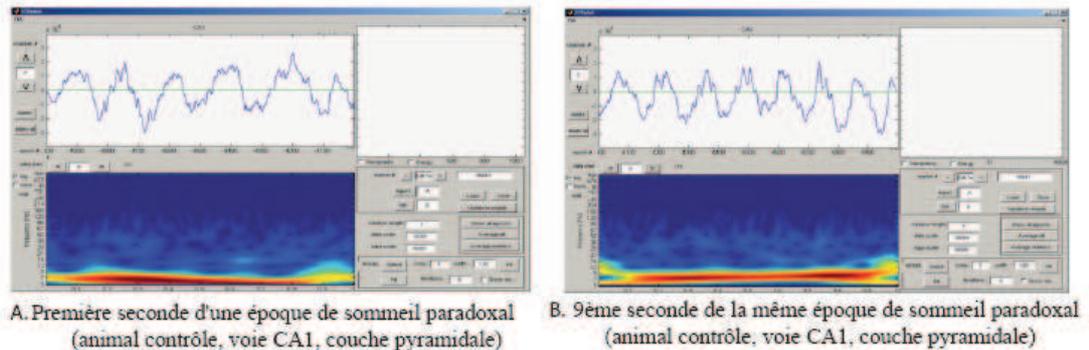
### Analyse temps-fréquence

J'ai commencé par analyser chaque époque de REM en temps-fréquence (TF ; logiciel *STFplot*), pour savoir exactement quelle bande de fréquence thêta était activée lors de ce comportement, pour ensuite l'implémenter dans l'analyse de cohérence (cf. ci-dessous).



B. Analyse temps-fréquence du signal enregistré dans l'aire CA1 (couche pyramidale) (cf. époque ci-dessus)

Ensuite, j'ai étudié la dynamique fréquentielle (analyse TF, logiciel *STFplot*) de chaque époque de sommeil paradoxal, seconde par seconde, pour savoir si ce comportement était stable au cours du temps, chez les deux groupes d'animaux (contrôles, n=11 avant injections, n=2 longitudinaux ; SE, n=2 longitudinaux, n=4 au stade chronique). Puis j'ai fait la moyenne des TF (de chaque seconde ; en général les époques de REM font 50-60 s) pour vérifier quelle était la bande de fréquence moyenne de l'époque (cf. ci-dessus et Figure ci-dessous).

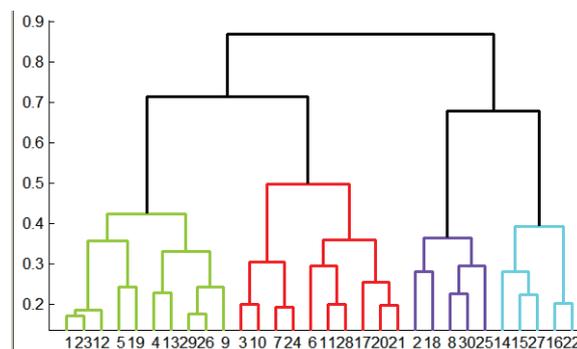


## Cohérence

À partir de la bande de fréquence qui avait été isolée via l'analyse TF sur les époques de REM, j'ai pu, sans prendre une bande trop large ou trop étroite (bande majoritaire : 5-10 Hz, bande choisie pour l'étude de cohérence : 4-12 Hz) étudier la cohérence des signaux (logiciel *tryGUI*) toutes les 2 secondes de sommeil paradoxal, chez les deux groupes d'animaux. Ensuite, à partir de ces résultats, qui donnaient la cohérence entre structures toutes les deux secondes de REM, je les ai analysés via la méthode d'**Analyse en Composantes Principales** (ACP).

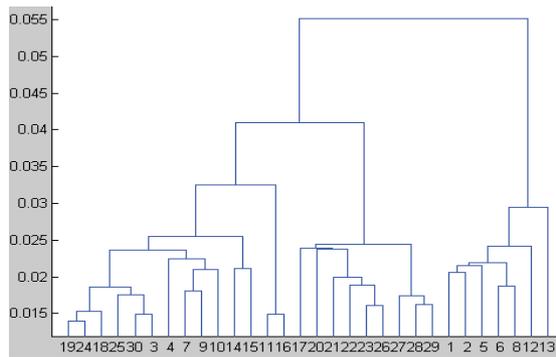
## Analyse en Composantes Principales

C'est une méthode qui consiste à transformer des variables liées entre elles (corrélées) en nouvelles variables indépendantes (dites « composantes principales ») les unes des autres (non corrélées). Elle permet de faire ressortir de l'analyse les « clusters » principaux (i.e. les structures qui « travaillent ensemble ») dans l'étude de cohérence de nos 15 structures enregistrées. Un programme développé par un chercheur du laboratoire permettait, à partir de la matrice de données de cohérence, de me donner le **dendrogramme**, l'ACP, les graphes des « clusters » principaux (2 ou 3) qui ressortaient de l'analyse, ainsi que le graphe moyen, moyenne des « clusters », qui représentait les structures qui « se parlent » entre elles de manière globale lors du sommeil paradoxal, pour les deux groupes d'animaux analysés. Pour la détermination des « clusters », deux méthodes étaient proposées par le programme : (i) la méthode « hiérarchique », plutôt applicable dans le cas de dendrogrammes où un regroupement hiérarchique des « clusters » se dessine vraiment (Figures 63 et 64), (ii) la méthode « k means », applicable quant à elle dans le cas où le dendrogramme des données montre plutôt un continuum (Figure 65). La comparaison des deux types de méthodes donne les mêmes résultats (mêmes « clusters », même graphe moyen). Ainsi, la méthode « k means » fut la méthode de choix. Le **dendrogramme** est la représentation graphique des groupes (« clusters ») et des combinaisons de groupes. Dans notre cas, il regroupe les groupes de structures qui « travaillent ensemble », ou (« clusters »).

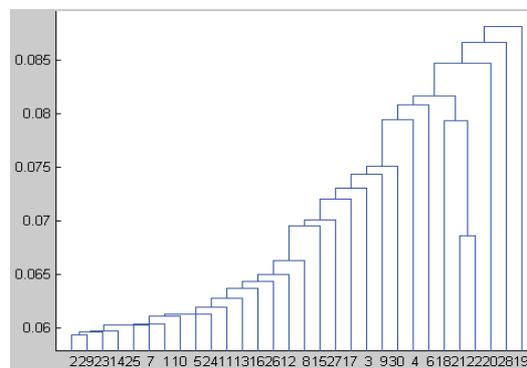


**Figure 66**

**Figure 66. Principe du dendrogramme avec regroupement de « clusters » hiérarchiques bien distincts**



**Figure 67.** Exemple d'un cas de nos données (rat contrôle, avant traitement) où le dendrogramme illustre un regroupement hiérarchique



**Figure 68.** Exemple d'un cas de nos données (25 jours post-SE) où le dendrogramme illustre plutôt un continuum (majorité de nos données)

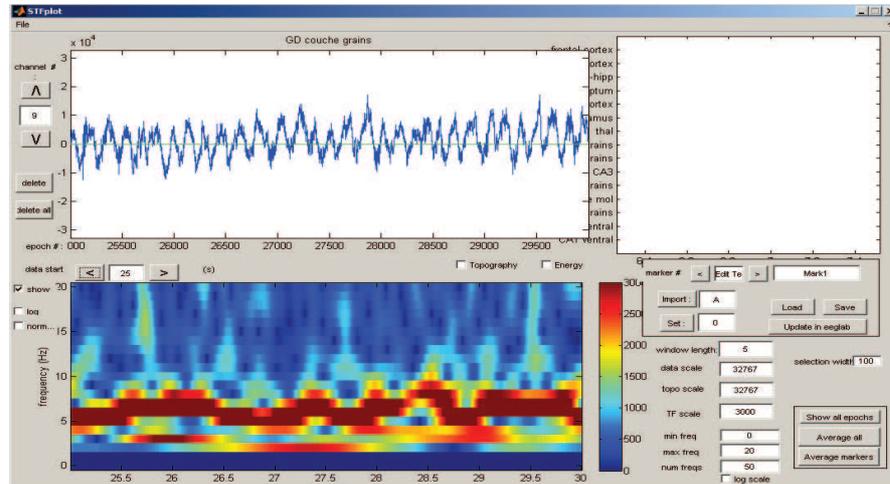
### a) Résultats préliminaires

Lors de ma première étude (macroscopique), j'avais déjà regardé, de manière préliminaire, la puissance et la fréquence des rythmes thêta et gamma pendant le sommeil paradoxal (résultats non présentés). Les résultats de l'analyse (par FFT) montraient qu'avant traitement, chez les différents rats étudiés, la puissance des rythmes thêta et gamma était relativement stable et comparable. Après traitement, la variabilité augmentait beaucoup plus (n=3 rats ayant développé un SE et ayant manifesté du sommeil paradoxal durant les 3 heures d'enregistrement ; n=2 rats contrôles, non-SE).

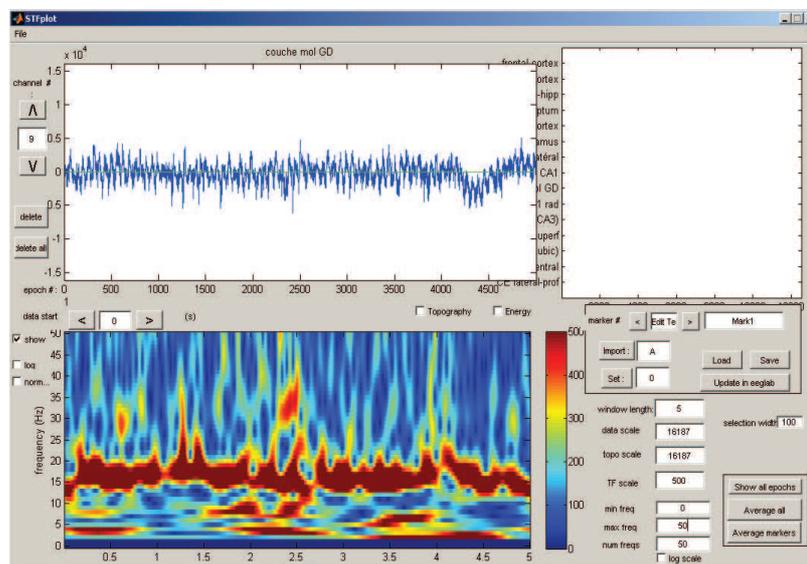
### *Analyse temps-fréquence*

Dans la présente étude, à l'échelle d'un réseau, je me suis intéressée à la fréquence (analyse TF, cf. ci-dessus) des oscillations thêta au cours du sommeil paradoxal. L'analyse préliminaire (n=4 rats longitudinaux (2 rats SE, 1 rat contrôle et un rat non-SE), enregistrés au stade contrôle, épiléptogène et épiléptique ; n=4 rats au stade chronique ; n=11 rats avant

injections) a montré que les oscillations thêta pendant le sommeil paradoxal étaient relativement stables au cours d'une époque, avec une fréquence entre 4 et 12 Hz, majoritaire (pour la plupart des rats contrôles) entre 5 et 10 Hz (cf. ci-dessous) :



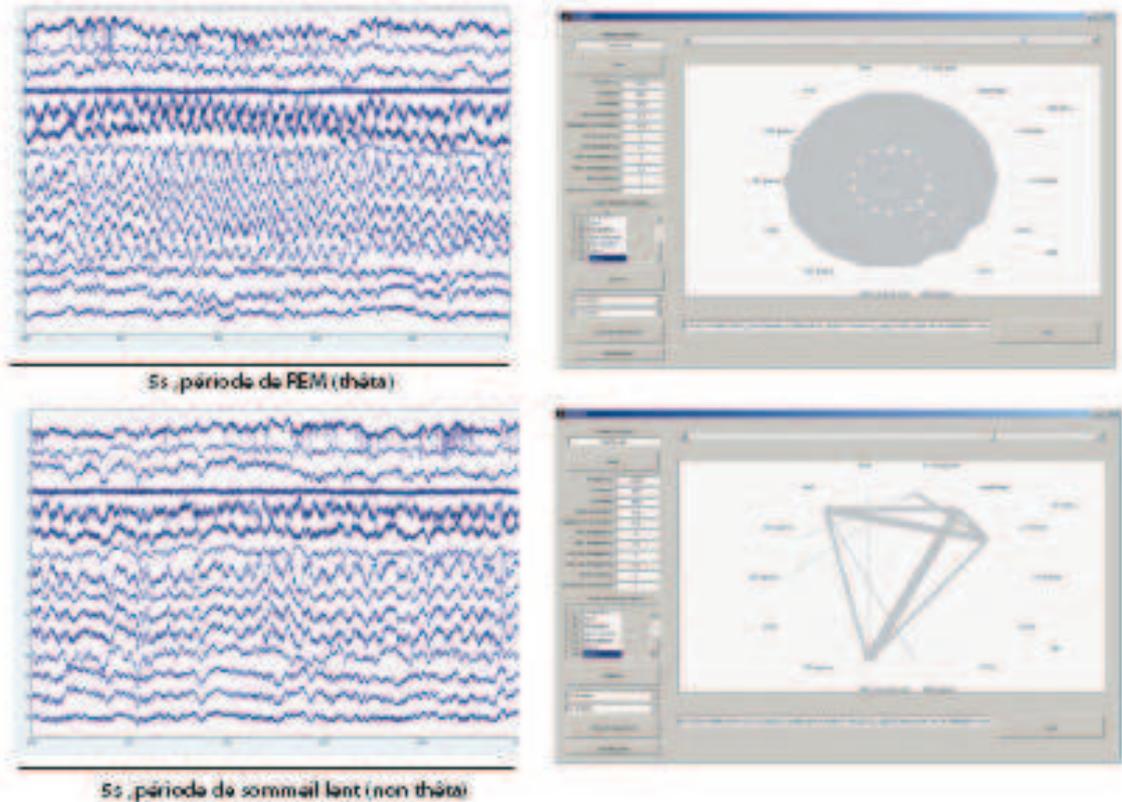
contrairement aux animaux traités (SE) qui présentent une bande de fréquence plus élevée (entre 15 et 25Hz ; cf. ci-dessous) :



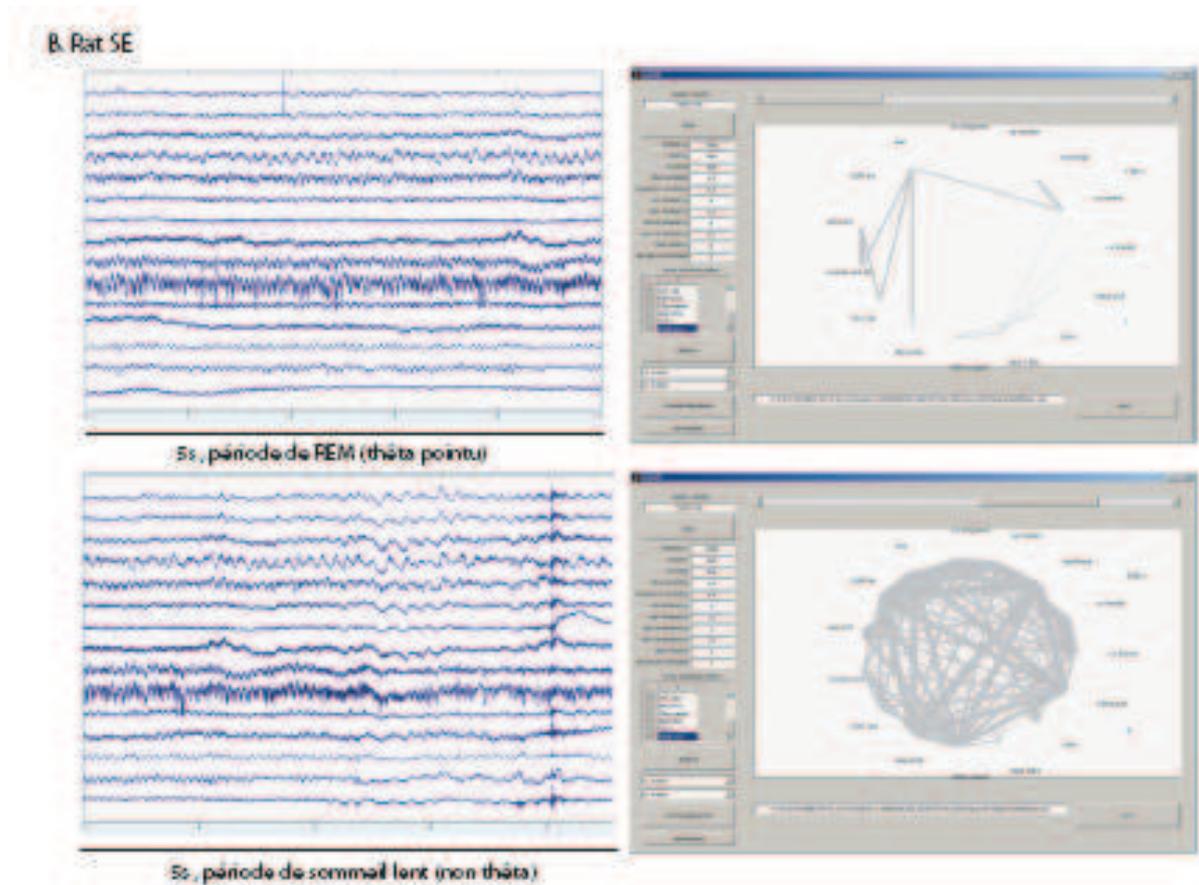
### Cohérence

L'analyse de cohérence montre que chez les animaux contrôles, lors des périodes thêta (sommeil paradoxal), la cohérence entre structures enregistrées est relativement forte, comparée aux conditions non-thêta (sommeil lent), ce qui semble être plutôt l'inverse chez les animaux traités, au stade épiléptogène et épiléptique (cf. Figures ci-dessous).

A. Rat contrôle



Présentation de 5s de signal LFP chez un animal contrôle (avant traitement) lorsque l'animal est en sommeil paradoxal (en haut, à gauche) et en sommeil lent (en bas, à gauche). On note les oscillations thêta très amples au sein des voies de l'hippocampe lors du sommeil paradoxal. De haut en bas, les voies sont : cortex frontal, cortex frontal, noyau septo-hippocampique, septum médian, noyau SuM latéral, couche des grains du GD, CA1 (couche *stratum radiatum*), CA1 (couche pyramidale), CA3 (couche pyramidale), cortex temporal, subiculum, CE (couches superficielles), CE (couches profondes). Dans l'exemple, la voie 4 (septum médian est inexploitable).

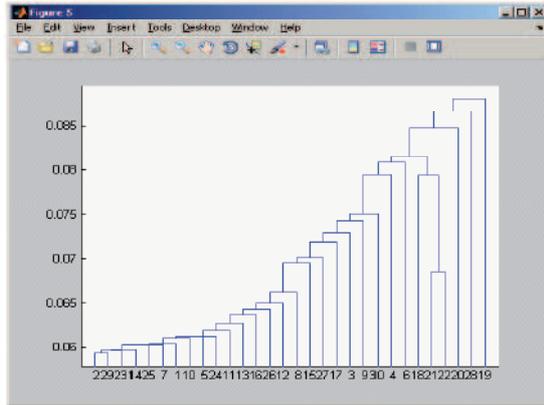


Présentation de 5s de signal LFP chez le même animal mais en conditions épiléptogènes ici (10 jours post-SE), lorsque l'animal est en sommeil paradoxal (en haut, à gauche) et en sommeil lent (en bas, à gauche). On note les oscillations thêta relativement pointues au sein des voies de l'hippocampe lors du sommeil paradoxal. De haut en bas, les voies sont : cortex frontal, cortex frontal, noyau septo-hippocampique, septum médian, noyau SuM latéral, couche des grains du GD, CA1 (couche *stratum radiatum*), CA1 (couche pyramidale), CA3 (couche pyramidale), cortex temporal, subiculum, CE (couches superficielles), CE (couches profondes).

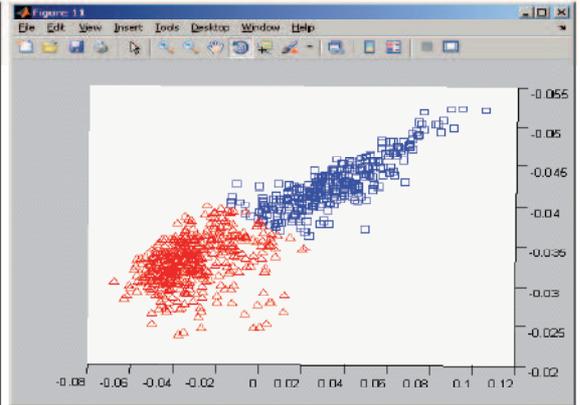
#### *Analyse en composantes principales*

Ensuite, j'ai utilisé l'ACP. Le dendrogramme des données chez les deux groupes montrent deux types de profil : (i) plutôt un continuum chez les animaux contrôles (cf. Figures ci-dessous), (ii) plus de « clusters » chez les animaux épiléptiques. L'analyse a montré deux « clusters » principaux lors du sommeil paradoxal chez les animaux contrôles, avec un réseau hippocampo-thalamique, et un second CE-hippocampe ventral (cf. Figures ci-dessous). Chez les animaux traités, au stade épiléptogène notamment, deux « clusters » sont également distincts, mais avec des structures beaucoup moins fortement connectées, même si les réseaux impliquées (« clusters ») restent globalement les mêmes (cf. Figures ci-dessous).

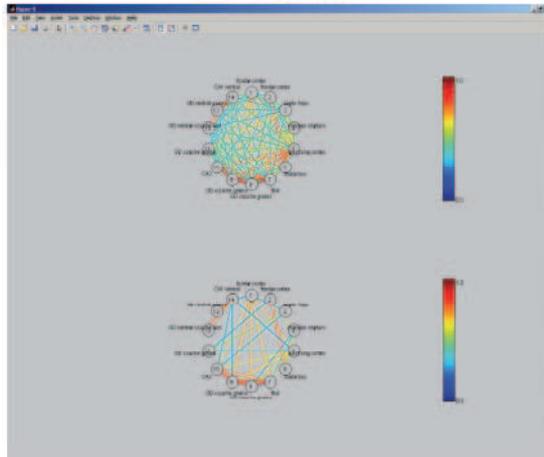
A. Rats contrôles



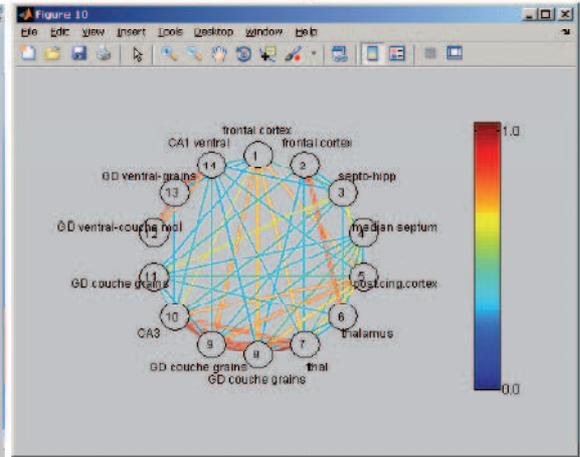
Dendrogramme



ACP



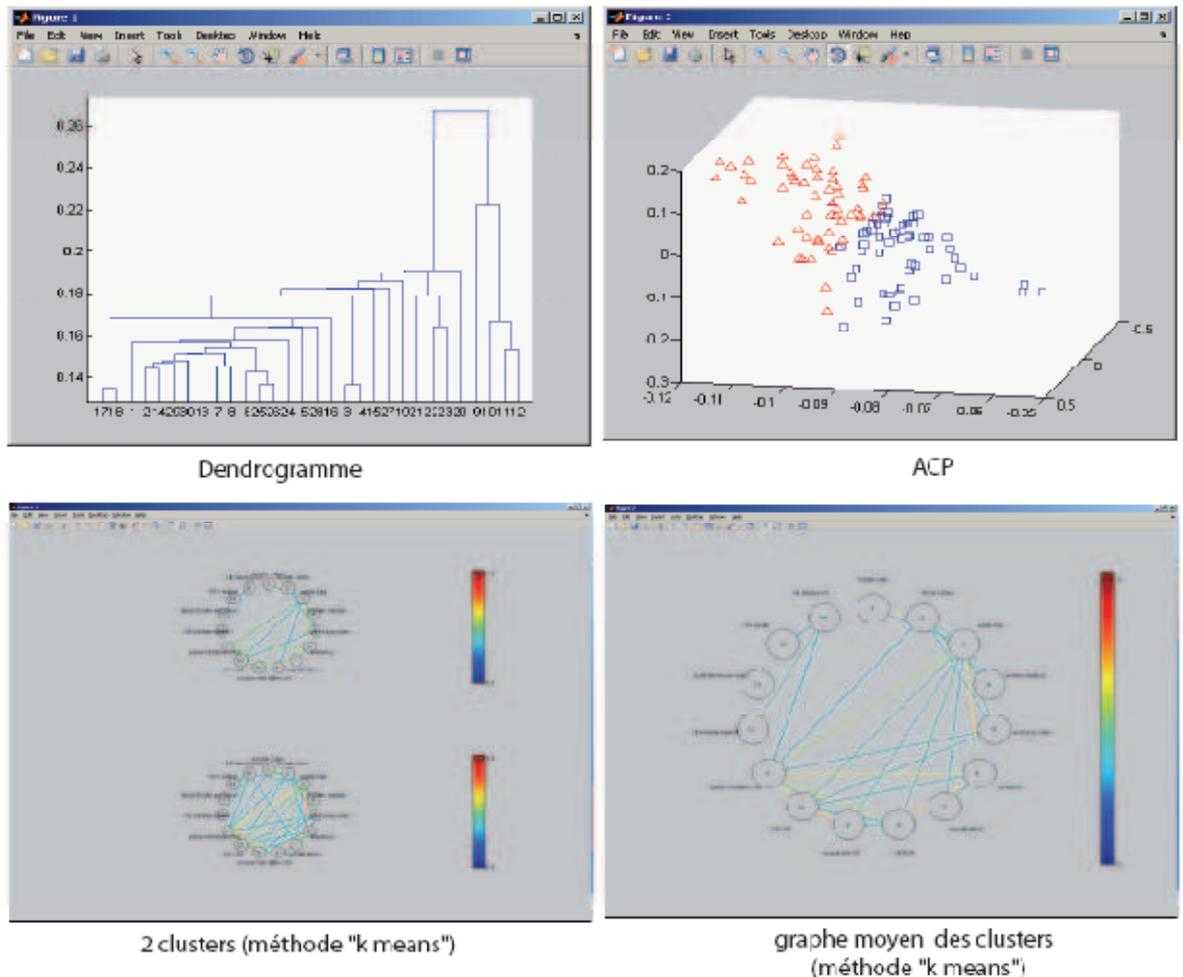
2 clusters (méthode "k means")



graphe moyen : moyenne des clusters (méthode "k means")

Les structures d'enregistrement de ce rat contrôlé et analysées ici sont les suivantes (en partant du haut et dans le sens des aiguilles d'une montre) : cortex frontal, cortex frontal, noyau septo-hippocampique, septum médian, cortex cingulaire postérieur, thalamus, thalamus, couche des grains du GD, CA3, couche des grains du GD, couche moléculaire du GD ventral, couche des grains du GD ventral, CA1 ventral. Ces structures sont donc les mêmes pour le graphe moyen que pour les graphes représentant les deux « clusters » principaux.

## B. Rats traités



Les structures d'enregistrement de ce rat contrôlé et analysées ici sont les suivantes (en partant du haut et dans le sens des aiguilles d'une montre) : cortex frontal, cortex frontal, noyau septo-hippocampique, septum médian, cortex cingulaire postérieur, thalamus, thalamus, couche des grains du GD, CA3, couche des grains du GD, couche moléculaire du GD ventral, couche des grains du GD ventral, CA1 ventral. Ces structures sont donc les mêmes pour le graphe moyen que pour les graphes représentant les deux « clusters » principaux.

### 2.4.3. Discussion

Ces résultats préliminaires montrent (i) que les deux groupes d'animaux présentent des dendrogrammes différents, (ii) qu'ils présentent globalement les mêmes « clusters » principaux, mais (iii) pour les animaux SE, moins de connexions au sein du réseau (moins de structures qui « se parlent ») et des connexions entre structures beaucoup moins marquées, ce qui va dans le sens de la différence de dendrogrammes et confirme les études de patients ELT qui montrent une modification de la connectivité fonctionnelle au sein des structures de la ZE

(Bettus et al., 2008 ; Liao et al., 2010). Les dendrogrammes différents suggèrent que les structures impliquées dans tel ou tel état comportemental ou processus cognitif (le sommeil paradoxal dans notre cas) « travaillent » plus ou moins ensemble. Ainsi, il semblerait que chez les animaux contrôles, le dendrogramme en continuum suggère que les structures travaillent toutes ensemble, à l'échelle d'un véritable réseau, alors que le dendrogramme plus hiérarchisé en « clusters » tend à indiquer que les structures impliquées travailleraient plus par petits groupes, à l'échelle de micro-réseaux, qui « se parleraient » entre elles à une échelle plus locale, ce qui peut aller dans le sens d'un réseau plus « SW » en conditions épileptiques. Ainsi à la question fonctionnelle « Où ? » (entre quelles paires de structures ?) qui découlait de l'analyse SW, une réponse préliminaire serait : entre structures longue distance, non situées au sein des « clusters » principaux. Un plus grand nombre d'animaux et une méthode statistique adaptée permettrait d'identifier statistiquement les paires de structures dont la cohérence est modifiée entre les deux groupes (contrôles et SE) pour un état cérébral donné.

Il faudrait là aussi regarder, comme une suite logique à l'étude SW, la cohérence et l'ACP dans différents états comportementaux et processus cognitifs. Il serait également intéressant d'étudier l'évolution de la dynamique de ces « clusters » toutes les deux secondes d'une époque de REM (2 secondes est la plus courte fenêtre temporelle à considérer pour l'oscillation thêta, comprise entre 4 et 12 Hz), voir si le « dialogue » entre les différentes structures enregistrées est modifié de manière globale, c'est-à-dire est-ce que les structures qui « se parlent », « travaillent ensemble », au cours de ce comportement (« clusters ») ne travaillent plus ensemble (« clusters » différents), ou si seule leur dynamique est altérée. Pour cela, il faut enregistrer plus d'animaux sur le long-terme (étude longitudinale) en rajoutant ensuite, si les données sont concluantes et reproductibles entre animaux, des données à chaque temps (les rats seraient enregistrés à un temps précis après SE, puis directement sacrifiés après l'expérience pour pouvoir vérifier le profil histologique d'implantation des électrodes juste après l'enregistrement, cf. chapitre III, étude B.2).

Ensuite, dans la logique de ma première étude (A.2), il faudrait regarder la puissance des oscillations thêta au sein des différentes structures temporales enregistrées, notamment au sein de l'hippocampe dorsal et ventral, où j'ai noté une puissance plus faible dans l'hippocampe ventral. L'intérêt bien sûr est de comparer ensuite les données chez les animaux contrôles et SE (stade épileptogène et épileptique). Cette étude représente une phase préliminaire qui permet de poser les questions, d'où le choix du sommeil paradoxal, comportement relativement simple et bien étudié. Cependant, l'intérêt de l'étude est de poser les mêmes questions pour différents états comportementaux (sommeil, exploration, veille

calme) et cognitifs (S1, S2 et S3, essais et phases de repos). En conclusion, ces méthodes vont permettre de nous renseigner sur l'évolution des réseaux pendant l'épileptogenèse au cours de différents états comportementaux et cognitifs.

À l'analyse SW qui montre une architecture du réseau perturbée, la cohérence répond à la question « où », i.e. au niveau de quelles paires de structures, et ce de manière fonctionnelle. Nous pourrions également utiliser la causalité de Granger pour ensuite nous renseigner sur la relation de cause à effet, de directionnalité, i.e. le flux de l'information entre paires de structures considérées.

## **Chapitre V. DISCUSSION GENERALE**

Mes travaux de thèse ont permis de caractériser pour la première fois *in vivo* l'épileptogenèse à la fois sur le plan électrophysiologique (activité rythmique, activité interictale) et cognitif (mémoire spatiale et non-spatiale) dans le modèle pilocarpine de l'épilepsie du lobe temporal (ELT). La finalité de ces études, sur le plan clinique, est de prévenir cette maladie en mettant en évidence des marqueurs de l'épileptogenèse qui permettraient de savoir si un patient diagnostiqué comme étant « à risque » (ayant été victime d'un traumatisme crânien, d'une méningite, d'une lésion –dysplasie corticale, gliome,...- ou encore de convulsions fébriles étant enfant par exemple, et ayant déclenché une première crise), va développer de l'épilepsie un jour, et, si tel est le cas, à quel moment critique agir, sur le plan thérapeutique, pour empêcher la bascule du réseau vers un état épileptique irréversible.

L'objectif principal de cette thèse était donc d'identifier des marqueurs prédictifs de l'épileptogenèse sur le plan cognitif et électrophysiologique, après mise en place puis mise au point de l'interface *in vivo* au laboratoire.

Ainsi, à l'aide d'enregistrements macroscopiques (électrode bipolaire) dans l'hippocampe de rats traités à la pilocarpine, j'ai tout d'abord mis en évidence, dès 4 jours après le SE initial, i.e. au stade épileptogène précoce, un déficit spécifique de mémoire spatiale qui corrélait avec une importante diminution de la puissance du rythme thêta hippocampique lors d'un test de réaction à la nouveauté (changement spatial), et ce sans modification ultérieure jusqu'au stade chronique (40 jours post-SE). Il en ressort que ces deux altérations (déficit spatial, baisse de la puissance du rythme thêta) pourraient être des marqueurs d'épileptogenèse. Lors des comportements d'exploration de l'animal dans un environnement vide (sans objets), la puissance et la fréquence du rythme thêta sont également altérées, dès 4 jours post-SE, sans récupération significative jusqu'au stade chronique (40 jours post-SE). Cette étude originale présente l'avantage d'être longitudinale et permet ainsi de suivre chez chaque animal son évolution électrophysiologique et cognitive au cours du temps (au stade contrôle, épileptogène et chronique pour le groupe injecté à la pilocarpine et ayant déclenché un SE). J'ai cependant montré que l'activité interictale ne corrélait pas, en tout cas pas directement, avec les déficits cognitifs spatiaux. Ensuite, toujours à l'échelle macroscopique, à partir d'enregistrements continus dans l'hippocampe et le CE, j'ai mis en évidence un changement dans la dynamique de l'activité interictale juste avant la première crise spontanée

en décrivant dans un premier temps la présence de deux types d'activité interictale que j'ai quantifiés -un premier type, « type1 », ample et doté d'une onde lente relativement marquée (longue et ample), et un second type, « type2 », moins ample, plus rapide, avec une onde après la pointe beaucoup moins marquée- cela dans le but de caractériser l'état du réseau (encore engagé dans un processus épileptogène ou déjà épileptique). La mise en place d'un réseau épileptogène a été mise en évidence par (i) un changement majeur des propriétés (amplitude, nombre) et de la dynamique de ces deux types d'activité interictale autour de la première crise spontanée, par (ii) une augmentation du couplage hippocampe-CE induite par l'activité interictale elle-même, et (iii) une modification du flux de l'information entre ces deux régions qui elle est indépendante de l'activité interictale. Ce travail soulève deux hypothèses : premièrement, l'activité interictale de « type1 » pourrait être considérée comme un marqueur potentiel d'épileptogénèse, ses propriétés (amplitude, nombre) diminuant juste avant la première crise spontanée ; deuxièmement, cette même activité interictale de « type1 » pourrait être protectrice comme l'ont suggéré les Dr Avoli et Barbarosie il y a quelques années (*Avoli & Barbarosie, 1994, 1997*), en agissant comme un mécanisme « protecteur », de par son onde inhibitrice (*De Curtis et al., 1998*). Pour valider la première hypothèse, un plus grand nombre d'animaux est nécessaire pour tenter de prévoir le moment où une première crise spontanée va se produire. L'activité interictale de « type1 » pourrait être un phénomène « compensateur », qui tenterait de contrebalancer une altération de l'homéostasie cérébrale, mais ce concept est à considérer avec prudence. Enfin, une dernière étude, qui découle d'un résultat de la première, teste l'hypothèse selon laquelle l'activité interictale pourrait agir de manière indirecte sur ces déficits spatiaux en exerçant une influence délétère sur le rythme thêta. Nous avons alors montré que les pointes en elles-mêmes induisaient une diminution de la puissance du rythme thêta 250 msec après la pointe, i.e. dans l'onde, à la fois chez l'Homme et dans notre modèle animal, au cours de l'épileptogénèse (chez l'animal) et du stade épileptique (chez l'Homme et l'animal). Une atténuation de cet effet a été notée au stade chronique, en raison d'une variabilité du rythme thêta à ce stade, qui pourrait être le reflet d'un réseau plus altéré, plus installé dans l'épilepsie.

C'est ici un avantage de travailler sur un modèle animal, car on a facilement accès à l'épileptogénèse, période inexploitable et inexploitée chez l'Homme à ce jour. Cependant, comme tout modèle, il présente ses limites.

## **1. Validité du modèle utilisé**

Les modèles d'ELT mésiale post-SE sont les mieux validés car ils sont dotés (i) d'une période de latence, (ii) du développement de crises motrices spontanées et (iii) d'un spectre lésionnel très similaire à celui des patients présentant une ELT mésiale (Sharma et al., 2007). Parmi ces modèles, les modèles pilocarpine et KA sont les plus proches de l'ELT mésiale chez l'Homme, ainsi que le modèle induit par stimulation électrique, mais plus contraignant à induire (Sharma et al., 2007).

### **1.1. Le modèle pilocarpine**

#### *Protocole*

Le modèle pilocarpine peut être induit de trois manières différentes : par une injection de pilocarpine (i) sous-cutanée (Ang et al., 2006), (ii) intrapéritonéale (ip ; Turski et al., 1983), ou (iii) directement dans l'hippocampe (Furtado et al., 2002), cette dernière façon nécessitant une chirurgie stéréotaxique où l'animal est endormi. La méthode que j'ai utilisée consiste en une injection ip de pilocarpine. Ce modèle présente l'avantage, comme déjà mentionné dans le chapitre II, de mimer au plus près la pathologie humaine et d'avoir accès à l'épileptogénèse. Il a également été proposé un protocole d'injections répétées de faibles doses de pilocarpine (100 mg/kg toutes les 20 minutes, Gröticke et al., 2007) jusqu'au déclenchement du SE. Ce protocole réduirait fortement le taux de mortalité après SE : bien que l'injection ip de pilocarpine, en une seule dose, engendre un taux de survie post-SE de 100%, un taux de mortalité de 67% est ensuite observé, contre 10 à 60 % maximum avec le protocole d'injections répétées, qui serait par conséquent moins délétère. Ces résultats ont été obtenus chez la souris, mais pas chez le rat.

#### *Limites de ce modèle*

Le modèle pilocarpine reproduit le SE comme condition initiale à l'ELT. Le SE correspond à l'état de mal chez l'Homme. Par conséquent, le SE ne représente qu'une faible proportion de patients, ce qui représente une première limite à ce modèle. De plus, chez les animaux, on déclenche le SE à l'âge adulte ; en revanche, chez l'Homme, l'ELT se développe bien avant l'âge adulte dans la plupart des cas, ce qui constitue une deuxième limite à ce modèle. Une autre limite, en pratiquant des injections de pilocarpine ip, est l'atteinte bilatérale, alors que chez l'Homme, un seul des deux hémisphères est touché (puisque dans les études sur l'ELT mésiale notamment, le côté non épileptogène est considéré comme la

partie contrôle chez ces sujets). Enfin, le fait que chez l'Homme les deux hippocampes soient très peu connectés représente une différence majeure avec les rats qui eux présentent deux hippocampes relativement bien connectés entre eux.

**Le modèle pilocarpine présente donc, comme tout modèle, ses limites, même s'il reste l'un des modèles les mieux caractérisés et les plus classiquement utilisés dans l'étude de l'ELT. Ainsi, le meilleur moyen de palier ces limites est de confirmer les résultats observés à l'aide d'autres modèles puisque ce que l'on cherche à caractériser n'est pas le modèle en lui-même mais les périodes qu'il mime, à savoir l'épileptogenèse et l'épilepsie.**

## **1.2. Comparaison avec d'autres modèles**

### *Modèle Kainate*

Le **modèle KA**, comme le modèle pilocarpine, mime de manière assez satisfaisante l'ELT humaine, notamment sur les plans électrophysiologique (activité ictale, interictale), morphologique (décrit ci-après), comportemental, notamment lors des crises où l'on retrouve dans ces modèles les mêmes signes cliniques que ceux rapporté chez les patients ELT, et cognitif (déficits mnésiques) (Lothman and Collins, 1981 ; Leite et al., 1990 ; Rice et al., 1998). Ainsi, le modèle KA est très proche du modèle pilocarpine. Cependant, sa phase de latence semble plus instable que dans le modèle pilocarpine (cf. chapitre IV, partie Résultats, étude 4 ; Cavalheiro et al., 1991 ; Lemos & Cavalheiro, 1995 ; Goffin et al., 2007 ; Longo&Mello, 1998 ; Williams et al., 2009) mais surtout plus longue (Dudek et al., 2006 ; Goffin et al., 2007 ; Williams et al., 2009). Cette variabilité se rapproche plutôt de ce qui a été rapporté chez l'Homme, pour lequel la durée moyenne de la phase de latence serait très variable (French et al., 1993 ; Mathern et al., 1995). Le modèle pilocarpine présente plutôt une phase de latence entre 7 et 10 jours, comme décrit précédemment (chapitre IV, étude 4). Contrairement au modèle pilocarpine, le modèle KA a été décrit comme étant moins délétère/invasif (plus de survie des animaux SE). Sur le plan morphologique, il a été rapporté une sclérose nette des champs CA1 et CA3 dans le modèle KA (Nadler, 1981 ; Ben Ari, 1985 ; Leite et al., 1996) ; cependant, les résultats sont remis en question dans le modèle pilocarpine. En effet, certains auteurs décrivent une perte neuronale de ces champs de l'hippocampe de manière précoce après le SE (phase de latence ; Covolán & Mello, 2000) alors que dans mon étude (étude 4), j'ai quantifié chez des rats chroniques (40 jours post-SE)

une faible perte neuronale au niveau de ces aires hippocampiques. De telles observations ont été confirmées au laboratoire, par injection sous-cutanée des animaux pilocarpine, avec une sclérose qui commence à se déceler vers 4-5 mois (résultats non publiés). Cependant, chez les patients ELT, la sclérose hippocampique est une atteinte fréquente mais ce n'est pas le cas pour tous les patients (environ 70%, Babb & Brown, 1986). Ces résultats mettent en exergue que l'ELT serait plutôt une atteinte progressive, comme récemment démontré chez l'Homme (Bartolomei et al., 2008 ; Tassi et al., 2009 ; van Dellen et al., 2009) et chez l'animal (Williams et al., 2009 ; Kadam et al., 2010).

### *Autres modèles*

Les **autres modèles** d'ELT (cf. chapitre III. A.4.) les plus classiquement utilisés sont le modèle du SE induit électriquement, qui présente les mêmes avantages que les modèles SE présentés juste avant, mais est plus difficile à mettre en place (stimulation électrique), ainsi que les modèles d'hyperexcitabilité, comme le « kindling », qui sont plus des modèles de crises que de véritables modèles d'épilepsie car la pathologie n'est pas représentée en tant que telle : en effet, les réseaux neuronaux ne sont pas remaniés suite à l'épileptogenèse mais suite aux crises même si dans les modèles SE, ces dernières entraînent également par la suite d'autres modifications plus sévères, liées à la durée de l'épilepsie (Fuerst et al., 2003 ; Bernasconi et al., 2005 ; Bonilha et al., 2006) comme chez l'Homme (Bartolomei et al., 2008 ; Aubert et al., 2009 ; Tassi et al., 2009, van Dellen et al., 2009). Aucun de ces modèles ne peut être vraiment validé puisqu'aucun agent antiépileptique permettant de stopper les crises chez tous les patients ELT n'a été identifié à ce jour. Ainsi, le meilleur moyen de palier ce biais est de valider nos résultats avec plusieurs modèles. Concernant les tests cognitifs, permettant d'évaluer les déficits cognitifs qui miment ceux dont se plaignent les patients ELT entre leurs crises, la plupart des modèles utilisés ont été le modèle pilocarpine, Lithium-pilocarpine (Li-pilo) et « kindling ». Le modèle Li-pilo a été conçu dans le but de minimiser les effets délétères de la pilocarpine (afin d'augmenter le taux de survie des animaux, comme démontrés chez la souris (Gröticke et al., 2007)) ; cependant ces résultats sont discutés.

Les modèles animaux sont caractérisés par leur phase de latence, qui permet d'étudier la phase d'épileptogenèse. Nous allons maintenant discuter de ces deux périodes, dont la coïncidence temporelle reste discutée.

### 1.3. Phase de latence et épileptogénèse

Comme on l'a vu dans le deuxième chapitre, la phase de latence est considérée, par définition, comme la période entre la condition initiale (lésion, choc, convulsions fébriles, etc., chez l'Homme ; SE dans certains modèles animaux) et la première crise clinique spontanée. Elle est généralement décrite comme la période pendant laquelle se déroulent les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent le développement des crises spontanées, i.e. l'épileptogénèse (White et al., 2002). Cependant, comme on va le voir, cette définition est remise en cause. Dans l'ELT, la période de latence reste encore mal connue (nature précise, évolution, etc.), en dépit de l'importance de mieux comprendre l'épileptogénèse, bien qu'il soit admis que cette dernière soit un processus dynamique qui n'est pas entièrement défini par sa période de latence (Williams et al., 2007). Le degré selon lequel l'augmentation temps-dépendante dans le taux de crises est progressif et selon lequel la progression représente plus exactement le processus d'épileptogénèse doit dépendre du **modèle animal**. Ce concept doit être congruent avec l'Homme, pour lequel la nature de la lésion initiale doit influencer le développement/l'évolution de l'épilepsie à venir. Des études sur des modèles d'ELT (KA, SE induit électriquement, pilocarpine) ont identifié deux populations distinctes de rats épileptiques : ceux avec un taux élevé de crises montraient une augmentation progressive (courbe sigmoïde) alors que ceux avec un faible taux ne présentaient pas d'augmentation progressive dans le taux de crises (Mazarati et al., 2002 ; Bragin et al., 2004 ; Gorter et al., 2001). Ainsi, dans leur étude, Hellier et collaborateurs (1999, modèle KA) suggèrent que les **crises précoces sont associées à un SE sévère plutôt qu'à un réel processus épileptogène**. D'autres auteurs (Bertram & Cornett, 1993, 1994 ; Hellier et al., 1998) ont montré que les crises augmentaient progressivement avec le temps post-SE, jusqu'à atteindre finalement un plateau. Ce plateau semblerait être la marque d'un état épileptique stable. Les animaux qui cependant ne présentent pas d'augmentation dans leur taux de crises suggèrent que d'autres mécanismes physiologiques non progressifs sont recrutés dans ces cas-là. Nos résultats (étude A.4.) vont dans le sens de ces études, bien que nous n'ayons sûrement pas enregistré assez longtemps nos animaux pour atteindre la fréquence plateau. De plus, nos résultats sur le profil des crises précoces par rapport à la force du SE suggèrent que l'activité interictale paraîtrait plus liée à la réorganisation de la circuiterie associée à la force du SE. Une hypothèse serait de dire qu'après un SE léger, la réorganisation de la circuiterie (dont dépendrait directement l'activité interictale et l'activité critique spontanée) serait plus longue à se mettre en place, d'où une première crise spontanée

qui serait déclenchée plus tardivement (par rapport à la moyenne de 7-10 jours dans notre modèle), et une activité interictale plus ou moins fréquente selon les conditions initiales. Ceci va dans le sens de nos hypothèses sur le fait que lorsque le réseau est assez modifié pour déclencher de l'activité critique spontanée, l'activité interictale doit se stabiliser et ne plus modifier en tant que tel l'état du réseau. La courbe représentant la fréquence des crises en fonction du temps après SE pourrait ainsi également être fonction du degré d'atteinte morphologique (épilepsie unifocale ou multifocale).

#### **1.4. Déficits cognitifs**

Les déficits cognitifs mis en évidence dans ma première étude (chapitre IV, partie A.2), dès le stade précoce de l'épileptogenèse et sans modification jusqu'au stade chronique, viennent confirmer ceux qui avaient déjà été rapportés dans des tests plus classiques comme la Piscine de Morris, pendant la phase de latence (Rice et al., 1998; Hort et al., 1999), et au stade chronique de l'ELT (Rice et al., 1998 ; dos Santos et al., 2005), avec le modèle pilocarpine. De tels déficits ont également été évalués chez le rat adulte, dans le modèle Li-pilo (Krsek et al., 2001, très tôt après SE), « kindling » (Szyndler et al., 2006, stade épileptique) et « PTZ-kindling » (Lamberty & Klitgaard, 2000 ; Mortazavi et al., 2005). Les rats « PTZ-kindlés » ont une mémoire spatiale altérée mais présentent également une réduction d'anxiété. Ces résultats illustrent la complexité du modèle PTZ dans l'étude des conséquences comportementales du « kindling ». Beaucoup d'études ont également été faites chez l'animal immature, notamment via le modèle Li-pilo (Wu et al., 2001; Rutten et al., 2002), et KA (Kubova et al., 2001 ; Milulecka et al., 2000), les animaux présentant également des déficits aux tests classiques de mémoire spatiale. Ces résultats démontrent que les crises non convulsives induites à des stades développementaux précoces (pas de changements électrophysiologiques et morphologiques observables) ont probablement des conséquences comportementales retardées. C'est peut-être d'ailleurs ce qui se passe chez l'Homme, dont l'épilepsie se met souvent en place bien avant l'âge adulte. Le modèle pilocarpine ayant le bourgeonnement des fibres mossues le plus prononcé, une hypothèse était de corréler directement ce phénomène aux déficits (dos Santos et al., 2005). Or aucune relation fut observée, du moins dans le modèle pilocarpine. De tels déficits cognitifs ont également été évalués chez la souris (modèle pilocarpine ; Gröticke et al., 2007) et associés à une diminution de l'activité locomotrice dans le test de la piscine de Morris, alors que celle-ci est normale lors de l'exploration de l'environnement de test (cf. heure qui précède le test dans notre étude)

et de la réaction à la nouveauté (nouvel objet, cf. test S3 dans notre étude). Cependant, les auteurs mettent en évidence un comportement exploratoire plus faible dans le test de réaction à la nouveauté et d'exploration de l'environnement qu'ils associent à de l'anxiété et à la durée du SE. Dans ma première étude, aucune diminution d'activité locomotrice n'a été observée. De plus, les animaux traversaient l'environnement sans rester prostrés le long des bords, ce qui éliminait la composante « anxiété » aux déficits spatiaux qu'ils présentaient. Des tests plus classiques comme ceux utilisés dans les études précédentes auraient pu valider les déficits que j'ai mis en évidence grâce au paradigme de réaction au changement. Les déficits spatiaux versus non-spatiaux peuvent être confirmés à partir des deux versions du test de la piscine de Morris. En effet, le paradigme que l'on a utilisé dans notre étude n'avait encore jamais été utilisé dans les modèles d'ELT. Une étude (chez la souris adulte, modèle pilocarpine, Gröticke et al., 2007) confirme la diminution du caractère exploratoire des animaux dans un nouvel environnement malgré une activité locomotrice normale, alors qu'une autre, chez le rat immature traité au KA, observe au contraire un regain d'exploration lorsque les animaux sont remis dans l'environnement la seconde fois (Kubova et al., 2001). Cependant, une diminution de l'activité exploratoire pour le nouvel objet est observée (Gröticke et al., 2007), ce qui va à l'encontre de nos résultats. En revanche, cela confirme une étude faite dans l'équipe du Pr Holmes (Shatskikh et al., 2006) où les auteurs induisent de l'activité interictale via des stimulations de l'hippocampe : les animaux sont ensuite testés dans différents tests classiques (piscine de Morris, labyrinthe radial) mais aussi dans le paradigme de réaction au changement, comme celui que l'on a utilisé dans notre étude. Les résultats mettent en évidence une absence d'activité locomotrice et exploratoire, des déficits de mémoire spatiale mais aussi de mémoire non-spatiale, comparés aux animaux contrôles, ce qui suggère que ces déficits sont la conséquence de l'activité interictale induite au sein de l'hippocampe. Cependant, le déficit de mémoire non-spatiale (pas de réaction au nouvel objet) confirme celui de l'étude de Gröticke et collaborateurs (2007) mais vient à l'encontre de nos résultats. De plus, dans l'étude de Shatskikh et collaborateurs (2006), le déficit d'activité locomotrice peut expliquer le déficit d'exploration. Dans notre étude, le déficit spatial étant pourtant bien net chez les rats SE, le test non-spatial aurait tendance à aller dans le même sens, si les animaux étaient « lassés » du test, ou désintéressés de la nouveauté. On peut également interpréter le regain d'exploration pour le nouvel objet comme un regain d'exploration tout court, considérant que l'animal a « oublié », lors de la phase S2, l'information acquise durant son exploration préalable (phase S1). En revanche, si cela était vrai, l'animal devrait autant explorer l'objet de référence que l'objet nouveau, ce qui n'est pas le cas.

## 2. Discussion des méthodes

Dans ce paragraphe, nous allons définir les techniques que l'on a utilisées, ce qu'elles mesurent et quelles sont leurs limitations.

### *Transformée De Fourier*

Le principe de la transformée de Fourier (FFT) est qu'en appliquant cette transformée à une fonction, on passe du domaine temporel au domaine fréquentiel. La FFT donne une idée de l'amplitude (et, par conséquent, de la puissance) de chaque fréquence sous chaque électrode (dans nos études macroscopiques, l'électrode était implantée seulement dans l'hippocampe, cf. chapitre III, partie A). Cependant, la FFT ne donne aucune indication sur la phase ou le déphasage du signal entre deux électrodes. Cette analyse de phases entre deux électrodes peut être réalisée par l'analyse de cohérence (cf. ci-après). De plus, lorsque l'on s'intéresse aux variations, au cours du temps, des caractéristiques fréquentielles d'un signal, la FFT ne peut pas fournir, de manière simple, les informations recherchées. Les représentations temps-fréquence (TF) constituent un outil mieux adapté dans ce cas-là.

### *Analyse temps-fréquence*

L'analyse temps-fréquence (TF) analyse un signal dont les caractéristiques fréquentielles varient au cours du temps. Pour cela, il y a deux compromis : (i) l'analyse FFT par fenêtres glissantes (FFT appliquées à des portions de signal, afin de mettre en évidence les fréquences contenues dans ces fenêtres de temps) et (ii) la transformée en ondelettes. Si l'on cherche à établir la représentation TF d'un signal, il faut que les résolutions de cette représentation temporelle et fréquentielle soient liées par la relation suivante : une résolution temporelle élevée pour les hautes fréquences, une résolution temporelle faible pour les basses fréquences. Cette exigence n'est pas facile à satisfaire pour l'analyse FFT par fenêtres glissantes. Ainsi, le logiciel *STFplot* que l'on a utilisé pour l'analyse TF de nos signaux LFP utilise la méthode de transformée en ondelettes. Cette transformée ne présente pas les inconvénients de la FFT. Elle fournit une représentation d'un signal dans le plan temps-fréquence. Deux principales différences existent entre la FFT et la transformée en ondelettes: (i) pour effectuer la FFT d'un signal, on multiplie le signal par l'exponentielle complexe, une fonction d'étendue temporelle infinie mais fréquentielle nulle ; en revanche, dans le cas de la transformée en ondelettes, on multiplie le signal par une fonction d'étendues temporelle et fréquentielle finies ; (ii) dans la transformée en ondelettes, les effets de bord sont ramenés aux extrémités

du signal, et non dans chaque fenêtre comme c'est le cas pour l'analyse FFT par fenêtres glissantes. Ces deux avantages privilégient donc l'utilisation des transformées en ondelettes pour l'étude de l'évolution, au cours du temps, des composantes fréquentielles d'un signal. Souvent, pour l'analyse de transformée en ondelettes, les ondelettes de Morlet sont utilisées. Une ondelette est une fonction qui garantit la conservation de l'énergie lors de la transformation. La résolution des ondelettes est codée en temps et en fréquence : la résolution temporelle correspond à la durée de l'ondelette, la résolution fréquentielle à l'étendue du spectre fréquentiel (sa FFT) de l'ondelette. Dans nos études microscopiques (chapitre III, partie B), le signal que l'on utilise est sous-échantillonné à 2.5 kHz, afin de voir des fréquences entre 0 et 500 Hz (« fast ripples » épileptiques). Or ce sous-échantillonnage, d'un facteur 13 (nos données LFP sont échantillonnées à 32 556 Hz), est effectué avant l'analyse TF, ce qui garantit une moins bonne qualité d'image, principalement dans les hautes-fréquences.

### *Méthode du h2*

La méthode du h2 est une méthode de corrélation non-linéaire où le h2 est un coefficient non paramétrique de régression linéaire. Si l'on considère deux variables, X et Y, le coefficient h2 décrit la dépendance de X sur Y de manière la plus générale, sans spécifier le type de relation qu'il existe entre ces deux variables. Si la valeur de X est une fonction de la valeur de Y, Y, à partir de X, peut-être prédit à partir d'une courbe de régression non-linéaire. Si  $h_2=0$ , Y est complètement indépendant de X ; si  $h_2=1$ , alors Y est entièrement déterminé par X. Par l'analyse du h2, on peut aussi estimer le délai de couplage entre les signaux, i.e. le délai pour lequel h2 est maximal. En combinant les informations d'asymétrie et de délai de couplage, on obtient un index de directionnalité D qui mesure la direction de couplage entre les signaux. Si  $D=+1$  (ou  $-1$ ), alors  $X \rightarrow Y$  ( $Y \rightarrow X$ ) ; par contre si  $D=0$ , on a un couplage bi-directionnel ( $X \leftrightarrow Y$ ), ce qui signifie des interactions réciproques entre X et Y. La méthode du h2 a été introduite dans l'analyse EEG par le Pr Lopes da Silva et collaborateurs (1989) puis utilisée et modifiée par d'autres auteurs (Wendling et al., 2001 ; Kalitzin et al., 2007). Cependant, une des limites, qui s'applique aux méthodes non-linéaires en général, est que dans un réseau simple avec un seul générateur (commun) et deux cibles, l'analyse de paires va trouver des corrélations entre les deux cibles dues au générateur commun même quand les signaux de réponse sont complètement indépendants, pouvant ainsi conduire à un réseau différent et erroné si l'analyse des paires est faite à la place de l'analyse en corrélation multicanaux (Kus et al., 2004). Dans notre étude 6 qui utilise le h2 comme méthode

d'analyse, on voulait savoir si l'hippocampe et le CE étaient couplés lors des phases de repos (veille calme), avec ou sans activité interictale, et dans quel sens l'information était véhiculée/échangée (i.e. qui était la structure afférente/efférente). Ainsi, cette méthode renseigne plus sur le fait que (i) le couplage entre les deux structures soit augmenté/diminué, (ii) le flux de l'information modifié, entre nos deux groupes (contrôles et expérimentaux), plutôt que de mettre en évidence un véritable couplage entre l'hippocampe et le CE car ce couplage pourrait être la conséquence d'un générateur commun, au sein d'une autre structure (alors que peut-être les signaux de l'hippocampe et du CE sont indépendants).

*Méthode de synchronisation de phase (SL, « synchronisation likelihood »)*

Nous avons étudié cette méthode (Stam & van Dijk, 2002, Montez et al., 2006) pour étudier l'analyse de l'architecture du réseau impliqué dans la genèse du rythme thêta, la cognition spatiale, non-spatiale, et l'ELT, i.e. le réseau temporel et ses principales connexions (analyse « small-world »). Comme on l'a évoqué précédemment dans ce chapitre, le traitement cognitif implique l'intégration de l'information traitée simultanément dans différentes aires cérébrales (au moyen des oscillations). L'influence que deux aires cérébrales exercent l'une sur l'autre reste à déterminer, cependant, il semblerait qu'elle fasse intervenir plutôt des mécanismes non-linéaires. La SL est une méthode basée sur le concept de la synchronisation généralisée : si une structure donnée génère un patron d'activité spécifique X à différents temps, les structures cérébrales fonctionnellement connectées génèrent des patrons d'activité spécifiques f(X) à ces mêmes temps, avec f une fonction non-linéaire (couplage non-linéaire qui gouverne les relations fonctionnelles entre les structures ; Rulkov et al., 1995). Autrement dit, si une synchronisation généralisée existe entre deux systèmes en interaction, alors l'état du système « receveur/répondeur » est une fonction de l'état du système « leader »  $X : Y=f(X)$ . La SL détecte les dépendances linéaires et non-linéaires entre deux signaux (Stam & van Dijk, 2002). Dans la méthode de SL que l'on a utilisé, réadaptée (Montez et al., 2006), seulement deux coefficients sont à choisir arbitrairement, ce qui permet ici de tenir compte des caractéristiques temps-fréquence. De plus, la SL repose sur la détection d'activités ayant lieu de manière simultanée, activités qui peuvent être complexes et complètement différentes dans les deux signaux. Cette méthode est essentiellement utilisée pour analyser les signaux EEG et MEG.

Par définition, les **méthodes d'analyse non-linéaire** (utilisées jusque là) reposent sur l'analyse des états et de la phase des oscillations, et non sur leurs amplitudes, fréquences et puissances. En effet, les phases de deux oscillateurs couplés, non-linéaires, doivent se

synchroniser même si leurs amplitudes restent non corrélées (Pikovsky et al., 2001). On peut donner l'exemple inverse des pendules qui deviennent synchronisés lorsque leurs amplitudes atteignent leur valeur maximale en même temps malgré des phases opposées : ces pendules sont en fait des oscillateurs harmoniques linéaires. Ce phénomène est appelé « phase-locking » (phase imposée).

À ce jour, il n'y a pas de consensus sur comment détecter le mieux les interdépendances pour les données neurophysiologiques (Wendling et al., 2009).

### *Cohérence*

La cohérence est une **méthode d'analyse linéaire** qui s'applique pour les analyses d'interdépendances symétriques et linéaires. Elle donne la corrélation linéaire entre deux signaux. Cependant, deux facteurs sont à prendre en compte avant l'analyse : les électrodes de référence (qui introduisent de l'interdépendance entre les signaux malgré le fait qu'ils soient peut-être complètement indépendants, la référence commune jouant le rôle de générateur commun) et la conduction volumique. Les limitations de cette méthode sont qu'elle n'est pas faite pour la non-stationnarité, or, par définition, le signal LFP, est un signal non-stationnaire. Un fort taux de cohérence entre deux signaux constitue une indication de populations neuronales co-activées, sans cependant révéler la source de cette synchronisation. De plus, la cohérence, contrairement aux méthodes non-linéaires, est sensible à la fois aux relations de phase et d'amplitude entre les signaux, donc si par exemple, on n'est intéressé que par l'analyse des relations de phase sans les relations d'amplitude et inversement, d'autres méthodes sont donc plus adéquates pour ce type de traitement plus spécifique. L'application de la cohérence est utilisée pour l'analyse EEG, MEG, en conditions cognitives et cliniques.

Grâce à ces méthodes d'analyse, on a pu mettre en évidence différentes altérations électrophysiologiques au cours de l'épileptogénèse, que nous allons discuter dans la troisième partie de ce chapitre.

## **3. Altérations électrophysiologiques**

### **3.1. Rythme thêta**

La diminution de la puissance des oscillations thêta observées dès le stade épileptogène précoce peut être discutée selon différents points. Tout d'abord et de manière importante, elle n'est pas due à l'effet lésion post-SE : il est primordial de préciser ici que

dans notre étude A.2 (Article 1), nous avons quantifié la perte cellulaire au sein de l'hippocampe et du CE chez les animaux sacrifiés à 40 jours post-SE (stade chronique avancé dans notre modèle). Nous n'avons observé qu'une très faible perte cellulaire (de l'ordre de 10 %) au sein des champs CA1 et CA3, et du CE, insuffisante pour expliquer une telle diminution du rythme thêta à partir du 4<sup>ème</sup> jour post-SE et ce sans modification jusqu'au stade chronique avancé. Par contre, il n'est pas surprenant qu'une perte des cellules du hile et une migration des cellules du GD (caractéristiques du modèle) soient également observées. Dans notre modèle, il a plus spécifiquement été décrit une perte des INs de type O-LM, qui sont un des générateurs du rythme thêta dans la région CA1 (Gillies et al., 2002 ; Rotstein et al., 2005), région d'intérêt dans notre étude puisqu'on enregistre le rythme thêta de CA1. La réorganisation de la circuiterie après SE doit entraîner une diminution de la coopération entre les générateurs du rythme thêta. De plus, dans l'étude A.3, l'activité interictale diminue la puissance des oscillations thêta dans l'onde après la pointe, au cours de l'épileptogénèse. Malgré une réorganisation de la circuiterie, et la perte de certains types d'INs inhibiteurs (comme les cellules O-LM), la majorité des INs restent fonctionnels. Ainsi, si l'onde recrute bien des circuits GABAergiques (De Curtis et al., 1998 ; Demont-Guignard et al., 2009), une hypothèse serait de dire que l'onde pourrait utiliser, transitoirement, les ressources GABAergiques, au détriment des oscillations thêta qui dépendent également de l'activation des circuits GABAergiques (Gloveli et al., 2005 ; Buzsaki, 2006). L'altération des circuits GABAergiques au stade chronique (El-Hassar et al., 2007) peut, par conséquent, se traduire de plusieurs manières : (i) la dégradation des oscillations thêta en terme de stabilité (étude A.3), de puissance et de fréquence (étude A.2), (ii) par la difficulté de recruter des circuits GABAergiques (étude A.3).

De plus, une mort neuronale importante a été observée dans le septum médian chez des rats chroniques (modèle pilocarpine, Garrido Sanabria et al., 2006). Ces pertes concernent principalement les INs GABAergiques (qui donnent la fréquence au rythme thêta), alors que les neurones cholinergiques et glutamatergiques sont relativement préservés. On a vu au chapitre II que le septum médian, et notamment le complexe MS-DBB jouait un rôle central dans la genèse du rythme thêta. Il serait également important dans le contrôle de l'excitabilité hippocampique (Garrido Sanabria et al., 2006). Ainsi, une perte de ces neurones aurait des conséquences doubles : (i) sur le rythme thêta, (ii) sur l'excitabilité de l'hippocampe. Les cellules pyramidales de l'hippocampe expriment des canaux HCN (sous-unités HCN1 et HCN2), activés par l'hyperpolarisation de la membrane et à l'origine d'un courant appelé Ih. Or, une sous-population de neurones GABAergiques exprimant ce canal agirait comme

« pacemaker » du rythme thêta de l'hippocampe, transmettant l'activité rythmique du septum médian vers l'hippocampe (Hangya et al., 2009). La perte de ces neurones GABAergiques pourrait entraîner une altération du rythme thêta hippocampique. Cependant, la perte neuronale au sein du septum ne semble pas être déjà présente pendant la phase de latence, or on observe une altération du rythme thêta très tôt après SE. Par conséquent, ce phénomène ne semble pas directement lié avec les changements précoces du rythme thêta dans l'ELT, mais doit certainement venir accentuer ces modifications au stade chronique. En revanche, un lien entre courant Ih et rythme thêta existe, ce courant contrôlant notamment la résonance des neurones à la fréquence thêta. En effet, une propriété des cellules pyramidales de CA1 serait de répondre préférentiellement aux courants qui leur parviennent avec une fréquence dans la bande thêta ((4-12 Hz), Hutcheon & Yarom, 2000 ; Hu et al., 2002). La densité du courant Ih est également la plus forte au niveau du *stratum lacunosum moleculare*, là où on enregistre le rythme thêta de plus haute amplitude (Buzsaki et al., 2002). On a alors montré qu'une diminution de la résonance dans la bande de fréquence thêta *in vitro* corrélait avec une diminution de la puissance et de la fréquence des oscillations thêta *in vivo*, au cours de l'épileptogénèse (Marcelin et al., 2009). De plus, Ih est diminué dans le modèle KA (Shah et al., 2004), avec une perte des sous-unités HCN1 et 2 au sein des neurones de la couche III du CE (Shah et al., 2004), couche également impliquée dans la genèse du rythme thêta (cf. chapitre II) et possédant des connexions directes avec l'hippocampe, notamment la région CA1, aire où l'on enregistre le déficit de thêta dans notre étude.

### 3.2. Activité interictale

Dans l'étude A.2, j'ai mis en évidence l'absence de corrélation entre l'activité interictale (quantifiée avant le test) et les déficits cognitifs spatiaux de manière globale (moyenne à tous les temps). Cependant, si on regarde plus en détails, à partir de la distinction de l'activité interictale en deux types de pointes « type1 » et « type2 », une telle corrélation est observée à 7 jours post-SE (cf. étude A.3) mais plus après (à 10, 25 et 40 jours post-SE). Une hypothèse serait qu'à 4 et 7 jours post-SE, i.e. au stade précoce de l'épileptogénèse, l'altération de la cognition serait fonction en partie de la présence de l'activité interictale avant ou pendant le test. Les animaux présentant de l'activité interictale avant/pendant le test seraient déficients comparés aux animaux SE sans activité interictale avant/pendant le test. L'activité interictale pourrait ainsi avoir un propre effet sur la cognition, interférer en tant que telle sur les processus cognitifs dépendants de l'hippocampe, comme la mémoire spatiale. Cependant, à 10 et 25 jours après SE (au stade tardif de l'épileptogénèse et au stade chronique,

respectivement), le réseau doit commencer à être de plus en plus altéré, et cette altération de plus en plus installée dans le réseau. Ainsi, les conséquences de la réorganisation des structures temporelles qui s'est mise en place après SE commenceraient à se manifester et à s'installer de manière plus définitive, conférant aux réseaux des propriétés pathologiques. Par conséquent, la présence ou non d'activité interictale ne doit plus avoir d'impact sur la cognition, ou du moins pas aussi fortement qu'aux stades plus précoces de l'épileptogenèse : le réseau impliqué dans les processus cognitifs spatiaux serait altéré qu'il y ait ou non de l'activité interictale avant et/ou pendant le test. À ce moment là, l'activité interictale pourrait plutôt soutenir/maintenir le réseau –devenu épileptique- dans un état épileptogène (Staley et al., 2005), puisque ce dernier a été récemment décrit comme étant un processus continu (Bartolomei et al., 2008 ; Tassi et al., 2009). Chez les animaux latents à 10 jours post-SE, les pointes arrivent surtout à partir du premier essai du test S1, se calment au dernier essai de ce test, diminuent encore plus lors du test S2 et reviennent lors du test S3, pour diminuer de nouveau en fréquence lors du dernier essai de S3 et encore plus au cours de l'heure suivant le test (pas ou très peu de pointes): une hypothèse serait que lors du stade tardif de l'épileptogenèse (10 jours post-SE), lorsque l'épilepsie tend sûrement à s'installer, ou en tout cas lorsque le réseau relativement perturbé tend à s'engager dans cette voie, les pointes mimeraient un stimulus qui induirait le phénomène de « phase-reset » qui tendrait à améliorer/favoriser les performances cognitives. Ainsi, les pointes mimeraient un phénomène physiologique bénéfique. C'est peut-être la raison pour laquelle on peut considérer les pointes comme une activité émanant de l'activité du réseau, car s'il y a un problème de la consolidation (qui se mettrait en place dans l'heure qui suit le test), ce n'est peut-être pas dû aux pointes en tant que telles mais à la réorganisation du réseau, qui influencerait par exemple sur les oscillations « ripples ». Cependant, pour confirmer cela, il aurait fallu tester les animaux après cette heure-ci, notamment après une phase de sommeil que l'on aurait fixée à au moins une demi-heure par animal avant la phase de retest, pour comparer chaque animal, puisqu'il est maintenant bien admis que la consolidation a lieu pendant le sommeil lent (Buzsaki, 1996) et paradoxal (Poe et al., 2000).

Nous pouvons aussi émettre l'hypothèse que l'activité interictale de « type 1 » puisse représenter un phénomène « compensateur » qui tendrait à rétablir l'homéostasie du système, perturbée par les modifications post-SE qui se mettent en place au cours de l'épileptogenèse. En effet, l'activité interictale de « type 1 », avec l'onde après la pointe, pourrait être protectrice. (cf. Marder & Goaillard, 2006). Cependant, l'épilepsie n'est pas un phénomène simple à étudier ni à interpréter puisque de nombreux paramètres varient en même temps. Il

est par conséquent difficile de cerner les mécanismes mis en place suite à la pathologie des mécanismes compensateurs mis en place par le système (le cerveau) pour palier aux premiers.

### **3.3. Activité ictale**

Nos résultats sur la dynamique de l'activité ictale au cours du temps post-SE (étude A.4) vont un peu à l'encontre du concept proposé récemment par Kadam et collaborateurs (Kadam et al., 2010) qui émettent l'hypothèse d'un processus continu plutôt qu'une fonction du temps avec différents paliers : il semblerait que nos résultats confirment en effet qu'épileptogénèse ne rime pas avec phase de latence. L'épileptogénèse semble être davantage un processus continu qui évolue avec le temps et la durée de l'épilepsie, et qui se prolonge au-delà de la première crise spontanée. Cependant, l'épilepsie se caractériserait plutôt par des paliers, paliers qui viendraient confirmer les résultats obtenus dans l'étude A.4 et A.6 selon lesquels le premier palier se situerait avant la première crise spontanée (qu'on ne peut pas mettre en évidence vu que ce sont les crises que l'on quantifie ici). Un deuxième palier pourrait être la transition avant l'établissement de l'épilepsie proprement dite. Pour cela, l'enregistrement des animaux sur plusieurs mois après le SE permettrait de mettre en évidence si ce dernier palier est vraiment le dernier ou s'il est encore suivi par d'autres. Si tel était le cas, l'épilepsie serait ainsi un processus continu qui évolue avec le temps. Cependant, l'épileptogénèse serait installée et continuerait de maintenir le réseau dans un état épileptique (Staley et al., 2005), via l'activité interictale, mais n'évoluerait plus (i.e. l'activité interictale n'aurait plus d'effet propre sur le réseau déjà perturbé). Il a récemment été montré chez l'Homme que le nombre de structures épileptogènes augmentait avec la durée de l'épilepsie (Bartolomei et al., 2008) ; ainsi, si la réorganisation du réseau évolue encore après l'épileptogénèse installée, i.e. après le deuxième palier (selon notre hypothèse), il faudrait tester les animaux, qui seraient enregistrés en continu sur plusieurs mois (12 mois) sur les plans cognitif, électrophysiologique (activité ictale et interictale) et histologique et voir si une corrélation entre ces trois variables était observée et maintenue (à différents temps, cf. à 1 mois, 3 mois, 6 mois et 12 mois post-SE).

La progression des crises d'épilepsie dépendrait de l'étendue de la mort neuronale des cellules du hile (Gorter et al., 2001), confirmant encore ici que l'ELT puisse être un phénomène continu. D'où l'hypothèse que la tendance du réseau à devenir plus « small world » (cf. étude B.3) s'expliquerait par le fait qu'il ne se synchroniserait plus sur lui-même (perte des connexions longue distance mais renforcement des synchronisations au niveau local, i.e. de chaque structure qui compose le réseau).

## 4. Hypothèses par rapport à nos travaux

### 4.1. Déficit d'encodage

Lors des processus mnésiques, et notamment lors de l'encodage, le rythme thêta véhicule le flux de l'information entre l'hippocampe et le cortex (Mizuseki et al., 2009). Ainsi, on comprend qu'une altération des oscillations thêta soit à l'origine de déficits cognitifs, notamment spatiaux (hippocampe-dépendant). En effet, j'ai montré dans ma première étude une corrélation entre altération des oscillations thêta (diminution de puissance) et les déficits spatiaux, tôt après l'agression initiale (le SE). Une hypothèse serait que l'encodage de nouvelles associations aurait lieu lorsque l'entrée synaptique en provenance du CE est forte, lorsque la LTP des connexions excitatrices provenant de la couche CA3 de l'hippocampe est importante et que les courants synaptiques en provenance de CA3 sont faibles afin d'éviter toute interférence avec les associations apprises au préalable (Hasselmo, 2002b). La fenêtre temporelle optimale pour la transmission et l'encodage d'informations vers le cortex est de 10 à 30 ms (Harris et al., 2003). Cette fenêtre correspond à la période des oscillations gamma hippocampique et à la fenêtre de temps nécessaire à la plasticité synaptique. L'encodage ferait intervenir à la fois les oscillations thêta (de manière prédominante) et gamma (Axmacher et al., 2006). Lors de ma première étude, il n'y avait pas d'altération de puissance des oscillations gamma, ce qui suggère que l'encodage fait plutôt intervenir des interactions longue-distance qui nécessitent les oscillations thêta. L'activité thêta joue en effet un rôle dans les mécanismes de plasticité synaptique responsables de l'encodage et de la consolidation. Chez l'Homme, l'apprentissage se traduirait aussi par une augmentation de la synchronisation de l'activité thêta hippocampique et parahippocampique (Fell et al., 2003b).

La LTP est à la base de l'apprentissage. Donc si les réseaux impliqués dans la LTP sont modifiés, la LTP l'est aussi, et l'apprentissage aussi. Chez le rat, le rythme thêta modulerait le taux de décharge des cellules pyramidales de l'hippocampe et faciliterait ainsi la LTP (Arai & Lynch, 1992). Par conséquent, une diminution sévère du rythme thêta, comme constatée lors de notre étude au cours de l'épileptogénèse, devrait être à l'origine d'une diminution du contrôle de la LTP, donc d'une perturbation de cette dernière et des processus d'encodage qui en découlent. La phase du rythme thêta serait également importante dans la LTP : nous avons montré cependant (étude A.3) que le rythme thêta n'était pas remis en phase par l'activité interictale, mais peut-être l'est-il par d'autres mécanismes. Chez l'Homme, la synchronisation dans la bande thêta serait également relative aux processus d'encodage et de mémoire, où la LTP est très liée à l'activité synchrone du rythme thêta et associée à la capacité d'encoder de

nouvelles informations. On a montré (étude A.3) que chez l'Homme comme dans notre modèle animal, les oscillations thêta étaient perturbées (en puissance) après la pointe. Cela peut aller dans le sens d'une altération des processus cognitifs via le phénomène de synchronisation, le thêta altéré ne permettant plus d'assurer sa fonction de « solution biologique et physique » à la transmission de l'information, i.e. de permettre d'assurer le processus de synchronisation (au sens de couplage). Les phénomènes de LTP dépendraient également des projections septohippocampiques, ainsi une altération de ces connexions (Garrido-Sanabria et al., 2006) pourraient participer à un déficit de LTP et par conséquent des processus cognitifs qui en découlent.

#### **4.2. Déficiets de consolidation**

Ici, une autre hypothèse serait qu'une altération de la synchronisation au cours des oscillations de type « ripples », impliquées dans la consolidation mnésique, ou bien une altération des oscillations « ripples » à l'origine d'un déficit de synchronisation, pourrait être à l'origine des déficits cognitifs. Il serait donc intéressant de retester les animaux – au stade contrôle, épileptogène, et épileptique- une heure après le test, et après une phase de sommeil, afin de regarder s'il existe une corrélation entre l'activité unitaire au cours des « ripples » enregistrées pendant la phase de sommeil qui suit le test et la phase de retest. En effet, l'information concernant une éventuelle association « ripples »/performances cognitives doit plutôt se trouver dans de telles conditions, plutôt que lors du test ou des périodes de repos suivant chaque essai (cf. étude B.2). *In vitro*, il a été montré qu'au sein de l'hippocampe épileptique sclérosé (région CA3 isolée), des oscillations très rapides, les « fast ripples » (FR), émergeraient de la désynchronisation (pathologique) du patron normal des oscillations « ripples », associées à la décharge des cellules de CA3 et à d'importantes fluctuations du potentiel de membrane (Foffani et al., 2007). Une plus faible synchronisation entre la décharge des cellules individuelles et les oscillations de réseau corrélerait avec les oscillations « ripples » et l'émergence des FR. En effet, une réduction des fluctuations du potentiel de membrane améliorerait à la fois la précision temporelle des PA, la synchronisation spatiale et restaurerait ainsi les oscillations « ripples » dans l'hippocampe épileptique (Foffani et al., 2007). Le processus de synchronisation ferait intervenir des interactions électriques et synaptiques. Cependant, les mécanismes des ripples-FR sont différents *in vitro* et *in vivo*.

De plus, comme c'est le cas pour de nombreux oscillateurs neuronaux, le GABA et les jonctions communicantes entre les IN apparaissent essentiels pour la synchronisation des

neurones individuels (Buzsaki, 2006). Ainsi, un remaniement des processus intracellulaires comme une perte des jonctions communicantes entre neurones pourrait expliquer là aussi une altération des processus de synchronisation et, par conséquent, de certaines fonctions cognitives.

### **4.3. Phénomènes de synchronie via les oscillations**

Dans ce paragraphe, je n'évoquerai que le phénomène de synchronisation associé aux oscillations, pas au sens *stricto sensu*. Le processus de synchronisation va de pair avec les oscillations, propriétés intrinsèques des réseaux de neurones. Il apparaît comme le support de la communication neuronale, ou plus précisément des processus spécifiques qui la sous-tendent (Fries, 2005). L'activité synchrone jouerait en effet un rôle fonctionnel dans le traitement de l'information. Karl Friston (2000), en revanche, suggère que la synchronie est simplement un des moyens possibles de communication neuronale. Les neurones d'une assemblée émettent des PA de manière synchrone, notamment, pour la mémoire spatiale (champs de lieu), dans le creux de l'oscillation thêta. Ces assemblées pourraient être formées par des connexions sélectives réciproques entre les neurones. Le poids de celles-ci pourraient évoluer pour représenter la mémoire à long-terme, mais aussi rapidement pour permettre la représentation dynamique et à court-terme des objets perçus, via la mise en synchronie de la population neuronale (von der Malsburg, 1985, 1999). Le traitement efficace de l'information implique que l'information envoyée par le neurone afférent (i.e. qui envoie l'information) arrive sur le neurone efférent (i.e. qui reçoit l'information) lorsque celui-ci est excité (Fries, 2005). Ceci implique que l'excitabilité du neurone efférent puisse être prédite. Une telle prédiction est possible grâce aux oscillations physiologiques (Kopell et al., 2000) qui sont suffisamment régulières pour permettre de prédire le prochain pic d'excitabilité (comme par exemple la LTP qui se produit au pic de l'oscillation thêta). Cependant, le neurone afférent doit lui aussi osciller, et ces deux neurones (afférent et efférent) doivent être en phase (« phase-locked » ; Sarnthein & von Stein, 2009). Le phénomène de synchronisation, comme on l'entend ici, a donc lieu via l'activité oscillatoire en phase du neurone afférent et efférent, au sein d'une même assemblée. Les fonctions cognitives sont directement liées au processus de synchronisation, qui permet la transmission de l'information entre structures, et associées aux activités oscillatoires. On peut donc aisément comprendre comment une altération des oscillations peut avoir un impact sur la transmission de l'information, la synchronisation, et, par conséquent, sur la plasticité et les fonctions cognitives. Un exemple est donné dans le paragraphe suivant.

#### **4.4. Synchronisation et connexions longue distance : le problème du « binding »**

De nombreuses preuves expérimentales indiquent une corrélation forte entre phénomènes de mise en synchronie et cognition. Mais le rôle causal de la synchronie dans la cognition reste encore à cerner davantage. Les fonctions cognitives s'appuient sur des processus de traitement de l'information parallèles et distribués (exemple des neurones spécialisés dans la couleur, d'autres dans la forme des objets). Ensuite, plusieurs questions découlent de ce concept : comment l'information peut-elle être intégrée? Comment une représentation cohérente peut-elle s'établir dans ces systèmes neuronaux distribués? De là, se pose le problème du liage (ou « binding ») : la synchronisation des décharges neuronales permet l'intégration de neurones distribués en des assemblées de neurones (la manière dont le cerveau parvient à intégrer cette activité reste un mystère, d'où le « binding problem ») et ce, via les oscillations cérébrales. Ainsi, une perte de ce phénomène de « binding » et notamment des connexions longue distance ferait que la synchronie ne pourrait plus avoir lieu, ce qui aurait pour conséquences des altérations rythmiques et cognitives. À l'origine de ce phénomène de « binding », l'altération des oscillations thêta pourrait être une hypothèse, celles-ci ne permettant plus d'assurer correctement le rôle d'oscillateur permettant au neurone afférent et efférent d'être en phase. Ainsi, les structures impliquées (contenant ces neurones) ne pourraient plus « travailler ensemble », le rythme thêta ne jouant plus son rôle d'« horloge » interne du système, horloge qui met très précisément en phase les neurones au sein du réseau activé. Par conséquent, le moindre déphasage peut être à l'origine de déficits cognitifs : le phénomène de LTP qui se produit au pic de l'oscillation thêta pourrait par exemple ne plus avoir lieu. C'est pour cela qu'il est intéressant de poser la question de l'architecture du réseau (est-ce qu'elle tend vers un réseau plus « small-world » ?, caractérisé notamment par une perte des connexions longue distance), afin de savoir si ces connexions longue distance sont modifiées. Si tel était le cas, cela pourrait expliquer le déficit de mémoire spatiale observé dans notre première étude mais également faciliter le processus de synchronisation, à l'origine de la genèse et de la propagation de l'activité interictale et ictale. Il est cependant important de souligner que la perte éventuelle de connexions longue distance peut ne pas résulter d'une réorganisation morphologique des connexions, mais plutôt, à un niveau fonctionnel, de l'altération des oscillations thêta, incapables d'assumer le couplage entre elles.

#### **4.5. Mécanismes dynamiques pouvant sous-tendre les liens causaux entre rythme thêta, activité interictale et cognition**

Les mécanismes potentiels sous-tendant une relation causale entre le rythme thêta, l'activité interictale et la cognition ne peuvent être, pour l'instant, que spéculatifs. En effet, en conditions normales, il n'existe encore aucun consensus bien établi sur la manière dont le rythme thêta sous-tend le traitement de l'information lors des processus cognitifs. Ce que nous pouvons avancer ici, de manière hypothétique, est que le rythme thêta altéré ne pourrait plus assurer sa fonction de transfert de l'information entre les structures impliquées dans la cognition, puisqu'une hypothèse serait que le rythme thêta permettrait la synchronisation / le transfert de l'information entre ces structures. Ainsi, les assemblées de cellules sous-tendant la cognition au sein de ces structures (comme par exemple entre l'hippocampe et le CE) ne pourraient donc plus être formées via les oscillations thêta, ce qui conduirait aux déficits cognitifs que l'on observe (Article 1). Ensuite, on a également montré que l'activité interictale pouvait perturber de manière transitoire le rythme thêta (Article 2), pouvant expliquer l'altération de ce rythme. Si on considère que l'activité interictale et la réorganisation de la circuiterie ont toutes deux un impact sur la cognition, que tant que la circuiterie du réseau - impliqué dans la cognition- n'est pas encore trop réorganisée, l'activité interictale peut avoir un effet en tant que tel sur l'activité de réseau qui sous-tend les processus cognitifs. L'activité interictale perdrait ensuite cet effet, car la désorganisation de la circuiterie deviendrait l'élément essentiel de la perturbation des fonctions qui en dépendent, comme les processus cognitifs. Cela pourrait expliquer le paradoxe apparent (Article 1) où l'évolution des déficits cognitifs que l'on observe au cours de l'épileptogenèse est relativement stable, comme celle de l'altération du rythme thêta, alors qu'au laboratoire, il a été précédemment montré une évolution de la réorganisation anatomo-fonctionnelle au cours de l'épileptogenèse (Cossart et al., 2001 ; Dinocourt et al., 2003 ; Boulland et al., 2007 ; El-Hassar et al., 2007).

Une des perspectives de ce travail de thèse est de déterminer les relations causales entre le rythme thêta, l'activité interictale et les déficits cognitifs.

#### **4.6. Marqueurs d'anticipation des crises**

Comme on l'a évoqué dans l'Article 3, la dynamique de l'activité interictale pourrait être un marqueur prédictif des crises. Cela dit, cette étude ne le prouve pas, mais le suggère. Pour pouvoir le confirmer, il faudrait maintenant utiliser un autre modèle, comme le modèle KA ou le modèle du SE induit électriquement, et pouvoir, à partir de la dynamique des

caractéristiques de l'activité interictale, essayer de prédire l'apparition de la première crise spontanée, ce qui validerait ce marqueur.

## **5. Implications**

L'implication de ces travaux de thèse permettent de mettre en évidence pour la première fois une relation entre une altération de la cognition associée à une modification des activités oscillatoires, cette dernière étant liée quant à elle à la présence d'activités pathologiques, du moins pendant la phase d'épileptogénèse. Ainsi, il semble que nous ayons caractérisé pour la première fois une « bascule » du réseau à plusieurs niveaux. Cette « bascule » pourrait correspondre à un premier palier, précédant les deux mis en évidence dans l'étude A.4 à partir de l'analyse de la fréquence des crises au cours de l'épileptogénèse. Ce premier palier se caractérise par un changement net, juste avant la première crise spontanée (versus après), (i) de la dynamique de l'activité interictale, (ii) de l'influence de cette activité sur le rythme thêta et les déficits cognitifs (hippocampe-dépendants), (iii) du couplage entre l'hippocampe et le CE au cours de cette activité. Ceci permet peut-être de faire un premier pas dans la détermination de l'épileptogénèse et de l'épilepsie. Le flux de l'information entre l'hippocampe et le CE lors des phases de repos est inversé (par rapport aux animaux contrôles) juste après le SE et jusqu'au stade épileptique mais sa dynamique ne présente pas de changement autour de la première crise, ce qui confirme que ce phénomène serait moins dépendant de l'activité interictale (comme montré dans l'étude A.6) mais plus d'un remaniement du réseau après SE. Comme on l'a vu dans le paragraphe précédent, il est maintenant nécessaire de regarder cela à une échelle cellulaire, au niveau de la décharge des neurones et des assemblées de neurones, pour essayer de comprendre (i) comment ces différents processus mis en place au cours de l'épileptogénèse pourraient être liés à un déficit de synchronisation et/ou de plasticité et (ii) comment ils pourraient provoquer le développement de l'épilepsie en n'étant plus corrélés de la même façon entre eux.

## **6. Applications**

L'application à plus ou moins long-terme de ce travail de thèse est de mettre en évidence des marqueurs prédictifs de l'épileptogénèse chez des patients à risque afin de pouvoir détecter de manière non invasive (tests cognitifs, EEG) s'ils développeront ultérieurement une épilepsie ou non. Ensuite, il serait bien sûr nécessaire, à partir du moment où la détection a été positive, de déterminer la fenêtre temporelle critique pendant laquelle agir au niveau préventif pour empêcher la bascule du réseau vers l'état épileptique. En effet,

pour certaines formes d'épilepsie, il est bon de chercher plutôt à la prévenir qu'à la guérir. Nos études sont faites à partir d'électrodes intracérébrales, pour tenter de comprendre ce qui se passe au niveau des structures profondes impliquées dans les activités rythmiques et cognitives, et devront être complétées pour comprendre quels sont les mécanismes (activité unitaire ; études *in vitro*) sous-jacents à de telles altérations *in vivo* : cependant la finalité de ces études seraient de pouvoir en faire le parallèle à la surface du cortex (EEG), puisque cette approche de détection serait beaucoup moins invasive pour être testée en préventif chez des patients à risque.

## 7. Conclusion et Perspectives

Ces résultats ont montré (i) que dès le stade précoce de l'épileptogénèse, il y avait d'importantes modifications de réseau : un déficit de mémoire spatiale qui corrélait avec une diminution de la puissance des oscillations thêta, (ii) laquelle était diminuée par l'activité interictale ; (iii) la présence de deux types d'activité interictale bien distincts qui coexistent au cours de l'épileptogénèse et de l'épilepsie et qui semblent renseigner sur l'état du réseau puisque leur dynamique bascule/est modifiée juste avant la première crise spontanée, (iii) une augmentation du couplage entre hippocampe et CE et une modification du flux de l'information entre ces deux structures. De plus, l'ELT, la cognition et les oscillations, étant des propriétés de réseau, il est donc crucial de regarder à l'échelle de tout le réseau. L'analyse SW et de cohérence sont deux premiers pas vers la compréhension des modifications de réseau qui pourraient être à l'origine des altérations présentées juste avant. L'ELT étant caractérisée par d'importantes réorganisations morphologiques, la connectivité entre les neurones s'en trouve altérée et l'architecture du réseau perturbée. Ceci peut modifier les activités oscillatoires et leurs propriétés. Les résultats préliminaires tendent à montrer (i) une augmentation de la synchronie du réseau au stade épileptogène, mais plus au stade chronique, ce qui va dans le sens de l'étude A.6 ; (ii) que l'architecture du réseau épileptogène tendrait vers un réseau « small-world » avec une augmentation du « clustering » local et une perte des connexions longue-distance. Cette dernière doit être à l'origine d'une diminution de la synchronisation entre structures (cf. phénomène de « binding ») et induire, par conséquent, des altérations des fonctions cognitives, ou bien faciliter la genèse et la propagation des crises. L'analyse de cohérence suggère que les structures « se parleraient » en effet moins entre elles, à longue distance, en tous cas lors d'un comportement thêta-dépendant. Ainsi, le thêta altéré induirait peut-être une diminution du « dialogue » entre les structures longue-distance.

### **Perspectives :**

Une première perspective à ce travail serait de refaire les mêmes expériences et analyses à partir d'autres modèles d'ELT, comme le modèle KA notamment, Li-pilo, ou encore le modèle du SE induit électriquement. L'intérêt de ce travail de thèse n'était pas de caractériser le modèle pilocarpine sur le plan cognitif et électrophysiologique, mais plutôt de chercher à mettre en évidence des marqueurs prédictifs de l'épileptogenèse dans l'ELT. Ces modèles étant également dotés des mêmes caractéristiques (SE, phase de latence), il est bon de savoir si les mêmes marqueurs peuvent être considérés, sachant notamment (et c'est là que la validation chez d'autres modèles devient intéressante) que la phase de latence et les réorganisations post-SE ne suivent pas exactement le même profil dans le modèle KA que le modèle pilocarpine (cf. précédemment). Cependant, la première crise marque le même point de départ, que ce soit dans le modèle KA ou pilocarpine.

Les fonctions cognitives ne dépendent pas seulement de la localisation de l'activité neuronale, mais aussi et surtout du profil temporel de l'activité des assemblées neuronales. Il est donc important d'étudier la cognition et les processus qui la sous-tendent à l'échelle unitaire, i.e. des PA et plus particulièrement des assemblées neuronales. Selon l'hypothèse/le concept que le codage de l'information est sous-tendu par des assemblées cellulaires (Hebb, 1949), l'information serait représentée par des groupes de neurones déchargeant de manière simultanée (Gray and Singer, 1989; König et al., 1996; Wilson and McNaughton, 1993). Il a été suggéré que ces assemblées de cellules auraient une durée de vie transitoire et dynamique qui s'étendrait sur la période de temps nécessaire pour accomplir un processus cognitif donné.

## Conclusion générale

Le but de cette thèse était de franchir un premier pas dans la mise en évidence de corrélations entre altérations de réseau et fonctions cognitives au cours de l'épileptogenèse, dans un modèle animal de l'ELT. Cette thèse a mis en évidence, pour la première fois, des marqueurs cognitifs et électrophysiologiques au cours de l'épileptogenèse, qui pourraient être prédictifs de cette période et permettre, à plus long terme, de pouvoir prédire si des patients à risque développeront ou non de l'épilepsie. Si tel était le cas, il faudrait ensuite connaître à quel moment agir sur le plan thérapeutique pour éviter le développement de l'ELT. Pour cela, il est nécessaire de comprendre quels mécanismes sont à l'origine de ces modifications de réseau, en regardant à l'échelle du neurone et des assemblées de neurones. Cependant, on est encore loin de pouvoir prévenir l'épilepsie, puisque l'absence d'un cadre conceptuel sur les oscillations et les processus de synchronisation en conditions normales empêche la mise en place d'hypothèses de travail solides en conditions pathologiques, ici dans l'étude de l'ELT.

De plus, après avoir validé les marqueurs identifiés au préalable et compris les mécanismes sous-jacents, pour mettre au point des traitements adéquats dans le cas d'une détection positive à l'ELT chez un patient à risque, l'idée serait ensuite d'adapter ces études intracérébrales à des méthodes moins invasives comme l'EEG de surface pour pouvoir explorer les patients à risque.

# ***Annexes***

#### **Article 4**

Marcelin B, **Chauvière L**, Becker A, Migliore M, Esclapez M, Bernard C. (2008) h channel-dependent deficit of theta oscillation resonance and phase shift in temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis.* 33, 436-47.

#### **Article 5**

Bénar CG, **Chauvière L**, Bartolomei F, Wendling F. (2010) Pitfalls of high-pass filtering for detecting epileptic oscillations: a technical note on "false" ripples. *Clin Neurophysiol.* 121, 301-10.

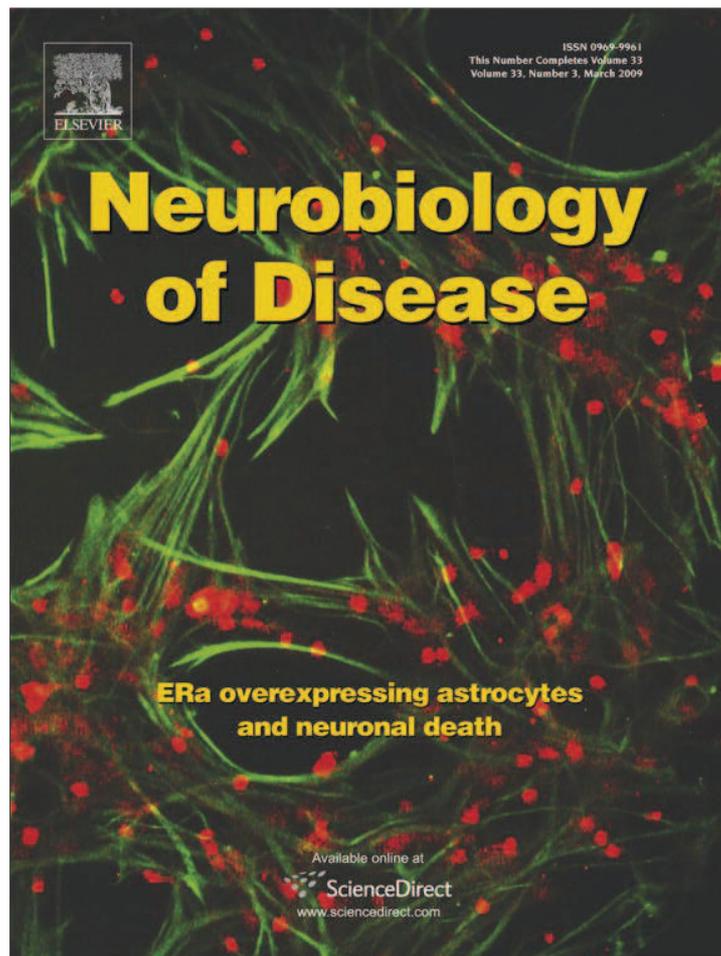
#### **Article 4. :** Altérations du courant $I_h$ sous-tendant le déficit de résonance dans la bande de fréquence thêta dans le modèle pilocarpine d'ELT (Marcelin, Chauvière et al., 2009)

Ma collaboration à ce projet se justifiait dans le fait d'illustrer un mécanisme (*in vitro*) des altérations du rythme thêta que je venais d'observer dans ma première étude *in vivo* (Article 1).

##### **Résumé**

Le courant  $I_h$  permet aux dendrites des cellules pyramidales de CA1 de répondre de manière optimale aux entrées synaptiques qui arrivent à la bande de fréquence thêta (4-12 Hz). Il contrôle ainsi la résonance des neurones à la fréquence thêta. À partir d'enregistrements *in vitro*, il a été observé une diminution des paramètres de résonance dans les dendrites distales des cellules pyramidales de CA1 au cours de l'épileptogénèse. Cette altération corrèle avec la baisse de disponibilité de  $I_h$  due à plusieurs facteurs : (i) une altération des cinétiques des canaux HCN (activation plus lente), (ii) une importante réduction de l'expression des sous-unités des canaux HCN, HCN1 et HCN2, à l'origine d'une diminution de l'amplitude du courant  $I_h$ . Un modèle computationnel a également mis en évidence que cette réduction du courant  $I_h$  était suffisante pour provoquer la baisse du phénomène de résonance des neurones à la fréquence thêta. Ainsi, la canalopathie acquise des canaux HCN implique une modification du codage temporel de l'information et empêche les neurones de répondre de manière préférentielle aux courants de fréquence thêta au sein des dendrites distales des cellules pyramidales de CA1. De manière intéressante, le courant  $I_h$  est très abondant dans les dendrites apicales des cellules pyramidales de CA1, notamment au niveau du *stratum lacunosum moleculare*, couche où le rythme thêta est le plus ample. Ainsi, on a décidé de regarder s'il y avait une corrélation entre cette altération *in vitro* du courant  $I_h$  et l'activité thêta *in vivo*. Des enregistrements *in vivo* en parallèle ont en effet permis de corréler la résonance thêta observée *in vitro* avec une diminution de la puissance et de la fréquence des oscillations thêta *in vivo* (toujours à partir du modèle pilocarpine). Ainsi, cette observation est intéressante puisqu'elle propose un mécanisme qui pourrait être responsable de l'altération du rythme thêta et des déficits cognitifs qui lui sont associés (cf. Article 1).

Provided for non-commercial research and education use.  
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

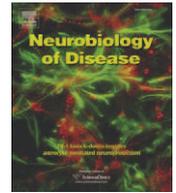
In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



Contents lists available at ScienceDirect

## Neurobiology of Disease

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ynbdi](http://www.elsevier.com/locate/ynbdi)

## h channel-dependent deficit of theta oscillation resonance and phase shift in temporal lobe epilepsy

Béatrice Marcelin<sup>a,1</sup>, Laëticia Chauvière<sup>a,1</sup>, Albert Becker<sup>b</sup>, Michele Migliore<sup>c</sup>,  
Monique Esclapez<sup>a</sup>, Christophe Bernard<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> INSERM-U751, Université de la Méditerranée, 27, Bd Jean Moulin, 13005 Marseille, France

<sup>b</sup> Department of Neuropathology, University of Bonn Medical Center, Sigmund Freud Strasse 25, 53105 Bonn, Germany

<sup>c</sup> Institute of Biophysics, National Research Council, Palermo, Italy

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 3 September 2008

Revised 25 November 2008

Accepted 27 November 2008

Available online 16 December 2008

## Keywords:

Epilepsy

HCN channel

Dendrite

Theta rhythm

Resonance

Oscillation

## ABSTRACT

$I_h$  tunes hippocampal CA1 pyramidal cell dendrites to optimally respond to theta inputs (4–12 Hz), and provides a negative time delay to theta inputs. Decreased  $I_h$  activity, as seen in experimental temporal lobe epilepsy (TLE), could significantly alter the response of dendrites to theta inputs. Here we report a progressive erosion of theta resonance and phase lead in pyramidal cell dendrites during epileptogenesis in a rat model of TLE. These alterations were due to decreased  $I_h$  availability, via a decline in HCN1/HCN2 subunit expression resulting in decreased h currents, and altered kinetics of the residual channels. This acquired HCN channelopathy thus compromises temporal coding and tuning to theta inputs in pyramidal cell dendrites. Decreased theta resonance *in vitro* also correlated with a reduction in theta frequency and power *in vivo*. We suggest that the neuronal/circuitry changes associated with TLE, including altered  $I_h$ -dependent inductive mechanisms, can disrupt hippocampal theta function.

© 2008 Elsevier Inc. All rights reserved.

## Introduction

Hyperpolarizing-activated cyclic nucleotide-gated ion channels (HCN;  $I_h$ ) provide the membrane with resonance properties, focusing responses within an optimal frequency range (Hutcheon and Yarom, 2000; Narayanan and Johnston, 2007). In addition to creating a bandpass filter, HCN channels also can alter the timing of the membrane response (Narayanan and Johnston, 2008). Below a certain frequency, changes in membrane potential appear to precede the current inputs (phase lead), whilst above this frequency, the membrane voltage response is delayed with respect to the current (phase lag). The biophysical properties and density of  $I_h$  currents optimize resonance and phase response within the theta (4–12 Hz) frequency band (Hu et al., 2002; Klink and Alonso, 1993; Narayanan and Johnston, 2008; Pike et al., 2000), coincident to theta rhythm, which is associated with numerous cognitive and memory processes (Buzsaki, 2006). Resonance at the theta bandwidth is prominent in layer V cortical cells, layer II and stellate entorhinal cortex cells, CA1 pyramidal cells and some GABAergic interneurons (Hu et al., 2002; Klink and Alonso, 1993;

Nolan et al., 2007; Pike et al., 2000; Ulrich, 2002); possibly favouring the emergence of theta oscillations (Buzsaki, 2006). Phase response properties could influence temporal coding (Narayanan and Johnston, 2008). HCN channels might thus be central to function of theta oscillations (Rotstein et al., 2005).

The strongest theta resonance and phase shift is found in CA1 pyramidal cell distal dendrites (Narayanan and Johnston, 2007, 2008), where it is primarily  $I_h$ -dependent, reflecting the high density of HCN channels in this cell compartment (Magee, 1998). Consistent with this dendritic channel organization, the largest theta drive in the hippocampus is recorded in stratum lacunosum moleculare (Buzsaki, 2002). Resonance and phase response can be dynamically modified. Long-term potentiation is associated with an upregulation of  $I_h$  (Fan et al., 2005), which may underlie the concurrent widespread increased theta resonance and phase response in CA1 pyramidal cells (Narayanan and Johnston, 2007, 2008).

Downregulation (Jung et al., 2007) and mislocalization (Shin et al., 2008) of HCN1 have been reported in experimental temporal lobe epilepsy (TLE). Modelling studies predict that  $I_h$  downregulation would result in decreased resonance and phase response (Narayanan and Johnston, 2007, 2008), and experimental results show that mislocalization of h channels results in decreased resonance frequency in proximal dendrites in experimental TLE (Shin et al., 2008). To further evaluate the consequences of decreased  $I_h$  availability in distal dendrites, we measured at the same recording site  $I_h$  currents, resonance and phase response in control and

\* Corresponding author. Fax: +33 4 91 78 99 14.

E-mail address: [christophe.bernard@univmed.fr](mailto:christophe.bernard@univmed.fr) (C. Bernard).

<sup>1</sup> Equally contributing authors.

Available online on ScienceDirect ([www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)).

experimental TLE animals. Since resonance and oscillation power co-vary (Maex and De, 2003), we further analysed hippocampal theta activity *in vivo* in the same experimental model.

Our results demonstrate a progressive erosion of theta resonance and phase response properties in CA1 pyramidal cell distal dendrites during both the latent and chronic epilepsy periods, which correlated with decreased availability of  $I_h$ . Theta rhythm recorded *in vivo* was also reduced initially during the latent period. This novel correlation may link hippocampus-dependent cognitive deficits found in TLE with cellular signaling abnormalities identified in individual CA1 pyramidal neurons.

## Methods

Experiments were performed according to local INSERM guidelines.

### Induction of pilocarpine model

Pilocarpine hydrochloride (340 mg kg<sup>-1</sup>) was injected subcutaneously in 40 adult male Wistar rats (180–200 g) 30 min after the administration of N-methyl scopolamine (1 mg kg<sup>-1</sup>). Diazepam (8 mg kg<sup>-1</sup>) was administered to stop status epilepticus (SE) after forty minutes. Thirty animals experiencing SE were used for later electrophysiological analysis (SE group). Ten age-matched rats received saline injection instead of pilocarpine. Ten animals displayed stage 5 seizures, but did not develop SE (non-SE group). These animals do not become epileptic within 3 months and their depth EEG activity remains similar to control animals (El Hassar et al., 2007). Since *in vivo* and *in vitro* electrophysiological properties are similar between non-SE and saline-treated animals (El Hassar et al., 2007), data from both groups were pooled together (sham group). Ten and fourteen SE animals were used for the *in vitro* analysis of the seizure-free latent and chronic periods respectively, and six SE animals were used for *in vivo* recordings. Drugs were obtained from Sigma.

### In vivo recordings

After one week handling, a separate group of ten adult male Wistar rats were anesthetized with a mixture of ketamine (1 mg kg<sup>-1</sup>) and xylazine (0.5 mg kg<sup>-1</sup>) and placed in a stereotaxic apparatus. One bipolar steel electrode (250 μm diameter) was stereotaxically implanted into the dorsal hippocampus (3.8 mm antero-posterior, 1.5 mm medio-laterally and 3.0 mm dorso-ventral from the bregma), and three stainless-steel cortical electrodes (2 mm depth) were screwed into the skull and partway into the brain (right and left frontal cortex, and the reference in the cerebellum). After one week recovery, hippocampal recordings were performed during one hour periods using an EEG system (Deltamed, Paris, France). These recordings used a bipolar montage, referencing the hippocampal electrodes to the cerebellar reference screw. During the electrical recording, a video-system (VideoTrack, France) was used to monitor rat behaviour, assessed during activity in a cylindrical open field. Rats then received pilocarpine injection as described above, and the same protocol was performed at 4 days, 10 days and 25 days after injection in six SE and four non-SE animals.

Animals that experienced SE became epileptic within 12–18 days after the pilocarpine injection, in keeping with a previous study (El Hassar et al., 2007). Non-SE animals did not show any sign of pathological behaviour or electrophysiological activity during the EEG recording periods. Latent period animals were used between 7 and 10 days following pilocarpine injection for *in vitro* electrophysiology.

Periods of exploration in the open field were analysed off-line, after selecting epochs with no significant interictal or ictal activity or movement artifacts on the EEG. Power spectral analysis of the hippocampal EEG was performed using 2 second epochs, digitized at

256 Hz with a fast Fourier transform (FFT). For each exploration period, we obtained the absolute power of the EEG at both an overall 1–100 Hz wide bandwidth and in the 4–12 Hz theta bandwidth, as well as the median frequency of hippocampal theta rhythm, after filtering the signal at 4–12 Hz, using AMADEUS software (Rennes, France).

Electrode positions were histologically verified. At the end of the electrophysiological experiments, the rats were deeply anesthetized with sodium pentobarbital injection (60 mg/kg, i.p.) and perfused intracardially with a fixative solution containing 4% paraformaldehyde in 0.12 M sodium phosphate buffer, pH 7.4 (PB). After perfusion, the brains were removed from the skull, postfixed in the same fixative for 1 h at room temperature (RT), and rinsed in 0.12 M PB for 1.5 h. Blocks of the forebrain containing the entire hippocampal formation were immersed in a cryoprotective solution of 20% sucrose in PB overnight at 4 °C, quickly frozen on dry ice, and sectioned coronally at 40 μm with a cryostat. Sections were stained with cresyl violet to verify electrode placement. Electrode position within the CA1 region of the hippocampus, usually close to stratum lacunosum moleculare, was confirmed in all reported animals (additional Fig. 2).

### In vitro electrophysiology

Hippocampal slices (380 μm thick) were prepared from sham, latent and chronic animals, following an i.p. injection of chloral hydrate (800 mg kg<sup>-1</sup>). Animals were perfused intracardially with cold ACSF in which NaCl was substituted with an equimolar concentration of choline. Animals were then killed by decapitation and slices were cut in modified ACSF using an oscillating slicer (Microm slicer, International GmbH, Germany). Slices were then transferred to a holding chamber at room temperature in normal ACSF. ACSF contained (in mM) NaCl 126, KCl 3.5, CaCl<sub>2</sub> 2, MgCl<sub>2</sub> 1.3, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 26, D-glucose 10, and was continuously aerated with 95% O<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub>. NBQX (1 μM), D-APV (50 μM) and bicuculline (10 μM)/picrotoxin (10 μM) were added to the perfusion solution to block AMPA, NMDA and GABA<sub>A</sub> receptors respectively. The recording temperature was kept at 34 ± 1 °C (ALA Scientific instruments). Patch pipettes were filled with (in mM) KMeSO<sub>4</sub> 120, KCl 20, EGTA 0.2, MgCl<sub>2</sub> 2, HEPES 10, Na<sub>2</sub>ATP 4, Tris GTP 0.3, Phosphocreatine 14, biocytin 0.4% and KOH to adjust to pH 7.3. Dendrites were recorded under visual control (Nikon FN1) with an Axopatch700A amplifier and Digidata 1322 interface (Axon Instruments). The distance between the recording site and the soma was determined both under visual control before performing dendritic recordings, and *post hoc* following morphological processing as previously described (Bernard et al., 2004). Neuronal input resistance was significantly increased during epileptogenesis (sham, 42 ± 4 MΩ, n=20; latent, 51 ± 5 MΩ, n=8, p<0.01; chronic, 58 ± 4 MΩ, n=17, p<0.01), consistent with the downregulation of  $I_h$ . The  $I_h$  antagonist ZD7288 induced a hyperpolarization of the resting membrane potential by 15–20 mV. This hyperpolarization was compensated by current injection.

### Analysis of $I_h$

Currents mediated by  $I_h$  were recorded in voltage-clamp mode by applying hyperpolarizing voltage steps (starting from a holding potential of -50 mV up to -140 mV). Data were acquired with the help of pCLAMP 10 and analysed offline using Clampfit 10.0 (Axon Instruments). The amplitude of  $I_h$  was determined by subtracting the instantaneous current at the beginning of the voltage step from the steady-state current at the end. The activation time constant was obtained using a double exponential fit. Boltzmann fits were made to obtain  $V_{1/2}$ , the midpoint activation voltage. Resonance and phase responses were analysed with software within the MATLAB environment.

### Oscillatory current injections

Discrete current wavelets at varying frequencies were injected in the recorded cell in current-clamp mode (from 1 to 50 Hz, with 1 Hz steps; and 25 wavelets between 50 and 200 Hz with logarithmic scale spacing); each wavelet consisted of 12 cycles with waxing and waning amplitude. The amplitude of the injected current was adjusted so that the 1 Hz wavelet produced a  $\pm 5$  mV excursion of membrane potential. A 50 ms hyperpolarizing step was applied between two successive wavelets. Experiments performed with either fixed-peak sinusoidal waves or a constant 5 s wavelet (rather than 12 cycles) led to similar resonance properties (not shown). We used discrete wavelet injections instead of the common ZAP stimulus for three reasons. Discrete oscillatory inputs allow a better characterization of resonance, giving rise to fewer artifacts (Pike et al., 2000). With a continuous ZAP sinusoid, channel activation/inactivation/deactivation may affect resonance measurements. We thus reset voltage-activated ionic channels to pre-wavelet conditions after each wavelet with a brief hyperpolarizing pulse. It has been argued that wavelets are physiologically relevant to phase precession (O'Keefe and Burgess, 2005), which will be the subject of a forthcoming study.

Impedance ( $Z$ ) was calculated as the ratio of the voltage/current Fourier transforms:  $Z = \text{FFT}(\text{voltage response}) / \text{FFT}(\text{injected current})$ , for each frequency. The magnitude of the complex-valued impedance  $|Z|$  was plotted against frequency to give an impedance–magnitude profile. Three resonance parameters were measured:  $F_{\text{res}}$ , the resonance frequency when  $|Z|$  is maximum;  $Q$ , the amplification ratio defined as the  $|Z|_{F_{\text{res}}} / |Z|_{1 \text{ Hz}}$  ratio (Hu et al., 2002); and  $W$ , the width of resonance defined as the frequency where  $|Z|_W = |Z|_{1 \text{ Hz}}$ , for  $W > F_{\text{res}}$ .

The impedance phase was calculated as  $\phi = \tan^{-1}(\text{Im}(Z) / \text{Re}(Z))$ , where  $\text{Im}(Z)$  and  $\text{Re}(Z)$  are the imaginary and real parts of  $Z$ , respectively.  $F_{\phi}$  is defined as the frequency  $f$  where  $\phi(f) = 0$ . For  $f < F_{\phi}$ ,  $\phi(f) > 0$  and the response of the membrane appears to occur before the injected current (phase lead). Conversely, for  $f > F_{\phi}$ ,  $\phi(f) < 0$  and the response of the membrane appears to occur after the injected current (phase lag). To characterize the amount of phase lead, we measured  $\phi_L$ , the total inductive phase, defined as the area of  $\phi(f)$  where  $\phi(f) > 0$  (Narayanan and Johnston, 2008).

### mRNA isolation of hippocampal CA1 subfields and real-time RT-PCR quantification of HCN1 and HCN2 channel subunit transcripts

mRNA was isolated from CA1 regions microdissected from hippocampal slices (400  $\mu\text{m}$ ) by Dynabeads mRNA Direct Micro Kit (Dyna, Oslo) according to the manufacturer's protocol. HCN-channel subunit transcript quantification was performed by real-time RT-PCR (PE Biosystems PRISM 7700, Foster City). Primers and double-fluorescent oligonucleotides (FAM=reporter dye, TAMRA=quencher dye) for HCN1 and HCN2 channel subunits and synaptophysin were designed with Primer Express software (PE Biosystems, Foster City, Supplemental Table). No significant homology of the amplicon sequences with other previously characterized genes has been found searching GenBank data bases by BLASTN program. Relative quantification of the starting mRNA copy numbers using multiple replicates for each reaction was performed according to the  $\Delta\Delta C_t$ -method (Fink et al., 1998). The signal threshold was set within the exponential phase of the reaction for determination of the threshold cycle ( $C_t$ ). Synaptophysin was used as endogenous, neuron-specific reference gene for normalization of HCN channel subunit mRNAs. This gene does not show chronic expression changes following pilocarpine-induced status epilepticus (Chen et al., 2001a). Additionally, synaptophysin expression is unaltered in early stages (1–3 days) following seizures (unpublished data). Relative quantification started from 5.0 to 10.0 ng of mRNA. RT-PCR reactions were carried out in a total reaction volume of 12.5  $\mu\text{l}$  using the EZ RT-PCR Kit (PE Biosystems, Foster City).

Reactions started with 300  $\mu\text{M}$  of each dNTP, 1xTaqMan EZ Buffer, 0.1 U/ $\mu\text{l}$  rTth DNA polymerase, 0.01 U/ $\mu\text{l}$  AmpErase UNG, Mn(OAc)<sub>2</sub> and primers as well as double-fluorescent oligonucleotides in the concentrations outlined in Supplemental Table. Cycling conditions included 50 °C for 2 min, 60 °C for 20 min (RT reaction), followed by 95 °C for 5 min, and a two-step PCR with 60 cycles at 94 °C for 15 s and 59 °C for 60 s (PE Biosystems PRISM 7700 SDS, Foster City). Fluorescent signals were normalized to a passive internal reference ( $\Delta R_n$ ) and the threshold cycle ( $C_t$ ) was set within the exponential phase of the PCR. Based on the  $C_t$  ratios, the starting copy number of HCN1 and HCN2 mRNAs were calculated relative to the reference gene ( $\Delta\Delta C_t$  method) for pilocarpine versus control groups ( $n=5$  animals for each group and each time point). Group comparisons were carried out by a Mann–Whitney– $U$ -test.

### Morphology

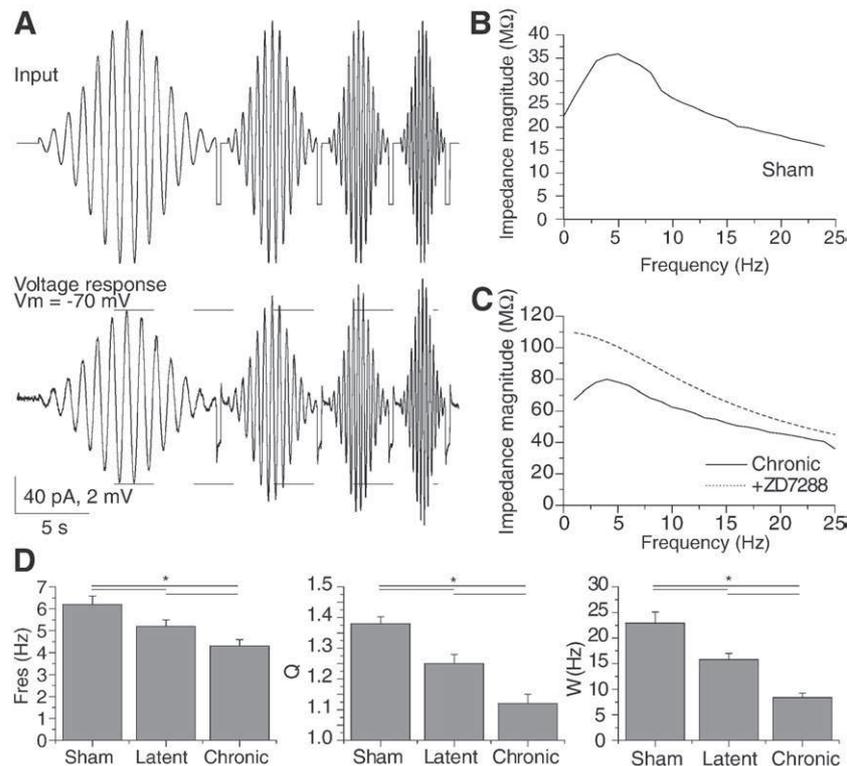
Biocytin-filled neurons were detected on unsectioned slices as previously described (Bernard et al., 2004). The recording sites in the dendrites appeared as a hole or a dent. All dendritic recordings were performed farther than 300  $\mu\text{m}$  from the soma (range 300–450  $\mu\text{m}$ ), close to or within stratum lacunosum moleculare.

### Computational modelling

All simulations were implemented and run with the NEURON program (Hines and Carnevale, 1997), using the variable time step feature. The model and simulation files are available for public download under the ModelDB Section of the Senselab database (<http://senselab.med.yale.edu>).

The 3D reconstruction of the CA1 pyramidal neuron was one of those used in a previous work (cell c62564) (Migliore et al., 2005), composed of 822 compartments. The same standard, uniform, passive properties were used in all compartments ( $\tau_m = 28$  ms,  $R_m = 28$  k $\Omega$  cm<sup>2</sup>,  $R_a = 150$   $\Omega$  cm). Resting potential was set at  $-60$  or  $-70$  mV and temperature at 35 °C. In order to study and investigate the specific effects of  $I_h$ , and because all simulations were carried out under subthreshold conditions, additional active conductance were not included in the model. The  $I_h$  was inserted in all compartments and modeled as  $I_h(x) = \bar{g}_h \cdot (1 + 5x/100) \cdot n \cdot (v - E_{\text{rev}})$ , where  $\bar{g}_h = 0.5$  pS/ $\mu\text{m}^2$ ,  $E_{\text{rev}} = -30$  mV,  $v$  is the membrane potential, and  $x$  the distance (in  $\mu\text{m}$ ) from the soma. The voltage dependence of the activation gate variable was modeled as  $n = 1 / (1 + \exp(-(V - V_{1/2})/12))$ , with  $V_{1/2} = -90$  mV in the soma and proximal dendrites ( $< 100$   $\mu\text{m}$ ), shifted by  $-10$  mV for locations  $> 100$   $\mu\text{m}$  from the soma (Magee, 1998). To be consistent with experimental data, activation and deactivation time constants were modeled independently, using the same voltage dependence as  $\tau_n = \tau_0 \cdot \exp(0.033(V - V_t)) / (1 + \exp(0.083(V - V_t)))$ , with  $V_t = -75$  mV, but using  $\tau_0 = 740$  ms for activation (corresponding to the slow component measured experimentally with cell attached recordings, N. Poolos, personal communication) and  $\tau_0 = 82$  ms for deactivation. Experimental values were directly introduced in the model. The fact that amplification on the depolarizing phase is smaller in the model than in experimental dendrites (compare Figs. 1A and 5A) suggests that the deactivation time constant is underestimated. To provide the most realistic modelling, we decided to introduce measured values only in the model. We did not want to perform any parameter adjustment in order to exactly reproduce experiments (although the latter was achieved by a slight change of the deactivation time constant, not shown). To model the various experimental findings under epileptic conditions, simulations were carried out modifying the  $I_h$  kinetic by reducing  $\bar{g}_h$ , and/or  $\tau_0$  for activation, and/or shifting by  $-10$  mV the activation curve.

In all cases, the same experimental protocol of variable current injection was used in the model. All current injections and recordings were from the same dendritic compartment at 323  $\mu\text{m}$  from the soma.



**Fig. 1.** Deficit of theta resonance in CA1 pyramidal cell distal dendrites in epilepsy. (A) Membrane potential response of a hippocampal CA1 pyramidal cell distal dendrite (450  $\mu\text{m}$  from the soma) in a sham animal (lower trace) to injection of four wavelet function currents (1 to 4 Hz, upper trace). The dendrite was hyperpolarized to  $-70$  mV by steady current injection. Dashed lines indicate the peak depolarization and hyperpolarization at 1 Hz. Note that the peaks of the voltage responses increase with the frequency for both depolarizing and hyperpolarizing phases. Brief hyperpolarizing pulses were given between two wavelet injections to reset the membrane to control conditions. (B) Impedance magnitude calculated by dividing FFT(Voltage response) with FFT(Input) plotted as a function of input frequency, same dendrite as in (A). Note the sharp amplification in the low frequency range. (C) Impedance magnitude measured in a distal dendrite (480  $\mu\text{m}$  from the soma) in a pilocarpine-treated animal displaying spontaneous seizures (chronic stage). The dendrite was hyperpolarized to  $-70$  mV by steady current injection. Note the large reduction in resonance compared to that seen in (B). The  $I_h$  blocker ZD7288 (10  $\mu\text{M}$ ) totally abolished resonance, making the membrane act as a passive RC circuit (low pass band filter). (D) Summary histograms of resonance parameters in sham, seizure-free (latent) and epileptic (chronic) animals. There is a continuous decrease of the resonance frequency (Fres), amplification ratio (Q), and resonance width (W) during epileptogenesis. In addition to a deficit in resonance properties, dendrites are now tuned to respond to lower frequency inputs in latent and chronic animals. \*,  $p < 0.001$ .

### Statistical analysis

Unless otherwise stated, data were analysed by using Student's *t* test to make statistical comparisons between the two groups. When appropriate, we used analysis of variance (ANOVA, Bonferroni-corrected) and Mann–Whitney-*U*-test (as mentioned in the text). Data are expressed as mean  $\pm$  SEM. The significance level was set at  $p < 0.05$ .

## Results

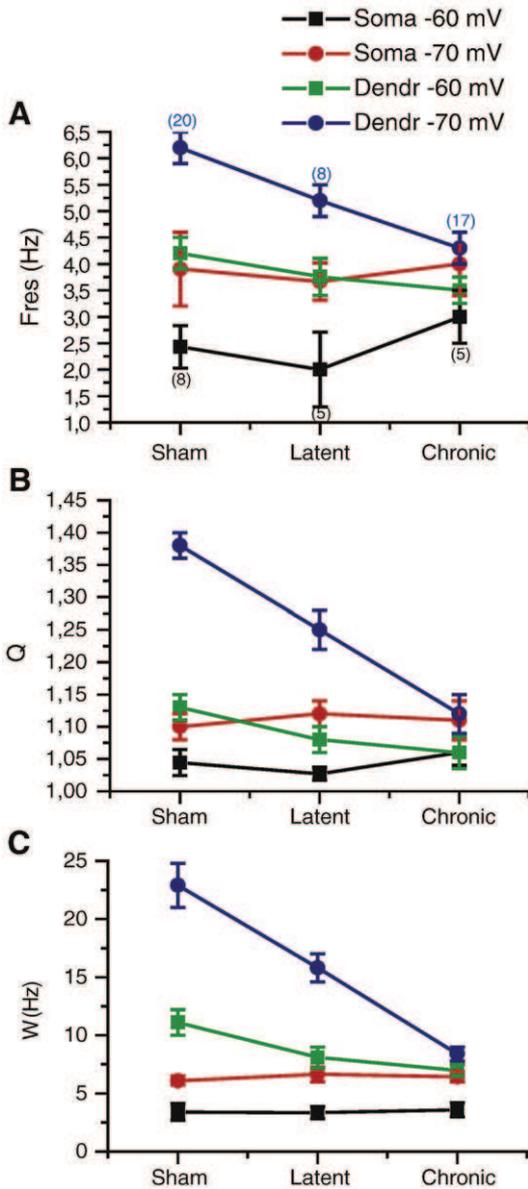
### Impairment of dendritic resonance during epileptogenesis

We first assessed the properties of resonance in hippocampal CA1 pyramidal cell distal dendrites, using whole-cell recordings in sham-treated rats. We measured the resonance frequency (Fres), the optimal input frequency with the largest amplitude, the amplification factor (Q) at Fres (compared to 1 Hz), and the width of resonance (W), the length of the resonance window. Injection of oscillating currents resulted in strong theta frequency resonance (Fig. 1; at  $-70$  mV; Fres =  $6.2 \pm 0.3$  Hz; Q =  $1.38 \pm 0.02$ ; W =  $22.9 \pm 1.9$  Hz;  $n = 20$ ). Resonance was both voltage- and location-dependent (Fig. 2 and additional Fig. 1). Application of the specific  $I_h$  antagonist ZD7288 (10  $\mu\text{M}$ ) abolished resonance at all membrane potentials between  $-80$  mV and  $-45$  mV (additional Fig. 1), showing that  $I_h$  activation is necessary for theta resonance in distal dendrites in this membrane potential range. Due to the selective attenuation of low (<4 Hz)

frequency inputs by  $I_h$  (additional Fig. 1), distal dendrites thus possess a powerful built-in mechanism to specifically respond to inputs in the theta band (Narayanan and Johnston, 2007).

We then investigated the fate of dendritic resonance in pilocarpine-treated rats which experienced status epilepticus (Fig. 1C). The resonance frequency and amplitude were both reduced during the latent period (Fig. 1D; at  $-70$  mV; Fres =  $5.2 \pm 0.3$  Hz; Q =  $1.25 \pm 0.03$ ; W =  $15.8 \pm 1.2$  Hz;  $n = 8$ ). Both of these resonance parameters were further decreased in epileptic animals (Figs. 1C, D; Fres =  $4.3 \pm 0.3$  Hz; Q =  $1.12 \pm 0.03$ ; W =  $8.4 \pm 0.6$  Hz;  $n = 17$ ). The amplification ratio, which was quite high in sham animals (140%), was thus severely reduced in epileptic animals (110%). As in the control animals, resonance was abolished in the presence of ZD7288 (Fig. 1C and additional Fig. 1;  $n = 5$ ), leading to a nearly passive dendritic response. Passive responses in the presence of ZD7288 were similar in sham and experimental animals (not shown). The alterations in theta resonance in distal dendrites in experimental TLE could dramatically change dendritic response to synaptic inputs at various frequencies, particularly in the theta band.

Since resonance is voltage-dependent (Fig. 2 and additional Fig. 1), altered resonance in experimental TLE could be compensated by alterations in resting membrane potential (RMP). RMP was statistically more negative in pilocarpine-treated animals (sham,  $-61 \pm 1$  mV,  $n = 20$ ; latent,  $-64 \pm 2$  mV,  $n = 8$ ; chronic,  $-65 \pm 1$  mV,  $n = 17$ ;  $p < 0.05$ ), in keeping with the downregulation of  $I_h$  in distal dendrites (see below). Resonance parameters measured at  $-65$  mV in pilocarpine-treated animals (Fres =  $3.3 \pm 0.3$  Hz; Q =  $1.07 \pm 0.03$ ;



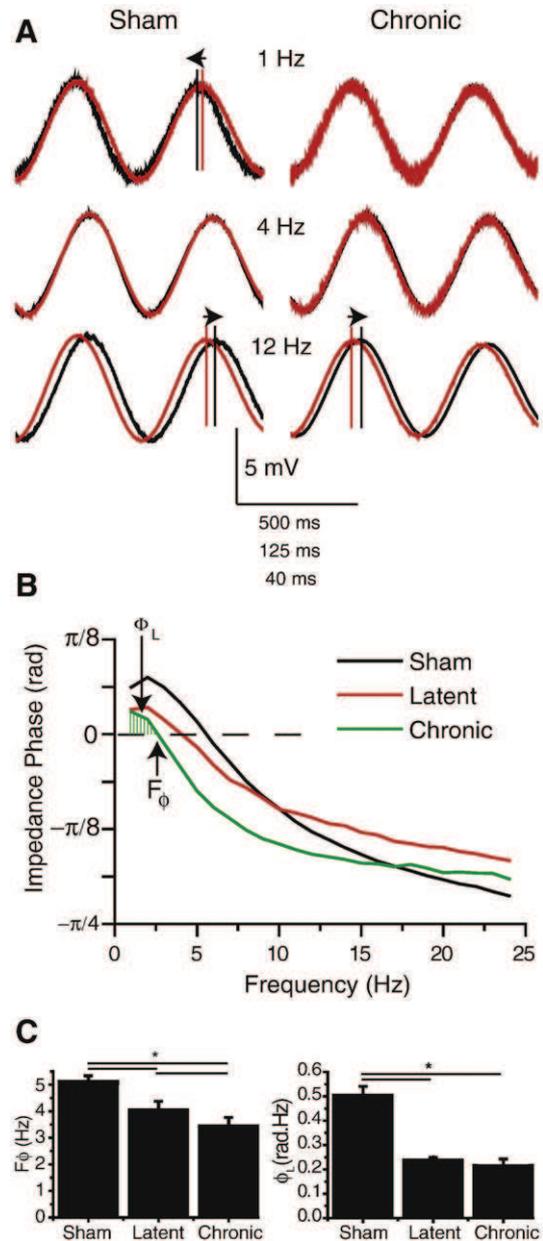
**Fig. 2.** Evolution of voltage- and location-dependency of resonance parameters during the latent and chronic periods. (A) Resonance frequency decreased during the latent and chronic periods in the dendrites at  $-60$  mV and  $-70$  mV, whilst it remained stable in the soma. Note that resonance frequency is smaller at  $-60$  mV than at  $-70$  mV in all conditions, reflecting the smaller activation of  $I_h$  at depolarized potentials. Interestingly, dendritic values reached somatic values during the chronic period. The same properties were found for the amplification ratio (B), and the resonance width (C).

$W=8.2\pm 0.5$  Hz;  $n=17$ ) remained lower than those measured at  $-60$  mV in sham animals ( $F_{res}=4.2\pm 0.3$  Hz;  $Q=1.13\pm 0.02$ ;  $W=11.1\pm 1.1$  Hz;  $n=20$ ;  $p<0.05$ ). Resonance was thus reduced in experimental animals at RMP.

Long-term potentiation is associated to widespread  $I_h$ -dependent increased resonance along the somato-dendritic axis, suggesting that  $I_h$  changes act as an homeostatic mechanisms to regulate synaptic plasticity and cell excitability (Narayanan and Johnston, 2007). In contrast to this physiological situation, resonance in CA1 pyramidal cell somata was unchanged during both the latent and chronic periods (Fig. 2), showing that the modifications are dendrite-specific. Interestingly, resonance parameters in dendrites converged towards somatic values during the chronic period (Fig. 2), suggesting a widespread normalization of resonance along the somato-dendritic axis.

Disruption of phase response during epileptogenesis

Since HCN channels behave like an inductance  $L$  in a RCL electrical circuit, they have a profound effect on the phase response in addition



**Fig. 3.** Persistent decrease in phase lead during epileptogenesis. (A) Representative voltage responses (black) to the 5th and 6th wavelet currents (red) at different frequencies in a distal dendrite in a sham (left panel) and in an epileptic (right panel) animal. The current amplitude has been normalized to the voltage response. In the sham animal, the voltage response leads the current at 1 Hz, lags it at 12 Hz, the phase reversing around 4 Hz. In the epileptic animal, the phase reversal is clearly shifted toward lower frequencies. (B) Representative impedance phase profiles of three distal dendrites in sham (black), latent (red) and chronic (green) animals. Each curve is characterized by two regions, one with positive impedance phase (phase lead), followed by a negative impedance phase (phase lag) as the frequency increases. The crossover frequency,  $F_\phi$ , is shown for the impedance phase measured in the chronic animal. The shaded green region represents the total inductive phase  $\phi_L$  for the dendrite recorded in the chronic animal. Note that  $F_\phi$  is shifted toward lower frequencies and that  $\phi_L$  decreases, during epileptogenesis. (C) Summary histograms of  $F_\phi$  and  $\phi_L$  in sham, latent and epileptic chronic animals. There is a continuous decrease of the crossover frequency ( $F_\phi$ ) during epileptogenesis. In contrast, there is a sharp decline of  $\phi_L$  during the latent period, which persists during the chronic period. \*,  $p<0.05$ .

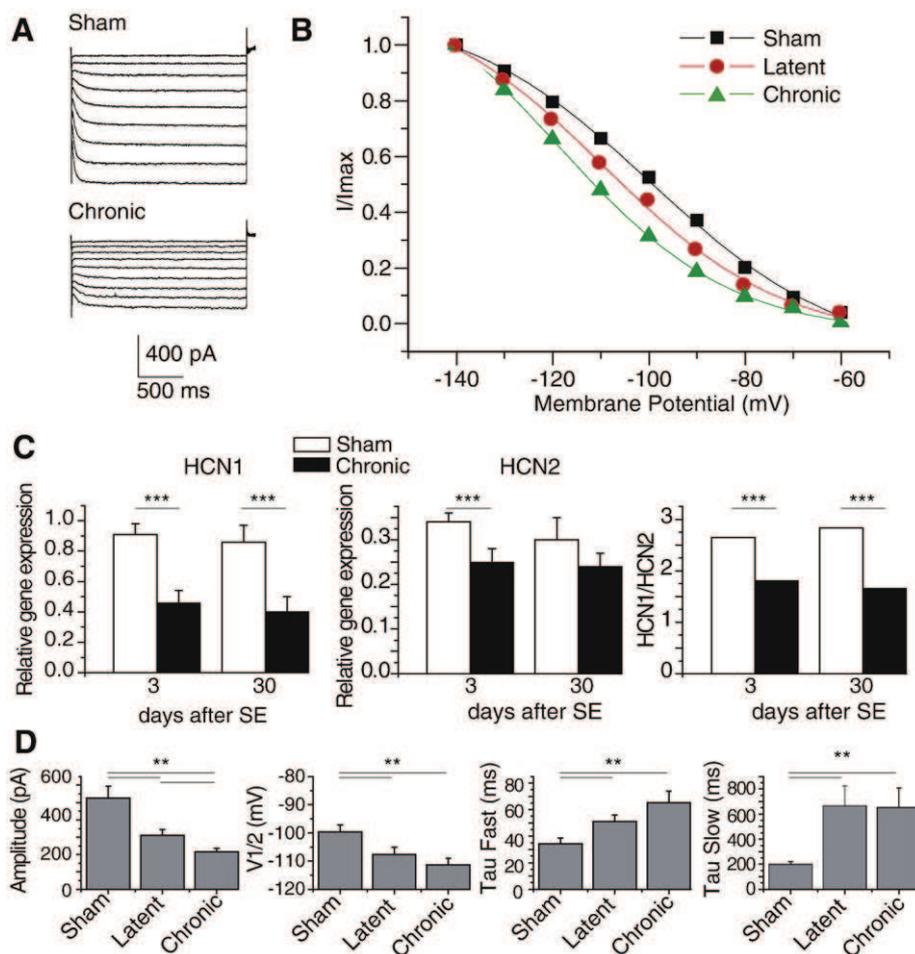
to their bandpass filter property (Narayanan and Johnston, 2008). Comparing the voltage response of the membrane with the injected current in sham animals, we noted that the voltage response led the current at 1 Hz, lagged the current at 12 Hz, the phase reversing between 4 and 6 Hz (Fig. 3A). Steady state was reached after 5 cycles of a wavelet at a given frequency (not shown). In the presence of ZD7288, phase lead was abolished at lower frequencies, the dendrites behaving as a RC circuit, producing phase lag only ( $n=5$ , not shown). HCN channels thus produce an apparent negative time delay of the membrane response vs. the injected current in the theta frequency range in the distal dendrites (Narayanan and Johnston, 2008).

This phase relationship was considerably modified in epileptic animals, the voltage response barely leading the injected current at low frequencies (Fig. 3A). The phase component as a function of the input frequency  $\phi(f)$  displayed a region of positive phase and a region of negative phase (Fig. 3B). The crossover frequency  $F_\phi$ , which was defined for  $\phi(f)=0$ , was shifted toward lower frequencies during epileptogenesis (Figs. 3B and C; at  $-70$  mV; sham,  $F_\phi = 5.1 \pm 0.2$  Hz,  $n=20$ ; latent,  $F_\phi = 4.0 \pm 0.4$  Hz,  $n=8$ ; chronic,  $F_\phi = 3.4 \pm 0.4$  Hz,  $n=17$ ). The total inductive phase,  $\Phi_L$  (Fig. 3B), which takes into account both the extent and amount of positive phase (Narayanan and Johnston, 2008), also decreased during epileptogenesis (Figs. 3B and C; at

$-70$  mV; sham,  $\Phi_L = 0.50 \pm 0.04$  rad.Hz,  $n=20$ ; latent,  $\Phi_L = 0.23 \pm 0.02$  rad.Hz,  $n=8$ ; chronic,  $\Phi_L = 0.21 \pm 0.03$  rad.Hz,  $n=17$ ). In keeping with previous results (Narayanan and Johnston, 2008),  $F_\phi$  and  $\Phi_L$  were voltage- and distance-dependent,  $F_\phi$  and  $\Phi_L$  decreasing as the membrane was depolarized, or when somatic recordings were performed (not shown). HCN channels thus provide distal dendrites with a mechanism to produce internal negative time delays in the theta frequency range in sham animals (Narayanan and Johnston, 2008). This mechanism is severely compromised during epileptogenesis; both the crossover frequency  $F_\phi$  and the amount of phase lead  $\Phi_L$  being reduced. Such alterations may change temporal coding in the distal dendrites.

*Reduced availability of dendritic  $I_h$  during epileptogenesis*

Since theta resonance in distal dendrites is  $I_h$ -dependent, we also measured  $I_h$  properties in the same dendrites where resonance was measured. As recently reported (Jung et al., 2007), we found a gradual decrease of  $I_h$  amplitude during epileptogenesis (Figs. 4A and D; at  $-140$  mV; sham,  $526 \pm 69$  pA,  $n=20$ ; latent,  $312 \pm 32$  pA,  $n=8$ ; epileptic,  $216 \pm 20$  pA,  $n=17$ ). With the use of quantitative real-time reverse transcription polymerase, we also noted a significant reduction in



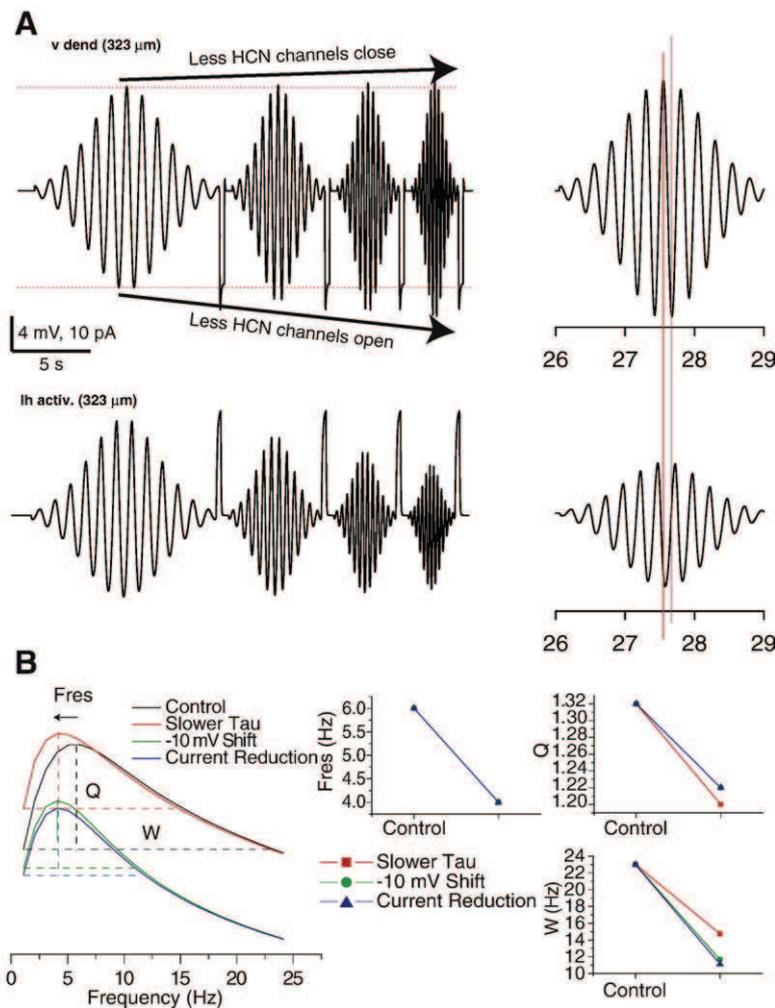
**Fig. 4.** Persistent decrease in  $I_h$  availability during epileptogenesis. (A) Representative  $I_h$  activation in CA1 pyramidal cell dendrites in a sham (420  $\mu$ m from the soma) and in an epileptic animal (450  $\mu$ m from the soma). Note the decrease in current amplitude and the slower activation. (B) Average  $I_h$  activation curves fitted with a Boltzman function in sham (filled black squares,  $n=20$ ), latent (filled red circles,  $n=8$ ), and chronic (filled green triangles,  $n=17$ ) animals. Note the shift of the activation curve toward more hyperpolarized values in experimental animals, thus reducing  $I_h$  availability. (C) HCN1 and HCN2 mRNA levels determined relative to the reference gene synaptophysin were decreased during the early phase of the latent period, and persisted in epileptic animals, in keeping with the decrease in  $I_h$  currents. The decrease in HCN2 mRNA 30 days after SE did not reach significance ( $p=0.07$ , Mann-Whitney-U-test). The HCN1/HCN2 ratio was also modified in favour of HCN2, indicating a possible modification in subunit composition. (D) Summary histograms of  $I_h$  properties in sham, latent and epileptic animals. Note the constant decrease in  $I_h$  current. The shift in the activation curve and the increase in the fast and slow activation time constants were not further modified in epileptic animals (the trend was not statistically significant). \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$  (Mann-Whitney-U-test).

HCN1 (Fig. 4C; latent 49%,  $n=5$ ; chronic 54%,  $n=5$ ) and HCN2 (Fig. 4C; latent 26%,  $n=5$ ; chronic 21%,  $n=5$ ) mRNA amounts, and a reduction in the HCN1/HCN2 ratio (Fig. 4C; latent 32%,  $n=5$ ; chronic 41%,  $n=5$ ). The loss of HCN subunits may largely contribute to the decrease in  $I_h$  amplitude in the distal dendrites.

Altered channel kinetics also reduced  $I_h$  availability. The time constants for activation were increased (Fig. 4D; at  $-120$  mV;  $\tau_{fast}$ , sham,  $34 \pm 4$  ms,  $n=20$ ; latent,  $51 \pm 4$  ms,  $n=8$ ; epileptic,  $65 \pm 9$  ms,  $n=17$ ;  $\tau_{slow}$ , sham,  $199 \pm 23$  ms,  $n=20$ ; latent,  $666 \pm 158$  ms,  $n=8$ ; epileptic,  $653 \pm 157$  ms,  $n=17$ ). In addition, the membrane potential for half-maximal activation ( $V_{1/2}$ ) of  $I_h$  was shifted towards more hyperpolarized values (Figs. 4B and D; sham,  $V_{1/2} = -99.6 \pm 2.5$  mV,  $n=20$ ; latent,  $V_{1/2} = -107.6 \pm 2.6$  mV,  $n=8$ ; epileptic,  $V_{1/2} = -111.3 \pm 2.3$  mV,  $n=17$ ). Measurement of  $I_h$  properties in whole-cell configuration is prone to errors because of series resistance and space clamp problems. Access resistance was not statistically different between sham- and pilocarpine-treated animals (sham,  $23 \pm 3$  M $\Omega$ ,  $n=20$ ; latent,  $26 \pm 3$  M $\Omega$ ,  $n=8$ ; chronic,  $27 \pm 2$  M $\Omega$ ,  $n=17$ ). The dendrite capacitance was not modified (sham,  $264 \pm 46$  pF,  $n=20$ ; latent,  $260 \pm 37$  pF,  $n=8$ ; chronic,  $206 \pm 43$  pF,  $n=17$ ). Thus, it was not necessary to normalize HCN currents to

the capacitance. Space clamp errors due to the location of the recording site and dendritic tree geometry were similar in sham and experimental animals, since recordings were performed at similar locations and no major morphological differences were noted in CA1 pyramidal cell dendrites close to the recording sites (El Hassar et al., 2007; Esclapez et al., 1999). However, the decrease in  $I_h$  in experimental animals will increase the clamp quality because of increased somato-dendritic coupling (Kole et al., 2007; Ulrich, 2002; Williams and Mitchell, 2008). As a result,  $I_h$  measurements are overestimated in experimental animals as compared to sham, further supporting our conclusions.

As reported previously (Jung et al., 2007),  $I_h$  properties were similar in pyramidal cell soma during epileptogenesis (amplitude at  $-140$  mV: sham,  $230 \pm 36$  pA,  $n=8$ ; latent,  $205 \pm 19$  pA,  $n=5$ ; epileptic,  $175 \pm 32$  pA,  $n=5$ ;  $V_{1/2}$ : sham,  $-92.7 \pm 1.7$  mV,  $n=8$ ; latent,  $-93.5 \pm 3.8$  mV,  $n=5$ ; epileptic,  $-93.8 \pm 4.2$  mV,  $n=5$ ; tau: sham,  $24.4 \pm 1.3$  ms,  $n=8$ ; latent,  $26.2 \pm 2.7$  ms,  $n=5$ ; epileptic,  $23.5 \pm 2.6$  ms,  $n=5$ ). We conclude that TLE is associated with a persistent acquired channelopathy affecting  $I_h$  specifically in the dendritic compartment. Such channelopathy starts at early stages of epileptogenesis, in effect slowing and dampening the hyperpolarization-induced activation of  $I_h$ .

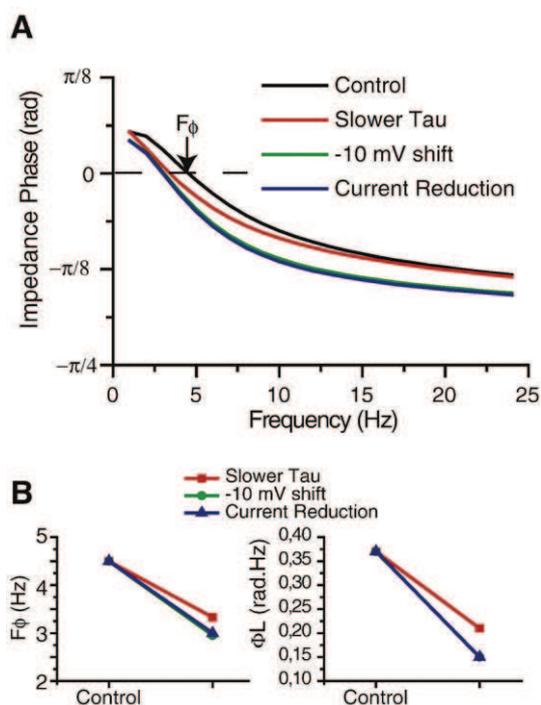


**Fig. 5.** Multicompartmental modelling showing the mechanism of  $I_h$ -dependent resonance in the dendrites and the consequences of altering  $I_h$  properties on resonance parameters. (A) Membrane potential response of a modeled hippocampal CA1 pyramidal cell distal dendrite (323 μm from the soma) to injection of four wavelet function currents (1 to 4 Hz, upper left trace). The dendrite was hyperpolarized to  $-70$  mV by steady current injection. The lower left panel displays the activation of  $I_h$  channels at the recording location. The right panels show both responses to the 4 Hz wavelet injection. The two vertical lines are centred on the peak membrane depolarization and hyperpolarization of the membrane, respectively.  $I_h$  activates on the hyperpolarization phase, with a delay, which depends upon the activation time constant. (B) Increasing the activation time constant by 100%, shifting the activation curve by  $-10$  mV, and decreasing the  $I_h$  current by 50% reduced resonance parameters. Left panel. Effect on impedance magnitude. Right panel. Effect on resonance parameters. Any decrease in  $I_h$  availability tunes dendrites to lower frequencies (from 6 to 4 Hz) and disrupts the amplification mechanism.

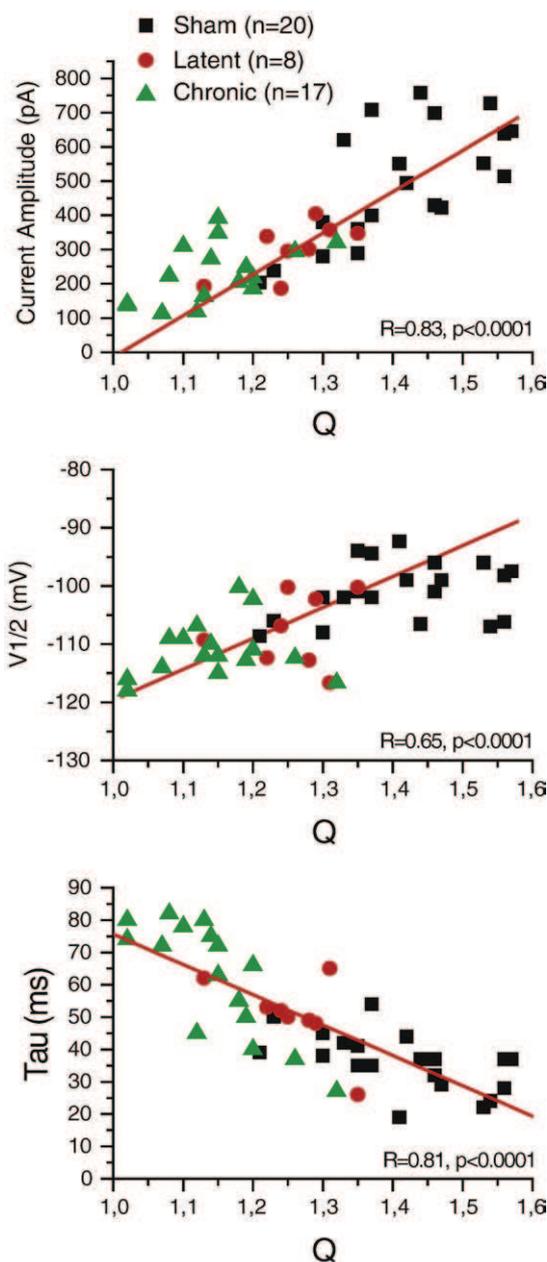
Changes in  $I_h$  properties are sufficient to explain altered resonance and phase responses in experimental TLE

With the use of a multicompartmental, dendritic computer model of a CA1 pyramidal cell, containing  $I_h$ , we investigated resonance and phase responses, using experimentally measured  $I_h$  values. Injection of oscillating currents resulted in dendritic resonance (Figs. 5A, B; at  $-70$  mV;  $F_{res}=6$ ;  $Q=1.32$ ,  $W=23$ ; at  $-60$  mV;  $F=4$ ;  $Q=1.18$ ,  $W=10$ ), similar to experimental values; confirming that resonance can be achieved with HCN channels only (Narayanan and Johnston, 2007). Alterations in  $I_h$  parameters clearly modified the measured resonance and phase response. Slowing down the activation time constant, shifting the activation curve toward more hyperpolarized values, and reducing HCN density (using experimentally values measured in pilocarpine-treated animals) resulted in the observed slower frequency and decreased amplitude of resonance (Fig. 5B), as well as in the reduced  $F_\phi$  and  $\phi_L$  values (Fig. 6).

The reduction in resonance amplitude, optimal frequency and phase response found in experimental TLE could thus result from all the three changes in  $I_h$  properties. Model predictions could be verified experimentally, as resonance, phase response, and  $I_h$  properties were measured at the same recording site for each experiment in sham, latent and epileptic animals. We found that the amplification ratio  $Q$  was linearly proportional to  $I_h$  amplitude,  $V_{1/2}$  and time constant (Fig. 7).  $F_\phi$  and  $\phi_L$  were also found proportional to  $I_h$  amplitude and  $Q$  (Fig. 8), as well as to  $V_{1/2}$  and time constant (not shown). Modelling predict that  $Q$  and  $\phi_L$  follow a bell shaped as a function of  $V_{1/2}$  over a wide range of values (Narayanan and Johnston, 2007; Narayanan and Johnston, 2008). However, in the physiologically relevant values measured here,  $Q$  and  $\phi_L$  were linearly proportional to  $V_{1/2}$ . Resonance and phase response thus directly depend upon  $I_h$  availability, including in sham animals. Their erosion clearly appears in latent and epileptic animals.



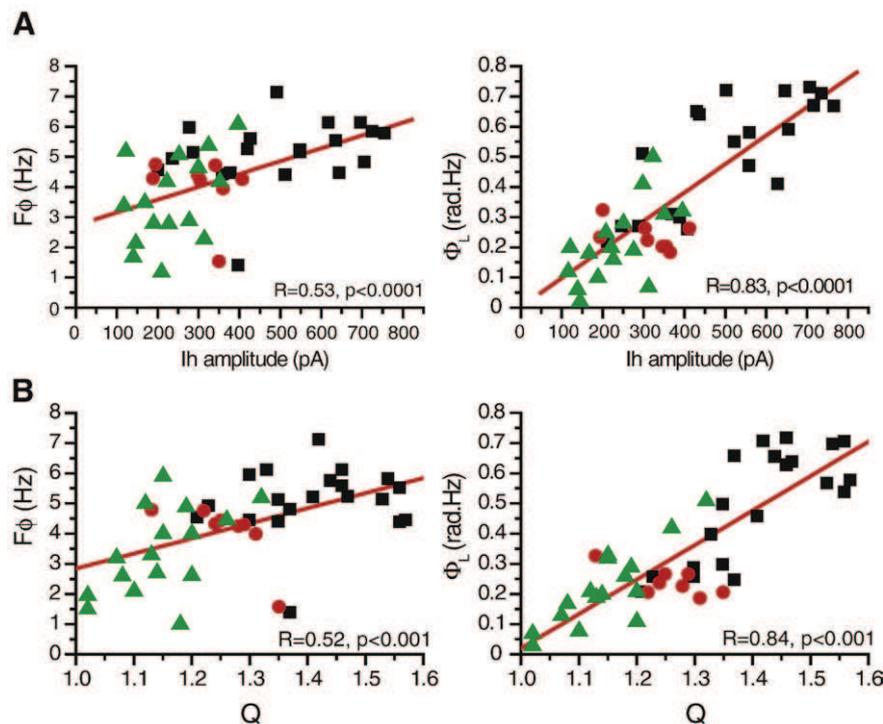
**Fig. 6.** Multicompartmental modelling showing the consequences of altering  $I_h$  properties on phase response. (A) Impedance phase profile as a function of frequency for different  $I_h$  parameter values. (B) Increasing the activation time constant by 100%, shifting the activation curve by  $-10$  mV, and decreasing the  $I_h$  current by 50% reduced  $F_\phi$  (left panel) and  $\phi_L$  (right panel). Any decrease in  $I_h$  availability disrupts the time relationship between the input currents and the membrane potential response.



**Fig. 7.** Linear relationship between the amplification ratio  $Q$ , and  $I_h$  amplitude,  $V_{1/2}$  and tau in sham, latent and chronic animals for all recorded dendrites. Note that  $Q$  correlates to  $I_h$  amplitude,  $V_{1/2}$  and tau.

Reduced theta activity in vivo during epileptogenesis

The major hippocampal theta generators, the septum, hippocampus, and the entorhinal cortex (Buzsaki, 2002), comprise neurons expressing strong  $I_h$  currents (Hu et al., 2002; Klink and Alonso, 1993; Manseau et al., 2008; Pike et al., 2000), which appear to be necessary to theta rhythmic activities (Rotstein et al., 2005). HCN down-regulation in entorhinal layer III (Shah et al., 2004), CA1 pyramidal cells (Jung et al., 2007) and CA1 O-LM interneurons (Dugladze et al., 2007) removes a powerful resonance mechanism from these oscillating structures. Since altering resonance alters oscillation power (Maex and De, 2003), we recorded theta activity *in vivo* in the CA1 region during exploratory behaviour. We performed a longitudinal study starting 7 days before and up to 25 days after pilocarpine injection. Theta power and frequency remained stable in sham animals during the whole course of the study (Figs. 9A, B;  $n=4$ ). In contrast, there was



**Fig. 8.** Linear relationship between  $F_\phi$  and  $\phi_L$ , and  $I_h$  amplitude (A), as well as between  $F_\phi$  and  $\phi_L$ , and the amplification ratio  $Q$  (B), in sham, latent and chronic animals for all recorded dendrites. Note that  $F_\phi$  and  $\phi_L$  correlate to  $I_h$  amplitude and  $Q$ .

a 70% decrease in theta power and a shift of its peak frequency toward lower values (Fig. 9;  $n=6$ ) as early as 4 days after pilocarpine-induced status epilepticus. These alterations persisted up to day 25. They correlated with the *in vitro* decreased theta resonance and the shift of  $F_{res}$  towards lower values. They were specific to theta power as the 1–100 Hz EEG power spectrum remained stable throughout in all animals (Fig. 9C). Thus, alterations in theta activity did not result from a non-specific damaging effect of the electrodes, as the decrease was specific to the theta band, theta activity remained stable in non-SE animals (additional Fig. 2).

Decreased theta activity in experimental animals strongly correlates with the diminished dendritic resonance due to HCN function downregulation.

## Discussion

Our results highlight the significant changes in dendritic  $I_h$ , frequency dependence of resonance and phase response in the pilocarpine TLE model. These results expand on the HCN channelopathy reported by Jung et al. (2007) in experimental TLE, and on dendritic resonance and phase response plasticity (Narayanan and Johnston, 2007, 2008). Additionally, we have extended the *in vitro* data to a correlation with *in vivo* EEG data on theta rhythm reduction in this experimental model, proposing a link between the compromised theta power *in vivo* and the severe reduction in dendritic  $I_h$  *in vitro*.

### Decreased availability of $I_h$

Reduced h current likely stems from decreased HCN mRNA expression, in keeping with the reported diminished HCN protein levels (Jung et al., 2007). In contrast, Shin et al., who used a different model of TLE, reported a lack of modification in protein expression (Shin et al., 2008). Despite these discrepancies, all studies point at reduced  $I_h$  current, possibly via an activity-dependent process (Richichi et al., 2008; Zha et al., 2008), suggesting that decreased  $I_h$  availability may take different pathways. Although HCN1 and HCN2

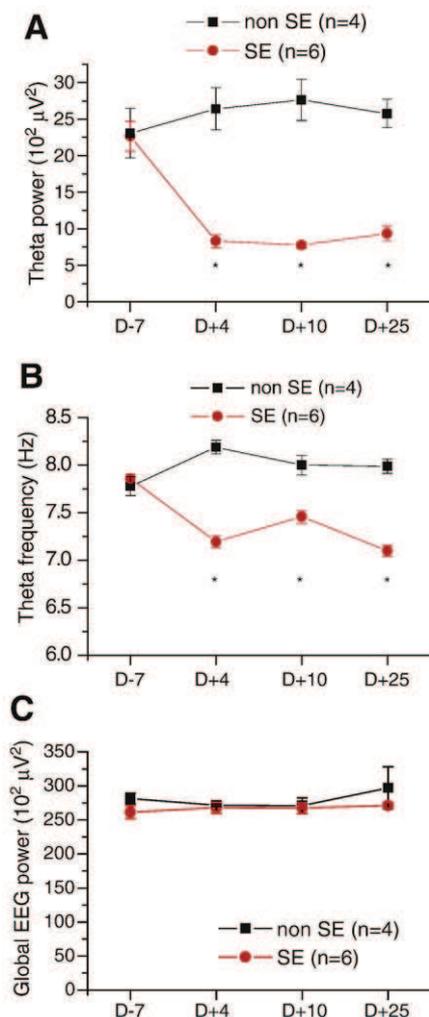
mRNA amounts did not change between the latent and chronic periods, h currents were smaller, suggesting additional posttranslational mechanisms during the chronic period, such as a relocation of HCN subunits from distal dendrites to the soma (Shin et al., 2008). A different subunit composition, perhaps reverting to an early developmental stage (Surges et al., 2006), may contribute to the changes in kinetics. Altered phosphorylation levels (Poolos et al., 2006) and/or the formation of heteromeric channels (Brewster et al., 2005; Zha et al., 2008) could also change  $I_h$  properties. Interestingly, in the immediate post status epilepticus period (1–2 days),  $I_h$  is specifically increased in the soma (Shin et al., 2008). In contrast, seven days post status epilepticus, we found that  $I_h$  properties were similar in pyramidal cell somata in sham and experimental animals. Together, these results show that HCN channels display complex time-, and space-dependent reorganization.

### Decreased resonance and phase responses

Our results provide evidence that dendritic resonance in the theta frequency band is altered in an animal model of TLE, because of decreased  $I_h$  availability, thus providing direct confirmation of model predictions (Narayanan and Johnston, 2007, 2008). In keeping with this direct relationship between resonance and  $I_h$ , resonance is compromised in entorhinal layer II stellate cells in HCN1 deficient mice (Nolan et al., 2007). In our experimental conditions, activation of  $I_h$  was necessary for resonance up to  $-45$  mV in dendrites (not shown), in keeping with a recent study (Narayanan and Johnston, 2007), but we cannot rule an involvement of  $I_M$  at more depolarized potentials (Hu et al., 2002).

HCN channels also control the phase response in distal dendrites (Narayanan and Johnston, 2008). As predicted (Narayanan and Johnston, 2008), we show that the phase response depends linearly upon  $I_h$  availability in the range of the measured values, and that the phase response decreases with  $I_h$  availability during epileptogenesis.

Resonance can be controlled by various types of ionic channels (Hutcheon and Yarom, 2000). Numerous ionic channels display



**Fig. 9.** Decrease of theta power (A) and frequency (B) during epileptogenesis. The same animals were used for a longitudinal analysis 7 days before, and 4, 10 and 25 days after pilocarpine injection. Note the stability of the theta power (4–12 Hz) and frequency at the different time points in non SE animals. In contrast, animals that experienced SE and became epileptic after day 12, displayed a large decrease in theta power and a shift of the median theta frequency toward slower values early during the latent period. This phenomenon persisted in epileptic animals. \*,  $p < 0.0001$  (ANOVA). (C) Global 1–100 Hz EEG power was not affected during epileptogenesis and remained stable in both non SE and SE animals.

reactive plasticity following status epilepticus (Bernard et al., 2004; Su et al., 2002; Vreugdenhil et al., 2004), raising the possibility of compensatory mechanisms. For example, the up-regulation of dendritic T-type Ca<sup>2+</sup> channels and their facilitated activation by amplified backpropagating action potentials in TLE (Bernard et al., 2004; Su et al., 2002; Yaari et al., 2007), can potentially increase Ca<sup>2+</sup>-dependent theta oscillations in dendrites (Kamondi et al., 1998). If these mechanisms are at play, they are not sufficient to restore theta resonance and phase lead. The loss of these I<sub>h</sub>-dependent mechanisms is not compensated in our experimental conditions.

To study resonance and phase response, we used direct current injections. However, current membrane fluctuations overestimate resonance as compared to conductance based ones (Fernandez and White, 2008). A large increase in membrane conductance (40%) leads to a 20% reduction in resonance, suggesting that resonance may be abolished in the soma where it is small, but not in the dendrites where it is large, in conditions of high conductance (Fernandez and White, 2008). In physiological conditions, I<sub>h</sub> can be bi-directionally modified (Brager and Johnston, 2007; Fan et al., 2005). Whereas

long-term potentiation is associated with a uniform increase in resonance and phase response along the somato-dendritic axis (Narayanan and Johnston, 2007, 2008), the decreased resonance and phase response we describe appears to be constrained to the dendritic compartment. This is consistent with the relocalization of HCN1 subunits to the soma, possibly because of altered interaction between HCN subunits with TRIP8b (Shin et al., 2008). It further supports the idea that synaptic and ionic channel alterations are cell compartment-dependent in experimental TLE (Cossart et al., 2001; El Hassar et al., 2007). A persistent upregulation of somatic HCN channels has been reported in an experimental model of febrile seizures (Chen et al., 2001b). It will be interesting to investigate theta resonance and rhythm in this model.

#### Functional consequences

Decreased I<sub>h</sub> availability in experimental TLE lowers the high-conductance state of dendrites, thus reducing their temporal processing abilities and enhancing their sensitivity to synchronized inputs (Destexhe et al., 2003; Shin et al., 2008). Indeed, the membrane response is larger at low frequencies in experimental animals than in sham. These results were obtained in the presence of glutamatergic and GABAergic receptor antagonists. In more physiological conditions, dendritic membrane properties appear similar in sham and epileptic animals (Cossart et al., 2001; El Hassar et al., 2007). Alterations in the synaptic drive most likely account for this conductance compensation (Cossart et al., 2001; El Hassar et al., 2007). Resonance will thus be more reduced by high conductance states in experimental animals than in sham.

Does decreased resonance contribute to reduced theta activity *in vivo*? Two observations support a relationship between resonance and theta power. Theta activity is decreased *in vivo* following blockade of I<sub>h</sub>, which should abolish I<sub>h</sub>-dependent resonance (Xu et al., 2004). Resonance and rhythm power co-vary in oscillating systems (Maex and De, 2003). Experimental epilepsy is associated with considerable reorganizations within structures driving/controlling hippocampal theta, including the loss of layer III entorhinal cells (Du et al., 1995), hippocampal O-LM cells (Cossart et al., 2001; Dugladze et al., 2007), and GABAergic septal interneurons (Garrido Sanabria et al., 2006). These neurons display large I<sub>h</sub> currents, suggesting their implication in oscillations (Manseau et al., 2008; Pike et al., 2000; Rotstein et al., 2005; Shah et al., 2004). Their loss, as well as HCN downregulation in the surviving ones (Dugladze et al., 2007; Shah et al., 2004), may have a large impact on theta oscillations (Dugladze et al., 2007). Finally, the synaptic reorganization of the hippocampal circuitry in experimental TLE may also have a large influence on the ability for the system to generate adequate theta activity (Buzsaki, 2002; Morimoto et al., 2004). The exact consequences of the loss of I<sub>h</sub>-dependent resonance on theta power and frequency awaits further analysis. It may be significant because I<sub>h</sub> appears central for theta genesis (Rotstein et al., 2005). Although causality cannot be established, it is interesting to note that the I<sub>h</sub>-dependent bandpass properties and the mean theta frequency were both shifted to lower frequencies in experimental animals. Affecting the resonance frequency of coupled oscillators strongly affects their rhythmic interactions (Maex and De, 2003). In contrast to this scheme, HCN1 deficient mice display increased theta power *in vivo* in the CA1 pyramidal cell layer (Nolan et al., 2004). However, when constructing a neuronal network, as would be the case in a knock-out animal, oscillatory activities can emerge even if the h current is minimal, because the system can use different channel combinations to produce the same output (Prinz et al., 2004). Since HCN genes co-vary with other genes to insure stable neuronal computation (Schulz et al., 2007), such compensatory mechanisms may have been triggered in HCN1 deficient mice. An inducible HCN1 knock out would address this important issue.

Because theta activity is central to many cognitive and memory processes (Buzsaki, 2006), altered theta oscillation power may contribute to cognitive deficits found in experimental epilepsy (Lenck-Santini and Holmes, 2008; Liu et al., 2003; Sutula et al., 1995), since theta power and cognitive performance co-vary (Nolan et al., 2004; Xu et al., 2004). Temporal coding and timing is another essential component of brain function (Buzsaki, 2006).  $I_h$ -dependent phase lead in the theta range could play a key role in numerous processes including phase precession, phase locking and spike timing (Narayanan and Johnston, 2008). The alteration of the phase response we describe could play a role in the modifications of phase precession and compression of temporal sequences by hippocampal place cells in experimental TLE (Lenck-Santini and Holmes, 2008). Therapeutic strategies aiming at restoring resonance and phase response may have a positive impact on cognitive function.

In conclusion, HCN downregulation may have a triple functional impact. The change in dendritic signal processing, adding to the already described alterations to the hippocampal circuitry (El Hassar et al., 2007; Morimoto et al., 2004), could contribute to the emergence of pathological interictal-like activities (El Hassar et al., 2007). As such, HCN channels may be involved in the construction of an epileptogenic network (Staley et al., 2005). The other impact is on the oscillogenic capacities of the circuitry, in both gain and time domains, already during the latent period, although the causal relationship between the loss of  $I_h$ -dependent resonance/phase response and decreased *in vivo* theta remains to be established. As HCN channels appear down-regulated in human epileptic tissue (Wierschke et al., 2006), they constitute promising therapeutic targets (Poolos et al., 2002; Poolos, 2005), not only for seizure control, but also for cognitive performance improvement.

## Acknowledgments

This work was supported by Inserm, Fédération pour la Recherche sur le Cerveau (FRC), Fondation Française pour la Recherche sur l'Epilepsie (FFRE), and Agence Nationale pour la Recherche (ANR, ANTARES project). A.B. was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB TR3) and BMBF (German Israeli Programme). We wish to express our thanks to M. Le Van Quyen for designing the wavelets and matlab modules, to M. Fontes for hosting us in his laboratory, and to C. Flynn and D. Turner for critically reading the manuscript.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.nbd.2008.11.019.

## References

- Bernard, C., Anderson, A., Becker, A., Poolos, N.P., Beck, H., Johnston, D., 2004. Acquired dendritic channelopathy in temporal lobe epilepsy. *Science* 305, 532–535.
- Brager, D.H., Johnston, D., 2007. Plasticity of intrinsic excitability during long-term depression is mediated through mGluR-dependent changes in  $I_h$  in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 27, 13926–13937.
- Brewster, A.L., Bernard, J.A., Gall, C.M., Baram, T.Z., 2005. Formation of heteromeric hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) channels in the hippocampus is regulated by developmental seizures. *Neurobiol. Dis.* 19, 200–207.
- Buzsaki, G., 2002. Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 33, 325–340.
- Buzsaki, G., 2006. Rhythms of the Brain. Oxford University Press Inc, New York.
- Chen, J., Sochivko, D., Beck, H., Marechal, D., Wiestler, O.D., Becker, A.J., 2001a. Activity-induced expression of common reference genes in individual CNS neurons. *Lab. Invest.* 81, 913–916.
- Chen, K., Aradi, I., Thon, N., Eghbal-Ahmadi, M., Baram, T.Z., Soltesz, I., 2001b. Persistently modified h-channels after complex febrile seizures convert the seizure-induced enhancement of inhibition to hyperexcitability. *Nat. Med.* 7, 331–337.
- Cossart, R., Dinocourt, C., Hirsch, J.C., Merchán-Pérez, A., De, F.J., Ben-Ari, Y., Esclapez, M., Bernard, C., 2001. Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental epilepsy. *Nat. Neurosci.* 4, 52–62.
- Destexhe, A., Rudolph, M., Pare, D., 2003. The high-conductance state of neocortical neurons *in vivo*. *Nat. Rev. Neurosci.* 4, 739–751.
- Du, F., Eid, T., Lothman, E.W., Kohler, C., Schwarcz, R., 1995. Preferential neuronal loss in layer III of the medial entorhinal cortex in rat models of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci.* 15, 6301–6313.
- Dugladze, T., Vida, I., Tort, A.B., Gross, A., Otahal, J., Heinemann, U., Kopell, N.J., Gloveli, T., 2007. Impaired hippocampal rhythmicogenesis in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Proc Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 17530–17535.
- El Hassar, L., Milh, M., Wendling, F., Ferrand, N., Esclapez, M., Bernard, C., 2007. Cell domain-dependent changes in the glutamatergic and GABAergic drives during epileptogenesis in the rat CA1 region. *J. Physiol.* 578, 193–211.
- Esclapez, M., Hirsch, J.C., Ben-Ari, Y., Bernard, C., 1999. Newly formed excitatory pathways provide a substrate for hyperexcitability in experimental temporal lobe epilepsy. *J. Comp. Neurol.* 408, 449–460.
- Fan, Y., Fricker, D., Brager, D.H., Chen, X., Lu, H.C., Chitwood, R.A., Johnston, D., 2005. Activity-dependent decrease of excitability in rat hippocampal neurons through increases in  $I_h$ . *Nat. Neurosci.* 8, 1542–1551.
- Fernandez, F.R., White, J.A., 2008. Artificial synaptic conductances reduce subthreshold oscillations and periodic firing in stellate cells of the entorhinal cortex. *J. Neurosci.* 28, 3790–3803.
- Fink, L., Seeger, W., Ermert, L., Hanze, J., Stahl, U., Grimminger, F., Kummer, W., Bohle, R.M., 1998. Real-time quantitative RT-PCR after laser-assisted cell picking. *Nat. Med.* 4, 1329–1333.
- Garrido Sanabria, E.R., Castaneda, M.T., Banuelos, C., Perez-Cordova, M.G., Hernandez, S., Colom, L.V., 2006. Septal GABAergic neurons are selectively vulnerable to pilocarpine-induced status epilepticus and chronic spontaneous seizures. *Neuroscience* 142, 871–883.
- Hines, M.L., Carnevale, N.T., 1997. The NEURON simulation environment. *Neural Comput.* 9, 1179–1209.
- Hu, H., Vervaeke, K., Storm, J.F., 2002. Two forms of electrical resonance at theta frequencies, generated by M-current, h-current and persistent  $Na^+$  current in rat hippocampal pyramidal cells. *J. Physiol.* 545, 783–805.
- Hutcheon, B., Yarom, Y., 2000. Resonance, oscillation and the intrinsic frequency preferences of neurons. *Trends Neurosci.* 23, 216–222.
- Jung, S., Jones, T.D., Lugo Jr., J.N., Sheerin, A.H., Miller, J.W., D'Ambrosio, R., Anderson, A.E., Poolos, N.P., 2007. Progressive dendritic HCN channelopathy during epileptogenesis in the rat pilocarpine model of epilepsy. *J. Neurosci.* 27, 13012–13021.
- Kamondi, A., ACSady, L., Wang, X.J., Buzsaki, G., 1998. Theta oscillations in somata and dendrites of hippocampal pyramidal cells *in vivo*: activity-dependent phase-precession of action potentials. *Hippocampus* 8, 244–261.
- Klink, R., Alonso, A., 1993. Ionic mechanisms for the subthreshold oscillations and differential electroresponsiveness of medial entorhinal cortex layer II neurons. *J. Neurophysiol.* 70, 144–157.
- Kole, M.H., Letzkus, J.J., Stuart, G.J., 2007. Axon initial segment Kv1 channels control axonal action potential waveform and synaptic efficacy. *Neuron* 55, 633–647.
- Lenck-Santini, P.P., Holmes, G.L., 2008. Altered phase precession and compression of temporal sequences by place cells in epileptic rats. *J. Neurosci.* 28, 5053–5062.
- Liu, X., Muller, R.U., Huang, L.T., Kubie, J.L., Rotenberg, A., Rivard, B., Cilio, M.R., Holmes, G.L., 2003. Seizure-induced changes in place cell physiology: relationship to spatial memory. *J. Neurosci.* 23, 11505–11515.
- Maex, R., De, S.E., 2003. Resonant synchronization in heterogeneous networks of inhibitory neurons. *J. Neurosci.* 23, 10503–10514.
- Magee, J.C., 1998. Dendritic hyperpolarization-activated currents modify the integrative properties of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J. Neurosci.* 18, 7613–7624.
- Manseau, F., Goutagny, R., Danik, M., Williams, S., 2008. The hippocamposeptal pathway generates rhythmic firing of GABAergic neurons in the medial septum and diagonal bands: an investigation using a complete septohippocampal preparation *in vitro*. *J. Neurosci.* 28, 4096–4107.
- Migliore, M., Ferrante, M., Ascoli, G.A., 2005. Signal propagation in oblique dendrites of CA1 pyramidal cells. *J. Neurophysiol.* 94, 4145–4155.
- Morimoto, K., Fahnestock, M., Racine, R.J., 2004. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog. Neurobiol.* 73, 1–60.
- Narayanan, R., Johnston, D., 2007. Long-term potentiation in rat hippocampal neurons is accompanied by spatially widespread changes in intrinsic oscillatory dynamics and excitability. *Neuron* 56, 1061–1075.
- Narayanan, R., Johnston, D., 2008. The h channel mediates location dependence and plasticity of intrinsic phase response in rat hippocampal neurons. *J. Neurosci.* 28, 5846–5850.
- Nolan, M.F., Malleret, G., Dudman, J.T., Buhl, D.L., Santoro, B., Gibbs, E., Vronskaya, S., Buzsaki, G., Siegelbaum, S.A., Kandel, E.R., Morozov, A., 2004. A behavioral role for dendritic integration: HCN1 channels constrain spatial memory and plasticity at inputs to distal dendrites of CA1 pyramidal neurons. *Cell* 119, 719–732.
- Nolan, M.F., Dudman, J.T., Dodson, P.D., Santoro, B., 2007. HCN1 channels control resting and active integrative properties of stellate cells from layer II of the entorhinal cortex. *J. Neurosci.* 27, 12440–12451.
- O'Keefe, J., Burgess, N., 2005. Dual phase and rate coding in hippocampal place cells: theoretical significance and relationship to entorhinal grid cells. *Hippocampus* 15, 853–866.
- Pike, F.G., Goddard, R.S., Suckling, J.M., Ganter, P., Kasthuri, N., Paulsen, O., 2000. Distinct frequency preferences of different types of rat hippocampal neurons in response to oscillatory input currents. *J. Physiol.* 529 (Pt 1), 205–213.
- Poolos, N.P., 2005. The h-channel: a potential channelopathy in epilepsy? *Epilepsy Behav.* 7, 51–56.
- Poolos, N.P., Migliore, M., Johnston, D., 2002. Pharmacological upregulation of h-channels reduces the excitability of pyramidal neuron dendrites. *Nat. Neurosci.* 5, 767–774.

- Poos, N.P., Bullis, J.B., Roth, M.K., 2006. Modulation of h-channels in hippocampal pyramidal neurons by p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Neurosci.* 26, 7995–8003.
- Prinz, A.A., Bucher, D., Marder, E., 2004. Similar network activity from disparate circuit parameters. *Nat. Neurosci.* 7, 1345–1352.
- Richichi, C., Brewster, A.L., Bender, R.A., Simeone, T.A., Zha, Q., Yin, H.Z., Weiss, J.H., Baram, T.Z., 2008. Mechanisms of seizure-induced 'transcriptional channelopathy' of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated (HCN) channels. *Neurobiol. Dis.* 29, 297–305.
- Rotstein, H.G., Pervouchine, D.D., Acker, C.D., Gillies, M.J., White, J.A., Buhl, E.H., Whittington, M.A., Kopell, N., 2005. Slow and fast inhibition and an H-current interact to create a theta rhythm in a model of CA1 interneuron network. *J. Neurophysiol.* 94, 1509–1518.
- Schulz, D.J., Goillard, J.M., Marder, E.E., 2007. Quantitative expression profiling of identified neurons reveals cell-specific constraints on highly variable levels of gene expression. *Proc Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 13187–13191.
- Shah, M.M., Anderson, A.E., Leung, V., Lin, X., Johnston, D., 2004. Seizure-induced plasticity of h channels in entorhinal cortical layer III pyramidal neurons. *Neuron* 44, 495–508.
- Shin, M., Brager, D., Jaramillo, T.C., Johnston, D., Chetkovich, D.M., 2008. Mislocalization of h channel subunits underlies h channelopathy in temporal lobe epilepsy. *Neurobiol. Dis.* 32, 26–36.
- Staley, K., Hellier, J.L., Dudek, F.E., 2005. Do interictal spikes drive epileptogenesis? *Neuroscientist* 11, 272–276.
- Su, H., Sochivko, D., Becker, A., Chen, J., Jiang, Y., Yaari, Y., Beck, H., 2002. Upregulation of a T-type Ca<sup>2+</sup> channel causes a long-lasting modification of neuronal firing mode after status epilepticus. *J. Neurosci.* 22, 3645–3655.
- Surges, R., Brewster, A.L., Bender, R.A., Beck, H., Feuerstein, T.J., Baram, T.Z., 2006. Regulated expression of HCN channels and cAMP levels shape the properties of the h current in developing rat hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 24, 94–104.
- Sutula, T., Lauersdorf, S., Lynch, M., Jurgella, C., Woodard, A., 1995. Deficits in radial arm maze performance in kindled rats: evidence for long-lasting memory dysfunction induced by repeated brief seizures. *J. Neurosci.* 15, 8295–8301.
- Ulrich, D., 2002. Dendritic resonance in rat neocortical pyramidal cells. *J. Neurophysiol.* 87, 2753–2759.
- Vreugdenhil, M., Hoogland, G., van Veelen, C.W., Wadman, W.J., 2004. Persistent sodium current in subicular neurons isolated from patients with temporal lobe epilepsy. *Eur. J. Neurosci.* 19, 2769–2778.
- Wierschke, S., Lehmann, T., Dehnicke, C., Nitsch, R., Deisz, R.A., 2006. Reductions of hyperpolarization-activated currents of human neocortical neurones correlate with severity of epilepsy. *Proc. Physiol. Soc.* 3, C105.
- Williams, S.R., Mitchell, S.J., 2008. Direct measurement of somatic voltage clamp errors in central neurons. *Nat. Neurosci.* 11, 790–798.
- Xu, C., Datta, S., Wu, M., Alreja, M., 2004. Hippocampal theta rhythm is reduced by suppression of the H-current in septohippocampal GABAergic neurons. *Eur. J. Neurosci.* 19, 2299–2309.
- Yaari, Y., Yue, C., Su, H., 2007. Recruitment of apical dendritic T-type Ca<sup>2+</sup> channels by backpropagating spikes underlies de novo intrinsic bursting in hippocampal epileptogenesis. *J. Physiol.* 580, 435–450.
- Zha, Q., Brewster, A.L., Richichi, C., Bender, R.A., Baram, T.Z., 2008. Activity-dependent heteromerization of the hyperpolarization-activated, cyclic-nucleotide gated (HCN) channels: role of N-linked glycosylation. *J. Neurochem.* 105, 68–77.

## Discussion

Cette étude met en évidence, dans le modèle pilocarpine, une canalopathie dendritique du courant  $I_h$  qui induit une diminution des propriétés de résonance à la fréquence thêta, au niveau des dendrites des cellules pyramidales de la région CA1. De manière intéressante, cette altération corrèle avec la baisse de puissance et de fréquence des oscillations thêta *in vivo*, au cours de l'épileptogénèse. Ainsi, je vais discuter ici de cette relation à deux niveaux différents (*in vitro/in vivo*). La résonance a été mesurée au sein des dendrites distales des cellules pyramidales de CA1, avec des valeurs de -70 mV essentiellement. Elle peut être observée à partir de -60 mV mais l'effet est moins fort. Ainsi, on peut s'interroger sur la valeur du potentiel de membrane des cellules enregistrées *in vivo*, et se demander si le potentiel de -70 mV était adapté aux conditions *in vivo*. De plus, il est dangereux d'établir une relation directe entre les mécanismes *in vitro* (cellulaires) et *in vivo* (combinaison des activités de milliers de neurones : activités locales, activité synaptique afférente, activité unitaire), d'autant plus que les enregistrements *in vivo* étaient obtenus à partir d'une électrode bipolaire dans la région CA1, électrode dont le diamètre ne permettait pas de mesurer le thêta spécifique de la couche *stratum lacunosum moleculare* mais plutôt un thêta global de la région CA1. Pourtant, plusieurs paramètres vont dans le sens d'une telle relation : (i) le courant  $I_h$  est le plus important au sein des dendrites des cellules pyramidales, (ii) les afférences de la couche III du CE contactent directement les dendrites distales du *stratum lacunosum moleculare* de CA1, couche III qui serait un générateur du rythme thêta (cf. chapitre II.A). En effet, une étude a mis en évidence une altération des sous-unités des canaux HCN1 et HCN2 au niveau des cellules situées dans la couche III du CE dans le modèle KA (Shah et al., 2004). L'hippocampe et le CE étant très interconnectés et tous deux impliqués dans la genèse du rythme thêta, on peut émettre l'hypothèse qu'une altération du courant  $I_h$  puisse être à l'origine d'une perturbation des assemblées de neurones fonctionnelles et, par conséquent, d'une altération des oscillations, thêta notamment. À partir de là, on peut facilement comprendre qu'une modification des oscillations soit à l'origine d'un déficit de synchronie, les oscillations ne pouvant assurer ici leur rôle de « prédicteur » pour une transmission de l'information efficace entre deux neurones. Enfin, le courant  $I_h$  se situerait dans d'autres structures impliquées dans la genèse de ce rythme (autre que la région CA1 de l'hippocampe) comme la couche III du CE, la région CA3 et le complexe MS-DBB (cf. chapitres I et II.A). Ainsi, des réorganisations de ces structures sur le plan morphologique pourraient entraîner une altération du rythme thêta hippocampique. En revanche, ces modifications apparaissent

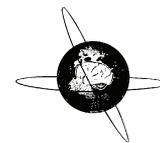
bien après le SE, alors que le rythme thêta a été décrit comme altéré dès le stade épileptogène précoce (Article 1). Cet aspect est discuté dans le chapitre V (discussion générale).

## **Article 5.:** Dangers du filtrage haute-fréquence pour détecter les oscillations épileptiques: note technique pour détecter les « fausses ripples » (Bénar, Chauvière et al., 2009)

Ma contribution à ce travail se justifiait ici par le fait que lors de ma première étude préliminaire à partir des enregistrements LFP multi-structures, je m'intéressais aux oscillations de type « ripples » au cours de l'épileptogénèse. La phase d'analyse a donc été précédée d'une phase de mise au point du détecteur de « ripples », d'analyse TF et de vérification que ces « ripples » n'apparaissent pas dans des pointes interictales. Dans mon étude (chapitre IV, § B.2), une question était de regarder les propriétés des « ripples » en elles-mêmes chez les animaux contrôlés et épileptiques, en conditions comportementales et cognitives données ; ainsi, les « ripples » ne devaient pas apparaître dans de l'activité interictale. Pour cela, la vérification manuelle (à l'œil) était encore la meilleure selon moi, après l'analyse par le détecteur automatique. J'ai décidé de ne pas filtrer mes données. Cependant, j'ai utilisé mes données chez le rat (modèle pilocarpine) pour permettre de montrer que le fait de filtrer ces données peut être dangereux, comme on va le voir.

### **Résumé**

Afin d'étudier les oscillations haute fréquence (HFO, « ripples », 80-200 Hz, et « fast ripples » (FR), 250-600 Hz), observées à la fois chez les patients épileptiques au sein du lobe temporal médian et chez l'animal, ce travail a pour but de montrer que l'identification de ces HFO présente quelques problèmes méthodologiques qui peuvent considérablement biaiser l'analyse. Pour cela, on a quantifié la présence de FR sur des signaux EEGs filtrés, à la fois chez l'Homme (patients ELT) et l'animal (modèle pilocarpine). Ainsi, deux types d'évènements, suite au filtrage des données, produisent des HFO (elles sont appelées « fausses » « ripples ») qui peuvent être confondues avec l'activité oscillatoire en cours : (i) des évènements transitoires relativement pointus (pointes épileptiques, artéfacts), (ii) des signaux dotés d'harmoniques (oscillations non sinusoïdales). Par conséquent, le filtrage des données EEG doit être employé avec prudence et nécessite une vérification manuelle *a posteriori* (à l'œil, où les HFO seraient marquées manuellement), où les résultats obtenus via les données EEG filtrées seraient comparés aux tracés originaux (non filtrés). L'application de d'autres techniques comme l'analyse TF permettrait également d'éviter ce piège.



## Pitfalls of high-pass filtering for detecting epileptic oscillations: A technical note on “false” ripples

C.G. Bénar<sup>a,b,\*</sup>, L. Chauvière<sup>a,b</sup>, F. Bartolomei<sup>a,b,c</sup>, F. Wendling<sup>d,e</sup>

<sup>a</sup>INSERM, U751, Laboratoire de Neurophysiologie et Neuropsychologie, Marseille F-13005, France

<sup>b</sup>Université de la Méditerranée, Faculté de Médecine, Marseille F-13005, France

<sup>c</sup>CHU Timone, Service de Neurophysiologie Clinique, Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille, Marseille F-13005, France

<sup>d</sup>INSERM, U642, Rennes F-35000, France

<sup>e</sup>Université de Rennes 1, LTSI, Rennes F-35000, France

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Accepted 31 October 2009

Available online 1 December 2009

#### Keywords:

Epilepsy  
Oscillations  
Ripples  
Filtering  
Time-frequency

### ABSTRACT

**Objectives:** To analyze interictal High frequency oscillations (HFOs) as observed in the medial temporal lobe of epileptic patients and animals (ripples, 80–200 Hz and fast ripples, 250–600 Hz). To show that the identification of interictal HFOs raises some methodological issues, as the filtering of sharp transients (e.g., epileptic spikes or artefacts) or signals with harmonics can result in “false” ripples. To illustrate and quantify the occurrence of false ripples on filtered EEG traces.

**Methods:** We have performed high-pass filtering on both simulated and real data. We have also used two alternate methods: time-frequency analysis and matching pursuit.

**Results:** Two types of events were shown to produce oscillations after filtering that could be confounded with actual oscillatory activity: sharp transients and harmonics of non-sinusoidal signals.

**Conclusions:** High-pass filtering of EEG traces for detection of oscillatory activity should be performed with great care. Filtered traces should be compared to original traces for verification of presence of transients. Additional techniques such as time-frequency transforms or sparse decompositions are highly beneficial.

**Significance:** Our study draws the attention on an issue of great importance in the marking of HFOs on EEG traces. We illustrate complementary methods that can help both researchers and clinicians.

© 2009 International Federation of Clinical Neurophysiology. Published by Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

The past years have witnessed an increasing interest in fast oscillatory brain activity as measured by EEG, MEG or intracerebral EEG. In cognitive studies, gamma band oscillations have been proposed to play a major role in the integration of information (‘binding by synchrony’) or in attention-related processes (Tallon-Baudry and Bertrand, 1999). In human partial epilepsies, fast oscillations have long been considered as a hallmark of epileptogenicity (Bancaud, 1974). These oscillations (also referred to as “rapid discharges” or “fast discharges”) are commonly observed, either during ictal or during interictal periods.

Regarding ictal periods, the recordings of EEG signals using intracerebral electrodes have long revealed that seizure onset is often characterized by the occurrence of fast activity that may last up

to several seconds in brain structures belonging to the epileptogenic zone (Bartolomei et al., 2008; Wendling et al., 2009).

The frequency spectrum of these discharges has been found to range from beta (13–25 Hz) to gamma range (30–100 Hz) Alarcon et al., 1995; Allen et al., 1992; Wendling et al., 2003. Higher frequencies (200–500 Hz) have been also reported after high-pass filtering of the signals (Jirsch et al., 2006).

Regarding interictal periods, High-Frequency Oscillations (HFOs) have been described both in humans and in epileptic animals using micro-electrode recordings (Engel et al., 2009).

Oscillations in the 80–200 Hz range, or “ripples”, can be recorded from normal hippocampus, parahippocampal structures and neocortex of humans and animals (Grenier et al., 2003; Urrestarazu et al., 2007)

In contrast, HFOs in the range of 250–600 Hz, or “fast ripples”, are considered as pathologic, characterizing the epileptogenic tissue in mesial temporal lobe epilepsy (Bragin et al., 1999a,b; Bragin et al., 2002; Grenier et al., 2001, 2003; Traub, 2003).

Several recent studies using macro-electrodes have also reported HFOs either in isolation or in association with interictal spikes in several types of human epilepsies. They have been

\* Corresponding author. Address: INSERM, U751, Laboratoire de Neurophysiologie et Neuropsychologie, Marseille F-13005, France. Tel.: +33 491 29 98 14; fax: +33 491 78 99 14.

E-mail address: [christian.benar@univmed.fr](mailto:christian.benar@univmed.fr) (C.G. Bénar).

proposed to be a characteristic electrophysiological marker of the most epileptogenic tissues (Bagshaw et al., 2009; Jacobs et al., 2008; Urrestarazu et al., 2007, 2006; Worrell et al., 2008).

The study of interictal HFOs raises however some methodological issues, in particular when using classical filtering methods. Indeed, the usual technique for detecting such fast oscillatory activity is to filter EEG signals in high frequency bands, using either classical band-pass filters or time–frequency methods. The energy of the filtered signal in a given frequency band of interest is then typically considered to represent the amount of oscillatory activity within this band. However, some components of brain signals are not band-limited, i.e., their energy can spread over the entire frequency spectrum. This is particularly the case for sharp transients, such as epileptic spikes or impulse-like artefacts, or for non-sinusoidal oscillatory events that contain harmonics. Such events are said to be “broad-band”. In the ideal case of an impulse (i.e., a short duration transient signal), all frequencies are present with same energy. This property is in fact classically used to study the response in frequency of a system without need to scan all frequencies, or to characterize filters (“impulse response”). When passed through a band-pass filter, transient events result in a signal that is close to the impulse response of the filter, which is typically a short-duration oscillation. As a consequence, sharp transient events, after filtering, can result in “false” ripples that may easily be confounded with “genuine” ripples: both types of events correspond to a fast oscillatory activity in the frequency band defined by the filter. Some studies have explicitly taken into account this effect by enforcing ripples to have a minimum number of oscillations (Jacobs et al., 2009; Urrestarazu et al., 2007). Still, the range of shapes of false ripples in different configurations has not been quantified systematically.

The goal of the present study was to quantify the impact of broadband activity on high-pass filtered signals, for different frequency bands, and to present strategies for reducing the influence of such activity.

In a first step, we quantify some features of oscillatory artefacts (“false” ripples) obtained by high-pass filtering of simulated spikes or non-sinusoidal oscillations. Then, we present both true and false ripples in recordings in an animal model. Finally, we explore possible methods for distinguishing true ripples from false ripples.

## 2. Materials and methods

The construction of simulated signals as well as the processing of signals was performed with the Matlab software (Mathworks, Natick, MA).

### 2.1. Simulated signals

Four types of events were simulated: Gaussian spikes, sinusoidal oscillation, triangular spikes, triangular oscillation. The signals were superimposed on EEG background activity (Fig. 1). Signals were sampled at 2048 Hz, with a total length of 500 ms. The width (temporal duration) of spikes was set to 1, 5, 15 and 30 ms. The width of oscillations was set to 25 ms, and the frequency to 140 Hz. The background EEG activity was obtained from a neural mass model (Wendling et al., 2005) to ensure a physiologically plausible spectrum. Its mean was set to 0 and its standard deviation was 1. The amplitude of aforementioned events was set to 10 (a.u.).

### 2.2. Real signals

Experimental data were obtained from epileptic adult male Wistar rats (pilocarpine model of temporal lobe epilepsy) (for a detailed description of the method, see Chauviere et al. (2009).

Rats were anesthetized with a mixture of ketamine (1 mg/kg) and xylazine (0.5 mg/kg). They were stereotaxically implanted with thirteen 50  $\mu\text{m}$ -tungsten electrodes (located in the median septum, the septo-hippocampal nucleus, two in CA1, in CA3, in the dentate gyrus, the entorhinal cortex, the perirhinal cortex, the thalamus, the posterior cingulate cortex, the supramammillary nucleus, the subiculum and in the ventral hippocampus), two stainless-steel screws in the frontal cortex and two other screws in the cerebellum as references electrodes. The 50  $\mu\text{m}$ -wires electrodes were glued to home-made microdrives that allow for implantation of each electrode separately.

After 2 weeks allowing recovery, rats received intraperitoneally (ip) injections of pilocarpine hydrochloride (310 mg kg<sup>-1</sup>), and 30 min after an ip injection of scopolamine (1 mg/kg). After pilocarpine injection, status epilepticus (SE) was detected and monitored by LFP continuous recordings in all the structures. Then, after a latent period (around 10 days after SE), animals display spontaneous and recurrent seizures (Chauviere et al., 2009).

A multi-channel data acquisition system (Cheetah System, Neuralynx, USA) was used to record local field potentials and multi-unit activity of epileptic rats. Then, the data were down-sampled at 2.5 kHz. Traces were inspected for local field potential high-frequency oscillations (ripple and fast ripples), when the rat was in quiet-immobility or sleep states in its home cage. A video-system (Video Track, Neuralynx, USA) was used to quantify behaviour during recording sessions. All experimental protocols conformed to the French Public Health Service policy on the use of animal models.

### 2.3. Conventional filtering

Signals were high-pass filtered with a series of FIR (finite impulse response) filters with band edge set at 40 Hz (gamma band), 80 Hz (ripple band) and 250 Hz (fast ripple band). Moreover, signals were low-pass filtered at 600 Hz in order to emulate an anti-aliasing filter. We used windowed linear-phase FIR digital filters (*fir1* function of Matlab). We used a Kaiser window (specification computed with *kaiserord* function). For the high-pass filter, the specifications for a given cut-off frequency  $f_0$  were: 5% of ripple in the passband, a stop band ripple of  $10^{-(A/20)}$  at  $f_0/2$ , with A in dB (i.e., an attenuation of A dB per octave).

We performed forward followed by reverse filtering (*filtfilt* function), in order to avoid latency shifts in the filtered signals. The spectra of filtered spikes and noise were computed by averaging the FFTs computed over 20 realizations of each event type; a Hanning window was used on each realization.

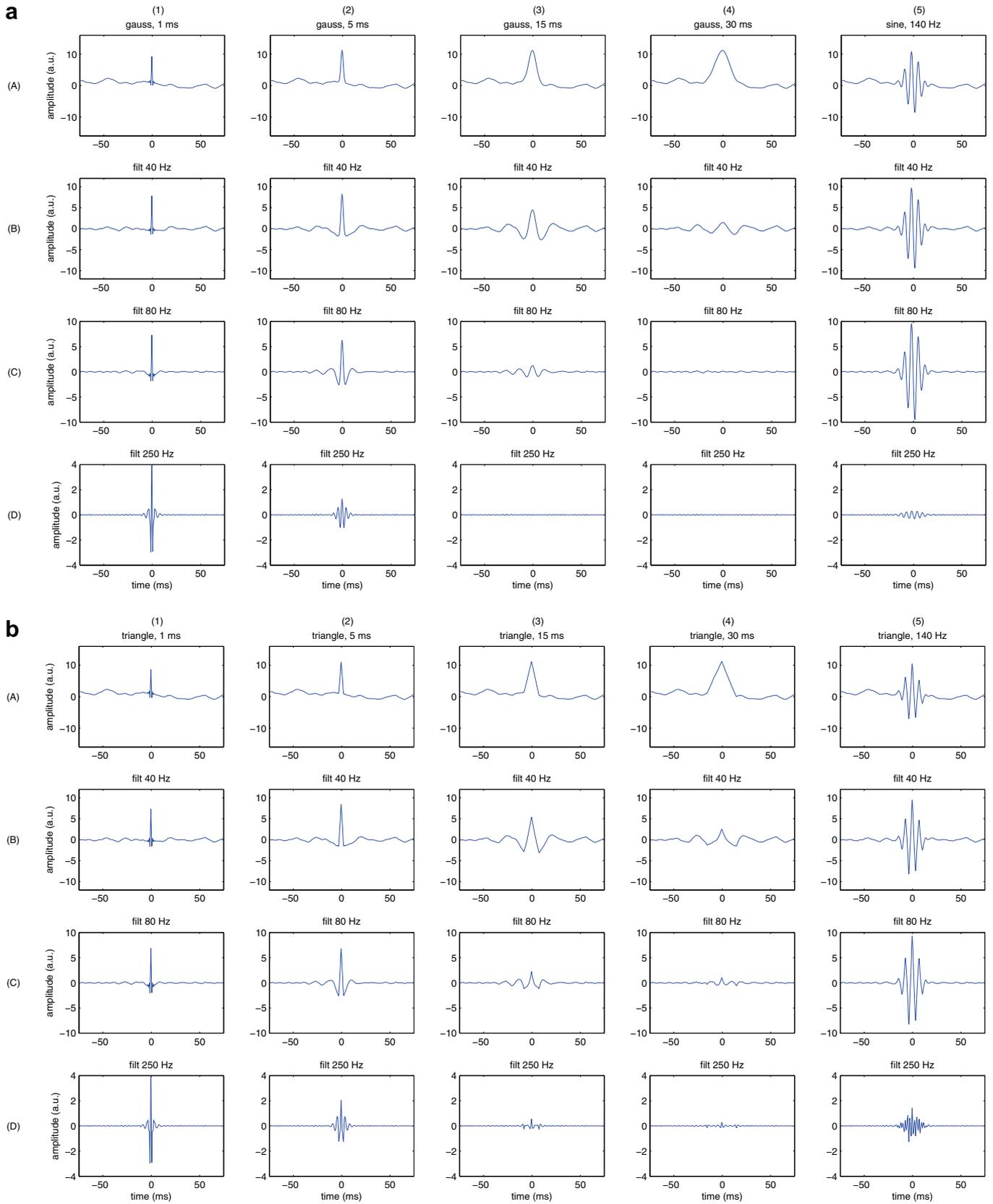
In order to test the effect of the filter type of filter that is used, we also designed IIR (infinite impulse response) filter. This effect was tested on a Gaussian spike (of width 10 ms) with six different configurations: FIR filters with an attenuation of 24, 48 or 96 dB/oct and butterworth IIR filters with the same attenuations (*butter* Matlab function, order computed with *buttord*).

### 2.4. Spectral analysis

In order to compute the spectrum of the different simulated event (spikes or oscillations), we averaged for each signal the FFTs computed on 20 realisations. FFTs were computed on a 150 ms window comprising the events. Apodization was performed with a Hanning window.

### 2.5. Time–frequency analysis and matching pursuit

The time–frequency analysis was performed by convolving the signals with Morlet wavelets (or Gabor atoms), i.e., sinusoidal waves with a Gaussian envelope (oscillation parameter = 5). These



**Fig. 1.** Simulated spikes and filtered traces, with a Gaussian waveform (a) or a triangular waveform (b), along with simulated oscillations (with sinusoidal and triangular waveforms respectively). The filters are FIR filters with a slope of 48 dB/oct. For the spikes, many filtered signals have an oscillatory aspect: these are “false” ripples produced by the filtering process. For the triangular oscillation (last column of b), the third harmonic of the oscillation is visible in the signal filtered at 250 Hz (graph D5), illustrating another type of “false” ripple.

waveforms have a high compactness in the time–frequency domain and represent a good trade-off between time and frequency resolution. We used an in-house modification of the *awt* function of the WVELAB Matlab toolbox (<http://www-stat.stanford.edu/~wavelab/>).

The Matching Pursuit (MP) procedure Mallat and Zhang, 1993 aims at iteratively identifying atoms in a signal. The atoms are drawn from a ‘dictionary’, i.e., a set of elementary waveforms. A classical dictionary consists in a set of oscillating waves (Gabor atoms), with a varying number of oscillations (Bénar et al., 2009; Durka and Blinowska, 1995; Tallon-Baudry et al., 1996). This is a redundant representation, as atoms are typically drawn from a large dictionary. It however results in a more concise representation than conventional time–frequency analysis, as fewer elements are needed to describe a given waveform. Moreover, MP can help disentangling elements with overlapping time–frequency support (Durka et al., 2005). We used the implementation of the MP available at <http://eeg.pl/mp>.

### 3. Results

#### 3.1. Quantification of false ripples in simulated signals

Fig. 1 shows the results when simulated signals are filtered with different cut-off frequencies.

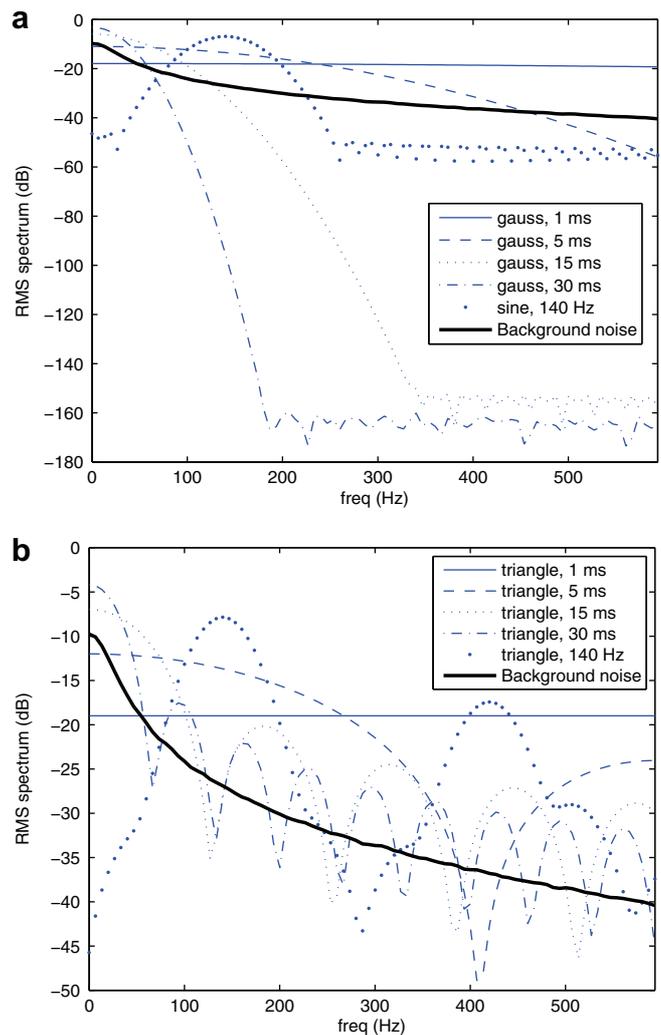
For the spikes, clear spurious oscillations, or “false” ripples are produced in the gamma band (>40 Hz) for width of 15 and 30 ms (graph B3 et B4 in Fig. 1a and b), in the ripple band (>80 Hz) for a width of 15 ms (graph C3), and in the fast ripple band (>250 Hz) for a width of 5 ms (graph D2). For the short width (1 and 5 ms), except for fast ripple at 5 ms, signal keeps a “spike-like” shape (graphs B1, B2, C1, C2, D1). For the triangular spikes (Fig. 1b), there is some residual signal for the large width (C4, D3, D4), but the signal appearance is also less oscillatory.

For the sinusoidal oscillation at 140 Hz, there is some residual oscillation at the same frequency in the ripple band (Fig. 1a, graph D5), due to the fact that (i) the short-duration oscillation has some spread in frequency and (ii) the filter response is not a perfect step (a perfect step would produce more oscillations in response to transient signals, see study below on the level of attenuation). For the triangular oscillation, there is a false fast ripple due to the harmonic at  $3 \times 140 = 420$  Hz (Fig. 1b, graph D5).

The signal-to-noise ratio of the spurious oscillation can be explained by the relative shape of the spike spectra and of background noise, as shown in Fig. 2. For the Gaussian spikes, the spectrum is Gaussian with a width inversely proportional to the spike width. Therefore, for small widths, the signals retain a high energy for high frequencies. The spread in frequency of the sinusoidal oscillation, due to its finite length, is visible in Fig. 2a.

For the triangular spikes, the spectrum shows many secondary lobes, with the same inverse relationship between the width of the spike and the spread of the spectrum. The first harmonic of the triangular oscillation can be seen in Fig. 2b.

We then assessed the influence of the filter type on the shape of the filtered signal, for one example of input signal (Gaussian spike, 5 ms width). The level of attenuation of the filter (24, 48 or 96 dB/oct, see Fig. 3a for the filter responses) had an impact on the number of oscillations, with a higher number for higher attenuation (Fig. 3b). Moreover, the IIR filters have a tendency to oscillate more than FIR filter, especially for a high attenuation level (Fig. 3b, IIR 96 dB/oct). Given the additional advantage that FIR filters have linear phase properties, this result confirms that FIR filters should be preferred (Urrestarazu et al., 2007).

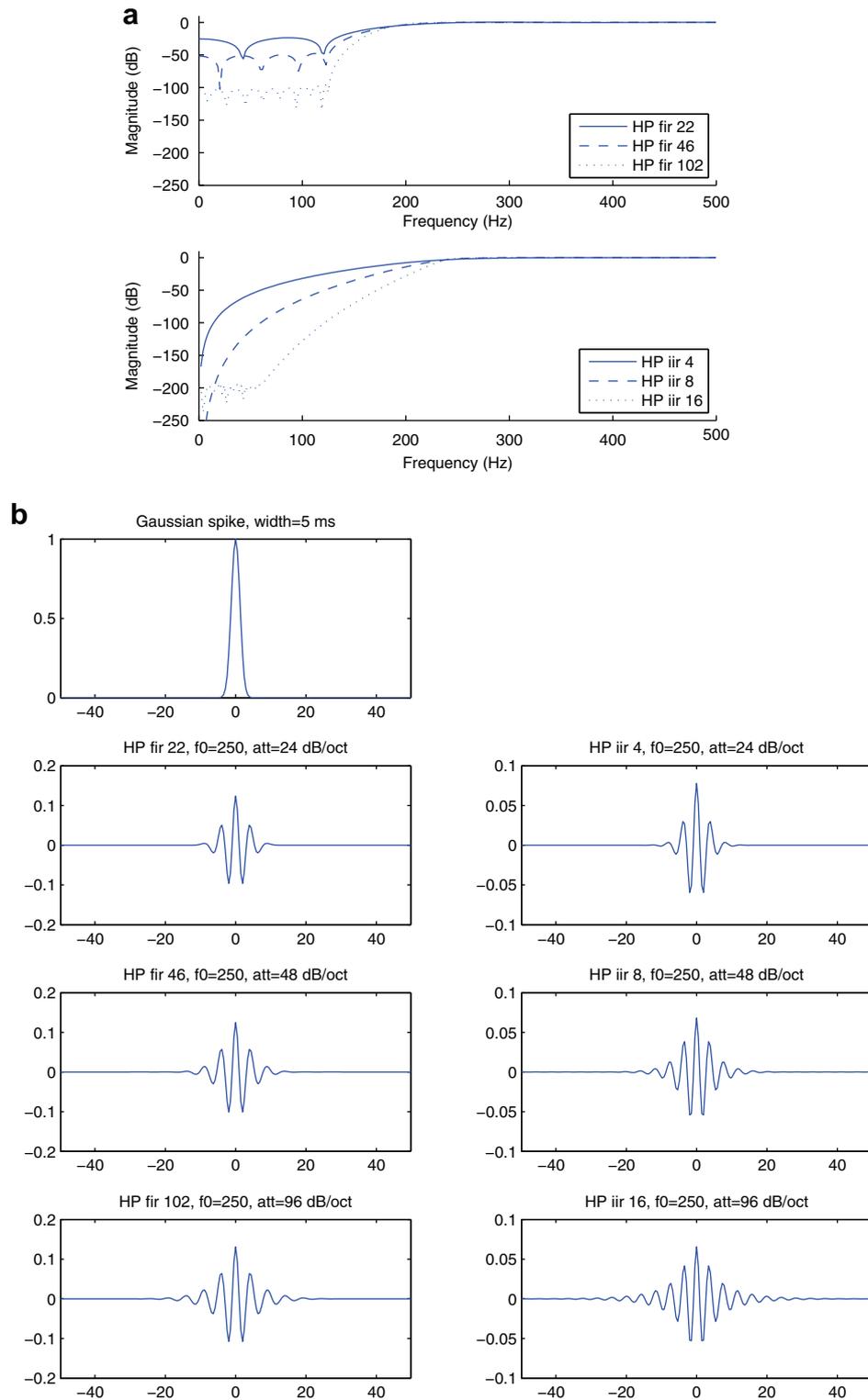


**Fig. 2.** Power spectra of the simulated spikes and oscillations. (a) Gaussian spikes and sinusoidal oscillation, (b) triangular spikes and oscillation. The spectrum of the simulated realistic background noise is shown as a continuous line, it decays smoothly as a  $1/f$  process. For the Gaussian spikes, the energy decays monotonously with frequency, with a slope inversely proportional to the duration of the spike. The triangular events have spectra with harmonics. In particular, the triangular oscillation has high energy in the fast ripple band (>250 Hz).

#### 3.2. False ripples in real signals

Fig. 4 presents six events observed in real unfiltered data, along with the signals filtered in the ripple and fast ripple bands, and the time–frequency representation. The first event (graph A1) is a “spike with no visible oscillation” (according to the nomenclature introduced by Urrestarazu and colleagues (Urrestarazu et al., 2007): even with close visual inspection, there is no visible superimposed fast oscillatory activity. The second and third events are a ripple and a fast ripple respectively (graphs A2 and A3), without spike. The fourth and fifth discharges are a combination of spikes and ripples (A4 and A5). The last event is a transient sharp artefact.

As shown in rows 2–5 of Fig. 4, when these different events are used as input signals of high-pass filters, the output signals are oscillatory, except for the ripple filtered at 250 Hz (graph C2, where there is an increase of energy but no clear pattern) and the sharp artefact (graph B6, where the shape of the signal stays sharp after filtering).

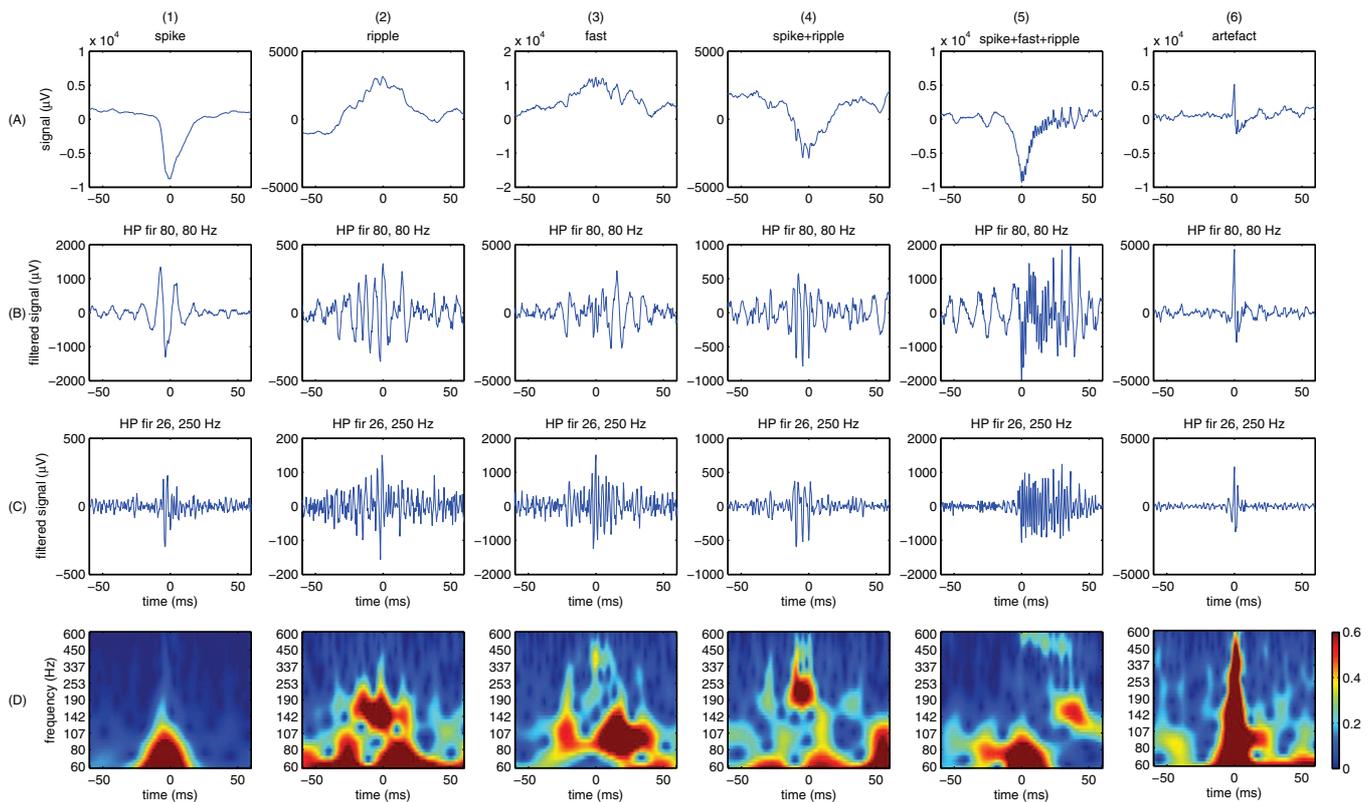


**Fig. 3.** Technical features of implemented filters. (a) Frequency response of the IIR and FIR filters. The order of the filters is shown in the legend. (b) Effect of the filter type (finite impulse response, FIR, or infinite impulse response, IIR) and of the level of attenuation (24, 48 or 96 dB/oct) on the output signals. The filtered signals oscillate more with a higher attenuation. On top of having non-linear phase properties (not shown), the IIR filter oscillates more than the FIR, especially for a high attenuation (96 dB/oct, fourth row).

It can be seen in the last row that the ripples and fast ripples produce ‘blobs’ in the time–frequency representation: at 140–190 Hz for the ripple (graph D2), at 400 Hz for the fast ripple and 80–140 Hz for the following ripple (D3), around 200 Hz for the ripple on top of a spike (D4), at 450–600 Hz

and 140–190 Hz for the fast ripple and ripple on top of a spike (D5).

For the first spike (A1), there is no visible high-frequency blob. Still, there are oscillations in the filtered signals, that resemble those in the visible oscillations: the oscillation for a filter at



**Fig. 4.** Results of filtering different types of epileptic discharges in real data, along with the time–frequency representation. (1) Pure spikes (with no visible oscillation), (2) and (3) ripple and fast ripple respectively, (4) and (5) a mixture of spike and oscillations (6) sharp artefact. Several cut-off frequencies of the high-pass filter were used. The oscillations result in blobs in the time–frequency plane (last row). The spike results in oscillations in the ripple and fast ripple bands (B1 and C1 resp.), that are not visible as blobs in the time–frequency representation, and may therefore be a “false” ripple. These false ripples are similar to true ripples as seen for example in B3 and C3, although with shorter duration and number of cycles. The artefact leads to a spurious oscillation in the fast ripple band.

80 Hz (B1) is similar to that following the fast discharge (B3, between 10 and 40 ms), and the oscillation for the signal filtered at 250 Hz (C1) resembles that in the fast discharge (C3), although with much shorter duration and number of cycles. These oscillations may be considered as “false” ripples (see next section).

For the artefact (A6), one can see in the time–frequency representation (D6) that its energy spreads over the whole frequency range, resulting in an elongated shape. Similarly to the spike, there is a short oscillation in the signal filtered at 250 Hz, but with a much higher signal-to-noise ratio, again a possible “false” ripple, similarly to those illustrated in Fig. 1.

For the ripple in column 4, note that there is a secondary blob in the time–frequency representation around 400 Hz, which could be a harmonic of the main blob at around 200 Hz (see next section).

### 3.3. Reproducing false ripples

We investigated the possibility that some oscillations in the filtered signal were not actual oscillations but instead by-products of the filtering process, or “false” ripples.

In Fig. 5a, we show the real spike along with a simulated spike with the same characteristics, both on an expanded time scale. The simulated spike was obtained by linear interpolation with three fixed points, followed by a smoothing (moving average on 4 points). This ensured that there was no oscillation on this signal, by construction. The filtered traces and the time–frequency representation are very similar in the real and simulated signals, indicating that the observed oscillations are indeed “false” ripples.

We have reproduced the non-sinusoidal ripple of Fig. 4 (graph A4) with an asymmetric oscillation  $s(t)$  given by

$$s(t) = A \cos(2\pi f_0(t + 1.3 \cos(2\pi f_0 t)) / F_s), \quad (1)$$

with  $f_0 = 220$  Hz and  $F_s$  sampling frequency. The fact that the oscillation is not purely sinusoidal produces an harmonic, visible in the time–frequency plane, and resulting in a fast oscillation in the signal filtered at 400 Hz. This can be considered as another type of “false” ripple: the actual event is an oscillation at 220 Hz, but filtering the traces at 400 Hz gives the false impression that the oscillation is at 440 Hz.

### 3.4. Masking effects in the time–frequency decomposition

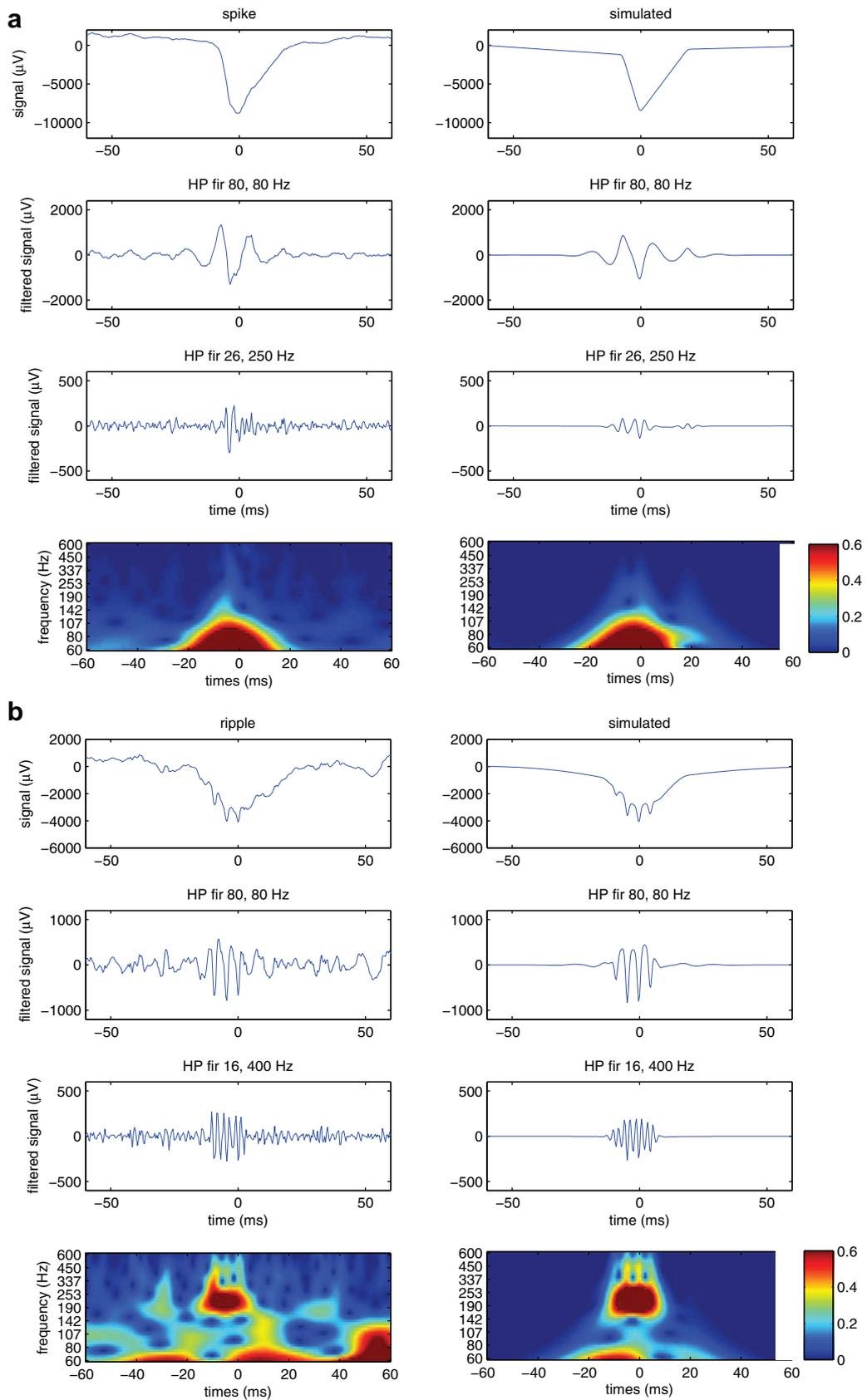
As discussed in Section 3.2, the last row of Fig. 4 shows that true oscillations are visible as “blobs” in the time–frequency plane. The pure spike (A1) and the artefact (A6) produce a single elongated shape with no visible superimposed band-limited blob.

However, the fact that the blob corresponding to the pure spike is of high amplitude and extends into the high frequency bands could mask a true oscillation.

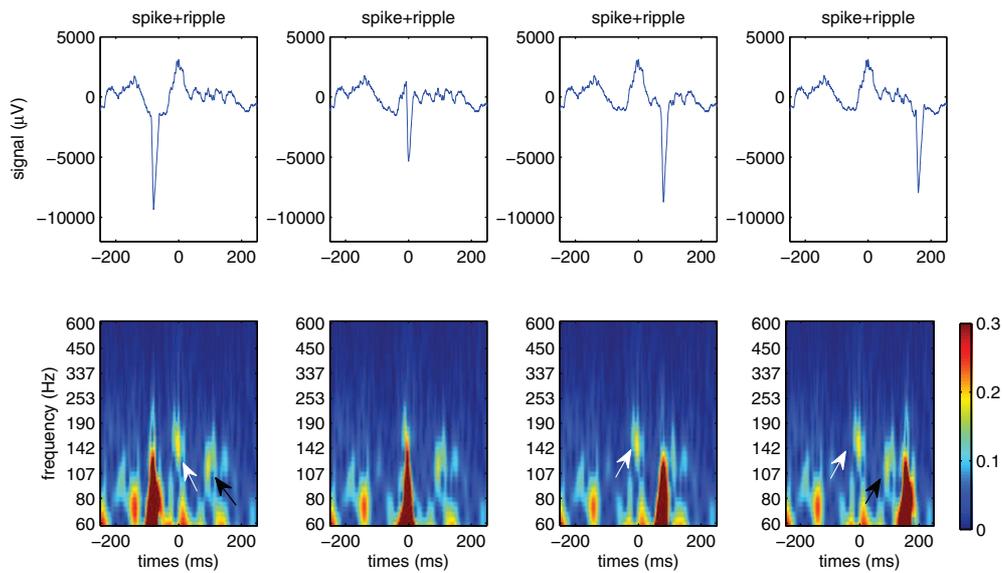
We illustrated this masking effect in Fig. 6. There, an interpolated spike (based on the first spike of Fig. 4, as in Fig. 5a) is added to the ripple (A2 in Fig. 4) oscillation, with varying time shifts. In column 1, 2 and 4, a ripple is visible between 140 and 190 Hz (white arrows). For the shift in columns 2, this oscillation is partly masked by the spike. Similarly, the oscillation at a lower frequency (black arrow) is masked in column 3.

### 3.5. Atomic decomposition using the matching pursuit approach

The second row of Fig. 7 depicts the atoms found by MP decomposition on real signals (atoms that reproduce 99% of the energy of



**Fig. 5.** Comparison of the results of filtering real signals and simulated signals. (a) Spike of Fig. 4 (graph A1) along with an interpolated spike, with no oscillation by construction. The filtered data and time–frequency representations are similar, indicating that the oscillation is mostly an artefact of the filtering procedure, i.e., a “false” ripple. (b) a non-sinusoidal oscillation (ripple A2 from Fig. 4). The oscillations have harmonics, which lead to an oscillation at double frequency in the filtered signal, another type of “false” ripple.



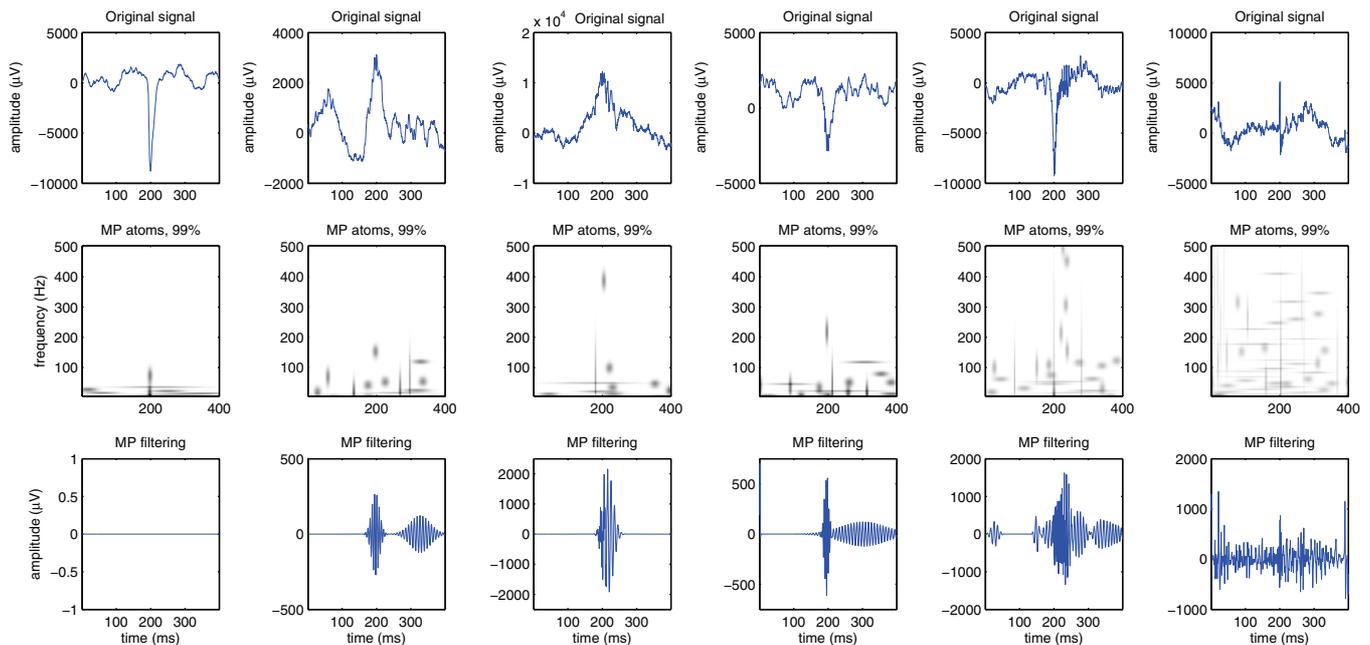
**Fig. 6.** Test of the interaction of the interpolated spike of Fig. 5a and the oscillation of Fig. 4 (graph A2) in the time–frequency plane, for different values of the shift between the signals. One oscillation (white arrow) is visible in columns 2, 3, 4 but in column 2 it is masked by the spike. The other oscillation (black arrow) is partly masked in column 4.

the signal). In this representation, the pure spike (with no oscillation) stays confined in the part of the plane below 100 Hz, whether the oscillations are detected as atoms in the ripple and fast ripple bands. It is then possible to filter the data by selecting only the oscillatory atoms that are above a given frequency (here, 50 Hz). This MP-based filtering permits to recover the real oscillatory activity corresponding to high-frequency atoms, while avoiding false ripples for the spike and the artefact, as shown in the bottom row of Fig. 7.

The matching pursuit is therefore an interesting alternative to classical filtering or to wavelet analysis, as it permits to disentangle events with overlapping representation in the time–frequency domain. Still, the MP algorithm has also some limitations.

The main limitation is the fact that a given signal may not be perfectly fitted by a few atoms. This means that in some cases the atomic information can be difficult to interpret: a high frequency atom can be either describing a part of the actual high frequency oscillation or a high-frequency contribution caused by a transient event. Moreover, the subtraction procedure within the MP algorithm will almost inevitably leave some residuals: the part of the atom that is not fitted to the signal will be left in the subtracted signal, and will have to be explained at subsequent iteration by a correction term.

This leads to the second important limitation of MP: the difficulty of choosing the number of atoms. Indeed, too few atoms could miss some true oscillations, while too many atoms will end



**Fig. 7.** First row: real signals as in Fig. 4. Second row: result of a Matching Pursuit (MP) decomposition. Each atom is represented by a blob showing its time–frequency extent. Third row: result of MP-based filtering, performed by keeping only the atoms above 80 Hz. In column 2–5, MP filtering was able to extract the real oscillation, while avoiding false ripples for the pure spike (columns 1 and 2) and the sharp artefact (column 6).

up in the last iterations as correction terms to the imperfect subtraction of the first iterations. A way to choose the number of atoms is to set a threshold on the proportion of energy that needs to be explained by these atoms. In the preceding tests, the threshold was set to 99%: the energy of the reconstructed signal (using all atoms) is 99% that of the original signal. In Fig. 8, we present the decomposition of the interpolated spike (i.e., with no oscillation by construction, see Section 3.3) with an energy threshold of 99.99%: this threshold is so high that the MP needed to have correction atoms, which happen to be high-frequency oscillating atoms. This means that the threshold on the number of atoms needs to be carefully chosen in order not to overfit the data (i.e., not to fit noise).

#### 4. Discussion

In this study, we have shown that the high-pass filtering of epileptic transients or non-sinusoidal oscillations may lead to spurious oscillations (referred to as “false” ripples in the present work) that are similar to real oscillatory discharges while simply reflecting the impulse response of the filter or the harmonic nature of the signal. This can lead to false detection of HFOs, in particular in cerebral tissues where interictal spiking is abundant, and therefore to inappropriate interpretation of results. There are several strategies for handling the filtering artefacts in the detection and classification of epileptiform events.

The first strategy is to carefully review each epileptic transient, along with the filtered signal, in order to assess the presence of simultaneous oscillations by visual inspection. However, such review is tedious and time-consuming, and it is possible that some actual small oscillations escape visual inspection. Moreover, visual inspection only results in a classification of events as oscillatory or not, but does not permit to finely quantify the fluctuations in the energy of oscillatory activity. A criterion can be introduced on the minimum number of cycles in the filtered oscillation in order to reject false ripples. This criterion would have indeed permitted to avoid classifying the spurious oscillations for fast transients as true ripples. Still, our results show that one has to ensure that a given filter has an impulse response that oscillates less than the chosen number of cycles. Moreover, this criterion does not permit to

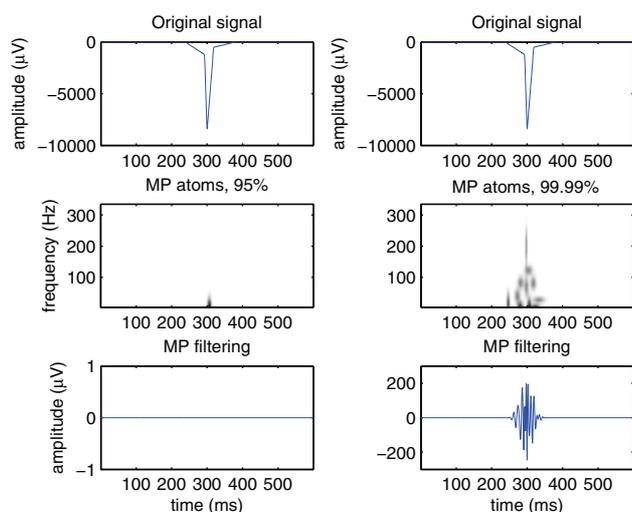
reject the false ripples produced by harmonics of non-sinusoidal signals.

The second strategy is to use time–frequency or wavelet transforms, where a transient event and an oscillation have different signatures: a transient signal produces a large-band elongated blob, whereas the representation of an oscillation is more restricted in frequency. Moreover, a non-sinusoidal oscillation produces several blobs at harmonic frequencies. Still, there can be an overlap between the time–frequency representations of spikes and oscillations, which may not permit to disentangle the two.

The third strategy is to use an atomic decomposition, such as that provided by the Matching Pursuit algorithm (Mallat and Zhang, 1993). We have shown in the present study that such representation allows for effective extraction of real oscillatory activity, with limited influence from transient spike events. The decomposition also permits to parameterize the discharges (Durka, 2004), which may allow to assess the clinical importance of parameters such as sharpness of the spike. Although promising, this method still has some limitations like, for example the possible distortions introduced by the subtractive approach.

Improvement may arise from simultaneous estimation of the atoms, which is proposed by the basis pursuit method (Chen et al., 1998), or mixed norm sparse decomposition. In these methods, the level of background noise is explicitly taken into account, which may avoid overfit of the data. Another improvement would be to use a multi-channel (Durka et al., 2005; Gribonval and R., 2007) or multi-trial decomposition (Bénar et al., 2009; Sieluzycski et al., 2009), which could help improving the signal-to-noise ratio for events that are spread across channels. The multi-channel decomposition would also have the advantage of using different spatial structures of spikes and oscillations, when present, as additional information for separating these activities.

In summary, review of epileptic oscillations should be performed very cautiously, keeping in mind the limitations of each method and the possible occurrences of “false” ripples. It is likely that the best strategy will be a combination of different methods, like those presented here, which could avoid misclassifying false ripples as true epileptic oscillations. Still, further work is needed to quantify the performance of the different strategies (like wavelet analysis or sparse decomposition) for automatic detection (Gardner et al., 2007) and classification of true epileptic ripples.



**Fig. 8.** Illustration of overfitting of the data with Matching Pursuit (MP). First column: MP decomposition of the interpolated spike of Fig. 5a (i.e., with no oscillation by construction), explaining 95% of the signal. Second column: MP decomposition explaining 99.99% of the signal. In the second case, correction atoms are needed to explain the data with high reconstruction accuracy, leading to a false ripple after MP-based filtering.

#### Acknowledgments

The authors thank the anonymous reviewers for their help in improving the manuscript. CGB wishes to thank Bruno Torrèsani for useful discussions.

#### References

- Alarcon G, Binnie CD, Elwes RD, Polkey CE. Power spectrum and intracranial EEG patterns at seizure onset in partial epilepsy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1995;94:326–37.
- Allen PJ, Fish DR, Smith SJ. Very high-frequency rhythmic activity during SEEG suppression in frontal lobe epilepsy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1992;82:155–9.
- Bagshaw AP, Jacobs J, LeVan P, Dubeau F, Gotman J. Effect of sleep stage on interictal high-frequency oscillations recorded from depth macroelectrodes in patients with focal epilepsy. *Epilepsia* 2009;50:617–28.
- Bancaud J. Stereoelectroencephalography. *Handbook of electroencephalography and clinical neurophysiology*. Amsterdam: Elsevier; 1974. p. 3–60.
- Bartolomei F, Chauvel P, Wendling F. Epileptogenicity of brain structures in human temporal lobe epilepsy: a quantified study from intracerebral EEG. *Brain* 2008;131:1818–30.
- Bénar CG, Papadopoulos T, Torresani B, Clerc M. Consensus Matching Pursuit for multi-trial EEG signals. *J Neurosci Methods* 2009;180:161–70.
- Bragin A, Engel Jr J, Wilson CL, Fried I, Mathern GW. Hippocampal and entorhinal cortex high-frequency oscillations (100–500 Hz) in human epileptic brain and in kainic acid-treated rats with chronic seizures. *Epilepsia* 1999a;40:127–37.

- Bragin A, Engel Jr J, Wilson CL, Vezzani E, Mathern GW. Electrophysiologic analysis of a chronic seizure model after unilateral hippocampal KA injection. *Epilepsia* 1999b;40:1210–21.
- Bragin A, Mody I, Wilson CL, Engel Jr J. Local generation of fast ripples in epileptic brain. *J Neurosci* 2002;22:2012–21.
- Chauviere L, Raftai N, Thinus-Blanc C, Bartolomei F, Esclapez M, Bernard C. Early deficits in spatial memory and theta rhythm in experimental temporal lobe epilepsy. *J Neurosci* 2009;29:5402–10.
- Chen S, Donoho D, Saunders M. Atomic decomposition by Basis Pursuit. *SIAM J Sci Comput* 1998;20:33–61.
- Durka PJ. Adaptive time–frequency parametrization of epileptic spikes. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 2004;69:051914.
- Durka PJ, Blinowska KJ. Analysis of EEG transients by means of matching pursuit. *Ann Biomed Eng* 1995;23:608–11.
- Durka PJ, Matysiak A, Montes EM, Sosa PV, Blinowska KJ. Multichannel matching pursuit and EEG inverse solutions. *J Neurosci Methods* 2005;148:49–59.
- Engel Jr J, Bragin A, Staba R, Mody I. High-frequency oscillations: what is normal and what is not? *Epilepsia* 2009;50:598–604.
- Gardner AB, Worrell GA, Marsh E, Dlugos D, Litt B. Human and automated detection of high-frequency oscillations in clinical intracranial EEG recordings. *Clin Neurophysiol* 2007;118:1134–43.
- Grenier F, Timofeev I, Steriade M. Focal synchronization of ripples (80–200 Hz) in neocortex and their neuronal correlates. *J Neurophysiol* 2001;86:1884–98.
- Grenier F, Timofeev I, Steriade M. Neocortical very fast oscillations (ripples, 80–200 Hz) during seizures: intracellular correlates. *J Neurophysiol* 2003;89:841–52.
- Gribonval R, Rauhut H, Schnass K, Vandergheynst P. Atoms of all channels, unite. Average case analysis of multi-channel sparse recovery using greedy algorithms. IRISA Tech Rep; 2007.
- Jacobs J, LeVan P, Chander R, Hall J, Dubeau F, Gotman J. Interictal high-frequency oscillations (80–500 Hz) are an indicator of seizure onset areas independent of spikes in the human epileptic brain. *Epilepsia* 2008;49:1893–907.
- Jacobs J, LeVan P, Chatillon CE, Olivier A, Dubeau F, Gotman J. High frequency oscillations in intracranial EEGs mark epileptogenicity rather than lesion type. *Brain* 2009;132:1022–37.
- Jirsch JD, Urrestarazu E, LeVan P, Olivier A, Dubeau F, Gotman J. High-frequency oscillations during human focal seizures. *Brain* 2006;129:1593–608.
- Mallat SG, Zhang Z. Matching pursuits with time–frequency dictionaries. *IEEE Trans Sig Proc* 1993;41:3397–415.
- Sieluzycycki C, Konig R, Matysiak A, Kus R, Ircha D, Durka PJ. Single-trial evoked brain responses modeled by multivariate matching pursuit. *IEEE Trans Biomed Eng* 2009;56:74–82.
- Tallon-Baudry C, Bertrand O. Oscillatory gamma activity in humans and its role in object representation. *Trends Cogn Sci* 1999;3:151–62.
- Tallon-Baudry C, Bertrand O, Delpuech C, Pernier J. Stimulus specificity of phase-locked and non-phase-locked 40 Hz visual responses in human. *J Neurosci* 1996;16:4240–9.
- Traub RD. Fast oscillations and epilepsy. *Epilepsy Curr* 2003;3:77–9.
- Urrestarazu E, Chander R, Dubeau F, Gotman J. Interictal high-frequency oscillations (100–500 Hz) in the intracerebral EEG of epileptic patients. *Brain* 2007;130:2354–66.
- Urrestarazu E, Jirsch JD, LeVan P, Hall J, Avoli M, Dubeau F, et al. High-frequency intracerebral EEG activity (100–500 Hz) following interictal spikes. *Epilepsia* 2006;47:1465–76.
- Wendling F, Bartolomei F, Bellanger JJ, Bourien J, Chauvel P. Epileptic fast intracerebral EEG activity: evidence for spatial decorrelation at seizure onset. *Brain* 2003;126:1449–59.
- Wendling F, Bartolomei F, Senhadji L. Spatial analysis of intracerebral electroencephalographic signals in the time and frequency domain: identification of epileptogenic networks in partial epilepsy. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* 2009;367:297–316.
- Wendling F, Hernandez A, Bellanger JJ, Chauvel P, Bartolomei F. Interictal to ictal transition in human temporal lobe epilepsy: insights from a computational model of intracerebral EEG. *J Clin Neurophysiol* 2005;22:343–56.
- Worrell GA, Gardner AB, Stead SM, Hu S, Goerss S, Cascino GJ, et al. High-frequency oscillations in human temporal lobe: simultaneous microwire and clinical macroelectrode recordings. *Brain* 2008;131:928–37.

## **Discussion**

Dans cette étude, on a montré que le filtrage des évènements épileptiques transitoires ou des oscillations non sinusoïdales pouvaient créer des « fausses » « ripples », similaires aux décharges rythmiques qui correspondent simplement à la réponse de l'impulsion du filtre ou à la nature harmonique du signal (non sinusoïdal). Cette étude est utile dans la mesure où elle peut éviter la détection de « fausses » HFO chez les patients épileptiques, dans des structures où l'activité interictale est généralement abondante et, par conséquent, évite de biaiser l'interprétation des résultats. Différentes stratégies peuvent palier ce biais (cf. discussion de l'article) ; cependant, chacune présente ces limitations. Ainsi, une meilleure solution serait de combiner différentes méthodes et de comparer les résultats obtenus (comme chez l'animal où la meilleure validation des résultats obtenus est encore de comparer ces derniers à partir de différents modèles expérimentaux).

Je tenais juste à préciser que durant cette thèse, j'ai eu l'occasion d'encadrer trois étudiants, l'un en stage de Master 1 (3 mois, projet d'analyse de l'activité interictale), les deux autres lors d'un stage de Master 2 (6 mois ; projet électrophysiologie *in vivo* et cognition).

## Références bibliographiques

Aarts JH, Binnie CD, Smit AM, Wilkins AJ. (1984) Selective cognitive impairment during focal and generalized epileptiform EEG activity. *Brain* 107, 293-308.

Abrahams, S., Pickering, A., Polkey, C.E. et Morris, R.G.M. (1997). Spatial memory deficits in patients with unilateral damage to the right hippocampal formation. *Neuropsychologia*, 35, 11-24.

Abrahams S, Morris RG, Polkey CE, Jarosz JM, Cox TC, Graves M, Pickering A. (1999) Hippocampal involvement in spatial and working memory: a structural MRI analysis of patients with unilateral mesial temporal lobe sclerosis. *Brain Cogn.* 41, 39-65.

Adey WR. (1967) EEG patterns in sleep and wakefulness in high spinal cord injuries. *Proc Annu Clin Spinal Cord Inj Conf*;16:2-9.

Aftanas L, Golosheykin S. Impact of regular meditation practice on EEG activity at rest and during evoked negative emotions. *Int J Neurosci.* 2005 Jun;115, 893-909.

Aggleton JP, Hunt PR, Rawlins JN. (1986) The effects of hippocampal lesions upon spatial and non-spatial tests of working memory. *Behav Brain Res.* 19, 133-46.

Aggleton JP, Brown MW. (1999) Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. *Behav Brain Sci.* 22, 425-44; discussion 444-89.

Akman CI, Hu Y, Fu DD, Holmes GL. (2003) The influence of cognitive reserve on seizure-induced injury. *Epilepsy Behav.* 4, 435-40.

Aldenkamp AP, Overweg J, Gutter T, Beun AM, Diepman L, Mulder OG. (1996) Effect of epilepsy, seizures and epileptiform EEG discharges on cognitive function. *Acta Neurol Scand.* 93, 253-9.

Aldenkamp AP. (1997) Effect of seizures and epileptiform discharges on cognitive function. *Epilepsia.* 38 Suppl 1:S52-5.

Aldenkamp A, Arends J. (2004a) The relative influence of epileptic EEG discharges, short nonconvulsive seizures, and type of epilepsy on cognitive function. *Epilepsia.* 45, 54-63.

Aldenkamp AP, Arends J. (2004b) Effects of epileptiform EEG discharges on cognitive function: Is the concept of “transient cognitive impairment” still valid? *Epilepsy & Behavior* 5, S25-S34. (*Revue*)

Aldenkamp AP, Arends J, Verspeek S, Berting M (2004c) The cognitive impact of epileptiform EEG-discharges; relationship with type of cognitive task. *Child Neuropsychol.* 10, 297-305.

- Alessio A, Bonilha L, Rorden C, Kobayashi E, Min LL, Damasceno BP, Cendes F. (2006) Memory and language impairments and their relationships to hippocampal and perirhinal cortex damage in patients with medial temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav.* 8, 593-600.
- Alonso A, García-Austt E. (1987) Neuronal sources of theta rhythm in the entorhinal cortex of the rat. I. Laminar distribution of theta field potentials. *Exp Brain Res.* 67, 493-501.
- Alonso A, García-Austt E. (1987) Neuronal sources of theta rhythm in the entorhinal cortex of the rat. II. Phase relations between unit discharges and theta field potentials. *Exp Brain Res.* 67, 502-9.
- Amaral DG, Witter MP (1989) The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31, 571-591.
- Amaral DG, Witter MP (1995) The hippocampal formation. In : The rat nervous system, ed 2. (Paxinos G editor), pp 443-494, Academic Press.
- Ammassari-Teule M, Maho C, Sara SJ. (1991) Clonidine reverses spatial learning deficits and reinstates theta frequencies in rats with partial fornix section. *Behav Brain Res.* 45, 1-8.
- Anderson MI, O'Mara SM. (2003) Analysis of recordings of single-unit firing and population activity in the dorsal subiculum of unrestrained, freely moving rats. *J Neurophysiol.* 90, 655-65.
- Ang CW, Carlson GC, Coulter DA. (2006) Massive and specific dysregulation of direct cortical input to the hippocampus in temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 26, 11850-6.
- Annegers JF, Rocca WA, Hauser WA. (1996) Causes of epilepsy: contributions of the Rochester epidemiology project. *Mayo Clin Proc.* 71, 570-5. Review.
- Arai A, Lynch G. (1992) Factors regulating the magnitude of long-term potentiation induced by theta pattern stimulation. *Brain Res.* 598, 173-84.
- Arellano JJ, Muñoz A, Ballesteros-Yáñez I, Sola RG, DeFelipe J. (2004) Histopathology and reorganization of chandelier cells in the human epileptic sclerotic hippocampus. *Brain.* 127, 45-64.
- Arida, R.M., Scorza, F.A., Peres, C.A., Cavalheiro, E.A., 1999. The course of untreated seizures in the pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsy Res.* 34, 99–107. Balish, M., Albert,
- Aubert S, Wendling F, Regis J, McGonigal A, Figarella-Branger D, Peragut JC, Girard N, Chauvel P, Bartolomei F. Local and remote epileptogenicity in focal cortical dysplasias and neurodevelopmental tumours. *Brain.* 132, 3072-86.
- Avoli M, Williamson A. (1996) Functional and pharmacological properties of human neocortical neurons maintained in vitro. *Prog Neurobiol.* 48, 519-54.
- Avoli M, Barbarosie M. (1999) Interictal-ictal interactions and limbic seizure generation. *Rev Neurol (Paris).* 155, 468-71.

- Avoli M, D'Antuono M, Louvel J, Köhling R, Biagini G, Pumain R, D'Arcangelo G, Tancredi V. (2002) Network and pharmacological mechanisms leading to epileptiform synchronization in the limbic system in vitro. *Prog Neurobiol.* 68, 167-207.
- Avoli M, Biagini G, de Curtis M. (2006) Do interictal spikes sustain seizures and epileptogenesis? *Epilepsy Curr.* 6, 203-7.
- Axmacher N, Mormann F, Fernández G, Elger CE, Fell J. (2006) Memory formation by neuronal synchronization. *Brain Res Rev.*52, 170-82. Review.
- Babb TL, Brown WJ (1986) Neuronal, dendritic, and vascular profiles of human temporal lobe epilepsy correlated with cellular physiology in vivo. *Adv Neurol* 44:949-966.
- Bachevalier J, Nemanic S. (2008) Memory for spatial location and object-place associations are differently processed by the hippocampal formation, parahippocampal areas TH/TF and perirhinal cortex. *Hippocampus.* 18, 64-80.
- Bancaud J, Talairach J. (1965) Epilepsy of the supplementary motor area: a particularly difficult diagnosis in children . *Rev Neuropsychiatr Infant.* 13, 483-99.
- Bar M, Aminoff E, Ishai A. (2008a) Famous faces activate contextual associations in the parahippocampal cortex. *Cereb Cortex.* 18, 1233-8.
- Bar M, Aminoff E, Schacter DL. (2008b) Scenes unseen: the parahippocampal cortex intrinsically subserves contextual associations, not scenes or places per se. *J Neurosci.* 28, 8539-44.
- Baram TZ, Chalmers DT, Chen C, Koutsoukos Y, De Souza EB.(1997)The CRF1 receptor mediates the excitatory actions of corticotropin releasing factor (CRF) in the developing rat brain: in vivo evidence using a novel, selective, non-peptide CRF receptor antagonist. *Brain Res.* 770, 89-95.
- Baram TZ, Eghbal-Ahmadi M, Bender RA. (2002) Is neuronal death required for seizure-induced epileptogenesis in the immature brain? *Prog Brain Res.*;135:365-75.
- Barba C, Barbati G, Minotti L, Hoffmann D, Kahane P. (2007) Ictal clinical and scalp-EEG findings differentiating temporal lobe epilepsies from temporal 'plus' epilepsies. *Brain.* 130, 1957-67.
- Barbarosie M, Avoli M. (1997) CA3-driven hippocampal-entorhinal loop controls rather than sustains in vitro limbic seizures. *J Neurosci.* 17, 9308-14.
- Barbeau E, Sontheimer A, Joubert S, Didic M, Felician O, Tramon E, Grimault S, Ceccaldi M, Poncet M. (2004) [The human perirhinal cortex] *Rev Neurol (Paris).* 160, 401-11.
- Barbeau E, Wendling F, Régis J, Duncan R, Poncet M, Chauvel P, Bartolomei F. (2005) Recollection of vivid memories after perirhinal region stimulations: synchronization in the theta range of spatially distributed brain areas. *Neuropsychologia.* 43, 1329-37.

- Bartolomei F, Wendling F, Vignal JP, Kochen S, Bellanger JJ, Badier JM, Le Bouquin-Jeannes R, Chauvel P. (1999) Seizures of temporal lobe epilepsy: identification of subtypes by coherence analysis using stereo-electro-encephalography. *Clin Neurophysiol.* 110, 1741-54.
- Bartolomei F., Wendling F., Bellanger J.J., Régis J., Chauvel P. (2001) Neural networks involving the medial temporal structures in temporal lobe epilepsy. *Clin. Neurophys.* 112, 1746-1760.
- Bartolomei F, Guye M, Gavaret M, Régis J, Wendling F, Raybaud C, Chauvel P. (2002) The presurgical evaluation of epilepsies. *Rev Neurol (Paris)*. 158, 4S55-64. French.
- Bartolomei F., Barbeau E., Gavaret M., Guye M., McGonigal A., Régis J., Chauvel P. (2004b) Cortical Stimulation study of the role of rhinal cortex in déjà vu and reminiscence of memories. *Neurology* 63, 858-864.
- Bartolomei F, Chauvel P, Wendling F. (2005a) Spatio-temporal dynamics of neuronal networks in partial epilepsy . *Rev Neurol (Paris)*. 161, 767-80. French.
- Bartolomei F., Khalil M., Wendling F., Sontheimer A., Réfis J., Ranjeva JP., Guye M. Chauvel P. (2005b) Entorhinal Cortex Involvement in Human Mesial Temporal Lobe epilepsy: An Electrophysiologic and Volumetric Study. *Epilepsia* 46, 677-687.
- Bartolomei F, Chauvel P, Wendling F. (2008) Epileptogenicity of brain structures in human temporal lobe epilepsy: a quantified study from intracerebral EEG. *Brain* 131, 1818-30.
- Bartolomei F, Wendling F (2009) Synchrony in neural networks underlying seizure generation in human partial epilepsies In : Perez Velasquez JL and Wennberg R editors. Coordinated Activity in the Brain, Measurements and Relevance to Brain Function and Behavior. Springer series in computational neuroscience, pp 137-147
- Bassant MH, Poindessous-Jazat F.(2001)Ventral tegmental nucleus of Gudden: a pontine hippocampal theta generator? *Hippocampus*.11, 809-13
- Beck CH, Fibiger HC. (1995) Conditioned fear-induced changes in behavior and in the expression of the immediate early gene c-fos: with and without diazepam pretreatment. *J Neurosci.*15, 709-20.
- Becker A, Grecksch G, Rüttrich HL, Pohle W, Marx B, Matthies H. (1992) Kindling and its consequences on learning in rats. *Behav Neural Biol.* 57, 37-43
- Beckstead RM.(1978) Afferent connections of the entorhinal area in the rat as demonstrated by retrograde cell-labeling with horseradish peroxidase. *Brain Res.*152, 249-64
- Ben-Ari Y.(1985) Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience.*14, 375-403.
- Berg RW, Kleinfeld D. (2003a) Vibrissa movement elicited by rhythmic electrical microstimulation to motor cortex in the aroused rat mimics exploratory whisking. *J Neurophysiol.* 90, 2950-63.

- Berg RW, Kleinfeld D. (2003b) Rhythmic whisking by rat: retraction as well as protraction of the vibrissae is under active muscular control. *J Neurophysiol.*104-17.
- Berg RW, Whitmer D, Kleinfeld D.(2006) Exploratory whisking by rat is not phase locked to the hippocampal theta rhythm. *J Neurosci.* 26, 6518-22.
- Berger H (1929) Ueber das Elektroenkephalogramm des Menschen. *Arch Psychiatr Nervenkrankh* 87, 527-570.
- Berke JD, Hetrick V, Breck J, Greene RW. (2008) Transient 23-30 Hz oscillations in mouse hippocampus during exploration of novel environments. *Hippocampus.* 18, 519-29.
- Berlyne, D.E. (1950) Novelty and curiosity as determinants of exploratory behavior. *British Journal of Psychology*, 41, 68-80.
- Bernard C, Esclapez M, Hirsch JC, Ben-Ari Y. (1998) Interneurons are not so dormant in temporal lobe epilepsy: a critical reappraisal of the dormant basket cell hypothesis. *Epilepsy Res.* 32, 93-103.
- Bernasconi A, Cendes F, Lee J, Reutens DC, Gotman J. (1999) EEG background delta activity in temporal lobe epilepsy: correlation with volumetric and spectroscopic imaging. *Epilepsia.* 40, 1580-6.
- Bernasconi N, Natsume J, Bernasconi A. (2005) Progression in temporal lobe epilepsy: differential atrophy in mesial temporal structures. *Neurology.* 65, 223-8.
- Bertram EH, Cornett J.(1993) The ontogeny of seizures in a rat model of limbic epilepsy: evidence for a kindling process in the development of chronic spontaneous seizures. *Brain Res.*625, 295-300.
- Bertram EH, Cornett JF. (1994) The evolution of a rat model of chronic spontaneous limbic seizures. *Brain Res.*661, 157-62.
- Bertrand O, Tallon-Baudry C. (2000) Oscillatory gamma activity in humans: a possible role for object representation. *Int J Psychophysiol.* 38, 211-23. **(Revue)**
- Bettus G, Guedj E, Joyeux F, Confort-Gouny S, Soulier E, Laguitton V, Cozzone PJ, Chauvel P, Ranjeva JP, Bartolomei F, Guye M. (2008) Decreased basal fMRI functional connectivity in epileptogenic networks and contralateral compensatory mechanisms. *Hum Brain Mapp.* 2008 Jul 25.
- Binnie CD, Kasteleijn-Nolst Trenité DG, Smit AM, Wilkins AJ.(1987) Interactions of epileptiform EEG discharges and cognition. *Epilepsy Res.* 1, 239-45.
- Bland BH.(1986) The physiology and pharmacology of hippocampal formation theta rhythms. *Prog Neurobiol.* 26, 1-54.
- Bland BH, Colom LV. (1993) Extrinsic and intrinsic properties underlying oscillation and synchrony in limbic cortex. *Prog Neurobiol.*41, 157-208.

- Bland BH, Oddie SD. (1998) Anatomical, electrophysiological and pharmacological studies of ascending brainstem hippocampal synchronizing pathways. *Neurosci Biobehav Rev.* 22, 259-73. (Review)
- Bohbot VD, Kalina M, Stepankova K, Spackova N, Petrides M, Nadel L. (1998) Spatial memory deficits in patients with lesions to the right hippocampus and to the right parahippocampal cortex. *Neuropsychologia.* 36, 1217-38.
- Bohbot VD, Jech R, Růžicka E, Nadel L, Kalina M, Stepánková K, Bures J. (2002) Rat spatial memory tasks adapted for humans: characterization in subjects with intact brain and subjects with selective medial temporal lobe thermal lesions. *Physiol Res.* 51 Suppl 1:S49-65.
- Bohbot VD, Corkin S. (2007) Posterior parahippocampal place learning in H.M. *Hippocampus.* 17, 863-72.
- Bolanos AR, Sarkisian M, Yang Y, Hori A, Helmers SL, Mikati M, Tandon P, Stafstrom CE, Holmes GL. (1998) Comparison of valproate and phenobarbital treatment after status epilepticus in rats. *Neurology.* 51(1):41-8.
- Bolhuis JJ, Stewart CA, Forrest EM. (1994) Retrograde amnesia and memory reactivation in rats with ibotenate lesions to the hippocampus or subiculum. *Q J Exp Psychol B.* 47, 129-50.
- Bollobas B (1985) Random graphs. Academic Press, New York.
- Bonhila L, Rorden C, Appenzeller S, Coan AC, Cendes F, Li LM (2006) Gray matter atrophy associated with duration of temporal lobe epilepsy. *Neuroimage* 32: 1070-1079.
- Borhegyi Z, Freund TF. (1998) Dual projection from the medial septum to the supramammillary nucleus in the rat. *Brain Res Bull.* 46, 453-9.
- Borhegyi Z, Maglóczy Z, Acsády L, Freund TF.(1998) The supramammillary nucleus innervates cholinergic and GABAergic neurons in the medial septum-diagonal band of Broca complex. *Neuroscience.* 82, 1053-65.
- Börgers C, Kopell N.(2005) Effects of noisy drive on rhythms in networks of excitatory and inhibitory neurons. *Neural Comput.* 17, 557-608.
- Borhegyi Z, Varga V, Szilágyi N, Fabo D, Freund TF. (2004) Phase segregation of medial septal GABAergic neurons during hippocampal theta activity. *J Neurosci.* 24, 8470-9.
- Boulland JL, Ferhat L, Tallak Solbu T, Ferrand N, Chaudhry FA, Storm-Mathisen J, Esclapez M. (2007) Changes in vesicular transporters for gamma-aminobutyric acid and glutamate reveal vulnerability and reorganization of hippocampal neurons following pilocarpine-induced seizures. *J Comp Neurol.* 503(3):466-85.
- Bragin A., Jando G., Nadasdy Z., Hetke J., Wise K., Buzsaki G. (1995) Gamma (40-100 Hz) Oscillation in the Hippocampus of the Behaving Rat. *J. Neurosc.* 15, 47-60.

- Bragin A, Wilson CL, Engel J Jr. (2000) Chronic epileptogenesis requires development of a network of pathologically interconnected neuron clusters: a hypothesis. *Epilepsia*.41 Suppl 6:S144-52.
- Bragin A, Wilson CL, Staba RJ, Reddick M, Fried I, Engel J Jr. (2002) Interictal high-frequency oscillations (80-500 Hz) in the human epileptic brain: entorhinal cortex. *Ann Neurol*. 52, 407-15.
- Bragin A., Wilson C.L., Almajano J., Mody I., Engel J. Jr. (2004) High-frequency Oscillations after Status Epilepticus: Epileptogenesis and Seizure Genesis. *Epilepsia* 45, 1017.
- Braitenberg V, Schütz A (1998) *Cortex : Statistics and geometry of of neural connectivity*. Springer Berlin.
- Brandner C, Schenk F. (1998) Septal lesions impair the acquisition of a cued place navigation task: attentional or memory deficit? *Neurobiol Learn Mem*. 69, 106-25
- Brankack J, Stewart M, Fox SE.(1993) Current source density analysis of the hippocampal theta rhythm: associated sustained potentials and candidate synaptic generators. *Brain Res*. 615, 310-27.
- Brankack J, Lahtinen H, Koivisto E, Riekkinen PJ.(1993) Epileptogenic spikes and seizures but not high voltage spindles are induced by local frontal cortical application of gamma-hydroxybutyrate. *Epilepsy Res*. 15, 91-9.
- Brazhnik ES, Vinogradova OS, Karanov AM. (1985) Frequency modulation of neuronal theta-bursts in rabbit's septum by low-frequency repetitive stimulation of the afferent pathways. *Neuroscience*. 14, 501-8.
- Brazhnik ES, Vinogradova OS.(1986) Control of the neuronal rhythmic bursts in the septal pacemaker of theta-rhythm: effects of anaesthetic and anticholinergic drugs.*Brain Res*. 380, 94-106.
- Brazhnik ES, Vinogradova OS.(1988a) Modulation of signal transmission by the septal neurons of the rabbit during action on the cholinergic system. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 38, 701-9. Russian.
- Brazhnik ES, Vinogradova OS.(1988b) Frequency modulation of theta bursts of the septal neurons in the removal of ascending afferent effects in rabbits. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*. 38, 323-32. Russian.
- Brazhnik ES, Fox SE. (1997) Intracellular recordings from medial septal neurons during hippocampal theta rhythm. *Exp Brain Res*. 114, 442-53.
- Brazhnik ES, Fox SE. (1999) Action potentials and relations to the theta rhythm of medial septal neurons in vivo. *Exp Brain Res*. 127, 244-58.
- Brown MW, Aggleton JP. (2001) Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus? *Nat Rev Neurosci*. 2, 51-61.

Brun VH, Otnass MK, Molden S, Steffenach HA, Witter MP, Moser MB, Moser EI. (2002) Place cells and place recognition maintained by direct entorhinal-hippocampal circuitry. *Science*. 296, 2243-6.

Brun VH, Leutgeb S, Wu HQ, Schwarcz R, Witter MP, Moser EI, Moser MB. (2008) Impaired spatial representation in CA1 after lesion of direct input from entorhinal cortex. *Neuron*. 57, 290-302. *Comment in: Neuron*. 2008 Jan 24;57, 175-7.

Buchanan M (2003) Nexus : Small worlds and the groundbreaking science of networks. W.W. Norton and Company, New York.

Buffalo EA, Reber PJ, Squire LR. (1998) The human perirhinal cortex and recognition memory. *Hippocampus*. 330-9.

Buño W Jr, Velluti JC.(1977) Relationships of hippocampal theta cycles with bar pressing during self-stimulation. *Physiol Behav*. 19, 615-21.

Buño W Jr, Garcia-Sanchez JL, Garcia-Austt E.(1978) Reset of hippocampal rhythmical activities by afferent stimulation. *Brain Res Bull*. 3, 21-8.

Bunsey M, Eichenbaum H. (1996) Conservation of hippocampal memory function in rats and humans. *Nature*. 379, 255-7.

Bureau YR, Peredery O, Persinger MA. (1994) Concordance of quantitative damage within the diencephalon and telencephalon following systemic pilocarpine (380 mg/kg) or lithium (3 mEq/kg)/pilocarpine (30 mg/kg) induced seizures. *Brain Res*. 648, 265-9.

Burgess N, Maguire EA, O'Keefe J. (2002) The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron*. 35, 625-41.

Burwell RD, Witter MP, Amaral DG.(1995) Perirhinal and postrhinal cortices of the rat: a review of the neuroanatomical literature and comparison with findings from the monkey brain. *Hippocampus*. 5(5):390-408. Review.. *Erratum in: Hippocampus* 1996;6, 340.

Burwell RD, Amaral DG. (1998) Perirhinal and postrhinal cortices of the rat: interconnectivity and connections with the entorhinal cortex. *J Comp Neurol*. 391, 293-321.

Burwell RD. (2001) Borders and cytoarchitecture of the perirhinal and postrhinal cortices in the rat. *J Comp Neurol*. 437, 17-41.

Bussey TJ, Muir JL, Aggleton JP. (1999) Functionally dissociating aspects of event memory: the effects of combined perirhinal and postrhinal cortex lesions on object and place memory in the rat. *J Neurosci*. 19, 495-502.

Bussey TJ, Dias R, Amin E, Muir JL, Aggleton JP. (2001) Perirhinal cortex and place-object conditional learning in the rat. *Behav Neurosci*. 115, 776-85.

Butler CR, Zeman AZ. (2008a) Recent insights into the impairment of memory in epilepsy: transient epileptic amnesia, accelerated long-term forgetting and remote memory impairment. *Brain*. 131, 2243-63.

- Butler CR, Bhaduri A, Acosta-Cabronero J, Nestor PJ, Kapur N, Graham KS, Hodges JR, Zeman AZ. (2008b) Transient epileptic amnesia: regional brain atrophy and its relationship to memory deficits. *Brain*. 2008 Dec 10.
- Buzsáki G, Grastyán E, Kellényi L, Czopf J. (1979b) Dynamic phase-shifts between theta generators in the rat hippocampus. *Acta Physiol Acad Sci Hung*. 53, 41-5.
- Buzsáki,G. (1983) Cellular Bases of Hippocampal EEG in the Behaving Rat. *Brain Research Reviews* 6, 139-171.
- Buzsáki,G. (1986) Hippocampal Sharp Waves: Their Origin and Significance. *Brain Research* 398, 242-252.
- Buzsáki G, Ponomareff GL, Bayardo F, Ruiz R, Gage FH. (1989b) Neuronal activity in the subcortically denervated hippocampus: a chronic model for epilepsy. *Neuroscience*. 28, 527-38.
- Buzsáki,G. (1989a) Two-stage model of memory trace formation: A role for “noisy” brain states. *Neuroscience* 31, 551-570.
- Buzsáki G, Hsu M, Slamka C, Gage FH, Horváth Z. (1991) Emergence and propagation of interictal spikes in the subcortically denervated hippocampus. *Hippocampus*. 1, 163-80.
- Buzsáki G, Horváth Z, Urioste R, Hetke J, Wise K. (1992) High-frequency network oscillation in the hippocampus. *Science*. 256, 1025-7.
- Buzsáki G. (1996) The hippocampo-neocortical dialogue. *Cereb Cortex*. 6, 81-92.
- Buzsáki,G. (1998) Memory consolidation during sleep: a neuropsychological perspective. *J Sleep Res* 7 S1, 17-23.
- Buzsáki,G. (2002) Theta Oscillations in the Hippocampus. *Neuron* 33, 325-340.
- Buzsáki,G. (2005a) Theta Rhythm of Navigation: Link Between Path Integration and Landmark Navigation, Episodic and Semantic Memory. *Hippocampus* 15, 827-840.
- Buzsáki G. (2005b) Neuroscience: neurons and navigation. *Nature*. 436, 781-2.
- Buzsáki G, Chrobak JJ. (2005) Synaptic plasticity and self-organization in the hippocampus. *Nat Neurosci*. 8, 1418-20.
- Buzsáki G. (2006) Rhythms of the brain. Oxford University Press. Nadasdy Z and Evans R editors.
- Cain DP, Boon F, Corcoran ME. (2006) Thalamic and hippocampal mechanisms in spatial navigation: a dissociation between brain mechanisms for learning how versus learning where to navigate. *Behav Brain Res*. 170, 241-56.

- Cain SW, Verwey M, Szybowska M, Ralph MR, Yeomans JS.(2007) Carbachol injections into the intergeniculate leaflet induce nonphotic phase shifts. *Brain Res.* 1177, 59-65.
- Cammissuli S, Murphy MP, Ikeda-Douglas CJ, Balkissoon V, Holsinger RM, Head E, Michael M, Racine RJ, Milgram NW. (1997) Effects of extended electrical kindling on exploratory behavior and spatial learning. *Behav Brain Res.* 89, 179-90.
- Campos-Castello J.(2006) The neuropsychology of epilepsy: what factors are involved? *Rev Neurol.* 43 Suppl 1:S59-70. Review. Spanish.
- Canning KJ, Leung LS.(1997) Lateral entorhinal, perirhinal, and amygdala-entorhinal transition projections to hippocampal CA1 and dentate gyrus in the rat: a current source density study. *Hippocampus.* 7, 643-55.
- Canolty RT, Edwards E, Dalal SS, Soltani M, Nagarajan SS, Kirsch HE, Berger MS, Barbaro NM, Knight RT.(2006) High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. 313, 1626-8.
- Cantero JL, Atienza M, Stickgold R, Kahana MJ, Madsen JR, Kocsis B. (2003) Sleep-dependent theta oscillations in the human hippocampus and neocortex. *J Neurosci.* 23, 0897-903.
- Caplan JB, Madsen JR, Schulze-Bonhage A, Aschenbrenner-Scheibe R, Newman EL, Kahana MJ. (2003) Human theta oscillations related to sensorimotor integration and spatial learning. *J Neurosci.* 23, 4726-36.
- Cassel JC, Cassel S, Galani R, Kelche C, Will B, Jarrard L. (1998) Fimbria-fornix vs selective hippocampal lesions in rats: effects on locomotor activity and spatial learning and memory. *Neurobiol Learn Mem.* 69, 22-45
- Cavalheiro EA, Silva DF, Turski WA, Calderazzo-Filho LS, Bortolotto ZA, Turski L. (1987) The susceptibility of rats to pilocarpine-induced seizures is age-dependent. *Brain Res.* 465, 43-58.
- Cavalheiro EA, Leite JP, Bortolotto ZA, Turski WA, Ikonomidou C, Turski L (1991) Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia* 32:778-782.
- Cavalheiro EA. (1995) The pilocarpine model of epilepsy. *Ital J Neurol Sci.* 16, 33-7.
- Cavalheiro EA., Mello ML. Leite JP. (2006) The pilocarpine model of seizures. In Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL (Eds) *Models of seizures and epilepsy.*, Elsevier, Burlington, MA, pp. 433-448.
- Cavazos JE, Sutula TP. (1990) Progressive neuronal loss induced by kindling: a possible mechanism for mossy fiber synaptic reorganization and hippocampal sclerosis. *Brain Res.* 527, 1-6.

- Charpak S, Paré D, Llinás R.(1995) The entorhinal cortex entrains fast CA1 hippocampal oscillations in the anaesthetized guinea-pig: role of the monosynaptic component of the perforant path. *Eur J Neurosci.* 7, 1548-57.
- Chatrjian GE, Shaw CM; Lffman H (1964) The significance of periodic lateralized epileptiform discharges in EEG: an electrographic, clinical, and pathological study. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 17, 177-93.
- Chatrjian GE, Canfield RC, Lettich E, Black RG. (1974) Cerebral responses to electrical stimulation of tooth pulp in man. *J Dent Res.* 53, 1299.
- Chauvière L, Rafrafi N, Thinus-Blanc C, Bartolomei F, Esclapez M, Bernard C. (2009) Early deficits in spatial memory and theta rhythm in experimental temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 29, 5402-10.
- Chen S, Kobayashi M, Honda Y, Kakuta S, Sato F, Kishi K. (2007) Preferential neuron loss in the rat piriform cortex following pilocarpine-induced status epilepticus. *Epilepsy Res.* 74, 1-18.
- Cheung MC, Chan AS, Chan YL, Lam JM, Lam W. (2006) Effects of illness duration on memory processing of patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 47, 1320-8.
- Chrobak JJ, Buzsáki G. (1996) High-frequency oscillations in the output networks of the hippocampal-entorhinal axis of the freely behaving rat. *J Neurosci.* 16, 3056-66.
- Chrobak JJ, Buzsáki G. (1998) Operational dynamics in the hippocampal-entorhinal axis. *Neurosci Biobehav Rev.*;22, 303-10.
- Chrobak JJ, Lörincz A, Buzsáki G. (2000) Physiological patterns in the hippocampo-entorhinal cortex system. *Hippocampus.* 10, 457-65.
- Cilio MR, Sogawa Y, Cha BH, Liu X, Huang LT, Holmes GL. (2003) Long-term effects of status epilepticus in the immature brain are specific for age and model. *Epilepsia.* 44, 518-28.
- Clark RE, Broadbent NJ, Zola SM, Squire LR. (2002) Anterograde amnesia and temporally graded retrograde amnesia for a nonspatial memory task after lesions of hippocampus and subiculum. *J Neurosci.* 22, 4663-9.
- Clemens B, Szigeti G, Barta Z.(2000) EEG frequency profiles of idiopathic generalised epilepsy syndromes. *Epilepsy Res.* 2000 Dec;42, 105-15.
- Clemens B. (2004) Pathological theta oscillations in idiopathic generalised epilepsy. *Clin Neurophysiol.* 115,1436-41.
- Clemens B., Piros P., Bessenyei M., Hollody K. (2007a) Lamotrigine decreases EEG synchronization in a use-dependent manner in patients with idiopathic generalized epilepsy. *Clin. Neurophysiol.*

- Clemens B, Bessenyi M, Piros P, Tóth M, Seress L, Kondákor I. (2007b) Characteristic distribution of interictal brain electrical activity in idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsia*. 48, 941-9.
- Clifford DB, Olney JW, Maniotis A, Collins RC, Zorumski CF. (1987) The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. *Neuroscience*.;23, 953-68.
- Cohen NJ, Squire LR. (1980) Preserved learning and retention of pattern-analyzing skill in amnesia: dissociation of knowing how and knowing that. *Science*. 210, 207-10.
- Colling SB, Stanford IM, Traub RD, Jefferys JG. (1998) Limbic gamma rhythms. I. Phase-locked oscillations in hippocampal CA1 and subiculum. *J Neurophysiol*. 80, 155-61.
- Colom LV, Christie BR, Bland BH. (1988) Cingulate cell discharge patterns related to hippocampal EEG and their modulation by muscarinic and nicotinic agents. *Brain Res*. 460, 329-38.
- Colom LV, Nassif-Caudarella S, Dickson CT, Smythe JW, Bland BH. (1991) In vivo intrahippocampal microinfusion of carbachol and bicuculline induces theta-like oscillations in the septally deafferented hippocampus. *Hippocampus*. 1, 381-90.
- Colom LV, Bland BH. (1991) Medial septal cell interactions in relation to hippocampal field activity and the effects of atropine. *Hippocampus*. 1, 15-30.
- Colom LV, Castaneda MT, Reyna T, Hernandez S, Garrido-Sanabria E. (2005) Characterization of medial septal glutamatergic neurons and their projection to the hippocampus. *Synapse*.58, 151-64.
- Colom L.V., Garcia-Hernandez A., Castañeda M.T., Perez-Cordova M.G., Garrido-Sanabria E.R. (2006) Septo-Hippocampal Networks in Chronically Epileptic Rats: Potential Antiepileptic Effects of Theta Rhythm Generation. *J. Neurophysiol*. 95, 3645-3653.
- Contestabile A, Fonnum F. (1983) Cholinergic and GABAergic forebrain projections to the habenula and nucleus interpeduncularis: surgical and kainic acid lesions. *Brain Res*. 26;275, 287-97.
- Cornaggia CM, Beghi M, Provenzi M, Beghi E. (2006) Correlation between cognition and behavior in epilepsy. *Epilepsia* 47 Suppl 2, 34-9.
- Cornwell BR, Johnson LL, Holroyd T, Carver FW, Grillon C. (2008) Human hippocampal and parahippocampal theta during goal-directed spatial navigation predicts performance on a virtual Morris water maze. *Jun* 4;28, 5983-90.
- Covolan L, Mello LE. (2000) Temporal profile of neuronal injury following pilocarpine or kainic acid-induced status epilepticus. *Epilepsy Res*. 39, 133-52.
- Crane J, Milner B. (2005) What went where? Impaired object-location learning in patients with right hippocampal lesions. *Hippocampus*. 15, 216-31.

- Csicsvari J, Jamieson B, Wise KD, Buzsáki G. (2003) Mechanisms of gamma oscillations in the hippocampus of the behaving rat. *Neuron*. 37, 311-22.
- Csicsvari J, O'Neill J, Allen K, Senior T. (2007) Place-selective firing contributes to the reverse-order reactivation of CA1 pyramidal cells during sharp waves in open-field exploration. *Eur J Neurosci*. 26, 704-16.
- Curia G, Longo D, Biagini G, Jones RS, Avoli M (2008) The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci. Methods* 172, 143-157.
- Dang-Vu TT, Schabus M, Desseilles M, Albouy G, Boly M, Darsaud A, Gais S, Rauchs G, Sterpenich V, Vandewalle G, Carrier J, Moonen G, Balteau E, Degueldre C, Luxen A, Phillips C, Maquet P. (2008) Spontaneous neural activity during human slow wave sleep. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105, 15160-5.
- D'Antuono M, Benini R, Biagini G, D'Arcangelo G, Barbarosie M, Tancredi V, Avoli M. (2002) Limbic network interactions leading to hyperexcitability in a model of temporal lobe epilepsy. *J Neurophysiol*. 87, 634-9.
- Dawodu S, Thom M. (2005) Quantitative neuropathology of the entorhinal cortex region in patients with hippocampal sclerosis and temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 46, 23-30.
- De Curtis M, Manfredi A, Biella G. (1998) Activity-dependent pH shifts and periodic recurrence of spontaneous interictal spikes in a model of focal epileptogenesis. *J Neurosci*. 18, 7543-51.
- De Curtis M, Avanzini G. (2001) Interictal spikes in focal epileptogenesis. *Progress in Neurobiology* 63, 541-567.
- De Curtis M, Librizzi L, Biella G (2001) Discharge threshold is enhanced for several seconds after a single interictal spike in a model of focal epileptogenesis. *Eur J Neurosci*. 14, 174-8.
- De Curtis M, Tassi L, Lo Russo G, Mai R, Cossu M, Francione S. (2005) Increased discharge threshold after an interictal spike in human focal epilepsy. *Eur J Neurosci*. 22, 2971-6.
- De Guzman PH, Inaba Y, Baldelli E, de Curtis M, Biagini G, Avoli M. (2008) Network hyperexcitability within the deep layers of pilocarpine-treated rat entorhinal cortex. *J Physiol*. 586, 1867-83.
- Deacon TW, Eichenbaum H, Rosenberg P, Eckmann KW. (1983) Afferent connections of the perirhinal cortex in the rat. *J Comp Neurol*. 220, 168-90.
- Detour J., Schroeder H., Desor D., Nehlig A. (2005) A 5-month period of epilepsy impairs spatial memory, decreases anxiety, but spares object recognition in the lithium-pilocarpine model in adult rats. *Epilepsia* 46, 499-508.
- Deutch C, Spencer S, Robbins R, Cicchetti D, Spencer D. (1991) Interictal spikes and hippocampal somatostatin levels in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 32, 174-8.

- Devinsky O. (1995) Cognitive and behavioral effects of antiepileptic drugs. *Epilepsia*. 36 Suppl 2:S46-65.
- Dickson CT, Kirk IJ, Oddie SD, Bland BH. (1995) Classification of theta-related cells in the entorhinal cortex: cell discharges are controlled by the ascending brainstem synchronizing pathway in parallel with hippocampal theta-related cells. *Hippocampus*. 5, 306-19.
- Dinocourt C, Petanjek Z, Freund TF, Ben-Ari Y, Esclapez M. (2003) Loss of interneurons innervating pyramidal cell dendrites and axon initial segments in the CA1 region of the hippocampus following pilocarpine-induced seizures. *J Comp Neurol*. 459, 407-25.
- Doherty J, Dingledine R.(2001)Reduced excitatory drive onto interneurons in the dentate gyrus after status epilepticus. *J Neurosci*. 21, 2048-57.
- Dolorfo CL, Amaral DG (1998) Entorhinal cortex of the rat: topographic organization of the cells of origin of the perforant path projection to the dentate gyrus. *J Comp Neurol*. 398, 25-48.
- Doppelmayr M, Klimesch W, Schwaiger J, Auinger P, Winkler T. (1998a) Theta synchronization in the human EEG and episodic retrieval. *Neurosci Lett*. 257, 41-4.
- Dos Santos J.G., Monteiro Longo B., Marcela Blanco M., Menezes de oliveira M.G., Melle L.E. (2005) Behavioral changes resulting from the administration of cycloheximide in the pilocarpine model of epilepsy. *Brain Research* 1066, 37-48.
- Dragoi G, Carpi D, Recce M, Csicsvari J, Buzsáki G. (1999) Interactions between hippocampus and medial septum during sharp waves and theta oscillation in the behaving rat. *J Neurosci*. 19, 6191-9.
- Drane DL, Meador KJ (1996) Epilepsy, anticonvulsant drugs and cognition. *Baillieres Clin Neurol*. 5, 877-85.
- Du F, Whetsell WO Jr, Abou-Khalil B, Blumenkopf B, Lothman EW, Schwarcz R. (1993) Preferential neuronal loss in layer III of the entorhinal cortex in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. 16, 223-33.
- Du F, Eid T, Lothman EW, Köhler C, Schwarcz R. (1995) Preferential neuronal loss in layer III of the medial entorhinal cortex in rat models of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci*. 15, 6301-13.
- Dudek FE, Shao LR. (2003) Loss of GABAergic Interneurons in Seizure-induced Epileptogenesis. *Epilepsy Curr*. 3, 159-161.
- Dudek, F.E., Clark, S., Williams, P.A., Grabenstatter, H.L., 2006. Kainate induced status epilepticus: a chronic model of acquired epilepsy. In: Pitkänen, A., Schwartzkroin, P.A., Solomon, L.M. (Eds.), *Models of Seizures and Epilepsy*. Elsevier Academic Press, Burlington, pp. 415–432.
- Dudek FE, Sutula TP. (2007) Epileptogenesis in the dentate gyrus: a critical perspective. *Prog Brain Res*.163:755-73. Review.

Dudek FE.(2009) Epileptogenesis: a new twist on the balance of excitation and inhibition. *Epilepsy Curr.*9, 174-6.

Duffy SN, Craddock KJ, Abel T, Nguyen PV. (2001) Environmental enrichment modifies the PKA-dependence of hippocampal LTP and improves hippocampus-dependent memory. *Learn Mem.* 8, 26-34.

Dutar P, Bassant MH, Senut MC, Lamour Y. (1995)The septohippocampal pathway: structure and function of a central cholinergic system. *Physiol Rev.* 75, 393-427.

Ebert U, Brandt C, Löscher W. (2002) Delayed sclerosis, neuroprotection, and limbic epileptogenesis after status epilepticus in the rat. *Epilepsia.* 43 Suppl 5:86-95.

Eichenbaum H, Schoenbaum G, Young B, Bunsey M. (1996) Functional organization of the hippocampal memory system. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93, 13500-7.

Eichenbaum H. (2000) A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci.* 1, 41-50.

El-Hassar L, Milh M, Wendling F, Ferrand N, Esclapez M, Bernard C (2007a) Cell domain-dependent changes in the glutamatergic and GABAergic drives during epileptogenesis in the rat CA1 region. *J Physiol.* 1, 193-211.

El-Hassar L, Esclapez M, Bernard C. (2007b) Hyperexcitability of the CA1 hippocampal region during epileptogenesis. *Epilepsia.* 48 Suppl 5:131-9.

Elazar Z, Blum B. (1974) ictal discharges in tungsten foci and EEG seizure activity. *Epilepsia.*15, 599-610.

Engel J Jr, Rausch R, Lieb JP, Kuhl DE, Crandall PH.(1981) Correlation of criteria used for localizing epileptic foci in patients considered for surgical therapy of epilepsy. *Ann Neurol.* 9, 215-24.

Engel AK, Singer W. (2001) Temporal binding and the neural correlates of sensory awareness. *Trends Cogn Sci.* 5, 16-25.

Engel J Jr, Bragin A, Staba R, Mody I. (2009) High-frequency oscillations: what is normal and what is not? *Epilepsia.* 50, 598-604.

Ennaceur A, Neave N, Aggleton JP. (1996) Neurotoxic lesions of the perirhinal cortex do not mimic the behavioural effects of fornix transection in the rat. *Behav Brain Res.* 80, 9-25.

Erdős P, Rényi A (1960) On the Evolution of Random Graphs. *Publ Math Inst Hung Acad Sci* 5:17-61.

Esclapez M, Tillakaratne NJ, Tobin AJ, Houser CR. (1993) Comparative localization of mRNAs encoding two forms of glutamic acid decarboxylase with nonradioactive in situ hybridization methods. *J Comp Neurol.* 331, 339-62.

- Esclapez M, Tillakaratne NJ, Kaufman DL, Tobin AJ, Houser CR. (1994) Comparative localization of two forms of glutamic acid decarboxylase and their mRNAs in rat brain supports the concept of functional differences between the forms. *J Neurosci.* 14, 1834-55.
- Esclapez M, Hirsch JC, Khazipov R, Ben-Ari Y, Bernard C. (1997) Operative GABAergic inhibition in hippocampal CA1 pyramidal neurons in experimental epilepsy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 94, 12151-6.
- Esclapez M, Hirsch JC, Ben-Ari Y, Bernard C. (1999) Newly formed excitatory pathways provide a substrate for hyperexcitability in experimental temporal lobe epilepsy. *J Comp Neurol.* 408, 449-60.
- Fell J, Klaver P, Lehnertz K, Grunwald T, Schaller C, Elger CE, Fernández G. (2001) Human memory formation is accompanied by rhinal-hippocampal coupling and decoupling. *Nat Neurosci.* 4, 1259-64.
- Fell J, Klaver P, Elger CE, Fernández G. (2002) The interaction of rhinal cortex and hippocampus in human declarative memory formation. *Rev Neurosci.* 13, 299-312.
- Fell J, Staedtgen M, Burr W, Kockelmann E, Helmstaedter C, Schaller C, Elger CE, Fernández G. (2003a) Rhinal-hippocampal EEG coherence is reduced during human sleep. *Eur J Neurosci.* 18, 1711-6.
- Fell J, Klaver P, Elfadil H, Schaller C, Elger CE, Fernández G. (2003b) Rhinal-hippocampal theta coherence during declarative memory formation: interaction with gamma synchronization? *Eur J Neurosci.* 17, 1082-8.
- Fell J, Fernández G, Lutz MT, Kockelmann E, Burr W, Schaller C, Elger CE, Helmstaedter C. (2006) Rhinal-hippocampal connectivity determines memory formation during sleep. *Brain.* 129, 108-14.
- Fenton AA, Bures J. (1993) Place navigation in rats with unilateral tetrodotoxin inactivation of the dorsal hippocampus: place but not procedural learning can be lateralized to one hippocampus. *Behav Neurosci.* 107, 552-64.
- Fischer W, Chen KS, Gage FH, Björklund A. (1992) Progressive decline in spatial learning and integrity of forebrain cholinergic neurons in rats during aging. *Neurobiol Aging.* 13, 9-23.
- Fischer A, Sananbenesi F, Pang PT, Lu B, Tsai LH. (2005) Opposing roles of transient and prolonged expression of p25 in synaptic plasticity and hippocampus-dependent memory. *Neuron.* 48, 825-38. Comment in: *Neuron.* 48, 711-2.
- Fischer A, Sananbenesi F, Wang X, Dobbin M, Tsai LH. (2007) Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. *Nature.* 447, 178-82.
- Foffani G, Uzcategui YG, Gal B, Menendez de la Prida L. (2007) Reduced spike-timing reliability correlates with the emergence of fast ripples in the rat epileptic hippocampus. *Neuron.* 55, 930-41.

Foldvary-Schaefer N, Grigg-Damberger M. (2006) Sleep and epilepsy: what we know, don't know, and need to know. *J Clin Neurophysiol.* 23, 4-20.

Foster DJ, Wilson MA. (2006) Reverse replay of behavioural sequences in hippocampal place cells during the awake state. *Nature.* 440, 680-3. Comment in: *Nature.* 2006 Mar 30;440, 615-7.

Frankland PW, Josselyn SA, Anagnostaras SG, Kogan JH, Takahashi E, Silva AJ. (2004) Consolidation of CS and US representations in associative fear conditioning. *Hippocampus.* 14, 557-69.

Freeman WJ (1991) The physiology of perception. *Sci Am*, March 264, 78-85.

French JA, Williamson PD, Thadani VM, Darcey TM, Mattson RH, Spencer SS, Spencer DD. (1993) Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann Neurol.* 34, 774-80.

Freund TF, Antal M.(1988) GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature.* 336, 170-3.

Freund TF, Buzsáki G. (1996) Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus.* 6, 347-470.

Fries P (2005) A mechanism for cognitive dynamics: neuronal communication through neuronal coherence. *Trends Cogn Sci* 9:474-479.

Friston KJ (2000) The labile brain. I. Neuronal transients and non linear coupling. *Philos Trans R Soc Lond B* 355:215-236.

Frotscher M, Leranth C. (1988) Catecholaminergic innervation of pyramidal and GABAergic nonpyramidal neurons in the rat hippocampus. Double label immunostaining with antibodies against tyrosine hydroxylase and glutamate decarboxylase. *Histochemistry.*88, 313-9.

Fuerst D, Shah J, Shah A, Watson C.(2003) Hippocampal sclerosis is a progressive disorder: a longitudinal volumetric MRI study. *Ann Neurol.* 53, 413-6.

Fujikawa DG. (1996) The temporal evolution of neuronal damage from pilocarpine-induced status epilepticus. *Brain Res.* 725, 11-22

Fyhn M, Molden S, Witter MP, Moser EI, Moser MB. (2004) Spatial representation in the entorhinal cortex. *Science.* 305, 1258-64.

Gaffan EA, Eacott MJ. (1995) A computer-controlled maze environment for testing visual memory in the rat. *J Neurosci Methods.* 60, 23-37.

Gais S, Plihal W, Wagner U, Born J.(2000 ) Early sleep triggers memory for early visual discrimination skills. *Nat Neurosci.* 3, 1335-9.

Galani R, Weiss I, Cassel JC, Kelche C. (1998) Spatial memory, habituation, and reactions to spatial and nonspatial changes in rats with selective lesions of the hippocampus, the entorhinal cortex or the subiculum. *Behav Brain Res.* 96, 1-12.

- Gallagher M, Holland PC.(1992) Preserved configural learning and spatial learning impairment in rats with hippocampal damage.*Hippocampus*. 2, 81-8
- García Sánchez JE, Martín Luengo F, Prieto Prieto J, Rodrigo Sánchez N. (1978) Predominance of Bacteroides of the fragilis group in the fecal flora under the influence of gentamycin and kanamycin. *Rev Clin Esp*. 150, 77-80.
- Gaztelu JM, Buño W Jr. (1982) Septo-hippocampal relationships during EEG theta rhythm. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*.54, 375-87.
- Gervasoni D., Lin S-C., Ribeiro S., Soares E., Pantoja J., Nicolelis M.A.L. (2004) Global Forebrain Dynamics Predict Rat Behavioral states and Their Transitions. *J. Neuroscience* 24, 11137-11147.
- Gevins A. (1996) High resolution evoked potentials of cognition.*Brain Topogr*.8, 189-99.
- Gilbert TH, Hannesson DK, Corcoran ME. (2000) Hippocampal kindled seizures impair spatial cognition in the Morris water maze. *Epilepsy Res*. 38, 115-25.
- Gillies MJ, Traub RD, LeBeau FE, Davies CH, Gloveli T, Buhl EH, Whittington MA (2002) A model of atropine-resistant theta oscillations in rat hippocampal area CA1. *J. Physiol*. 543, 779-793.
- Givens BS, Olton DS. (1990) Cholinergic and GABAergic modulation of medial septal area: effect on working memory. *Behav Neurosci*. 104, 849-55.
- Givens B, Olton DS.(1994) Local modulation of basal forebrain: effects on working and reference memory. *J Neurosci*.14, 3578-87.
- Gloor P. (1990) Experiential phenomena of temporal lobe epilepsy. Facts and hypotheses. *Brain*. 113, 1673-94.
- Gloveli T, Dugladze T, Saha S, Monyer H, Heinemann U, Traub RD, Whittington MA, Buhl EH. (2005) Differential involvement of oriens/pyramidal interneurons in hippocampal network oscillations in vitro. *J Physiol*. 562, 131-47.
- Goffin K, Nissinen J, Van Laere K, Pitkänen A. (2007) Cyclicity of spontaneous recurrent seizures in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in rat. *Exp Neurol*. 205, 501-5.
- Gorter JA, van Vliet EA, Aronica E, Lopes da Silva FH. (2001) Progression of spontaneous seizures after status epilepticus is associated with mossy fibre sprouting and extensive bilateral loss of hilar parvalbumin and somatostatin-immunoreactive neurons. *Eur J Neurosci*. 13, 657-69.
- Gorter JA, Gonçalves Pereira PM, van Vliet EA, Aronica E, Lopes da Silva FH, Lucassen PJ. (2003) Neuronal cell death in a rat model for mesial temporal lobe epilepsy is induced by the initial status epilepticus and not by later repeated spontaneous seizures. *Epilepsia*. 44, 647-58.
- Gotman J.(1980) Quantitative measurements of epileptic spike morphology in the human EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*.48, 551-7. No abstract available

- Gotman J. (1984) Relationships between triggered seizures, spontaneous seizures, and interictal spiking in the kindling model of epilepsy. *Exp Neurol*.84, 259-73.
- Gotman J, Marciani MG.(1985)Electroencephalographic spiking activity, drug levels, and seizure occurrence in epileptic patients.*Ann Neurol*.17, 597-603.
- Gotman J. (1991) Relationships between interictal spiking and seizures: human and experimental evidence.*Can J Neurol Sci*. 18, 573-6. Review
- Grastyan E, Lissak K, Madarasz I, Donhoffer H (1959) Hippocampal electrical activity during the development of conditioned reflexes. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*.11, 409-30.
- Gray CM, Singer W.(1989) Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 86, 1698-702.
- Gray CM.(1994) Synchronous oscillations in neuronal systems: mechanisms and functions. *J Comput Neurosci*.1, 11-38. Review. No abstract available.
- Green JD, Arduni AA (1954) Hippocampal electrical activity in arousal. *J Neurophysiol*. 17, 533-57.
- Grenier F, Timofeev I, Steriade M. (2001) Focal synchronization of ripples (80-200 Hz) in neocortex and their neuronal correlates. *J Neurophysiol*. 86, 1884-98.
- Groenewegen HJ, Vermeulen-Van der Zee E, te Kortschot A, Witter MP. (1987) Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neuroscience*. 23, 103-20.
- Gröticke I, Hoffmann K, Löscher W. (2007) Behavioral alterations in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in mice. *Exp Neurol*. 207, 329-49.
- Guerreiro CA, Jones-Gotman M, Andermann F, Bastos A, Cendes F. (2001) Severe Amnesia in Epilepsy: Causes, Anatomopsychological Considerations, and Treatment. *Epilepsy Behav*. 2, 224-246.
- Guldin WO, Markowitsch HJ. (1983)Cortical and thalamic afferent connections of the insular and adjacent cortex of the rat. *J Comp Neurol*.215, 135-53.
- Guye M, Régis J, Tamura M, Wendling F, McGonigal A, Chauvel P, Bartolomei F. (2006) The role of corticothalamic coupling in human temporal lobe epilepsy. *Brain* 129, 1917-28
- Hafting T, Fyhn M, Molden S, Moser MB, Moser EI. (2005) Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature*. 436, 801-6.
- Hagan JJ, Salamone JD, Simpson J, Iversen SD, Morris RG. (1988) Place navigation in rats is impaired by lesions of medial septum and diagonal band but not nucleus basalis magnocellularis. *Behav Brain Res*. 27, 9-20.

- Haglund L, Swanson LW, Köhler C. (1984) The projection of the supramammillary nucleus to the hippocampal formation: an immunohistochemical and anterograde transport study with the lectin PHA-L in the rat. *J Comp Neurol.* 229, 171-85.
- Halgren E, Chauvel P. (1993) Experimental phenomena evoked by human brain electrical stimulation. *Adv Neurol.*63:123-40.
- Hannesson DK, Corcoran ME. (2000) The mnemonic effects of kindling. *Neurosci Biobehav Rev.* 24, 725-51.
- Hangya B, Borhegyi Z, Szilágyi N, Freund TF, Varga V. (2009) GABAergic neurons of the medial septum lead the hippocampal network during theta activity. *J Neurosci.* 29, 8094-102.
- Hannesson DK, Mohapel P, Corcoran ME. (2001) Dorsal hippocampal kindling selectively impairs spatial learning/short-term memory. *Hippocampus.* 11, 275-86.
- Hargreaves EL, Rao G, Lee I, Knierim JJ. (2005) Major dissociation between medial and lateral entorhinal input to dorsal hippocampus. *Science.* 308, 1792-4.
- Harris KD, Csicsvari J, Hirase H, Dragoi G, Buzsáki G. (2003) Organization of cell assemblies in the hippocampus. *Nature.* 424, 552-6.
- Hasselmo ME, McClelland JL. (1999) Neural models of memory. *Curr Opin Neurobiol.* 9, 184-8.
- Hasselmo ME, Bodelón C, Wyble BP. (2002a) A proposed function for hippocampal theta rhythm: separate phases of encoding and retrieval enhance reversal of prior learning. *Neural Comput.* 14, 793-817.
- Hasselmo ME, Cannon RC, Koene RA. (2002b) A stimulation of parahippocampal and hippocampal structures guiding spatial navigation of a virtual rat in a virtual environment: A functional framework for theta theory. In MP Witter & FG Wouterlood (Eds.), *The parahippocampal region: Organisation and role in cognitive functions.* Oxford: Oxford University Press.
- Hasselmo ME. (2005) What is the function of hippocampal theta rhythm?--Linking behavioral data to phasic properties of field potential and unit recording data. *Hippocampus.* 15, 936-49.
- Hayes B (2000a) Graph-theory in practice, part I. *Am Sci* (Jan.-Feb.)88:13-19.
- Hayes B (2000b) Graph-theory in practice, part II. *Am Sci* (Jan.-Feb.)88:104-109.
- Hellier JL, Patrylo PR, Buckmaster PS, Dudek FE.(1998)Recurrent spontaneous motor seizures after repeated low-dose systemic treatment with kainate: assessment of a rat model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.*31, 73-84.
- Hellier JL, Dudek FE. (1999) Spontaneous motor seizures of rats with kainate-induced epilepsy: effect of time of day and activity state. *Epilepsy Res.* 35, 47-57.

Helmstaedter C, Hufnagel A, Elger CE. (1992) Seizures during cognitive testing in patients with temporal lobe epilepsy: possibility of seizure induction by cognitive activation. *Epilepsia*. 33(5):892-7.

Helmstaedter C, Kockelmann E.(2006) Cognitive outcomes in patients with chronic temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*.47 Suppl 2:96-8.

Helmstaedter C. (2007) Cognitive outcome of status epilepticus in adults. *Epilepsia*. 48 Suppl 8:85-90. Review. Erratum in: *Epilepsia*.48, 2384.

Helmstaedter C, Elger CE. (2009) Chronic temporal lobe epilepsy: a neurodevelopmental or progressively dementing disease? *Brain*. 132, 2822-30.

Hermann BP, Seidenberg M, Schoenfeld J, Davies K. (1997) Neuropsychological characteristics of the syndrome of mesial temporal lobe epilepsy. *Arch Neurol*. 54, 369-76.

Herman ST.(2002) Epilepsy after brain insult: targeting epileptogenesis. *Neurology*. 59, S21-6. Review.

Hermann B, Seidenberg M, Lee EJ, Chan F, Rutecki P. (2007) Cognitive phenotypes in temporal lobe epilepsy. *J Int Neuropsychol Soc*. 13, 12-20.

Hjeresen DL, Diaz J (1988) Ontogeny of susceptibility to experimental febrile seizures in rats. *Dev Psychobiol*.21, 261-275.

Hoexter, M.Q., Rosa, P.S., Tufik, S., Mello, L.E., 2005. Consequences of prolonged caffeine administration and its withdrawal on pilocarpine- and kainite-induced seizures in rats. *Epilepsia* 46, 1401–1406.

Holmes GL. (1991) The long-term effects of seizures on the developing brain: clinical and laboratory issues. *Brain Dev*. 13, 393-409.

Holmes GL. (2002) Seizure-induced neuronal injury: animal data. *Neurology*. 59, S3-6.

Holmes GL, Lenck-Santini PP. (2006) Role of interictal epileptiform abnormalities in cognitive impairment. *Epilepsy Behav*. 8, 504-15.

Holsheimer J, Boer J, Lopes da Silva FH, van Rotterdam A. (1982) The double dipole model of theta rhythm generation: simulation of laminar field potential profiles in dorsal hippocampus of the rat. *Brain Res*. 235, 31-50.

Horn E, Esseling K, Weber R.(1993) Protective sensitivity changes of the motor cortex due to epileptiform experience of the visual cortex. *Pharmacol Biochem Behav*.44, 709-15.

Horn E, Gehring B. (1996) Expression of epileptiform activity induced by a penicillin focus within the posterior thalamus in the awake rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 54, 759-70.

Hort J., Brozek G., Mares P., Langmeier M., Komarek V. (1999) Cognitive Functions After Pilocarpine-Induced Status Epilepticus: Changes During Silent Period Precede Appearance of Spontaneous Recurrent Seizures. *Epilepsia* 40, 1177-1183.

Hort J, Brozek G, Komárek V, Langmeier M, Mares P. (2000) Interstrain differences in cognitive functions in rats in relation to status epilepticus. *Behav Brain Res.* 112, 77-83.

Houser CR, Miyashiro JE, Swartz BE, Walsh GO, Rich JR, Delgado-Escueta AV. (1990) Altered patterns of dynorphin immunoreactivity suggest mossy fiber reorganization in human hippocampal epilepsy. *J Neurosci.* 10, 267-82.

Houser CR. (1990) Cholinergic synapses in the central nervous system: studies of the immunocytochemical localization of choline acetyltransferase. *J Electron Microsc Tech.* 15, 2-19. Review.

Houser CR. (1990) Granule cell dispersion in the dentate gyrus of humans with temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* 535:195-204.

Houser CR, Esclapez M. (1996) Vulnerability and plasticity of the GABA system in the pilocarpine model of spontaneous recurrent seizures. *Epilepsy Res.* 26, 207-18.

Houser CR. (1999) Neuronal loss and synaptic reorganization in temporal lobe epilepsy. *Adv Neurol.* 79:743-61. Review. No abstract available.

Houser CR. (2007) Interneurons of the dentate gyrus: an overview of cell types, terminal fields and neurochemical identity. *Prog Brain Res.* 163, 217-32. Review.

Hu H, Vervaeke K, Storm JF. (2002) Two forms of electrical resonance at theta frequencies, generated by M-current, h-current and persistent Na<sup>+</sup> current in rat hippocampal pyramidal cells. *J Physiol.* 545, 783-805.

Huang LT, Holmes GL, Lai MC, Hung PL, Wang CL, Wang TJ, Yang CH, Liou CW, Yang SN. (2002b) Maternal deprivation stress exacerbates cognitive deficits in immature rats with recurrent seizures. *Epilepsia.* 43, 1141-8.

Huber R, Ghilardi MF, Massimini M, Tononi G. (2004) Local sleep and learning. *Nature.* 430, 78-81.

Huerta PT, Lisman JE. (1993) Heightened synaptic plasticity of hippocampal CA1 neurons during a cholinergically induced rhythmic state. *Nature.* 364, 723-5.

Hughes JR. (2008) Gamma, fast, and ultrafast waves of the brain: their relationships with epilepsy and behavior. *Epilepsy Behav.* 13, 25-31.

Hull CL (1930) Knowledge and purpose as habit mechanisms. *Psychological Review.* 37, 511-525.

Hull CL (1943) Principles of behavior: an introduction to behavior theory. New York: Appleton-Century-Crofts.

Hutcheon B, Yarom Y. (2000) Resonance, oscillation and the intrinsic frequency preferences of neurons. *Trends Neurosci.* 23, 216-22.

- Hyman JM, Wyble BP, Goyal V, Rossi CA, Hasselmo ME. (2003) Stimulation in hippocampal region CA1 in behaving rats yields long-term potentiation when delivered to the peak of theta and long-term depression when delivered to the trough. *J Neurosci.* 23, 11725-31.
- Hyman JM, Wyble BP, Goyal V, Rossi CA, Hasselmo ME. (2003) Stimulation in hippocampal region CA1 in behaving rats yields long-term potentiation when delivered to the peak of theta and long-term depression when delivered to the trough. *J Neurosci.* 23, 11725-31.
- Hyman JM, Zilli EA, Paley AM, Hasselmo ME.(2005) Medial prefrontal cortex cells show dynamic modulation with the hippocampal theta rhythm dependent on behavior. *Hippocampus.*15, 739-49.
- Insausti R, Herrero MT, Witter MP.(1997) Entorhinal cortex of the rat: cytoarchitectonic subdivisions and the origin and distribution of cortical efferents. *Hippocampus.*7, 146-83.
- Ishizuka N, Weber J, Amaral DG. (1990) Organization of intrahippocampal projections originating from CA3 pyramidal cells in the rat. *J Comp Neurol.* 22;295, 580-623.
- Izaki Y, Takita M, Akema T. (2008b) Specific role of the posterior dorsal hippocampus-prefrontal cortex in short-term working memory. *Eur J Neurosci.* 27, 3029-34.
- Janszky J, Fogarasi A, Jokeit H, Schulz R, Hoppe M, Ebner A. (2001) Spatiotemporal relationship between seizure activity and interictal spikes in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* 47, 179-88.
- Janzen G, van Turenout M. (2004) Selective neural representation of objects relevant for navigation. *Nat Neurosci.* 7, 673-7.
- Jarrard LE.(1983) Selective hippocampal lesions and behavior: effects of kainic acid lesions on performance of place and cue tasks. *Behav Neurosci.* 97, 873-89.
- Jarrard LE. (1993) On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. *Behav Neural Biol.* 60, 9-26.
- Jasper H (1954) Electrocorticography. In : Penfeld W and Jasper H, editors. Epilepsy and the functional anatomy of the human brain. Boston, MA: Little, Brown, p. 692-738.
- Jeewajee A, Lever C, Burton S, O'Keefe J, Burgess N. (2008) Environmental novelty is signaled by reduction of the hippocampal theta frequency. *Hippocampus.* 18, 340-8.
- Jefferys JG. (1989) Chronic epileptic foci in vitro in hippocampal slices from rats with the tetanus toxin epileptic syndrome. *J Neurophysiol.* 62, 458-68.
- Jensen FE, Holmes GL, Lombroso CT, Blume HK, Firkusny IR. (1992) Age-dependent changes in long-term seizure susceptibility and behavior after hypoxia in rats. *Epilepsia.* 33, 971-80.

Jensen O, Idiart MA, Lisman JE. (1995) Physiologically realistic formation of autoassociative memory in networks with theta/gamma oscillations: role of fast NMDA channels. *Learn Mem.* 3, 243-56.

Jensen O, Idiart MA, Lisman JE. (1996) Physiologically realistic formation of autoassociative memory in networks with theta/gamma oscillations: role of fast NMDA channels. *Learn Mem.* 3, 243-56.

Jensen O, Tesche CD. (2002) Frontal theta activity in humans increases with memory load in a working memory task. *Eur J Neurosci.* 15, 1395-9.

Jensen O, Lisman JE. (2005) Hippocampal sequence-encoding driven by a cortical multi-item working memory buffer. *Trends Neurosci.* 28, 67-72.

Ji D, Wilson MA. (2007) Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nat Neurosci.* 10, 100-7. (Comment in: *Nat Neurosci.* 2007 Jan;10, 13-5.)

Jones EG, Powell TP. (1970) An electron microscopic study of the laminar pattern and mode of termination of afferent fibre pathways in the somatic sensory cortex of the cat. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 257, 45-62.

Jones MW, Wilson MA. (2005) Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task. *PLoS Biol.* 3, e402.

Jones BF, Witter MP. (2007) Cingulate cortex projections to the parahippocampal region and hippocampal formation in the rat. *Hippocampus.* 17, 957-76.

Jope RS, Morrisett RA, Snead OC. (1986a) Characterization of lithium potentiation of pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Exp Neurol.* 91, 471-80.

Jope RS, Morrisett RA. (1986b) Neurochemical consequences of status epilepticus induced in rats by coadministration of lithium and pilocarpine. *Exp Neurol.* 93, 404-14.

Jouvet M (1969) Biogenic amines and the states of sleep. *Science* 163, 32-41.

Jouvet M (2004) How sleep was dissociated into two states: Telencephalic and rhombencephalic sleep? *Arch Ital Biol* 142:317-326.

Kadam SD, White AM, Staley KJ, Dudek FE. (2010) Continuous electroencephalographic monitoring with radio-telemetry in a rat model of perinatal hypoxia-ischemia reveals progressive post-stroke epilepsy. *J Neurosci.* 30, 404-15.

Kahana MJ, Caplan JB, Sekuler R, Madsen JR (1999a) Using intracranial recordings to study theta. Response to O'Keefe J and Burgess N (1999). *Trends Cognit Sci* 3, 406-407.

Kahana M.J., Sekuler R., Caplan J.B., Kirschen M., Madsen J.R. (1999b) Human theta oscillations exhibit task dependence during virtual maze navigation. *Nature* 399, 781-784.

Kahana MJ, Seelig D, Madsen JR. (2001) Theta returns. *Curr Opin Neurobiol.* 11, 739-44.

- Kahane P, Landré E, Minotti L, Francione S, Ryvlin P. (2006) The Bancaud and Talairach view on the epileptogenic zone: a working hypothesis. *Epileptic Disord.* 8 Suppl 2:S16-26.
- Kahane P, Bartolomei F. (2010) Temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis: lessons from depth EEG recordings. *Epilepsia* 51(Suppl.1), 59-62.
- Kalitzin SN, Parra J, Velis DN, Lopes da Silva FH. (2007) Quantification of unidirectional nonlinear associations between multidimensional signals. *IEEE Trans Biomed Eng.* 54, 454-61.
- Kälviäinen R, Salmenperä T, Partanen K, Vainio P, Riekkinen P, Pitkänen A. (1998) Recurrent seizures may cause hippocampal damage in temporal lobe epilepsy. *Neurology.* 50(5):1377-82. (**Comment in: Neurology. 1999 May 12;52, 1718-20**).
- Kasteleijn-Nolst Trenité DG, Siebelink BM, Berends SG, van Strien JW, Meinardi H. (1990a) Lateralized effects of subclinical epileptiform EEG discharges on scholastic performance in children. *Epilepsia.* 31, 740-6.
- Kasteleijn-Nolst Trenité DG, Smit AM, Velis DN, Willemse J, van Emde Boas W. (1990b) On-line detection of transient neuropsychological disturbances during EEG discharges in children with epilepsy. *Dev Med Child Neurol.* 32, 46-50.
- Kearney JA, Plummer NW, Smith MR, Kapur J, Cummins TR, Waxman SG, Goldin AL, Meisler MH. (2001) A gain-of-function mutation in the sodium channel gene *Scn2a* results in seizures and behavioral abnormalities. *Neuroscience.* 102, 307-17.
- Kelsey JE, Landry BA. (1988) Medial septal lesions disrupt spatial mapping ability in rats. *Behav Neurosci.* 102, 289-93.
- Kelsey JE, Vargas H. (1993) Medial septal lesions disrupt spatial, but not nonspatial, working memory in rats. *Behav Neurosci.* 107, 565-74.
- Kellaway P. (1985) Sleep and epilepsy. *Epilepsia.* 26 Suppl 1:S15-30.
- Kessels RP, de Haan EH, Kappelle LJ, Postma A. (2001) Varieties of human spatial memory: a meta-analysis on the effects of hippocampal lesions. *Brain Res Brain Res Rev.* 35, 295-303.
- Kinney GG, Patino P, Mermet-Bouvier Y, Starrett JE Jr, Gribkoff VK. (1999) Cognition-enhancing drugs increase stimulated hippocampal theta rhythm amplitude in the urethane-anesthetized rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 291, 99-106.
- Kirk IJ, McNaughton N (1991) Supramammillary cell firing and hippocampal rhythmical slow activity. *Neuroreport.* 2, 723-5.
- Kirk IJ, McNaughton N. (1993) Mapping the differential effects of procaine on frequency and amplitude of reticularly elicited hippocampal rhythmical slow activity. *Hippocampus.* 3, 517-25.

- Kirk IJ, Oddie SD, Konopacki J, Bland BH. (1996) Evidence for differential control of posterior hypothalamic, supramammillary, and medial mammillary theta-related cellular discharge by ascending and descending pathways. *J Neurosci.* 1;16, 5547-54.
- Kiss J, Csáki A, Bokor H, Shanabrough M, Leranth C. (2000) The supramammillo-hippocampal and supramammillo-septal glutamatergic/aspartatergic projections in the rat: a combined [<sup>3</sup>H]D-aspartate autoradiographic and immunohistochemical study. *Neuroscience.* 97, 657-69.
- Klausberger T, Somogyi P. (2008) Neuronal diversity and temporal dynamics: the unity of hippocampal circuit operations. *Science.* 321, 53-7.
- Kleinfeld D, Berg RW, O'Connor SM. (1999) Anatomical loops and their electrical dynamics in relation to whisking by rat. *Somatosens Mot Res.* 16, 69-88.
- Klimesch W. (1999) EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis. *Brain Res Brain Res Rev.* 29, 169-95.
- Klinshov VV, Nekorkin VI. (2008) Activity clusters in dynamical model of the working memory system. *Network.* 19, 119-35.
- Klitgaard H, Matagne A, Vanneste-Goemaere J, Margineanu DG. (2002) Pilocarpine-induced epileptogenesis in the rat: impact of initial duration of status epilepticus on electrophysiological and neuropathological alterations. *Epilepsy Res.* 51(1-2):93-107.
- Kloosterman F, Van Haeften T, Witter MP, Lopes Da Silva FH. (2003) Electrophysiological characterization of interlaminar entorhinal connections: an essential link for re-entrance in the hippocampal-entorhinal system. *Eur J Neurosci.* 18, 3037-52.
- Kobayashi M, Wen X, Buckmaster PS. (2003a) Reduced inhibition and increased output of layer II neurons in the medial entorhinal cortex in a model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 23, 8471-9.
- Kobayashi M, Buckmaster PS. (2003b) Reduced inhibition of dentate granule cells in a model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 23, 2440-52.
- Kocsis B, Vertes RP. (1992) Dorsal raphe neurons: synchronous discharge with the theta rhythm of the hippocampus in the freely behaving rat. *J Neurophysiol.* 68, 1463-7.
- Kocsis B, Vertes RP. (1994) Characterization of neurons of the supramammillary nucleus and mammillary body that discharge rhythmically with the hippocampal theta rhythm in the rat. *J Neurosci.* 14, 7040-52.
- Kocsis B., Bragin A., Buzsaki G. (1999) Interdependence of Multiple Theta Generators in the Hippocampus: a Partial Coherence Analysis. *J. Neurosci.* 19, 6200-6212.
- Kocsis B. (2006) The effect of descending theta rhythmic input from the septohippocampal system on firing in the supramammillary nucleus. *Brain Res.* 1086, 92-7. Epub 2006 Apr 17.

- Köhler C. (1985) Intrinsic projections of the retrohippocampal region in the rat brain. I. The subicular complex. *J Comp Neurol.* 22;236, 504-22.
- Köhler C. (1986a) Intrinsic connections of the retrohippocampal region in the rat brain. II. The medial entorhinal area. *J Comp Neurol.* 8;246, 149-69.
- Köhler C. (1986b) Cytochemical architecture of the entorhinal area. *Adv Exp Med Biol.* 203:83-98.
- König P, Engel AK, Singer W (1996) Integrator or coincidence detector? The role of the cortical neuron revisited. *Trends Neurosci.* 19, 130-137.
- Kooi KA. (1966) Voltage-time characteristics of spikes and other rapid electroencephalographic transients: semantic and morphological considerations. *Neurology.* 16, 59-66.
- Kopell N, Ermentrout GB, Whittington MA, Traub RD (2000) Gamma rhythms and beta rhythms have different synchronization properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 1867-1872.
- Kosel KC, Van Hoesen GW, West JR. (1981) Olfactory bulb projections to the parahippocampal area of the rat. *J Comp Neurol.* 198, 467-82.
- Kosel KC, Van Hoesen GW, Rosene DL. (1983) A direct projection from the perirhinal cortex (area 35) to the subiculum in the rat. *Brain Res.* 269, 347-51.
- Kotloski R, Lynch M, Lauersdorf S, Sutula T. (2002) Repeated brief seizures induce progressive hippocampal neuron loss and memory deficits. *Prog Brain Res.* 135:95-110.
- Kotagal P, Yardi N. (2008) The relationship between sleep and epilepsy. *Semin Pediatr Neurol.* 15, 42-9.
- Kramis R, Vanderwolf CH, Bland BH. (1975) Two types of hippocampal rhythmical slow activity in both the rabbit and the rat: relations to behavior and effects of atropine, diethyl ether, urethane, and pentobarbital. *Exp Neurol.* 49, 58-85.
- Kubová H, Druga R, Haugvicová R, Suchomelová L, Pitkanen A. (2002) Changes of status epilepticus-induced neuronal degeneration in the mediodorsal nucleus of the thalamus during postnatal development of the rat. *Epilepsia.* 43 Suppl 5:54-60.
- Kubova H., Mikulecka A., Haugvicova R., Langmeier M., Mares P. (2001) Nonconvulsive Seizures Result in Behavioral but Not Electrophysiological Changes in Developing Rats. *Epilepsy and Behavior* 2, 473-480.
- Kudrimoti HS, Barnes CA, McNaughton BL. (1999) Reactivation of hippocampal cell assemblies: effects of behavioral state, experience, and EEG dynamics. *J Neurosci.* 19, 4090-101.
- Kumar SS, Buckmaster PS. (2006) Hyperexcitability, interneurons, and loss of GABAergic synapses in entorhinal cortex in a model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 26, 4613-23.

- Kumar SS, Jin X, Buckmaster PS, Huguenard JR. (2007) Recurrent circuits in layer II of medial entorhinal cortex in a model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 27, 1239-46.
- Lado FA, Sankar R, Lowenstein D, Moshé SL. (2000) Age-dependent consequences of seizures: relationship to seizure frequency, brain damage, and circuitry reorganization. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 6, 242-52.
- Lamberty Y. and Klitgaard H. (2000) Consequences of Pentylentetrazole Kindling on Spatial Memory and emotional Responding in the Rat. *Epilepsy and Behavior* 1, 256-261.
- Lange HH, Lieb JP, Engel J Jr, Crandall PH. (1983) Temporo-spatial patterns of pre-ictal spike activity in human temporal lobe epilepsy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 56, 543-55.
- Lebovitz RM. (1979) Autorhythmicity of spontaneous interictal spike discharge at hippocampal penicillin foci. *Brain Res.* 172, 35-55.
- Lee MG, Chrobak JJ, Sik A, Wiley RG, Buzsáki G. (1994) Hippocampal theta activity following selective lesion of the septal cholinergic system. *Neuroscience.* 62, 1033-47.
- Lee AK, Wilson MA. (2002) Memory of sequential experience in the hippocampus during slow wave sleep. *Neuron.* 36, 1183-94.
- Lehmann H, Ebert U, Loscher W (1998) Amygdala-kindling induces a lasting reduction of GABA-immunoreactive neurons in a discrete area of the ipsilateral piriform cortex. *Synapse* 29; 299-309.
- Leite JP, Nakamura EM, Lemos T, Masur J, Cavalheiro EA. (1990) Learning impairment in chronic epileptic rats following pilocarpine-induced status epilepticus. *Braz J Med Biol Res.* 23, 681-3.
- Leite JP, Babb TL, Pretorius JK, Kuhlman PA, Yeoman KM, Mathern GW. (1996) Neuron loss, mossy fiber sprouting, and interictal spikes after intrahippocampal kainate in developing rats. *Epilepsy Res.* 26, 219-31.
- Leite JP, Nakamura EM, Lemos T, Masur J, Cavalheiro EA. (1990) Learning impairment in chronic epileptic rats following pilocarpine-induced status epilepticus. *Braz J Med Biol Res.* 23, 681-3.
- Leite, J.P., Cavalheiro, E.A. (1995) Effects of conventional antiepileptic drugs in a model of spontaneous recurrent seizures in rats. *Epilepsy Res.* 20, 93–104.
- Leite JP, Garcia-Cairasco N, Cavalheiro EA. (2002a) New insights from the use of pilocarpine and kainate models. *Epilepsy Res.* 50, 93-103.
- Lemos T, Cavalheiro EA. (1995) Suppression of pilocarpine-induced status epilepticus and the late development of epilepsy in rats. *Exp Brain Res.* 102, 423-8.

- Leranth C, Kiss J. (1996) A population of supramammillary area calretinin neurons terminating on medial septal area cholinergic and lateral septal area calbindin-containing cells are aspartate/glutamatergic. *J Neurosci.* 16, 7699-710.
- Leranth C, Carpi D, Buzsaki G, Kiss. (1999) The entorhino-septo-supramammillary nucleus connection in the rat: morphological basis of a feedback mechanism regulating hippocampal theta rhythm. *J. Neuroscience.* 88, 701-18.
- Leranth C, Frotscher M (1987a) Cholinergic innervations of hippocampal GAD- and somatostatin-immunoreactive commissural neurons. *J. Comp. Neurol.* 261, 33-47.
- Leranth C, Frotscher M (1987b) GABAergic input of cholecystokinin-immunoreactive neurons in the hilar region of the rat hippocampus. An electron microscopic double immunostaining study. *Histochemistry* 86, 287-290.
- Lerma J, García-Austt E. (1985) Hippocampal theta rhythm during paradoxical sleep. Effects of afferent stimuli and phase relationships with phasic events. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 60, 46-54.
- Letty S, Lerner-Natoli M, Rondouin G. (1995) Differential impairments of spatial memory and social behavior in two models of limbic epilepsy. *Epilepsia.*;36, 973-82.
- Leung LW, Borst JG. (1987) Electrical activity of the cingulate cortex. I. Generating mechanisms and relations to behavior. *Brain Res.* 407, 68-80.
- Leung LW. (1990) Spontaneous hippocampal interictal spikes following local kindling: time-course of change and relation to behavioral seizures. *Brain Res.* 513, 308-14.
- Leung LS, Shen B. (1991) Hippocampal CA1 evoked response and radial 8-arm maze performance after hippocampal kindling. *Brain Res.* 555, 353-7.
- Leung LS, Zhao D, Shen B. (1994) Long-lasting effects of partial hippocampal kindling on hippocampal physiology and function. *Hippocampus.*;4, 696-704.
- Leung LW. (1995) Simulation of perforant path evoked field and intracellular potentials in hippocampal CA1 area. *Hippocampus.* 5, 129-36.
- Leung LS, Brzozowski D, Shen B. (1996) Partial hippocampal kindling affects retention but not acquisition and place but not cue tasks on the radial arm maze. *Behav Neurosci.* 110, 1017-24.
- Leung L.S. (1998) Generation of Theta and Gamma Rhythms in the Hippocampus. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 22, 275-290.
- Leutgeb S, Mizumori SJ. (1999) Excitotoxic septal lesions result in spatial memory deficits and altered flexibility of hippocampal single-unit representations. *J Neurosci.* 19, 6661-72.
- Li D, Field PM, Yoshioka N, Raisman G. (1994) Axons regenerate with correct specificity in horizontal slice culture of the postnatal rat entorhino-hippocampal system. *Eur J Neurosci.* 6, 1026-37.

- Liao W, Zhang Z, Pan Z, Mantini D, Ding J, Duan X, Luo C, Lu G, Chen H. (2010) Altered functional connectivity and small-world in mesial temporal lobe epilepsy. *PLoS One*. 5, e8525.
- Librizzi L, de Curtis M. (2003) Epileptiform ictal discharges are prevented by periodic interictal spiking in the olfactory cortex. *Ann Neurol*. 53, 382-9.
- Lieb JP, Woods SC, Siccardi A, Crandall PH, Walter DO, Leake B. (1978) Quantitative analysis of depth spiking in relation to seizure foci in patients with temporal lobe epilepsy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 44, 641-63.
- Liu Z, Nagao T, Desjardins GC, Gloor P, Avoli M. (1994) Quantitative evaluation of neuronal loss in the dorsal hippocampus in rats with long-term pilocarpine seizures. *Epilepsy Res*. 17, 237-47.
- Liu P, Bilkey DK. (1996) Direct connection between perirhinal cortex and hippocampus is a major constituent of the lateral perforant path. *Hippocampus*. 6, 125-35.
- Liu ZW, Zhang T, Yang Z. (2007) Involvement of nitric oxide in spatial memory deficits in status epilepticus rats. *Neurochem Res*. 32, 1875-83.
- Longo BM, Mello LE. (1998) Supragranular mossy fiber sprouting is not necessary for spontaneous seizures in the intrahippocampal kainate model of epilepsy in the rat. *Epilepsy Res*. 32, 172-82.
- Lopantsev V, Both M, Draguhn A. (2009) Rapid plasticity at inhibitory and excitatory synapses in the hippocampus induced by ictal epileptiform discharges. *Eur J Neurosci*. 29, 1153-64.
- Lopes da Silva FH, Gorter JA, Wadman WJ. (1986) Kindling of the hippocampus induces spatial memory deficits in the rat. *Neurosci Lett*. 63, 115-20.
- Lorente de Nõ R (1934) Studies on the structure of the cerebral cortex II. Continuation of the study of the ammonic system. *Journal für Psychologie und Neurologie* 46:113-117.
- Löscher W. (2002) Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. , 105-23.
- Lothman EW, Collins RC (1981) Kainic acid induced limbic seizures: metabolic, behavioral, electroencephalographic and neuropathological correlates. *Brain Research* 218: 299-318.
- Louie K, Wilson MA. (2001) Temporally structured replay of awake hippocampal ensemble activity during rapid eye movement sleep. *Neuron*. 29, 145-56.
- Ma J, Leung LS. (2007) The supramammillo-septal-hippocampal pathway mediates sensorimotor gating impairment and hyperlocomotion induced by MK-801 and ketamine in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 191, 961-74.

- Machin P, Vann SD, Muir JL, Aggleton JP. (2002) Neurotoxic lesions of the rat perirhinal cortex fail to disrupt the acquisition or performance of tests of allocentric spatial memory. *Behav Neurosci.* 116, 232-40.
- Macrides F, Eichenbaum HB, Forbes WB. (1982) Temporal relationship between sniffing and the limbic theta rhythm during odor discrimination reversal learning. *J Neurosci.* 2, 1705-17.
- Maglóczy Z, Acsády L, Freund TF. (1994) Principal cells are the postsynaptic targets of supramammillary afferents in the hippocampus of the rat. *Hippocampus* 1994 4, 322-34.
- Maguire EA, Gadian DG, Johnsrude IS, Good CD, Ashburner J, Frackowiak RS, Frith CD. (2000) Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97, 4398-403.
- Maillard L, Vignal JP, Gavaret M, Guye M, Biraben A, McGonigal A, Chauvel P, Bartolomei F. (2004) Semiologic and electrophysiologic correlations in temporal lobe seizure subtypes. *Epilepsia.* 45, 1590-9.
- Majak K, Pitkänen A. (2004) Do seizures cause irreversible cognitive damage? Evidence from animal studies. *Epilepsy Behav.* 5 Suppl 1:S35-44.
- Mann EO, Paulsen O. (2005) Mechanisms underlying gamma ('40 Hz') network oscillations in the hippocampus--a mini-review. *Prog Biophys Mol Biol.* 87, 67-76.
- Manns JR, Squire LR. (1999) Impaired recognition memory on the Doors and People Test after damage limited to the hippocampal region. *Hippocampus.* 9, 495-9.
- Manns ID, Mainville L, Jones BE. (2001) Evidence for glutamate, in addition to acetylcholine and GABA, neurotransmitter synthesis in basal forebrain neurons projecting to the entorhinal cortex. *Neuroscience.* 107, 249-63.
- Marcelin B, Chauvière L, Becker A, Migliore M, Esclapez M, Bernard C. (2008) h channel-dependent deficit of theta oscillation resonance and phase shift in temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis.* 2008 Dec 16.
- Marder E, Goaillard JM. (2006) Variability, compensation and homeostasis in neuron and network function. *Nat Rev Neurosci.* 7, 563-74.
- Mattos Marques. C., Sales Ferreira C. L.O., Indelicato da Silva T., da Silva Noffs M.H., Carrete Jr H., Lin K., Lin J., Ceiki Sakamoto A., Targas Yacubian E.M. (2007) Cognitive decline in temporal lobe epilepsy due to unilateral hippocampal sclerosis. *Epilepsy and Behavior.*
- Marr D.(1971) Simple memory: a theory for archicortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 262, 23-81.
- Maru E, Goddard GV. (1978) Alteration in dentate neuronal activities associated with perforant path kindling. I. Long-term potentiation of excitatory synaptic transmission. *Exp Neurol.* 96, 19-32.

- Maru E, Goddard GV. (1978) Alteration in dentate neuronal activities associated with perforant path kindling. II. Decrease in granule cell excitability. *Exp Neurol.* 96, 33-45.
- Maru E, Goddard GV. (1978) Alteration in dentate neuronal activities associated with perforant path kindling. III. Enhancement of synaptic inhibition. *Exp Neurol.* 96, 46-60.
- Massimini M, Huber R, Ferrarelli F, Hill S, Tononi G. (2004) The sleep slow oscillation as a traveling wave. *J Neurosci.* 24, 6862-70.
- Mathern GW, Pretorius JK, Babb TL. (1995) Influence of the type of initial precipitating injury and at what age it occurs on course and outcome in patients with temporal lobe seizures. *J Neurosurg.* 82, 220-7.
- Mattson RH. (2004) Cognitive, affective, and behavioral side events in adults secondary to antiepileptic drug use. *Rev Neurol Dis.* Suppl 1:S10-7.
- Mazarati AM, Wasterlain CG, Sankar R, Shin D. (1998) Self-sustaining status epilepticus after brief electrical stimulation of the perforant path. *Brain Res.* 801, 251-3.
- Mazarati A, Bragin A, Baldwin R, Shin D, Wilson C, Sankar R, Naylor D, Engel J, Wasterlain C. (2002) Epileptogenesis after self-sustaining status epilepticus. *Epilepsia* 43, 74-80.
- McCartney H, Johnson AD, Weil ZM, Givens B (2004) Theta reset produces optimal conditions for long-term potentiation. *Hippocampus.* 14, 684-7.
- McDonald RJ, White NM. (1994) Parallel information processing in the water maze: evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behav Neural Biol.* 61, 260-70.
- McGaugh JL. (2000) Memory--a century of consolidation. *Science.* 287, 248-51.
- McNamara RK, Kirkby RD, dePape GE, Corcoran ME. (1992) Limbic seizures, but not kindling, reversibly impair place learning in the Morris water maze. *Behav Brain Res.* 50, 167-75
- McNaughton N, Logan B, Panickar KS, Kirk IJ, Pan WX, Brown NT, Heenan A. (1995) Contribution of synapses in the medial supramammillary nucleus to the frequency of hippocampal theta rhythm in freely moving rats. *Hippocampus.* 5, 534-45.
- McNaughton N, Ruan M, Woodnorth MA. (2006) Restoring theta-like rhythmicity in rats restores initial learning in the Morris water maze. *Hippocampus.* 16, 1102-10.
- Meador KJ. (2002) Cognitive outcomes and predictive factors in epilepsy. *Neurology.* 58, S21-6.
- Meador KJ, Loring DW, Vahle VJ, Ray PG, Werz MA, Fessler AJ, Ogrocki P, Schoenberg MR, Miller JM, Kustra RP (2005) Cognitive and behavioral effects of lamotrigine and topiramate in healthy volunteers. *Neurology* 68, 2108-2114.

- Meador KJ (2006) Cognitive and memory effects of the new antiepileptic drugs. *Epilepsy Research* 68, 63-67.
- Meador KJ. (2007) The basic science of memory as it applies to epilepsy. *Epilepsia*. 48 Suppl 9:23-5.(**revue**)
- Medvedev AV. (2001) Temporal binding at gamma frequencies in the brain: paving the way to epilepsy? *Australas Phys Eng Sci Med*. 24, 37-48.
- Medvedev AV. (2002) Epileptiform spikes desynchronize and diminish fast (gamma) activity of the brain. An "anti-binding" mechanism? *Brain Res Bull*. 58, 115-28.
- Mello LE, Cavalheiro EA. (1989) Behavioural, electroencephalographic and neuropathological effects of the intrahippocampal injection of the venom of the South American rattlesnake (*Crotalus durissus terrificus*). *Toxicon*. 27, 189-99
- Mello LE, Cavalheiro EA, Tan AM, Kupfer WR, Pretorius JK, Babb TL, Finch DM. (1993) Circuit mechanisms of seizures in the pilocarpine model of chronic epilepsy: cell loss and mossy fiber sprouting. *Epilepsia*. 34, 985-95.
- Méndez M, Radtke RA.(2001) Interactions between sleep and epilepsy. *J Clin Neurophysiol*. 18(2):106-27.
- Mesulam MM, Mufson EJ, Wainer BH, Levey AI. (1983) Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch1-Ch6). *Neuroscience*. 10, 1185-201.
- Meunier M, Bachevalier J, Mishkin M, Murray EA. (1993) Effects on visual recognition of combined and separate ablations of the entorhinal and perirhinal cortex in rhesus monkeys. *J Neurosci*. 13, 5418-32.
- Mikkonen M, Soininen H, Kälviäinen R, Tapiola T, Ylinen A, Vapalahti M, Paljärvi L, Pitkänen A. (1998) Remodeling of neuronal circuitries in human temporal lobe epilepsy: increased expression of highly polysialylated neural cell adhesion molecule in the hippocampus and the entorhinal cortex. *Ann Neurol*. 44, 923-34.
- Mikulecka A., Krsek P., Mares P. (2000) Nonconvulsive Kainic Acid-Induced Seizures Elicit Age-Dependent Impairment of Memory for the elevated Plus-Maze. *Epilepsy and Behavior* 1, 418-426.
- Miles R, Wong RK. (1983) Single neurones can initiate synchronized population discharge in the hippocampus. *Nature*. 306, 371-3.
- Miller LA, McLachlan RS, Bouwer MS, Hudson LP, Munoz DG. (1994) Amygdalar sclerosis: preoperative indicators and outcome after temporal lobectomy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 57, 1099-105.
- Miller LA, Lai R, Munoz DG. (1998) Contributions of the entorhinal cortex, amygdala and hippocampus to human memory. *Neuropsychologia*. 36, 1247-56.

- Milner TA, Amaral DG. (1984) Evidence for a ventral septal projection to the hippocampal formation of the rat. *Exp Brain Res.* 55, 579-85.
- Milner TA, Wiley RG, Kurucz OS, Prince SR, Pierce JP. (1997) Selective changes in hippocampal neuropeptide Y neurons following removal of the cholinergic septal inputs. *J Comp Neurol.* 386, 46-59.
- Mitchell SJ, Ranck JB Jr. (1980) Generation of theta rhythm in medial entorhinal cortex of freely moving rats. *Brain Res.* 189, 49-66.
- Mizumori SJ, Barnes CA, McNaughton BL. (1989a) Reversible inactivation of the medial septum: selective effects on the spontaneous unit activity of different hippocampal cell types. *Brain Res.* 500, 99-106.
- Mizumori SJ, McNaughton BL, Barnes CA. (1989b) A comparison of supramammillary and medial septal influences on hippocampal field potentials and single-unit activity. *J Neurophysiol.* 61, 15-31.
- Mizuseki K, Sirota A, Pastalkova E, Buzsáki G. (2009) Theta oscillations provide temporal windows for local circuit computation in the entorhinal-hippocampal loop. *Neuron.* 64, 267-80.
- Mohajeri MH, Saini K, Li H, Crameri A, Lipp HP, Wolfer DP, Nitsch RM. (2003) Intact spatial memory in mice with seizure-induced partial loss of hippocampal pyramidal neurons. *Neurobiol Dis.* 12, 174-81.
- Mölle M, Marshall L, Gais S, Born J. (2002) Grouping of spindle activity during slow oscillations in human non-rapid eye movement sleep. *J Neurosci.* 22, 10941-7.
- Monmaur P, Breton P. (1991) Elicitation of hippocampal theta by intraseptal carbachol injection in freely moving rats. *Brain Res.* 544, 150-5.
- Montez T, Linkenkaer-Hansen K, van Dijk BW, Stam CJ. (2006) Synchronization likelihood with explicit time-frequency priors. *Neuroimage.* 33, 1117-25.
- Montgomery SM, Buzsáki G. (2007) Gamma oscillations dynamically couple hippocampal CA3 and CA1 regions during memory task performance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104, 14495-500.
- Montgomery SM, Sirota A, Buzsáki G. (2008) Theta and gamma coordination of hippocampal networks during waking and rapid eye movement sleep. *J Neurosci.* 28, 6731-41.
- Montgomery SM, Betancur MI, Buzsáki G. (2009) Behavior-dependent coordination of multiple theta dipoles in the hippocampus. *J Neurosci.* 29, 1381-94.
- Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ. (2004) Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. *Prog Neurobiol.* 73, 1-60.

- Mormann F, Fell J, Axmacher N, Weber B, Lehnertz K, Elger CE, Fernández G. (2005) Phase/amplitude reset and theta-gamma interaction in the human medial temporal lobe during a continuous word recognition memory task. *Hippocampus*. 15, 890-900.
- Mormann F, Fernández G, Klaver P, Weber B, Elger CE, Fell J. (2007) Declarative memory formation in hippocampal sclerosis: an intracranial event-related potentials study. *Neuroreport*. 18, 317-21.
- Morris RGM, Garrud P, Rawlins JNP, O'Keefe J (1982) Place navigation in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297, 681-683.
- Morris RGM, Schenck F, Tweedie F, Jarrard, LE (1990) Ibotenate lesions of hippocampus and/or subiculum: dissociating components of allocentric spatial learning. *Eur. J. Neuroscience*, 2, 1016-1028.
- Mortazavi F., Ericson M., Story D., Hulse V.D., Dunbar G.L. (2005) Spatial learning deficits and emotional impairments in pentylenetetrazole-kindled rats. *Epilepsy and Behavior* 7, 629-638.
- Moses SN, Cole C, Ryan JD. (2005) Relational memory for object identity and spatial location in rats with lesions of perirhinal cortex, amygdala and hippocampus. *Brain Res Bull*. 65, 501-12.
- Moshé SL. (2001) Animal Models for Human Seizure and Epileptic Activity. To the Editor: *Epilepsy Behav*. 2, 503.
- Muir GM, Bilkey DK. (1998) Synchronous modulation of perirhinal cortex neuronal activity during cholinergically mediated (type II) hippocampal theta. *Hippocampus*. 8, 526-32.
- Muir GM, Bilkey DK. (2001) Instability in the place field location of hippocampal place cells after lesions centered on the perirhinal cortex. *J Neurosci*. 21, 4016-25.
- Mumby DG, Pinel JP. (1994) Rhinal cortex lesions and object recognition in rats. *Behav Neurosci*. 108, 11-8.
- Mumby DG, Piterkin P, Lecluse V, Lehmann H. (2007) Perirhinal cortex damage and anterograde object-recognition in rats after long retention intervals. *Behav Brain Res*. 185, 82-7.
- Naber PA, Witter MP. (1998) Subicular efferents are organized mostly as parallel projections: a double-labeling, retrograde-tracing study in the rat. *J Comp Neurol*. 393, 284-97.
- Nádasdy Z, Hirase H, Czurkó A, Csicsvari J, Buzsáki G. (1999) Replay and time compression of recurring spike sequences in the hippocampus. *J Neurosci*. 19, 9497-507.
- Nadler JV, Perry BW, Cotman CW. (1978) Intraventricular kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells. *Nature*. 271, 676-7.

- Nadler JV, Perry BW, Gentry C, Cotman CW. (1981a) Fate of the hippocampal mossy fiber projection after destruction of its postsynaptic targets with intraventricular kainic acid. *J Comp Neurol.* 196, 549-69.
- Nadler JV, Evenson DA, Smith EM. (1981b) Evidence from lesion studies for epileptogenic and non-epileptogenic neurotoxic interactions between kainic acid and excitatory innervation. *Brain Res.* 205, 405-10.
- Nagahara AH, Otto T, Gallagher M. (1995) Entorhinal-perirhinal lesions impair performance of rats on two versions of place learning in the Morris water maze. *Behav Neurosci.* 109, 3-9.
- Nagao T, Alonso A, Avoli M (1996) Epileptiform activity induced by pilocarpine in the rat hippocampal-entorhinal slice preparation. *Neuroscience.* 72, 399-408.
- Nazer F, Dickson CT. (2009) The slow oscillation state facilitates epileptiform events in the hippocampus. *J Neurophysiol.* 2009 Jun 24.
- Netoff TI, Clewley R, Arno S, Keck T, White JA. (2004) Epilepsy in small-world networks. *J Neurosci.* 24, 8075-83.
- Nissinen J, Halonen T, Koivisto E, Pitkänen A. (2000) A new model of chronic temporal lobe epilepsy induced by electrical stimulation of the amygdala in rat. *Epilepsy Res.* 38, 177-205
- Norman G, Eacott MJ. (2005) Dissociable effects of lesions to the perirhinal cortex and the postrhinal cortex on memory for context and objects in rats. *Behav Neurosci.* 119, 557-66.
- Nuñez A, Moreno-Balandrán ME, Rodrigo-Angulo ML, Garzón M, De Andrés I. (2006) Relationship between the perifornical hypothalamic area and oral pontine reticular nucleus in the rat. Possible implication of the hypocretinergic projection in the control of rapid eye movement sleep. *Eur J Neurosci.* 24, 2834-42.
- Nunn JA, Polkey CE, Morris RG. (1998) Selective spatial memory impairment after right unilateral temporal lobectomy. *Neuropsychologia.* 36, 837-48.
- Nunn JA, Graydon FJ, Polkey CE, Morris RG. (1999) Differential spatial memory impairment after right temporal lobectomy demonstrated using temporal titration. *Brain.* 122, 47-59.
- Obenaus A, Esclapez M, Houser CR. (1993) Loss of glutamate decarboxylase mRNA-containing neurons in the rat dentate gyrus following pilocarpine-induced seizures. *J Neurosci.* 13, 4470-85.
- Obenaus A, Esclapez M, Houser CR. (1993) Loss of glutamate decarboxylase mRNA-containing neurons in the rat dentate gyrus following pilocarpine-induced seizures. *J Neurosci.* 13, 4470-85.
- Oddie SD, Bland BH, Colom LV, Vertes RP. (1994) The midline posterior hypothalamic region comprises a critical part of the ascending brainstem hippocampal synchronizing pathway. *Hippocampus.* 4, 454-73.

- Oddie SD, Stefanek W, Kirk IJ, Bland BH. (1996) Intraseptal procaine abolishes hypothalamic stimulation-induced wheel-running and hippocampal theta field activity in rats. *J Neurosci.* 16, 1948-56.
- O'Keefe J, Nadel L, Keightley S, Kill D. (1975) Fornix lesions selectively abolish place learning in the rat. *Exp Neurol.* 48, 152-66.
- O'Keefe J, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map.* Clarendon Press: Oxford.
- O'Keefe J, Burgess N. (1999) Theta activity, virtual navigation and the human hippocampus. *Trends Cogn Sci.* 3, 403-406.
- O'Mara SM. (1995) Spatially selective firing properties of hippocampal formation neurons in rodents and primates. *Prog Neurobiol.* 45, 253-74.
- Olton DS. (1977) The function of septo-hippocampal connections in spatially organized behaviour. *Ciba Found Symp.* 58, 327-49.
- Orman R, Von Gizycki H, Lytton WW, Stewart M. (2008) Local axon collaterals of area CA1 support spread of epileptiform discharges within CA1, but propagation is unidirectional. *Hippocampus.* 18, 1021-33.
- Ortinski P, Meador KJ. (2004) Cognitive side effects of antiepileptic drugs. *Epilepsy Behav.* 5 Suppl 1:S60-5.
- Pan WX, McNaughton N. (1997) The medial supramammillary nucleus, spatial learning and the frequency of hippocampal theta activity. *Brain Res.* 764, 101-8.
- Pan WX, McNaughton N. (2002) The role of the medial supramammillary nucleus in the control of hippocampal theta activity and behaviour in rats. *Eur J Neurosci.* 16, 1797-809.
- Panula P, Revuelta AV, Cheney DL, Wu JY, Costa E. (1984) An immunohistochemical study on the location of GABAergic neurons in rat septum. *J Comp Neurol.* 222, 69-80.
- Paré D, Collins DR. (2000) Neuronal correlates of fear in the lateral amygdala: multiple extracellular recordings in conscious cats. *J Neurosci.* 20, 2701-10.
- Paré D, Gaudreau H. (1996) Projection cells and interneurons of the lateral and basolateral amygdala: distinct firing patterns and differential relation to theta and delta rhythms in conscious cats. *J Neurosci.* 16, 3334-50.
- Parent JM, Yu TW, Leibowitz RT, Geschwind DH, Sloviter RS, Lowenstein DH. (1997) Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *J Neurosci.* 17, 3727-38.
- Parslow DM, Morris RG, Fleminger S, Rahman Q, Abrahams S, Recce M. (2005) Allocentric spatial memory in humans with hippocampal lesions. *Acta Psychol (Amst).* 118, 123-47.

- Partlo LA, Sainsbury RS.(1996) Influence of medial septal and entorhinal cortex lesions on theta activity recorded from the hippocampus and median raphe nucleus. *Physiol Behav.* 59, 887-95.
- Pavlidis C, Greenstein YJ, Grudman M, Winson J. (1988) Long-term potentiation in the dentate gyrus is induced preferentially on the positive phase of theta-rhythm. *Brain Res.* 439, 383-7.
- Pedemonte M, Barrenechea C, Nuñez A, Gambini JP, García-Austt E. (1998) Membrane and circuit properties of lateral septum neurons: relationships with hippocampal rhythms. *Brain Res.* 800, 145-53.
- Pereda E, Quiroga RQ, Bhattacharya (2005) Nonlinear multivariate analysis of neurophysiological signals. *Prog Neurobiol.* 77, 1-37.
- Peredery O, Persinger MA, Parker G, Mastrosov L. (2000) Temporal changes in neuronal dropout following inductions of lithium/pilocarpine seizures in the rat. *Brain Res.* 881, 9-17.
- Petsche H, Stumpf C. (1962a) The origin of theta-rhythm in the rabbit hippocampus. [Article in German] *Wien Klin Wochenschr.* 74, 696-700.
- Petsche H, Stumpf C, Gogolak G. (1962b) The significance of the rabbit's septum as a relay station between the midbrain and the hippocampus. I. The control of hippocampus arousal activity by the septum cells. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 14, 202-11.
- Pitkänen A, Sutula TP. (2002) Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy. *Lancet Neurol.* 2002 Jul;1, 173-81.
- Pitkänen A, Pikkarainen M, Nurminen N, Ylinen A. (2000) Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. A review. *Ann N Y Acad Sci.* 911, 369-91.
- Pitkänen A, Tuunanen J, Kälviäinen R, Partanen K, Salmenperä T. (1998) Amygdala damage in experimental and human temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* 32, 233-53.
- Pitkänen A. (2006) New Data Suggest that Discontinuation of Status Epilepticus Is Not Necessary for Antiepileptogenic Effect in Immature Brain. *Epilepsy Curr.* 170-2.
- Pitkänen A, Kharatishvili I, Karhunen H, Lukasiuk K, Immonen R, Nairismägi J, Gröhn O, Nissinen J. (2007) Epileptogenesis in experimental models. *Epilepsia* 48 Suppl 2:13-20.
- Pikovsky A, Rosenblum M. (2001) Comment on "Intermittency in chaotic rotations". *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 2001 Nov;64, 058203.
- Plihal W, Born J. (1999) Effects of early and late nocturnal sleep on priming and spatial memory. *Psychophysiology.* 36, 571-82.
- Ploner CJ, Gaymard BM, Rivaud-Péchoix S, Baulac M, Clémenceau S, Samson S, Pierrot-Deseilligny C. (2000) Lesions affecting the parahippocampal cortex yield spatial memory deficits in humans. *Cereb Cortex.* 10, 1211-6.

- Pollen DA (1964) Intracellular studies of cortical neurons during thalamic induced wave and spike. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 17, 398-404.
- Ponten SC, Bartolomei F, Stam CJ. (2007) Small-world networks and epilepsy: graph theoretical analysis of intracerebrally recorded mesial temporal lobe seizures. *Clin Neurophysiol.* 118, 918-27.
- Ponten SC, Daffertshofer A, Hillebrand A, Stam CJ. (2009) The relationship between structural and functional connectivity: Graph theoretical analysis of an EEG neural mass model. *Neuroimage.* 2009 Oct 22.
- Poucet B, Chapis N, Durup M, Thinus-Blanc C (1986) Exploratory behavior as an index of spatial knowledge in hamsters. *Animal Learning and Behavior*, 14, 93-100.
- Pouzet B, Zhang WN, Feldon J, Rawlins JN (2002) Hippocampal lesioned rats are able to learn a spatial position using non-spatial strategies. *Behav Brain Res.* 133, 279-91.
- Pravdich-Neminskii VV (1913) Ein Versuch der Registrierung der elektrischen Gehirnerscheinungen. *Zentralbl Physiol* 27, 951-960.
- Priel, M.R., dos Santos, N.F., Cavaleiro, E.A., 1996. Developmental aspects of the pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsy Res.* 26, 115–121.
- Prince DA, Wong RK. (1981) Human epileptic neurons studied in vitro. *Brain Res.* 210, 323-33.
- Prince DA, Connors BW.(1986) Mechanisms of interictal epileptogenesis. *Adv Neurol.* 44, 275-99.
- Racine RJ (1972) Modification of seizure activity by electrical stimulation. I. After-discharge threshold. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 32, 269-279.
- Raghavachari S, Kahana MJ, Rizzuto DS, Caplan JB, Kirschen MP, Bourgeois B, Madsen JR, Lisman JE (2001) Gating of human theta oscillations by a working memory task. *J Neurosci.* 21, 3175-83.
- Rains GD, Milner B. (1994) Verbal recall and recognition as a function of depth of encoding in patients with unilateral temporal lobectomy. *Neuropsychologia.* 32, 1243-56.
- Ralston BL. (1958a) The surgical treatment of epilepsy. *N Y State J Med.* 58, 3127-33.
- Ramos JM, Vaquero JM. (2005) The perirhinal cortex of the rat is necessary for spatial memory retention long after but not soon after learning. *Physiol Behav.* 86, 118-27.
- Reid IC, Stewart CA. (1997) Seizures, memory and synaptic plasticity. *Seizure.* Oct;6, 351-9.
- Ribak CE, Seress L, Weber P, Epstein CM, Henry TR, Bakay RA. (1998) Alumina gel injections into the temporal lobe of rhesus monkeys cause complex partial seizures and

morphological changes found in human temporal lobe epilepsy. *J Comp Neurol.* 401(2):266-90.

Ribak CE, Tran PH, Spigelman I, Okazaki MM, Nadler JV. (2000) Status epilepticus-induced hilar basal dendrites on rodent granule cells contribute to recurrent excitatory circuitry. *J Comp Neurol.* 428, 240-53.

Rice A.C., Floyd C.L., Lyeth B.G., Hamm R.J., DeLorenzo R.J. (1998) Status Epilepticus Causes Long-Term NMDA Receptor-Dependent Behavioral Changes and Cognitive Deficits. *Epilepsia* 39, 1148-1157.

Risold PY, Swanson LW. (1997) Connections of the rat lateral septal complex. *Brain Res Brain Res Rev.* 24, 115-95.

Robertson EM, Pascual-Leone A, Miall RC. (2004) Current concepts in procedural consolidation. *Nat Rev Neurosci.* 5, 576-82.

Robertson B, Evans AH, Walterfang M, Ng AP, Velakoulis D. (2008) Epilepsy, progressive movement disorder and cognitive decline. *J Clin Neurosci.* 15, 812.

Robertson EM. (2009) From creation to consolidation: a novel framework for memory processing. *PLoS Biol.* 7, e19.

Roopun AK, Kramer MA, Carracedo LM, Kaiser M, Davies CH, et al. (2008) Period concatenation underlies interactions between gamma and beta rhythms in neocortex. *Front Cell Neurosci* 2: 1.

Roopun AK, Middleton SJ, Cunningham MO, LeBeau FEN, Bibbig A, et al. (2006) A beta2-frequency (20–30 Hz) oscillation in nonsynaptic networks of somatosensory cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 15646–15650.

Rotstein HG, Pervouchine DD, Acker CD, Gillies MJ, White JA, Buhl EH, Whittington MA, Kopell N. (2005) Slow and fast inhibition and an H-current interact to create a theta rhythm in a model of CA1 interneuron network. *J Neurophysiol.* 94, 1509-18.

Rowtree CI, Bland BH. (1986) An analysis of cholinceptive neurons in the hippocampal formation by direct microinfusion. *Brain Res.* 362, 98-113.

Royle SJ, Collins FC, Rupniak HT, Barnes JC, Anderson R. (1999) Behavioural analysis and susceptibility to CNS injury of four inbred strains of mice. *Brain Res.* 816, 337-49.

Rulkov NF, Sushchik MM, Tsimring LS, Abarbanel HD. (1995) Generalized synchronization of chaos in directionally coupled chaotic systems. *Phys Rev E Stat Phys Plasmas Fluids Relat Interdiscip Topics.* 51, 980-994.

Rutten A., van Albada M., Silveira D.C., Ho Cha B., Liu X., N. Hu Y., Cilio M.R., Holmes G.L. (2002) Memory impairment following status epilepticus in immature rats: time-course and environmental effects. *Eur. J. Neurosc.* 16, 501-513.

- Ryvlin P, Coste S, Hermier M, Mauguière F. (2002) Temporal pole MRI abnormalities in temporal lobe epilepsy. *Epileptic Disord.* 4 Suppl 1:S33-9.
- Ryvlin P, Kahane P. (2005) The hidden causes of surgery-resistant temporal lobe epilepsy: extratemporal or temporal plus? *Curr Opin Neurol.* 18, 125-7.
- Sainsbury RS, Partlo LA. (1991) The effects of alpha 2 agonists and antagonists on hippocampal theta activity in the freely moving rat. *Brain Res Bull.* 26, 37-42.
- Sammaritano M, Gigli GL, Gotman J.(1991) Interictal spiking during wakefulness and sleep and the localization of foci in temporal lobe epilepsy. *Neurology.* 41, 290-7.
- Sanabria ER, Silva AV, Spreafico R, Cavalheiro EA. (2002) Damage, reorganization, and abnormal neocortical hyperexcitability in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 43 Suppl 5:96-106.
- Sanabria ER, Castañeda MT, Banuelos C, Perez-Cordova MG, Hernandez S, Colom LV. (2006) Septal GABAergic neurons are selectively vulnerable to pilocarpine-induced status epilepticus and chronic spontaneous seizures. *Neuroscience.* 142, 871-83.
- Sanes JN, Donoghue JP. (1993) Oscillations in local field potentials of the primate motor cortex during voluntary movement. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90, 4470-4.
- Santín LJ, Rubio S, Begega A, Miranda R, Arias JL. (2000) [Spatial learning and the hippocampus] *Rev Neurol.* 31, 455-62.
- Sarkisian MR. (2001a) Overview of the Current Animal Models for Human Seizure and Epileptic Disorders. *Epilepsy Behav.* 2, 201-216.
- Sarkisian MR. (2001b) Animal Models for Human Seizure and Epileptic Activity. Reply. *Epilepsy Behav.* 2001 Oct;2506-507.
- Sarnthein J, Petsche H, Rappelsberger P, Shaw GL, von Stein A. (1998) Synchronization between prefrontal and posterior association cortex during human working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 95, 7092-6.
- Sarnthein J, von Stein A (2009) Neuronal Assemblies, Frequency of Synchronisation, and Cognitive Function. In : Perez Velasquez JL and Wennberg R editors. Coordinated Activity in the Brain, Measurements and Relevance to Brain Function and Behavior. Springer series in computational neuroscience, p 117-136.
- Save E, Buhot MC, Foreman N, Thinus-Blanc C. (1992a) Exploratory activity and response to a spatial change in rats with hippocampal or posterior parietal cortical lesions. *Behav Brain Res.* 47, 113-27.
- Save E, Poucet B, Foreman N, Buhot MC. (1992b) Object exploration and reactions to spatial and nonspatial changes in hooded rats following damage to parietal cortex or hippocampal formation. *Behav Neurosci.* 106, 447-56.

- Save E, Paz-Villagran V, Alexinsky T, Poucet B. (2005) Functional interaction between the associative parietal cortex and hippocampal place cell firing in the rat. *Eur J Neurosci.* 21, 522-30.
- Schwob JE, Fuller T, Price JL, Olney JW. (1980) Widespread patterns of neuronal damage following systemic or intracerebral injections of kainic acid: a histological study. *Neuroscience.* 5, 991-1014.
- Scoville WB, Milner B. (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 20, 11-21.
- Segal M, Landis S. (1974b) Afferents to the hippocampus of the rat studied with the method of retrograde transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 78, 1-15.
- Seidenbecher T, Laxmi TR, Stork O, Pape HC. (2003) Amygdalar and hippocampal theta rhythm synchronization during fear memory retrieval. *Science.* 301, 846-50.
- Semba K, Komisaruk BR. (1978) Phase of the theta wave in relation to different limb movements in awake rats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 44, 61-71.
- Semba K, Komisaruk BR. (1984) Neural substrates of two different rhythmical vibrissal movements in the rat. *Neuroscience.* 12, 761-74.
- Shah MM, Anderson AE, Leung V, Lin X, Johnston D. (2004) Seizure-induced plasticity of h channels in entorhinal cortical layer III pyramidal neurons. *Neuron.* 44, 495-508.
- Shao LR, Dudek FE (2005) Detection of increased local excitatory circuits in the hippocampus during epileptogenesis using focal flash photolysis of caged glutamate. *Epilepsia.* 46 Suppl 5:100-6.
- Sharma AK, Reams RY, Jordan WH, Miller MA, Thacker HL, Snyder PW. (2007) Mesial temporal lobe epilepsy: pathogenesis, induced rodent models and lesions. *Toxicol Pathol.* 35, 984-99.
- Shatskikh T.N., Raghavendra M., Zhiyong Q.Z., Holmes G.L. (2006) Electrical induction of spikes in the hippocampus impairs recognition capacity and spatial memory in rats. *Epilepsy and Behavior* 9, 549-556.
- Sherwin I. (1984a) Differential psychiatric features in epilepsy; relationship to lesion laterality. *Acta Psychiatr Scand Suppl.* 313:92-103.
- Sherwin I. (1984b) Ictal-interictal unit firing pattern differences in penicillin-induced primary and secondary epileptogenic foci. *Exp Neurol.* 84, 463-77.
- Shirvalkar P, Bahar AS. (2009) The multiple origins and laminar topography of the hippocampal theta rhythm. *J Neurosci.* 29, 7111-3.
- Siapas AG, Wilson MA. (1998) Coordinated interactions between hippocampal ripples and cortical spindles during slow-wave sleep. *Neuron.* 21, 1123-8.

- Siapas AG, Lubenov EV, Wilson MA. (2005) Prefrontal phase locking to hippocampal theta oscillations. *Neuron*. 46, 141-51.
- Singer W, Gray CM. (1995) Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annu Rev Neurosci*. 18:555-86.
- Sinnamon HM. (2005a) Hippocampal theta activity related to elicitation and inhibition of approach locomotion. *Behav Brain Res*. 160, 236-49.
- Sinnamon H.M. (2005b) Hippocampal Theta Activity and Behavioral Sequences in a Reward-Directed Approach Locomotor Task. *Hippocampus* 15, 518-534.
- Sirota A, Montgomery S, Fujisawa S, Isomura Y, Zugaro M, Buzsáki G. (2008) Entrainment of neocortical neurons and gamma oscillations by the hippocampal theta rhythm. *Neuron*. 60, 683-97.
- Skaggs WE, McNaughton BL. (1996) Replay of neuronal firing sequences in rat hippocampus during sleep following spatial experience. *Science*. 271, 1870-3.
- Skelton RW, McNamara RK. (1992) Bilateral knife cuts to the perforant path disrupt spatial learning in the Morris water maze. *Hippocampus*. 2, 73-80.
- Sloviter RS. (1991) Permanently altered hippocampal structure, excitability, and inhibition after experimental status epilepticus in the rat: the "dormant basket cell" hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*. 1, 41-66.
- Smith ML, Milner B. (1981) The role of the right hippocampus in the recall of spatial location. *Neuropsychologia*. 19, 781-93.
- Smith ML, Milner B. (1989) Right hippocampal impairment in the recall of spatial location: encoding deficit or rapid forgetting? *Neuropsychologia*. 27, 71-81.
- Smythe GA, Edwards SR.(1992) Suppression of central noradrenergic neuronal activity inhibits hyperglycemia. *Am J Physiol*.263, E823-7.
- Sotty F, Danik M, Manseau F, Laplante F, Quirion R, Williams S.(2003) Distinct electrophysiological properties of glutamatergic, cholinergic and GABAergic rat septohippocampal neurons: novel implications for hippocampal rhythmicity. *J Physiol*. 551, 927-43.
- Spencer S & Spencer D. (1994) Entorhinal-hippocampal interactions in medial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 35, 721-7.
- Squire LR, Zola-Morgan S. (1991) The medial temporal lobe memory system. *Science*. 253, 1380-6.
- Squire LR, Zola SM. (1996) Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 93, 13515-22.

- Stroubek J, Hort J, Komárek V, Langmeier M, Brozek G. (2001) Acquisition and retrieval of conditioned taste aversion is impaired by brain damage caused by two hours of pilocarpine-induced status epilepticus. *Physiol Res.* 50, 609-17.
- Staba RJ, Frighetto L, Behnke EJ, Mathern GW, Fields T, Bragin A, Ogren J, Fried I, Wilson CL, Engel J Jr. (2007) Increased fast ripple to ripple ratios correlate with reduced hippocampal volumes and neuron loss in temporal lobe epilepsy patients. *Epilepsia.* 48, 2130-8.
- Stacey WC, Lazarewicz MT, Litt B.(2009) Synaptic noise and physiological coupling generate high-frequency oscillations in a hippocampal computational model. *J Neurophysiol.* 102, 2342-57.
- Stafstrom CE, Chronopoulos A, Thurber S, Thompson JL, Holmes GL. (1993) Age-dependent cognitive and behavioral deficits after kainic acid seizures. *Epilepsia.* 34, 420-32.
- Staley J. K., Hellier J.L., Dudek F. E. (2005) Do Interictal Spikes Drive Epileptogenesis? *The Neuroscientist* 11, 272-276.
- Stam CJ, van Dijk BW (2002) Synchronisation likelihood : an unbiased measure of generalized synchronization in multivariate datasets. 163, 236-251. Elsevier Science Publishers BV.
- Stam CJ, Reijneveld JC. (2007) Graph theoretical analysis of complex networks in the brain. *Nonlinear Biomed Phys.* 1, 3.
- Stanford IM, Traub RD, Jefferys JG. (1998) Limbic gamma rhythms. II. Synaptic and intrinsic mechanisms underlying spike doublets in oscillating subicular neurons. *J Neurophysiol.* 80, 162-71.
- Steffenach HA, Witter M, Moser MB, Moser EI. (2005) Spatial memory in the rat requires the dorsolateral band of the entorhinal cortex. *Neuron.* 45, 301-13.
- Stepankova K, Fenton AA, Pastalkova E, Kalina M, Bohbot VD. (2004) Object-location memory impairment in patients with thermal lesions to the right or left hippocampus. *Neuropsychologia.* 42, 1017-28.
- Steriade M, Amzica F, Nuñez A.(1993) Cholinergic and noradrenergic modulation of the slow (approximately 0.3 Hz) oscillation in neocortical cells. *J Neurophysiol.*70, 1385-400.
- Steriade M, Contreras D, Amzica F, Timofeev I. (1996a) Synchronization of fast (30-40 Hz) spontaneous oscillations in intrathalamic and thalamocortical networks. *J Neurosci.* 16, 2788-808.
- Steriade M, Amzica F. (1996b) Intracortical and corticothalamic coherency of fast spontaneous oscillations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93, 2533-8.
- Steriade M, Timofeev I, Grenier F.(2001) Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J Neurophysiol.*85, 1969-85.

- Steriade M.(2005) Sleep, epilepsy and thalamic reticular inhibitory neurons. *Trends Neurosci.* 28, 317-24. Review.
- Steward O (1976) Topographic organization of the projections from the entorhinal area to the hippocampal formation of the rat. *J.Comp. Neurol.* 167, 285-314.
- Stewart M, Fox SE. (1991) Hippocampal theta activity in monkeys. *Brain Res.* 538, 59-63.
- Stickgold R, James L, Hobson JA.(2000a) Visual discrimination learning requires sleep after training. *Nat Neurosci.*3, 1237-8.
- Stickgold R, Malia A, Maguire D, Roddenberry D, O'Connor M.(2000b) Replaying the game: hypnagogic images in normals and amnesics. *Science.* 290, 350-3.
- Stickgold R, Whidbee D, Schirmer B, Patel V, Hobson JA.(2000c) Visual discrimination task improvement: A multi-step process occurring during sleep. *J Cogn Neurosci.*12, 246-54.
- Strogatz SH (2003) Sync : The emerging science of spontaneous order. *Hyperion Press, New York.*
- Sutherland RJ, Whishaw IQ, Kolb B. (1982) A behavioural analysis of spatial localization following electrolytic, kainate- or colchicine-induced damage to the hippocampal formation in the rat. *Behav Brain Res.* 7, 133-53.
- Sutherland RJ, Kolb B, Whishaw IQ. (1983) Spatial mapping: definitive disruption by hippocampal or medial frontal cortical damage in the rat.*Neurosci Lett.*;31, 271-6. No abstract available.
- Sutula T, Cascino G, Cavazos J, Parada I, Ramirez L.(1989) Mossy fiber synaptic reorganization in the epileptic human temporal lobe.*Ann Neurol.* 26, 321-3
- Sutula TP. (1990) Experimental models of temporal lobe epilepsy: new insights from the study of kindling and synaptic reorganization. *Epilepsia.* 31 Suppl 3:S45-54.
- Sutula T, Lauersdorf S, Lynch M, Jurgella C, Woodard A.( 1995) Deficits in radial arm maze performance in kindled rats: evidence for long-lasting memory dysfunction induced by repeated brief seizures. *J Neurosci.* 15, 8295-301.
- Sutula T, Zhang P, Lynch M, Sayin U, Golarai G, Rod R.(1998)Synaptic and axonal remodeling of mossy fibers in the hilus and supragranular region of the dentate gyrus in kainate-treated rats. *J Comp Neurol.* 390, 578-94.
- Sutula TP, Dudek FE.(2007) Unmasking recurrent excitation generated by mossy fiber sprouting in the epileptic dentate gyrus: an emergent property of a complex system. *Prog Brain Res.* 163:541-63. Review.
- Suzuki WA, Amaral DG.(1990) Cortical inputs to the CA1 field of the monkey hippocampus originate from the perirhinal and parahippocampal cortex but not from area TE. *Neurosci Lett.* 115, 43-8.

- Suzuki WA, Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG (1993) Lesions of the perirhinal and parahippocampal cortices in the monkey produce long-lasting memory impairment in the visual and tactual modalities. *J Neurosci.* 13, 2430-51.
- Suzuki WA, Amaral DG. (1994a) Perirhinal and parahippocampal cortices of the macaque monkey: cortical afferents. *J Comp Neurol.* 350, 497-533.
- Suzuki WA, Amaral DG. (1994b) Topographic organization of the reciprocal connections between the monkey entorhinal cortex and the perirhinal and parahippocampal cortices. *J Neurosci.* 14, 1856-77.
- Swanson LW, Cowan WM. (1977) An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J Comp Neurol.* 172, 49-84.
- Swartzwelder HS, Lewis DV, Anderson WW, Wilson WA.(1987) Seizure-like events in brain slices: suppression by interictal activity. *Brain Res.* 410, 362-6.
- Sziklas V, Petrides M. (1993) Memory impairments following lesions to the mammillary region of the rat. *Eur J Neurosci.*5, 525-40.
- Sziklas V, Petrides M, Leri F. (1996) The effects of lesions to the mammillary region and the hippocampus on conditional associative learning by rats., *Eur. J.Neurosci.*, 8, 106-15.
- Szyndler J., Piechal A., Blecharz-Klin K., Skorzewska A., Maciejak P., Walkowiak J., Turzynska D., Bidzinski A., Plaznik A., Widy-Tyszkiewicz E. (2006) Effect of kindled seizures on rat behaviour in water Morris maze test and amino acid concentrations in brain structures. *Pharmacological Reports* 58, 75-82.
- Tallon-Baudry C, Bertrand O, Delpuech C, Pernier J. (1996) Stimulus specificity of phase-locked and non-phase-locked 40 Hz visual responses in human.*J Neurosci.* 16, 4240-9.
- Tamamaki N, Watanabe K, Nojyo Y (1984) A whole image of the hippocampal pyramidal neuron revealed by intracellular pressure-injection of horseradish peroxidase. *Brain Research* 307, 336-340.
- Tamamaki N (1997) Organization of the entorhinal projection to the rat dentate gyrus revealed by Dil anterograde labeling. *Exp Brain Res.* 116, 250-8.
- Tassi L, Meroni A, Deleo F, Villani F, Mai R, Russo GL, Colombo N, Avanzini G, Falcone C, Bramerio M, Citterio A, Garbelli R, Spreafico R (2009) Temporal lobe epilepsy: neuropathological and clinical correlations in 243 surgically treated patients. *Epileptic Disord.* 11, 281-92.
- Tassinari CA, Rubboli G. (2006) Cognition and paroxysmal EEG activities: from a single spike to electrical status epilepticus during sleep. *Epilepsia* 47, 40-43.
- Teather LA, Magnusson JE, Chow CM, Wurtman RJ. (2002) Environmental conditions influence hippocampus-dependent behaviours and brain levels of amyloid precursor protein in rats. *Eur J Neurosci.* 16, 2405-15.

- Teruel-Martí V, Cervera-Ferri A, Nuñez A, Valverde-Navarro AA, Olucha-Bordonau FE, Ruiz-Torner A. (2008) Anatomical evidence for a ponto-septal pathway via the nucleus incertus in the rat. *Brain Res.* 1218, 87-96.
- Terzano MG, Parrino L, Garofalo PG, Durisotti C, Filati-Roso C. (1991) Activation of partial seizures with motor signs during cyclic alternating pattern in human sleep. *Epilepsy Res.* 10, 166-73.
- Terzano MG, Parrino L, Spaggiari MC, Barusi R, Simeoni S. (1991) Discriminatory effect of cyclic alternating pattern in focal lesional and benign rolandic interictal spikes during sleep. *Epilepsia.* 32(5):616-28.
- Tesche CD, Karhu J. (2000) Theta oscillations index human hippocampal activation during a working memory task. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97, 919-24.
- Thinschmidt JS, Kinney GG, Kocsis B. (1995) The supramammillary nucleus: is it necessary for the mediation of hippocampal theta rhythm? *Neuroscience.* 67, 301-12.
- Thinus-Blanc C, Save E, Poucet B, Foreman N. (1996) Effects of parietal cortex lesions on spatial problem solving in the rat. *Behav Brain Res.* 81, 115-21.
- Tolman EC (1948) Cognitive maps in rats and men. *Psychol Rev.* 55, 189-208.
- Traub RD, Whittington MA, Colling SB, Buzsáki G, Jefferys JG. (1996) Analysis of gamma rhythms in the rat hippocampus in vitro and in vivo. *J Physiol.* 493, 471-84
- Traub RD, Jefferys JG, Whittington MA. (1997) Simulation of gamma rhythms in networks of interneurons and pyramidal cells. *J Comput Neurosci.* 4, 141-50.
- Traub RD, Bibbig A, LeBeau FE, Buhl EH, Whittington MA. (2004b) Cellular mechanisms of neuronal population oscillations in the hippocampus in vitro. *Annu Rev Neurosci.* 27:247-78. Review.
- Treviño M, Vivar C, Gutiérrez R. (2007) Beta/gamma oscillatory activity in the CA3 hippocampal area is depressed by aberrant GABAergic transmission from the dentate gyrus after seizures. *J Neurosci.* 27, 251-9.
- Turner BH, Zimmer J. (1984) The architecture and some of the interconnections of the rat's amygdala and lateral periallocortex. *J Comp Neurol.* 227, 540-57.
- Turski WA, Cavalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SJ, Kleinrok Z, Turski L. (1983) Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav Brain Res.* 9, 315-35.
- Turski L, Ikonomidou C, Turski WA, et al. (1989) Cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced in pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy. *Synapse.* 3:154-171.

- Tuunanen J, Halonen T, Pitkänen A. (1996) Status epilepticus causes selective regional damage and loss of GABAergic neurons in the rat amygdaloid complex. *Eur J Neurosci.* 8, 2711-25.
- Urrestarazu E, Chander R, Dubeau F, Gotman J. (2007) Interictal high-frequency oscillations (100-500 Hz) in the intracerebral EEG of epileptic patients. *Brain.* 130, 2354-66.
- van Asselen M, Kessels RP, Kappelle LJ, Postma A. (2008) Categorical and coordinate spatial representations within object-location memory. *Cortex.* 44, 249-56.
- van Cauter T, Poucet B, Save E. (2008) Delay-dependent involvement of the rat entorhinal cortex in habituation to a novel environment. *Neurobiol Learn Mem.* 2008 Apr 24.
- van Dellen E, Douw L, Baayen JC, Heimans JJ, Ponten SC, Vandertop WP, Velis DN, Stam CJ, Reijneveld JC. (2009) Long-term effects of temporal lobe epilepsy on local neural networks: a graph theoretical analysis of corticography recordings. *PLoS One.* 4, e8081.
- van Haefen T, Jorritsma-Byham B, Witter MP. (1995) Quantitative morphological analysis of subicular terminals in the rat entorhinal cortex. *Hippocampus.* 5, 452-9.
- van Haefen T, Baks-te-Bulte L, Goede PH, Wouterlood FG, Witter MP. (2003) Morphological and numerical analysis of synaptic interactions between neurons in deep and superficial layers of the entorhinal cortex of the rat. *Hippocampus.* 13, 943-52.
- van Hoesen GW, Rosene DL, Mesulam MM. (1979) Subicular input from temporal cortex in the rhesus monkey. *Science.* 205, 608-10.
- van Hoesen GW, Pandya DN. (1975a) Some connections of the entorhinal (area 28) and perirhinal (area 35) cortices of the rhesus monkey. III. Efferent connections. *Brain Res.* 95, 39-59.
- van Hoesen G, Pandya DN. (1975b) Some connections of the entorhinal (area 28) and perirhinal (area 35) cortices of the rhesus monkey. I. Temporal lobe afferents. *Brain Res.* 95, 1-24.
- van Lier H, Coenen AM, Drinkenburg WH. (2003) Behavioral transitions modulate hippocampal electroencephalogram correlates of open field behavior in the rat: support for a sensorimotor function of hippocampal rhythmical synchronous activity. *J Neurosci.* 23, 2459-65.
- van Luijtelaar EL, Coenen AM. (1986) Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neurosci Lett.* 70, 393-7.
- Vanderwolf C.H. (1969) Hippocampal Electrical Activity and Voluntary Movement in the Rat. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 26, 407-418.
- Vanderwolf CH. (1988) Cerebral activity and behavior: control by central cholinergic and serotonergic systems. *Int Rev Neurobiol.* 225-340. Review.
- Vann SD, Aggleton JP. (2004) The mammillary bodies: two memory systems in one? *Nat Rev Neurosci.* 5, 35-44. Review.

- Vertes RP, Martin GF. (1988) Autoradiographic analysis of ascending projections from the pontine and mesencephalic reticular formation and the median raphe nucleus in the rat. *J Comp Neurol.* 275, 511-41.
- Vertes RP. (1992) PHA-L analysis of projections from the supramammillary nucleus in the rat. *J Comp Neurol.* 326, 595-622.
- Vertes RP, Crane AM, Colom LV, Bland BH.(1995) Ascending projections of the posterior nucleus of the hypothalamus: PHA-L analysis in the rat. *J Comp Neurol.* 359, 90-116.
- Vertes RP, Albo Z, Viana Di Prisco G. (2001) Theta-rhythmically firing neurons in the anterior thalamus: implications for mnemonic functions of Papez's circuit. *Neuroscience.* 104, 619-25.
- Vertes RP, Hoover WB, Szigeti-Buck K, Leranath C. (2007) Nucleus reuniens of the midline thalamus: link between the medial prefrontal cortex and the hippocampus. *Brain Res Bull.* 71, 601-9.
- Vinogradova OS, Brazhnik ES, Karanov AM, Zhadina SD. (1980) Neuronal activity of the septum following various types of deafferentation. *Brain Res.* 187, 353-68.
- Vinogradova OS, Kitchigina VF, Zenchenko CI. (1998) Pacemaker neurons of the forebrain medial septal area and theta rhythm of the hippocampus. *Membr Cell Biol.* 11, 715-25.
- Vinogradova OS. (2001) Hippocampus as comparator: role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information. *Hippocampus.* 11, 578-98.
- von der Malsburg C (1985) Nervous structures with dynamical links. *Ber Bunsenges Phys Chem.* 89:703-710.
- von der Malsburg C (1999) The what and why of binding : The modeler's perspective. *Neuron* 24:95-104.
- Wainer BH, Bolam JP, Freund TF, Henderson Z, Totterdell S, Smith AD. (1984) Cholinergic synapses in the rat brain: a correlated light and electron microscopic immunohistochemical study employing a monoclonal antibody against choline acetyltransferase. *Brain Res.*; 308, 69-76.
- Wallenstein GV, Eichenbaum H, Hasselmo ME. (1998) The hippocampus as an associator of discontinuous events. *Trends Neurosci.* 21, 317-23.
- Wan H, Aggleton JP, Brown MW. (1999) Different contributions of the hippocampus and perirhinal cortex to recognition memory. *J Neurosci.* 19, 1142-8.
- Wang XJ, Buzsáki G. (1996) Gamma oscillation by synaptic inhibition in a hippocampal interneuronal network model. *J Neurosci.* 16, 6402-13.

- Warburton EC, Baird AL, Morgan A, Muir JL, Aggleton JP. (2000) Disconnecting hippocampal projections to the anterior thalamus produces deficits on tests of spatial memory in rats. *Eur J Neurosci.* 12, 1714-26.
- Watts DJ, Strogatz SH. (1998) Collective dynamics of 'small-world' networks. *Nature.* 1998 Jun 4;393, 440-2.
- Watts DJ (2003) Six degrees; The science of a connected age. W.W. Norton and Company. New York.
- Wendling F., Bartolomei F. (2001) Modélisation des signaux SEEG et interprétation des mesures de relation dans les crises temporales : une approche de l'étude des réseaux épileptogènes. *Epileptic Disorders* 3, 67-78.
- Wendling F, Bartolomei F, Bellanger JJ, Bourien J, Chauvel P. (2003) Epileptic fast intracerebral EEG activity: evidence for spatial decorrelation at seizure onset. *Brain.* 126, 1449-59.
- Wendling F, Ansari-Asl K, Bartolomei F, Senhadji L. (2009) From EEG signals to brain connectivity: a model-based evaluation of interdependence measures. *J.Neurosci Methods.* 183, 9-18.
- Weniger G, Boucsein K, Irle E. (2004) Impaired associative memory in temporal lobe epilepsy subjects after lesions of hippocampus, parahippocampal gyrus, and amygdala. *Hippocampus.* 14, 785-96.
- White HS (2002) Animal models of epileptogenesis. *Neurology.* 59, S7-S14.
- Whittington MA, Traub RD, Jefferys JG. (1995b) Synchronized oscillations in interneuron networks driven by metabotropic glutamate receptor activation. *Nature.* 373, 612-5.
- Whittington MA, Traub RD, Kopell N, Ermentrout B, Buhl EH.(2000) Inhibition-based rhythms: experimental and mathematical observations on network dynamics. *Int J Psychophysiol.* 38, 315-36. Review.
- Wilkus RJ, Dodrill CB, Troupin AS.(1978) Carbamazepine and the electroencephalogram of epileptics: a double blind study in comparison to phenytoin. *Epilepsia.* 19,283-91.
- Williams JM, Givens B. (2003) Stimulation-induced reset of hippocampal theta in the freely performing rat. *Hippocampus.* 13, 109-16.
- Williams PA, Hellier JL, White AM, Staley KJ, Dudek FE. (2007) Development of spontaneous seizures after experimental status epilepticus: implications for understanding epileptogenesis. *Epilepsia.* 48 Suppl 5:157-63.
- Williams PA, White AM, Clark S, Ferraro DJ, Swiercz W, Staley KJ, Dudek FE. (2009) Development of spontaneous recurrent seizures after kainate-induced status epilepticus. *J Neurosci.* 29,2103-12.

Wilson MA, McNaughton BL. (1994) Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* 265, 676-9. Comment in: *Science*. 1994 Jul 29;265, 603-4.

Winson J. (1972) Interspecies differences in the occurrence of theta. *Behav Biol.* 7, 479-87.

Winters BD, Robbins TW, Everitt BJ. (2004) Selective cholinergic denervation of the cingulate cortex impairs the acquisition and performance of a conditional visual discrimination in rats. *Eur J Neurosci.*19, 490-6.

Winters BD, Saksida LM, Bussey TJ.(2006) Paradoxical facilitation of object recognition memory after infusion of scopolamine into perirhinal cortex: implications for cholinergic system function. *J Neurosci.* 26, 9520-9.

Winters BD, Bussey TJ. (2005) Removal of cholinergic input to perirhinal cortex disrupts object recognition but not spatial working memory in the rat. *Eur J Neurosci.* 21, 2263-70.

Wirtshafter D, Stratford TR, Shim I. (1998) Placement in a novel environment induces fos-like immunoreactivity in supramammillary cells projecting to the hippocampus and midbrain. *Brain Res.* 789, 331-4.

Witter MP, Griffioen AW, Jorritsma-Byham B, Krijnen JL. (1988) Entorhinal projections to the hippocampal CA1 region in the rat: an underestimated pathway. *Neurosci Lett.* 85, 193-8.

Witter MP, Van Hoesen GW, Amaral DG. (1989) Topographical organization of the entorhinal projection to the dentate gyrus of the monkey. *J Neurosci.* 9, 216-28.

Witter MP. (1993) Organization of the entorhinal-hippocampal system: a review of current anatomical data. *Hippocampus.* 3 Spec No:33-44. Review.

Wolansky T, Clement EA, Peters SR, Palczak MA, Dickson CT.(2006) Hippocampal slow oscillation: a novel EEG state and its coordination with ongoing neocortical activity. *J Neurosci.*26, 6213-29.

Wood ER, Dudchenko PA, Eichenbaum H. (1999) The global record of memory in hippocampal neuronal activity. *Nature.*, 397, 613-6.

Wood ER, Dudchenko PA, Robitsek RJ, Eichenbaum H. (2000) Hippocampal neurons encode information about different types of memory episodes occurring in the same location. *Neuron.* 27, 623-33.

Wouterlood FG, Saldana E, Witter MP. (1990) Projection from the nucleus reuniens thalami to the hippocampal region: light and electron microscopic tracing study in the rat with the anterograde tracer Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J Comp Neurol.* 296, 179-203.

Wozny C, Gabriel S, Jandova K, Schulze K, Heinemann U, Behr J. (2005) Entorhinal cortex entrains epileptiform activity in CA1 in pilocarpine-treated rats. *Neurobiol Dis.* 19, 451-60.

Wu C-L., Huang L-T., Liou C-W., Wang T-J., Tung Y-R., Hsu H-Y., Lai M-C. (2001) Lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in immature rats result in long-term deficits in spatial learning and hippocampal cell loss. *Neuroscience Letters* 312, 113-117.

Wuarin JP, Dudek FE. (1996) Electrographic seizures and new recurrent excitatory circuits in the dentate gyrus of hippocampal slices from kainate-treated epileptic rats. *J Neurosci.* 16, 4438-48.

Yilmazer-Hanke DM, Wolf HK, Schramm J, Elger CE, Wiestler OD, Blümcke I.(2000) Subregional pathology of the amygdala complex and entorhinal region in surgical specimens from patients with pharmaco-resistant temporal lobe epilepsy. *J Neuropathol Exp Neurol.* 59, 907-20.

Ylinen A, Kälviäinen R, Riekkinen PJ Sr.( 1995) Long-term efficacy and cognitive effects of vigabatrin. *Acta Neurol Scand Suppl.*162:47-50.

Zhou JL, Lenck-Santini PP, Zhao Q, Holmes GL. (2007b) Effect of interictal spikes on single-cell firing patterns in the hippocampus. *Epilepsia.* 48, 720-31.

Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG, Suzuki WA.(1989) Lesions of perirhinal and parahippocampal cortex that spare the amygdala and hippocampal formation produce severe memory impairment. *J Neurosci.*9, 4355-70.

Zola-Morgan S, Squire LR, Clower RP, Rempel NL. (1993) Damage to the perirhinal cortex exacerbates memory impairment following lesions to the hippocampal formation. *J Neurosci.* 13, 251-65.

Zola SM, Squire LR, Teng E, Stefanacci L, Buffalo EA, Clark RE.(2000) Impaired recognition memory in monkeys after damage limited to the hippocampal region. *J Neurosci.* 20, 451-63.



