



HAL
open science

Crises fébriles et syndrome d'épilepsie méso-temporale. Une modélisation chez la souris de la théorie du double choc

Sophie Hamelin

► **To cite this version:**

Sophie Hamelin. Crises fébriles et syndrome d'épilepsie méso-temporale. Une modélisation chez la souris de la théorie du double choc. Sciences agricoles. Université de Grenoble, 2012. Français. NNT : 2012GRENV015 . tel-00769920

HAL Id: tel-00769920

<https://theses.hal.science/tel-00769920v1>

Submitted on 4 Jan 2013

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

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

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : **Neurosciences Neurobiologie**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Sophie HAMELIN

Thèse dirigée par le **Dr Antoine DEPAULIS**
codirigée par le **Pr Philippe KAHANE**

préparée au sein de l'équipe 9,
Dynamique des réseaux synchrones épileptiques,
dans l'institut des Neurosciences de Grenoble

Ecole Doctorale chimie et sciences du vivant (218)

CRISES FÉBRILES ET SYNDROME D'ÉPILEPSIE MÉSIO-TEMPORALE

UNE MODÉLISATION CHEZ LA SOURIS DE LA THÉORIE DU DOUBLE CHOC

Thèse soutenue publiquement le **23 avril 2012**
devant le jury composé de :

Pr Philippe KAHANE

PU-PH, INSERM U836, Grenoble (Président)

Dr Stéphane AUVIN

PH, INSERM U676, Paris (Rapporteur)

Dr Pierre SZEPETOWSKI

DR2, INSERM U901, Marseille (Rapporteur)

Dr Fiona FRANCIS

DR2, INSERM UMRS 83917, Paris (Membre)

Dr Antoine DEPAULIS

DR2, INSERM U836, Grenoble (Directeur)



TABLE OF CONTENTS

TABLE DES ILLUSTRATIONS	5
TABLE DES ABREVIATIONS	6
INTRODUCTION	7
A. CRISES FÉBRILES ET ÉPILEPSIES MÉSIO-TEMPORALES	7
I. CRISES FÉBRILES	7
i. Aspect historique.....	7
ii. Définition actuelle.....	9
iii. Épidémiologie.....	9
- Un âge spécifique	10
- Une prédisposition cérébrale (génétique ou lésionnelle).....	11
- Présence d'une fièvre	12
iv. Sémiologie.....	13
v. États de mal et crises fébriles complexes	17
vi. Aspect pronostic.....	18
II. ÉPILEPSIES MÉSIO-TEMPORALES	21
i. Le syndrome d'épilepsie méso-temporale.....	22
- Histoire clinique	22
- Les crises.....	24
- Les données para-cliniques	25
- La sclérose hippocampique	31
- Le traitement chirurgical des MTLE	34
ii. Relations entre crises fébriles et épilepsies méso-temporales.....	36
iii. Le concept de "Dual pathology"	37
B. LA MODÉLISATION ANIMALE	39
I. LES CRISES HYPERTHERMIQUES	39
i. Méthodes de modélisation	39
- Modes d'induction de l'hyperthermie:.....	39
- Espèce animale.....	40
- Age d'induction et maturation cérébrale.....	40
- Susceptibilité génétique.....	41
- Crise unique, répétée ou prolongée?	41
- Hyperthermie seule ou associée à un processus inflammatoire?.....	42
ii. Conséquences des crises hyperthermiques.....	42
- De l'hyperthermie à la crise.....	42
- Modifications fonctionnelles a long terme.....	43
- Modifications morphologiques	44
- Particularité des crises hyperthermiques prolongées ou répétées	46
- Relation entre crises hyperthermiques et épilepsie limbique	46
II. APPORT DES MODÈLES DE "DUAL PATHOLOGY"	47
C. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE	49

ARTICLE 1- LONG TERM EFFECTS OF FEBRILE STATUS EPILEPTICUS : WHAT ANIMAL MODELS CAN TELL US ?	51
ARTICLE 2: HYPERTHERMIC SEIZURES ENHANCE EPILEPTOGENESIS IN TEMPORAL LOBE EPILEPSY MICE	54
A. PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS.....	54
B. <i>ABSTRACT 1</i> - MODIFICATIONS OF HIPPOCAMPAL EPILEPTOGENESIS BY PROLONGED HYPERTHERMIC SEIZURES IN THE IMMATURE MOUSE.....	56
C. <i>ABSTRACT 2</i> - PROLONGED HYPERTHERMIC SEIZURES IN THE IMMATURE MOUSE INCREASE THE DISPERSION OF GRANULAR CELLS IN A MODEL OF MESIAL TEMPORAL LOBE EPILEPSY.....	58
D. <i>ARTICLE 2</i> : HYPERTHERMIC SEIZURES ENHANCE EPILEPTOGENESIS IN TEMPORAL LOBE EPILEPSY	60
ARTICLE 3: HYPERTHERMIC SEIZURES DO NOT AGGRAVATE HIPPOCAMPAL EPILEPTOGENESIS IN DOUBLECORTIN KNOCKOUT MICE	87
A. PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS	87
B. <i>ABSTRACT 1</i> : FEBRILE SEIZURE AS A LONG-TERM PRE-CONDITIONING CONTEXT WHICH MAY REGULATE EPILEPTOGENESIS IN DOUBLECORTIN KO MICE.	89
C. <i>ARTICLE 3</i> : HYPERTHERMIC SEIZURES DO NOT AGGRAVATE HIPPOCAMPAL EPILEPTOGENESIS IN DOUBLECORTIN KNOCKOUT MICE.....	90
DISCUSSION	102
A. CHOIX DES MODÈLES ANIMAUX	103
I. <i>Le modèle de crise hyperthermique chez la souris C57BL/6</i>	103
II. <i>Le modèle de crise hippocampique chez la souris C57BL/6</i>	104
III. <i>Le modèle souris Dcx-KO</i>	107
B. HYPOTHÈSE 1: PAR QUELS MÉCANISMES UNE CRISE HYPERTHERMIQUE FACILITERAIT LA ROUTE VERS L'ÉPILEPSIE?	109
C. HYPOTHÈSE 2: POURQUOI UNE CRISE HYPERTHERMIQUE NE FAVORISE T'ELLE PAS LA ROUTE VERS LA CRISE?	112
CONCLUSION	114
BIBLIOGRAPHIE.....	115
RESUME	136
ABSTRACT.....	137

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Tableau 1 :

Les facteurs de risque de récurrence ou d'épilepsie après une première crise fébrile p.9

Tableau 2 :

Fréquence des antécédents de crises fébriles dans les différents syndromes épileptiques p.19

Tableau 3 :

Le syndrome d'épilepsie mésio-temporale p.20

Tableau 4:

Les caractéristiques de la sclérose de l'hippocampe p.31

Figure 1 :

Enregistrement électroencéphalographique d'une crise fébrile p.14

Figure 2 :

Le syndrome d'épilepsie mésio-temporale, une histoire clinique typique p.22

Figure 3 :

IRM d'une sclérose hippocampique gauche p.25

Figure 4 :

Crise temporale gauche enregistrée en stéréo-EEG p.26

Figure 5 :

Classification des scléroses hippocampiques. p.32

Figure 6 :

IRM post-chirurgie d'une amygdalo-hippocampectomie gauche p.34

TABLE DES ABREVIATIONS

AMPA : Acide α -Amino-3-hydroxy-5-Methyl-4-isoxazole Propionique

BDNF : Brain-Derived Neurotrophic Factor

BrdU: Bromodeoxyuridine

COX 2 : Cyclooxygenases-2

CREB : CRE-binding protein

EEG : Électroencéphalogramme

ERK : Extracellular signal-Regulated Kinases

GABA_A: Acide Gamma-Aminobutyrique de type A

GEFS+ : Genetic Epilepsy with Febrile Seizures plus

GFAP : Glial Fibrillary Acidic Protein

HMGB1 : High Mobility Group Box

HSP 27/70 : Heat shock proteins 27/70

IL-1 β /6/10 : Interleukine 1 β /6/10

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LTP : Long-Term Potentiation

LTD : Long-Term Depression

MTLE : Mesial Temporal Lobe Epilepsy (Épilepsie de la face mésiale du lobe temporal, ici entendue dans le cadre du syndrome d'épilepsie méso-temporale qui associe une épilepsie de la partie temporo-mésiale et une sclérose de l'hippocampe)

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

NSE : Neuron Specific Enolase

NR2_{A/B}: Sous unité du récepteur tétramère au NMDA

PSA-NCAM : Poly-Sialated Neural Cell Adhesion Molecule

SCN1A/B : Sous-unité alpha-1 du Canal Sodique voltage-dépendant Neuronal

TNF-gamma : Tumor Necrosis Factor-gamma

TrkB : Tropomyosin-related kinase B

INTRODUCTION

L'objectif de ce travail est d'étudier les mécanismes physiopathologiques rapprochant la survenue des crises fébriles, observées chez 2 à 5 % des enfants, du développement ultérieur d'une épilepsie méso-temporale avec sclérose de l'hippocampe. Les crises fébriles représentent en effet l'événement épileptique le plus fréquent, sans conséquence sur le développement de l'enfant. Malgré cet excellent pronostic, une infime proportion de ces enfants va développer, quelques années plus tard, une épilepsie de la face mésiale du lobe temporal associée à une sclérose de l'hippocampe (MTLE), le plus souvent résistante à tout traitement anti-épileptique. L'hypothèse principale sur laquelle repose ce travail est que les crises fébriles entraîneraient une plasticité de l'hippocampe, probablement nécessaire, mais non suffisante pour le développement d'une MTLE. Un second événement, développemental ou acquis, serait alors indispensable au développement d'une sclérose de l'hippocampe associée à une épilepsie méso-temporale.

A. CRISES FEBRILES ET EPILEPSIES MESIO-TEMPORALES

I. CRISES FEBRILES

Les crises fébriles représentent l'évènement épileptique le plus fréquent dans l'espèce humaine. Le risque cumulé de faire un jour une crise d'épilepsie est estimé à 8 % et la moitié de ces évènements sont des crises fébriles. Ainsi, 2 à 5 % de la population générale a ou va présenter au moins une crise fébrile. Les questions de santé publique, notamment celles qui concernent le risque cognitif, le risque de handicap, le risque d'épilepsie ultérieure, ainsi que la nécessité ou non de mettre en place un traitement préventif, sont ainsi des questions majeures.

i. Aspect historique

Au tout début du siècle, entre 1900 et 1920, les crises fébriles ne sont pas identifiées en tant que telles. Entre 1930 et 1950, leur entité est reconnue et leur devenir est considéré comme favorable, aucune prophylaxie n'est alors proposée. C'est dans les années 1950-1960,

notamment suite aux débuts de la chirurgie de l'épilepsie, que les "convulsions fébriles" vont être considérées comme le premier évènement d'une épilepsie non encore diagnostiquée. Lennox (Lennox, 1953) cité par (Baram and Shinnar, 2002a) proposait comme terminologie : "epilepsy unmasked by fever". Ainsi, jusqu'en 1980, la définition des "convulsions fébriles" incluait toute pathologie fébrile associée à des convulsions. De fait, les abcès cérébraux, les méningo-encéphalites virales ou bactériennes étaient incluses dans les études épidémiologiques, ce qui grevait significativement le pronostic global de ces enfants. Cette époque est également celle au cours de laquelle des thérapeutiques prophylactiques sont appliquées, comme le Phénobarbital, dans le but de limiter le risque de récurrence mais également pour éviter le développement d'une épilepsie méso-temporale ultérieure. En 1980, la définition des "convulsions fébriles" évolue, excluant les pathologies neurologiques aiguës responsables des crises :

"A febrile seizure is an event in infancy or childhood, usually occurring between 3 months and 5 years of age, associated with fever but without evidence of intracranial infection or defined cause. Seizures with fever in children who have suffered a previous nonfebrile seizure are excluded"

"Un évènement de la petite enfance ou de l'enfance, survenant en général entre 3 mois et 5 ans, lié à de la fièvre et sans élément permettant d'incriminer une infection intracrânienne ou autre cause définie. Les crises fébriles ayant été précédées de crises non fébriles n'entrent pas dans cette définition".

À partir de cette date, les études épidémiologiques décrivent chez les enfants ce que l'on entend actuellement par "Crise fébrile". L'étude de A.T. Berg parue dans le New England Journal of Medicine en 1992 (Berg et al., 1992), représente également un tournant dans l'histoire épidémiologique des crises fébriles. Elle décrit un risque relatif de 2 à 4 % de développer une épilepsie dans les suites de crises fébriles, et fait la part entre les facteurs de risque de récurrence et ceux de développer une épilepsie.

ii. Définition actuelle

Le terme de “crise fébrile” a remplacé celui de “convulsion fébrile”, l'évènement épileptique pouvant être non convulsif et se limiter à une symptomatologie d'allure limbique tels des automatismes gestuels, un arrêt comportemental ou des mâchonnements (Neville and Gindner, 2010a). Cette définition permet également de lever l'ambiguïté sur la nature épileptique de la symptomatologie, excluant de fait les malaises vaso-vagaux, les myoclonies fébriles et les syncopes. La définition actuelle exclut les enfants ayant présenté des crises non fébriles préalables mais inclut les enfants ayant un antécédent neurologique non épileptique, tel un accident vasculaire cérébral ou des séquelles de souffrance anoxo-ischémique. Les pathologies neurologiques ou métaboliques, ainsi que les crises provoquées par une cause annexe en contexte fébrile sont également des causes d'exclusion.

International League Against Epilepsy Commission on Epidemiology and Prognosis (1993)

“Febrile seizure: a seizure occurring in childhood after age 1 month, associated with a febrile illness not caused by an infection of the central nervous system, without previous neonatal seizures or a previous unprovoked seizure, and not meeting criteria for other acute symptomatic seizures”.

iii. Épidémiologie

La crise fébrile touche 2 à 5 % de la population générale, sans distinction de sexe, et constitue l'évènement épileptique le plus fréquent (Verity et al., 1985a; Berg et al., 1992). Le risque de récurrence après une première crise fébrile est de 35 %, 65 % des enfants ne feront qu'une seule crise fébrile, 13 % des enfants feront deux crises fébriles, 9 % en feront trois (Verity et al., 1985a). Le principal facteur de risque de récurrence des crises fébriles est l'âge jeune, avant un an, au moment du premier épisode mais également la présence d'antécédents familiaux d'épilepsie ou de crise fébrile (tableau 1) (Verity et al., 1985a). Le risque de développer une épilepsie, c'est à dire de présenter des crises hors contexte fébrile, est lié à la présence d'un retard dans le développement psychomoteur ou à la présence d'un antécédent d'épilepsie dans la famille.

En résumé, on peut considérer que la survenue d'une crise fébrile est le reflet de la rencontre de trois éléments indispensables:

- Un âge spécifique
- Une prédisposition cérébrale (génétique ou lésionnelle)
- Un épisode fébrile

Tableau 1: Les facteurs de risque de récurrence ou d'épilepsie, après une première crise fébrile. Adapté d'après (Annegers et al., 1979; Berg et al., 1992; Berg and Shinnar, 1996).

Facteurs de risque	Récurrence de crise fébrile	Épilepsie
Age < 1 an	+++	-
Basse température corporelle	+++	-
CF apparaissant au début de l'épisode fébrile	+++	-
Retard de développement	-	+++
Antécédent familial d'épilepsie	-	+++
Antécédent familial de CF	+++	-
Nombre de crises fébrile	+	+++
Crise fébrile complexe	-	+++

- Un âge spécifique

Les crises fébriles surviennent en général entre 1 et 5 ans. La moitié des premiers épisodes surviennent au cours de la seconde année et 90 % au cours des trois premières années de vie (Verity et al., 1985a; Dube et al., 2000; Dubé et al., 2009a). La susceptibilité du cerveau aux crises fébriles dans cette tranche d'âge n'est pas encore vraiment expliquée. Le rôle de la maturation fonctionnelle des différentes sous-unités des récepteurs GABA_A (canaux Chlore), NMDA, AMPA ainsi que de la myélinisation des structures limbiques en est probablement responsable.

- Une prédisposition cérébrale (génétique ou lésionnelle)

Les facteurs de risque de crises fébriles ont fait l'objet de nombreuses études épidémiologiques (pour revue (Huang et al., 1999). L'antécédent familial de crise fébrile est le facteur prédictif le plus important, soulevant ainsi l'importance de la susceptibilité génétique (Verity et al., 1985a). L'incidence dans la fratrie varie de 20 à 25 % (Fukuyama et al., 1979). Le taux de concordance entre des jumeaux homozygotes varie de 44 à 68 % mais aucun mode de transmission n'a jusqu'à présent été clairement établi. Le mode polygénique et le mode autosomique dominant ont été évoqués (pour revue Fukuyama et al., 1979). Certains facteurs de susceptibilité ou de protection génétiques ont été identifiés, ainsi, la mutation au sein du gène du C3 dans le complément pourrait avoir un effet protecteur ou facilitateur sur la survenue de crises fébriles, puis de MTLE (Lippé et al., 2009; Jamali et al., 2010). Des mutations sur le gène Interleukine 1-béata (IL-1b) ont également été retenues comme un facteur de polymorphisme impliqué dans la survenue de crises fébrile, notamment en Asie (Wu et al., 2011).

Au sein de certaines familles chez lesquelles les crises fébriles typiques sont fréquentes, certains membres peuvent présenter également (i) des crises fébriles « plus » (crises fébriles survenant après l'âge de 5 ans), (ii) des crises afébriles, le plus souvent de type généralisées, et parfois (iii) des crises partielles temporales. L'association entre ces différents types de crises et une transmission de type autosomique dominante, est décrite sous le terme syndromique de GEFS + (Genetic Epilepsy with Febrile Seizure Plus). Certaines mutations ont été individualisées, sur des gènes codant pour des canaux sodiques (*SCN1A* (Escayg et al., 2000; Wallace et al., 2001) ou *SCN1B* (Wallace et al., 1998)) ou la sous unité *GABA_A* (Baulac et al., 2001). D'autres familles ont été décrites, remplissant les critères de diagnostic, mais sans gène identifié (Gérard et al., 2002; Baulac et al., 2008). En 2011, 7 mutations ont été décrites (Salzmann et al., 2012): *MASS1* (MIM# 602851; FEB4), *IMPA2* (MIM# 605922; FEB6), *SCN1B* (MIM# 600235; GEFS+1), *SCN1A* (MIM# 182389; GEFS+2), *GABRG2* (MIM# 137164; GEFS+3, FEB8), *GABRD* (MIM# 137163; GEFS+5), et *SCN9A* (MIM# 603415; GEFS+7).

Le second facteur de risque de présenter une crise fébrile est la présence d'un antécédent néonatal telle une souffrance anoxo-ischémique à la naissance, une prématurité ou la notion

d'un retard dans les acquisitions (4,5 % des crises fébriles) (Verity et al., 1985a). Il s'agit de facteurs indépendants, qui peuvent s'ajouter aux facteurs de risque génétiques.

- Présence d'une fièvre

L'objectivation d'une hyperthermie au décours immédiat de la crise fébrile est une information importante pour le diagnostic positif, néanmoins, la méthode de recueil et le délai avant la prise de température peuvent influencer cette mesure. De manière générale, la température doit être supérieure à 38,4°C pour que le diagnostic soit retenu. Au regard des grandes études prospectives (Berg et al., 1992), le fait d'être gardé en collectivité ou la présence d'un tabagisme maternel au cours de la conception apparaissent comme des facteurs de risque de crise fébrile. Ceux-ci sont probablement à mettre en relation directe avec l'augmentation du risque de présenter un épisode infectieux fébrile.

Bien qu'une hyperthermie isolée, sans processus inflammatoire, puisse être responsable de crises fébriles, la majorité des épisodes surviennent en contexte fébrile, associant à l'hyperthermie un processus inflammatoire spécifique, orienté contre un agent pathogène en particulier. Cette réaction inflammatoire passe par la libération de cytokines dont l'interleukine 1 β (IL-1 β), l'interleukine 6 (IL-6), le Tumor Necrosis Factor gamma (TNF-Gamma)... S'ensuit une réaction en chaîne, qui implique les prostaglandines et les enzymes cyclooxygénases-2 (COX 2). Au cours d'un épisode fébrile, il existe également un phénomène d'hyperventilation physiologique responsable d'une alcalose respiratoire. Celle-ci modifie l'excitabilité neuronale et le risque de crises (Schuchmann et al., 2011). Le facteur déclenchant de la crise fébrile est donc également un élément multifactoriel qui intègre la température, le type de cascade moléculaire inflammatoire enclenchée, et les conditions respiratoires qui vont également modifier le seuil épileptique.

iv. Sémiologie

Il existe schématiquement deux catégories de crises fébriles:

- Les **“crises fébriles simples”**, qui sont les plus fréquentes (2/3 des cas). Celles-ci sont brèves, durent moins de 10 ou 15 minutes selon les définitions, sont symétriques dans leur expression clinique, et surviennent chez un enfant de plus de 1 an.

- Les **“crises fébriles complexes”** (ou “compliquées” selon les auteurs). La crise va être définie comme **“crise fébrile complexe”** si au moins l’un des éléments suivants est présent:

- ✓ Âge de l’enfant inférieur à 1 an
- ✓ Durée de la crise supérieure à 10 ou 15 minutes
- ✓ Récidive de la crise au cours des 24 heures ou du même épisode fébrile
- ✓ Sémiologie partielle de la crise (crise héli-corporelle)
- ✓ Déficit postcritique (paralysie de Todd).

Les états de mal fébriles, pour lesquels la durée de la crise est supérieure à 30 minutes, entrent tacitement dans le cadre des crises fébriles complexes.

Les crises fébriles, hormis les crises fébriles complexes héli-corporelles, ont initialement été considérées comme des crises généralisées. Ce n’est que récemment que, même pour les crises fébriles simples, la sémiologie partielle du début de la crise a été soulignée. Les symptômes initiaux, lorsqu’ils sont recherchés de manière attentive auprès des parents, évoquent une origine limbique (mâchonnements, rupture du contact, automatismes...) (Neville and Gindner, 2010a; 2010b). La majorité des états de mal fébriles ont également débutés par une crise de sémiologie partielle (Shinnar et al., 2008a).

Les données biologiques ou électrophysiologiques sont rares et il existe peu de données EEG du fait du caractère non prévisible des crises fébriles. Nous avons eu l’opportunité de pouvoir enregistrer l’intégralité d’une crise fébrile complexe chez un garçon de 11 mois. Les caractéristiques sémiologiques de la crise sont celles d’une crise partielles, avec des clonies bilatérales mais asynchrones. L’électroencéphalogramme (EEG) met en évidence une nette asymétrie dans la décharge critique, avec une nette prédominance temporo-centrale droite (Figure 1). Il n’existe pas à notre connaissance d’autre enregistrement de crise fébrile publié.

Les crises fébriles, mais également toutes les autres étiologies de crises dans cette tranche d'âge, ont été associées à une augmentation du taux de Glial fibrillary acidic protein (GFAP) et sans augmentation de Neurone Spécifique Enolase (NSE, marqueur de souffrance neuronale) dans le liquide céphalo-rachidien. Les taux varient selon la durée de l'épisode critique, mais pas selon l'étiologie de la crise (fébrile, symptomatique ou idiopathique) (Gurnett et al., 2003). Le Neuropeptide Y, qui a des propriétés antiépileptiques (Vezzani et al., 1999), est abaissé dans le plasma d'enfants ayant présenté des crises fébriles complexes par rapport à des crises fébriles simples ou des épisodes fébriles sans crise. Néanmoins, il n'existe pas de données fiables qui permettent une mise en relation entre le taux de NPY plasmatique et celui du liquide céphalorachidien (Lin et al., 2010). Une baisse du taux de calcium ionisé ainsi qu'une acidose ont également été rapporté après crise fébrile complexe (Lin et al., 2010), ces résultats étant discordants avec l'alcalose respiratoire précédemment décrite (Schuchmann et al., 2011). Enfin, les cytokines sont nettement augmentées au décours de crises fébriles, en comparaison à des épisodes fébriles simples sans crise. L'IL-1 β est multipliée par 4, IL-6 par 1,8, l'IL-10 par 2,8, et l'HMGB1 (High Mobility Group Box 1) par 1,3 (Choi et al., 2011).

Figure 1: Enregistrement électroencéphalographique d'une crise fébrile chez un garçon de 11 mois. La crise survient de manière fortuite au cours d'un enregistrement de routine, à la demande du pédiatre traitant, dans le cadre du bilan étiologique de deux premières crises fébriles survenues quelques mois plus tôt. L'origine de la fièvre est une otite moyenne aiguë, non encore symptomatique en début d'enregistrement. Alors que l'enfant somnole, la crise débute par une ouverture des yeux, puis des clonies des quatre membres, asynchrones, se ralentissant progressivement.

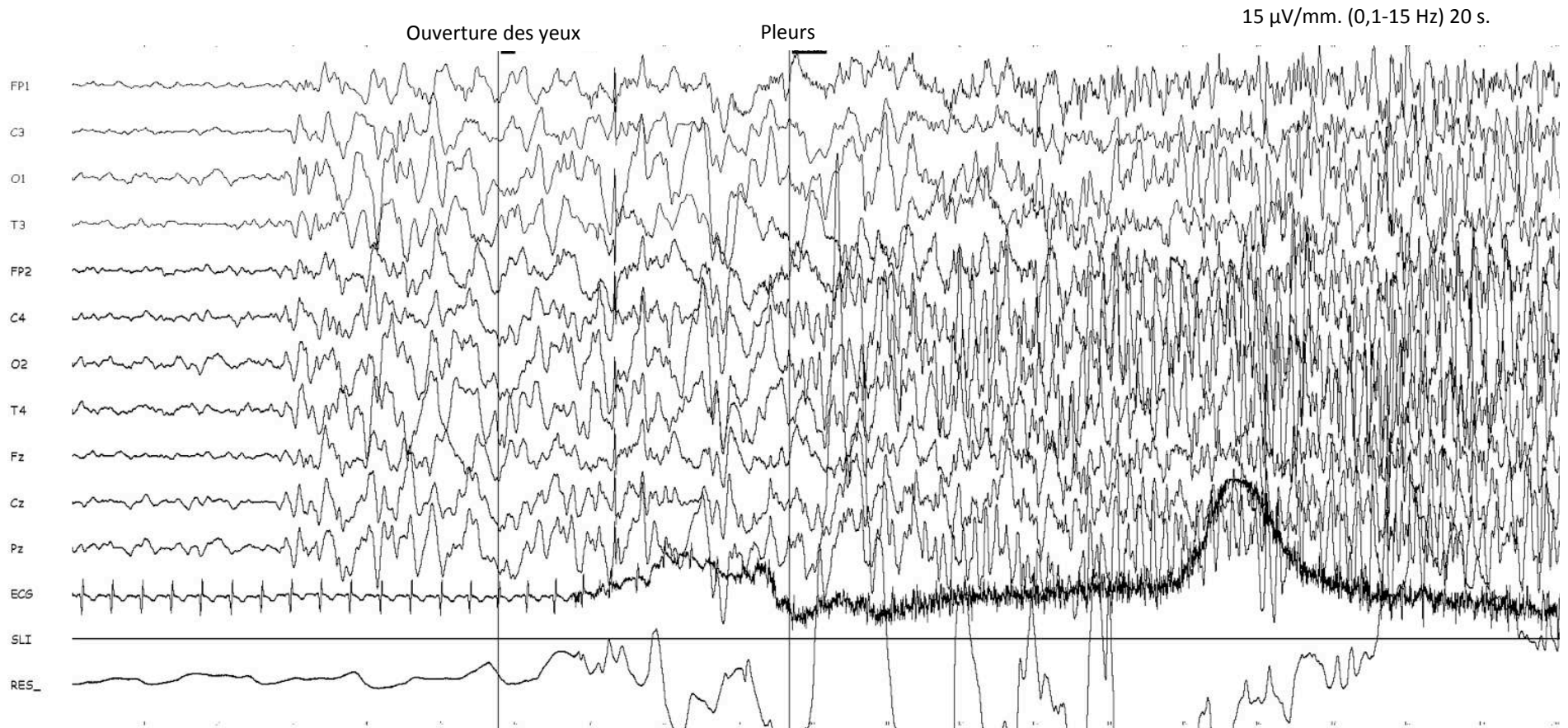
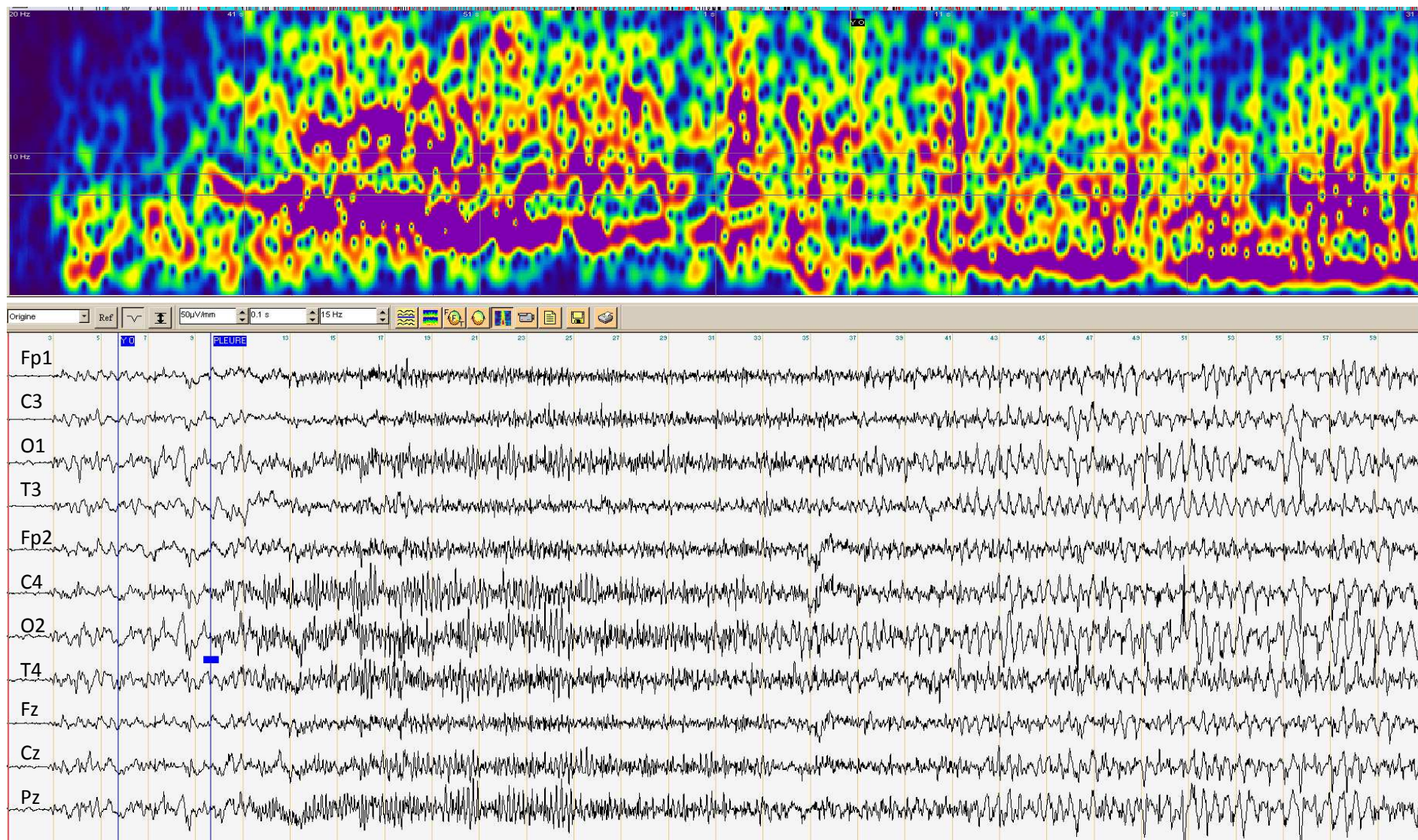


Figure 1 bis : Représentation temps-fréquence de la première minute de la crise fébrile. Transformation par ondelettes de Morlet pour une représentation temps-fréquence de la dérivation bipolaire C4-T4 montrant une activité rythmique majoritaire aux alentours des 10 Hz, décroissant progressivement au cours de la crise. La décharge critique présente un caractère asymétrique, nettement plus marqué sur les dérivation centro-temporales droites.





1077) CRISE FÉBRILE: UNE CRISE PARTIELLE OU GÉNÉRALISÉE ?

S.HAMELIN (1), L.VERCUEIL (1,2), C.SABOURDY (1,2), A.DEPAULIS (1)

(1) GRENOBLE INSTITUT DES NEUROSCIENCES, INSERM U 836-UJF-CEA-CHU (2) EFSN CHU GRENOBLE

Introduction : La terminologie initiale de « convulsion » fébrile suggérait un caractère généralisé des crises fébriles. La description du syndrome GEFS+ (« Generalized Epilepsy with Febrile Seizures plus ») a également œuvré dans ce sens. Toutefois, la description de crises ne comportant pas de manifestations « convulsives » a conduit à privilégier l'utilisation du terme de « crise fébrile ». Enfin, certaines crises fébriles sont clairement d'expression unilatérale et la relation entre les crises fébriles complexes et le syndrome d'épilepsie méso-temporale est admise.

Méthode : Analyse électro-clinique de crises fébriles enregistrées chez l'enfant et dans un modèle animal (souris) de crise fébrile. Revue des données de la littérature. Résultats : Au cours d'une crise fébrile enregistrée fortuitement chez un nourrisson de 10 mois, un début temporel droit de la décharge critique, secondairement généralisé, était mis en évidence. Dans le modèle de crise hyperthermique chez la souris, l'EEG intracrânien montrait des décharges hippocampiques isolées associées à un arrêt comportemental. Les phases ultérieures de clonies étaient associées à des décharges diffuses, incluant les dérivations corticales et d'allure généralisée. L'examen des données de la littérature, notamment concernant les résultats histologiques, pointe également vers une implication prédominante de l'hippocampe.

Conclusion : Chez l'enfant et le modèle expérimental, des arguments cliniques, EEG, et histologiques (chez la souris) sont en faveur d'une origine partielle des crises fébriles. Le caractère généralisé associé à la phase clonique ne survient que secondairement.

v. États de mal et crises fébriles complexes

Les états de mal fébriles ont fait l'objet d'une grande étude prospective multicentrique américaine dénommée « FEBSTAT » qui montre que la majorité des états de mal fébriles ont un point de départ focal. Pour 87 % des enfants, il s'agissait de la première crise fébrile, et le diagnostic d'état de mal n'était pas fait dans 1/3 des cas à l'admission aux urgences (Shinnar et al., 2008b). La bénignité des crises fébriles, tout du moins concernant les crises fébriles complexes, a été remise en cause par les études de suivi longitudinal par IRM. Sur une série prospective incluant 27 enfants après crise fébrile (VanLandingham et al., 1998), des anomalies ipsilatérales de signal (hyperT2) ont été rapportées pour 6 des 15 enfants ayant présenté une crise fébrile prolongée de sémiologie partielle. Les antécédents néonataux étaient significativement plus élevés dans ce groupe comparé à celui des enfants ayant présenté une symptomatologie généralisée. La présence d'un œdème hippocampique transitoire a également été rapporté dans le cadre des états de mal fébrile, alors qu'il n'est pas retrouvé dans le cadre d'état de mal non fébrile (Lennox, 1953). Chez 5 des 14 enfants ayant présenté un état de mal fébrile et un œdème hippocampique, une asymétrie de taille des hippocampes était notée à distance, mais sans hyper-signal en séquence T2 (Scott et al., 2003). Cette notion de lésion hippocampique dans les suites de crises fébriles reste certainement rare: la majorité des enfants présentent, après une crise fébrile, un aspect IRM normal de leurs hippocampes. L'un des exemples que l'on peut citer pour illustrer l'absence de lésion systématique des hippocampes après une crise fébrile concerne le syndrome de Dravet, pathologie liée à une mutation (délétion) du canal sodique (*SCN1A*), et qui présente la caractéristique d'associer des crises fébriles prolongées et répétées, le plus souvent unilatérales, à une régression psychomotrice. Une récente étude de suivi IRM et post-mortem à l'âge adulte ne montre pas de perte neuronale dans les différents champs de la corne d'Ammon, pas de dispersion des cellules granulaires et l'absence de lésion IRM (Catarino et al., 2011).

vi. Aspect pronostic

Après une crise fébrile simple ou complexe, ainsi qu'après un état de mal fébrile, le pronostic vital et fonctionnel à court terme est en général favorable (Shinnar et al., 2001). Il n'existe pas d'augmentation de la mortalité à long terme, sauf dans une frange très ciblée d'enfants qui ont présenté des crises fébriles complexes dans les deux premières années de vie. Ces résultats

sont sans doute le reflet de crises fébriles complexes qui surviennent chez des enfants ayant préalablement une souffrance neurologique (Vestergaard et al., 2008).

Avant les années 1980, le pronostic des crises fébriles avait été décrit comme péjoratif, avec 12 % des enfants présentant un QI inférieur à 75, et 13 % un QI compris entre 75 et 90 (Verity et al., 1985). Par la suite, les études prospectives de suivi d'enfants après crises fébriles ont permis de montrer le caractère bénin des crises fébriles, ainsi que l'absence de retentissement cognitif (Verity et al., 1985a; Kölfen et al., 2002; Lippé et al., 2009). Les seules différences notées dans la population allemande concernent les enfants avec plusieurs crises fébriles, qui ont des scores plus faibles dans les tests non verbaux (Kölfen et al., 2002). Une augmentation du risque de développer un trouble de l'attention a également été décrite (Pineda et al., 2007). Les études qui ont suivi les enfants après des crises fébriles prolongées ou des états de mal fébriles ne rapportent aucune séquelle cognitive (Nelson and Ellenberg, 1978; Knudsen, 1996; Verity, 1998; Hesdorffer et al., 2011). Certains auteurs ont même rapporté, à l'âge de 6 ans, une meilleure mémoire de travail chez les enfants ayant présenté des crises fébriles. Seuls ceux avec des crises fébriles avant l'âge de 1 an ou un antécédent neurologique avaient des scores moins bons en mémoire de travail pour les premiers et dans les tests explorant les fonctions exécutives pour les seconds (Chang et al., 2001).

Concernant le risque de développer une épilepsie après une première crise fébrile, celui-ci est relativement faible et concerne seulement 2 à 4 % des enfants (Nelson and Ellenberg, 1978; Verity and Golding, 1991; Baram and Shinnar, 2002b). Il reste toutefois en moyenne 4 fois plus élevé que pour la population générale sans crise fébrile. Dans les études rétrospectives, le taux d'enfants épileptiques présentant un antécédent de crise fébrile est de 13 à 18 % (Berg et al., 1999), avec de grandes variabilités selon les syndromes épileptiques, cet antécédent étant très largement surreprésenté dans la population des patients avec MTLE. Les thérapeutiques préventives (antiépileptiques, benzodiazépines et antipyrétiques) ne sont ni utiles pour prévenir la récurrence de crise fébrile, ni pour limiter le risque de développer une épilepsie ultérieure (Roger et al., 2005).

En conclusion, la crise fébrile est un évènement épileptique relativement fréquent de la petite enfance, favorisé par la conjonction de facteurs génétiques et lésionnels acquis, d'un âge de susceptibilité, et d'un évènement fébrile. Leur pronostic est excellent, aussi bien sur le devenir à court terme que sur l'évolution cognitive à long terme. Pourtant, les épileptologues qui prennent en charge les patients porteurs d'un syndrome d'épilepsie mésio-temporale, du fait de la particularité de l'histoire clinique de ces patients, remettent en cause le caractère parfaitement bénin des crises fébriles.

Tableau 2: Fréquence des antécédents de crises fébriles dans les différents syndromes épileptiques

Fréquence des antécédents de crises fébriles dans les différents syndromes épileptiques (Baulac et al., 2004)
<i>1-Epilepsies généralisées idiopathiques ou symptomatiques/cryptogéniques</i>
Childhood absence epilepsy: 20%
Juvenile myoclonic epilepsy: 5–10%
Myoclonic-astatic epilepsy: 11–28%
Lennox-Gastaut syndrome: 8%
<i>2- Epilepsies partielles idiopathiques ou symptomatiques/cryptogéniques</i>
Benign childhood rolandic epilepsy: 8%
Idiopathic occipital childhood epilepsy: 17%
Temporal-lobe epilepsy (TLE): 25%
Refractory mesial TLE: 50 to 80%
Other neocortical epilepsies: 6%

II. EPILEPSIES MESIO-TEMPORALES

***Epilepsy** is a disorder of the brain characterized by an enduring predisposition to generate epileptic seizures and by the neurobiologic, cognitive, psychological, and social consequences of this condition. The definition of epilepsy requires the occurrence of at least one epileptic seizure. ILAE (Fisher et al., 2005)*

L'épilepsie est l'une des affections neurologiques chroniques les plus fréquentes. Sa prévalence est estimée à 6,8 pour 1000 habitants et sa répartition est globalement stable sur les différents continents. Il n'y a pas "une" mais "des" épilepsies dont les causes sont extrêmement variées. Parmi les épilepsies qui persistent à l'âge adulte, dans le groupe des épilepsies focales non idiopathiques, le syndrome d'épilepsie méso-temporale ou *mesio-temporal lobe epilepsy* (MTLE) présente comme caractéristique une grande fréquence de crises fébriles complexes dans les antécédents. Le sujet de cette thèse est d'étudier l'existence d'une relation de causalité entre les crises fébriles et le syndrome d'épilepsie méso-temporale.

Tableau 3: Le syndrome d'épilepsie méso-temporale

Le syndrome d'épilepsie méso-temporale
- Antécédent de crise fébrile complexe, paralysie de Todd
- Début des crises dans la seconde enfance ou dans l'adolescence (notion de période silencieuse)
- Crises en rapport avec une désorganisation critique des structures temporales internes
- Généralisation secondaire rare
- Examen neurologique normal (possible asymétrie du pli nasogénien)
- EEG inter-critique: Pointes ou ondes lentes à front raide temporales antérieures ou moyennes unilatérales
- EEG critique: Interruption unilatérale de l'activité de base remplacée par une activité rapide de bas voltage bien localisée suivie de pointes rythmiques temporales antérieures et moyennes diffusant plus ou moins aux autres structures
- IRM: Atrophie et hyper signal en T2 d'un hippocampe
- Pharmaco-résistance
- Bilan neuropsychologique perturbé, en rapport avec l'hémisphère atteint
- Traitement chirurgical: Excellente réponse thérapeutique
- Neuropathologie: Sclérose hippocampique

i. Le syndrome d'épilepsie méso-temporale

On parle ici de "syndrome" puisque cette entité regroupe un certain nombre de patients qui partagent une même histoire clinique, les mêmes anomalies sur l'IRM, une sémiologie souvent proche des crises, un aspect EEG évocateur et une résistance aux différents traitements pharmacologiques (Tableau 2). Pour une revue et liens bibliographiques complets, voir le chapitre 33 "le syndrome d'épilepsie méso-temporal" F Cendes, P Kahane, M Brodie, F Andermann p 554 (Roger et al., 2005).

- Histoire clinique

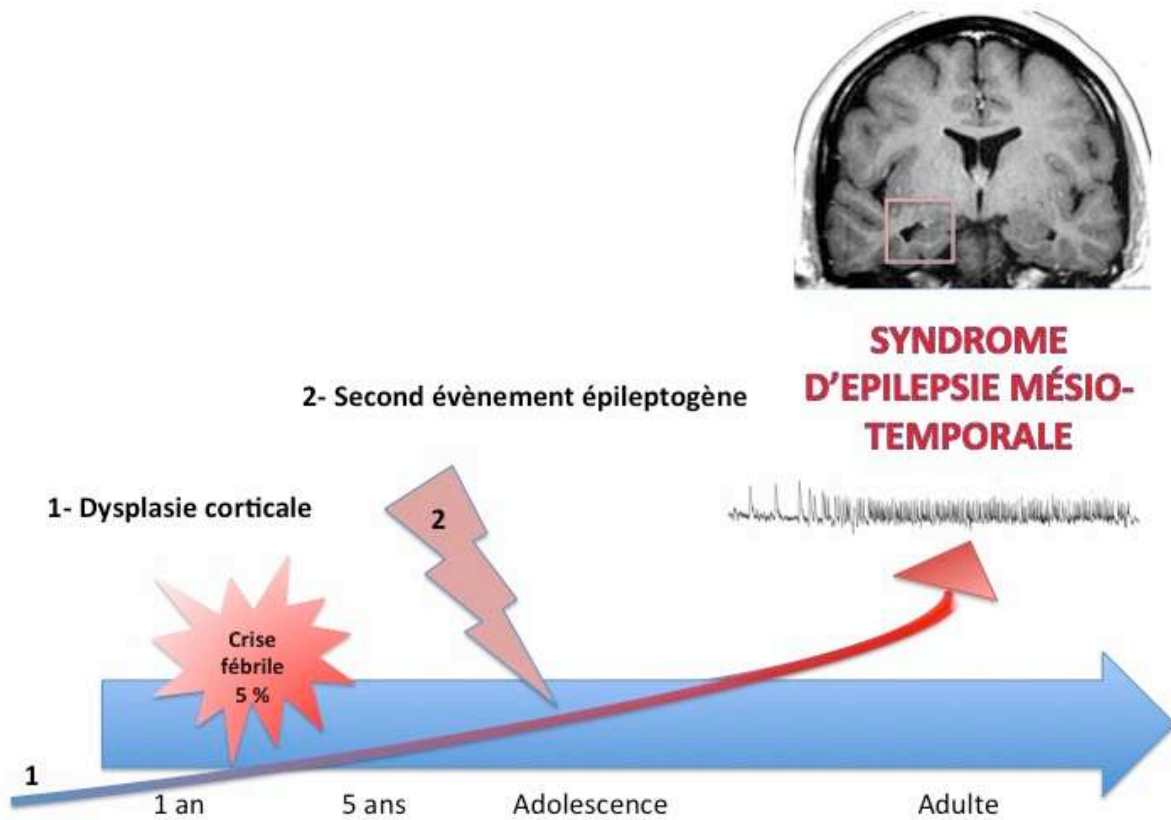
Dans le cadre clinique typique du syndrome d'épilepsie méso-temporale, on retrouve à l'interrogatoire une histoire de crise(s) fébrile(s) (Figure 2) qui répond à la définition des crises fébriles complexes (French et al., 1993). Le plus souvent, un ou plusieurs épisodes de crises fébriles, souvent prolongés, ou sous la forme d'états de mal, sont rapportés. Lorsqu'un déficit postcritique a été retenu, il correspond le plus souvent au côté controlatéral à la sclérose de l'hippocampe. L'EEG postcritique après la crise fébrile met généralement en évidence la présence d'un important foyer lent unilatéral, parfois associé à des grapho-éléments paroxystiques. L'évolution est ensuite favorable avec une bonne récupération, une scolarité le plus souvent sans difficulté, et une période silencieuse de plusieurs années (French et al., 1993). La durée de cette phase silencieuse semble être l'une des caractéristiques importantes des MTLE lorsqu'elles surviennent dans les suites de crises fébriles (French et al., 1993; Ohtsu et al., 2002; Saltik et al., 2003). À l'adolescence ou chez l'adulte jeune surviennent les premières crises temporales. Le plus souvent, le diagnostic est porté au décours de la première crise tonico-clonique secondairement généralisée. Il est intéressant de noter que l'examen clinique est alors normal, mais que l'on remarque de manière non anecdotique (46 % des patients) une asymétrie du pli nasogénien voire une paralysie faciale, controlatérale dans 72 % des cas à la sclérose de l'hippocampe (Lin et al., 2007). L'évolution après l'introduction des premiers traitements antiépileptiques est marquée par une fréquente pharmaco-résistance (Semah et al., 1998), avec la disparition assez facile des crises secondairement généralisées tonico-clonique mais la persistance malgré les traitements des crises partielles, invalidantes du fait des ruptures du contact et de leurs possibles conséquences. L'évaluation neuropsychologique fine des patients peut mettre en évidence des signes de

dysfonctionnement des structures temporo-mésiales avec des troubles de la mémoire visuo-spatiale pour l'hémisphère mineur, et des troubles de la mémoire verbale pour l'hémisphère dominant pour le langage.

Figure 2: Le syndrome d'épilepsie méso-temporale, une histoire clinique typique.

L'histoire clinique des patients explorés en pré-opératoire pour un syndrome d'épilepsie méso-temporale associé à une sclérose de l'hippocampe est généralement stéréotypée. Ils rapportent une première crise fébrile le plus souvent complexe, suivie de plusieurs années silencieuses. A l'adolescence, les crises temporales débutent, évoluant rapidement vers la pharmaco-résistance.

La théorie du double choc suggère que les crises fébriles ne sont pas suffisantes en elles-même, mais potentialise un second évènement, constitutionnel ou acquis.



- Les crises

La fréquence des crises est extrêmement variable d'un patient à l'autre, mais survient en moyenne plusieurs fois par mois. La généralisation secondaire des crises est rare (French et al., 1993), ainsi que la survenue d'états de mal. Les crises mésio-temporales sont plutôt d'expression diurne, mais il est possible que les crises nocturnes soient sous-évaluées. Comme pour la majorité des épilepsies, la fatigue et les stress sont des facteurs déclenchant, ainsi que les changements hormonaux chez la femme. Les épisodes critiques débutent généralement par une aura, consistant typiquement en une sensation épigastrique ascendante associée à des troubles émotionnels tels que l'anxiété ou la peur (French et al., 1993; Kanemoto et al., 1998). D'autres symptômes psychiques (sensation de déjà-vu, ou déjà-vécu) ainsi que végétatifs (chaleur, rubéfaction, pâleur, mydriase...) sont fréquents. Les auras peuvent survenir de manière isolée ou précéder une symptomatologie plus complexe. Les patients peuvent se souvenir avoir eu pendant des années des auras isolées, avant que le diagnostic d'épilepsie ne soit porté. A la suite de l'aura, un regard vague ou une fixité du regard et des automatismes oro-alimentaires (mâchonnement, purlèchement des lèvres...) peuvent survenir, associé à une altération progressive de la conscience. Les automatismes gestuels (émiettement, froissement) sont fréquents, le plus souvent ipsilatéral à la sclérose hippocampique. Une prise de posture dystonique d'un membre supérieur est parfois associée, présentant une très bonne valeur de latéralisation (controlatérale à la décharge) (Kotagal et al., 1989). Des automatismes verbaux sont possibles, survenant le plus souvent tardivement au cours de la crise. La reprise rapide, dès la fin de la rupture du contact, d'un langage intelligible ou la possibilité de parler au cours même de l'épisode est évocatrice d'une implication de l'hémisphère non dominant pour le langage. Au contraire, la survenue d'une aphasie postcritique évoque la désorganisation de zones fonctionnelles du langage (hémisphère dominant). Le frottement de nez per- ou postcritique est également un bon symptôme témoignant de l'implication des structures temporales-mésiales et de l'amygdale, le plus souvent ipsilatéral (Catenoux et al., 2004). Les patients sont généralement amnésiques de la période critique, même si une interaction est restée possible lors de la phase avec automatismes. La période de l'aura est quant à elle généralement mémorisée.

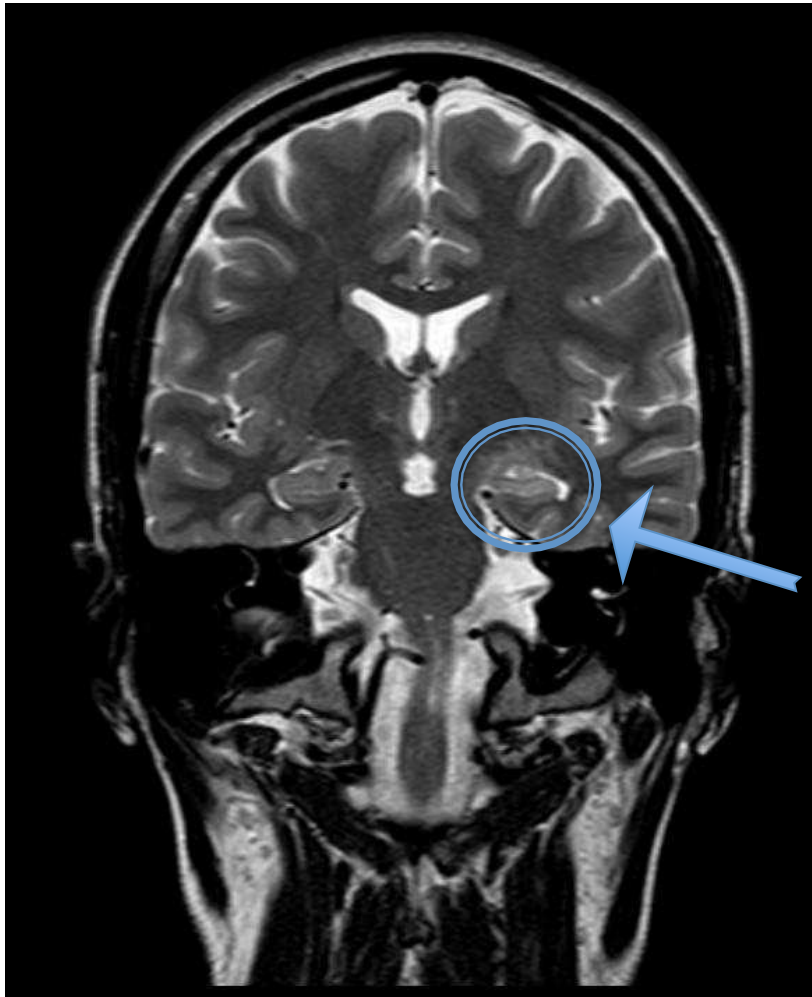
- Les données para-cliniques

Chez la majorité des patients, l'IRM met en évidence une asymétrie de volume de l'hippocampe avec une atrophie de l'hippocampe pathologique, associé à un hypersignal en T2 et sur les séquences Flair. L'utilisation d'autres techniques d'imagerie métaboliques telles le PET scan (Positron Emission Tomography) ou le SPECT (Single-photon Emission Computed Tomography) est parfois nécessaire, notamment lorsqu'il existe des discordances entre la clinique, l'électrophysiologie et l'imagerie IRM (Williamson et al., 1993) (Figure 3).

L'EEG inter-critique comporte typiquement des pointes unilatérales antérieures, mais il n'est pas rare d'observer des pointes controlatérales indépendantes (Williamson et al., 1993). Les enregistrements critiques typiques montrent généralement un pattern caractéristique représenté par une activité bien latéralisée rythmique à 5-9 Hz sur la région temporale antérieure et basale. L'observation attentive du tracé permet le plus souvent de mettre en évidence une activité rapide de bas voltage ou un aplatissement du tracé sous les électrodes temporales antérieures. Lorsque le début de la crise n'est pas évident, la présence d'un dépression post-critique focale est un bon signe latéralisateur (Williamson et al., 1993)

Chez certains patients pour lesquels les limites de la zone épileptogène sont difficiles à identifier sur les seuls examens électrophysiologiques de scalp, l'utilisation d'électrodes intra-cérébrales (stéréo-EEG ou SEEG) (Figure 4) peut être proposée. Elle permet de recueillir en parallèle l'activité des différentes structures possiblement impliquées dans le déroulement de la crise (hippocampe ipsi mais également controlatéral, amygdale, cortex enthorinal, insula, pôle temporal...), de définir avec précision leur séquence d'implication dans la crise, mais également de recueillir certaines signatures électrophysiologiques (rythmes rapides) signant la présence de dysplasies, le plus souvent de DCF de type 1. L'utilisation d'enregistrements intra-crâniens a permis l'observation et la caractérisation de plusieurs types de réseaux impliqués dans les crises méso-temporales avec sclérose de l'hippocampe (Kahane and Bartolomei, 2010).

Figure 3: IRM d'une sclérose hippocampique gauche



Coronale T2

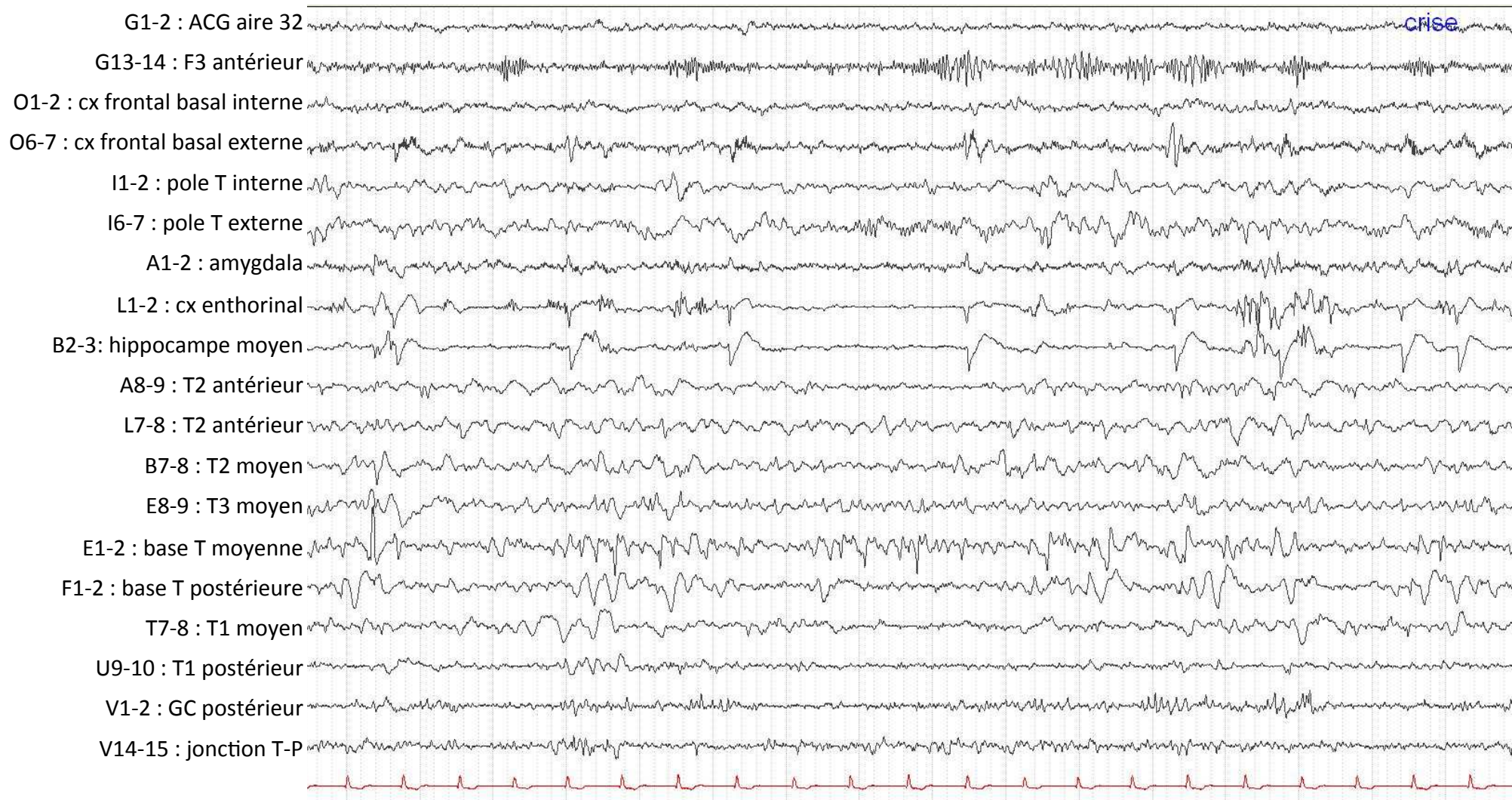


Hypersignal
atrophie

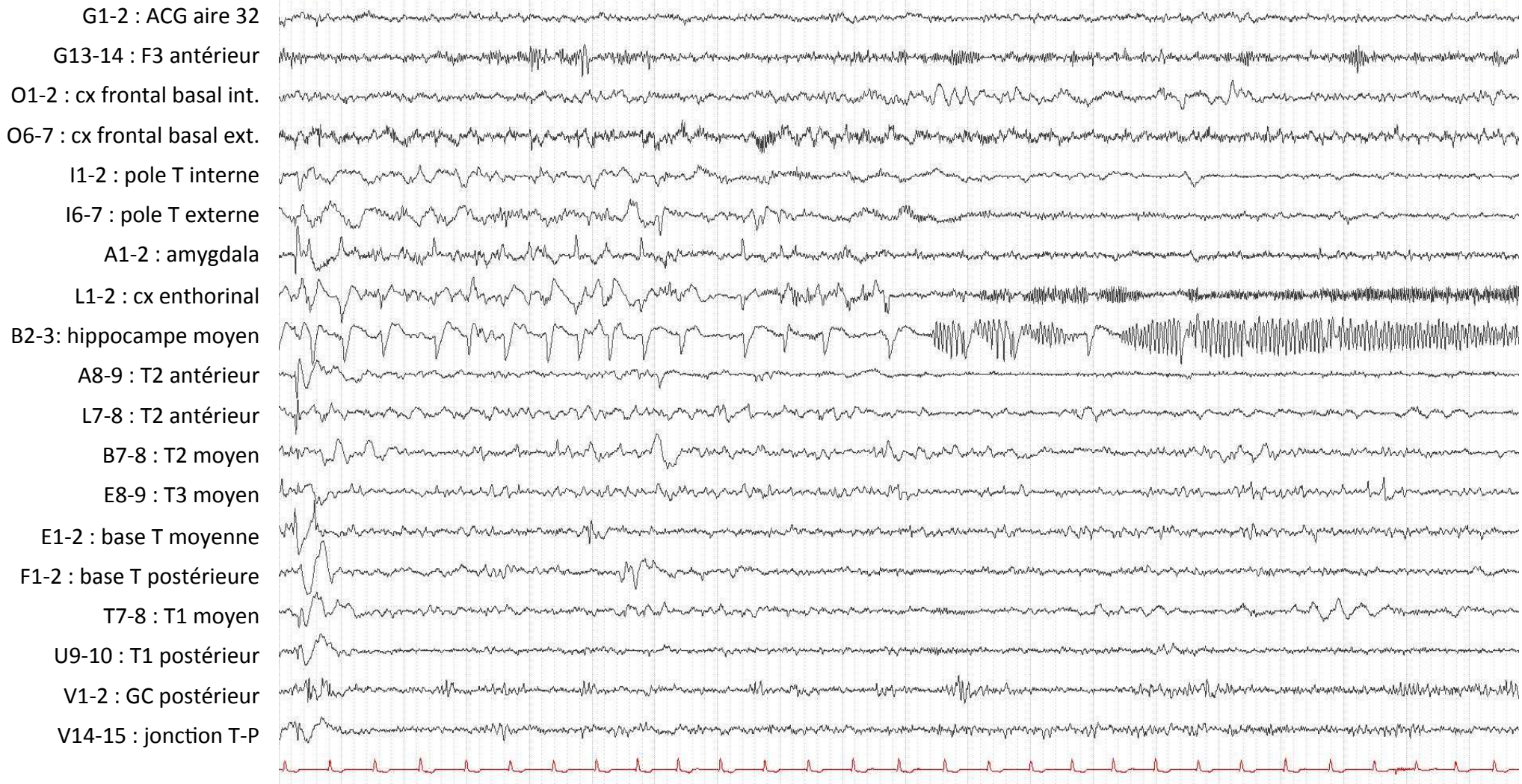
Axiale Flair

Figure 4: Aspect en stéréo-EEG d'une crise temporelle gauche

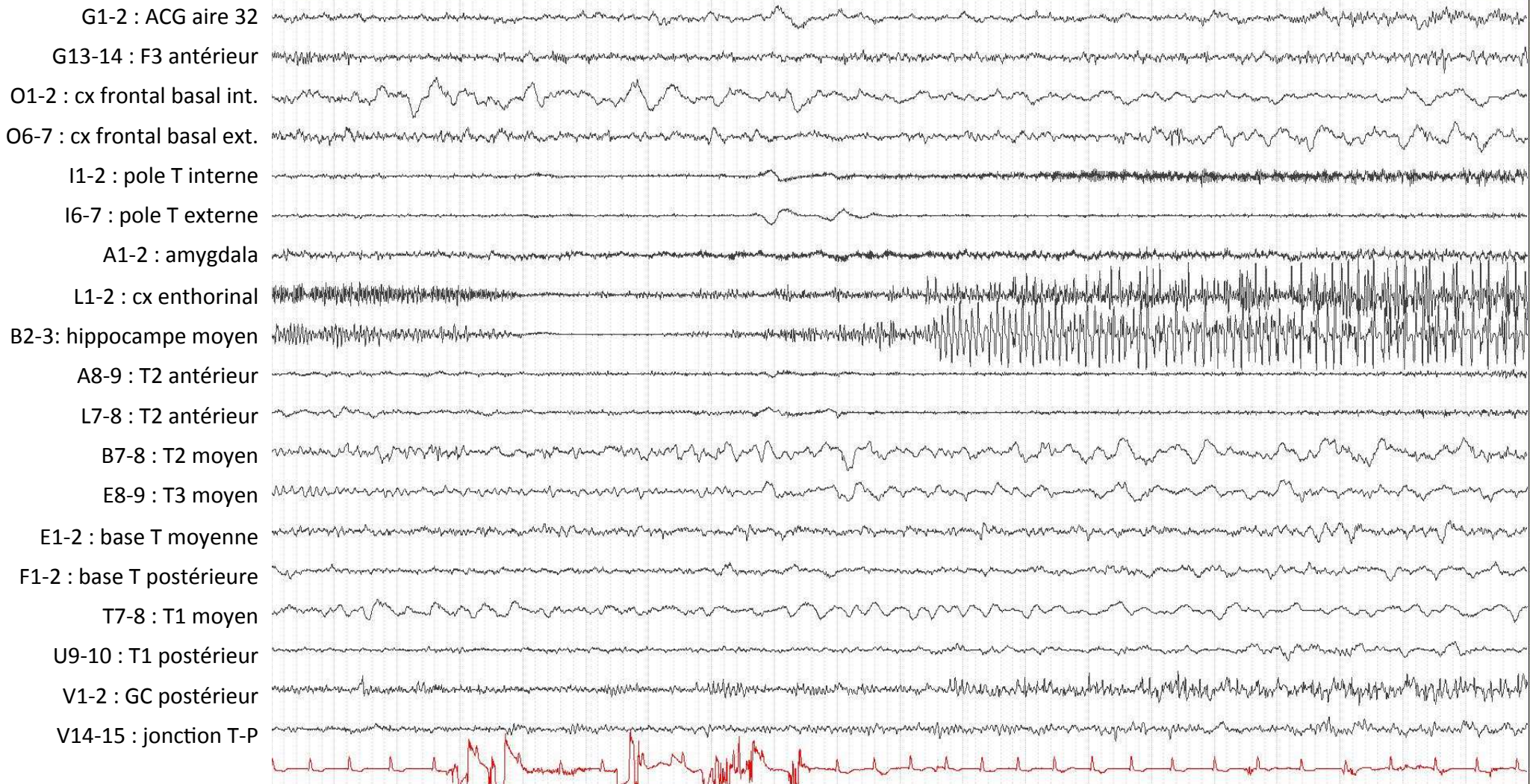
600 μ V/cm. (0,53-120 Hz) 20 s.



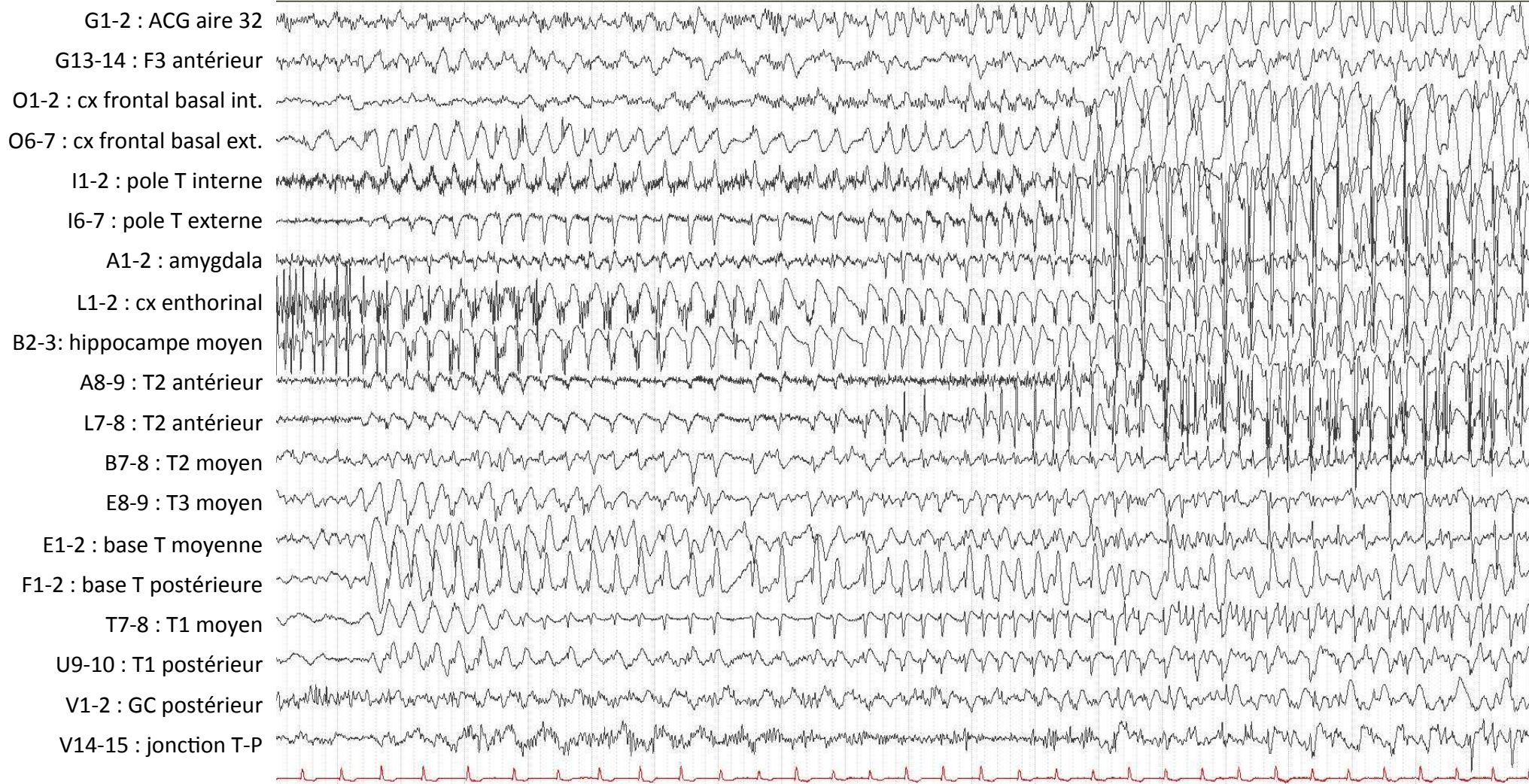
600 $\mu\text{V}/\text{cm}$. (0,53-120 Hz) 20 s.



600 μ V/cm. (0,53-120 Hz) 20 s.



600 μ V/cm. (0,53-120 Hz) 20 s.



- La sclérose hippocampique

Le syndrome d'épilepsie méso-temporale est également caractérisé par la nature des anomalies observées sur les pièces de résections chirurgicales. Ces anomalies sont décrites sous le terme de *sclérose de l'hippocampe* ou de *sclérose de la corne d'Ammon*. Le terme de sclérose résume généralement l'aspect macroscopique d'atrophie et d'induration des structures de la face interne du lobe temporal. Cette atrophie de l'hippocampe est directement liée à la présence d'un antécédent de crise fébrile ou d'évènement traumatique au sens large dans la petite enfance (avant 3 ou 4 ans). L'atrophie n'est pas liée ni au nombre de crises, ni à leur fréquence, ni à la durée d'évolution de l'épilepsie (Cendes et al., 1993; Barr et al., 1997).

La sclérose de l'hippocampe correspond à une perte neuronale au niveau du hile du gyrus denté (CA4 chez l'homme, end folium) et des cellules pyramidales des aires CA1 et CA3 de la Corne d'Ammon (Falconer et al., 1964; Babb et al., 1984; Wolf et al., 1993), la région CA2 étant le plus souvent préservée. Il existe également une perte au niveau des inter-neurones GABAergiques (somatostatine et NPY+) (de Lanerolle et al., 1989). Chez plus de la moitié des patients, cette sclérose de l'hippocampe s'accompagne d'une dispersion des cellules granulaires du gyrus denté (Houser, 1990). La dispersion correspond à une augmentation de volume des cellules granulaires (hypertrophie) ainsi qu'une augmentation de l'espace intracellulaire. Ces cellules prennent l'aspect de colonnes, souvent alignées les unes par rapport aux autres (Houser, 1990). L'organisation spatiale des fibres moussues est également pathologique (Freiman et al., 2011). Cette migration des cellules granulaires est la conséquence d'une modification du réseau glial, avec réactivation des astrocytes (marqués par la GFAP) qui reprennent l'aspect de glie radiaire présente au cours de la migration neuronale développementale (Crespel et al., 2002; Haas et al., 2002). Ces neurones granulaires correspondent à des cellules matures (Fahrner et al., 2007) qui reprennent une capacité de migration pathologique. Cette néo-migration des cellules granulaires est la conséquence d'un déficit en reelin (Haas et al., 2002) du fait de la destruction des interneurones (Blümcke et al., 1996), principales cellules sécrétantes à l'âge adulte, mais également du fait d'une accumulation de la forme non excrétable de la reelin au sein des cellules de Cajal-Retzius, dans la couche moléculaire (montré dans les modèles animaux (Heinrich et al., 2006; Dubeau et al., 2010)). Ces cellules de Cajal-Retzius persistent dans l'hippocampe sclérosé, prenant l'aspect de

cellules bipolaires très intensément marquées en reelin et calretinin (Blümcke et al., 1996; 1999). Cette dispersion des cellules granulaires est corrélée à la survenue d'un évènement déclencheur dans la petite enfance, le plus souvent une crise fébrile avant l'âge de 4 ans (Lurton et al., 1998), et ni la durée de l'épilepsie, ni la fréquence des crises n'ont d'influence sur cette dispersion. Il existe également, au sein de ces cellules granulaires, une innervation anormale, récurrente, des fibres moussues vers la couche interne de la zone moléculaire, créant ainsi des boucles récurrentes excitatrices (sprouting) (de Lanerolle et al., 1989). Ces fibres moussues récurrentes sont positives au NPY et à la dynorphine A, et prennent le marquage au zinc (Coloration de Timm). Elles ont également été décrites sur l'hippocampe controlatéral non sclérotique (Thom et al., 2009). La présence ou non d'une augmentation de la neurogenèse dans la sclérose de l'hippocampe reste débattue. Il est en effet difficile d'évaluer la présence de cellules nouvellement formées dans l'hippocampe, étant donné l'impossibilité d'injecter des traceurs tels le BrdU. La présence de marqueurs d'immaturité peut être le fait d'une réexpression chez des cellules matures. Il semble plus ou moins admis qu'il existe une part de neurogenèse accrue chez les jeunes patients (Siebzehnrubl and Blumcke, 2008), non présente ensuite (Fahrner et al., 2007). La sclérose hippocampique s'accompagne de modifications structurales et fonctionnelles de la vascularisation avec une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-méningée, et l'apparition de fins vaisseaux radiaires au sein du gyrus denté dispersé (Rigau et al., 2007). Cette augmentation de la vascularisation est corrélée à la fréquence des crises, est non à l'histoire clinique des patients ou à l'ampleur de la perte neuronale.

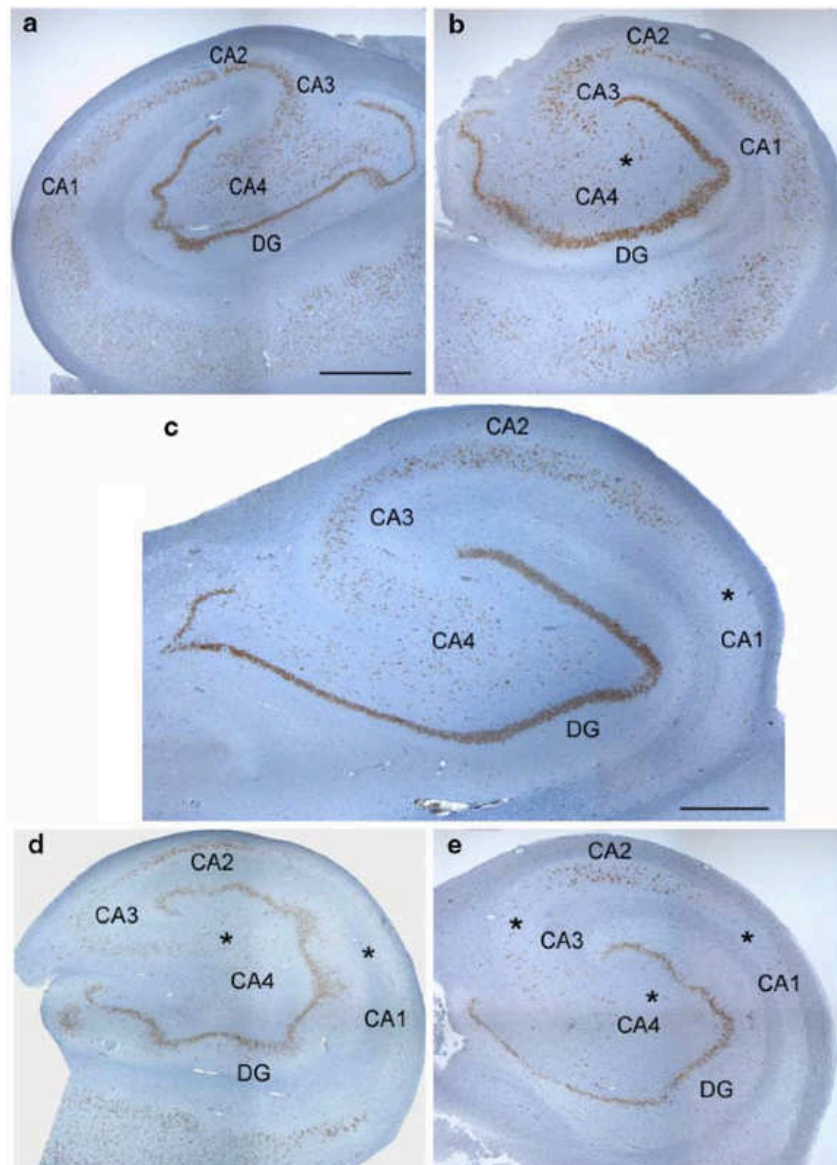
Tableau 4: Caractéristiques de la sclérose de l'hippocampe

La sclérose de l'hippocampe comprend	
1-	La perte cellulaire des champs CA1 et CA3 de la corne d'Ammon ainsi que du Hile.
2-	La dispersion des cellules granulaires du gyrus denté
3-	Le bourgeonnement des fibres moussues
4-	La réaction gliale

Figure 5: Classification des scléroses de l'hippocampe (Blümcke et al., 2007)

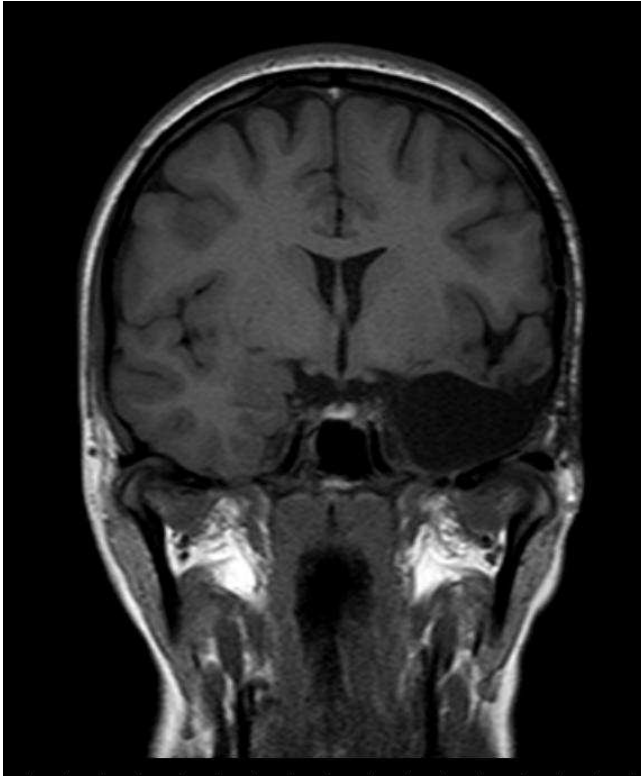
- a) Absence de sclérose de l'hippocampe
- b) Sclérose de l'hippocampe de type 3, avec une atteinte spécifique de l'endfolium (CA4)
- c) Sclérose de l'hippocampe de type 2, avec une atteinte spécifique du champ CA1
- d) Sclérose de l'hippocampe de type 1a, représentant la sclérose typique avec une atteinte du CA3, du CA1 et de l'endfolium et une dispersion des cellules granulaires
- e) Sclérose de l'hippocampe de type 1b, correspondant à une sclérose de l'hippocampe sévère

Echelle: 1 mm., Astérisque correspondant aux régions avec une perte cellulaire



- Le traitement chirurgical des MTLE

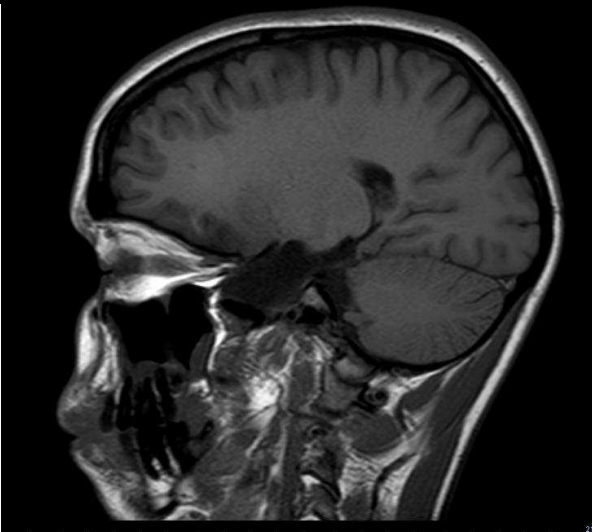
Le traitement chirurgical des épilepsies, option thérapeutique longtemps sous-estimée, a connu ces 20 dernières années un important développement en Europe et en Amérique du Nord (Figure 6). Les avantages de la chirurgie sont évidents aussi bien d'un point de vue individuel que médico-économique. En effet, les patients qui pourraient être concernés par la chirurgie représentent 20 % des épileptiques et 75 % des coûts de l'épilepsie (King et al., 1997). Les meilleurs résultats de la chirurgie sont obtenus dans l'épilepsie du lobe temporal avec en moyenne 70 à 80 % des patients qui sont libres de crise après l'intervention (Classe 1 de la classification de Engel (Engel, 1993)) (Kanemoto et al., 1998; McIntosh et al., 2001; Janszky et al., 2003; Chabardès et al., 2005). Les complications grave sont rares (environ 3 % des cas). Le plus souvent il s'agit de complications transitoires et peu invalidantes. Malgré ces très bons résultats, sur le long terme, le pourcentage de patients libres de crises diminue, et peu de patients sont totalement libres de crises sans traitement. Néanmoins, après récurrence, la majorité des patients sont bien contrôlé par la reprise du traitement, la chirurgie ayant rendu l'épilepsie pharmaco-sensible (Rathore et al., 2011; Pimentel et al., 2012).



Coronale T1

Figure 6: IRM post-chirurgie d'une amygdalo-hippocampectomie gauche

Sagittale T1



Axiale T2

ii. Relations entre crises fébriles et épilepsies méso-temporales

Plusieurs études rétrospectives, principalement celles reprenant des séries de patients opérés, ont montré une relation significative entre la survenue d'une épilepsie méso-temporale et la présence, dans les antécédents, d'une crise fébrile. Contrairement aux patients qui souffrent d'une épilepsie généralisée idiopathique et qui peuvent avoir présenté des crises fébriles dans leur enfance, les patients avec une épilepsie partielle ont plutôt présenté des crises fébriles complexes, unilatérales et prolongées (Hamati-Haddad and Abou-Khalil, 1998; Kanemoto et al., 1998; Ohtsu et al., 2002; Saltik et al., 2003). Cette relation, évaluée entre 40 et 80 % (French et al., 1993) des patients explorés en pré-opératoire pour un syndrome MTLE, n'a jamais pu être démontrée par les études prospectives de suivi après crise fébrile complexe (Pour revue : (Baram and Shinnar, 2002c; 2002b). Ainsi, l'association entre crises fébriles et épilepsie méso-temporale est une association rare à l'échelle des études prospectives de suivi des populations (Campfield 1994). Hormis les anomalies de signal IRM dans les suites d'états de mal fébrile précédemment citées (VanLandingham et al., 1998), les anomalies IRM post-crisis fébriles sont rares : une seule IRM pathologique montrait un œdème hippocampique initial puis une atrophie hippocampique à distance, sur une série prospective de 59 crises fébriles prolongées. Ces anomalies, avec un recul de 6 ans, ne sont pas associées à une épilepsie (Tanabe et al., 2011).

L'une des hypothèses proposées est que la crise fébrile serait responsable de la sclérose hippocampique (Abou-Khalil et al., 1993; Hamati-Haddad and Abou-Khalil, 1998; VanLandingham et al., 1998). Une autre hypothèse est que la crise fébrile présenterait des caractéristiques de crise complexe du fait de lésions hippocampiques préexistantes (lésion anténatales ou périnatales, causes génétiques) (Cendes et al., 1995; Fernández et al., 1998). Ceci est en accord avec l'association souvent retrouvée entre crise fébrile, MTLE et anomalies développementales telles que les dysplasies corticales focales ou les hétérotopies (Raymond et al., 1994; Cendes et al., 1995; Sloviter and Pedley, 1998). Allant également dans ce sens, une étude IRM d'individus asymptomatiques issues de familles avec crises fébriles a montré la présence d'anomalies discrètes des régions hippocampiques, suggérant la préexistence de lésions hippocampiques aux crises fébriles (Fernandez et al., 1998).

Les données issues des travaux sur les pièces de résection temporales de patients épileptiques opérés montrent que la nature des anomalies hippocampiques est très liée à la présence ou non de crises fébriles dans leurs antécédents. Les scléroses hippocampiques classiques ou sévères, telles que celles décrites par Blümcke (Blümcke et al., 2007) sont associées à la survenue avant trois ans d'un évènement précipitant, le plus souvent, une crise fébrile complexe. Les autres formes, telle l'atteinte plus spécifique du CA1, end folium ou l'absence de sclérose hippocampique n'est pas associée à la présence de ce type d'antécédent. L'association entre la perte neuronale dans le CA1, le CA3 et la dispersion des cellules granulaires du gyrus denté est retrouvée quasi exclusivement chez les patients avec un antécédent de crise fébrile.

iii. Le concept de "Dual pathology"

Les anomalies de développement du lobe temporal, ainsi que les dysplasies corticales focales, ou les micro-dysgénésies, combinées à une sclérose hippocampique typique, ont été plus facilement diagnostiquées ces dernières années, notamment du fait des progrès de l'IRM. Cette association a été décrite sous le terme de « dual pathology » ou « pathologie double » (Raymond et al., 1994; Cendes et al., 1995; Kuzniecky et al., 1999; Bocti et al., 2003) et rapportée avec une fréquence très variable, allant de 10 à 87 % des adultes et 67 % des enfants dans le cadre du bilan pré-chirurgical. L'association entre une anomalie de l'organisation corticale et une sclérose de l'hippocampe entre dans la nouvelle proposition de la classification des dysplasies corticales focales sous le terme de dysplasie corticale focale de type 3a (Blümcke and Spreafico, 2011; Blümcke et al., 2011). Lors d'une étude rétrospective des différentes dysplasies corticales focales opérées, une sclérose hippocampique est associée dans 61 % des cas (Tassi et al., 2002). La sclérose et la lésion sont du même côté (certaines pouvant être bilatérales) dans 98 % des cas (Hofman et al., 2011) et impliquent alors le lobe temporal (61 % des cas). Le lobe pariétal, moins connecté aux structures limbiques, est moins souvent impliqué. La nature des anomalies observées chez les patients porteurs de pathologie double est très variée. Des anomalies de développement intra-hippocampiques qui affectent la partie CA1 de la corne d'Ammon semblent modifier les caractéristiques de la sclérose hippocampique (dispersion focalisée...) sans que des modifications cliniques ni anamnestiques des données des patients soient relevées (Sloviter et al., 2004). Parmi les patients diagnostiqués avec une pathologie double, 54 % sont considérés comme porteurs d'une

pathologie acquise (AVC, traumatisme crânien, lésion post-opératoire, néoplasie...) et 36 % comme porteurs de lésions développementales (MCD, cavernomes, Sturge-Weber ...) (Hofman et al., 2011).

Les pourcentages de patients ayant présenté des crises fébriles parmi ceux opérés pour une pathologie double sont très variables (27 % à 92 %) (Fauser et al., 2006; Kim et al., 2010). La sévérité de la sclérose hippocampique est également liée à la présence de crises fébriles. Dans le cadre des pathologies doubles, 41 % des crises prenaient leur origine dans l'hippocampe et 35 % dans le néocortex temporal. Chez les patients avec une sclérose hippocampique sévère, seule 12 % des crises connaissent une origine néocorticale (Fauser and Schulze-Bonhage, 2006).

Le syndrome de MTLE, dans lequel on trouve un antécédent de crise fébrile complexe, semble bien une entité à part au sein des épilepsies temporales. L'importance de l'atrophie hippocampique (Houser, 1990; Lurton et al., 1998), de la dispersion des cellules granulaires (Houser, 1990; Lurton et al., 1998), de la phase de période silencieuse (French et al., 1993; Ohtsu et al., 2002; Saltik et al., 2003) sont tous très fortement liés à l'antécédent de crise fébrile. La relative fréquence des pathologies doubles, mais également le fait qu'une infime proportion des enfants après crise fébrile complexe va développer une MTLE, suggèrent la nécessité d'un double « choc » (« two hit theory ») (Lewis, 2005). La crise fébrile ne pourrait ainsi induire le développement d'une MTLE uniquement lorsqu'elle est associée à un second événement traumatique au potentiel épileptogène. La difficulté et la lourdeur des études prospectives chez l'homme nous amène à examiner ces hypothèses par la modélisation animale. Il existe en effet à l'heure actuelle des modèles animaux (1) de crises fébriles, (2) d'épilepsies temporales et (3) de pathologies dysplasiques qui ont fait leur preuve et qui permettent de modéliser les différentes possibilités de cette théorie du double choc.

B. LA MODELISATION ANIMALE

I. LES CRISES HYPERTHERMIQUES

Afin d'étudier l'histoire naturelle des crises fébriles, le recours à la modélisation animale est indispensable du fait du caractère imprévisible de la survenue d'une crise fébrile, du manque de données électrophysiologiques, et des limites éthiques à les provoquer. De plus, l'étude des conséquences des crises fébriles nécessite des études prospectives prolongées sur plusieurs dizaines d'années, incluant des cohortes très importantes d'enfants.

Plusieurs questions sont ainsi posées aux différents modèles de crise hyperthermiques:

1. Par quel mécanisme la fièvre est-elle responsable de crises?
2. Quels sont les mécanismes permettant d'expliquer la susceptibilité spécifique liée à l'âge?
3. Quelles relations et quels mécanismes permettent d'expliquer le lien entre crise fébrile et épilepsie méso-temporale avec sclérose de l'hippocampe
4. La crise fébrile a-t-elle les mêmes conséquences sur un cerveau sain ou préalablement lésé, un double mécanisme traumatique est-il nécessaire?
5. Quel est le rôle des prédispositions génétiques?

i. Méthodes de modélisation

- Modes d'induction de l'hyperthermie:

Les premières crises hyperthermiques ont été induites chez le rat à P5 en utilisant des lampes infra-rouges (Holtzman et al., 1981), la méthodologie étant létale après P10. Depuis, différentes méthodes d'induction de crises fébriles ont été proposées: la plaque chauffante (Sarkisian et al., 1999), les bains d'eau chaude (Germano et al., 1996), les rayonnement infra-rouge (Morimoto et al., 1996) ou de micro-ondes (Morimoto et al., 1991), ou enfin l'hyperthermie par flux d'air chaud pulsé (Baram et al., 1997; Scantlebury et al., 2004). Une méthode alliant une injection intra-péritonéale à faible dose de kaïnate, associée à une injection deux heures au préalable de lipopolysaccharide, substance pro-pyrétique et pro-inflammatoire a également été publiée (Heida et al., 2005; Auvin et al., 2007; Reid et al., 2011). Des modèles sur tranche d'hippocampe ont été proposés chez des animaux adultes (P20 à

P40) (Morimoto et al., 1995), puis sur des hippocampes immatures (P14) (Germano et al., 1996; Wu et al., 2001; Qu and Leung, 2008; Hill et al., 2011). De même, un modèle d'hyperthermie appliqué à une culture de neurones corticaux a également été décrite (Wang et al., 2011).

Cependant, la méthodologie où les crises sont induites par une exposition de 30 minutes à l'hyperthermie, proposée par l'équipe de Tally Baram est actuellement la plus communément utilisée (Baram et al., 1997). En utilisant cette méthodologie, il existe une excellente corrélation entre la température mesurée par une sonde intra-rectale et la température intra-cérébrale, chez le rat immature à P10 (Dubé et al., 2005a).

- Espèce animale

Le rat est l'espèce animale la plus communément utilisée dans la modélisation des crises fébriles (Baram et al., 1997). L'utilisation des souris est plus rare, son intérêt résidant généralement dans l'opportunité d'utiliser des modèles transgéniques (Dubé et al., 2005b; van Gassen et al., 2008; Hessel et al., 2009; Hill et al., 2011). Parmi les différentes souches de souris, la souche C57BL/6 paraît particulièrement sensible aux crises hyperthermiques, avec un seuil plus bas que les autres souches ($39,7\pm 0,2^{\circ}\text{C}$) (Dubé et al., 2005b; van Gassen et al., 2008; Hessel et al., 2009).

- Age d'induction et maturation cérébrale

Afin de respecter au mieux les caractéristiques liées à l'âge de survenue des crises fébriles, le modèle doit s'approcher au plus près de cette fenêtre maturationnelle. Malgré les limites connues et admises pour proposer un parallèle entre l'âge développemental d'un enfant et celui d'un rongeur, il a été admis que P5-P7 correspondait à l'âge développemental d'une naissance à terme chez l'homme (Dobbing and Sands, 1973; Gottlieb et al., 1977). Il est ainsi communément admis que l'âge de susceptibilité aux crises fébriles, en parallèle avec l'observation chez l'homme, doit se situer entre P10 et P17 chez les rongeurs. L'expérience des crises induites par hyperthermie montre en effet que la fenêtre de susceptibilité se situe chez ces animaux entre P9 et P12 (Baram et al., 1997; van Gassen et al., 2008). On sait également, en dehors du champ spécifique des crises fébriles, que le cerveau immature a un seuil épileptique plus bas que le cerveau mature, mais qu'il est plus résistant aux conséquences

lésionnelles des états de mal (Moshe and Albala, 1983; Baram et al., 1993; Scantlebury et al., 2007).

Chez le rongeur, la période autour de P10 est riche de changements. La fin de la première semaine de vie correspond au pic d'expression des récepteurs NMDA (Ben-Ari and Holmes, 2006). Il existe également pendant cette période une sur-expression relative de la sous-unité NR2B par rapport à la NR2A (Zhong et al., 1995). Le rôle du GABA évolue également au cours de cette période, passant d'un GABA dépolarisant à un GABA hyperpolarisant (Ben-Ari et al., 1997) à P14 chez le rat (Khazipov et al., 2004). Cette fenêtre temporelle correspond à l'activation de la pompe KCC2 (potassium-chloride cotransporter) et à la baisse des concentrations intracellulaires qui survient à la fin du troisième trimestre de gestation chez le primate (Khazipov et al., 2001), et probablement à la fin de la seconde année chez l'homme (Jansen et al., 2010).

- Susceptibilité génétique

Une différence de susceptibilité génétique aux crises hyperthermiques a également été montrée chez la souris en fonction du fond génétique (Dubé et al., 2005b; van Gassen et al., 2008; Hessel et al., 2009). De plus, certaines mutations entraînent une augmentation de la sensibilité aux crises hyperthermiques alors que d'autres se traduisent par une résistance (mutation Il 6 (Dubé et al., 2005b); mutation Nav 1.1 (Mashimo et al., 2010), mutation non sens de la sous-unité gamma 2 du récepteur GABA_A (Hill et al., 2011)).

- Crise unique, répétée ou prolongée?

Les données d'IRM chez l'homme, ainsi que les études chez les patients opérés d'une MTLE montrent que le risque de développer une épilepsie est plus important lors de crises prolongées (Maher and McLachlan, 1995; Hamati-Haddad and Abou-Khalil, 1998; Saltik et al., 2003). La modélisation des crises hyperthermiques s'est ainsi portée vers différents paradigmes, en proposant des modèles de crises hyperthermiques répétitives ou de crises hyperthermiques prolongées (20 min) (Baram et al., 1997). Certains auteurs ont étudié les conséquences de crises plus longues (Gibbs et al., 2008; Lippé et al., 2009; Reid et al., 2011) ou répétées (Ateş et al., 2005; Chang et al., 2005; Ullal et al., 2006; Yang et al., 2009), avec de manière schématique des conséquences lésionnelles souvent plus marquées.

- Hyperthermie seule ou associée à un processus inflammatoire?

Le rôle des processus inflammatoires dans la genèse des crises fébriles est évident. Chez l'enfant, la fièvre s'accompagne d'une cascade d'activation des différentes molécules de l'inflammation, différentes selon la nature de l'agent pathogène. Deux modèles de crises hyperthermiques basés sur le processus inflammatoire ont été proposés. Pour le premier, un fragment bactérien d'*Escherichia Coli* est injecté 2 heures avant une dose infra-convulsivante de Kainate (Heida et al., 2004; 2005). Après induction du processus inflammatoire, 50 % des animaux développent des crises, contre 16 % seulement dans le groupe contrôle. Pour le second modèle, l'adjonction en intra-péritonéal de petites doses de E-Coli 2 heures avant les crises hyperthermiques augmente la sensibilité au PTZ (Auvin et al., 2007). Une seconde façon d'aborder le rôle de l'inflammation dans les crises hyperthermique est d'utiliser des souris KO pour l'un des gènes impliqué dans le processus inflammatoire. Ainsi, l'absence du récepteur à l'IL-1 β s'accompagne d'une diminution de la sensibilité aux crises hyperthermiques (Dubé et al., 2005b). La modélisation des crises fébriles par les crises hyperthermiques, sans l'injection d'un agent pro-inflammatoire, a également une activation inflammatoire. Il a en effet été montré dans les modèles d'hyperthermie seule, que la cascade d'activation inflammatoire qui implique les interleukines est activée (Haveman et al., 1996).

ii. Conséquences des crises hyperthermiques

- De l'hyperthermie à la crise

La notion d'hyperthermie en elle-même, chez les homéothermes que nous sommes, entraîne à l'échelle neuronale de nombreuses modifications fonctionnelles (fonctionnement des canaux, potentiel de repos, seuil de potentiel d'action, libération et recapture des neurotransmetteurs...). Parmi ces mécanismes potentiels, il est difficile de faire la part relative de chacun sur le chemin qui mène de l'hyperthermie à la crise. Les premiers travaux sur ce sujet montraient une augmentation des taux de glutamate extracellulaires corticaux juste avant la crise (Morimoto et al., 1993). La modélisation des crises hyperthermiques sur tranche d'hippocampe immature induit électriquement une succession de poly-spikes de fréquence gamma (moyenne 45 Hz) suivie d'une lente de dépression envahissante ("spreading depression"). Ces paroxysmes sont bloqués par l'application de bicuculine, un antagoniste des

récepteurs GABA_A, alors qu'un antagoniste glutamatergique reste sans effet (Wu et al., 2001; Neville and Gindner, 2010a). L'effet inhibiteur de l'hyperthermie sur la transmission GABAergique a également été montré, aussi bien au niveau pré-synaptique que post-synaptique dans les neurones pyramidaux de CA1 (Qu and Leung, 2008; Hill et al., 2011). Les sous-unités GABA_B semblent plus particulièrement altérées au cours de l'hyperthermie et le baclofène, un agoniste spécifique de ces récepteurs, bloque les décharges de pointes observées sur des culture de neurones corticaux soumis à l'hyperthermie (Wang et al., 2011). D'autres mécanismes tels que l'équilibre excitation/inhibition ont également été proposés. Parmi eux, les taux relatifs d'O₂/CO₂, notamment l'hypocapnie, favorisée par l'hyperthermie, abaissent le seuil épileptogène (Morimoto et al., 1996).

- Modifications fonctionnelles a long terme

Augmentation de la sensibilité aux convulsivants

Chez le rat immature, une crise hyperthermique seule entraîne à l'âge adulte, une augmentation de la sensibilité aux substances pro-convulsivantes telles que le kaïnate (Bender et al., 2003). Les données concernant la sensibilité induite au PTZ (Pentylènetétrazol) sont plus controversées: une augmentation de la sensibilité au PTZ ainsi qu'un allongement de la durée des crises induites a été rapportée (Ateş et al., 2005) ou au contraire, une diminution de cette sensibilité (Gonzalez-Ramirez et al., 2009). Une facilitation de la post-décharge après stimulation de l'hippocampe a également été montrée (Gonzalez-Ramirez et al., 2009). Enfin, une facilitation à induire une post-décharge après stimulation des collatérales de Shaffer a été observée sur tranches d'hippocampes prélevées 10 jours après crise hyperthermique (Dube et al., 2000).

La potentiation à long terme (ou LTP) ou la dépression à long terme (LTD) sont des processus de renforcement/inhibition de la conduction synaptique après stimulations répétées. Ces processus sont indispensables à la mémorisation à long terme. Plusieurs équipes ont montré qu'une crise hyperthermique unique facilite la LTP et altère la LTD, avec un déplacement de la courbe de réponse en faveur de la LTP (Chang et al., 2005; Yang et al., 2009; 2009; Notenboom et al., 2010; Ouardouz et al., 2010). Il n'existe pas de différence pour la potentiation post-tétanique (Notenboom et al., 2010) mais une diminution de l'amplitude et de la possibilité d'évoquer les spikes tardifs (Kamal et al., 2006). In vivo, les tests de mémorisation spatiale

(piscine de Morris), montrent des résultats discordants selon les études. Une altération modérée des capacités mnésiques, corrélée aux hyper-signaux hippocampiques sur les séquences IRM, a été montrée (Dubé et al., 2009) ainsi qu'une altération dans la capacité de codage spatial des neurones de place du champ CA1. Il semble cependant que cette altération soit observée surtout chez des rats soumis à des crises hyperthermiques répétées, et non chez ceux soumis à une seule crise (Yang et al., 2009). De même, dans un modèle de « *dual pathology* », les animaux avec une cryo-lésion corticale et une crise hyperthermique présentaient certaines altérations dans le test de la piscine de Morris, alors qu'il n'y avait pas de différence entre les animaux contrôles et ceux uniquement soumis à une crise hyperthermique isolée (Scantlebury et al., 2005).

- Modifications morphologiques

Les modifications à l'échelle cellulaire

Une crise hyperthermique unique chez un rat à P10 entraîne des modifications argyrophiles de certaines cellules des champs CA1 et CA3, plus rarement des cellules granulaires, ainsi que dans le noyau latéro-basal de l'amygdale et cortex peri-rhinal. Ces modifications ne s'accompagnent pas, à moyen terme (4 à 6 semaines) de mort neuronale (Toth et al., 1998; Bender et al., 2003; Gibbs et al., 2008; Auvin et al., 2009; Dubé et al., 2009b). Même lors d'une analyse spécifique des animaux devenus épileptiques (Dubé et al., 2006), il n'existe pas, 6 mois après les crises hyperthermiques, de perte neuronale dans les principaux champs de la corne d'Ammon ni au niveau du hile. Une discrète augmentation du bourgeonnement des fibres moussues (sprouting) a cependant été décrite (Bender et al., 2003).

Une à deux semaines après les crises hyperthermiques, aucune modification de la neurogenèse mesurée au niveau du hile et de la base du gyrus denté n'a été montrée (Baram and Shinnar, 2002d; Bender et al., 2003). De même, la cytogénèse des cellules granulaires par marquage BrdU dans les jours qui suivent les crises fébriles n'est pas modifiée. Toutefois, dans le groupe soumis aux crises hyperthermiques, le taux de survie de ces cellules est augmenté par rapport au groupe contrôle (Lemmens 2005). Malgré cette augmentation du taux de survie de cellules nouvellement créées, celles-ci expriment plus rarement l' EAAT3 (Excitatory Amino Acid Transporter 3), impliqué dans la recapture du glutamate dans la fente synaptique (Lemmens et al., 2008).

Dans les modèles de crise hyperthermique simple (30 minutes), aucune modification permanente des taux d'expression de GFAP, S100 β , ou Tomato Lectine (microglie) n'est observé (Yang et al., 2009; Park et al., 2010). Seule une augmentation transitoire des taux de GFAP ou d'OX42 (microglie) est notée lors des 72 premières heures (Dubé et al., 2010). Une modification du réseau glial a été observée à la suite de crises hyperthermiques répétées (9 crises en 3 jours) (Yang et al., 2009) ou dans le cadre d'un modèle de « *dual pathology* » (Park et al., 2010).

L'équilibre des neurotransmetteurs

Les crises hyperthermiques induisent, au niveau de la partie CA1 de la corne d'Ammon, une augmentation de l'inhibition pré-synaptique GABA_A, sous la dépendance des protéines kinases A, et ce jusqu'à 10 semaines après la crise hyperthermique (Chen et al., 1999). Cette augmentation est paradoxale, en regard de l'augmentation globale de l'excitabilité hippocampique. La neurotransmission GABA_B, étudiée dans le cadre des modèles de « *dual pathology* », ne semble pas modifiée (Gibbs et al., 2011).

De même, les crises hyperthermiques simples n'ont pas de retentissement visible sur l'équilibre des sous-unités des récepteurs NMDA. Seules les crises hyperthermiques répétées (Chang et al., 2005) et celles dans le cadre des « *dual pathology* » (Gibbs et al., 2011) induisent une augmentation du rapport entre la sous-unité NR2_A et une modification de leur capacité de phosphorylation, responsable d'une diminution de la phosphorylation de ERK.

Le paradoxe apparent de l'augmentation de l'excitabilité hippocampique, malgré une augmentation de l'inhibition GABAergique présynaptique, a pu être en partie résolu grâce à l'étude des courants Ih (Chen et al., 2001). Jusqu'à 9 semaines après une crise hyperthermique simple, une altération des courants Ih neutralise l'effet de ces courants pré-synaptiques inhibiteurs GABAergiques. La particularité des canaux HCN qui génèrent les courants Ih est de s'ouvrir en présence d'un courant hyperpolarisant prolongé et répété (Chen et al., 2001; Kamal et al., 2006). L'expression génétique des sous-unités HCN1 est diminuée spécifiquement au niveau du CA1 alors que les HCN2 sont sur-exprimés également dans le CA3. Les HCN4 n'ont pas de modification de leur expression (Brewster et al., 2002). Cette diminution de l'expression des HCN1 s'accompagne d'une augmentation de la formation de canaux hétéromériques, co-exprimants HCN1 et HCN2. Cette augmentation de HCN2 est également observée après des

crises induites par le kaïnate au même âge, mais ce de manière transitoire uniquement (jusqu'à 2 semaines) alors que celle-ci reste stable 8 semaines après les crises hyperthermiques (Brewster et al., 2005).

- Particularité des crises hyperthermiques prolongées ou répétées

Nous avons vu que, chez l'homme, le développement du syndrome de MTLE est essentiellement lié au caractère complexe des crises fébriles (Hamati-Haddad and Abou-Khalil, 1998; Kanemoto et al., 1998; Ohtsu et al., 2002; Saltik et al., 2003). Les modèles animaux ont donc cherché à reproduire au mieux ces conditions afin d'en étudier les conséquences. Le modèle le plus communément utilisé implique des crises hyperthermiques complexes d'une durée supérieure à 20 minutes. Le fait d'allonger cette durée (> 60 min), augmente de plus de 30 % de la fréquence des crises hippocampiques à l'âge adulte (Dubé et al., 2010). Lorsque des rats sont soumis à neuf crises hyperthermiques entre P10 et P12 selon le même protocole (Chang et al., 2005; Yang et al., 2009) ou par des bains d'eau chaude (Ullal et al., 2006), un sprouting (bourgeonnement des fibres mossues récurrentes dans la couche moléculaire du gyrus denté), une augmentation des sous-unités NR2_A du récepteur NMDA, ainsi qu'une augmentation des taux de GFAP et S100 β ont été rapportés. Les conséquences fonctionnelles sur la mémoire spatiale semblent également plus marquées (Chang et al., 2005; Yang et al., 2009). Une diminution de la LTP et une facilitation de la LTD avec un décalage de la courbe fréquence de stimulation LTP/LTD en faveur de la LTD après stimulation des collatérales de Schaffer a également été décrite lorsque les crises hyperthermiques sont répétées (Chang et al., 2005).

- Relation entre crises hyperthermiques et épilepsie limbique

Les premiers travaux sur les conséquences des crises hyperthermiques chez le rat ont initialement conclus à l'absence de crise temporelle spontanée chez l'animal adulte (Dube et al., 2000). L'enregistrement prolongé des activités EEG, ainsi que l'augmentation de la durée des crises hyperthermiques, a permis d'induire des crises hippocampiques spontanément récurrentes chez 35 à 50 % des rats à l'âge adulte (Dubé et al., 2010). Les études IRM in vivo, un à deux mois après les crises hyperthermiques, mettent en évidence la présence d'hyper-signaux T2 hippocampiques (Dubé et al., 2010). Ces anomalies IRM ne sont pas prédictives de

la survenue d'une épilepsie ultérieure, et aucun modèle de crise hyperthermique simple ou crise hyperthermique prolongée n'a mis en évidence de sclérose hippocampique.

II. APPORT DES MODELES DE "DUAL PATHOLOGY"

La première modélisation d'une double pathologie (Zhao et al., 1985) a étudié les conséquences des crises hyperthermiques dans un modèle de rat génétiquement sélectionné pour présenter des crises audiogènes. Ces rats présentent une augmentation de la sensibilité aux crises hyperthermiques puis à terme, une augmentation de la sensibilité au kaïnate et au kindling. De même, l'association entre un accident vasculaire cérébral ischémique à P2 par la ligature de la carotide interne chez le rat et une crise hyperthermique à différents âges (Olson et al., 1985) a montré une augmentation du seuil épileptogène en fonction du stade maturationnel, quelque soit le groupe, et un abaissement de ce seuil chez les animaux avec AVC. L'association de crises hyperthermiques à des dysplasies corticales focales induites par une irradiation in utéro à E17 a également été proposé, mais avec des taux de mortalité atteignant 50 % des animaux (Senturk et al., 2011).

Chez des rats dont la mère a été traitée au MAM (injection à E17 de Methylazoxymethanol Acetate), une susceptibilité plus grande aux crises hyperthermiques à P14 et une perte neuronale plus marquée ont été observées chez les animaux porteurs de dysplasies corticales multiples (Germano et al., 1996). À P10, ces animaux ont un seuil épileptique à l'hyperthermie plus bas, présentent des crises plus longues, et un taux de mortalité plus élevé (Verity et al., 1985b; 1985b; Germano et al., 1996; Roger et al., 2005). Il existe dans ce modèle de pathologie double à l'âge adulte une perte cellulaire parmi les cellules pyramidales de la corne d'Ammon (Park et al., 2010). La présence de crise hippocampiques spontanées quelques mois après la survenue de crises hyperthermiques a également été décrite dans ce modèle, à des fréquences très supérieures à celle observées après crises hyperthermiques seules (Kölfen et al., 2002; 2002; Park et al., 2010).

L'équipe canadienne de L. Carmant propose un nouveau modèle de double pathologie en induisant, à P1, une cryo-lésion du cortex somato-sensoriel, induisant une micropolygyrie. Ils montrent que les animaux sont ainsi plus sensibles à l'induction des crises hyperthermiques et

qu'ils développent une sémiologie de crises généralisées avec des myoclonies massives plus rapidement. Les enregistrements EEG montrent également une augmentation de la dépression post-critique par rapport au groupe témoin (Scantlebury et al., 2004; 2005). Il existe 12 jours après les crises hyperthermiques, une atrophie hémisphérique du côté de la lésion, ainsi qu'une atrophie hippocampique (Gibbs et al., 2008). Cette atrophie est liée à la durée des crises hyperthermiques et disparaît si les crises sont raccourcies. Aucune perte neuronale n'est décrite à 12 jours (Gibbs et al., 2008) mais à six mois, une perte neuronale dans les champs CA1, CA3 et Gyrus denté est décrite (Gibbs et al., 2011). Il existe également au niveau de CA1 une diminution du nombre des épines dendritiques (Gibbs et al., 2011). Ces résultats ont également été retrouvés sur des séquences IRM (Gibbs et al., 2011). Dans ce modèle, les premières crises spontanées apparaissent aux alentours de 82 jours de vie et augmentent progressivement jusqu'à un plateau autour de P180 (Gibbs et al., 2011). Ce même modèle a également permis d'individualiser, uniquement dans le cas de pathologies doubles, uniquement, une altérations des capacités mnésiques (Scantlebury et al., 2005), ainsi que des anomalies fonctionnelles de l'organisation du cortex visuel primaire (Prévost et al., 2010).

C. OBJECTIFS DE L'ETUDE

Les crises fébriles représentent l'évènement épileptique le plus fréquent dans l'espèce humaine et la bénignité de leurs conséquences ne fait aucun doute à l'échelle des études prospectives. Seule une infime proportion d'enfants, va développer à l'adolescence une épilepsie méso-temporale avec sclérose de l'hippocampe selon toutes vraisemblance, en lien avec cet épisode de crise fébrile. L'observation fine des patients porteurs de ce syndrome bien spécifique d'épilepsie méso-temporale avec sclérose de l'hippocampe nous apprend que:

- Le risque est accru si la crise fébrile a été « complexe » (c'est à dire prolongée, répétée, partielle ou survenant avant l'âge de 1 an). Ce type de crise a plus de chance d'être observé si l'enfant a un antécédent de souffrance néonatale ou un retard dans ses acquisitions.
- La relation entre crise fébrile et MTLE est plus importante dans le cadre de pathologies doubles.
- La crise fébrile influence les caractéristiques fondamentales de la sclérose de l'hippocampe (dispersion des cellules granulaire, perte cellulaire des différents champs de la corne d'Ammon, atrophie).
- La notion de période silencieuse entre un premier évènement épileptogène et l'apparition de l'épilepsie méso-temporale est un élément qui semble fortement lié à la nature même de la crise fébrile comme facteur déclenchant.

De ces constatations est née la théorie du « double choc », pour laquelle à l'heure actuelle, il n'existe pas d'argument définitif sur la séquence de survenue des deux évènements. Dans ce travail, après une revue de la littérature (introduction et Article 1), nous avons examiné les deux hypothèses suivantes:

- *Hypothèse 1*: une crise hyperthermique complexe faciliterait le développement ultérieur d'une épilepsie hippocampique. Pour cela, nous avons utilisé le modèle de la souris MTLE, chez laquelle une injection intra-hippocampique à l'âge adulte entraîne le développement d'une épilepsie focale (Riban et al., 2002). Ce modèle ayant comme principaux avantages de modéliser à la fois la période silencieuse, des crises focales, de rares crises secondairement généralisées, ainsi que les éléments de la sclérose hippocampique tels la dispersion des cellules granulaires, la perte cellulaire des champs CA1 et CA3, le sprouting,

ainsi que la réaction gliale. Ce travail est présenté sous la forme d'un manuscrit soumis à *Annals of Neurology* (Article 2).

- *Hypothèse 2*: Les crises hyperthermiques augmenteraient le risque de développer une épilepsie dans un modèle qui présente une dysplasie de l'hippocampe associée à de rares crises. Pour cela, nous avons utilisé le modèles de souris chez lesquelles le gène codant pour la double cortine a été invalidé (Nosten-Bertrand et al., 2008). Ce travail est présenté dans un manuscrit (Article 3) qui sera soumis à *Epilepsia* sous la forme d'une brève communication.

ARTICLE 1- LONG TERM EFFECTS OF FEBRILE STATUS EPILEPTICUS : WHAT
ANIMAL MODELS CAN TELL US ?

Long-term effects of febrile status epilepticus: What animal models can tell us?

Sophie Hamelin, Philippe Kahane, and Antoine Depaulis

**Grenoble Neurosciences Institute, Joseph Fourier University – Inserm – Grenoble University Hospital,
Grenoble, France**

FEBRILE SEIZURES AND MESIAL TEMPORAL LOBE EPILEPSY

Febrile seizures (FS) are the most common type of seizure in childhood, occurring in 2–5% of children between 6 months and 5 years of age. FS are short-lasting in about 75% of children and are called “simple FS.” However, FS may have a prolonged duration (>15 min), a focal onset and/or unilateral postictal deficit, and/or recurrence within 24 h. These seizures are generally termed “complex FS.” In addition, complex FS can potentially result in long-term effects such as mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) or hippocampal dysfunction. Observations by Falconer et al. (1964) based on 100 patients who had undergone surgery for intractable MTLE suggested that the presence of hippocampal sclerosis was associated with a history of complex FS in 30% of patients. Several recent studies have supported this association and have suggested that complex FS are an initial trauma triggering MTLE (French et al., 1993).

Neuroimaging studies dealing with the consequences of complex FS or febrile status epilepticus generally show hippocampal swelling during the acute stage. Magnetic resonance imaging (MRI) studies performed in children with complex FS (48 h and 4–8 months postseizure) have revealed an increase in hippocampal volume and prolongation of T2 relaxation time. This suggests that complex FS can result in acute hippocampal edema, which resolves within several months (Scott et al., 2002, 2003). Although many neuroimaging studies report acute hippocampal damage and subsequent atrophy after complex FS, it is not known whether these patients go on to develop MTLE. The low frequency of the occurrence of complex FS and

the need of years long-term follow-up from a large cohort make difficult prospective studies in humans. In particular, it is difficult from clinical studies to determine whether early complex FS damage the hippocampus and cause hippocampal sclerosis. In addition, the hypothesis that children have complex FS because their hippocampus was previously damaged as a result of prenatal or perinatal insult and/or by genetic predisposition (Cendes et al., 1995) is an important alternative.

ANIMAL MODELS OF COMPLEX FEBRILE SEIZURES

In order to better understand the impact of complex FS on the developing brain and the effects of previous hippocampal damages on FS and their consequences, animal models have recently been developed in which hyperthermic seizures (HS) are induced (Baram et al., 1997; Baram & Shinnar, 2002). Experimental HS can be evoked in rat or mouse pups at postnatal day 10 to 11 (P10–11), which corresponds to the stage of hippocampal development in children at the age of occurrence of FS. A regulated stream of heated air ($42 \pm 2^\circ\text{C}$) induces hyperthermia and seizures are rapidly observed that are characterized by behavioral arrest and facial automatisms concomitant with amygdala or hippocampal discharges on electroencephalography (EEG) (Baram et al., 1997). Such recurrent seizures are observed for 25–30 min, and approximately 95% of animals survive. Hyperventilation and alkalosis play an important role in the increased neuronal activity that leads to seizures (Schuchmann et al., 2009). In addition, several studies have demonstrated the role of the interleukin 1β pathway in this neuronal excitability (Dube et al., 2004). HS in young rodents result predominantly in a transient alteration of neurons in the hippocampus and amygdala as revealed by silver staining of neurons (Toth et al., 1998). These changes are observed only when prolonged seizures are observed during hyperthermia; when HS are prevented by benzodiazepines or barbiturates, few histologic changes are observed. Furthermore, analyses have shown that neuronal loss and neurogenesis

Address correspondence to Antoine Depaulis, Grenoble – Institut des Neurosciences, Centre de recherche Inserm U 836-UJF-CEA-CHU, Equipe 9: Dynamique des Réseaux Synchrones épileptiques, Université Joseph Fourier – Faculté de Médecine, Domaine de la Merci, 38706 La Tronche Cedex, France. E-mail: antoine.depaulis@ujf-grenoble.fr

are limited, even in seizure-sensitive hippocampal areas (Bender et al., 2003). However, sprouting of mossy fibers associated with an enhanced sensitivity of the hippocampus is observed: 100% of rats exposed to HS at P10 display convulsive seizures at the age of 3 months when they are injected with kainate (5 mg/kg, i.p.), whereas only 25% of controls seize (Bender et al., 2003). Finally, using long-term EEG recordings, it was found that 35% of rats that were exposed to HS displayed spontaneous seizures when adults and that hippocampal spikes were observed in 88% of them (Dube et al., 2006). Several hypotheses have been raised to explain this enduring increase of hippocampal excitability and, in particular, hyperpolarization-triggered cationic current and cannabinoid receptors appear critical (Dube et al., 2007).

FEBRILE SEIZURES AND MTLE: A DUAL PATHOLOGY?

The observation of humans with a history of typical MTLE syndrome, associated with cortical dysplasia or other lesions in the same hemisphere, has led authors to propose the concept of dual pathology (Bocti et al., 2003). According to this concept, FS probably lead to hippocampal sclerosis, especially in the presence of a preexisting lesion. In animal models, the presence of a localized cortical microgyrus induced in rats by a cryolesion at P1 aggravated HS induced at P10 (Scantlebury et al., 2004). Furthermore, such cortical dysplasia predisposed rats that were exposed to HS to chronic limbic seizures together with deficits of learning and memory without histologic evidence of cell loss (Scantlebury et al., 2005).

CONCLUSION

Clinical and experimental studies on FS suggest that febrile status epilepticus is not associated with massive cell death in the limbic regions and may not be solely responsible for hippocampal sclerosis, as observed in MTLE. However, the interaction of these prolonged seizures with existing dysplasia or lesions appears to increase the risk of developing MTLE after complex FS. Animal studies exploring the interactions between changes in brain development and HS may increase our understanding of the role of febrile status epilepticus in the initiation of MTLE.

ACKNOWLEDGMENT

This work is supported by Inserm.

We confirm that we have read the Journal's position on issues involved in ethical publication and affirm that this report is consistent with those guidelines

Disclosure: The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

- Baram TZ, Gerth A, Schultz L. (1997) Febrile seizures: an appropriate-aged model suitable for long-term studies. *Brain Res Dev Brain Res* 98:265–270.
- Baram TZ, Shinnar S. (2002) *Febrile seizures*. Academic Press, San Diego.
- Bender RA, Dube C, Gonzalez-Vega R, Mina EW, Baram TZ. (2003) Mossy fiber plasticity and enhanced hippocampal excitability, without hippocampal cell loss or altered neurogenesis, in an animal model of prolonged febrile seizures. *Hippocampus* 13:399–412.
- Bocti C, Robitaille Y, Diadori P, Lortie A, Mercier C, Bouthillier A, Carmant L. (2003) The pathological basis of temporal lobe epilepsy in childhood. *Neurology* 60:191–195.
- Cendes F, Cook MJ, Watson C, Andermann F, Fish DR, Shorvon SD, Bergin P, Free S, Dubeau F, Arnold DL. (1995) Frequency and characteristics of dual pathology in patients with lesional epilepsy. *Neurology* 45:2058–2064.
- Dube C, Yu H, Nalcioğlu O, Baram TZ. (2004) Serial MRI after experimental febrile seizures: altered T2 signal without neuronal death. *Ann Neurol* 56:709–714.
- Dube C, Richichi C, Bender RA, Chung G, Litt B, Baram TZ. (2006) Temporal lobe epilepsy after experimental prolonged febrile seizures: prospective analysis. *Brain* 129:911–922.
- Dube CM, Brewster AL, Richichi C, Zha Q, Baram TZ. (2007) Fever, febrile seizures and epilepsy. *Trends Neurosci* 30:490–496.
- Falconer MA, Serafetinides EA, Corsellis JA. (1964) Etiology and pathogenesis of temporal lobe epilepsy. *Arch Neurol* 10:233–248.
- 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* 34:774–780.
- Scantlebury MH, Ouellet PL, Psarropoulou C, Carmant L. (2004) Freeze lesion-induced focal cortical dysplasia predisposes to atypical hyperthermic seizures in the immature rat. *Epilepsia* 45:592–600.
- Scantlebury MH, Gibbs SA, Foadjo B, Lema P, Psarropoulou C, Carmant L. (2005) Febrile seizures in the predisposed brain: a new model of temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 58:41–49.
- Schuchmann S, Vanhatalo S, Kaila K. (2009) Neurobiological and physiological mechanisms of fever-related epileptiform syndromes. *Brain Dev* 31:378–382.
- Scott RC, Gadian DG, King MD, Chong WK, Cox TC, Neville BG, Connelly A. (2002) Magnetic resonance imaging findings within 5 days of status epilepticus in childhood. *Brain* 125:1951–1959.
- Scott RC, King MD, Gadian DG, Neville BG, Connelly A. (2003) Hippocampal abnormalities after prolonged febrile convulsion: a longitudinal MRI study. *Brain* 126:2551–2557.
- Toth Z, Yan XX, Haftoglou S, Ribak CE, Baram TZ. (1998) Seizure-induced neuronal injury: vulnerability to febrile seizures in an immature rat model. *J Neurosci* 18:4285–4294.

ARTICLE 2: HYPERTHERMIC SEIZURES ENHANCE EPILEPTOGENESIS IN TEMPORAL LOBE EPILEPSY MICE

A. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

Ce deuxième article explore la première hypothèse du double choc et propose d'analyser les conséquences d'une crise hyperthermique unique, survenant sur un cerveau immature normal, sur le processus d'épileptogénèse induit par l'injection de kaïnate unilatérale dans l'hippocampe d'une souris adulte.

Chez la souris adulte, l'injection unilatérale unique de kaïnate (1 nmol) dans l'hippocampe induit une perte cellulaire ipsilatérale au niveau de CA1, CA3 et du hile, ainsi qu'une gliose et un bourgeonnement des fibres moussues (Suzuki et al., 1995). À ces modifications, généralement observées dans la plupart des modèles d'épilepsie méso-temporale, s'ajoute une dispersion progressive des cellules granulaires du gyrus denté durant les semaines qui suivent l'injection de kaïnate (Suzuki et al., 1995). Cette dispersion, associée à une hypertrophie des cellules granulaires, se développe le long de travées radiaires formées par les cellules gliales (Heinrich et al., 2006). La perte cellulaire des inter-neurones sécrétant la reelin, ainsi que les modifications d'excrétion de la reelin par les cellules de Cajal-Retzius préservée, est directement lié à cette dispersion des cellules granulaires (Heinrich et al., 2006; Duveau et al., 2010). Dans l'heure qui suit l'injection de kaïnate, on enregistre un état de mal partiel, parfois accompagné de généralisations secondaires, qui dure en moyenne 15-18 d'heures (Pernot et al., 2011). S'ensuit ensuite une phase silencieuse pendant laquelle les crises hippocampiques se développent progressivement. Cette phase d'épileptogénèse a été décrite sous la forme d'une échelle de progression, des premières pointes à l'apparition de décharges rythmiques spontanément récurrentes (Heinrich et al., 2011).

A la phase d'épilepsie chronique, on observe la survenue de décharges hippocampiques paroxystiques, spontanément récurrentes, qui surviennent en moyenne 40 – 60 fois par heure, chaque décharge durant en moyenne 15 à 20 secondes. Celles-ci sont le plus souvent asymptomatiques, parfois associées à un arrêt du comportement et quelques clonies des vibrices. Elles surviennent généralement en phase de veille calme, et restent présente à l'identique tout au long de la vie de l'animal (Riban et al., 2002).

Les principaux résultats de ce travail montrent :

- (i) La faisabilité, et la reproductibilité de la modélisation des crises hyperthermiques chez la souris immature à P10. L'enregistrement électroencéphalographique montre un point de départ hippocampique aux décharges.
- (ii) Les crises hyperthermiques ne modifient pas la nature de l'état de mal initial dans les heures qui suivent l'injection de kaïnate.
- (iii) Les crises hyperthermiques accélèrent le déroulement des différentes phases de l'épileptogénèse mais n'influencent pas le taux de récurrence ni la durée des décharges paroxystiques hippocampiques à la phase chronique. Ces décharges sont néanmoins différentes dans leur spectre temps-fréquence, avec une puissance moindre pour les basses fréquences (inférieur à 10 Hz).
- (iv) Les crises hyperthermiques favorisent la dispersion et l'hypertrophie des cellules granulaires du gyrus denté, mais pas la perte cellulaire des neurones de la corne d'Ammon.
- (v) Les dosages semi-quantitatifs en western-blot et le comptage cellulaire en immunohistochimie de reelin, calretinine et GFAP ne permettent pas d'expliquer ces différences.

B. ABSTRACT 1- MODIFICATIONS OF HIPPOCAMPAL EPILEPTOGENESIS BY PROLONGED HYPERTHERMIC SEIZURES IN THE IMMATURE MOUSE

Annual Meeting of the American-Epilepsy-Society/American-Clinical-Neurophysiology-Society Location: Washington, DC Date: DEC 02-06, 2005

EPILEPSIA Volume: 46 Supplement: 8 Pages: 105-105 Published: 2005

Sophie Hamelin, Johan Pallud, Ute Haussler, Laurent Vercueil and Antoine Depaulis.

RATIONALE: Whereas febrile seizures are the most common seizure type in children, their relationships with mesial temporal lobe epilepsy remain controversial. Febrile seizures have been suggested to modify the functional organization of the hippocampus. However, they may not be sufficient to induce epilepsy by themselves and an additional event appears necessary to develop mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. To test this hypothesis, we developed a model of hyperthermic seizures in P10-P11 mice and their consequences on epileptogenesis were examined following intrahippocampal kainic acid injection in adult animals.

METHODS: Hyperthermic seizures were induced by a 30 min rise of body temperature (42,1°C) of P10-11 mice, as described in the rat pups (Baram et al. Dev. Brain Res. 1997; 98:265-270). Seizures were video recorded and EEG monitored using bipolar hippocampal and cortical electrodes. Control animals were exposed to 30 °C pulsed air for 30 min. At the age of 3 months, intrahippocampal kainic acid (1 nmol in 50 nl) was injected unilaterally as previously described (Riban et al, Neuroscience 2002; 112:101-111) in mice with hyperthermic seizures and their controls. EEG recordings were then performed 3 times a week for 3 weeks. The time course of epileptogenesis, the duration and occurrence of hippocampal discharges were compared between the 2 groups.

RESULTS: Hyperthermic seizures in P10-11 mice were first characterised by nose rubbing, followed by myoclonies preceding tonico-clonic seizures. Both types of seizures were associated with hippocampal discharges. Animals experiencing hyperthermic seizures developed more rapidly epileptogenesis following intrahippocampal injection of kainate, as compared to controls. In particular, during the first week post kainate, hippocampal discharges occurred earlier in animals with hyperthermic seizures. Once established (20-22 days

postkainate), hippocampal seizures had similar duration and occurrence as the controls. Generalized convulsive seizures rarely occurred in both groups.

CONCLUSION: This study shows that hyperthermic seizures associated with hippocampal discharges can be induced in P10-11 mice. Our data suggest that such seizures facilitate initiation of epileptogenesis induced by intrahippocampal kainic acid injection in adult animals

C. ABSTRACT 2- PROLONGED HYPERTHERMIC SEIZURES IN THE IMMATURE MOUSE INCREASE THE DISPERSION OF GRANULAR CELLS IN A MODEL OF MESIAL TEMPORAL LOBE EPILEPSY

Conference: *58th Annual Meeting of the American-Academy-of-Neurology* Location: *San Diego, CA* Date: *APR 01-08, 2006*

NEUROLOGY Volume: *66* Issue: *5* Supplement: *2* Pages: *A133-A133* MAR 14 2006

Hamelin, Sophie; Pallud, Johan; Vercueil, Laurent; Depaulis, Antoine

OBJECTIVE: To evaluate the role of hyperthermic seizures in immature mice on subsequent development of hippocampal seizures in adult animals injected with local kainic acid.

BACKGROUND: The relationships between Febrile Seizures occurring during infancy, and later-onset mesial temporal lobe epilepsy remain controversial. Whereas Febrile Seizure have been suggested to modify the functional organization of the hippocampus, they do not appear sufficient to induce epilepsy by themselves and an additional event should be necessary for mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis to develop.

DESIGN/METHODS: Hyperthermic seizures were induced by a 30 min rise of body temperature (42°C) in P10-11 mice. A control group of animals were exposed to 30°C pulsed air for the same duration. At the age of 3 months, intrahippocampal kainic acid (1 nmol in 50 nl) was injected unilaterally (Riban et al., 2002) in both groups. Occurrence of spontaneous seizures was controlled by EEG recordings 3 times a week, for up to 28 days after injection of kainic acid. Hippocampal sclerosis was evaluated by the surface of granular cells layer (dispersion), and by neuronal loss of pyramidal cells.

RESULTS: Dispersion of granular cells in the injected hippocampus of mice with immature hyperthermic seizures was more important (+ 258 % compared to controlateral hippocampus) than in control group (+ 145%) ($p=0,01$, Mann-Whitney test). The extends of induced neuronal loss in CA1, CA3 and hilus did not significantly differ between the two groups. No changes were observed between the two groups for the onset of hippocampal discharges or duration of recurrent seizures.

CONCLUSIONS/RELEVANCE: Hyperthermic seizures in immature mouse facilitated the dispersion of granular cells induced by local injection of kainate without modification of cell loss or development of epileptogenesis. These findings suggest that hyperthermic seizures during brain development may affect the vulnerability of hippocampus to a new traumatic event.

D. *ARTICLE 2: HYPERTHERMIC SEIZURES ENHANCE EPILEPTOGENESIS IN TEMPORAL LOBE EPILEPSY*

Title:

HYPERTHERMIC SEIZURES ENHANCE EPILEPTOGENESIS IN TEMPORAL LOBE EPILEPSY MICE

Running head:

HS ENHANCE HIPPOCAMPAL EPILEPTOGENESIS

Authorship:

Sophie Hamelin MD, Benoit Pouyatos PhD, Severine Stambouliau PhD, Johan Pallud MD, Olivier David PhD, Antoine Depaulis PhD

DPI : Days Post kainate Injection

EEG : Electroencephalography

FS : Febrile seizure

HPDs : Hippocampal Paroxysmal Discharge

HS : Hyperthermic seizure

KA : Kainate

LFP : Local Field Potential

MCD : Malformations of cortical development

MRI : Magnetic Resonance Imaging

MTLE : Mesial-temporal lobe epilepsy

ABSTRACT

OBJECTIVE: Whereas febrile seizures are the most common seizure type in children and are reported in the history of mesial temporal lobe epilepsy, their role in its etiology remains controversial. They have been suggested to modify the functional organization of the hippocampus but to require another insult to induce epilepsy. To test this hypothesis, we developed a model of hyperthermic seizures (HS) in mice and examined their long-term consequences on a second insult induced by intra-hippocampal kainic acid (KA) injection in adult animals.

METHODS: HS were induced by a 30-min rise of body temperature (40-41°C) in P10 mice. At P60, intra-hippocampal KA was injected in HS and Sham mice. They were video-electroencephalographically monitored using hippocampal and cortical electrodes for 21 days. Status epilepticus, epileptogenesis, duration and occurrence of hippocampal paroxysmal discharges (HPDs) were compared. Pyramidal cells loss and dispersion of granular cells were quantified. Immunofluorescence and Western-blot of Reelin, Calretinin and GFAP hippocampal expression were performed in HS and Sham mice at P70, reflecting the state before KA.

RESULTS: HS in P10 were characterized by hippocampal discharges. Adult HS mice developed more rapidly epileptogenesis after KA injection, showed similar duration and occurrence of HPDs but a different pattern in time-frequency spectrum. An increase in granular cell dispersion was observed in HS, which could not be explained by a modification of hippocampal Reelin, Calretinin or GFAP.

INTERPRETATION: HS in immature mice influenced the consequences of subsequent hippocampal epileptogenic insult. It accelerated the epileptogenic process, modified the pattern of HPDs and increased granular cell dispersion.

INTRODUCTION

Febrile seizure (FS) is the most common type of seizures that occur in early childhood in human. A relationship between FS and the subsequent development of mesial-temporal lobe epilepsy (MTLE) was suggested by retrospective observational studies¹. However, only 2-4 % of children with prolonged FS develop epilepsy² whereas a history of FS is reported in about 20 to 80 % of patients with MTLE^{1,3}. The mechanisms by which FS leads to epileptogenesis remain poorly understood but the existence of an initial anomaly of brain development and/or the occurrence of another trauma, before or after FS, could play a critical role⁴. Indeed, the combination of hippocampal sclerosis and malformations of cortical development (MCD) is often referred to as “dual pathology”, a finding reported in 15-80% of patients with intractable MTLE⁴⁻⁷. A prior history of FS was identified more commonly in patients with dual pathology (92%) than in those with isolated MTLE (17%)⁸. Moreover, 98 %⁷ of hippocampal sclerosis and lesion were in the same hemisphere, suggesting that brain lesion might influence the consequence of FS on ipsilateral hippocampus. However, the relationships between FS, a second trauma and the development of hippocampal sclerosis and/or MTLE remain difficult to address in human clinic for technical and ethical reasons.

Experimental prolonged FS, named “Hyperthermic Seizure” (HS), can be evoked in rat pups at P10 when hippocampal development is considered to correspond to human infants^{9,10}. HS was shown (i) to involve the hippocampal formation and limbic structures¹¹, (ii) to enhance hippocampal long-term excitability¹¹, (iii) to induce transient neuronal injury but no cell death^{12,13}; (iv) to lead to altered MRI T2-signal in several limbic areas¹⁴ and (v) to alter the expression of several channel genes^{15,16}. Here, we addressed the hypothesis that HS could aggravate the consequences of a subsequent trauma by studying the consequences of HS in mice pups on the different features of epileptogenesis induced, once adult, by a unilateral intra-hippocampal injection of kainic acid (KA). Indeed, this preparation was characterized as a model for MTLE in which recurrent spontaneous hippocampal paroxysmal discharges (HPDs) and hippocampal sclerosis progressively develop^{17,18}.

MATERIALS AND METHODS

Animals and hyperthermic seizures

C57BL/6 mice pups (males or females) were bred at the Grenoble Institute of Neuroscience, France. HS were induced in P10 pups using a modified paradigm used in rats⁹ and mice¹⁹. Briefly, half of the litter was placed for 30 min in a Plexiglas cage and heated at 39.5-41.5 °C while the other half was maintained at 22-24°C (Sham). Pups body temperature and behavior were noted every 2 min. Twelve pups were implanted under cryo-anesthesia with bilateral bipolar hippocampal and cortical electrodes maintained on their skull with cyanoacrylate. They were video-EEG recorded before and during HS and then killed to verify electrodes location.

Surgery

Adult mice were stereotaxically injected under general anaesthesia (4% chloral hydrate; 10 ml/kg, i.p.) with 50 nl (i.e., 1 nmol) solution of KA (Sigma) into the right dorsal hippocampus [anteroposterior: -1.9; mediolateral: -1.5; dorsoventral: -1.9 mm] with bregma as the reference²⁰. As described before^{18,21-25}, all mice were then implanted with (i) two monopolar electrodes placed over the left and right anterior cortex; (ii) a monopolar electrode placed over the cerebellum (reference); and (iii) a bipolar electrode into the injected hippocampus.

EEG recordings

Seven mice per group were placed in Plexiglas test cages within 2h post KA and their status epilepticus (SE) was recorded with a digital Video/EEG recording device (Micromed, sampling rate=1,024 Hz) for 20 hours.

To monitor epileptogenesis, mice were EEG recorded for 2h at 4, 6, 8, 11, 13, 15, 18, 20 and 22 days after KA injection. The progressive occurrence of spikes followed by short and then longer discharges was scored using the 5-stage scale previously described²². Only animals reaching a stage 5 within 3 weeks post-KA were considered for analysis.

Twenty-one days post-injection (DPI), the occurrence, duration and amplitude in time-frequency of HPDs were quantified^{22,24-26}. The first and last spikes were used to delineate each discharge and to rescale the time axis of time-frequency maps to the same value across all HPDs for statistical analyses²⁷. The time-window of analysis contained a baseline 4 s before HPD onset, which was used to normalize time–frequency data for each frequency. Inference on 2D time-frequency maps was performed for each channel separately. First, one-sample t-

tests were used to characterize HPD oscillations in each animal type (Sham or HS). Second, a two-sample t-test comparing Sham and HS was used to characterize differences

Histology

Upon experiments, animals were killed and their brain cut in slices that were stained as previously described^{22,23}. After KA injection, only data from animals with (i) granular cells dispersion, (ii) pyramidal cell loss and (iii) HPDs (stage 5) were analysed.

Granule cell dispersion (GCD) and GC hypertrophy were evaluated by measuring the area of the granule cell layer and individual GC on both sides (injected and contra) on light-microscopic images, using a digital camera (Eclipse 80i Nikon and NIS Element AR 3.0).

Pyramidal cell loss was estimated by measuring the length of the Ammon's horn. The number of persistent neurons was counted in the hilus, CA1 and CA3, as described in Dube 2006²⁸.

Immunohistochemistry. Free-floating sections (100 µm) were incubated overnight with a mixture of anti-bodies against reelin 1:500 (G10 mouse monoclonal, Chemicon), calretinin 1:1000 (rabbit polyclonal, Swant), NeuN 1:1000 (mouse monoclonal, Abcys) or GFAP 1:1000 (rabbit polyclonal, Dako). Sections were then incubated with a mixture of secondary antibodies coupled to Cy3, and Alexa-Fluor 488 (Invitrogen). Double-immunolabeled sections were analyzed using a confocal Zeiss Axiovert 200 M microscope, using a Leica TCS-SP2 operating system (Leica). Count of reelin- and calretinine- positive cells was made in the stratum molecular/radiatum using a 20×objective in the same 425 µm boxes. All data collection was performed blind to experimental treatment²³.

Western blots

We performed western blots as previously described²⁹ on samples at the age of P70±5 (i.e., without KA injection). Membranes were probed with the following primary antibodies: anti-reelin 1:500 (mouse monoclonal, Millipore, G10) anti-GFAP 1:5000 (rabbit polyclonal, Dako) and finally anti-GAPDH 1:10000 (mouse monoclonal, Sigma Aldrich) and secondaries: HRP-conjugated anti-mouse (Jackson ImmunoResearch) and HRP-conjugated-anti-rabbit (Southern biotech). To normalize levels of the different proteins to GAPDH, non-saturating exposure of

Western blots were scanned and band intensities were analysed using ImageJ software (Gel analyser software).

Statistics.

Data were expressed as mean \pm SEM. Comparisons between the results of the two groups were done using the nonparametric test of Mann–Whitney. Statistical analysis was performed with SigmaStat 4.0 (SPSS). The significance level for all statistical analysis was set at $p < 0.05$. SPM 8 was used for time-frequency analyses.

RESULTS

Hyperthermic seizures in mice pups

HS were observed in 100 % of the P10 pups tested ($n = 110$), within the first 10 min (5.07 ± 0.43 min.). HS were less often observed in P12 mice and less reproducible at P9 ($n = 4$ /group). First signs of seizure occurred when the cage and rectal temperature were $41.32 \pm 0.37^\circ\text{C}$ and $36.50 \pm 0.29^\circ\text{C}$ (i.e., +5% than initial temperature), respectively. Discharges were first observed in the hippocampus and then spread to the cortex (Fig 1) where it was usually artefacted by concomitant muscular activity. HS was always associated with an initial enhanced motor activity, then sudden freezing associated with reduced response to stimulation (“altered consciousness”) and facial automatisms (repetitive nose rubbing) and myoclonus. This behavior evolved to unresponsiveness, associated with myoclonus over the test session.

At the age of P60-70, no significant weight differences were observed in both females (Sham ($n = 11$): $23.36 \pm 0.49\text{g}$ vs HS ($n = 10$): $22.90 \pm 0.37\text{g}$) and males (Sham ($n = 15$): 28.33 ± 0.39 vs HS ($n = 12$): 28.33 ± 0.38 , $p > 0.05$, Mann-Whitney test). The mortality rate was similar in both groups (3.6 % vs 2.4 % in HS and Sham groups, respectively).

HS did not influence the initial status epilepticus

We first hypothesized that the experience of HS would render the animals more prone to SE once adults, as suggested by previous reports³⁰. During SE, lower amplitude of background activity was observed in the injected hippocampus, as compared to the contralateral one,

without significant difference between groups ($n = 7/\text{group}$). Spikes were first observed (2-3h), then prolonged discharges of spikes and poly-spikes (3-5h), with a variable recurrence between animals (1-5/h), as reported earlier^{18,22,31}, with no difference between groups. Rarely, seizures involving the cortex and associated with clonic and versive behaviours occurred as often in both groups (Supplementary Table 1).

HS accelerated epileptogenesis

We then made the hypothesis that HS could facilitate the evolution of hippocampal epileptogenesis since it was suggested that HS could cause profound and enduring alterations in the expression of several channel genes^{15,16}.

Epileptogenesis developed in both groups into Hippocampal Paroxysmal Discharges (HPD), as previously reported^{18,22}. In HS, the delays before the occurrence of the first spikes (stage 2), the first short discharge (stage 3), the first long discharge (stage 4) and the first HPD (stage 5) were significantly shorter when compared to sham (Fig 2-A).

HS changed the characteristics of HPDs

As suggested by the preceding experiments, we postulated that HPDs should be different in HS animals, as compared to Sham ones. HPDs (Fig. 2-C) generally occurred at rest and were associated with behavioural arrest and/or mild facial automatisms^{18,22,23}. HPDs analysis indicated no difference concerning their recurrence (n/h) or mean duration (s) between groups at 21 DPI (Fig 2-B). However, close examination of HPDs suggested some alterations in HS that were objectified with time-frequency power analysis (Fig. 2-D, E). Oscillatory hippocampal activities were mostly below 50 Hz. In Sham, hippocampal LFP power significantly increased in the 2–20 Hz frequency band throughout the HPD (max t-value = 23). During the second half of the seizure, high frequency power (30-50 Hz) transiently increased, and disappeared before the 2-20 Hz activity dropped at the end of the seizure. By contrast, an increase of power (max t-value = 15) was homogeneously distributed in the 2-50 Hz frequency range in HS. When comparing Sham and HS, hippocampal activity in the 2-20 Hz was suppressed in HS animals (max t-value = 13). In the cortex, changes of activity were comprised between 8 and 40 Hz and less strong (max t-value = 9), with no significant difference between groups. Upon termination of the HPD, a relative increase of power in the range of 10-50 Hz was observed in HS (max t-

value = 4) that probably reflected a decrease in post seizure depression as compared to Sham group. During the total 18-h EEG-recording of each mouse, the paroxysmal activity propagated to the cerebral cortex, leading to a generalized clonic seizure in 7/15 (11 seizures) in Sham and 8/17 (18 seizures) in HS (Chi square, ns).

HS did not affect neuronal loss but increased the dispersion and hypertrophy of dentate granular cells

Data of the two previous experiments (i.e., acceleration of epileptogenesis and change in HPD power) suggested that HS could affect the important reorganization of the hippocampus induced by the injection of KA which is reminiscent of hippocampal sclerosis in human MTL³². We found that the important loss of pyramidal CA1 and CA3 cells, previously described at 21 DPI in this model^{17,18,22,23,31} was not aggravated by HS (Fig 3-A). However, we observed a significantly increase of GCD and hypertrophy in HS, as compared to Sham, at 21 DPI (Fig 3-C, E), whereas no difference was found in the contralateral side. We observed a similar increase of GCD at 35 DPI, but not at 60 DPI (Fig 3-D). No differences were seen between genders (data not shown). Finally, there was no evidence of GCD or cell loss between HS and Sham injected with NaCl, and the DG mean volume was not significantly different, for both sides (injected or not) and for group (Sham n=4 contralateral $1.6 \pm 0 \cdot 10^5 \mu\text{m}^2$; injected $1.7 \pm 0 \cdot 10^5 \mu\text{m}^2$; HS n=4 contralateral $1.8 \pm 0 \cdot 10^5 \mu\text{m}^2$; injected $1.7 \pm 0 \cdot 10^5 \mu\text{m}^2$, Mann-Whitney $p=0.20$).

HS did not modify the hippocampal expression of GFAP or reelin-calretinin.

It was suggested that GCD is associated with an increase of reactive astrocytes that result in a neo-expression of the radial glial network, which support granular cells migration in the TLE²³. A reduction of reelin, a secreted extracellular matrix protein that helps regulate processes of neuronal migration and positioning in the developing brain was reported in both MTL patients³³ and animals^{23,34,35}, and could contribute to the development of GCD.

In either Sham or HS mice without any hippocampal injection, we first performed immunostaining of GFAP and semi-quantitative measure of its expression in hippocampus using Western-blot and found no differences between groups (supplementary data, Fig 1). Similarly, the Western-blot measure of the three isoforms of reelin revealed by G10 showed no differences between groups (Fig.4-B) as well as the count of reelin and calretinin immuno-

staining cells in hilus (data not shown), and stratum molecular-radiatum (Fig 4-C-E). The observation of bipolar process in Cajal-Retzius cells did not reveal reelin accumulation, as described in *reln^{ori/1}* mice³⁶ or after KA injection³⁷.

DISCUSSION

Our study shows that a single episode of HS in immature brain leads, in the adult, to the potentiation of hippocampal epileptogenesis triggered by KA. Indeed, HS (i) accelerates the onset of different epileptiform events, (ii) modifies the pattern of HPD with no influence on the severity of chronic epilepsy and (iii) increases granular cell volume and dispersion. Our data suggest that a modification of GFAP or reelin expression is not at the origin of this potentiation.

HS in mice

HS were first described in rats, at P10⁹ and has become largely accepted as model of febrile seizure in immature brain. Similarly, HS was developed in mice^{19,38} and important differences in susceptibility were reported between mice background with C57BL/6 being more sensitive than 129/SV. Here, we showed that HS was obtained in P10 C57BL/6 mice with a great reliability and feasibility. At P10, the temperature threshold for the occurrence of seizure was lower than previously described in older P14 mice¹⁹, in agreement with previous report⁹. Our EEG data confirmed that HS first involve the hippocampus and are associated with mild behavioural signs. Our data should encourage further studies using KO mice with a C57BL/6 background.

HS did not influence the initial status epilepticus

HS did not increase the occurrence of focal discharges or clonic seizures during the SE triggered by intra-hippocampal KA once the mice were adult. Furthermore, isolated spikes were in fact less frequent in HS than in Sham. This is in contrast with the increased susceptibility to seize observed previously in rats that experienced HS when they were challenged with pentylentetrazole³⁹⁻⁴¹. However, it appears in agreement with an altered gain of I_h ^{30,42} that could neutralize the seizure-induced enhancement of GABAergic currents. Therefore, inhibitory or excitatory depends on the temporal structure of the IPSPs: single IPSPs

do not activate Ih and do not lead to rebound firing, whereas bursts of higher-frequency IPSPs can do so. The HS modification of Ih current may possibly explain the lack of isolated spikes, without impact on the occurrence of real HPDs.

HS modifies epileptogenesis and the pattern of hippocampal discharges

Our study showed that HS homogenously accelerated epileptogenesis induced by intra-hippocampal KA, with the occurrence of the first HPD, 2-3 days earlier than in the Sham. The frequency and duration of these HPDs, once established, remained unchanged. An effect on epileptogenesis with no significant consequences on established HPDs was also reported in the same mouse model, either in animals overexpressing the high affinity BDNF receptor TrkB²² or following the intra-hippocampal infusion of synaptic blocker botulinum neurotoxin E³⁵. This suggests that HS might modulate the route to epilepsy, but remains without influence on the occurrence and recurrence of focal seizures. However, in our study, it is noticeable that established HPDs displayed a significant decrease in low-frequency oscillations in the hippocampus, as compared to Sham animals. In particular, when we compared Sham and HS, hippocampal activity in the 2-20 Hz was found highly suppressed in HS animals. A change in background EEG activity in the range of 1-10 Hz²⁸ was also reported in rats that became epileptic after FS.

HS increase the hypertrophy and dispersion of dentate granular cells

This is an important finding since in MTLE patients, GCD was found to be more pronounced in patients with an early injuring event (mostly FS), before the age of 4^{32,43,44}. In the MTLE mouse model, GCD was reported previously^{23,35,45,46} and appears to develop progressively mainly during the first 3-4 weeks post-KA^{17,21,22}. The mechanisms that induce GCD remained unclear but the occurrence of recurrent HPDs was considered as mandatory to the development of GCD^{24,26} and may explain the accelerated epileptogenesis and/or changes in HPD characteristics observed in the present study. GCD has been suggested to involve the glutamatergic pathway^{24,35}. It was also shown that reelin was implicated in GCD in human³³ and mouse MTLE²³. Reelin is synthesized and secreted by Cajal-Retzius cells and GABA-ergic interneurons and the rescue of granule cell lamination was obtained by infusion of recombinant reelin into the MTLE mouse hippocampus⁴⁷ whereas reelin-neutralizing antibodies induced GCD in naive animals²³. After intra-hippocampal KA injection, reelin-

positive interneurons^{23,33,37} were reduced, in line with the degeneration of GABAergic neurons²¹. However, these cells increased in the hippocampal fissure suggesting that epileptogenesis impaired the proteolytic processing and lead to (i) accumulation of reelin in hippocampal tissue and (ii) decrease of the smaller 180-kDa fragment that may cause GCD^{37,48}. Our present data using both Western blot and immunohistochemistry did not revealed any difference in the reelin expression between groups. Nevertheless, we hypothesized that HS impaired only Cajal-Retzius cells, sparing interneurons. Indeed, the low proportion of Cajal-Retzius cells compared to interneurons might have masked differences.

Conclusion

The occurrence of HS in immature mice brain accelerated epileptogenesis, influenced the electroencephalographic pattern of HPDs and increased the granular cell dispersion. This data were congruent with human data, showing an increase in GCD in patients with early initial traumatic event like febrile seizure. Arguments involving the NMDA, and BDNF pathways were suggested, regards the negative influence of FS on reelin and GFAP organisation.

ACKNOWLEDGEMENTS

Tanguy Chabrol, Marius Rosier

REFERENCES

1. French JA, Williamson PD, Thadani VM, et al. Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann Neurol*. 1993;34(6):774–780.
2. Berg AT, Shinnar S. Unprovoked seizures in children with febrile seizures: short-term outcome. *Neurology* 1996;47(2):562–568.
3. Hamati-Haddad A, Abou-Khalil B. Epilepsy diagnosis and localization in patients with antecedent childhood febrile convulsions. *Neurology* 1998;50(4):917–922.
4. Cendes F, Cook MJ, Watson C, et al. Frequency and characteristics of dual pathology in patients with lesional epilepsy. *Neurology* 1995;45(11):2058–2064.
5. Bocti C, Robitaille Y, Diadori P, et al. The pathological basis of temporal lobe epilepsy in childhood. *Neurology* 2003;60(2):191–195.
6. Lévesque MF, Nakasato N, Vinters HV, Babb TL. Surgical treatment of limbic epilepsy associated with extrahippocampal lesions: the problem of dual pathology. *J. Neurosurg*. 1991;75(3):364–370.

7. Hofman PAM, Fitt G, Mitchell LA, Jackson GD. Hippocampal sclerosis and a second focal lesion--how often is it ipsilateral? *Epilepsia* 2011;52(4):718–721.
8. Fauser S, Huppertz H-J, Bast T, et al. Clinical characteristics in focal cortical dysplasia: a retrospective evaluation in a series of 120 patients. *Brain* 2006;129(Pt 7):1907–1916.
9. Baram TZ, Gerth A, Schultz L. Febrile seizures: an appropriate-aged model suitable for long-term studies. *Brain Res Dev Brain Res* 1997;98(2):265–270.
10. Avishai-Eliner S, Brunson KL, Sandman CA, Baram TZ. Stressed-out, or in (utero)? *Trends in Neurosciences* 2002;25(10):518–524.
11. Dube C, Chen K, Eghbal-Ahmadi M, et al. Prolonged febrile seizures in the immature rat model enhance hippocampal excitability long term. *Ann Neurol*. 2000;47(3):336–344.
12. Toth Z, Yan XX, Haftoglou S, et al. Seizure-induced neuronal injury: vulnerability to febrile seizures in an immature rat model. *J Neurosci* 1998;18(11):4285–4294.
13. Bender RA, Soleymani SV, Brewster AL, et al. Enhanced expression of a specific hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channel (HCN) in surviving dentate gyrus granule cells of human and experimental epileptic hippocampus. *Journal of Neuroscience* 2003;23(17):6826–6836.
14. Dubé C, Yu H, Nalcioglu O, Baram TZ. Serial MRI after experimental febrile seizures: altered T2 signal without neuronal death. *Ann Neurol*. 2004;56(5):709–714.
15. Brewster AL, Bernard JA, Gall CM, Baram TZ. Formation of heteromeric hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) channels in the hippocampus is regulated by developmental seizures. *Neurobiology of Disease* 2005;19(1-2):200–207.
16. Brewster A, Bender RA, Chen Y, et al. Developmental febrile seizures modulate hippocampal gene expression of hyperpolarization-activated channels in an isoform- and cell-specific manner. *Journal of Neuroscience* 2002;22(11):4591–4599.
17. Suzuki F, Junier MP, Guilhem D, et al. Morphogenetic effect of kainate on adult hippocampal neurons associated with a prolonged expression of brain-derived neurotrophic factor. *NSC* 1995;64(3):665–674.
18. Riban V, Bouilleret V, Phâm-Lê BT, et al. Evolution of hippocampal epileptic activity during the development of hippocampal sclerosis in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *NSC* 2002;112(1):101–111.
19. Dubé C, Vezzani A, Behrens M, et al. Interleukin-1beta contributes to the generation of experimental febrile seizures. *Ann Neurol*. 2005;57(1):152–155.
20. Paxinos G, Franklin KBJ. *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press; 2004.

21. Bouilleret V, Ridoux V, Depaulis A, et al. Recurrent seizures and hippocampal sclerosis following intrahippocampal kainate injection in adult mice: electroencephalography, histopathology and synaptic reorganization similar to mesial temporal lobe epilepsy. *NSC* 1999;89(3):717–729.
22. Heinrich C, Lähteinen S, Suzuki F, et al. Increase in BDNF-mediated TrkB signaling promotes epileptogenesis in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Neurobiology of Disease* 2011;42(1):35–47.
23. Heinrich C, Nitta N, Flubacher A, et al. Reelin deficiency and displacement of mature neurons, but not neurogenesis, underlie the formation of granule cell dispersion in the epileptic hippocampus. *Journal of Neuroscience* 2006;26(17):4701–4713.
24. Suzuki F, Heinrich C, Boehrer A, et al. Glutamate receptor antagonists and benzodiazepine inhibit the progression of granule cell dispersion in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2005;46(2):193–202.
25. Langlois M, Polack P-O, Bernard H, et al. Involvement of the thalamic parafascicular nucleus in mesial temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience* 2010;30(49):16523–16535.
26. Pallud J, Häussler U, Langlois M, et al. Dentate gyrus and hilus transection blocks seizure propagation and granule cell dispersion in a mouse model for mesial temporal lobe epilepsy. *Hippocampus* 2010;
27. Kilner JM, Kiebel SJ, Friston KJ. Applications of random field theory to electrophysiology. *Neuroscience Letters* 2005;374(3):174–178.
28. Dubé C, Richichi C, Bender RA, et al. Temporal lobe epilepsy after experimental prolonged febrile seizures: prospective analysis. *Brain* 2006;129(Pt 4):911–922.
29. Stamboulian S, Choi J-S, Ahn H-S, et al. ERK1/2 mitogen-activated protein kinase phosphorylates sodium channel Na(v)1.7 and alters its gating properties. *Journal of Neuroscience* 2010;30(5):1637–1647.
30. Chen K, Baram TZ, Soltesz I. Febrile seizures in the developing brain result in persistent modification of neuronal excitability in limbic circuits. *Nat Med* 1999;5(8):888–894.
31. Pernot F, Heinrich C, Barbier L, et al. Inflammatory changes during epileptogenesis and spontaneous seizures in a mouse model of mesiotemporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2011;;no–no.
32. Houser CR. Granule cell dispersion in the dentate gyrus of humans with temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* 1990;535(2):195–204.
33. Haas CA, Dudeck O, Kirsch M, et al. Role for reelin in the development of granule cell dispersion in temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience* 2002;22(14):5797–5802.

34. Frotscher M, Haas CA, Förster E. Reelin controls granule cell migration in the dentate gyrus by acting on the radial glial scaffold. *Cereb. Cortex* 2003;13(6):634–640.
35. Antonucci F, Di Garbo A, Novelli E, et al. Botulinum neurotoxin E (BoNT/E) reduces CA1 neuron loss and granule cell dispersion, with no effects on chronic seizures, in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Experimental Neurology* 2008;210(2):388–401.
36. de Bergeyck V, Nakajima K, Lambert de Rouvroit C, et al. A truncated Reelin protein is produced but not secreted in the “Orleans” reeler mutation (Reln[rl-Orl]). *Brain Res Mol Brain Res* 1997;50(1-2):85–90.
37. Duveau V, Madhusudan A, Caleo M, et al. Impaired reelin processing and secretion by Cajal-Retzius cells contributes to granule cell dispersion in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Hippocampus* 2010;
38. van Gassen KLI, Hessel EVS, Ramakers GMJ, et al. Characterization of febrile seizures and febrile seizure susceptibility in mouse inbred strains. *Genes Brain Behav* 2008;7(5):578–586.
39. Ateş N, Akman O, Karson A. The effects of the immature rat model of febrile seizures on the occurrence of later generalized tonic-clonic and absence epilepsy. *Brain Res Dev Brain Res* 2005;154(1):137–140.
40. Gonzalez-Ramirez M, Salgado-Ceballos H, Orozco-Suarez SA, Rocha L. Hyperthermic seizures and hyperthermia in immature rats modify the subsequent pentylentetrazole-induced seizures. *Seizure-Eur J Epilep* 2009;18(7):533–536.
41. Auvin S, Porta N, Nehlig A, et al. Inflammation in rat pups subjected to short hyperthermic seizures enhances brain long-term excitability. *Epilepsy Res* 2009;86(2-3):124–130.
42. Chen K, Aradi I, Thon N, et al. Persistently modified h-channels after complex febrile seizures convert the seizure-induced enhancement of inhibition to hyperexcitability. *Nat Med* 2001;7(3):331–337.
43. Lurton D, Sundstrom L, Brana C, et al. Possible mechanisms inducing granule cell dispersion in humans with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1997;26(2):351–361.
44. Lurton D, Bahh el B, Sundstrom L, Rougier A. Granule cell dispersion is correlated with early epileptic events in human temporal lobe epilepsy. *J Neurol Sci* 1998;154(2):133–136.
45. Nitta N, Heinrich C, Hirai H, Suzuki F. Granule cell dispersion develops without neurogenesis and does not fully depend on astroglial cell generation in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2008;49(10):1711–1722.
46. Martinian L, Catarino CB, Thompson P, et al. Calbindin D28K expression in relation to granule cell dispersion, mossy fibre sprouting and memory impairment in hippocampal sclerosis: A surgical and post mortem series. *Epilepsy Res* 2011;

47. Müller MC, Osswald M, Tinnes S, et al. Exogenous reelin prevents granule cell dispersion in experimental epilepsy. *Experimental Neurology* 2009;216(2):390–397.
48. Tinnes S, Schaefer MKE, Flubacher A, et al. Epileptiform activity interferes with proteolytic processing of Reelin required for dentate granule cell positioning. *The FASEB Journal* 2011;25(3):1002–1013.

Supplementary data:

HPD analyses

HPD duration and occurrence were measured for each group 21 days after the KA injection. Detection of HPDs was performed with custom software based on Morlet wavelets (System +, Micromed, city, country). The program first identified spikes and sharp waves in the EEG using a voltage threshold. This voltage threshold was set to 3 times the standard deviation of the EEG signal (determined during interictal periods). Spike clusters were defined as seizures, when they lasted more than 3 s. For each recording session, we determined the occurrence and duration of HPD, as well as the total time spent in seizures (calculated by adding together the duration of all ictal episodes), as in previous studies ^{1,2}.

Time–frequency analysis of HPDs and concomitant frontal cortex activity collected in 5 freely moving mice in the Sham group, in 3 in the HS group, was performed using an in-house developed toolbox for dynamical analysis of intracerebral LFP. The amplitude (square root of power) of oscillatory activity between 1 and 100 Hz was obtained using standard time–frequency analysis based on the Morlet wavelet transform ³. The first and last spikes of each discharge were used to define its onset and termination, respectively. The time-window of analysis of each discharge was defined to contain 4 s before HPDs onset and after HPDs termination. For each frequency, the amplitude was computed on seven periods length sliding time-window, providing an effective frequency-specific time resolution. Time–frequency sampling of the time–frequency plane was 100 ms/0.25 Hz. Time–frequency data were normalized using the standard procedure: for each frequency, the mean of the baseline was subtracted to the data and then demeaned data were divided by the standard deviation of the baseline. Baseline was defined as the 4 s preceding each HPD. Finally, the time axis of time-frequency chart was linearly rescaled to realign the start and end of HPDs across recordings.

Inference on normalized and rescaled 2D time-frequency maps were performed for each channel separately by comparing Sham and HS animals using the random field theory to control for multiple comparisons⁴. To conform to the assumptions of random field theory, images were smoothed by convolution with a Gaussian kernel in both time (5% of seizure

duration FWHM) and frequency (5 Hz FWHM). In addition, this step blurs any effects that are focal in the time and/or frequency dimensions, ensuring better overlap among animals and seizures. Two contrasts were considered. First, one-sample t-tests were used to characterize the oscillatory pattern of seizures in each animal type (Sham or HS) separately. Second, a two-sample t-test comparing Sham and HS was used to characterize differences in seizure power. In all cases, a fixed-effect analysis was assumed by pooling together animals and seizures. A threshold of $p < 0.05$, family-wise error (FWE) corrected was used in the Results section.

1. Langlois M, Polack P-O, Bernard H, et al. Involvement of the thalamic parafascicular nucleus in mesial temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience* 2010;30(49):16523–16535.
2. Heinrich C, Lähteinen S, Suzuki F, et al. Increase in BDNF-mediated TrkB signaling promotes epileptogenesis in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Neurobiology of Disease* 2011;42(1):35–47.
3. Le Van Quyen M, Foucher J, Lachaux J, et al. Comparison of Hilbert transform and wavelet methods for the analysis of neuronal synchrony. *J. Neurosci. Methods* 2001;111(2):83–98.
4. Kilner JM, Kiebel SJ, Friston KJ. Applications of random field theory to electrophysiology. *Neuroscience Letters* 2005;374(3):174–178.

Table 1: The initial status epilepticus

	Sham	HS	
	n=7	n=7	p
EEG amplitude (μ V)			
Left hippocampus	2685 \pm 440	2171 \pm 429	0.45
Right hippocampus (injected)	1571 \pm 217	1584 \pm 424	0.62
Spike (n/mn.)	63 \pm 13	31 \pm 13	0.07
HPD (n/hour)	0.62 \pm 0.09	0.66 \pm 0.17	1.00
Clonic seizure (n/ 15 hour)	1.43 \pm 0.9	0.86 \pm 0.9	0.81

LEGENDE

Fig 1

Intra-hippocampal and cortical electroencephalographic recording in HS induced in a mice pup at P10. (A) The normothermic EEG background was composed of arrhythmic, low-amplitude 3- to 5-Hz activity with superimposed 7- to 9-Hz activity. (B) The start of hyperthermia induced an increase in the rhythmicity and amplitudes of the slow activity, associated with asymmetrical pseudo-periodic high-voltage, slow sharp-waves (period 5-7 second). (C) Intermittent medium-amplitude rapid activity appeared, stopped by high-amplitude hippocampal and cortical spikes associated with myoclonus (Arrow). (D) Focal left hippocampal discharge (headland of arrow) followed by hindlimb convulsions. (E) Post-hyperthermia depression associated with EEG burst suppression, characterized by rhythmic bursts of high-amplitude, epileptic, fast activity punctuated by periods of profound flattening of the EEG.

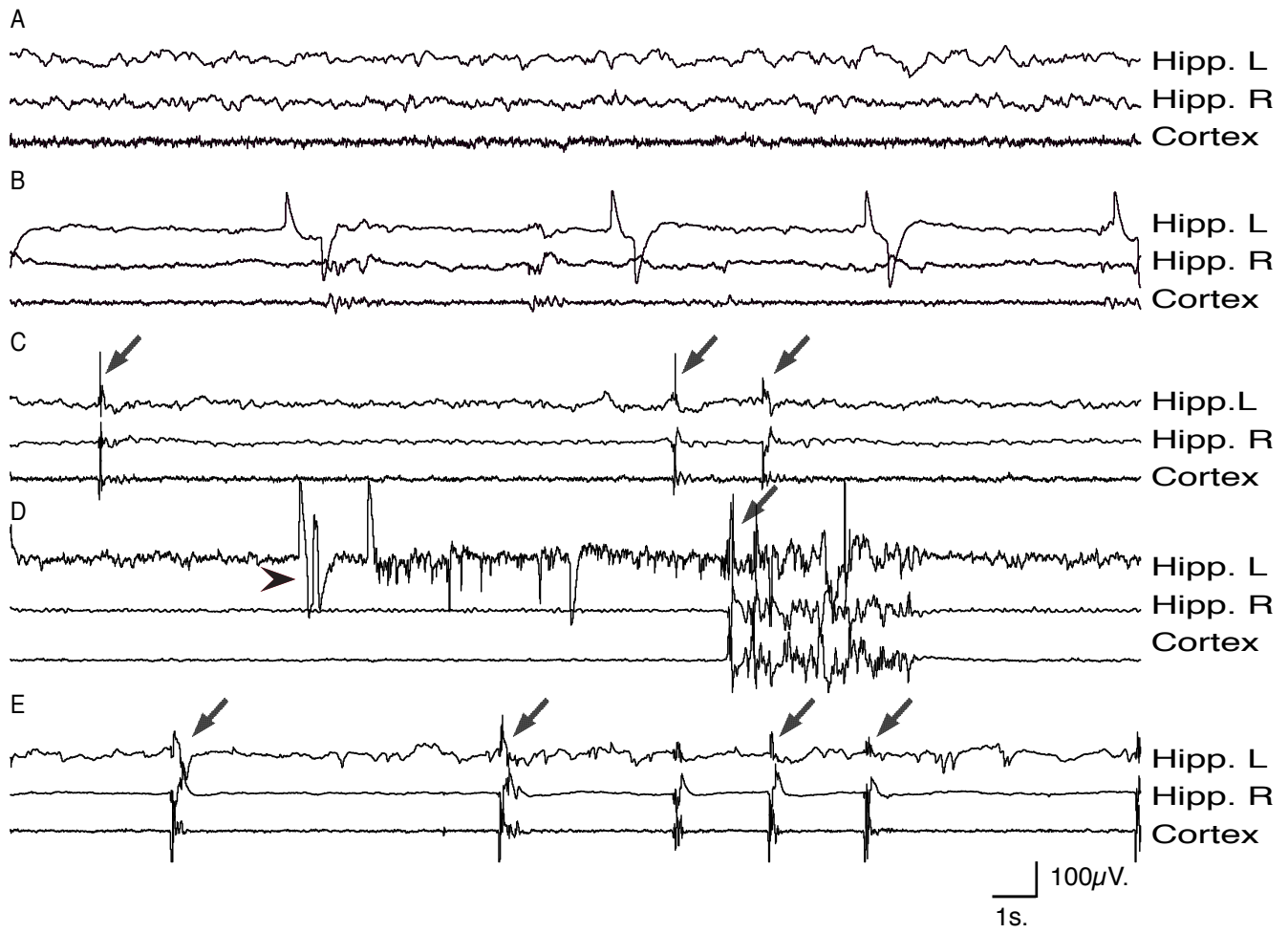


Fig 2

Hippocampal and cortical local field potential activities during HPDs

(A) HS accelerated hippocampal epileptogenesis (Sham: open circles, n=14; HS: black diamonds, n=17). Results are presented as mean days \pm SEM before reaching each stage (Mann-Whitney, *p<0.05; **p<0.01). (B) Mean HPD duration (p=0.26) and recurrence (p=0.65) were not different between groups (Sham: white n=11; HS: black n=19). (C) Example of simultaneous LFP recording of injected hippocampus and cortex during a spontaneous HPD occurring in a freely-moving mouse. (D) One sample T-statistics of normalized power in the time–frequency plane (Left, n=84 HPDs from 5 Sham mice; Right, n=60 HPDs from 3 HS mice; threshold: p<0.05 FWE). It was possible to derive a standard pattern of power by rescaling the time axis of the time–frequency representation (temporal linear scaling was used to realign start and end of HPDs; white lines). (E) Two sample T-statistics of normalized power in the time–frequency plane (HS-Sham; threshold: p<0.05 FWE). HS mice displayed less powerful increased in low frequency during HPD (blue area) and hippocampal post-HPD depression was significantly less important (red area).

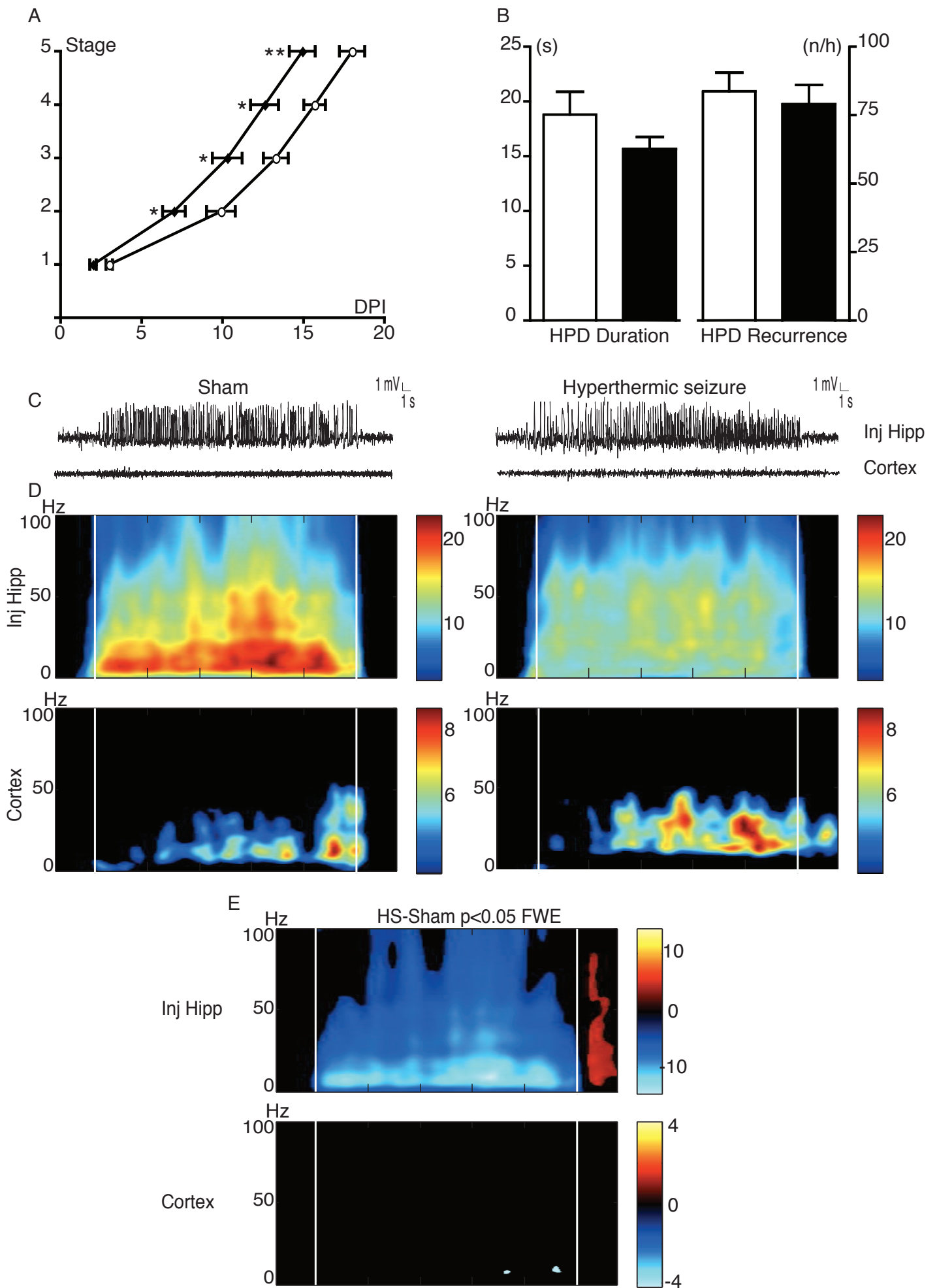


Fig 3

HS increased GCD and hypertrophy but not neuronal cell loss. Sham group was represented in white and HS group in black. **(A)** HS did not increase the pyramidal cell loss represented by the length of remaining Ammon's horn at 21 days post-injection (DPI) (Sham n= 11, HS n= 17; Mann-Whitney p=0.28). **(B)** HS did not influence the neuronal cell loss in the hilus, CA1 and CA3, at 21 DPI. (Sham n=8; HS n=7 mice, Mann-Whitney p=1.00, 0.53 and 0.71 for CA1, CA3 and hilus, respectively). **(C)** HS increased the mean area of dentate gyrus in the injected hippocampus at 21 DPI (Sham n=12, HS n=17, Mann-Whitney p=0.01). **(D)** HS increased the percentage of GCD significantly at 21 and 35 DPI. (10, 21, 35 and 60 DPI, n= 4, 4, 12, 7, 4 in Sham, n=4, 4, 17, 5 in HS respectively, two-ways ANOVA for days interaction p=0.02, for group interaction, p=0.009, Bonferroni post-tests p<0.01 21 and 35 DPI) **(E)** HS increased the granular cells hypertrophy in the injected hippocampus. (Sham n=7, HS n=7 Mann-Whitney, p=0.04). **(F)** Coronal sections of the hippocampus stained with cresyl violet. A progressive dispersion of the granule cells is observed. Note the neuronal loss in CA1, CA3, and the hilus. Scale bar, 250 μ m.

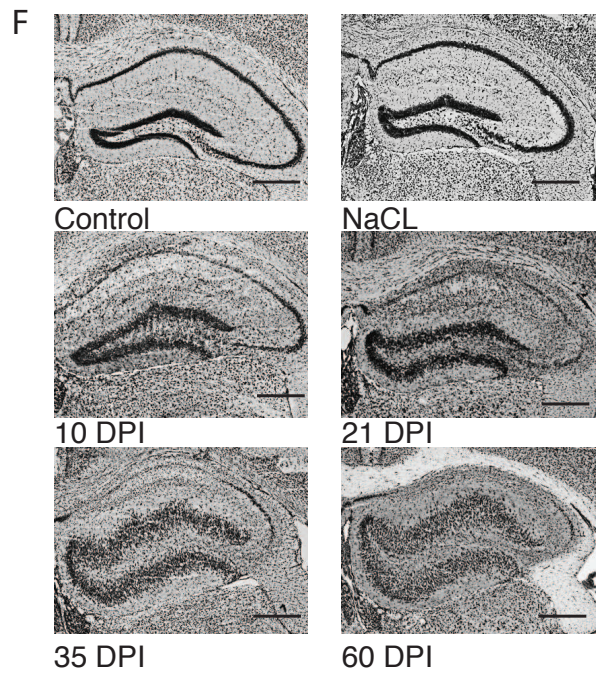
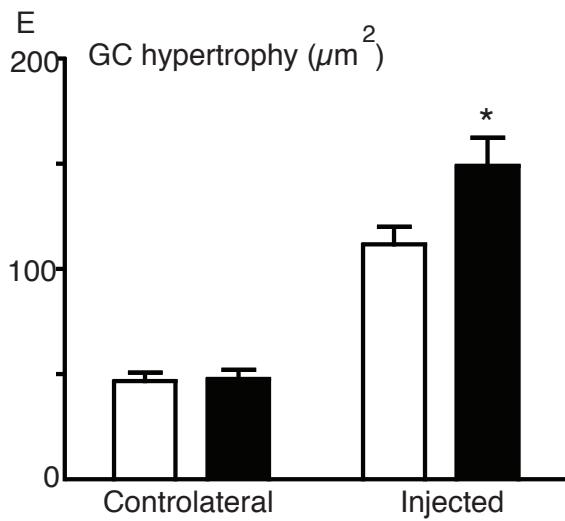
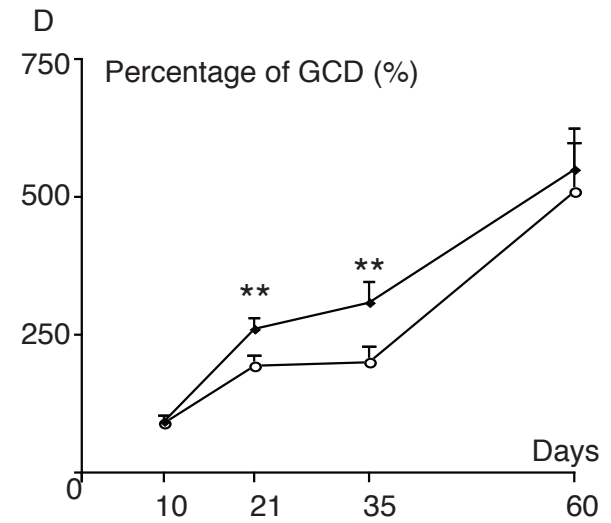
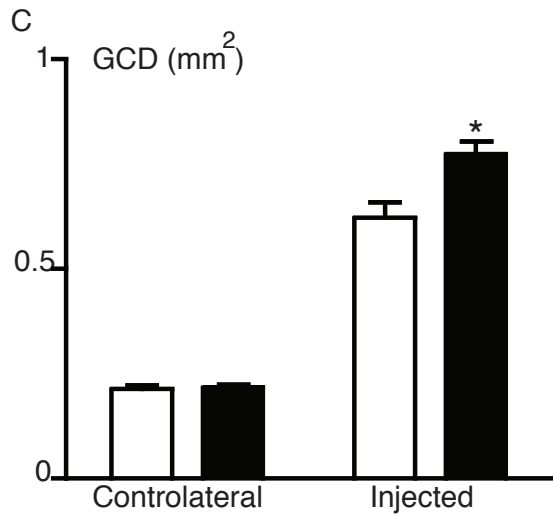
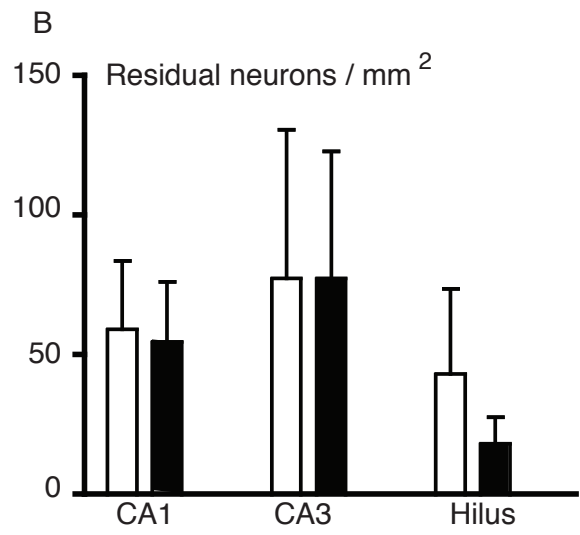
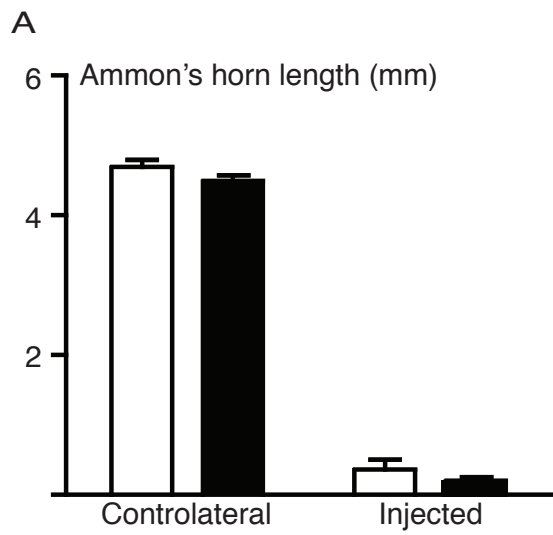
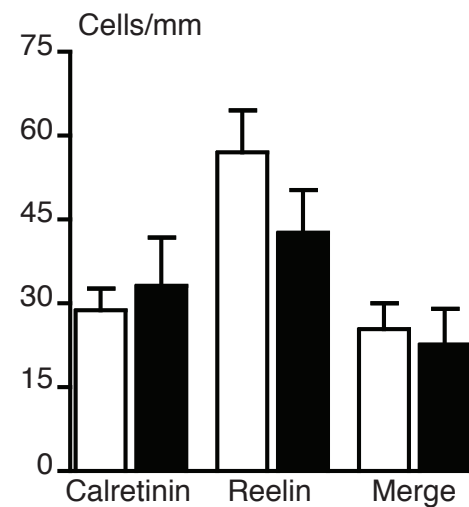
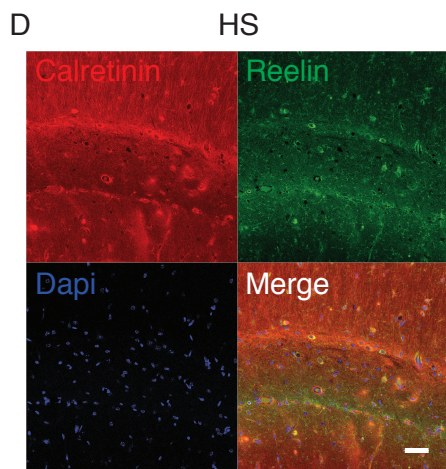
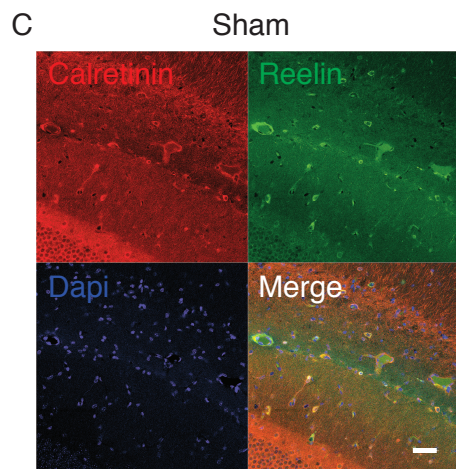
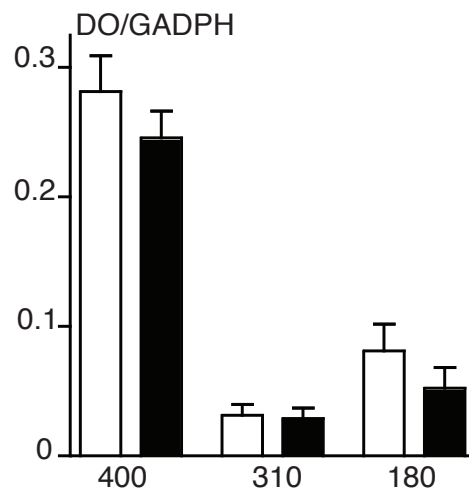
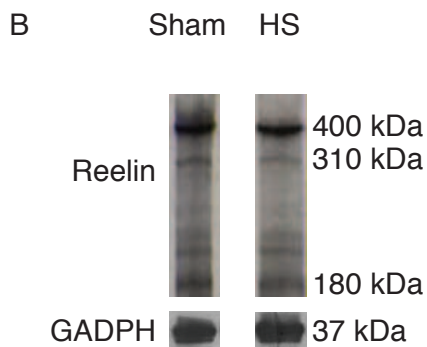
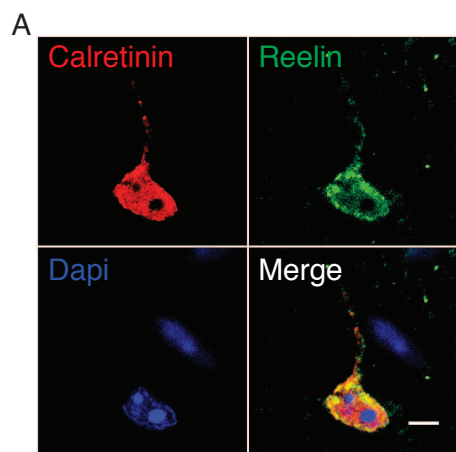
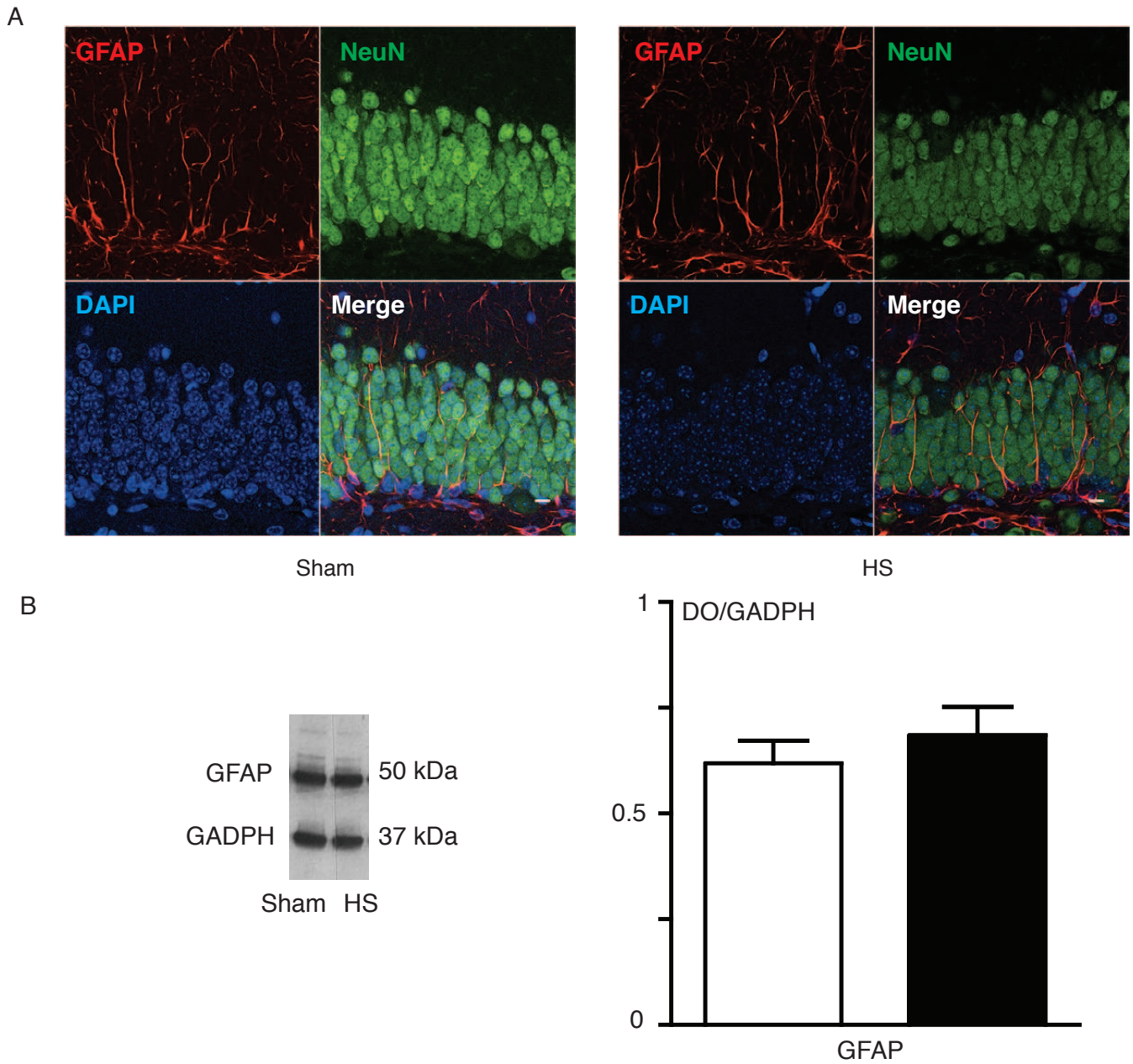


Fig 4

Western-blot and immuno-staining for reelin in Sham and HS mice at P70, before the KA injection. **(A)** A Cajal-Retzius cell in the stratum molecular of HS mice, stained with both reelin and calretinin. Morphological analysis of these cells showed no increase of reelin immunopositivity as a visible stained process, feature also seen in sham group. Scale bar: 5 μ m **(B) Western-Blot:** We observed the 3 known isoforms of reelin detected by the G10 antibody (400, 310 and 180 kDa). However, in both Sham and HS mice, we saw no significant increase or decrease in the expression of all of this 3 isoforms (Mann-Whitney Sham n=7 and HS=11). **(C, D)** Reelin and Calretinin immunostaining showed no modification in HS group vs. Sham group. Scale bar: 50 μ m, stratum lacunosum and molecular. **(E)** Cells count in the stratum molecular and stratum lacunosum showing no difference between groups (Mann-Whitney Sham n=5, HS n=5).





Western-blot and immuno-staining for GFAP in Sham and HS mice at P70, before the KA injection.
 (A) GFAP and NeuN immuno-staining in dentate gyrus, in sham and HS mice
 Morphological analysis of these cells showed no modification in the GFAP and NeuN density and global aspect between groups. Scale bar: 10 μ m
 (B) Western-Blot: Semi-quantitativ analyse of GFAP showed no difference between groups (Mann-Whitney; Sham (white) n=7 and HS (black) n=11).

ARTICLE 3: HYPERTHERMIC SEIZURES DO NOT AGGRAVATE HIPPOCAMPAL EPILEPTOGENESIS IN DOUBLECORTIN KNOCKOUT MICE

A. PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

Cet article explore la deuxième hypothèse du double choc et propose d'analyser les conséquences d'une crise hyperthermique unique, survenant sur un cerveau immature pathologique du fait de la présence d'une dysplasie focale de la partie CA3 de la corne d'Ammon d'origine génétique.

Chez l'homme, la Lissencéphalie de type 1 est une pathologie génétique liée au chromosome X, responsable chez le garçon d'un déficit cognitif sévère et d'une épilepsie. Elle résulte de mutations du gène Doublecortine (Dcx, situé en Xq22.3-q23), responsables d'un défaut spécifique de migration neuronale lors de l'embryogenèse. Chez le garçon, elle est responsable d'une absence de giration (lissencéphalie), alors que chez la fille hétérozygote, seulement une population de neurones est atteinte, entraînant une malformation moins grave appelée « doublecortex » ou hétérotopies laminaires sous corticales (Portes et al., 1998).

Plusieurs lignées de souris porteuses de mutations sur le gène de la double-cortine ont été proposées. Grâce à la poursuite d'une collaboration avec l'équipe de Fiona Francis (Nosten-Bertrand et al., 2008), nous avons proposé d'utiliser le modèle de souris KO et hétérozygote pour le gène de la double-cortine sur un fond génétique de souris C57BL/6. Cette mutation KO dans la souche C57BL/6 entraîne l'apparition au stade embryonnaire d'un dédoublement de la couche des cellules pyramidales de la corne d'Ammon, restant présente et fixée à la naissance dans sa partie CA3 uniquement (Kappeler et al., 2006; Kappeler et al., 2007; Combo et al., 2002). À l'âge adulte, chez certaines de ces souris KO, apparaissent des crises cloniques, à point de départ hippocampique (Nosten-Bertrand et al., 2008).

Nous proposons dans cet article l'étude des conséquences des crises hyperthermiques sur ce modèle génétique de dysplasie hippocampique, et d'en étudier les conséquences morphologiques et sur le développement d'une épilepsie.

Les principaux résultats de ce travail montrent :

- (i) La nature et la sévérité des crises hyperthermiques ne sont pas modifiées par la présence d'une dysplasie de l'hippocampe.
- (ii) La survenue de crises hippocampiques à l'âge adulte chez un animal wild-type soumis aux crises fébriles est possible mais rare.
- (iii) Les crises hyperthermiques semblent diminuer la fréquence des crises hippocampiques qui surviennent à l'âge adulte chez les animaux Dcx-KO.
- (iv) Les crises hyperthermiques augmentent la proportion des souris hétérozygotes pour la mutation KO de la double-cortine qui présentent une expression ectopique de NPY dans leurs fibres moussues.

B. *ABSTRACT 1: FEBRILE SEIZURE AS A LONG-TERM PRE-CONDITIONING CONTEXT WHICH MAY REGULATE EPILEPTOGENESIS IN DOUBLECORTIN KO MICE.*

Rome-International Epileptic Society- Poster

Sophie Hamelin, Reham Khalaf, Tanguy Chabrol, Fiona Francis, Antoine Depaulis

1. Purpose

According to the “dual pathology” concept, a relationship between cortical dysplasia and the occurrence of febrile seizures has been suggested to promote the development of mesial temporal lobe epilepsy. We addressed this hypothesis by examining the consequences of Hyperthermic Seizures (HS) applied at P10 on the focal epilepsy developed by doublecortin knock-out mice (Dcx KO).

2. Method

C57BL/6 DcxKO and wild type littermates (WT) were exposed at P10 to either 40°C (HS) or 20°C (control) temperatures for 30 min. At 2 months, mice were implanted with bipolar hippocampal electrodes and recorded for up to 20 h over 2 months. Hippocampal upregulation of neuropeptide Y (NPY) was monitored between groups.

3. Results

In WT/controls, no seizures were recorded (n=7) whereas one hippocampal seizure with cortical spread was observed in the WT/HS group (n=8). In the DcxKO/control group, 60% of the mice (n=5) developed seizures with a total of 15 seizures (11 tonic-clonic). In the DcxKO/HS group (n= 8) only 25% of the animals exhibited seizures, with a total of 2 seizures. No ectopic expression of NPY was observed in WT mice, contrary to all DcxKO mice with seizures, with or without HS.

4. Conclusion

The rare occurrence of spontaneous seizures observed in adult WT/HS mice is in agreement with previous reports in rats. The lower rate of seizures observed here in DcxKO/HS mice, as compared to DcxKO/controls, suggests that HS could represent a long term pre-conditioning effect protecting against epileptogenesis.

**HYPERTHERMIC SEIZURES DO NOT AGGRAVATE HIPPOCAMPAL EPILEPTOGENESIS IN
DOUBLECORTIN KNOCKOUT MICE.**

Sophie Hamelin^{1,2,3,6}, MD, Reham Khalaf⁴, MD, Benoit Pouyatos^{1,2}, PhD, Tanguy Chabrol^{1,2},
Fiona Francis⁴, PhD, Antoine Depaulis^{1,2}, PhD

¹Inserm U-836, Grenoble - Institut des Neurosciences, Grenoble, France

²Université Joseph Fourier, Grenoble, France

³Centre Hospitalier Pierre Oudot, Bourgoin-Jallieu, France

⁴Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

⁵Inserm UMR-S839, Institut du Fer à Moulin, Paris, France

⁶Corresponding author: Dr Sophie Hamelin

Grenoble - Institut des Neurosciences

Université Joseph Fourier, Domaine de la Merci

BP170

38042, Grenoble, Cedex 9, France

Tel: 04 56 52 06 59

Tel: 04 56 52 06 56 (Sec.)

Fax: 04 56 52 06 57

Sophie.Hamelin@ujf-grenoble.f

(4) number of characters in the title 96 with spaces

(5) number of word in the abstract: 223

body of the manuscript: 1878, 15 references

(6) number of figures, color figures, and tables

SUMMARY

Purpose

According to the “two hits theory”, the association of cortical dysplasia with febrile seizures should promote the development of mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis (MTLE). We addressed this hypothesis by examining the consequences of Hyperthermic Seizures (HS) on the hippocampal dysplasia developed by double-cortin knock-out mice (Dcx-KO).

Method

C57BL/6 Dcx-KO, Dcx-heterozygous (Dcx-Hz) and wild-type (WT) littermates were exposed at P10 to either 40°C (HS) or 20°C (Sham) for 30 min. At P70, they were implanted with bipolar hippocampal electrodes and their local field potentials were recorded for up to 20h/mice. Hippocampal neo-expression of neuropeptide Y (NPY) was compared between groups.

Results

In Sham/WT, no seizures were ever recorded (n=11; 240 h of recording) whereas one hippocampal seizure with cortical spread was observed in the HS/WT group (n=12; 288 h). In Sham/Dcx-KO mice, 2 of them developed seizures (15 seizures, n=10; 204 h). In HS/Dcx-KO mice, only one seizure was recorded (n=9; 216 h). No seizure was recorded in both HS/- and Sham/Dcx-Hz mice (N=10/7; 200/184 h). Ectopic expression of NPY was observed in all Dcx-KO mice that displayed seizures, and was three-fold increased in Hz mice that experienced HS.

Discussion

Our results failed to show an increase in the proportion of Dcx-KO seizures after HS, and suggest that HS rather might decrease recurrent seizures via the neo-expression of NPY.

Introduction

Febrile seizure (FS), the most common type of seizures in children, are mostly benign with little evidence of any adverse effects (Knudsen, 1996). However, in about a third of the cases, FS display atypical features qualified as “complex febrile seizures” and constitute a risk factor for mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis (MTLE) (French et al., 1993). Yet, the sole occurrence of an episode of FS does not appear sufficient to trigger MTLE and it has been suggested that another trauma and/or a genetic predisposition could be necessary to the development of epileptogenesis. Indeed, in patients with MTLE, cortical malformations have been increasingly identified in association with hippocampal sclerosis, a combination referred as “dual pathology” (Lévesque et al., 1991). As a matter of fact, during brain maturation, the presence of a genetic or acquired focal cortical dysplasia might render the brain more susceptible to prolonged FS, therefore increasing the risk of developing MTLE (Hamelin et al., 2009).

Human type I lissencephaly is a form of cortical dysplasia associated with mutations in the gene coding for doublecortin (Dcx), a microtubule-associated protein (Francis et al., 1999; Gleeson et al., 1999). Patients with such a mutation generally display a smooth cortex and a disorganized hippocampus, and suffer from refractory epilepsy, in addition to severe intellectual disability (Portes et al., 1998). Mice in which the Dcx gene has been deleted (Dcx-KO) (Corbo et al., 2002) do not display lamination defects in the isocortex, but present an abnormal organization in the CA3 region with the pyramidal layer divided into at least two distinct layers (Kappeler et al., 2006; 2007). In addition, some of them exhibit rare spontaneous convulsive seizures with a hippocampal origin (Nosten-Bertrand et al., 2008). Using this model, we addressed here whether hyperthermic seizures (HS) at P10 aggravate the development of spontaneous epileptic seizures observed in adults. To this aim, we compared the consequences of HS in both Dcx-KO hemizygous (Dcx-KO) and heterozygous (Dcx-Hz) mice with their wild type (WT) littermates, using the recording of local field potentials (LFP). The expression of NPY in the hippocampus was also explored as it was shown to play a critical role in the modulation of hippocampal seizures (Vezzani et al., 1999) and has been shown to be neo-expressed in the Dcx KO model (Nosten-Bertrand et al., 2008).

MATERIAL AND METHODS

Mice pups were obtained by breeding at the Grenoble Institute of Neuroscience. Dcx-KO mice (deleted for Dcx exon 3 on the X chromosome) were generated by using the Cre-loxP site-specific recombination system, as described elsewhere (Kappeler et al., 2006). These animals were generated with wild-type littermate controls by crossing Dcx-Hz females with C57BL/6N males (Janvier France). To assay Dcx in postnatal stages, protein extracts were analyzed by SDS-PAGE and Western blotting (Kappeler et al., 2006). All procedures were accepted by our local ethical committee in accordance with the guidelines of the European Community's Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC).

Hyperthermic seizures (HS) were induced for 30-minutes in P10 mice (Dcx-KO, Dcx-Hz, and WT) using a standard hairdryer (41°C) as previously described (Hamelin et al, submitted). The other half of the litter was maintained at 22-24°C (Sham). Adult (P60-70) mice were implanted with (i) two monopolar electrodes over the anterior cortex; (ii) a monopolar electrode over the cerebellum (reference); and (iii) two bipolar electrodes into both hippocampi.

After one-week recovery, freely moving mice were video-LFP recorded (Micromed, sampling rate=1,024 Hz) for a mean duration of 20 hours (3 to 5 sessions) over a one month period. Ictal discharges were defined as the presence of rhythmic recruiting poly-spikes of high-amplitude (>2x the background activity) lasting for at least 6 s. Behaviors associated with limbic seizures in rodents typically included sudden cessation of activity, head bobbing, prolonged immobility then staring, rearing then falling with bilateral clonus. Both electrographic and behavioral correlates were required for the definition of seizure.

Immunohistochemistry was performed at the age of 4 months, using immunoperoxidase detection for anti-NPY (1:10000, rabbit; Sigma), as previously described (Kappeler et al., 2006; Nosten-Bertrand et al., 2008).

Data are expressed as mean + SEM (n= number of independent samples). Differences among the groups were compared using nonparametric Kruskal-Wallis test, and if significant, post-hoc tests were done using Dunn's correction (Prism; GraphPad). Significance was set at 0.05.

RESULTS

DCX-associated hippocampal dysplasia had no influence on HS

We first hypothesized that the CA3 dysplasia would render the mice more prone to HS, as suggested in rats (Scantlebury et al., 2005). We studied 132 pups, issued from 18 litters. Among them, 63 pups (47.7 %) were included in the hyperthermic seizure group (HS). The

distribution among genetic background (WT/Dcx-Hz/Dcx-KO) and sex is detailed in Table 1. No differences between WT, Dcx-Hz and Dcx-KO mice were detected neither for temperature seizure threshold, seizure time occurrence and duration, nor mortality before weaning (only 2 in both HS and Sham groups). Stereotyped behavioural seizures were observed among all pups whatever their genetic backgrounds. All pups reacted to the onset of hyperthermia with wild running, followed by an abrupt arrest of movement rapidly associated with distal erratic myoclonus alternating with recurrent increasing nose rubbing, followed by rearing then falling, as we recently described (Hamelin et al, submitted). This behaviour alternated with hypotonia, while pups lost their righting reflexes and were pauci-reactive.

HS did not increase the propensity to convulsive seizures in Dcx KO mice

Video-LFPs were obtained from both hippocampi and anterior cortex in 59 adult mice, for a total time recording of 1,333 hours. There was no difference in the averaged body weight measured before surgery (Table 1). A total of 17 seizures were recorded, mainly (88 %) in the Sham/Dcx-KO group: 15 clonic seizures that included jaw myoclonus, then forelimb clonus, were observed in 2 of the 10 Sham/Dcx-KO mice. The hippocampal discharges associated with these seizures (Fig 1-A,B) showed very reproducible time-frequency pattern and duration, as previously described (Nosten-Bertrand et al., 2008). In contrast, only one seizure was recorded in the HS/Dcx-KO group (Fig 1-C), but its duration was three-times longer than in Sham/Dcx-KO group. In HS/WT mice, only one short clonic seizure was observed, involving the hippocampus first. Seizure duration between the three groups expressing clonic seizure was different, although the difference did not reach the significance threshold (Fig 1-D; $p=0.08$).

Neuropathology and NPY expression

Histological analyses of cresyl-violet-stained sections of mice did not reveal any obvious pyramidal cell loss or granular cell dispersion in any of the 6 groups. We observed in all Dcx-KO mice (Sham and HS), that the CA3 region was divided into several distinct pyramidal cell layers, as previously described (Nosten-Bertrand et al., 2008). This was also observed in all Dcx-Hz mice, although in a less pronounced manner.

We previously showed that 56 % of Dcx-KO mice neo-expressed NPY in the mossy fibers stemming from the dentate gyrus to the CA3 region and rarely in inter-neurone process in the

outer molecular layer (OML), whereas the ectopic expression in Dcx-Hz animals was not investigated (Nosten-Bertrand et al., 2008). Neo-expression of NPY was observed in 75 % of the Sham/Dcx-KO mice (1/8 in OML) and in 62.5 % (2/8 in OML) in HS/Dcx-KO animals (Fig 1-E-F)

Such neo-expression of NPY was observed in 20 % of Sham/Dcx-Hz (0/6 in OML) but was present in 66 % of HS/Dcx-Hz (Chi-Square, alpha 0.15). We never observed any recurrent mossy fibers that traversed the GC layer, as in mice with hippocampal sclerosis.

DISCUSSION

The two main findings of our study are that (i) the existence of a dysplasia in the CA3 did not aggravate HS in immature mice; (ii) HS did not increase epileptogenesis that develops in Dcx-Ko adult mice (iii) but increased the ectopic expression of NPY in Dcx-Hz mice that did not expressed seizures.

(i) CA3 hippocampal dysplasia did not aggravate HS

In rats with cortical cryo-lesion, an increased in HS susceptibility was observed (Scantlebury et al., 2005), whereas in methylazoxymethanol acetate (MAM-E17) pups, the data were controversial (Germano et al., 1996; Park et al., 2010). This suggests that the CA3 dysplasia did not potentiate the HS process, possibly due to the location of the dysplasia (e.g., cortex vs hippocampus).

(ii) HS did not increase epileptogenesis that develops in Dcx-Ko mice.

Our data confirmed that in Dcx-KO mice, clonic seizures are relatively rare (15 seizures in 2 mice out of 8, during 200 hours of recordings) and initiated in the hippocampus without signs of hippocampal sclerosis (Nosten-Bertrand et al., 2008). In contrast with expected results, HS decreased their propensity to develop seizures and disagreed with previous published data in rats. Indeed, either in focal cortical poly-microgyria or cortical dysplasia in MAM-E17 rat model, HS increased the proportion of rats that developed seizures (Park et al., 2010; Gibbs et al., 2011). Nevertheless, our results were somewhat in agreement with clinical data obtained in patients with type 1 focal cortical dysplasia (FCD) and hippocampal sclerosis (Tassi et al., 2010) who showed a significant higher incidence of FS (54 % vs 5 %), but a lower seizure

frequency (10 vs 115) than patients with isolated FCD. To our knowledge, a relationship between seizure frequency and FS in MTLE has not been reported.

(iii) HS increased the ectopic expression of NPY in Dcx-Hz mice

As previously published (Nosten-Bertrand et al., 2008), ≈60 % of Dcx-KO mice displayed an ectopic expression of NPY in mossy fibers, without modification by HS. Nevertheless, HS highly increased the proportion of Dcx-Hz mice in which this neo-expression was present. The signification of this neo-expression remains poorly understood, and might reflect the pathological process of epileptogenesis. However, this neuropeptide has been suggested to suppress seizures, an effect that may depend on the type of NPY receptor involved. This suggests that an increase of NPY by HS would constitute a form of protective preconditioning. Our results, contrasting with previously published data on HS that occurred in lesioned immature brain, suggest that HS does not interact with the CA3 dysplasia to potentiate epileptogenesis. On the contrary, our data obtained in Dcx-Hz mice might suggest the existence of a pre-conditioning effect of HS that would rather protect against seizures via an increase expression of NPY.

BIBLIOGRAPHY

Corbo, J.C., Deuel, T.A., Long, J.M., LaPorte, P., Tsai, E., Wynshaw-Boris, A., and Walsh, C.A. (2002). Doublecortin is required in mice for lamination of the hippocampus but not the neocortex. *Journal of Neuroscience* 22, 7548–7557.

Francis, F., Koulakoff, A., Boucher, D., Chafey, P., Schaar, B., Vinet, M.C., Friocourt, G., McDonnell, N., Reiner, O., Kahn, A., et al. (1999). Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *Neuron* 23, 247–256.

French, J.A., Williamson, P.D., Thadani, V.M., Darcey, T.M., Mattson, R.H., Spencer, S.S., and Spencer, D.D. (1993). Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann Neurol.* 34, 774–780.

Germano, I., Zhang, Y., Sperber, E., and Moshe, S. (1996). Neuronal migration disorders increase susceptibility to hyperthermia-induced seizures in developing rats. *Epilepsia* 37, 902–910.

Gibbs, S., Chattopadhyaya, B., Desgent, S., Awad, P.N., Clerk-Lamallice, O., Levesque, M., Vianna, R.-M., Rébillard, R.-M., Delsemme, A.-A., Hébert, D., et al. (2011). Long-term consequences of a prolonged febrile seizure in a dual pathology model. *Neurobiology of Disease* 43, 312–321.

Gleeson, J.G., Lin, P.T., Flanagan, L.A., and Walsh, C.A. (1999). Doublecortin is a microtubule-associated protein and is expressed widely by migrating neurons. *Neuron* 23, 257–271.

Hamelin, S., Kahane, P., and Depaulis, A. (2009). Long-term effects of febrile status epilepticus: What animal models can tell us? *Epilepsia* 50 Suppl 12, 27–28.

Kappeler, C., Dhenain, M., Phan Dinh Tuy, F., Saillour, Y., Marty, S., Fallet-Bianco, C., Souville, I., Souil, E., Pinard, J.-M., Meyer, G., et al. (2007). Magnetic resonance imaging and histological studies of corpus callosal and hippocampal abnormalities linked to doublecortin deficiency. *J. Comp. Neurol.* 500, 239–254.

Kappeler, C., Saillour, Y., Baudoin, J.-P., Tuy, F.P.D., Alvarez, C., Houbron, C., Gaspar, P., Hamard, G., Chelly, J., Métin, C., et al. (2006). Branching and nucleokinesis defects in migrating interneurons derived from doublecortin knockout mice. *Hum Mol Genet* 15, 1387–1400.

Knudsen, F.U. (1996). Febrile seizures--treatment and outcome. *Brain and Development* 18, 438–449.

Lévesque, M.F., Nakasato, N., Vinters, H.V., and Babb, T.L. (1991). Surgical treatment of limbic epilepsy associated with extrahippocampal lesions: the problem of dual pathology. *J. Neurosurg.* 75, 364–370.

Nosten-Bertrand, M., Kappeler, C., Dinocourt, C., Denis, C., Germain, J., Dinh Tuy, F.P., Verstraeten, S., Alvarez, C., Métin, C., Chelly, J., et al. (2008). Epilepsy in Dcx Knockout Mice Associated with Discrete Lamination Defects and Enhanced Excitability in the Hippocampus. *PLoS ONE* 3, e2473.

Park, K.-I., Chu, K., Jung, K.-H., Kim, J.-H., Kang, K.-M., Lee, S.-T., Park, H.-K., Kim, M., Lee, S.K., and Roh, J.-K. (2010). Role of cortical dysplasia in epileptogenesis following prolonged febrile seizure. *Epilepsia* 51, 1809–1819.

Portes, Des, V., Pinard, J.M., Billuart, P., Vinet, M.C., Koulakoff, A., Carrié, A., Gelot, A., Dupuis, E., Motte, J., Berwald-Netter, Y., et al. (1998). A novel CNS gene required for neuronal migration and involved in X-linked subcortical laminar heterotopia and lissencephaly syndrome. *Cell* 92, 51–61.

Scantlebury, M.H., Gibbs, S.A., Foadjo, B., Lema, P., Psarropoulou, C., and Carmant, L. (2005). Febrile seizures in the predisposed brain: a new model of temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 58, 41–49.

Tassi, L., Garbelli, R., Colombo, N., Bramerio, M., Russo, Lo, G., Deleo, F., Milesi, G., and Spreafico, R. (2010). Type I focal cortical dysplasia: surgical outcome is related to histopathology. *Epileptic Disord* 12, 181–191.

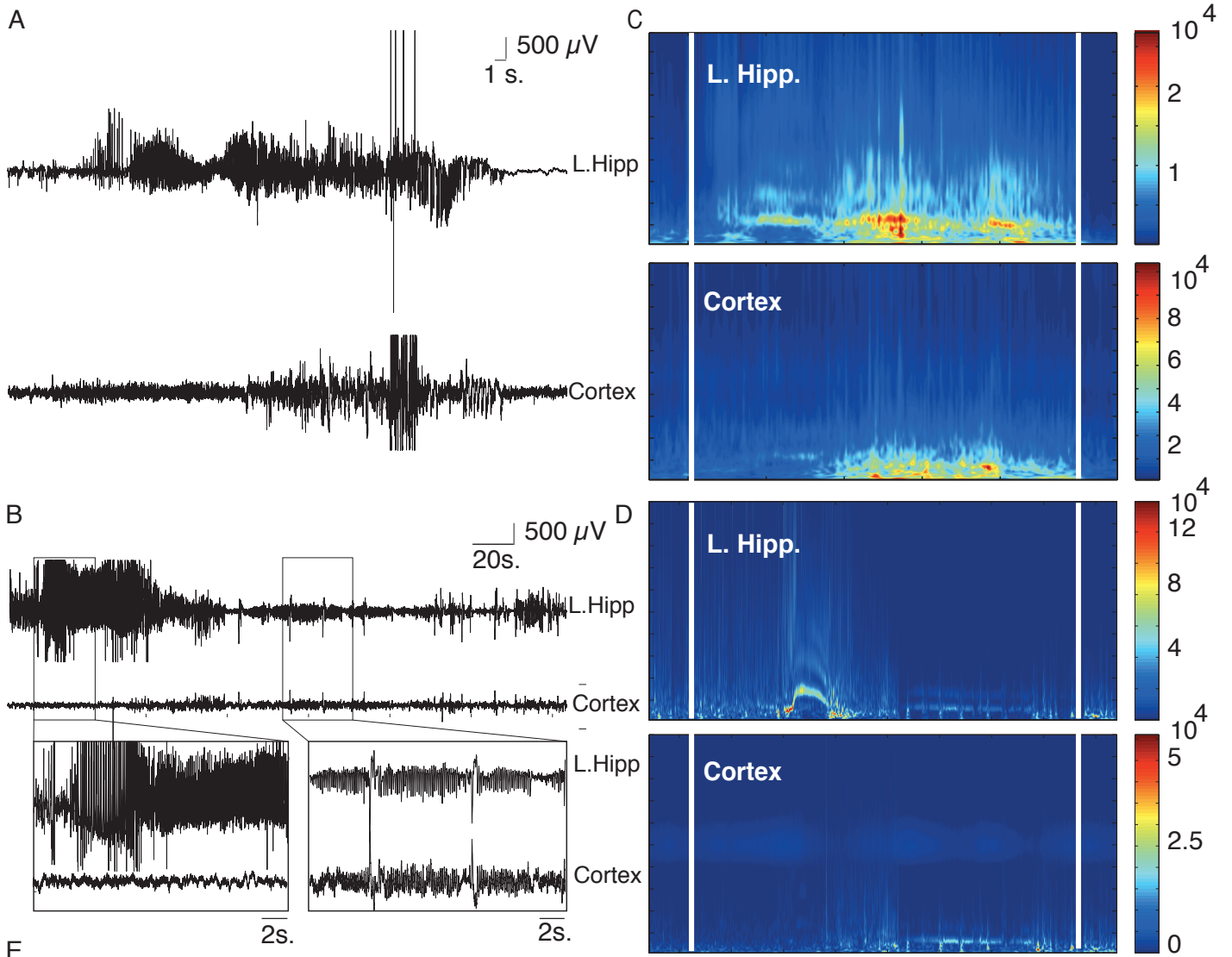
Vezzani, A., Sperk, G., and Colmers, W.F. (1999). Neuropeptide Y: emerging evidence for a functional role in seizure modulation. *Trends in Neurosciences* 22, 25–30.

Table 1: Hyperthermic seizures and EEG recordings

HS	Sham		HS			p	
	WT	Hz	KO	WT	Hz		KO
Male (n=60)	21	0	10	18	0	11	
Female (n=54)	15	10	0	13	16	0	
Total mice (n=114)	36	10	10	31	16	11	
Delay (min.)				7.7±1.0	6.0±0.9	7.3±2.1	0.44
Cage T°C				39.4±0.5	40.2±0.6	40.5±1.1	0.39
Body T°C				35.4±0.5	35.6±0.7	36.3±0.2	0.20
n=				10	12	7	
P60 weight (g)	22.3±1.7	20.4±0.5	24.9±0.7	23.5±1.2	21.25±0.9	27.6±1.2	ns
EEG recordings							
Male (n=31)	6	0	10	6	0	9	
Female (n=28)	5	7	0	6	10	0	
Total (n=59)	11	7	10	12	10	9	
EEG sessions (n)	4.0±0.2	4.0±0.4	3.6±0.4	4.2±0.3	3.8±0.4	4.2±0.3	
EEG mean duration (h/mice)	21.7±1.4	26.4±3.3	20.4±2.8	24.0±1.9	20.0±2.4	24.0±2.5	
EEG total time (h/group)	239.4	184.6	204.2	288.8	200.0	216.4	
Clonic seizures (n)	0	0	15 (2 mice)	1	0	1	
Inter-ictal spikes (n mice (%))	2 (18%)	0	4 (40%)	2 (16%)	1 (10%)	0	

Fig 1-A Hippocampal and cortical local field potential activities during clonic seizures in Sham/Dcx-KO mice

(A and B) Example of LFP recording in hippocampus and cortex during a spontaneous seizure in a freely-moving Sham/Dcx-KO mouse (A) and HS/Dcx-KO mouse (B). **(C and D)** Median average over seizures of LFP power in the time–frequency plane (n=15 seizures) from 2 Sham/Dcx-KO mice (C) and from a HS/Dcx-KO mouse (D). A standard pattern of power during HPDs was derived by normalizing the time axis of the time–frequency representation before median averaging (correspondence of start and end of HPDs was assumed; white lines). **(E)** Individual seizure duration in the different groups HS/WT, Sham/Dcx-KO, and HS/Dcx-KO (Kruskal-Wallis $p=0.08$) **(F)** NPY-immunolabelling in mice without neo-expression of NPY (top panel), in a Sham/WT mice, and of a neo-expression of NPY in a HS/Dcx-KO mice (bottom panel) **(G)** Percentage of mice that expressed NPY in mossy fibers in the different groups (Sham are in grey, n=9 WT, 4 Hz, 6 KO, HS are in black, n=6 WT, 5 Hz, 8 KO, Chi-Square:ns).



DISCUSSION

Les résultats de ces deux études montrent que les crises hyperthermiques influencent le développement de l'épileptogenèse de deux manières très différentes, selon le type d'épileptogenèse et la séquence de survenue des deux événements:

(i) Lorsque la crise hyperthermique précède l'injection de kainate et le développement d'une épilepsie hippocampique, on observe:

- Une accélération de l'épileptogenèse sans modification de la sévérité de l'état de mal initial.
- Une modification du pattern de décharge des crises lors de la phase chronique, avec une diminution du spectre de puissance dans les basses fréquences, sans modification de la fréquence ni de la durée des crises.
- Sur les caractéristiques de la sclérose de l'hippocampe, on observe une majoration de la dispersion des cellules granulaires, ainsi qu'une augmentation de leur hypertrophie, sans modification de l'importance de la perte cellulaire qui est massive dans les différents champs de la corne d'Ammon.
- Enfin, les dosages semi-quantitatifs ainsi que le marquage en immunohistochimie de la Reelin, de la Calrétinine et de la GFAP n'ont pas permis d'apporter de réponses claires permettant d'expliquer les modifications observées.

(ii) Lorsque la crise hyperthermique survient sur un hippocampe dysplasique, présentant un dédoublement localisé de la partie CA3 de la corne d'Ammon, on observe:

- Une absence de modification de l'intensité ou de la durée des crises hyperthermiques
- Une diminution de la proportion de souris qui développent une épilepsie et de la fréquence des crises enregistrées : les crises deviennent ainsi plus rares, mais plus longues.
- L'absence d'éléments évocateurs d'une sclérose de l'hippocampe.
- Une augmentation de la proportion des souris hétérozygotes pour la mutation double-cortine qui présentent une expression ectopique du NPY dans leurs fibres moussues.

A. CHOIX DES MODELES ANIMAUX

I. LE MODELE DE CRISE HYPERTHERMIQUE CHEZ LA SOURIS C57BL/6

Le modèle de crise hyperthermique que nous avons développé et étudié chez la souris C57BL/6 s'est avéré être une préparation fiable et reproductible qui présente plusieurs similitudes avec le modèle développé chez le rat, plus communément utilisé. La taille de l'animal semble être une des limites à l'utilisation de cette espèce, notamment du fait de la difficulté à utiliser des cadres stéréotaxiques et les techniques classiques d'implantation d'électrodes. Cependant, nous avons pu développer une technique adaptée au souriceau de 10 jours qui permet d'enregistrer l'activité critique sur l'EEG et d'y corréliser les modifications comportementales concomitantes, ce qui n'avait pas encore été publié (P14 chez la souris, (Dubé et al., 2005b)). Cela nous a permis notamment de mettre en évidence le début focal de la décharge épileptique au sein de l'hippocampe avant d'impliquer le cortex antérieur, de décrire au tout début de la phase hyperthermique un pattern d'ondes lentes à front raide pseudopériodiques, et de caractériser des épisodes de "*nose-wiping*" comme premiers symptômes des crises hyperthermiques dans ce modèle. Cet élément sémiologique est très évocateur du « *nose-wiping* » observé chez l'homme, chez les patients porteurs d'une épilepsie méso-temporale. Ce signe clinique apparaît souvent tardivement dans la crise et serait un bon signe latéralisateur, évocateur de l'implication de l'amygdale dans la décharge épileptique (Catenoix et al., 2004). A l'avenir, la possibilité de réaliser au cours de crises hyperthermiques un enregistrement simultané de l'amygdale et de l'hippocampe permettrait de mieux caractériser la topographie de la décharge chez le souriceau lors de ce « *nose wiping* ». L'utilisation d'une lignée consanguine (C57BL/6) a permis d'obtenir une excellente reproductibilité et une homogénéité dans la séquence de survenue des différents stades de la crise hyperthermique entre les différents animaux. Nos résultats sont ainsi tout à fait superposables à ceux obtenus chez le rat, avec un très faible taux de mortalité et une sémiologie des crises très similaires. Nos résultats sont également très concordants avec ceux des deux équipes qui ont publié des données dans un modèle souris de crises hyperthermiques (Dubé et al., 2005b; van Gassen et al., 2008; Hessel et al., 2009). Il est à noter cependant que la température de survenue des premiers symptômes de crises en contexte d'hyperthermie, est plus basse ($36.50 \pm 0.3^\circ\text{C}$ vs $39.7 \pm 0.2^\circ\text{C}$) lorsque les souriceaux ont 10 jours que celle publiée à P14 (Dubé et al., 2005b). Ceci est concordant avec les données d'évolution de la sensibilité aux

crises hyperthermiques en fonction de l'âge (Baram et al., 1997). Enfin, l'avantage de l'utilisation de cette espèce, notamment par rapport à l'utilisation du même modèle chez le rat, est la possibilité d'utiliser différentes lignées génétiques ou transgéniques, en fonction de la question posée (article 3).

II. LE MODELE DE CRISE HIPPOCAMPIQUE CHEZ LA SOURIS C57BL/6

L'utilisation du modèle de la souris MTLE dans l'étude présentée dans l'article 2 a de nombreux avantages. L'une des caractéristiques de ce modèle, qui nous permet de faire un lien avec la pathologie humaine, est l'existence d'une période latente après l'état de mal qui correspond à l'organisation de l'épileptogenèse. Cette phase est primordiale dans la modélisation des MTLE car c'est dans cette fenêtre de temps que l'on espère pouvoir un jour proposer des thérapeutiques préventives visant à bloquer le processus d'épileptogenèse (Suzuki et al., 2005). L'une des autres caractéristiques de ce modèle réside dans le développement d'une épilepsie chronique, où le pattern électroencéphalographique des décharges paroxystiques hippocampiques est très stable au cours du temps. Ces décharges surviennent de manière spontanée, avec une fréquence et une régularité suffisante pour permettre leur quantification et évaluer les conséquences des différentes actions (pharmacologiques ou physiques) pouvant venir les moduler (Riban et al., 2002; Heinrich et al., 2011). La nature des crises ainsi que leur caractère pauci-symptomatique rend l'enregistrement EEG aisé, sans artéfact de mouvement, ce qui permet ensuite l'analyse des caractéristiques du signal (Langlois et al., 2010). Dans ce modèle, les modifications neuro-pathologiques sont également très proches de celles observées en pathologie humaine. Comme dans d'autres modèles d'épilepsie temporale, on retrouve les éléments classiques de la sclérose de l'hippocampe que sont: (i) la perte cellulaire sélective des champs CA1, CA3 et du hile; (ii) la gliose réactionnelle; et (iii) le bourgeonnement des fibres moussues. Ce modèle présente également comme particularité une dispersion et une hypertrophie importante des cellules granulaires du gyrus denté (Suzuki et al., 1995), que l'on ne retrouve pas dans les modèles induits par l'injection systémique de pilocarpine ou de kainate chez le rat par exemple. Ce point est particulièrement important dans ce travail étant donné la relation significative faite en clinique entre l'antécédent de crises fébriles et la dispersion des cellules granulaires. L'analyse, dans ce modèle, des mécanismes aboutissants à la dispersion des cellules granulaires a permis de montrer une

perte des inter-neurones GABAergiques, qui synthétisent et libèrent de la reelin, ainsi que la préservation des cellules de Cajal-Retzius, dont la capacité de sécrétion de la reelin est altérée (Duveau et al., 2010; Heinrich et al., 2011). Ce modèle présente également comme similitude par rapport à la pathologie humaine la résistance des décharges paroxystiques hippocampiques à certains antiépileptiques (Bressand et al., 2009). Ces parallèles entre les caractéristiques de notre modèle et la pathologie humaine de MTLE avec sclérose de l'hippocampe nous ont semblé pertinents pour approcher les conséquences des crises fébriles sur l'organisation anatomique de la sclérose hippocampique.

Ce modèle présente néanmoins des limites techniques et conceptuelles. Ainsi, les coordonnées du site de l'injection, le volume de l'injection, la position des électrodes, la qualité des soudures ainsi que des connectiques de recueil EEG sont autant de points qui peuvent altérer la qualité des résultats. Ces difficultés imposent l'utilisation de plusieurs points de contrôles permettant de valider la qualité de chaque étape. Seuls les animaux qui présentent au final une dispersion, une perte cellulaire massive dans les champs CA1, CA3 et dans le hile, ainsi que des décharges paroxystiques hippocampiques de type 5 ont été retenus. L'une des améliorations qui pourrait être proposée dans notre technique d'implantation serait l'utilisation d'électrodes industrielles, permettant le recueil étagé précis des différentes structures (CA3, Gyrus, fissure, CA1). De même, la possibilité d'utiliser des tétrodes pour le recueil d'activités unitaires permettrait de mieux caractériser les modifications de signaux recueillis au cours des décharges paroxystiques. L'utilisation de ce modèle dans le but d'étudier les conséquences des crises hyperthermiques présente également des limites conceptuelles par rapport à la pathologie humaine : (i) L'injection de kainate dans l'hippocampe telle qu'utilisée habituellement (1 nmol) entraîne le développement d'une épilepsie et d'une sclérose de l'hippocampe chez 100% des souris (dans la limite des difficultés techniques citées-ci dessus)(Suzuki et al., 1995; Riban et al., 2002). Afin de caractériser les conséquences des crises hyperthermiques sur l'épileptogénèse et le développement d'une sclérose de l'hippocampe, l'injection de doses plus faibles de kainate pourrait être envisagée. En effet, des injections inférieures à 0,8 nmol entraînent une perte cellulaire spécifique dans le champ CA1, sans dispersion des cellules granulaires (Suzuki et al., 1995). Une série d'injections à plus faible dose pourrait permettre de définir si les crises hyperthermiques facilitent le développement d'une épilepsie lorsque le second évènement est « infra-épileptogène ». Le choix a été fait de ne pas réaliser cette série d'expérimentation du fait d'une faible

caractérisation des conséquences de l'injection de faibles doses chez la souris contrôle, mais également en raison de l'augmentation de la variabilité interindividuelle à plus faible dose. (ii) La seconde limite conceptuelle à cette partie de l'étude est l'âge à l'injection du kaïnate dans l'hippocampe. Chez l'homme, dans le cadre des MTLE avec une pathologie double, la seconde lésion qui s'associe à la sclérose de l'hippocampe est généralement soit constitutionnelle, soit acquise dans les premiers mois de vie (souffrance anoxo-ischémique, accident vasculaire cérébral, traumatisme crânien...). La plupart des études ne rapportent pas l'âge de survenue de ce second évènement, mais la grande majorité semble précéder la crise fébrile : l'ensemble des deux évènements surviennent dans la majorité des cas sur un cerveau encore immature. Cette séquence de modélisation n'a donc pas pour but de reproduire l'histoire clinique de patients qui souffrent d'une MTLE, comme le fait l'étude proposée dans l'article 3, mais d'aborder les modifications induites par les crises fébriles sur le long terme. La majoration de la dispersion des cellules granulaires après crises hyperthermiques dans ce modèle est l'un des éléments clefs qui nous permet d'affirmer que de telles modifications existent. L'étude des mécanismes de cette dispersion, très similaire à celle retrouvée chez l'homme, pourrait ainsi permettre de mieux comprendre le rôle des crises fébriles, mais également le rôle de la dispersion dans l'épilepsie méso-temporale avec sclérose hippocampique. Une adaptation du modèle de la souris MTLE chez un animal immature pourrait également être envisagée. L'injection d'une dose de kaïnate dans l'hippocampe d'animaux immature, avant ou après l'âge des crises hyperthermiques, devrait permettre de se rapprocher des conditions observées chez l'homme. Néanmoins, en raison de l'étendue des inconnues (dose de kaïnate à utiliser, coordonnées des injections et techniques de réalisation chez des animaux de moins de 5 grammes, taux de survie...), nous avons préféré étudier les conséquences des crises hyperthermiques dans un modèle connu et validé.

En conclusion, le choix du modèle de la souris MTLE présente comme principal intérêt la très bonne reproductibilité des éléments du syndrome méso-temporal, notamment ceux qui sont connus comme étant modifiés par les crises fébriles chez l'homme: La période silencieuse, la nature focale des crises à la phase chronique, la dispersion des cellules granulaires du gyrus denté.

III. LE MODELE SOURIS DCX-KO

Le second modèle que nous avons proposé pour modéliser les conséquences des crises hyperthermiques est le modèle de dysplasie de la partie du CA3 de l'hippocampe induite par une mutation KO sur le gène de la double cortine. L'intérêt de ce modèle, contrairement au modèle de la souris MTLE, est de reproduire la séquence chronologique la plus souvent observée chez l'homme dans le cadre des pathologies doubles. La présence de cette dysplasie constitutionnelle, de fait, présente lors de la crise hyperthermique, reproduit parfaitement les conditions observées chez l'homme de deux événements survenant sur un cerveau immature. La mutation Dcx-KO sur cette souche de souris C57BL/6 entraîne un dédoublement isolé de la partie CA3 de la corne d'Ammon, sans aucune autre lésion notamment néo-corticale (Kappeler et al., 2007; Bazelot et al., 2012). Nous avons choisi d'utiliser un modèle avec une dysplasie unique et hippocampique en raison des travaux chez l'homme qui montrent la présence d'anomalies morphologiques des différents champs de la corne d'Ammon chez certains patients opérés d'une MTLE avec sclérose de l'hippocampe, ainsi que dans les familles avec une incidence forte de crises fébriles (Sloviter and Pedley, 1998; Sloviter et al., 2004). La possibilité d'étudier les conséquences des mêmes crises hyperthermiques chez les femelles hétérozygotes, chez lesquelles la même anomalie développementale est retrouvée, mais dans des proportions moindres, est également un point positif dans le choix de ce modèle (Kappeler et al., 2007). De plus, la présence chez un certain nombre de souris Dcx-KO, de crises spontanées hippocampiques à l'âge adulte (Nosten-Bertrand et al., 2008), nous permettait d'étudier les conséquences des crises hyperthermiques sur le développement d'une épilepsie. Néanmoins, les résultats de cette étude ne vont pas dans le sens de notre hypothèse de travail. En effet, les données chez le rat dans le cadre des pathologies doubles (cryo-lésions et E17-MAM) montrent une augmentation de la prévalence de l'épilepsie, ainsi qu'une aggravation, dans la majorité des cas, des crises hyperthermiques. De plus, en pathologie humaine, il est supposé dans la théorie du « double choc » que les deux événements ont un effet potentiateur l'un par rapport à l'autre. Au contraire, nos résultats suggèrent une diminution de l'incidence de l'épilepsie chez les animaux soumis aux crises hyperthermiques. Ces résultats contradictoires sont peut être expliqués par le choix d'un modèle avec une dysplasie hippocampique isolée, et non corticale. Il est possible que l'aggravation de crises hyperthermiques par la présence d'une dysplasie préexistante nécessite que celle-ci soit

distante de l'hippocampe, impliquant une région corticale à forte connexion avec les structures limbiques, de manière à créer un réseau d'organisation pathologique. Le second point limitant dans notre étude est la faible incidence de l'épilepsie chez les souris Dcx-KO, indépendamment des crises hyperthermiques, ainsi que la rareté des crises chez les animaux épileptiques. Selon notre hypothèse initiale, cet élément aurait pu être un avantage. De fait, la faible fréquence de survenue des crises et l'absence de décharges intercritiques rendent difficile la quantification d'un phénomène protecteur. La troisième limite dans le choix de ce modèle est le caractère bilatéral et globalement symétrique de la dysplasie. Dans le modèle de cryo-lésion chez le rat, la crise hyperthermique induit une atrophie et une perte neuronale hippocampique du côté de la lésion, et non de manière bilatérale (Gibbs et al., 2008). De même chez l'homme, en cas de pathologie double, la lésion annexe et la sclérose de l'hippocampe sont du même côté dans 98 % des cas (Hofman et al., 2011). Il existe certains cas où la sclérose hippocampique est bilatérale et la lésion annexe unilatérale (10,6%), et à l'opposé, des lésions annexes bilatérales avec une sclérose hippocampique unilatérale (17,5 %) (Hofman et al., 2011). De plus, l'aspect bilatéral de l'atrophie de l'hippocampe semble plus facilement retrouvé en cas de pathologie double (malformation développementale temporale et sclérose de l'hippocampe), bien que la lésion annexe soit strictement unilatérale (Ho et al., 1998). Dans les rares cas de sclérose hippocampique bilatérale, l'aspect est différent entre l'hippocampe « générateur » de la crise, pour lequel la sclérose est plutôt antéro-inférieure, et l'hippocampe « receveur », pour lequel la sclérose est plutôt postérieure ou implique le corps de l'hippocampe (Bonilha et al., 2012). Ainsi, la relation entre la latéralisation d'une lésion et la survenue d'une sclérose de l'hippocampe, unilatérale et homolatérale, n'est pas simple. Dans le modèle de souris Dcx-KO, la présence d'une dysplasie intra-hippocampique bilatérale est sans doute l'un des éléments principaux à l'origine de la non aggravation de l'épilepsie par la crise hyperthermique. L'utilisation d'un modèle avec une dysplasie unilatérale et/ou corticale, devrait permettre de répondre à cette limitation.

En conclusion, la modélisation des crises hyperthermiques sur le modèle de souris Dcx-KO avec une dysplasie hippocampique bilatérale a eu pour principal intérêt de reproduire la séquence classique du double choc observée en pathologie humaine sur un cerveau immature. La dysplasie est ainsi constitutionnelle et présente lors de la crise hyperthermique. Pourtant, le caractère purement hippocampique est probablement responsable de l'absence d'aggravation

des crises hyperthermiques chez ces animaux, limitant ainsi leurs conséquences. La caractérisation d'un phénomène protecteur non attendu des crises hyperthermiques dans ce modèle en particulier est rendue difficile par la faible incidence de l'épilepsie hippocampique chez les animaux KO.

B. HYPOTHESE 1: PAR QUELS MECANISMES UNE CRISE HYPERTHERMIQUE FACILITERAIT LA ROUTE VERS L'ÉPILEPSIE?

L'hypothèse initiale de ce travail est que les crises hyperthermiques sur un cerveau immature entraînent des modifications morphologiques et fonctionnelles qui faciliteraient la transformation d'un cerveau sain en un cerveau épileptique. En d'autres termes, la crise hyperthermique favoriserait la « route vers l'épilepsie ». Il n'existe pas de définition univoque de ce qu'est un cerveau « épileptique » par rapport à un cerveau « sain ». Il existe des arguments indirects (sprouting, néo-expression de marqueurs de développements, de NPY...) sortent de « corrélats biologiques » qui permettent d'approcher cette définition, sans que l'on puisse les considérer comme de véritables marqueurs pathognomoniques de l'épilepsie. Les résultats obtenus dans notre première étude (article 2) montrent une accélération de la phase d'épileptogénèse ainsi qu'une nette augmentation de la dispersion des cellules granulaires dans les 2 mois qui suivent une crise hyperthermique. Ces résultats sont concordants avec ceux obtenus chez l'homme qui associent les crises fébriles à la dispersion des cellules granulaires (Houser, 1990; Lurton et al., 1998; Haas et al., 2002). Dans le modèle de la souris MTLE, une évolution parallèle de l'épileptogénèse et de la dispersion des cellules granulaires a été décrite (Heinrich et al, 2011; Suzuki et al, 2008). Différents mécanismes qui permettent de moduler, toujours de manière parallèle, l'évolution de la dispersion et la rapidité de l'épileptogénèse ont été décrits :

- (i) Le BDNF, ainsi que de son récepteur à haute affinité (TrkB) est l'un d'entre eux. Une importante augmentation du BDNF a été montrée au sein de l'hippocampe à la suite de l'injection de kaïnate qui atteint son maximum 15 à 16 jours après l'injection (Heinrich et al, 2011). Il a également été montré que la surexpression ou l'inhibition des récepteurs à haute affinité du BDNF (TrkB) accélère ou ralentit la phase d'épileptogénèse, sans influencer la nature des crises lors de la phase chronique. Concernant la dispersion des cellules granulaires du gyrus denté, leur

déplacement est guidé par un déficit local en reelin (Heinrich et al., 2006) favorisé par la mort des inter-neurons GABAergiques sécréteurs de reelin, mais également par une altération de la capacité de clivage et d'excrétion de la reelin par les cellules de Cajal-Retzius (Duveau et al., 2010). Ces cellules sont préservées dans l'hippocampe sclérotique, aussi bien chez l'homme (Blümcke et al., 1996; 1999; Haas et al., 2002), que dans le modèle de la souris MTLE (Duveau et al., 2010). Leur capacité d'excrétion de la reelin dépend du taux de BDNF ainsi que de l'expression sur leur membrane des récepteurs TrkB (Ringstedt et al., 1998), expression qui est augmentée dans l'hippocampe de la souris MTLE (Duveau et al., 2010). Ainsi, la crise hyperthermique pourrait moduler sur le long terme l'expression du récepteur TrkB à la membrane des cellules de Cajal-Retzius, mais également au niveau des autres structures de l'hippocampe, pour le rendre ainsi plus sensible à la survenue d'un second évènement traumatique.

- (ii) Une autre hypothèse, qui permettrait d'expliquer à la fois la majoration de la dispersion ainsi que l'accélération de l'épileptogenèse, concerne la modification de la maturation des différentes sous-unités du récepteur NMDA. Dans le modèle de la souris MTLE, l'application d'un antagoniste NMDA (Suzuki et al., 2005) ou d'un bloqueur de la transmission glutamatergique (Antonucci et al., 2008) bloque la dispersion des cellules granulaires, ralentit l'épileptogenèse, sans pour autant entraîner de modification de l'épilepsie à la phase chronique. Parallèlement, dans certains modèles de crises fébriles répétées ou dans le cadre des modèles de pathologie double, il existe une augmentation spécifique de l'expression de la sous-unité NR2_A (Chang et al., 2005; Ouardouz et al., 2010; Gibbs et al., 2011). De plus, le switch du ratio NR2_B/NR2_A survient entre P7 et P10, période de l'application du protocole des crises hyperthermiques (Liu et al., 2004). Selon cette seconde hypothèse, une modification du rapport NR2_B/NR2_A à la suite d'une crise hyperthermique pourrait modifier la cinétique de réponse des récepteurs NMDA et être à l'origine d'une plus grande sensibilité aux stimulations glutamatergiques. Bien que contradictoire, une partie des résultats de la seconde étude (article 3) va dans le sens d'une augmentation, par les crises hyperthermiques, de la route vers l'épilepsie. En effet, malgré la diminution de la fréquence des crises chez les

animaux Dcx-KO soumis aux crises hyperthermiques, (voir plus loin), on observe une augmentation de la proportion de souris hétérozygotes qui expriment le NPY de manière ectopique. L'expression ectopique du NPY dans les fibres moussues est induite par une stimulation glutamatergique pathologique (Nadler et al., 2007), mais également par une augmentation de l'expression du BDNF (Reibel et al., 2000). La néo-expression du NPY pourrait ainsi être vue comme un indicateur indirect de la transformation d'un cerveau sain en un cerveau épileptique (Schwarzer et al., 1996).

Les données issues de ces deux articles suggèrent une facilitation par les crises hyperthermiques de la transformation d'un cerveau « sain » en un cerveau « potentiellement épileptique », laissant entrevoir l'implication de la cascade d'activation du BDNF, mais également des sous-unités NR2 du récepteur NMDA.

C. HYPOTHESE 2: POURQUOI UNE CRISE HYPERTHERMIQUE NE FAVORISE T'ELLE PAS LA ROUTE VERS LA CRISE?

Après avoir montré que les crises hyperthermiques facilitent la route vers l'épilepsie, la seconde hypothèse issue de ce travail suggère que les crises hyperthermiques n'ont pas d'effet facilitateur sur la survenue d'une crise d'épilepsie. Cette distinction repose sur deux éléments fondamentalement différents que sont l'organisation du cerveau épileptique, apte à faire des crises dans certaines conditions, mais majoritairement en état d'équilibre, et l'état spécifique du cerveau, dans l'instant qui précède la survenue de la crise. La première étude sur l'influence des crises hyperthermiques sur les conséquences immédiates de l'injection intra-hippocampique de kaïnate montre que celles-ci n'aggravent pas la nature de l'état de mal. Au contraire, nous avons observé plutôt à une réduction de la fréquence des pointes. Les crises hyperthermiques n'ont également pas d'influence sur la fréquence ni sur la durée des décharges paroxystiques hippocampiques lors de la phase chronique de l'épilepsie. Pourtant, après les crises hyperthermiques, le pattern de la décharge paroxystique hippocampique est modifié, comme montré dans l'article 2. Il existe au sein des décharges une diminution relative de la puissance des basses fréquences au profit d'un spectre d'activation fréquentiel beaucoup plus homogène au cours de la crise. L'une des possibilités pour étudier les conséquences des crises hyperthermiques sur la transition pré-ictale serait de réaliser une analyse fine des paroxysmes inter-ictaux, pré-ictaux (Huberfeld et al., 2011) et de la décharge paroxystique elle-même chez la souris kaïnate, ce qui permettrait de mieux comprendre les modifications de la route vers la crise. L'analyse par enregistrements unitaire par tétrode dans les différents champs de la corne d'Ammon pourrait mettre en évidence des modifications de la cinétique des spikes pré-ictaux, reflet de l'équilibre entre les transmissions glutamatergiques et GABAergiques (Huberfeld et al., 2011), ainsi que des modifications déjà décrites des courants Ih (Bender and Baram, 2007).

Les résultats de la seconde étude suggèrent que les crises fébriles pourraient avoir un rôle protecteur face à la survenue de crises. Bien qu'en contradiction avec les travaux précédents chez l'animal (Park et al., 2010; Gibbs et al., 2011), cet effet protecteur sur la survenue de crises a été décrit chez des patients épileptiques porteurs de dysplasie de type 1. Ceux-ci font en effet moins de crises s'ils ont un antécédent de crise fébrile et une sclérose de

l'hippocampe que ceux porteurs d'une dysplasie seule (Tassi et al., 2010). A ma connaissance, il n'existe pas, chez l'homme, de donnée contradictoire montrant une augmentation de la fréquence des crises chez les patients ayant présenté une crise fébrile. La survenue des deux évènements du « double choc » à une phase charnière de la maturation cérébrale (transition entre un GABA excitateur et un GABA inhibiteur, switch NR2_B/NR2_A...) pourrait favoriser la mise en place de mécanismes de régulation « anti-crise ». L'expression du NPY fait partie de ces mécanismes possibles, mais d'autres pistes seraient à explorer. Parmi celles-ci, l'analyse des conséquences des crises hyperthermiques sur l'expression des différentes molécules impliquées dans les phénomènes de pré-conditionnement pourrait être envisagée. Le pré-conditionnement correspond à la mise en place de mécanismes protecteurs dans les suites d'une première agression non létale (anoxique, critique, hyperthermie...)(ElBahh et al., 1997). Ce mécanisme persiste sur quelques jours et est responsable d'une diminution de la perte neuronale et de la sensibilité aux crises face à un second évènement. Parmi les molécules cibles, outre le NPY (ElBahh et al., 1997), on trouve les molécules de signalisation CREB (Kim et al., 2011; Severino et al., 2011; Zhu et al., 2012), ERK (Kim et al., 2011), mais également les molécules d'adhésion PSA-NCAM (Duveau et al., 2005; 2007) ainsi que les protéines de stress : HSP 27 et 70 (Heat Shock Protein)(Bidmon et al., 2004). Une autre approche pourrait-être l'étude des différences de méthylation des gènes exprimés dans l'hippocampe comme cela a été proposé après un conditionnement (Miller-Delaney et al., 2012).

Ainsi, nos résultats suggèrent que les crises hyperthermiques favoriseraient la route vers l'épilepsie mais pas nécessairement celle vers la crise. Elles pourraient ainsi favoriser la transformation d'un cerveau sain en un cerveau épileptique. Cependant, comme cette translation vers un nouvel équilibre s'effectue à une période de grande plasticité cérébrale, des mécanismes compensateurs anti-crisés pourraient se mettre en place.

CONCLUSION

La relation entre les crises fébriles de l'enfant et le développement ultérieur d'une épilepsie méso-temporale avec une sclérose de l'hippocampe reste méconnue. Les études chez l'homme montrent que la crise fébrile préalable favorise, après une période silencieuse de quelques années, le développement d'une épilepsie temporale particulière. Celle-ci est marquée par la présence d'une dispersion des cellules granulaires du gyrus denté et une atrophie hippocampique marquée. La modélisation des crises fébriles par des crises hyperthermiques chez la souris immature permet d'aborder cette problématique de manière prospective, en associant à cet événement épileptique un second événement traumatique, soit développemental, soit acquis. Le fait qu'une crise hyperthermique puisse faciliter, comme chez l'homme, une majoration de la dispersion du gyrus denté, est un argument fort pour valider l'utilisation de ce modèle dans ce but. L'ensemble de nos résultats suggèrent que la crise fébrile aurait un effet facilitateur sur le développement d'une épilepsie, mais il est probable que la plasticité cérébrale du cerveau immature puisse permettre la mise en place de mécanismes de régulations anti-crisis qui expliqueraient la diminution des crises dans le modèle de dysplasie hippocampique.

BIBLIOGRAPHIE

Abou-Khalil, B., Andermann, E., Andermann, F., Olivier, A., and Quesney, L.F. (1993). Temporal lobe epilepsy after prolonged febrile convulsions: excellent outcome after surgical treatment. *Epilepsia* 34, 878–883.

Annegers, J.F., Hauser, W.A., Elveback, L.R., and Kurland, L.T. (1979). The risk of epilepsy following febrile convulsions. *Neurology* 29, 297–303.

Antonucci, F., Di Garbo, A., Novelli, E., Manno, I., Sartucci, F., Bozzi, Y., and Caleo, M. (2008). Botulinum neurotoxin E (BoNT/E) reduces CA1 neuron loss and granule cell dispersion, with no effects on chronic seizures, in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Experimental Neurology* 210, 388–401.

Ateş, N., Akman, O., and Karson, A. (2005). The effects of the immature rat model of febrile seizures on the occurrence of later generalized tonic-clonic and absence epilepsy. *Brain Res Dev Brain Res* 154, 137–140.

Auvin, S., Porta, N., Nehlig, A., Lecoq, C., Vallée, L., and Bordet, R. (2009). Inflammation in rat pups subjected to short hyperthermic seizures enhances brain long-term excitability. *Epilepsy Res* 86, 124–130.

Auvin, S., Shin, D., Mazarati, A., Nakagawa, J., Miyamoto, J., and Sankar, R. (2007). Inflammation exacerbates seizure-induced injury in the immature brain. In *Epilepsia*, pp. 27–34.

Babb, T.L., Lieb, J.P., Brown, W.J., Pretorius, J., and Crandall, P.H. (1984). Distribution of pyramidal cell density and hyperexcitability in the epileptic human hippocampal formation. *Epilepsia* 25, 721–728.

Baram, T.Z., and Shinnar, S. (2002a). Febrile seizures chap 1 (Academic Pr).

Baram, T.Z., and Shinnar, S. (2002b). Febrile seizures chap 5 (Academic Pr).

Baram, T.Z., and Shinnar, S. (2002c). Febrile seizures chap 7 (Academic Pr).

- Baram, T.Z., and Shinnar, S. (2002d). Febrile seizures chap 9 (Academic Pr).
- Baram, T.Z., Gerth, A., and Schultz, L. (1997). Febrile seizures: an appropriate-aged model suitable for long-term studies. *Brain Res Dev Brain Res* 98, 265–270.
- Baram, T.Z., Hirsch, E., and Schultz, L. (1993). Short-interval amygdala kindling in neonatal rats. *Brain Res Dev Brain Res* 73, 79–83.
- Barr, W.B., Ashtari, M., and Schaul, N. (1997). Bilateral reductions in hippocampal volume in adults with epilepsy and a history of febrile seizures. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 63, 461–467.
- Baulac, S., Gourfinkel-An, I., Couarch, P., Depienne, C., Kaminska, A., Dulac, O., Baulac, M., Leguern, E., and Nabbout, R. (2008). A novel locus for generalized epilepsy with febrile seizures plus in French families. *Arch. Neurol.* 65, 943–951.
- Baulac, S., Gourfinkel-An, I., Nabbout, R., Huberfeld, G., Serratosa, J., Leguern, E., and Baulac, M. (2004). Fever, genes, and epilepsy. *The Lancet Neurology* 3, 421–430.
- Baulac, S., Picard, F., Herman, A., Feingold, J., Genin, E., Hirsch, E., Prud'homme, J.F., Baulac, M., Brice, A., and LeGuern, E. (2001). Evidence for digenic inheritance in a family with both febrile convulsions and temporal lobe epilepsy implicating chromosomes 18qter and 1q25-q31. *Ann Neurol.* 49, 786–792.
- Bazelot, M., Simonnet, J., Dinocourt, C., Bruel-Jungerman, E., Miles, R., Fricker, D., and Francis, F. (2012). Cellular anatomy, physiology and epileptiform activity in the CA3 region of Dcx knockout mice: a neuronal lamination defect and its consequences. *European Journal of Neuroscience* 35, 244–256.
- Ben-Ari, Y., and Holmes, G.L. (2006). Effects of seizures on developmental processes in the immature brain. *The Lancet Neurology* 5, 1055–1063.
- Ben-Ari, Y., Khazipov, R., Leinekugel, X., Caillard, O., and Gaiarsa, J.L. (1997). GABAA, NMDA and AMPA receptors: a developmentally regulated 'ménage à trois'. *Trends in Neurosciences* 20, 523–529.

Bender, R.A., and Baram, T.Z. (2007). Epileptogenesis in the developing brain: what can we learn from animal models? *Epilepsia* 48 Suppl 5, 2–6.

Bender, R.A., Soleymani, S.V., Brewster, A.L., Nguyen, S.T., Beck, H., Mathern, G.W., and Baram, T.Z. (2003). Enhanced expression of a specific hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channel (HCN) in surviving dentate gyrus granule cells of human and experimental epileptic hippocampus. *Journal of Neuroscience* 23, 6826–6836.

Berg, A.T., and Shinnar, S. (1996). Unprovoked seizures in children with febrile seizures: short-term outcome. *Neurology* 47, 562–568.

Berg, A.T., Shinnar, S., Hauser, W.A., Alemany, M., Shapiro, E.D., Salomon, M.E., and Crain, E.F. (1992). A prospective study of recurrent febrile seizures. *N Engl J Med* 327, 1122–1127.

Berg, A.T., Shinnar, S., Levy, S.R., and Testa, F.M. (1999). Childhood-onset epilepsy with and without preceding febrile seizures. *Neurology* 53, 1742–1748.

Bidmon, H.-J., Görg, B., Palomero-Gallagher, N., Behne, F., Lahl, R., Pannek, H.W., Speckmann, E.-J., and Zilles, K. (2004). Heat shock protein-27 is upregulated in the temporal cortex of patients with epilepsy. *Epilepsia* 45, 1549–1559.

Blümcke, I., and Spreafico, R. (2011). An international consensus classification for focal cortical dysplasias. *Lancet Neurol* 10, 26–27.

Blümcke, I., Beck, H., Nitsch, R., Eickhoff, C., Scheffler, B., Celio, M., Schramm, J., Elger, C., Wolf, H., and Wiestler, O. (1996). Preservation of calretinin-immunoreactive neurons in the hippocampus of epilepsy patients with Ammon's horn sclerosis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 55, 329–341.

Blümcke, I., Beck, H., Suter, B., Hoffmann, D., Fodisch, H., Wolf, H., Schramm, J., Elger, C., and Wiestler, O. (1999). An increase of hippocampal calretinin-immunoreactive neurons correlates with early febrile seizures in temporal lobe epilepsy. *Acta Neuropathol* 97, 31–39.

Blümcke, I., Pauli, E., Clusmann, H., Schramm, J., Becker, A., Elger, C., Merschhemke, M., Meencke, H.-J., Lehmann, T., Deimling, A., et al. (2007). A new clinico-pathological classification system for mesial temporal sclerosis. *Acta Neuropathol* 113, 235–244.

Blümcke, I., Thom, M., Aronica, E., Armstrong, D.D., Vinters, H.V., Palmini, A., Jacques, T.S., Avanzini, G., Barkovich, A.J., Battaglia, G., et al. (2011). The clinicopathologic spectrum of focal cortical dysplasias: a consensus classification proposed by an ad hoc Task Force of the ILAE Diagnostic Methods Commission. *Epilepsia* 52, 158–174.

Bocti, C., Robitaille, Y., Diadori, P., Lortie, A., Mercier, C., Bouthillier, A., and Carmant, L. (2003). The pathological basis of temporal lobe epilepsy in childhood. *Neurology* 60, 191–195.

Bonilha, L., Halford, J.J., Morgan, P.S., and Edwards, J.C. (2012). Hippocampal atrophy in temporal lobe epilepsy: the 'generator' and 'receiver'. *Acta Neurol. Scand.* 125, 105–110.

Bressand, K., Roucard, C., and Depaulis, A. (2009). La souris MTLE : un modèle validé pour l'évaluation de molécules anti-épileptiques pour le traitement de l'épilepsie mésiotemporale. *Epilepsies* 1–10.

Brewster, A., Bender, R.A., Chen, Y., Dubé, C., Eghbal-Ahmadi, M., and Baram, T.Z. (2002). Developmental febrile seizures modulate hippocampal gene expression of hyperpolarization-activated channels in an isoform- and cell-specific manner. *Journal of Neuroscience* 22, 4591–4599.

Brewster, A.L., Bernard, J.A., Gall, C.M., and Baram, T.Z. (2005). Formation of heteromeric hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) channels in the hippocampus is regulated by developmental seizures. *Neurobiology of Disease* 19, 200–207.

Catarino, C.B., Liu, J.Y.W., Liagkouras, I., Gibbons, V.S., Labrum, R.W., Ellis, R., Woodward, C., Davis, M.B., Smith, S.J., Cross, J.H., et al. (2011). Dravet syndrome as epileptic encephalopathy: evidence from long-term course and neuropathology. *Brain* 134, 2982–3010.

Catenoix, H., Guénot, M., Isnard, J., Fischer, C., Mauguière, F., and Ryvlin, P. (2004). Intracranial EEG study of seizure-associated nose wiping. *Neurology* 63, 1127–1129.

Cendes, F., Andermann, F., Gloor, P., Lopescondes, I., Andermann, E., Melanson, D., JONESGOTMAN, M., Robitaille, Y., Evans, A., and Peters, T. (1993). Atrophy of Mesial Structures in Patients with Temporal-Lobe Epilepsy - Cause or Consequence of Repeated Seizures. *Ann Neurol.* 34, 795–801.

- Cendes, F., Cook, M.J., Watson, C., Andermann, F., Fish, D.R., Shorvon, S.D., Bergin, P., Free, S., Dubeau, F., and Arnold, D.L. (1995). Frequency and characteristics of dual pathology in patients with lesional epilepsy. *Neurology* 45, 2058–2064.
- Chabardès, S., Kahane, P., Minotti, L., Tassi, L., Grand, S., Hoffmann, D., and Benabid, A.L. (2005). The temporopolar cortex plays a pivotal role in temporal lobe seizures. *Brain* 128, 1818–1831.
- Chang, Y.-C., Kuo, Y.-M., Huang, A.-M., and Huang, C.-C. (2005). Repetitive febrile seizures in rat pups cause long-lasting deficits in synaptic plasticity and NR2A tyrosine phosphorylation. *Neurobiology of Disease* 18, 466–475.
- Chang, Y.C., Guo, N.W., Wang, S.T., Huang, C.C., and Tsai, J.J. (2001). Working memory of school-aged children with a history of febrile convulsions: a population study. *Neurology* 57, 37–42.
- Chen, K., Aradi, I., Thon, N., Eghbal-Ahmadi, M., Baram, T.Z., and Soltesz, I. (2001). Persistently modified h-channels after complex febrile seizures convert the seizure-induced enhancement of inhibition to hyperexcitability. *Nat Med* 7, 331–337.
- Chen, K., Baram, T.Z., and Soltesz, I. (1999). Febrile seizures in the developing brain result in persistent modification of neuronal excitability in limbic circuits. *Nat Med* 5, 888–894.
- Choi, J., Min, H.J., and Shin, J.-S. (2011). Increased levels of HMGB1 and pro-inflammatory cytokines in children with febrile seizures. *J Neuroinflammation* 8, 135.
- Crespel, A., Coubes, P., Rousset, M.-C., Alonso, G., Bockaert, J., Baldy-Moulinier, M., and Lerner-Natoli, M. (2002). Immature-like astrocytes are associated with dentate granule cell migration in human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience Letters* 330, 114–118.
- De Lanerolle, N.C., Kim, J.H., Robbins, R.J., and Spencer, D.D. (1989). Hippocampal interneuron loss and plasticity in human temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* 495, 387–395.
- Dobbing, J., and Sands, J. (1973). Quantitative growth and development of human brain. *Arch Dis Child* 48, 757–767.

Dube, C., Chen, K., Eghbal-Ahmadi, M., Brunson, K., Soltesz, I., and Baram, T.Z. (2000). Prolonged febrile seizures in the immature rat model enhance hippocampal excitability long term. *Ann Neurol.* *47*, 336–344.

Dubé, C., Brunson, K.L., Eghbal-Ahmadi, M., Gonzalez-Vega, R., and Baram, T.Z. (2005a). Endogenous neuropeptide Y prevents recurrence of experimental febrile seizures by increasing seizure threshold. *J. Mol. Neurosci.* *25*, 275–284.

Dubé, C., Richichi, C., Bender, R.A., Chung, G., Litt, B., and Baram, T.Z. (2006). Temporal lobe epilepsy after experimental prolonged febrile seizures: prospective analysis. *Brain* *129*, 911–922.

Dubé, C., Vezzani, A., Behrens, M., Bartfai, T., and Baram, T.Z. (2005b). Interleukin-1beta contributes to the generation of experimental febrile seizures. *Ann Neurol.* *57*, 152–155.

Dubé, C.M., Brewster, A.L., and Baram, T.Z. (2009a). Febrile seizures: Mechanisms and relationship to epilepsy. In *Brain & Development*, pp. 366–371.

Dubé, C.M., Ravizza, T., Hamamura, M., Zha, Q., Keebaugh, A., Fok, K., Andres, A.L., Nalcioglu, O., Obenaus, A., Vezzani, A., et al. (2010). Epileptogenesis provoked by prolonged experimental febrile seizures: mechanisms and biomarkers. *Journal of Neuroscience* *30*, 7484–7494.

Dubé, C.M., Zhou, J.-L., Hamamura, M., Zhao, Q., Ring, A., Abrahams, J., McIntyre, K., Nalcioglu, O., Shatskih, T., Baram, T.Z., et al. (2009b). Cognitive dysfunction after experimental febrile seizures. *Experimental Neurology* *215*, 167–177.

Duveau, V., Arthaud, S., Rougier, A., and La Salle, G.L.G. (2007). Polysialylation of NCAM is upregulated by hyperthermia and participates in heat shock preconditioning-induced neuroprotection. *Neurobiology of Disease* *26*, 385–395.

Duveau, V., Arthaud, S., Serre, H., Rougier, A., and Le Gal La Salle, G. (2005). Transient hyperthermia protects against subsequent seizures and epilepsy-induced cell damage in the rat. *Neurobiology of Disease* *19*, 142–149.

Duveau, V., Madhusudan, A., Caleo, M., Knuesel, I., and Fritschy, J.-M. (2010). Impaired reelin processing and secretion by Cajal-Retzius cells contributes to granule cell dispersion in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*.

ElBahh, B., Lurton, D., Sundstrom, L., and Rougier, A. (1997). Induction of tolerance and mossy fibre neuropeptide-Y expression in the contralateral hippocampus following a unilateral intrahippocampal kainic acid injection in the rat. *Neuroscience Letters* 227, 135–139.

Engel, J. (1993). *Surgical treatment of the epilepsies* (Raven Pr).

Escayg, A., MacDonald, B., Meisler, M., Baulac, S., Huberfeld, G., An-Gourfinkel, I., Brice, A., LeGuern, E., Moulard, B., Chaigne, D., et al. (2000). Mutations of SCN1A, encoding a neuronal sodium channel, in two families with GEFS+2. *Nat. Genet.* 24, 343–345.

Fahrner, A., Kann, G., Flubacher, A., Heinrich, C., Freiman, T.M., Zentner, J., Frotscher, M., and Haas, C.A. (2007). Granule cell dispersion is not accompanied by enhanced neurogenesis in temporal lobe epilepsy patients. *Experimental Neurology* 203, 320–332.

Falconer, M.A., Serafetinides, E.A., and Crosellis, J.A. (1964). Etiology and pathogenesis of temporal lobe epilepsy. *Arch. Neurol.* 10, 233–248.

Fauser, S., and Schulze-Bonhage, A. (2006). Epileptogenicity of cortical dysplasia in temporal lobe dual pathology: an electrophysiological study with invasive recordings. *Brain* 129, 82–95.

Fauser, S., Huppertz, H.-J., Bast, T., Strobl, K., Pantazis, G., Altenmueller, D.-M., Feil, B., Rona, S., Kurth, C., Rating, D., et al. (2006). Clinical characteristics in focal cortical dysplasia: a retrospective evaluation in a series of 120 patients. *Brain* 129, 1907–1916.

Fernández, G., Effenberger, O., Vinz, B., Steinlein, O., Elger, C.E., Döhring, W., and Heinze, H.J. (1998). Hippocampal malformation as a cause of familial febrile convulsions and subsequent hippocampal sclerosis. *Neurology* 50, 909–917.

Fisher, R.S., van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., and Engel, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 46, 470–472.

Francis, F., Koulakoff, A., Boucher, D., Chafey, P., Schaar, B., Vinet, M.C., Friocourt, G., McDonnell, N., Reiner, O., Kahn, A., et al. (1999). Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *Neuron* 23, 247–256.

Freiman, T.M., Eismann-Schweimler, J., and Frotscher, M. (2011). Granule cell dispersion in temporal lobe epilepsy is associated with changes in dendritic orientation and spine distribution. *Experimental Neurology* 229, 332–338.

French, J.A., Williamson, P.D., Thadani, V.M., Darcey, T.M., Mattson, R.H., Spencer, S.S., and Spencer, D.D. (1993). Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann Neurol.* 34, 774–780.

Fukuyama, Y., Kagawa, K., and Tanaka, K. (1979). A genetic study of febrile convulsions. *Eur. Neurol.* 18, 166–182.

Germano, I., Zhang, Y., Sperber, E., and Moshe, S. (1996). Neuronal migration disorders increase susceptibility to hyperthermia-induced seizures in developing rats. *Epilepsia* 37, 902–910.

Gérard, F., Pereira, S., Robaglia-Schlupp, A., Genton, P., and Szepetowski, P. (2002). Clinical and genetic analysis of a new multigenerational pedigree with GEFS+ (Generalized Epilepsy with Febrile Seizures Plus). *Epilepsia* 43, 581–586.

Gibbs, S., Chattopadhyaya, B., Desgent, S., Awad, P.N., Clerk-Lamallice, O., Levesque, M., Vianna, R.-M., Rébillard, R.-M., Delsemme, A.-A., Hébert, D., et al. (2011). Long-term consequences of a prolonged febrile seizure in a dual pathology model. *Neurobiology of Disease* 43, 312–321.

Gibbs, S.A., Scantlebury, M.H., Awad, P., Lema, P., Essouma, J.B., Parent, M., Descarries, L., and Carmant, L. (2008). Hippocampal atrophy and abnormal brain development following a prolonged hyperthermic seizure in the immature rat with a focal neocortical lesion. *Neurobiology of Disease* 32, 176–182.

Gonzalez-Ramirez, M., Salgado-Ceballos, H., Orozco-Suarez, S.A., and Rocha, L. (2009). Hyperthermic seizures and hyperthermia in immature rats modify the subsequent pentylenetetrazole-induced seizures. *Seizure-Eur J Epilep* 18, 533–536.

Gottlieb, A., Keydar, I., and Epstein, H. (1977). Rodent Brain Growth Stages - Analytical Review. *Biol Neonate* 32, 166–176.

Gurnett, C.A., Landt, M., and Wong, M. (2003). Analysis of cerebrospinal fluid glial fibrillary acidic protein after seizures in children. *Epilepsia* 44, 1455–1458.

Haas, C.A., Dudeck, O., Kirsch, M., Huszka, C., Kann, G., Pollak, S., Zentner, J., and Frotscher, M. (2002). Role for reelin in the development of granule cell dispersion in temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience* 22, 5797–5802.

Hamati-Haddad, A., and Abou-Khalil, B. (1998). Epilepsy diagnosis and localization in patients with antecedent childhood febrile convulsions. *Neurology* 50, 917–922.

Haveman, J., Geerdink, A.G., and Rodermond, H.M. (1996). Cytokine production after whole body and localized hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 12, 791–800.

Heida, J.G., Boissé, L., and Pittman, Q.J. (2004). Lipopolysaccharide-induced febrile convulsions in the rat: short-term sequelae. *Epilepsia* 45, 1317–1329.

Heida, J.G., Teskey, G.C., and Pittman, Q.J. (2005). Febrile convulsions induced by the combination of lipopolysaccharide and low-dose kainic acid enhance seizure susceptibility, not epileptogenesis, in rats. *Epilepsia* 46, 1898–1905.

Heinrich, C., Lähteinen, S., Suzuki, F., Anne-Marie, L., Huber, S., Häussler, U., Haas, C., Larmet, Y., Castren, E., and Depaulis, A. (2011). Increase in BDNF-mediated TrkB signaling promotes epileptogenesis in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Neurobiology of Disease* 42, 35–47.

Heinrich, C., Nitta, N., Flubacher, A., Müller, M., Fahrner, A., Kirsch, M., Freiman, T., Suzuki, F., Depaulis, A., Frotscher, M., et al. (2006). Reelin deficiency and displacement of mature neurons, but not neurogenesis, underlie the formation of granule cell dispersion in the epileptic hippocampus. *Journal of Neuroscience* 26, 4701–4713.

Hesdorffer, D.C., Benn, E.K.T., Bagiella, E., Nordli, D., Pellock, J., Hinton, V., Shinnar, S., FEBSTAT Study Team (2011). Distribution of febrile seizure duration and associations with development. *Ann Neurol.* *70*, 93–100.

Hessel, E.V.S., van Gassen, K.L.I., Wolterink-Donselaar, I.G., Stienen, P.J., Fernandes, C., Brakkee, J.H., Kas, M.J.H., and de Graan, P.N.E. (2009). Phenotyping mouse chromosome substitution strains reveal multiple QTLs for febrile seizure susceptibility. *Genes Brain Behav* *8*, 248–255.

Hill, E.L., Hosie, S., Mulligan, R.S., Richards, K.L., Davies, P.J., Dubé, C.M., Baram, T.Z., Reid, C.A., Jones, M.V., and Petrou, S. (2011). Temperature elevation increases GABA(A) -mediated cortical inhibition in a mouse model of genetic epilepsy. *Epilepsia* *52*, 179–184.

Ho, S., Kuzniecky, R., Gilliam, F., Faught, E., and Morawetz, R. (1998). Temporal lobe developmental malformations and epilepsy - Dual pathology and bilateral hippocampal abnormalities. *Neurology* *50*, 748–754.

Hofman, P.A.M., Fitt, G., Mitchell, L.A., and Jackson, G.D. (2011). Hippocampal sclerosis and a second focal lesion--how often is it ipsilateral? *Epilepsia* *52*, 718–721.

Holtzman, D., Obana, K., and Olson, J. (1981). Hyperthermia-induced seizures in the rat pup: a model for febrile convulsions in children. *Science* *213*, 1034–1036.

Houser, C.R. (1990). Granule cell dispersion in the dentate gyrus of humans with temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* *535*, 195–204.

Huang, C.C., Wang, S.T., Chang, Y.C., Huang, M.C., Chi, Y.C., and Tsai, J.J. (1999). Risk factors for a first febrile convulsion in children: a population study in southern Taiwan. *Epilepsia* *40*, 719–725.

Huberfeld, G., Menendez de la Prida, L., Pallud, J., Cohen, I., Le Van Quyen, M., Adam, C., Clemenceau, S., Baulac, M., and Miles, R. (2011). Glutamatergic pre-ictal discharges emerge at the transition to seizure in human epilepsy. *Nat. Neurosci.* *14*, 627–634.

Jamali, S., Salzman, A., Perroud, N., Ponsole-Lenfant, M., Cillario, J., Roll, P., Roedel-Trevisiol,

N., Crespel, A., Balzar, J., Schlachter, K., et al. (2010). Functional Variant in Complement C3 Gene Promoter and Genetic Susceptibility to Temporal Lobe Epilepsy and Febrile Seizures. *PLoS ONE* 5, e12740.

Jansen, L.A., Peugh, L.D., Roden, W.H., and Ojemann, J.G. (2010). Impaired maturation of cortical GABA(A) receptor expression in pediatric epilepsy. *Epilepsia* 51, 1456–1467.

Janszky, J., Schulz, R., and Ebner, A. (2003). Clinical features and surgical outcome of medial temporal lobe epilepsy with a history of complex febrile convulsions. *Epilepsy Res* 55, 1–8.

Kahane, P., and Bartolomei, F. (2010). Temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis: lessons from depth EEG recordings. *Epilepsia* 51 Suppl 1, 59–62.

Kamal, A., Notenboom, R.G.E., de Graan, P.N.E., and Ramakers, G.M.J. (2006). Persistent changes in action potential broadening and the slow afterhyperpolarization in rat CA1 pyramidal cells after febrile seizures. *European Journal of Neuroscience* 23, 2230–2234.

Kanemoto, K., Takuji, N., Kawasaki, J., and Kawai, I. (1998). Characteristics and treatment of temporal lobe epilepsy with a history of complicated febrile convulsion. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 64, 245–248.

Kappeler, C., Dhenain, M., Phan Dinh Tuy, F., Saillour, Y., Marty, S., Fallet-Bianco, C., Souville, I., Souil, E., Pinard, J.-M., Meyer, G., et al. (2007). Magnetic resonance imaging and histological studies of corpus callosal and hippocampal abnormalities linked to doublecortin deficiency. *J. Comp. Neurol.* 500, 239–254.

Khazipov, R., Esclapez, M., Caillard, O., Bernard, C., Khalilov, I., Tyzio, R., Hirsch, J., Dzhalala, V., Berger, B., and Ben-Ari, Y. (2001). Early development of neuronal activity in the primate hippocampus in utero. *Journal of Neuroscience* 21, 9770–9781.

Khazipov, R., Khalilov, I., Tyzio, R., Morozova, E., Ben-Ari, Y., and Holmes, G.L. (2004). Developmental changes in GABAergic actions and seizure susceptibility in the rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 19, 590–600.

Kim, B.-S., Kim, M.-Y., and Leem, Y.-H. (2011). Hippocampal neuronal death induced by kainic acid and restraint stress is suppressed by exercise. *Neuroscience* 194, 291–301.

- Kim, D.W., Lee, S.K., Nam, H., Chu, K., Chung, C.K., Lee, S.-Y., Choe, G., and Kim, H.K. (2010). Epilepsy with dual pathology: surgical treatment of cortical dysplasia accompanied by hippocampal sclerosis. *Epilepsia* 51, 1429–1435.
- King, J.T., Sperling, M.R., Justice, A.C., and O'Connor, M.J. (1997). A cost-effectiveness analysis of anterior temporal lobectomy for intractable temporal lobe epilepsy. *J. Neurosurg.* 87, 20–28.
- Knudsen, F.U. (1996). Febrile seizures--treatment and outcome. *Brain and Development* 18, 438–449.
- Kotagal, P., Luders, H., Morris, H., Dinner, D., Wyllie, E., Godoy, J., and Rothner, A. (1989). Dystonic Posturing in Complex Partial Seizures of Temporal-Lobe Onset - a New Lateralizing Sign. *Neurology* 39, 196–201.
- Kölfen, W., Lühtrath, M., König, S., Formanski, U., and Edrich, J. (2002). Kinder mit Epilepsien im Vergleich zu gesunden Kindern - Kinderpsychiatrische und leistungsbezogene Untersuchung *Klin Padiatr* 214, 62–69.
- Kuzniecky, R., Ho, S.S., Martin, R., Faught, E., Morawetz, R., Palmer, C., and Gilliam, F. (1999). Temporal lobe developmental malformations and hippocampal sclerosis: epilepsy surgical outcome. *Neurology* 52, 479–484.
- Langlois, M., Polack, P.-O., Bernard, H., David, O., Charpier, S., Depaulis, A., and Deransart, C. (2010). Involvement of the thalamic parafascicular nucleus in mesial temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience* 30, 16523–16535.
- Lemmens, E.M.P., Schijns, O.E.M.G., Beuls, E.A.M., and Hoogland, G. (2008). Cytogenesis in the dentate gyrus after neonatal hyperthermia-induced seizures: what becomes of surviving cells? *Epilepsia* 49, 853–860.
- Lennox, W.G. (1953). Significance of febrile convulsions. *Pediatrics* 11, 341–357.
- Lewis, D.V. (2005). Losing neurons: selective vulnerability and mesial temporal sclerosis. *Epilepsia* 46 *Suppl* 7, 39–44.

Lin, K., Carrete, H., Lin, J., de Oliveira, P.A.L., Caboclo, L.O.S.F., Sakamoto, A.C., and Yacubian, E.M.T. (2007). Facial paresis in patients with mesial temporal sclerosis: clinical and quantitative MRI-based evidence of widespread disease. *Epilepsia* 48, 1491–1499.

Lin, L.-C., Lee, W.-T., Chen, I.-J., and Yang, R.-C. (2010). Lower plasma neuropeptide Y level in patients with atypical febrile convulsions. *Kaohsiung J. Med. Sci.* 26, 8–12.

Lippé, S., Roy, M.-S., Arcand, C., Scantlebury, M.H., Carmant, L., and Lassonde, M. (2009). Altered EEG spectral activity and attentional behavioral deficits following prolonged febrile seizures: a pilot study. *Epileptic Disord* 11, 10–19.

Liu, X.-B., Murray, K.D., and Jones, E.G. (2004). Switching of NMDA receptor 2A and 2B subunits at thalamic and cortical synapses during early postnatal development. *Journal of Neuroscience* 24, 8885–8895.

Lurton, D., Bahh, el, B., Sundstrom, L., and Rougier, A. (1998). Granule cell dispersion is correlated with early epileptic events in human temporal lobe epilepsy. *J Neurol Sci* 154, 133–136.

Maher, J., and McLachlan, R. (1995). Febrile convulsions - Is seizure duration the most important predictor of temporal lobe epilepsy? *Brain* 118, 1521–1528.

Mashimo, T., Ohmori, I., Ouchida, M., Ohno, Y., Tsurumi, T., Miki, T., Wakamori, M., Ishihara, S., Yoshida, T., Takizawa, A., et al. (2010). A missense mutation of the gene encoding voltage-dependent sodium channel (Nav1.1) confers susceptibility to febrile seizures in rats. *Journal of Neuroscience* 30, 5744–5753.

McIntosh, A., Wilson, S., and Berkovic, S. (2001). Seizure outcome after temporal lobectomy: Current research practice and findings. *Epilepsia* 42, 1288–1307.

Miller-Delaney, S.F.C., Das, S., Sano, T., Jimenez-Mateos, E.M., Bryan, K., Buckley, P.G., Stallings, R.L., and Henshall, D.C. (2012). Differential DNA methylation patterns define status epilepticus and epileptic tolerance. *Journal of Neuroscience* 32, 1577–1588.

Morimoto, T., Fukuda, M., Aibara, Y., Nagao, H., and Kida, K. (1996). The influence of blood gas changes on hyperthermia-induced seizures in developing rats. *Brain Res Dev Brain Res* 92.

- Morimoto, T., Kida, K., Nagao, H., Yoshida, K., Fukuda, M., and Takashima, S. (1995). The pathogenic role of the NMDA receptor in hyperthermia-induced seizures in developing rats. *Brain Res Dev Brain Res* 84, 204–207.
- Morimoto, T., Nagao, H., Sano, N., Takahashi, M., and Matsuda, H. (1991). Electroencephalographic study of rat hyperthermic seizures. *Epilepsia* 32, 289–293.
- Morimoto, T., Nagao, H., Yoshimatsu, M., Yoshida, K., and Matsuda, H. (1993). Pathogenic role of glutamate in hyperthermia-induced seizures. *Epilepsia* 34, 447–452.
- Moshe, S.L., and Albala, B.J. (1983). Maturational changes in postictal refractoriness and seizure susceptibility in developing rats. *Ann Neurol*. 13, 552–557.
- Nadler, J.V., Tu, B., Timofeeva, O., Jiao, Y., and Herzog, H. (2007). Neuropeptide Y in the recurrent mossy fiber pathway. *Peptides* 28, 357–364.
- Nelson, K.B., and Ellenberg, J.H. (1978). Prognosis in children with febrile seizures. *Pediatrics* 61, 720–727.
- Neville, B., and Gindner, D. (2010a). Febrile seizures are a syndrome of secondarily generalized hippocampal epilepsy. *Dev Med Child Neurol* 52, 1151–1153.
- Neville, B.G.R., and Gindner, D. (2010b). Febrile seizures - semiology in humans and animal models: evidence of focality and heterogeneity. *Brain and Development* 32, 33–36.
- Nosten-Bertrand, M., Kappeler, C., Dinocourt, C., Denis, C., Germain, J., Dinh Tuy, F.P., Verstraeten, S., Alvarez, C., Métin, C., Chelly, J., et al. (2008). Epilepsy in Dcx Knockout Mice Associated with Discrete Lamination Defects and Enhanced Excitability in the Hippocampus. *PLoS ONE* 3, e2473.
- Notenboom, R.G.E., Ramakers, G.M.J., Kamal, A., Spruijt, B.M., and de Graan, P.N.E. (2010). Long-lasting modulation of synaptic plasticity in rat hippocampus after early-life complex febrile seizures. *European Journal of Neuroscience* 32, 749–758.

Ohtsu, M., Oguni, H., Awaya, Y., and Osawa, M. (2002). Clinical and EEG analysis of initial status epilepticus during infancy in patients with mesial temporal lobe epilepsy. *Brain and Development* 24, 231–238.

Olson, J.E., Horne, D.S., Holtzman, D., and Miller, M. (1985). Hyperthermia-induced seizures in rat pups with preexisting ischemic brain injury. *Epilepsia* 26, 360–364.

Ouardouz, M., Lema, P., Awad, P.N., Di Cristo, G., and Carmant, L. (2010). N-methyl-D-aspartate, hyperpolarization-activated cation current (I_h) and gamma-aminobutyric acid conductances govern the risk of epileptogenesis following febrile seizures in rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 31, 1252–1260.

Park, K.-I., Chu, K., Jung, K.-H., Kim, J.-H., Kang, K.-M., Lee, S.-T., Park, H.-K., Kim, M., Lee, S.K., and Roh, J.-K. (2010). Role of cortical dysplasia in epileptogenesis following prolonged febrile seizure. *Epilepsia* 51, 1809–1819.

Pernot, F., Heinrich, C., Barbier, L., Peinnequin, A., Carpentier, P., Dhote, F., Baille, V., Beaup, C., Depaulis, A., and Dorandeu, F. (2011). Inflammatory changes during epileptogenesis and spontaneous seizures in a mouse model of mesiotemporal lobe epilepsy. *Epilepsia* no–no.

Pimentel, J., Peralta, A.R., Campos, A., Bentes, C., and Ferreira, A.G. (2012). Antiepileptic drugs management and long-term seizure outcome in post surgical mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Epilepsy Res.*

Pineda, D.A., Palacio, L.G., Puerta, I.C., Merchán, V., Arango, C.P., Galvis, A.Y., Gómez, M., Aguirre, D.C., Lopera, F., and Arcos-Burgos, M. (2007). Environmental influences that affect attention deficit/hyperactivity disorder: study of a genetic isolate. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 16, 337–346.

Portes, Des, V., Pinard, J.M., Billuart, P., Vinet, M.C., Koulakoff, A., Carrié, A., Gelot, A., Dupuis, E., Motte, J., Berwald-Netter, Y., et al. (1998). A novel CNS gene required for neuronal migration and involved in X-linked subcortical laminar heterotopia and lissencephaly syndrome. *Cell* 92, 51–61.

Prévoost, F., Costa, M., Carmant, L., Lepore, F., and Guillemot, J.-P. (2010). Effects of hyperthermic seizures on the developing primary visual cortex of the rat. *Neuroscience* *171*, 1120–1130.

Qu, L., and Leung, L.S. (2008). Mechanisms of hyperthermia-induced depression of GABAergic synaptic transmission in the immature rat hippocampus. *J Neurochem* *106*, 2158–2169.

Rathore, C., Panda, S., Sarma, P.S., and Radhakrishnan, K. (2011). How safe is it to withdraw antiepileptic drugs following successful surgery for mesial temporal lobe epilepsy? *Epilepsia* *52*, 627–635.

Raymond, A.A., Fish, D.R., Stevens, J.M., Cook, M.J., Sisodiya, S.M., and Shorvon, S.D. (1994). Association of hippocampal sclerosis with cortical dysgenesis in patients with epilepsy. *Neurology* *44*, 1841–1845.

Reibel, S., Larmet, Y., Lê, B.T., Carnahan, J., Marescaux, C., and Depaulis, A. (2000). Brain-derived neurotrophic factor delays hippocampal kindling in the rat. *Nsc* *100*, 777–788.

Reid, A.Y., Pittman, Q.J., and Teskey, G.C. (2011). A prolonged experimental febrile seizure results in motor map reorganization in adulthood. *Neurobiology of Disease*.

Riban, V., Bouilleret, V., Phâm-Lê, B.T., Fritschy, J.-M., Marescaux, C., and Depaulis, A. (2002). Evolution of hippocampal epileptic activity during the development of hippocampal sclerosis in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Nsc* *112*, 101–111.

Rich, S.S., Annegers, J.F., Hauser, W.A., and Anderson, V.E. (1987). Complex segregation analysis of febrile convulsions. *Am. J. Hum. Genet.* *41*, 249–257.

Rigau, V., Morin, M., Rousset, M.-C., de Bock, F., Lebrun, A., Coubes, P., Picot, M.-C., Baldy-Moulinier, M., Bockaert, J., Crespel, A., et al. (2007). Angiogenesis is associated with blood-brain barrier permeability in temporal lobe epilepsy. *Brain* *130*, 1942–1956.

Ringstedt, T., Linnarsson, S., Wagner, J., Lendahl, U., Kokaia, Z., Arenas, E., Ernfors, P., and Ibáñez, C.F. (1998). BDNF regulates reelin expression and Cajal-Retzius cell development in the cerebral cortex. *Neuron* *21*, 305–315.

Roger, J., Bureau, M., Dravet, C., and Genton, P. (2005). *Epileptic syndromes in infancy, childhood and adolescence* (John Libbey Eurotext).

Saltik, S., Angay, A., Ozkara, C., Demirbilek, V., and Dervant, A. (2003). A retrospective analysis of patients with febrile seizures followed by epilepsy. *Seizure* 12, 211–216.

Salzmann, A., Guipponi, M., Lyons, P.J., Fricker, L.D., Sapio, M., Lamercy, C., Buresi, C., Ouled Amar Bencheikh, B., Lahjouji, F., Ouazzani, R., et al. (2012). Carboxypeptidase A6 gene (CPA6) mutations in a recessive familial form of febrile seizures and temporal lobe epilepsy and in sporadic temporal lobe epilepsy. *Hum. Mutat.* 33, 124–135.

Sarkisian, M.R., Holmes, G.L., Carmant, L., Liu, Z., Yang, Y., and Stafstrom, C.E. (1999). Effects of hyperthermia and continuous hippocampal stimulation on the immature and adult brain. *Brain and Development* 21, 318–325.

Scantlebury, M.H., Gibbs, S.A., Foadjo, B., Lema, P., Psarropoulou, C., and Carmant, L. (2005). Febrile seizures in the predisposed brain: a new model of temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol.* 58, 41–49.

Scantlebury, M.H., Heida, J.G., Hasson, H.J., Velísková, J., Velíšek, L., Galanopoulou, A.S., and Moshé, S.L. (2007). Age-dependent consequences of status epilepticus: animal models. *Epilepsia* 48 Suppl 2, 75–82.

Scantlebury, M.H., Ouellet, P.-L., Psarropoulou, C., and Carmant, L. (2004). Freeze lesion-induced focal cortical dysplasia predisposes to atypical hyperthermic seizures in the immature rat. *Epilepsia* 45, 592–600.

Schuchmann, S., Hauck, S., Henning, S., Grüters-Kieslich, A., Vanhatalo, S., Schmitz, D., and Kaila, K. (2011). Respiratory alkalosis in children with febrile seizures. *Epilepsia* 52, 1949–1955.

Schwarzer, C., Sperk, G., Samanin, R., Rizzi, M., Gariboldi, M., and Vezzani, A. (1996). Neuropeptides-immunoreactivity and their mRNA expression in kindling: functional implications for limbic epileptogenesis. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 22, 27–50.

Scott, R.C., King, M.D., Gadian, D.G., Neville, B.G.R., and Connelly, A. (2003). Hippocampal abnormalities after prolonged febrile convulsion: a longitudinal MRI study. *Brain* 126, 2551-7.

Semah, F., Picot, M., Adam, C., Broglin, D., Arzimanoglou, A., Bazin, B., Cavalcanti, D., and Baulac, M. (1998). Is the underlying cause of epilepsy a major prognostic factor for recurrence? *Neurology* 51, 1256–1262.

Senturk, G.E., Isler, C., Kemerdere, R., Ulu, M.O., Umay, C., Ozkaymakci, A., Aker, G.R., Ercan, F., Ozkara, C., Onat, F., et al. (2011). Hippocampal neuronal damage in rats exposed to a double hit: irradiation and hyperthermia. *Turk Neurosurg* 21, 454–460.

Severino, P.C., Muller, G.D.A.S., Vandresen-Filho, S., and Tasca, C.I. (2011). Cell signaling in NMDA preconditioning and neuroprotection in convulsions induced by quinolinic acid. *Life Sci.* 89, 570–576.

Shinnar, S., Hesdorffer, D.C., Nordli, D.R., Pellock, J.M., O’Dell, C., Lewis, D.V., Frank, L.M., Moshe, S.L., Epstein, L.G., Marmarou, A., et al. (2008a). Phenomenology of prolonged febrile seizures: results of the FEBSTAT study. *Neurology* 71, 170–176.

Shinnar, S., Hesdorffer, D.C., Nordli, D.R., Pellock, J.M., O’Dell, C., Lewis, D.V., Frank, L.M., Moshe, S.L., Epstein, L.G., Marmarou, A., et al. (2008b). Phenomenology of prolonged febrile seizures: results of the FEBSTAT study. *Neurology* 71, 170–176.

Shinnar, S., Pellock, J.M., Berg, A.T., O’Dell, C., Driscoll, S.M., Maytal, J., Moshe, S.L., and DeLorenzo, R.J. (2001). Short-term outcomes of children with febrile status epilepticus. *Epilepsia* 42, 47–53.

Siebzehnubel, F.A., and Blumcke, I. (2008). Neurogenesis in the human hippocampus and its relevance to temporal lobe epilepsies. *Epilepsia* 49 Suppl 5, 55–65.

Sloviter, R.S., and Pedley, T.A. (1998). Subtle hippocampal malformation: importance in febrile seizures and development of epilepsy. *Neurology* 50, 846–849.

Sloviter, R.S., Kudrimoti, H.S., Laxer, K.D., Barbaro, N.M., Chan, S., Hirsch, L.J., Goodman, R.R., and Pedley, T.A. (2004). “Tectonic” hippocampal malformations in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 59, 123–153.

Suzuki, F., Heinrich, C., Boehrer, A., Mitsuya, K., Kurokawa, K., Matsuda, M., and Depaulis, A. (2005). Glutamate receptor antagonists and benzodiazepine inhibit the progression of granule cell dispersion in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 46, 193–202.

Suzuki, F., Junier, M.P., Guilhem, D., Sørensen, J.C., and Onteniente, B. (1995). Morphogenetic effect of kainate on adult hippocampal neurons associated with a prolonged expression of brain-derived neurotrophic factor. *Nsc* 64, 665–674.

Tanabe, T., Hara, K., Shimakawa, S., Fukui, M., and Tamai, H. (2011). Hippocampal damage after prolonged febrile seizure: one case in a consecutive prospective series. *Epilepsia* 52, 837–840.

Tassi, L., Colombo, N., Garbelli, R., Francione, S., Russo, I., G., Mai, R., Cardinale, F., Cossu, M., Ferrario, A., Galli, C., et al. (2002). Focal cortical dysplasia: neuropathological subtypes, EEG, neuroimaging and surgical outcome. *Brain* 125, 1719–1732.

Tassi, L., Garbelli, R., Colombo, N., Bramerio, M., Russo, I., G., Deleo, F., Milesi, G., and Spreafico, R. (2010). Type I focal cortical dysplasia: surgical outcome is related to histopathology. *Epileptic Disord* 12, 181–191.

Thom, M., Martinian, L., Catarino, C., Yogarajah, M., Koepp, M.J., Caboclo, L., and Sisodiya, S.M. (2009). Bilateral reorganization of the dentate gyrus in hippocampal sclerosis: a postmortem study. *Neurology* 73, 1033–1040.

Toth, Z., Yan, X.X., Haftoglou, S., Ribak, C.E., and Baram, T.Z. (1998). Seizure-induced neuronal injury: vulnerability to febrile seizures in an immature rat model. *J Neurosci* 18, 4285–4294.

Ullal, G.R., Satishchandra, P., Kalladka, D., Rajashekar, K., Archana, K., Mahadevan, A., and Shankar, S. (2006). Kindling & mossy fibre sprouting in the rat hippocampus following hot water induced hyperthermic seizures. *Indian J Med Res* 124, 331–342.

Van Gassen, K.L.I., Hessel, E.V.S., Ramakers, G.M.J., Notenboom, R.G.E., Wolterink-Donselaar, I.G., Brakkee, J.H., Godschalk, T.C., Qiao, X., Spruijt, B.M., van Nieuwenhuizen, O., et al. (2008). Characterization of febrile seizures and febrile seizure susceptibility in mouse inbred strains. *Genes Brain Behav* 7, 578–586.

- VanLandingham, K.E., Heinz, E.R., Cavazos, J.E., and Lewis, D.V. (1998). Magnetic resonance imaging evidence of hippocampal injury after prolonged focal febrile convulsions. *Ann Neurol.* *43*, 413–426.
- Verity, C. (1998). Do seizures damage the brain? The epidemiological evidence. *Arch Dis Child* *78*, 78–84.
- Verity, C.M., and Golding, J. (1991). Risk of epilepsy after febrile convulsions: a national cohort study. *Bmj* *303*, 1373–1376.
- Verity, C.M., Butler, N.R., and Golding, J. (1985a). Febrile convulsions in a national cohort followed up from birth. I--Prevalence and recurrence in the first five years of life. *Br Med J (Clin Res Ed)* *290*, 1307–1310.
- Verity, C.M., Butler, N.R., and Golding, J. (1985b). Febrile convulsions in a national cohort followed up from birth. II--Medical history and intellectual ability at 5 years of age. *Br Med J (Clin Res Ed)* *290*, 1311–1315.
- Vezzani, A., Sperk, G., and Colmers, W.F. (1999). Neuropeptide Y: emerging evidence for a functional role in seizure modulation. *Trends in Neurosciences* *22*, 25–30.
- Wallace, R.H., Scheffer, I.E., Barnett, S., Richards, M., Dibbens, L., Desai, R.R., Lerman-Sagie, T., Lev, D., Mazarib, A., Brand, N., et al. (2001). Neuronal sodium-channel alpha1-subunit mutations in generalized epilepsy with febrile seizures plus. *Am. J. Hum. Genet.* *68*, 859–865.
- Wallace, R.H., Wang, D.W., Singh, R., Scheffer, I.E., George, A.L., Phillips, H.A., Saar, K., Reis, A., Johnson, E.W., Sutherland, G.R., et al. (1998). Febrile seizures and generalized epilepsy associated with a mutation in the Na⁺-channel beta1 subunit gene SCN1B. *Nat. Genet.* *19*, 366–370.
- Wang, Y.-Y., Qin, J., Han, Y., Cai, J., and Xing, G.-G. (2011). Hyperthermia induces epileptiform discharges in cultured rat cortical neurons. *Brain Res.* *1417*, 87–102.

Williamson, P.D., French, J.A., Thadani, V.M., Kim, J.H., Novelly, R.A., Spencer, S.S., Spencer, D.D., and Mattson, R.H. (1993). Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: II. Interictal and ictal scalp electroencephalography, neuropsychological testing, neuroimaging, surgical results, and pathology. *Ann Neurol.* *34*, 781–787.

Wolf, H., Campos, M., Zentner, J., Hufnagel, A., Schramm, J., Elger, C., and Wiestler, O. (1993). Surgical Pathology of Temporal-Lobe Epilepsy - Experience with 216 Cases. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* *52*, 499–506.

Wu, J., Javedan, S.P., Ellsworth, K., Smith, K., and Fisher, R.S. (2001). Gamma oscillation underlies hyperthermia-induced epileptiform-like spikes in immature rat hippocampal slices. *BMC Neurosci* *2*, 18.

Wu, Z.-Q., Sun, L., Sun, Y.-H., Ren, C., Jiang, Y.-H., and Lv, X.-L. (2011). Interleukin 1 beta -511 C/T gene polymorphism and susceptibility to febrile seizures: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.*

Yang, L., Li, F., Zhang, H., Ge, W., Mi, C., Sun, R., and Liu, C. (2009). Astrocyte activation and memory impairment in the repetitive febrile seizures model. *Epilepsy Res* *86*, 209–220.

Zhao, D.Y., Wu, X.R., Pei, Y.Q., and Zuo, Q.H. (1985). Kindling phenomenon of hyperthermic seizures in the epilepsy-prone versus the epilepsy-resistant rat. *Brain Res.* *358*, 390–393.

Zhong, J., Carrozza, D.P., Williams, K., Pritchett, D.B., and Molinoff, P.B. (1995). Expression of mRNAs encoding subunits of the NMDA receptor in developing rat brain. *J Neurochem* *64*, 531–539.

Zhu, X., Han, X., Blendy, J.A., and Porter, B.E. (2012). Decreased CREB levels suppress epilepsy. *Neurobiology of Disease* *45*, 253–263.

RESUME

Les crises fébriles représentent l'évènement épileptique le plus fréquent dans l'espèce humaine et touchent 5 % de la population. Bien que la bénignité de leur pronostic ait été établie par de nombreuses études prospectives, une infime proportion de ces enfants va développer un syndrome d'épilepsie méso-temporale avec sclérose de l'hippocampe. L'hypothèse de ce travail est que la crise fébrile serait nécessaire mais non suffisante au développement de ce type d'épilepsie, un second élément au potentiel épileptogène serait ainsi indispensable. Notre travail a montré que les crises hyperthermiques chez la souris constituent une bonne approche pour modéliser les crises fébriles de l'enfant. Nous avons ainsi montré que les conséquences des crises hyperthermiques étaient différentes selon la séquence de survenue par rapport au second évènement épileptogène.

- (i) Lorsque la crise hyperthermique précède l'injection de kainate dans l'hippocampe, elle accélère la phase d'épileptogénèse et majore la dispersion des cellules granulaires du gyrus denté, sans modifier la perte cellulaire des neurones pyramidaux de la corne d'Ammon. Elle entraîne également une modification du pattern des décharges rythmiques hippocampiques lors de la phase chronique, sans modifier la fréquence ni la durée de ces décharges.
- (ii) Lorsque la crise hyperthermique succède à la présence d'une dysplasie de la partie CA3 de la corne d'Ammon d'origine génétique, elle semble diminuer le risque de crise chez les animaux KO pour le gène de la double cortine. Pourtant, l'augmentation de la fréquence d'une néo-expression du NPY par les cellules granulaires, chez les animaux Hz pour cette mutation, suggère que les crises hyperthermiques favoriseraient la route vers une épilepsie, tout en activant la mise en place de mécanismes protecteurs contre la survenue des crises.

En conclusion, les crises hyperthermiques faciliteraient la route vers l'épilepsie, mais n'auraient pas d'effet facilitateur sur la route vers la crise.

ABSTRACT

Whereas febrile seizures are the most common seizure type in children and are reported in the history of mesial temporal lobe epilepsy, their role in its etiology remains controversial. They have been suggested to modify the functional organization of the hippocampus but to require another insult to induce epilepsy. To test this hypothesis, we developed a model of hyperthermic seizures in mice and examined their long-term consequences on a second insult induced either by (i) intra-hippocampal kainic acid injection in adult animals or by (ii) hippocampal dysplasia developed by double-cortin knock-out mice.

(i) While adults, mice that were subjected to hyperthermic seizures developed epileptogenesis more rapidly than sham mice. The occurrence and duration of hippocampal paroxysmal discharges were not modified by hyperthermic seizures, as was their mean time-frequency. In this model, hyperthermic seizures increased the granular cells dispersion, but have no influence on the massif pyramidal cell loss.

(ii) In preexisting hippocampal dysplasia, the occurrence of hyperthermic seizures did not increase the proportion of seizures in double-cortin knock-out mice after hyperthermic seizures, and suggest that hyperthermic seizures rather might decrease recurrent seizures via the neo-expression of NPY.

In conclusion, hyperthermic seizures in immature mice might facilitate the route to epilepsy, but did not exacerbate the route to seizures.