



**HAL**  
open science

# Modélisation fonctionnelle de l'activité neuronale hippocampique : Applications pharmacologiques

Arnaud Legendre

► **To cite this version:**

Arnaud Legendre. Modélisation fonctionnelle de l'activité neuronale hippocampique : Applications pharmacologiques. Automatique. Université de Haute Alsace - Mulhouse, 2015. Français. NNT : 2015MULH7271 . tel-01649876

**HAL Id: tel-01649876**

**<https://theses.hal.science/tel-01649876>**

Submitted on 27 Nov 2017

**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.

# MODÉLISATION FONCTIONNELLE DE L'ACTIVITÉ NEURONALE HIPPOCAMPIQUE : APPLICATIONS PHARMACOLOGIQUES

Thèse présentée à l'Université de Haute-Alsace

par

Arnaud LEGENDRE

pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Automatique.

- Mulhouse, le 28 Octobre 2015 -

## Composition du jury :

Laurent FAGNI (rapporteur)

*Directeur de Recherche CNRS*

Axel HUTT (rapporteur)

*Chargé de Recherche INRIA*

Serge BISCHOFF (président)

*Président de Rhenovia Pharma*

Bernard POULAIN (examinateur)

*Directeur de Recherche CNRS*

Étienne RÉGULIER (examinateur)

*Directeur Global Market Access and Pricing, Actelion Pharmaceuticals Ltd.*

Michel BAUDRY (co-directeur)

*Professeur à la Western University of Health Sciences, Pomona (USA)  
& Directeur Scientifique de Rhenovia Pharma*

Olivier HAEBERLÉ (co-directeur)

*Professeur à l'UHA & Directeur du laboratoire MIPS*





# Remerciements

Cher lecteur, alors que j'achève la rédaction de ce manuscrit avec cette page, je suis heureux de pouvoir exprimer ma sincère gratitude à tous ceux qui m'ont accompagné pendant ces années de doctorat et qui m'ont permis de mener à bien ces travaux.

En premier lieu, je tiens à adresser mes plus chaleureux remerciements à Serge Bischoff, directeur de Rhenovia Pharma, pour avoir rendu tout cela possible par son total dévouement. Je remercie également l'ensemble de l'équipe de direction : Michel Faupel, Jean-Marie Bouteiller, Florian George, Saliha Moussaoui, Marc Loizeau et Marco Pintore pour avoir su créer les conditions de la réussite de nos travaux, et pour m'avoir soutenu tout au long de cette aventure.

Je remercie aussi mes directeurs de thèse Olivier Haerberlé et Michel Baudry, pour m'avoir supporté et guidé dans l'accomplissement de ces travaux et dans la rédaction de ce manuscrit.

J'adresse également ma gratitude à Axel Hutt et Laurent Fagni pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse. J'espère que la lecture de ce manuscrit vous sera agréable et enrichissante.

Ensuite, je tiens à saluer toute l'équipe opérationnelle de Rhenovia Pharma : Florence Keller, Fabien Pernot, Nicolas Ambert, Renaud Greget, Merdan Sarmis, Florent Laloue, Mathieu Bedez et Isabelle Nguyen. Merci d'avoir créé une si sympathique ambiance de travail, et de m'avoir épaulé dans mes travaux. Je vous souhaite sincèrement un bel avenir à tous.

Maman, Papa, Thomas, pour l'amour et la confiance que vous me portez depuis toujours, sans lesquels je ne serais rien : merci.

Émilie et Charlie, j'espère que ces derniers mois ne vous auront pas été trop pénibles : vous avez assuré ! Je sais qu'il est temps de prendre soin de nous. Vous êtes mon roc, je vous aime.

*Mulhouse, le 25 Juillet 2015*





## Résumé

En dépit du formidable essor qu'ont connu les biotechnologies et la recherche médicale ; les maladies du système nerveux continuent de se développer, en particulier les maladies neuro-dégénératives. Elles constituent aujourd'hui un fléau sur le plan social, et un défi sur le plan médical et scientifique. En effet, les avancées de notre connaissance des systèmes biologiques dévoilent une grande complexité des phénomènes physiologiques et pathologiques ; et les efforts de recherche peinent à se traduire en véritables victoires sur le plan de la découverte de nouveaux traitements pour les malades atteints d'affections neurologiques et psychiatriques. Le développement des technologies informatiques a fait naître les domaines de la biologie systémique et des neurosciences computationnelles, qui permettent de mieux appréhender cette complexité. Ces approches consistent à intégrer les données positives issues de la neurobiologie dans des modèles mathématiques et informatiques, dans le but de formaliser les mécanismes à la base des fonctions du système nerveux, d'extraire les principes fonctionnels du traitement du signal effectué par les neurones et les synapses, d'identifier les altérations à l'origine des maladies, et de découvrir les cibles et les leviers possibles pour leur traitement. Issue de cette démarche, Rhenovia Pharma promeut une méthode plus rationnelle et plus efficace de découverte de médicaments pour le traitement des maladies du système nerveux, et propose des outils de modélisation et de simulation aux acteurs de la recherche pharmaceutique.

Les travaux de cette thèse financée par Rhenovia Pharma ont pour but d'étendre les techniques de modélisation et de simulation, d'enrichir la base de modèles disponibles, et de mettre en application ces développements dans le cadre de projets menés par l'entreprise.

D'une part, mon travail a consisté à mettre en œuvre différents outils et techniques permettant de construire des modèles de mécanismes neuronaux, intégrés à différentes échelles : les modèles dits « élémentaires » permettent de simuler la dynamique des récepteurs, des canaux ioniques, et les réactions biochimiques des voies de signalisation intracellulaires ; les modèles de neurones permettent d'étudier l'activité électrophysiologique de ces cellules ; et les modèles de microcircuits permettent de comprendre les propriétés émergentes de ces systèmes complexes, tout en conservant les mécanismes élémentaires qui sont les cibles des molécules pharmaceutiques.

D'autre part, ces travaux ont été appliqués à l'étude du fonctionnement de l'hippocampe, dans le cadre de trois projets qui ont accompagné le développement des techniques de modélisation et de simulation. La première application traite du phénomène de Potentialisation à

## Résumé

---

Long-Terme (ou *Long-Term Potentiation*, LTP) dans les synapses glutamatergiques de l'hippocampe. Sa modulation par des composés pré- et postsynaptiques y est étudiée, ainsi que le synergisme de combinaisons et l'influence des protocoles expérimentaux d'induction. La deuxième application aborde la question de l'hyperexcitabilité neuronale et de l'épilepsie méso-temporale, sur la base de simulateurs reproduisant différents modèles expérimentaux, et permettant d'étudier les effets de médicaments anti-épileptiques. L'action de composés sur l'hyperexcitabilité neuronale obtenue dans la configuration *in vitro* dite *Low-Mg* est modélisée et simulée ; et les altérations de la transmission GABAergique, observées dans un modèle *in vivo* de souris épileptique sont étudiées. La troisième application est consacrée à la modulation muscarinique de l'activité hippocampique. En particulier, un modèle des mécanismes générateurs du rythme thêta, incluant les microcircuits de l'aire CA1, le septum médian et la voie septo-hippocampique est proposé ; et l'effet de composés ciblant les récepteurs muscariniques sur ce phénomène oscillatoire est simulé.

**Mots-Clés** : biologie systémique, modélisation et simulation multi-échelles, hippocampe, aire CA1, transmission synaptique, glutamate, GABA, acétylcholine, récepteur NMDA, LTP, hyperexcitabilité, épilepsie méso-temporale, médicaments antiépileptiques, récepteurs muscariniques, rythme thêta, rythme gamma, septum médian, voie septo-hippocampique.



# Abstract

Despite the tremendous progress achieved by biotechnologies and medical research, diseases of the nervous system are continuously growing, particularly neurodegenerative diseases. Today they constitute a blight on the social level, and a challenge addressed to science and medicine. Indeed, advances in our understanding of biological systems reveal an outstanding complexity of physiological and pathological phenomena; and research efforts hardly result in real victories in terms of the discovery of new treatments for patients suffering from neurological and psychiatric diseases.

The development of computer technologies has created the fields of systems biology and computational neuroscience that aim to better handle this complexity. These approaches are to integrate the positive data from neurobiology in mathematical and computer models in order to formalize the mechanisms underlying nervous system functions, extract the functional principles of signal processing performed by neurons and synapses, identify alterations underlying the origins of diseases, and discover new possible targets and levers for their treatment.

Arising from this approach, Rhenovia Pharma promotes a more rational and efficient method of drug discovery for the treatment of nervous system diseases, and provides modeling and simulation tools to the actors of pharmaceutical research.

The work of this thesis funded by Rhenovia Pharma aims to extend modeling and simulation techniques, to enrich the library of available models, and to apply these developments in the context of projects pursued by the company.

On one hand, my task was to implement different tools and techniques to develop models of neural mechanisms at different scales: the so-called "elementary models" permit to simulate the dynamics of receptors, ion channels and biochemical reactions in intracellular signaling pathways; models at the neuronal level allow to study the electrophysiological activity of these cells; and microcircuits models help to understand the emergent properties of these complex systems, while maintaining the basic mechanisms that are the targets of pharmaceutical molecules.

Moreover, this work has been applied to the study of the hippocampal function, within the framework of three projects that have accompanied the development of modeling and simulation techniques. The first application deals with the phenomenon of Long-Term Potentiation (LTP) in glutamatergic synapses of the hippocampus. Its modulation by pre- and postsynaptic compounds is studied as well as the synergism of their combinations and the influence of experimental induction protocols. The second application addresses the issue of neuronal

## Abstract

---

hyperexcitability and mesial temporal lobe epilepsy (MTLE), based on simulators reproducing different experimental models, and allowing to study the effects of anti-epileptic drugs. The action of compounds on neuronal hyperexcitability obtained in an *in vitro* configuration called *Low-Mg* is modeled and simulated; and alterations of GABAergic transmission, observed in an *in vivo* model of epilepsy were studied. The third application is devoted to the muscarinic modulation of hippocampal activity. In particular, a model of the mechanisms pacemaking  $\theta$  rhythm, including microcircuits of the CA1 area, medial septum and septo-hippocampal pathway is proposed, and the effects of compounds acting on muscarinic receptors on these readouts is simulated.

**Keywords:** Systems biology, multiscale modeling and simulation, hippocampus, CA1 area, synaptic transmission, glutamate, GABA, acetylcholine, NMDA receptor, Long-Term Potentiation, hyperexcitability, mesial temporal lobe epilepsy, anti-epileptic drugs, muscarinic receptors,  $\theta$  rhythm, medial septum, septo-hippocampal pathway.



# Table des matières

<b>Remerciements</b>	<b>i</b>
<b>Résumé, Abstract</b>	<b>iii</b>
<b>Présentation de Rhenovia Pharma</b>	<b>1</b>
<b>Introduction générale</b>	<b>7</b>
<b>I Contexte biologique</b>	<b>11</b>
<b>1 Système nerveux et hippocampe</b>	<b>13</b>
1.1 Le système nerveux : vue d'ensemble . . . . .	13
1.2 Hippocampe : présentation générale . . . . .	15
1.3 Situation anatomique . . . . .	16
1.4 Structure . . . . .	17
1.5 Connectivité . . . . .	18
1.5.1 Le circuit polysynaptique . . . . .	18
1.5.2 Afférences externes et efférences . . . . .	20
1.6 Types et caractéristiques cellulaires . . . . .	22
1.6.1 Cellules principales . . . . .	22
1.6.2 Interneurones GABAergiques . . . . .	24
1.7 Transmission synaptique . . . . .	29
1.7.1 Synapses et neurotransmetteurs . . . . .	29
1.7.2 Transmission glutamatergique . . . . .	31
1.7.3 Transmission GABAergique . . . . .	37
1.8 Modulation cholinergique de l'activité hippocampique . . . . .	41
1.8.1 Innervation cholinergique de l'hippocampe . . . . .	42
1.8.2 Récepteurs cholinergiques . . . . .	42
1.8.3 Effets physiologiques de la modulation cholinergique dans l'aire CA1 . .	44
<b>II Méthodes, outils &amp; modèles mis en œuvre</b>	<b>47</b>
<b>2 Méthodes &amp; outils</b>	<b>49</b>

## Table des matières

---

2.1	Approche générale de modélisation . . . . .	49
2.2	Du formalisme de Hodgkin et Huxley aux modèles cinétiques . . . . .	52
2.2.1	Modèles de Hodgkin et Huxley . . . . .	52
2.2.2	Modèles cinétiques . . . . .	54
2.3	Résolution de systèmes d'équations différentielles ordinaires . . . . .	56
2.4	Modélisation et simulation à l'échelle moléculaire et synaptique . . . . .	58
2.5	Modélisation et simulation à l'échelle neuronale et du microcircuit . . . . .	62
2.5.1	L'environnement de simulation NEURON . . . . .	62
2.5.2	Bibliothèque LFP <sub>y</sub> . . . . .	65
2.6	Exemple d'intégration de différentes échelles de modélisation . . . . .	66
<b>3</b>	<b>Modèles à l'échelle synaptique et subcellulaire</b>	<b>69</b>
3.1	Terminal présynaptique . . . . .	69
3.2	Compartiment postsynaptique glutamatergique . . . . .	72
3.3	Modulation pharmacologique du récepteur NMDA . . . . .	74
3.4	Compartiment postsynaptique GABAergique . . . . .	79
3.5	Modèle du récepteur muscarinique M1 . . . . .	82
<b>4</b>	<b>Modèles à l'échelle des neurones et des microcircuits</b>	<b>89</b>
4.1	Modèle de neurone pyramidal de l'aire CA1 . . . . .	89
4.2	Population synaptique du neurone pyramidal . . . . .	95
4.3	Modèle simplifié du microcircuit hippocampique . . . . .	99
4.4	Discussion et perspectives . . . . .	104
<b>III</b>	<b>Applications</b>	<b>107</b>
<b>5</b>	<b>Modulation pharmacologique de la potentialisation synaptique</b>	<b>111</b>
5.1	Plasticité synaptique et Potentialisation à Long Terme (LTP) . . . . .	111
5.1.1	Mécanismes de la LTP . . . . .	113
5.2	Contexte et objectifs de l'étude . . . . .	116
5.3	Modèle simplifié de LTP . . . . .	118
5.4	Résultats principaux . . . . .	120
5.4.1	Modulation de l'exocytose de glutamate par les récepteurs nicotiques	120
5.4.2	Modulation des courants postsynaptiques par le modulateur AMPAk . .	122
5.4.3	Non-linéarité de la LTP : quantification « tout-ou-rien » . . . . .	123
5.4.4	Étude de combinaisons : AChEi et AMPAk . . . . .	123
5.4.5	Importance du protocole d'induction . . . . .	128
5.5	Discussion et perspectives de l'étude . . . . .	129
<b>6</b>	<b>Hyperexcitabilité neuronale &amp; épilepsie méso-temporale</b>	<b>131</b>
6.1	Généralités sur l'épilepsie . . . . .	132
6.1.1	Définitions et Catégories . . . . .	132
6.1.2	Diagnostic . . . . .	133

6.1.3	Traitements . . . . .	134
6.2	Épilepsie mésio-temporale . . . . .	136
6.3	Hypothèses sur les mécanismes d'épileptogenèse . . . . .	138
6.4	Hypothèses sur les mécanismes d'ictogenèse . . . . .	139
6.5	Modèles expérimentaux d'épilepsie . . . . .	142
6.6	Contexte et objectifs de l'étude . . . . .	143
6.7	Résultats principaux en configuration <i>in vitro</i> . . . . .	145
6.7.1	Simulation de PDS dans une configuration <i>Low-Mg</i> . . . . .	145
6.7.2	Validation de l'effet de composés de référence . . . . .	146
6.7.3	Étude de combinaisons . . . . .	146
6.7.4	Impact du complexe Homer-Shank sur l'excitabilité neuronale . . . . .	149
6.8	Résultats principaux en configuration <i>in vivo</i> . . . . .	150
6.8.1	Caractérisation du modèle expérimental <i>in vivo</i> utilisé dans l'étude . . . . .	150
6.8.2	Simulations en configuration <i>in vivo</i> -MTLE . . . . .	151
6.8.3	Impact de l'altération de l'expression des CCC . . . . .	154
6.8.4	Une surexpression de GABA <sub>A</sub> R favorise l'hyperexcitabilité . . . . .	156
6.8.5	Une sous-expression des iGluR mitige l'hyperexcitabilité . . . . .	157
6.8.6	Simulation de l'effet de MAE en configuration <i>in vivo</i> . . . . .	158
6.9	Discussion et perspectives de l'étude . . . . .	160
<b>7</b>	<b>Modulation muscarinique de l'activité neuronale hippocampique</b>	<b>165</b>
7.1	Rythme thêta et voie septohippocampique . . . . .	166
7.1.1	Le septum comme générateur du rythme thêta hippocampique . . . . .	167
7.2	Contexte et objectifs de l'étude . . . . .	170
7.3	Modélisation et résultats . . . . .	171
7.3.1	Modulation muscarinique de l'excitabilité hippocampique <i>in vitro</i> . . . . .	171
7.3.2	Modulation muscarinique du rythme thêta généré <i>in vivo</i> . . . . .	176
7.4	Discussion et perspectives de l'étude . . . . .	186
<b>IV</b>	<b>Conclusion</b>	<b>191</b>
	Synthèse . . . . .	193
	Perspectives . . . . .	198
<b>V</b>	<b>Annexes</b>	<b>201</b>
<b>A</b>	<b>Suppléments du chapitre 2</b>	<b>203</b>
<b>B</b>	<b>Suppléments du chapitre 3</b>	<b>209</b>
<b>C</b>	<b>Suppléments du chapitre 4</b>	<b>217</b>
<b>D</b>	<b>Suppléments du chapitre 5</b>	<b>221</b>

## Table des matières

---

<b>E Suppléments du chapitre 6</b>	<b>223</b>
E.1 Effets de la tiagabine en configuration <i>Low-Mg</i> . . . . .	225
E.2 Effets de la lamotrigine en configuration <i>Low-Mg</i> . . . . .	226
<b>F Suppléments du chapitre 7</b>	<b>229</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>233</b>
<b>Table des figures</b>	<b>269</b>
<b>Liste des acronymes</b>	<b>273</b>



# Présentation de Rhenovia Pharma

<sup>1</sup> Rhenovia Pharma est une jeune société de biotechnologie, fondée le 3 mai 2007 par une équipe internationale engagée dans la recherche de nouvelles solutions pour traiter les maladies du système nerveux, plus particulièrement la maladie d'Alzheimer. L'équipe de Rhenovia Pharma a développé et mis en œuvre une technologie unique au monde permettant d'intégrer les données issues des neurosciences dans des plateformes de biosimulation *in silico*.

Les difficultés à répondre aux besoins médicaux dans le domaine du système nerveux, notamment pour la maladie d'Alzheimer, sont indiscutablement liées à l'extrême complexité de la maladie, ainsi qu'aux aspects multifactoriels et dynamiques des processus physiopathologiques. Pour ces raisons, l'efficacité de l'approche classique de découverte de médicaments, utilisée par la plupart des entreprises pharmaceutiques, est limitée pour résoudre les multiples facettes de ces maladies. Le processus intégratif de modélisation mathématique permet la génération de modèles dynamiques intégrant des mécanismes détaillés.

Le travail mené par les équipes de Rhenovia Pharma consiste à réaliser une bibliothèque de modèles fonctionnels, aussi appelés modèles élémentaires, des réactions biochimiques qui ont lieu dans les cellules nerveuses, et à les assembler afin d'obtenir un système mimant le plus finement possible les mécanismes de la propagation et du traitement du signal au sein des synapses, des neurones et de réseaux de neurones. Les travaux menés jusqu'à maintenant ont permis de modéliser les mécanismes essentiels et de reconstituer le comportement des synapses glutamatergiques, GABAergiques et dopaminergiques. Rhenovia Pharma est aujourd'hui capable de poser les bases d'un modèle numérique décrivant la communication synaptique, la physiologie neuronale et le comportement de populations de neurones, pour mener des études fondamentales ou appliquées à la découverte de molécules, et accélérer le processus de recherche et développement en pharmacologie.

Ainsi, la vocation de Rhenovia Pharma est d'utiliser ces technologies innovantes dans le domaine des neurosciences, en intégrant la complexité des systèmes biologiques, dans le but de promouvoir la découverte de nouveaux médicaments, permettant le traitement de pathologies du système nerveux.

---

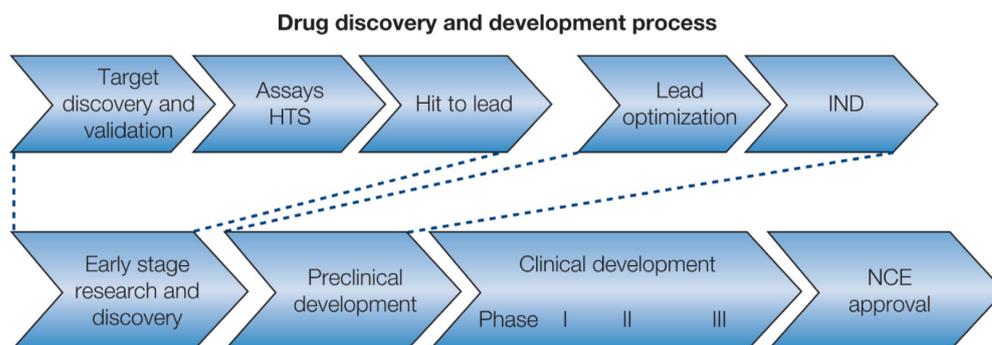
1. Cette section emprunte des éléments au préambule du manuscrit de la thèse de Renaud Greget, réalisée précédemment dans l'entreprise (Greget, 2011).

Un objectif est d'augmenter la prédictibilité des tests précliniques effectués sur les animaux, et donc de permettre une réduction notable du nombre d'animaux utilisés. Un autre objectif est d'établir des modèles translationnels permettant d'extrapoler les résultats numériques à l'Homme, et de réduire le taux d'attrition des nouveaux candidats pharmacologiques en phase clinique. En effet, de nombreuses limitations chez les modèles animaux, telles que la différence d'organisation du cerveau, l'absence de certains génotypes, phénotypes et comportements, les différences d'affinité et d'efficacité des composés pour certains récepteurs entre l'humain et l'animal, ainsi que de possibles interférences pharmacodynamiques liées à la comédication, expliquent en partie le taux d'échec élevé du processus de développement d'un nouveau médicament.

### Le processus de découverte de nouveaux médicaments

Pour l'industrie du médicament, la capacité à mettre au point des molécules innovantes est le principal critère de réussite. Or, la recherche de nouveaux médicaments est un processus long et coûteux. La mise au point d'un nouveau médicament prend entre 15 à 20 ans et se décompose en trois étapes majeures : l'isolement de la molécule, l'étude préclinique et l'étude clinique (Figure 0.1).

**a) Isolement de la molécule.** Les laboratoires pharmaceutiques identifient de nouvelles molécules à tester par synthèse chimique (chimie combinatoire), par extraction à partir d'une source naturelle, ou bien par ingénierie biotechnologique. Une fois ces nouvelles molécules obtenues, la méthode de recherche habituelle dite de criblage (*screening*) est appliquée, consistant à tester ces molécules et leurs analogues sur les cibles biologiques connues dans des cellules isolées. L'objectif est alors de repérer celles qui présentent des propriétés intéressantes, c'est-à-dire d'isoler les principes actifs qui auront un effet curatif. La mise en œuvre du *screening* est lourde, et son rendement est faible. Ainsi, sur 100 000 molécules criblées, seule une centaine d'entre elles sera retenue pour les tests précliniques chez l'animal. Cette phase de recherche initiale est évaluée à une durée de deux à trois ans en moyenne.



**Figure 0.1** – Processus de recherche et de développement de nouveaux médicaments, d'après Brady *et al.* (2009).

---

**b) Études précliniques.** Il s'agit successivement d'identifier, de cribler, de sélectionner puis d'optimiser les quelques molécules qui présenteront le meilleur potentiel de développement aussi bien en terme d'efficacité qu'en terme de tolérance. Cette phase de recherche porte le nom d'études précliniques (Drug Discovery (DD)) et dure généralement deux à trois ans. À la fin de ce processus, la molécule sera admise à passer en étude chez l'homme. Les études précliniques sont conduites à l'aide de robots et de cultures de tissus et permettent ainsi de réduire considérablement l'utilisation d'animaux de laboratoire. À ce stade, il est vérifié que la molécule n'est pas cancérigène, mutagène ou tératogène et qu'elle ne provoque pas d'autres effets toxiques inacceptables. Les procédés industriels de fabrication sont mis au point à ce stade de développement. Cette phase s'effectue dans des unités de recherche (synthèse et extraction, *screening* et essais pharmacologiques, essais de toxicité et de sécurité, dosage, formulation et stabilité). Les études précliniques sont nécessaires avant toute étape de test sur l'homme, car il s'agit de déterminer le degré de tolérance au médicament, la dose et les modes d'administration, ainsi que les données d'efficacité et de toxicité de base. Les tests précliniques sont de trois formes :

- La pharmacologie expérimentale : des essais d'efficacité sont réalisés sur des systèmes moléculaires inertes, sur des cultures cellulaires puis finalement sur l'animal. Ces tests visent à définir le profil des composés sélectionnés lors du *screening* dans ses aspects pharmacodynamiques (mode d'action, relation dose-effet) et pharmacocinétiques (admission et transformation du composé dans l'organisme).
- La toxicologie : ces études évaluent les risques d'effets secondaires des futurs médicaments. Elles ont pour but de s'assurer de l'innocuité de la molécule et d'analyser ses effets toxiques sur l'organisme. Soumises aux dispositions de la directive européenne 75/318, elles prennent en compte la toxicité aiguë et chronique du produit. Réalisés sur des mammifères rongeurs et non-rongeurs, ces tests s'intéressent aux effets tératogènes, mutagènes et cancérigènes du candidat-médicament.
- La pharmacocinétique et le métabolisme du composé : ces études portent sur des propriétés pharmaceutiques de la molécule telles que l'absorption, le métabolisme, la distribution, l'élimination du produit dans l'organisme.

Le développement préclinique s'étend généralement sur deux à trois années. Si les résultats de ces études sont positifs, le médicament entre en phase d'essais cliniques sur l'homme. Les affaires du Thalidon, de la Thalidomide, du Distilbène et plus récemment du Mediator, médicaments dangereux, dont l'évaluation initiale et la surveillance n'ont pas été assez strictes, ont fait prendre conscience des conséquences sanitaires possibles des carences ou des fautes des systèmes de santé publique. Des procédures renforcées de mise sur le marché et de pharmacovigilance ont ainsi été définies et mises en œuvre.

**c) Développement et études cliniques.** La phase de développement (*drug development*) correspond aux études cliniques chez l'homme, et dure huit ans en moyenne. Conformément aux accords d'Helsinki de 1975, les études cliniques ne peuvent être menées qu'avec le consentement éclairé et écrit des patients ou des volontaires sains. Les études dites de phase I permettent d'établir la dose thérapeutique maximale administrable chez l'homme. Ces

études sont menées chez des volontaires sains. Elles permettent d'évaluer les grandes lignes du profil de tolérance du produit (évaluer la sécurité d'emploi du produit, son devenir dans l'organisme, son seuil de tolérance ainsi que le déclenchement d'effets indésirables) et de son activité pharmacologique. Les études suivantes de phase II ont pour objectif de déterminer la dose thérapeutique et de démontrer l'effet thérapeutique attendu. Ces études sont aussi menées chez un petit nombre de malades qui ne répondent plus à aucun traitement (dans le cas des cancers par exemple). Il s'agit ici de définir la dose optimale, c'est-à-dire celle pour laquelle l'effet thérapeutique est le meilleur pour le moins d'effets secondaires. Les études de phase III incluent plusieurs milliers de patients pour vérifier statistiquement l'efficacité et la tolérance de la molécule étudiée en comparaison aux traitements de référence ou au placebo. Les précautions d'emploi et les risques d'interaction avec d'autres produits sont identifiés. Ces essais sont aussi souvent effectués dans plusieurs zones géographiques, afin de prendre en compte les caractéristiques de populations diverses. Les essais de phase IV ont lieu après que le médicament ait été mis sur le marché et permettent de tester son efficacité sur une population encore plus large, pour d'éventuelles extensions de ses indications thérapeutiques.

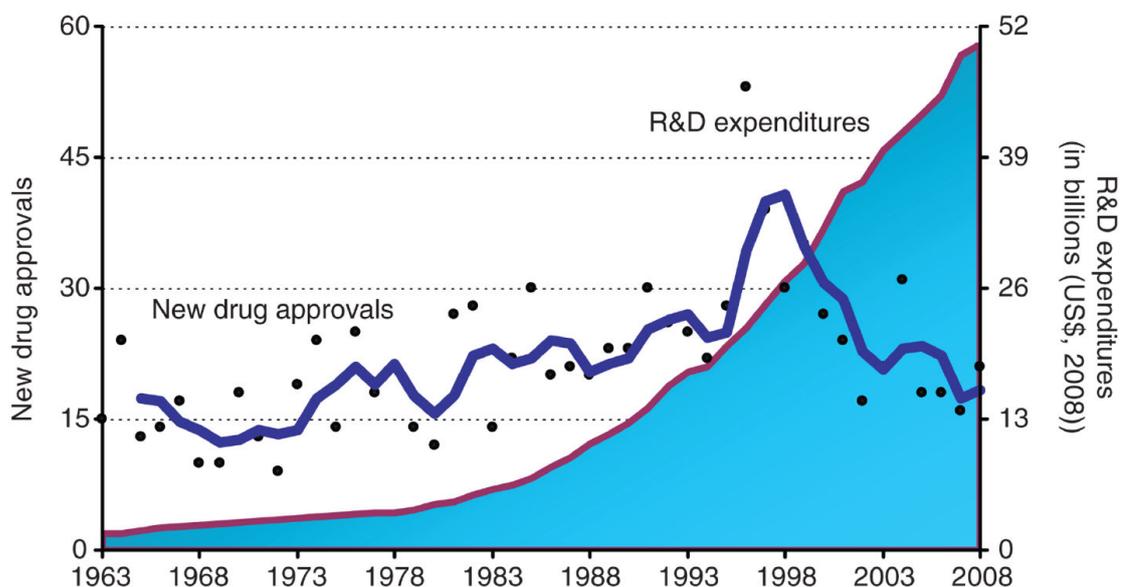
### **Des difficultés de l'innovation thérapeutique**

Le long processus de recherche et développement (R&D) prend entre 15 et 20 ans, ne laissant que 5 à 10 ans pour rentabiliser l'investissement initial, avant expiration des brevets qui passent alors dans le domaine public. Ce processus est aussi extrêmement risqué, et seule une petite fraction des molécules candidates obtient une autorisation de mise sur le marché. Ainsi, seulement 8 % des molécules entrant en phase I sont finalement commercialisées (Kola et Landis, 2004). Ce taux d'attrition particulièrement élevé est dû entre autres aux limites de la prédictibilité des modèles animaux d'une part et à une compréhension incomplète de la physiologie et des pathologies du cerveau humain d'autre part. Le contexte économique actuel ne favorise pas la rentabilité et la sécurité du processus, et les médicaments doivent renouveler les preuves de leur efficacité, sous peine de ne pas faire l'objet de remboursement par l'assurance maladie.

Un nombre grandissant d'analyses montrent que la R&D de nouveaux candidats-médicaments connaissent un taux de succès inadéquat par rapport aux moyens mis en œuvre en général, particulièrement dans le domaine des maladies du système nerveux central (SNC) (Hopkins, 2008; Munos, 2010; Grabowski, 2004; Kaitin, 2010). En effet, alors que le coût de R&D a doublé entre 1998 et 2008, le nombre de nouvelles molécules introduites sur le marché a diminué de plus de moitié, démontrant clairement l'efficacité limitée de la stratégie employée par les groupes pharmaceutiques (Figure 0.2). D'autre part, l'expiration rapide des brevets expose leurs détenteurs à la commercialisation de médicaments génériques concurrents, et les obligent à trouver des solutions pour amortir leurs investissements. Il en résulte un désengagement d'une partie de l'industrie dans la recherche de molécules innovantes appliquées aux pathologies du système nerveux, et une diminution manifeste du nombre de médicaments mis sur le marché ces dernières années pour ces indications (Hughes, 2008; Mullard, 2015).

Comme le souligne par exemple Bennani (2012), l'industrie pharmaceutique a un besoin urgent de mobiliser de nouvelles approches pour dynamiser son innovation, en intégrant les outils issus des nouvelles technologies telles que les approches de pharmacologie quantitative (Allerheiligen, 2010) ou les techniques de modélisation et de simulation (Grasela et Slusser, 2010; Robinson et Sethuraman, 2010). La mise en œuvre de ressources institutionnelles est aussi un aspect important pour la durabilité de cet écosystème (Brady *et al.*, 2009).

C'est dans ce contexte et pour faire face à ces enjeux majeurs que Rhenovia Pharma trouve ses origines. Constituée autour d'une équipe pluridisciplinaire, l'entreprise met les expertises de ses biologistes, physiciens, mathématiciens et informaticiens au service de la recherche et de la découverte de nouveaux traitements des maladies du système nerveux. L'approche consiste à étudier les mécanismes d'action des molécules thérapeutiques, en tenant compte de leurs différentes cibles, et à modéliser leurs effets sur la fonction cérébrale, afin d'optimiser leurs propriétés chimiques, d'augmenter leur efficacité et d'en réduire les effets secondaires. L'objectif de Rhenovia Pharma est le développement rationnel de nouveaux médicaments (éventuellement des combinaisons de molécules) interagissant avec les différents mécanismes de ces maladies complexes et souvent multifactorielles. En tirant parti des formidables développements des technologies informatiques, et en intégrant les connaissances issues des neurosciences dans des modèles mathématiques complexes ; Rhenovia Pharma conçoit les technologies permettant de relever les nombreux défis scientifiques, industriels, économiques et sociaux que posent les pathologies du système nerveux, en particulier les maladies neuro-dégénératives.



**Figure 0.2** – Comparaison entre les dépenses R&D de l'industrie pharmaceutique (courbe rouge) et le nombre de médicaments (points noirs) mis sur le marché entre 1993 et 2008, d'après Kaitin (2010).





# Introduction générale

*« Tout ce qui existe dans l'univers est le fruit du hasard et de la nécessité. »*

Démocrite.

Que l'on soit ou non scientifique, on ne peut qu'être saisi par le raffinement, la diversité et la beauté du vivant dans la nature. Chef d'œuvre de l'évolution, le système nerveux témoigne du formidable degré d'adaptation des espèces animales : il les dote de la capacité de percevoir l'environnement, de se représenter le monde pour assurer la programmation et la coordination d'actions complexes qui sont autant de stratégies de survie.

Les neurosciences représentent l'ensemble des disciplines scientifiques tentant de résoudre les nombreuses questions associées au fonctionnement du système nerveux. Elles suscitent de nombreux espoirs, dont celui de dégager les principes fondateurs, d'identifier les substrats biologiques de la conscience, de la cognition, des sentiments et de la douleur, mais aussi celui de comprendre et de vaincre les maladies neurodégénératives. Aux permanents progrès des connaissances et des technologies se sont opposés - et s'opposent toujours - l'indicible complexité du cerveau, dont le fonctionnement s'intègre dans des échelles d'espace et de temps multiples, rendant l'appréhension intellectuelle des phénomènes et le dégagement de principes, difficiles, voire impossibles. Aussi, les maladies neurologiques, qui font suite à des altérations de ces mécanismes complexes, touchent une fraction croissante de la population. La plupart d'entre elles ne connaissent pas de traitement véritablement efficace pour enrayer leur causes, en particulier les maladies neurodégénératives qui constituent un fléau sur le plan social, et un défi sur le plan médical et scientifique.

Malgré tout, le développement d'outils informatiques puissants nourrit l'espoir de pouvoir appréhender cette complexité dans un futur proche ; et ces dernières décennies ont vu émerger les approches de biologie intégrative, et l'ensemble des disciplines des neurosciences computationnelles.

Les neurosciences computationnelles abordent les questions relatives au cerveau en termes de systèmes de traitement du signal, et s'efforcent de formaliser les fonctions des neurones, en utilisant des modèles mathématiques et informatiques, qui intègrent les sous-systèmes et les signaux électrophysiologiques et biochimiques qui les connectent entre eux. Par essence, les neurosciences computationnelles sont pluridisciplinaires et tirent parti des savoirs mathéma-

## Introduction générale

---

tiques et des outils informatiques pour intégrer les résultats expérimentaux de la neurobiologie, de la pharmacologie et de la médecine. Les objectifs peuvent être de synthétiser des systèmes imitant les fonctions cognitives, d'où peuvent émerger des formes d'intelligence artificielle, ou bien de formaliser les mécanismes sous-jacents afin d'en comprendre les principes fonctionnels. C'est dans cette deuxième perspective que s'inscrivent mes travaux de thèse résumés ici, dont l'objet est de constituer un ensemble de modèles permettant de représenter certains aspects du fonctionnement des synapses et des neurones, de simuler les altérations associées à certaines pathologies, afin de comprendre et d'identifier les modes d'actions de composés pharmacologiques. Ces modèles tentent de reproduire les principales caractéristiques fonctionnelles des systèmes étudiés, et compte tenu de leur complexité, doivent représenter diverses échelles spatiales et temporelles, couvrant la dynamique des neurotransmetteurs et de leurs récepteurs, les canaux ioniques et les variations électriques intracellulaires, la plasticité synaptique, les phénomènes de synchronisation dans les populations de neurones, l'évolution structurelle du cerveau, etc.. À partir d'une bibliothèque de modèles validés à différents niveaux, on développe des simulateurs qui permettent d'effectuer une multitude d'expérimentations numériques (*in silico*), dans lesquelles on peut faire varier de nombreux paramètres et analyser des observables difficilement accessibles expérimentalement.

Ainsi, mes travaux ont consisté en parallèle au développement des techniques de modélisation et de simulation, et à leur mise en œuvre par l'implémentation de plateformes de simulation, dans le cadre de projets menés par l'entreprise.

Dans sa première partie, ce manuscrit effectue la revue bibliographique et présente le contexte biologique des études : la structure, les types cellulaires, la connectivité et la transmission synaptique, ainsi que la modulation cholinergique de l'activité hippocampique y sont abordés en particulier (chapitre 1).

La deuxième partie décline les différentes méthodes et techniques mises en œuvre (chapitre 2), et présente les modèles principaux qui ont été développés à l'échelle synaptique, neuronale et des réseaux hippocampiques (chapitres 3 et 4). Une attention particulière est portée à la description des éléments de validation des modèles utilisés dans les projets applicatifs de la partie suivante.

Enfin, la troisième partie est consacrée à la présentation des travaux et des résultats produits lors de trois projets successifs, ayants pour socle commun la modélisation de neurones de l'hippocampe, et comme fil conducteur l'intégration de la complexité à l'échelle de la synapse, du neurone et du réseau de neurones. Le premier projet étudie les mécanismes de la modulation pharmacologique de la plasticité synaptique, (chapitre 5). Sur la base d'un modèle de synapse intégrant les compartiments pré- et postsynaptiques, ainsi que les mécanismes d'induction de la potentialisation à long terme ou *Long-Term Potentiation* (LTP), l'effet de deux composés et le synergisme de leurs combinaisons à différentes concentrations est évalué. Le second projet traite des phénomènes liés à l'hyperexcitabilité neuronale et à l'épilepsie (chapitre 6). Des configurations de modèles reproduisant les situations expérimentales *in*

---

*vitro* et *in vivo* y sont décrites, et les résultats portent sur les modifications synaptiques et cellulaires sous-tendant les altérations de la pathologie et les modes d'action de médicaments antiépileptiques (MAE). Enfin, le troisième projet aborde la question de la modulation muscarinique de l'activité hippocampique (chapitre 7). Les modèles développés à l'échelle des microcircuits hippocampiques sont alors mis en œuvre pour reproduire les caractéristiques fréquentielles de leur activité observée dans des expérimentations *in vitro* et *in vivo*. En particulier, l'interaction entre le septum médian et l'hippocampe responsable de l'émergence du rythme thêta hippocampique est modélisée, et les effets de composés agissant sur les récepteurs muscariniques (mACh) sont étudiés en simulation.

En synthèse, ces travaux ont permis de renforcer les méthodes et techniques utilisées par l'entreprise, d'enrichir la base de modèles disponibles, et d'étudier l'effet de composés pharmacologiques sur différents phénomènes impliqués dans les pathologies du système nerveux. Ils visent à montrer :

- i) que les résultats de la pharmacologie et de la biologie systémique peuvent être utilisés pour développer des modèles fonctionnels simulant les interactions entre des molécules et la diversité des agents biochimiques participant au traitement du signal neuronal : récepteurs de neurotransmetteurs, canaux ioniques, transporteurs, enzymes, messagers secondaires, etc. ;
- ii) que les données d'électrophysiologie caractérisant l'activité de différents types de neurones peuvent être utilisées pour développer et valider des modèles fonctionnels simulant leur comportement de manière réaliste ;
- iii) que ces modèles peuvent être intégrés depuis l'échelle moléculaire jusqu'à l'échelle des microcircuits pour aboutir à des simulateurs qui permettent d'étudier *in silico* les conséquences fonctionnelles des modifications biochimiques induites par l'action des composés pharmacologiques sur l'activité de populations de neurones ;
- iv) que la validation incrémentale de ces différents modèles permet d'aboutir à des modèles prédictifs du comportement des neurones dans les conditions expérimentales, des altérations induites par des pathologies, et des effets de composés pharmacologiques dans de multiples configurations ;

c'est à dire qu'on peut mettre en œuvre des outils de modélisation et de simulation pour développer une approche-système de l'étude des entités biologiques constitutives des mécanismes neuronaux, afin de mieux comprendre leur fonctionnement et de promouvoir une ingénierie rationalisée de médicaments.



# Contexte biologique

## Partie I



# Système nerveux et hippocampe

On ne peut qu'être émerveillé par la complexité des structures biologiques, où des cellules, toutes descendantes d'une même cellule-mère, et possédant la même information génétique, se différencient et se spécialisent à l'extrême pour accomplir une vaste gamme de fonctions. Le point d'orgue de cette complexité et de cette spécialisation se produit certainement dans le cerveau, dont les mystères n'ont sans doute pas fini d'attiser notre curiosité d'humain et de scientifique. Il n'est pas ici question de présenter de manière complète les différents aspects de la neurophysiologie humaine, mais il semble tout de même nécessaire d'exposer les contours de l'étude, afin que le lecteur puisse situer son objet. Il pourra épancher sa soif de connaissances dans le domaine avec l'un des ouvrages de référence tels que Purves (2001); Bear *et al.* (2007); Kandel *et al.* (2012).

## 1.1 Le système nerveux : vue d'ensemble

Le système nerveux est le centre de contrôle de l'organisme. Il assure l'ensemble des fonctions permettant de percevoir l'environnement, de traiter, de stocker les informations sensorielles provenant de différents récepteurs périphériques, puis de produire et de contrôler une réponse adaptée. Anatomiquement, on distingue le système nerveux central (SNC) composé du cerveau et de la moelle épinière, et le système nerveux périphérique (SNP), constitué de l'ensemble des nerfs véhiculant l'information entre le système nerveux central (SNC) et le reste du corps.

Le système nerveux central est une structure bilatérale et symétrique, comprenant 7 parties principales, qui sont (de bas en haut) : la moelle épinière, la moelle allongée (*medulla oblongata*), le pont, le cervelet, le mésencéphale, le diencephale et les hémisphères cérébraux (ou télencéphale) (Figure 1.1A).

1. La moelle épinière recueille et traite les informations sensorielles, et envoie les informations motrices vers les organes, relayées par le SNP.
2. La moelle allongée comprend différents centres de contrôle de fonctions autonomes,

## Chapitre 1. Système nerveux et hippocampe

---

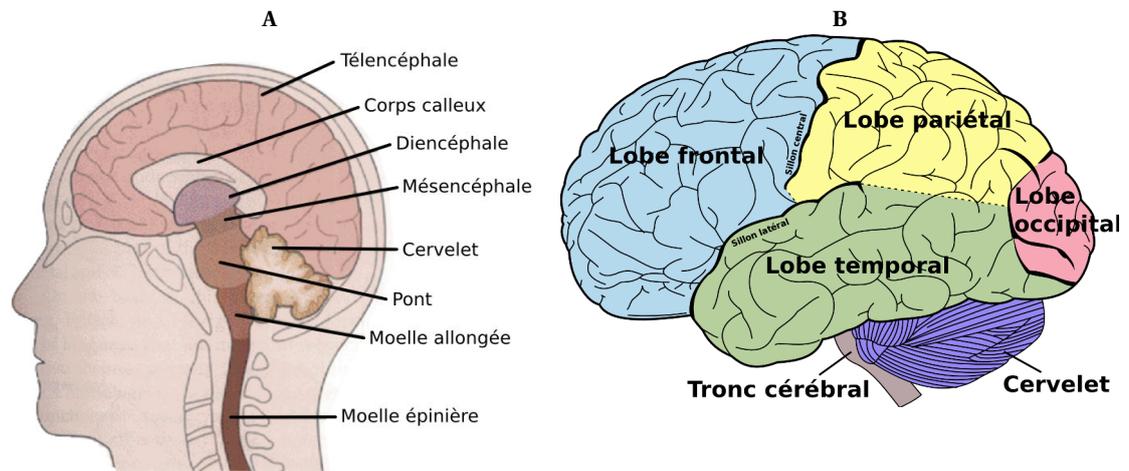
telles que la digestion, la respiration, et le rythme cardiaque.

3. Le pont véhicule des informations sur le mouvement, provenant des hémisphères cérébraux et allant vers le cervelet.
4. Le cervelet, connecté au tronc cérébral (moelle allongée, pont et mésencéphale), module la précision des mouvements et est impliqué dans l'équilibre.
5. Le mésencéphale contrôle des fonctions sensorielles et motrices, telles que le mouvement des yeux et la coordination de réflexes visuels et auditifs.
6. Le diencephale est composé de deux structures importantes : le thalamus, qui traite la plupart des informations en transit entre le cortex et le reste du SNC, et l'hypothalamus, qui régule des fonctions autonomes, endocrines, et viscérales.
7. Le télencéphale est constitué du cortex cérébral, la couche circonvoluée la plus externe, et de trois structures sous-corticales : les noyaux de la base (striatum, pallidum, noyau sous-thalamique et substance noire), l'hippocampe, et les noyaux amygdaliens. Les noyaux de la base participent au contrôle moteur, l'hippocampe assure l'encodage de la mémoire, et les noyaux amygdaliens coordonnent les réponses autonomes et endocrines associées aux états émotionnels.

Les hémisphères cérébraux sont grossièrement divisés en quatre lobes, séparés par des sillons (Figure 1.1B), et communiquant entre eux par des commissures (faisceaux d'axones), dont la principale est appelée le corps calleux (Figure 1.1A). On associe classiquement ces lobes aux fonctions suivantes :

- le lobe frontal est associé à la pensée rationnelle, à la résolution de problèmes, à la planification, à certains aspects du langage (e.g. aire de Broca), du comportement émotionnel et au mouvement (cortex moteur) ;
- le lobe pariétal est impliqué dans la perception des stimuli du toucher, de la pression, de la température et de douleur ;
- le lobe occipital est associé à la vision ;
- le lobe temporal est responsable de la perception et la reconnaissance des informations auditives (e.g. aire de Wernicke), et est associé aux processus d'apprentissage et de mémoire.

Ces quatre lobes sont souvent subdivisés en aires, dont les frontières sont déterminées par des limites anatomiques (sillons, fissures, gyrus), ou fonctionnelles. Par exemple, le lobe frontal se compose du cortex préfrontal, associé à la résolution de problèmes, du cortex prémoteur qui coordonne les mouvements, et du cortex moteur primaire qui contrôle leur exécution. Ces subdivisions successives se poursuivent à mesure que l'on se concentre sur des fonctions de plus en plus spécialisées, et c'est sur le lobe temporal, impliqué dans l'apprentissage et la mémoire, et plus particulièrement sur l'hippocampe que nous allons porter notre attention.



**Figure 1.1** – Représentations schématiques des principales subdivisions anatomiques du système nerveux central (A) d'après Kandel *et al.* (2012) et des lobes des hémisphères cérébraux (vue latérale de l'hémisphère gauche, domaine public) (B).

## 1.2 Hippocampe : présentation générale

Anatomiquement, on identifie l'hippocampe ou ses analogues chez la plupart des vertébrés, en particulier chez les mammifères, où il forme avec les régions corticales associées la base du lobe temporal le long des ventricules latéraux. Il joue un rôle central dans les processus de mémorisation, et l'implication de l'hippocampe dans la mémoire spatiale a été particulièrement étudiée chez les rongeurs. La découverte de certains de ses aspects fonctionnels, comme les cellules de lieu, formant des cartes cognitives de l'espace (O'Keefe et Dostrovsky, 1971; O'Keefe, 1976; O'Keefe et Nadel, 1978; Ekstrom *et al.*, 2003), ou le codage temporel de l'information relative à la phase du rythme thêta (O'Keefe et Recce, 1993; Hasselmo, 2005), a valu à John O'Keefe, May-Britt Moser et Edvard I. Moser le prix Nobel de médecine en 2014.

Les premières données importantes concernant la fonction de l'hippocampe chez l'être humain ont été obtenues grâce à l'observation de patients ayant subi des lésions du cortex hippocampique. Le premier et très étudié cas montrant les effets de la résection bilatérale de portions du lobe temporal remonte aux années cinquante et à l'histoire du patient Henry Gustav Molaison (H.M.). Souffrant d'une épilepsie temporale bilatérale incurable depuis plus de 10 ans, H.M. subit à 27 ans une résection chirurgicale de portions des lobes temporaux incluant l'hippocampe, permettant un meilleur contrôle de ses crises, mais le laissant avec un handicapant déficit de mémoire. Son amnésie était spécifique, dans la mesure où H.M. conservait une mémoire à court terme normale, couvrant quelques secondes ou minutes. Il se souvenait aussi correctement des événements précédant l'intervention, y compris de son enfance ; et son quotient intellectuel (QI), plutôt dans une moyenne haute, était intact. Il était cependant incapable de retenir toute information nouvelle pendant plus de quelques minutes, c'est à dire de convertir sa mémoire à court terme en souvenirs à long terme. Des patients ayant

subi des lésions similaires, ainsi que des études sur les animaux, ont permis de confirmer et d'affiner le rôle de l'hippocampe et des structures associées dans le processus de mémorisation. Il apparaît que ces régions traitent la mémoire déclarative (ou explicite), c'est à dire des souvenirs de faits ou d'événements pouvant être consciemment et explicitement rapportés, par opposition à la mémoire procédurale (ou implicite), dépendant d'autres structures. Il est communément admis que l'hippocampe est central dans la formation de cette mémoire déclarative, mais qu'il n'en est pas le lieu du stockage, agissant plutôt comme un détecteur de la nouveauté des stimuli (Vinogradova, 2001). Les signaux issus des cortex associatifs polymodaux, synthétisant les informations visuelles, auditives et somatiques, seraient traités par les cortex parahippocampiques et périrhinaux, relayés vers le cortex entorhinal (CE), d'où ils effectueraient une boucle dans l'hippocampe puis le subiculum avant d'être réintégrés dans le CE (section 1.5). De plus, il semble exister une certaine spécificité hémisphérique des hippocampes, où la mémoire sémantique seraient préférentiellement traitée dans un lobe temporal (généralement le gauche), et la mémoire visuelle dans l'autre (Frisk et Milner, 1990; Smith et Milner, 1989).

L'hippocampe est l'une des structures les plus étudiées du cerveau. Son organisation et son fonctionnement ont été examinés à différents niveaux dans le but de comprendre les bases neurobiologiques de l'apprentissage et de la mémoire. Le savoir accumulé sur son anatomie, sa physiologie et ses fonctions fournissent un riche corpus d'informations, offrant l'opportunité de modéliser les différents aspects du traitement du signal qui s'y opère. En tant qu'objet de la neurobiologie depuis des décennies, l'étude de l'hippocampe a aussi permis d'isoler les caractéristiques élémentaires des synapses, neurones et microcircuits. Cette importance fonctionnelle dans les processus cognitifs et son rôle central dans de nombreuses pathologies justifient pourquoi l'hippocampe a été au centre de la recherche en neurobiologie. Une autre raison réside dans les possibilités expérimentales d'identifier facilement l'hippocampe pour des enregistrements *in vivo* et de l'isoler pour des expérimentations *in vitro*. Enfin, l'attrait des scientifiques pour cette structure repose aussi sur la relative simplicité de sa cytoarchitecture et de sa connectivité, qui l'apparente à un système cortical simplifié. Pour autant, notre compréhension des cellules constitutives, de leur connectivité et de leurs propriétés biophysiques et neurochimiques, reste parcellaire et sujette à une continuelle évolution. Plus encore, l'identification des propriétés émergentes de ce système, des concepts computationnels constituant le traitement du signal neuronal, et de leur impact sur la cognition et le comportement conservent une grande part de mystère.

### 1.3 Situation anatomique

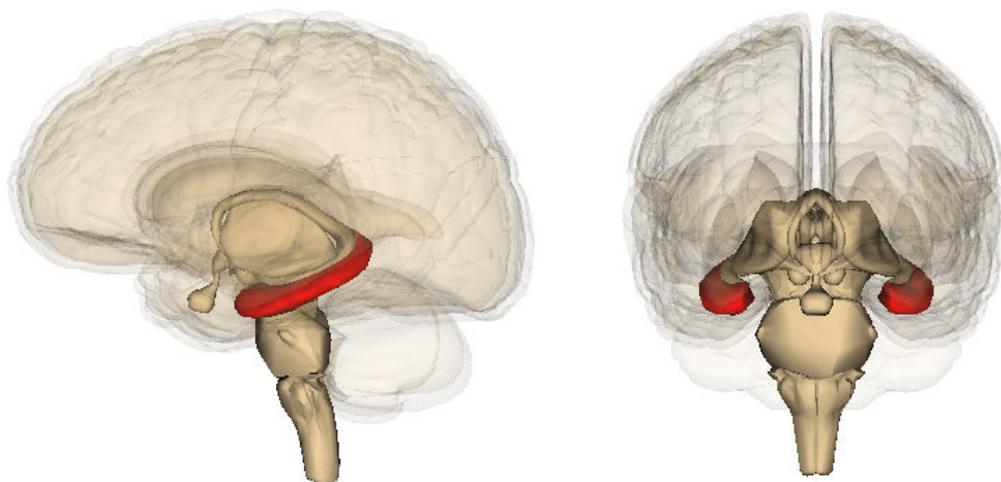
Chez les mammifères supérieurs, l'hippocampe est une petite structure sous-corticale enroulée sur elle-même, occupant la face médiane du lobe temporal (Figure 1.2). On appelle formation hippocampique, la structure composée de l'hippocampe et des structures parahippocampiques que sont le cortex entorhinal (CE) et le subiculum (Figure 1.3), et qui peuvent respectivement être vus comme les voies d'entrée et de sortie de l'hippocampe. Attaché à la

face dorsale de l'hippocampe se trouve un ruban épais de fibres, la fimbria de l'hippocampe, qui constitue le fornix et se termine au niveau du corps mamillaire. Connectées à l'amygdale, au septum et au thalamus, ces structures constituent les éléments principaux du système limbique, jouant un rôle fondamental dans l'apprentissage et les émotions.

## 1.4 Structure

L'hippocampe proprement dit est formé de deux ensembles cellulaires principaux, en forme de « U » inversés, qui s'imbriquent l'un dans l'autre : l'un comprend les cellules granulaires (CG) qui forment le gyrus denté (GD), et l'autre les cellules pyramidales (PC) qui constituent la corne d'Ammon (CA).

Sur la base de différences morphologiques et de ses connexions synaptiques, la **corne d'Ammon** a été subdivisée en quatre sous-parties, CA1 à CA4 (Lorente de Nó, 1934), dont CA1 et CA3 sont les plus étendues et les plus importantes sur le plan fonctionnel (Figure 1.3A). Les cellules principales de ces aires sont des neurones glutamatergiques de type pyramidal (cellules pyramidales (PC)). Dans CA3, ces cellules sont plus grosses et plus densément interconnectées entre elles (collatérales récurrentes) que dans CA1 (Amaral et Witter, 1995). D'autre part, la CA est divisée en différentes couches ou strates (Figure 1.3B) : (i) le *stratum oriens* (*s.o.*) qui contient les dendrites basales des PC, (ii) le *stratum pyramidale* (*s.p.*), ou couche pyramidale qui contient les corps cellulaires des PC, (iii) le *stratum lucidum* (*s.l.*) (uniquement dans CA3), qui contient les fibres moussues (axones des cellules granulaires), (iv) le *stratum radiatum*



**Figure 1.2** – Situation anatomique de l'hippocampe chez l'humain. D'après l'image « hippocampus » générée par Life Science Databases (<http://lifesciencedb.jp/>) sous licence CC-BY-SA-2.1-jp.

(s.r.) contenant les segments proximaux et moyens des dendrites apicales des PC, et (v) le *stratum lacunosum moleculare* (s.l-m), qui contient les dendrites apicales distales des PC. Ces différentes couches contiennent également de nombreux interneurons (IN) qui sont distribués au sein de celles-ci.

On distingue 3 couches dans le **gyrus denté** : le *stratum granulosum*, contenant les corps cellulaires des cellules granulaires, la couche moléculaire, formée par les dendrites apicales des cellules granulaires et leurs afférences, et enfin la couche polymorphique, formée par les segments initiaux des axones des cellules granulaires, à l'origine des fibres moussues (Figure 1.3B).

**Le subiculum** correspond à la partie la plus inférieure de la formation hippocampique, située chez l'homme au dessous de l'*uncus* du lobe temporal (Figure 1.3C). On y distingue la couche moléculaire, la plus superficielle, la couche pyramidale composée des corps cellulaires des cellules principales, ainsi qu'une fine couche, le *stratum oriens*. Il forme une boucle récurrente avec le CE, mais reçoit principalement des afférences de CA1, et constitue une voie de sortie de l'hippocampe. Via le fornix, le subiculum innerve les corps mamillaires, les noyaux thalamiques, l'amygdale, ainsi que le septum, le noyau accumbens (NAc) et le cortex préfrontal (CPF) (Groenewegen *et al.*, 1987).

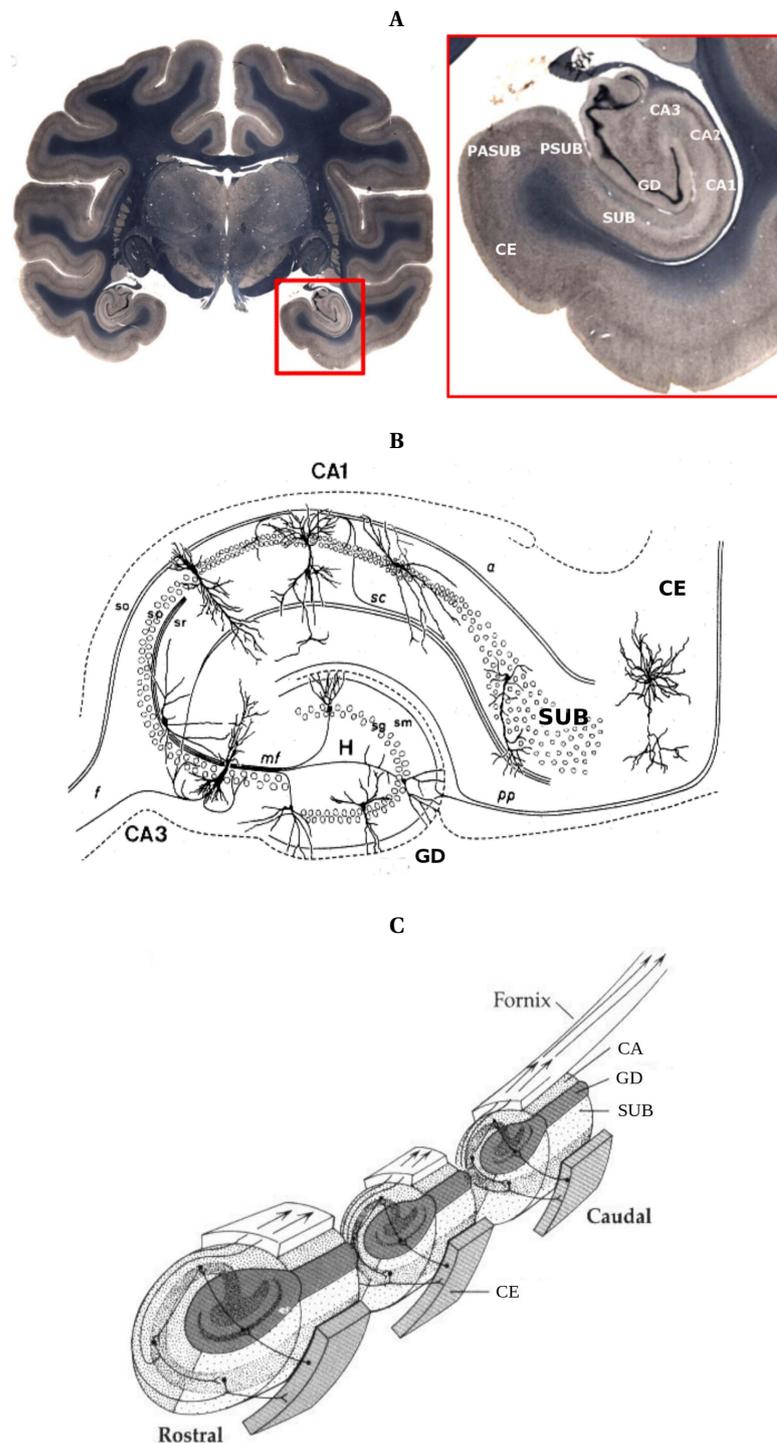
**Le cortex entorhinal (CE)** se situe dans le lobe temporal interne, entre l'hippocampe et la scissure rhinale. On y décrit 6 couches, dont les plus superficielles (I à III) constituent le cortex entorhinal latéral, et les plus profondes (IV à VI) constituent le cortex entorhinal médian. Le CE est connecté à l'hippocampe par les efférences excitatrices de la voie temporoammonique (directe vers la CA) et de la voie perforante (VP) (indirecte via le GD), et par des afférences hippocampiques, formant le circuit polysynaptique (cf. sous-section 1.5.1). Faisant transiter les informations entre les cortex et l'hippocampe, le CE joue un rôle crucial dans le traitement des informations spatiales.

## 1.5 Connectivité

Les différentes structures associées à la formation hippocampique communiquent entre elles selon un haut degré d'organisation. Plus d'un siècle après les premières descriptions de Ramón y Cajal (Ramón y Cajal, 1909), la recherche a fait émerger une image de plus en plus complexe de la connectivité de cette structure (Cutsuridis *et al.*, 2010b).

### 1.5.1 Le circuit polysynaptique

Il a été observé très tôt que l'hippocampe était composé d'entités fonctionnelles relativement indépendantes, formant des lamelles perpendiculaires à son axe principal (Andersen *et al.*, 1971) (Figure 1.3C). Bien que cette organisation lamellaire ne soit que partielle (des connexions longitudinales existent et jouent un rôle notoire), elle donne à l'hippocampe la particularité



**Figure 1.3** – Structure de l'hippocampe. **A** - Coupe frontale d'un cerveau de *Macaca mulatta* en coloration de Weil, d'après Mikula *et al.* (2008). La structure hippocampique, cadre rouge, est agrandie et permet la visualisation des différentes aires. **B** - Structure interne de l'hippocampe, illustrant les différentes aires et couches, en plan de coupe, d'après Toni (2000). **C** - Organisation lamellaire de la formation hippocampique, d'après Zigmond *et al.* (1998). GD : gyrus denté, CA : corne d'Ammon, CE : cortex entorhinal, pp : voie perforante, sm ou l-m : *stratum moleculare*, sg : *stratum granulosum*, mf : fibres moussues, so : *stratum oriens*, sp : *stratum pyramidale*, sr : *stratum radiatum*, sc : collatérales de Schaffer, SUB : subiculum, H : hile.

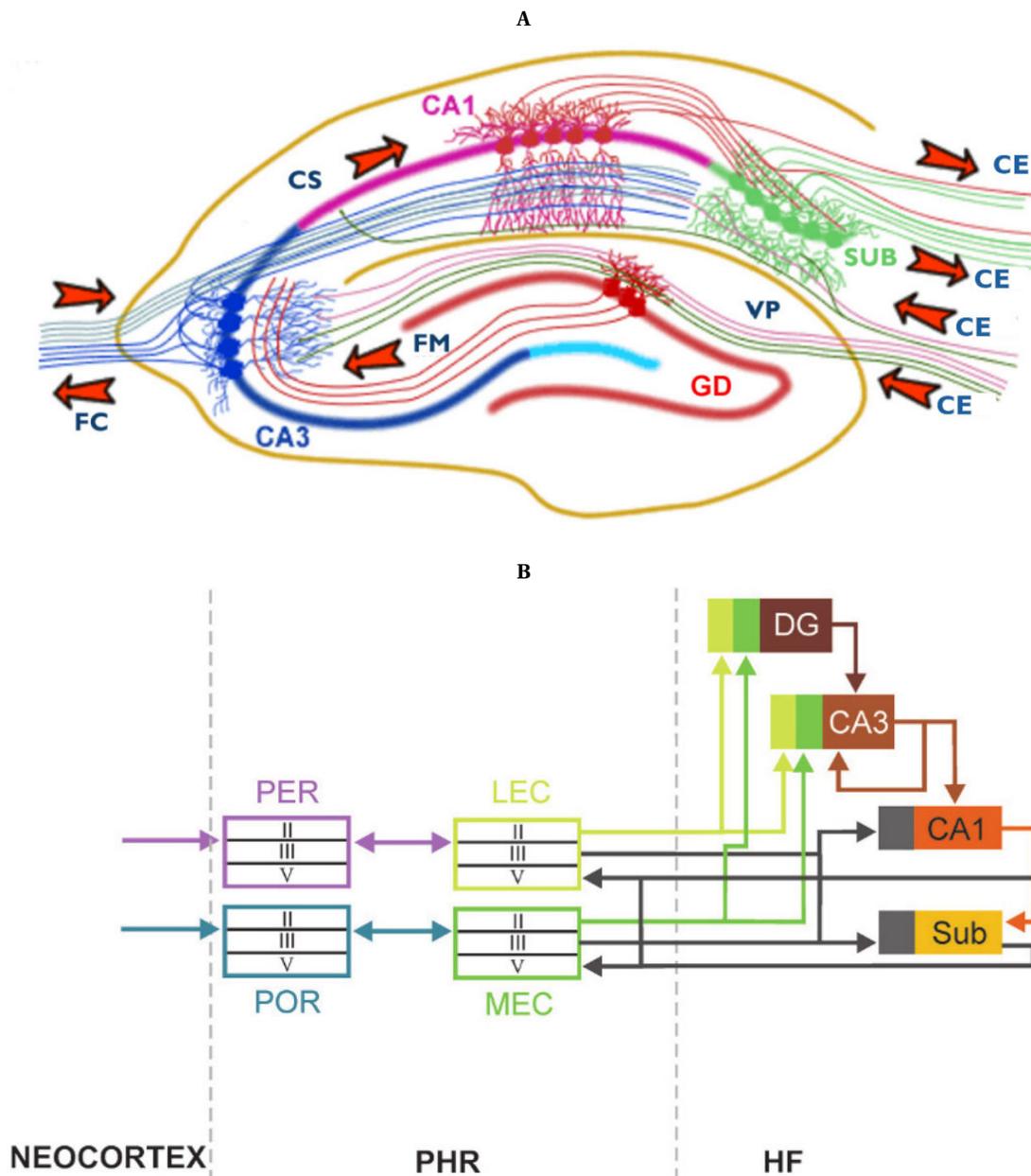
de pouvoir être relativement facilement étudié, en tranche dans des préparations *in vitro*. De plus, l'hippocampe est caractérisé par une boucle anatomique portant un flux unidirectionnel d'information, appelée voie trisynaptique ou polysynaptique (Figure 1.4). En amont, les projections de différentes aires du néocortex connectent les régions parahippocampiques (cortex périrhinal et cortex postrhinal), qui interagissent avec les différentes couches du CE. D'une part, les axones du CE (formant la VP) se projettent vers les différentes aires de l'hippocampe. D'autre part, les axones des cellules granulaires (CG) : les fibres moussues, contactent les PC de CA3 qui à leur tour, envoient des axones, appelés collatérales de Schaffer (CS), à travers le *stratum pyramidale* vers l'aire CA1 (Szirmai *et al.*, 2012). Ces derniers neurones envoient leurs projections hors de l'hippocampe, vers le subiculum qui connecte en retour le CE, fermant ainsi la boucle anatomique.

### 1.5.2 Afférences externes et efférences

En plus des afférences du CE, l'hippocampe reçoit des projections de l'hippocampe contralateral par les fibres commissurales de la fimbria, du septum médian exerçant une modulation cholinergique et GABAergique, et de différents sites du tronc cérébral, exerçant une modulation monoaminergique, dont le noyau médian du raphé (serotoninergique), et le *locus coeruleus* (noradrénergique).

En sortie de l'hippocampe, les PC du subiculum concentrent leurs axones dans le fornix, et se projettent dans d'autres aires du télencéphale et du diencéphale, telles que le noyau accumbens (NAc), la formation réticulée, l'aire préoptique, le tronc cérébral ou le septum. Une boucle anatomique majeure dans le contrôle des émotions, dite circuit de Papez, part du subiculum pour contacter les corps mamillaires de l'hypothalamus, puis le thalamus, et la circonvolution du cingulum avant de se fermer par une connexion vers le CE.

De part son organisation et sa connectivité, l'hippocampe joue assurément un rôle central dans le traitement de l'information sensorielle, issue de diverses modalités, et dans le contrôle des processus moteurs, cognitifs ou émotionnels qui en découlent. Pour autant, son fonctionnement fin est régi par l'activité des cellules qui le composent, et son caractère adaptatif, nécessaire à sa fonction de traitement de l'information, dépend des propriétés dynamiques des cellules et des connexions qui s'établissent entre elles.



**Figure 1.4 – A** - Connectivité intrahippocampique. Les afférences du cortex entorhinal (CE) connectent le gyrus denté (GD) et la corne d'Ammon (CA) par la voie perforante (VP) ; les axones des cellules granulaires du GD (fibres moussues) innervent également la région CA3 ; les collatérales des PC de CA3, appelées collatérales de Schaffer (CS), innervent les PC de CA1 ainsi que l'hippocampe controlatéral par les fibres commissurales (FC) ; les cellules de CA1 et CA3 innervent la région du subiculum (SUB) en direction du cortex entorhinal. Autres abréviations : CA, corne d'Ammon ; PSUB, présubiculum ; PASUB, parasubiculum. **B** - Vue schématique de la connectivité hippocampique. Les informations du néocortex transitent par les structures parahippocampiques (PHR), via le cortex perirhinal (PER) et postrhinal (POR) et les cortex entorhinaux latéral (LEC) et médian (MEC), avant de converger dans les neurones de l'hippocampe (HF), d'après Cutsuridis *et al.* (2010b).

### 1.6 Types et caractéristiques cellulaires

Les neurones, en tant qu'unités fonctionnelles de base du système nerveux, ont des propriétés anatomiques et physiologiques spécifiques à chaque région du cerveau. Le rôle fonctionnel de chaque neurone est dicté par sa morphologie et la topologie de ses connexions d'une part, et par ses caractéristiques électrophysiologiques (passives et actives) qui régissent la manière dont l'intégration des signaux afférents y est effectuée d'autre part. La forme de la réponse neuronale dépend des modes de décharge, spécifiques à chaque neurone, et est intimement liée à ses propriétés intrinsèques et aux entrées synaptiques dont il est la cible. Au fil des années, il est devenu clair que ces propriétés ne sont pas homogènes à l'ensemble de la cellule. En particulier, les dendrites ne sont pas de simples « antennes », intégrant passivement les signaux entrants, et jouent au contraire un rôle actif dans le traitement du signal à l'échelle subcellulaire (Spruston *et al.*, 1995). Ainsi, il est fondamental d'étudier et de comprendre le comportement des neurones jusque dans leurs compartiments subcellulaires, et de mettre au jour les caractéristiques des canaux ioniques qui forment la réponse électrophysiologique aux entrées synaptiques. **Le catalogage exhaustif des propriétés de l'ensemble des neurones hippocampiques n'étant pas l'objet de ce manuscrit, et puisque les travaux présentés ici s'articulent essentiellement autour de CA1, nous nous attacherons uniquement à décrire les principales caractéristiques des neurones de cette aire.**

L'hippocampe est constitué de différents types de neurones, que l'on distingue d'abord en cellules principales (i.e. PC dans la CA et cellules granulaires dans le GD) et en interneurons (IN). Les cellules principales constituent la majorité de la population neuronale ( $\approx 80$  à  $90$  %) et ont des morphologies homogènes, mais spécifiques à chaque aire. Ce sont des neurones glutamatergiques (i.e. libérant du glutamate) excitateurs, considérés comme les acteurs principaux des fonctions hippocampiques, qui projettent leurs axones collatéraux vers d'autres aires. Les IN sont principalement des cellules GABAergiques (i.e. libérant de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA)) inhibitrices, caractérisées par une arborisation axonale dense leur permettant de réguler et de coordonner l'activité d'un grand nombre de neurones voisins. Bien qu'en minorité, il existe une grande variété de morphologies, et on les distingue en plusieurs familles. Cette diversité suggère qu'ils jouent des rôles variés dans la distribution spatiotemporelle de l'activité des cellules principales.

#### 1.6.1 Cellules principales

Les cellules principales de l'aire CA1 sont parmi les plus étudiées. Elles se caractérisent par un soma de forme pyramidale, une large dendrite apicale, et plusieurs dendrites basales plus petites situées dans le *s.o.* et se terminant sur l'alveus. La dendrite apicale forme quelques dizaines de branches obliques dans le *s.r.* et se termine en une bifurcation, formant une touffe dans le *s.l-m.* D'une longueur totale de plus de 10 mm, l'arbre dendritique d'une PC de l'aire CA1 est densément recouvert d'épines dendritiques, qui sont les compartiments postsynaptiques des synapses dites asymétriques, principalement glutamatergiques. Megias *et al.* (2001)

ont estimé qu'une moyenne de 30 600 synapses asymétriques (i.e. formant un compartiment postsynaptique morphologiquement et fonctionnellement différencié) convergeaient sur chaque PC de CA1. La répartition de ces épines sur ces cellules n'est toutefois pas homogène, et leur soma en est par exemple dépourvu. Un nombre moins important de synapses symétriques, principalement GABAergiques, se forment sur ces neurones ( $\approx 1\,700$ ). La plupart de ces synapses sont localisées dans la zone périsonmatique ( $\approx 40\%$ ), qui est la cible privilégiée des IN inhibiteurs locaux. Ces synapses ne forment donc généralement pas d'épine, excepté dans le *s.l-m*, où 10 à 20 % des épines se sont révélées être inhibitrices (Figure 1.5). Les axones de ces neurones partent généralement de la base du soma, traversent le *s.o.*, et convergent dans l'alveus pour se diriger vers la fimbria, le fornix, le subiculum et le CE. L'arborisation locale de ces axones est réduite, mais quelques boutons synaptiques peuvent se former dans le *s.o.* et le *s.r.*, fournissant des entrées excitatrices aux IN et alimentant des boucles d'inhibition rétrograde.

Les PC de CA1 ont un potentiel de repos variant entre -64 mV et -84 mV, en fonction des préparations utilisées et des conditions de mesure (e.g. température), et une résistivité membranaire spécifique ( $R_m$ ) typique de  $27\text{ k}\Omega\cdot\text{cm}^2$  (Golding *et al.*, 2005). Ces cellules sont caractérisées par un rebond du potentiel de membrane lorsqu'on y applique un courant hyperpolarisant et par une adaptation (i.e. diminution) de la fréquence des potentiels d'action (PA) lorsqu'on y applique un courant dépolarisant continu. Les PA se développent normalement au niveau du segment initial de l'axone (SIA), une zone différenciée à l'extrémité du soma, et se rétro-propagent dans les dendrites en fonction de l'activité, de telle sorte que le premier PA d'un train atteindra plus facilement les dendrites distales que les suivants. Les canaux sodiques voltage-dépendant (Nav) perméables à l'ion  $\text{Na}^+$ , et les canaux potassiques voltage-dépendant (Kv) perméables à l'ion  $\text{K}^+$ , sont responsables respectivement de la dépolarisation et de la repolarisation rapide des potentiels d'action. Ils se désensibilisent progressivement, ce qui a pour effet d'empêcher de longues phases de décharges à haute fréquence. Les canaux sodiques voltage-dépendants (sous-unités Nav 1.1 et 1.2) sont exprimés de manière homogène sur les différents neurites, avec toutefois un pic dans la zone du SIA. Plusieurs types de canaux potassiques voltage-dépendants sont exprimés sur les neurones de CA1, générant des courants de type A (Kv4) et de type *rectifieur à délai* (Kv1, Kv2, Kv3). La densité de la conductance de type A augmente avec la distance au soma le long de l'axe somatodendritique. Des canaux potassiques activés par le calcium (KCa), c'est à dire dont l'ouverture est conditionnée par l'augmentation de la concentration intracellulaire de  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ), sont exprimés dans le soma et les dendrites les plus proximales. Ils sont responsables de la phase d'hyperpolarisation qui suit une séquence de dépolarisation (post-hyperpolarisation (PHP)). Les canaux potassiques de la famille des KCNQ génèrent un courant hyperpolarisant particulier, appelé courant-M ( $I_M$ ). Ces canaux, densément exprimés dans la zone périsonmatique, y compris dans le SIA, sont modulés par les récepteurs muscariniques, participent à l'adaptation de la fréquence de décharge, et ont été associés à la résonance des neurones de CA1 dans la bande d'oscillation basse-fréquence  $\theta$  (3-12 Hz) (Hu *et al.*, 2002). Des canaux calciques voltage-dépendant (VDCC) sont aussi exprimés, principalement autour du soma, et dans

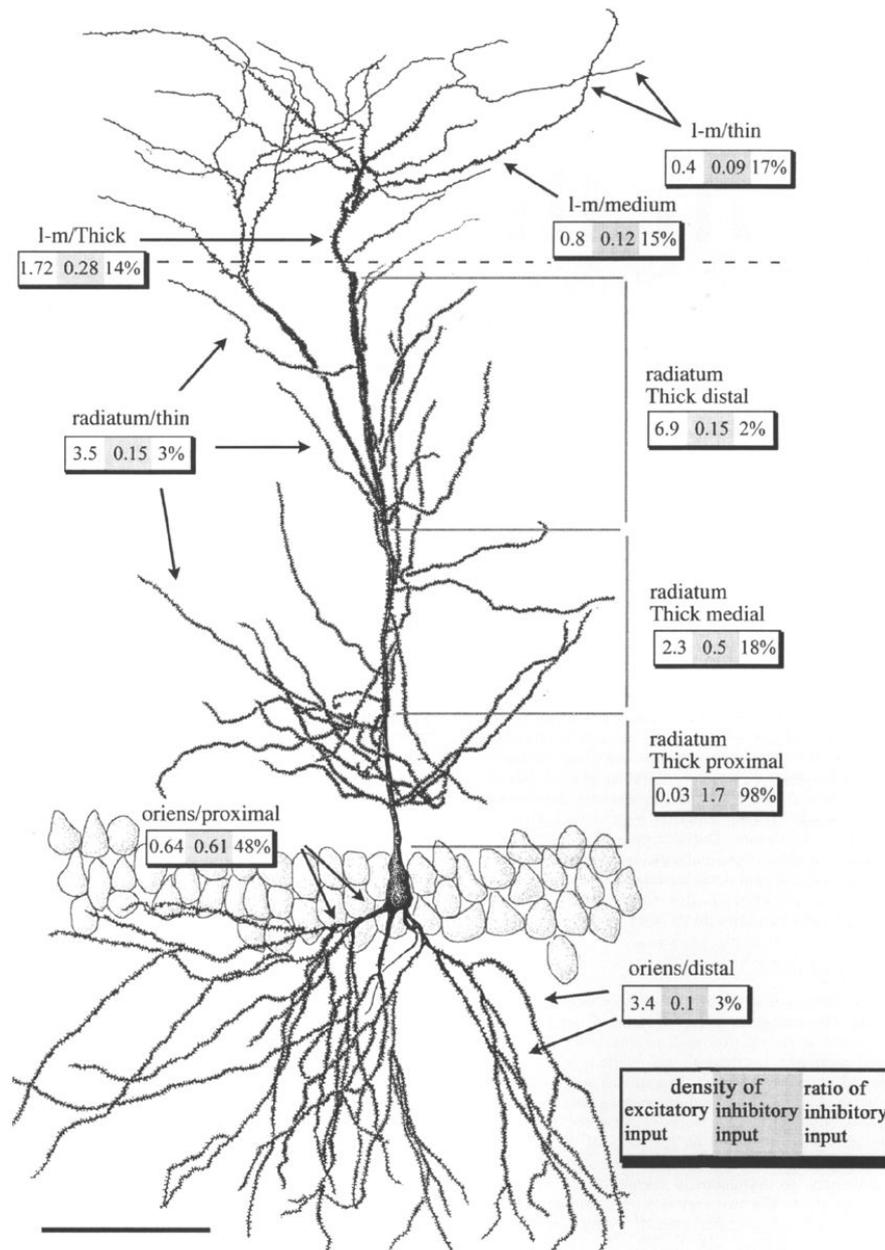
les dendrites avec une densité décroissant avec la distance. Classés principalement selon leur potentiel d'activation, les VDCC de type R, T et L sont les plus exprimés dans le soma et les dendrites, et ceux du type N jouent aussi un rôle dans la potentialisation synaptique (Magee *et al.*, 1998). Enfin, les canaux *Hyperpolarization-activated Cyclic Nucleotide-gated* (HCN) responsables du courant-H ( $I_H$ ), ont une densité dendritique croissant avec la distance au soma.  $I_H$  est un courant principalement entrant (i.e. dépolarisant, potentiel de réversion ( $E_{rev}$ )  $\approx$  -30 mV), activé par l'hyperpolarisation de la membrane ( $<$  -60 mV) ; il joue un rôle important dans l'intégration dendritique des signaux synaptiques (Magee, 1998).

**Les cellules principales des aires CA3 et CA2** sont morphologiquement semblables à celles du CA1. Dans CA3, elles diffèrent toutefois par un soma plus volumineux et une surface dendritique accrue. Au lieu d'un simple tronc, la dendrite apicale bifurque près du soma, et les épines dendritiques du *s.l.*, recevant les afférences glutamatergiques des fibres moussues provenant du GD, sont volumineuses et irrégulières. Les projections de ces cellules se font principalement vers les aires CA3 de l'hippocampe contralatéral (voie commissurale) et l'aire CA1 de l'hippocampe ipsilatéral (voie associative - collatérales de Schaffer (CS)) (Figure 1.4). Notamment, les axones des PC de CA3 arborisent localement, formant des collatérales récurrentes, et font synapses avec les IN inhibiteurs de CA1 aussi bien qu'avec les PC (Sik *et al.*, 1993). Du point de vue électrophysiologique, les PC de CA3 ont des propriétés proches de celles des PC de CA1. Leurs distributions en canaux sodiques, calciques (Thompson et Wong, 1991) et potassiques (Klee *et al.*, 1995), sont en effet similaires, avec toutefois une plus grande contribution des KCa. Pour autant, par des variantes dans les sous-unités exprimées, la sensibilité des canaux à des agents pharmacologiques peut être différente de CA1.

**Dans le gyrus denté (GD)**, les neurones principaux sont les cellules granulaires (CG). Plus petites que les PC, ayant un soma de forme arrondie, elles ont une morphologie bipolaire, formant un arbre conique de dendrites épineuses sur leur pôle supérieur, et un axone sur leur base. Les épines dendritiques sont issues des synapses excitatrices de la VP principalement, et ces neurones reçoivent aussi des entrées GABAergiques. Les CG envoient leurs projections axonales, les fibres moussues, vers le *s.r.* de CA3. Les CG ont un potentiel de repos particulièrement négatif ( $\approx$  -75 mV), et expriment des canaux sodiques, potassiques (type A et type K), et calciques voltage-dépendants (L, P/Q, N, T et R dans l'ordre de leurs densités respectives) (Vida, 2010).

### 1.6.2 Interneurones GABAergiques

Les interneurones (IN) sont une population très hétérogène de neurones, dont la plupart sont GABAergiques, et qui varient non seulement par leur contenu neurochimique en peptide (somatostatine (SOM), neuropeptide Y, cholécystokinine (CCK) colibérés avec le GABA) ou en protéines liant le calcium (parvalbumine (PV), calbindine), mais également par leurs caractéristiques morphologiques et fonctionnelles. On peut distinguer trois grandes familles d'IN en fonction des cibles synaptiques de leurs arborisations axonales. La première famille est consti-



**Figure 1.5** – Distribution des synapses sur les dendrites d'une PC de CA1, d'après Megias *et al.* (2001). Dans le *stratum oriens*, elles sont classées selon deux types : les dendrites basales proximales comprenant une faible densité d'épines (oriens/proximal), et les dendrites basales distales comprenant une grande densité d'épines (oriens/distal). Dans le *stratum radiatum*, quatre classes de dendrites ont été identifiées. Le tronc apical large est divisé en trois segments : un segment proximal sans épines (radiatum Thick proximal), un segment médial avec de rares épines (radiatum Thick medial), et un segment distal plus fourni (radiatum Thick distal). La quatrième classe correspond aux dendrites apicales obliques fines (radiatum/thin). Dans le *stratum lacunosum moleculare*, trois classes de dendrites sont décrites, en fonction de leur diamètre et de leur population en épines : les dendrites larges possédant de rares épines (l-m/Thick), les dendrites intermédiaires (l-m/medium), et les dendrites distales qui en sont quasiment dépourvues. Pour chaque classe de dendrite, la densité de synapses asymétriques (i.e. formant des épines, supposément excitatrices - cadres : chiffre de gauche en  $\mu\text{m}^{-1}$ ) et symétriques (sans épine, supposément inhibitrices - cadres : chiffre du milieu en  $\mu\text{m}^{-1}$ ) ainsi que leurs proportions (cadres : chiffre de droite (%)) sont indiquées. Barre d'échelle : 100  $\mu\text{m}$ .

tuée d'IN innervant la région périsomatique des cellules principales. Elle comprend deux types principaux d'interneurones : (i) les cellules en corbeille (*Basket Cell* (BC)), dont l'axone innerve le soma des cellules principales, et (ii) les cellules axo-axoniques (AAC) dont l'axone innerve le SIA des cellules principales. La deuxième famille est constituée d'IN innervant les dendrites des cellules principales. On y distingue de nombreux types cellulaires, tels que les cellules bistratifiées (BSC), les neurogliaformes (NG), les *Oriens-Lacunosum Moleculare* (O-LM), ainsi que les MOPP (*MOlecular layer Perforant Path*), HICAP (*Hilar Commissural-Associated Pathway*) et HIPP (*Hilar Perforant Path*) dans le GD, et les cellules trilaminaires dans CA3 (Freund et Buzsáki, 1996; Klausberger et Somogyi, 2008). Il existe enfin une troisième famille d'IN dont l'axone innerve spécifiquement d'autres IN (IS) (Gulyás *et al.*, 1996) (Figure 1.6).

Schématiquement, les processus d'inhibition véhiculés par les IN peuvent être de deux types. Lorsqu'ils sont activés par des afférences extrinsèques (comme les BC), ils participent à l'inhibition antérograde (*feedforward*). Lorsqu'ils sont activés par les collatérales récurrentes des axones des PC (comme les O-LM), et que leurs axones innervent ces mêmes populations de cellules principales, ils participent à l'inhibition rétrograde (*feedback*) (Figure 1.7).

**Les *Basket Cells* (BC)** sont les principaux médiateurs de l'inhibition périsomatique des PC. À ce titre, ils jouent un rôle prépondérant dans la synchronisation de leurs décharges, en particulier dans la génération des rythmes gamma ( $\gamma$ , 30-100 Hz) (Wang et Buzsáki, 1996). Leurs somas sont généralement situés dans le *s.p.* et le *s.o.*; leurs dendrites parcourent toutes les couches; et leur arbre axonal vaste et complexe est centré sur le *s.p.*. Les synapses afférentes sont majoritairement excitatrices ( $\approx 93.5\%$ ), ne développent pas d'épines, et les synapses inhibitrices sont plus concentrées autour du soma. Les BC font synapses avec les somas et les dendrites proximales des PC, mais sont aussi densément connectées entre elles, à la fois par des synapses GABAergiques et par des liens électriques appelés *gap-junctions* (Saraga *et al.*, 2006), favorisant la synchronicité de leurs activités. Ces cellules sont caractérisées par leur capacité à décharger des trains de PA à haute fréquence ( $> 100$  Hz) et par une faible résistivité membranaire. *In vivo*, elles déchargent spontanément de manière rapide (5 à 60 Hz), en trains de deux à six PA, en phase avec le rythme  $\theta$ . Les dendrites sont actives, c'est à dire qu'elles possèdent des canaux sodiques et potassiques leur permettant de générer des PA dendritiques, et les PA sont suivis par une brève PHP. Similaires par leur morphologie, mais différentes par certaines de leurs propriétés intrinsèques, on distingue parfois les BC exprimant la PV (PV-BC) de celles exprimant la CCK (CCK-BC) (Vida, 2010).

**Les cellules axo-axoniques (AAC)** semblent assurer une fonction particulière dans le contrôle de l'activité des PC, car elles font synapse sur le segment initial de l'axone (SIA) de leurs cibles (Buhl *et al.*, 1994b). Comparables aux BC, leur arbre dendritique parcourt les différentes couches de la CA, mais se développe en une touffe plus dense dans le *s.l-m*, laissant penser que la VP est leur afférence excitatrice prépondérante (Buhl *et al.*, 1994a).

**Les interneurones *Oriens-Lacunosum Moleculare* (O-LM)**, principalement impliqués dans l'inhibition rétrograde des cellules principales, sont facilement identifiables par leur mor-



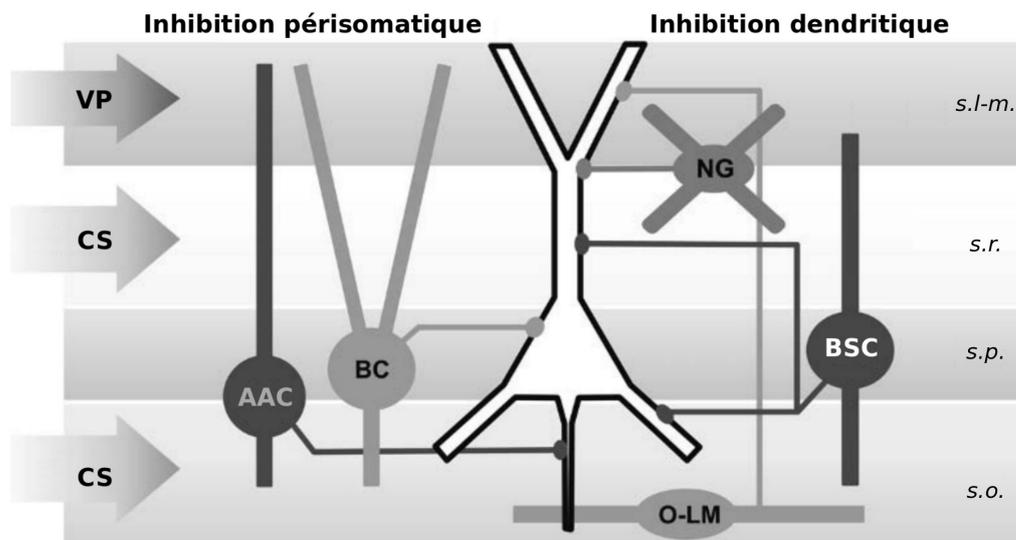
**Figure 1.6** – Représentation des différents types d'interneurones de l'hippocampe, d'après Freund et Buzsáki (1996). Les dendrites et les axones sont représentés en traits épais et fins, resp.. Cellules HICAP (1), HIPP (2), MOPP (3), en corbeille contenant du VIP (4), trilaminaires de CA3 (5), AAC (6), O-LM (7), bistratifiées de CA3 (8), en corbeille ayant un axone dans CA3 et CA1 (9), bistratifiées de CA1 (10), en corbeille de CA1 (11), O-LM de CA1 (12), horizontale trilaminaire de CA1 (13), interneurons IS-2 sélectifs d'autres interneurons (14&15).

## Chapitre 1. Système nerveux et hippocampe

phologie, et expriment pour la plupart la SOM. Ils déchargent de manière répétée suite à l'injection d'un courant dépolarisant continu, mais leur fréquence de décharge naturelle n'est pas aussi élevée que celle des BC. Fonctionnellement, la présence d'un ample courant-H ( $I_H$ ) leur permet de décharger spontanément *in vitro*, et de répondre par un saut de dépolarisation suite à une injection de courant hyperpolarisant. Les PA se rétropropagent facilement dans les dendrites grâce à une forte densité de Nav.

**Les cellules bistratifiées (BSC)** sont caractérisées par un arbre axonal double, couvrant le *s.r.* et le *s.o.*, aligné avec les collatérales de Schaffer (CS). Leur soma est situé dans le *s.p.* et le *s.o.*, et leurs dendrites sont distribuées radialement dans le *s.o.* et le *s.r.*. Les BSC ont des rythmes rapides de décharge, et participent à l'inhibition dendritique antérograde, recevant les afférences excitatrices des CS, et ciblant les dendrites et les épines des cellules principales.

D'autres types d'INs tels que les cellules *ivy*, les IN associés aux CS, les IN associés à la VP, les cellules neurogliaformes (NG), les IN trilaminaires, et les IN de rétroprojection assurent des formes spécifiques d'inhibition dendritique et sont décrits de manière extensive dans Vida (2010). Certains IN assurent exclusivement une inhibition antérograde (BC, AAC, NG, IN associés à la VP, aux CS) ou antérograde comme les O-LM ; alors que d'autres sont impliqués dans les deux types de circuits, telles que les BSC.



**Figure 1.7** – Représentation schématique des interneurons de l'aire CA1 de l'hippocampe, d'après Vida (2010). Deux catégories sont distinguées sur la base de leurs cibles synaptiques : (1) les IN périsomatiques comprennent les *Basket Cells* (BC) innervant le soma et les dendrites proximales, et les cellules axo-axoniques (AAC) innervant le SIA. (2) Les IN à inhibition dendritique, dont trois types principaux sont illustrés ici : i) les cellules bistratifiées (BSC) reçoivent les entrées des CS, et innervent les dendrites médiales dans le *stratum radiatum* (*s.r.*) et le *stratum oriens* (*s.o.*) ; ii) les interneurons *neurogliaformes* (NG) situés dans le *s.r.* et le *stratum lacunosum moleculare* (*s.l-m.*) reçoivent les entrées de la VP et inhibent les dendrites apicales ; et iii) les O-LM reçoivent les excitations glutamatergiques des PC, et assurent une inhibition rétrograde en projetant leurs axones vers les dendrites apicales distales du *s.l-m.*

### 1.7 Transmission synaptique

Les neurones sont avant tout des entités communicantes qui échangent l'information par des zones de contact identifiables que l'on appelle synapses. C'est la densité de ces connexions, autant que le nombre et la complexité des neurones eux mêmes, qui donne son caractère véritablement vertigineux au système nerveux. À titre d'ordre de grandeur, si on estime qu'un neurone reçoit et forme en moyenne 1 000 synapses, et que le cerveau humain contient cent milliards de neurones ( $10^{11}$ ), il y a donc dix mille milliards ( $10^{14}$ ) de synapses, un nombre comparable aux nombre d'étoiles de notre galaxie.

#### 1.7.1 Synapses et neurotransmetteurs

En général, une synapse consiste en l'apposition de la membrane d'un axone présynaptique à un neurite d'une cellule postsynaptique. En fonction de la structure de ce contact, on différencie les synapses chimiques et les synapses électriques.

Dans une **synapse électrique** (ou jonction communicante, *gap-junction*), les deux membranes sont physiquement en contact, si bien que le courant généré par le PA d'un neurone traverse directement la membrane opposée via des canaux spécifiques. Ce mode de transmission, ayant lieu aussi entre les cellules musculaires, est pratiquement instantané et permet à des populations de neurones de décharger de manière synchrone.

Dans une **synapse électrochimique**, les compartiments pré- et postsynaptiques sont bien différenciés, et un espace intercellulaire de 10 à 40 nm, appelé fente synaptique sépare les deux cellules, qui ne s'échangent alors pas directement de courant. Dans ce type de synapse, l'arrivée d'un potentiel d'action dans le terminal présynaptique active des VDCC, et l'entrée d'ions  $Ca^{2+}$  déclenche la libération par exocytose d'une ou plusieurs vésicules contenant des neurotransmetteurs (NT) chimiques dans la fente synaptique. Les NT s'y diffusent et se lient à des protéines-récepteurs situées sur la membrane postsynaptique. Cette liaison, par une modification de la structure des récepteurs, induisent l'ouverture de canaux ioniques, qui génèrent le courant transmembranaire porteur de l'information neuronale. Ce processus, relativement stéréotypé, implique un grand nombre d'acteurs biochimiques et est au cœur du traitement du signal neuronal dans les conditions physiologiques, mais peut aussi être le nœud d'une pathologie et la cible de substances chimiques exogènes.

Les différentes étapes de la transmission synaptique électrochimique impliquent un délai relativement important dans le transfert de l'information (parfois bien supérieur à la milliseconde) ; mais ce mode offre la possibilité d'amplifier le signal par l'exocytose de milliers de molécules de NT contenues dans une seule vésicule d'une part, et d'autre part de moduler le traitement du signal par une grande diversité de récepteurs, exprimés sous de multiples formes, résultant de l'expression génétique et des facteurs de transcription, et cibles de divers modulateurs chimiques, endogènes ou exogènes. De plus, la libération de NT par un site d'exocytose répond à un processus stochastique, car il implique des courants calciques faibles

## Chapitre 1. Système nerveux et hippocampe

---

et brefs et des concentrations de calcium localisées dans des nanodomains (Bennett *et al.*, 2000a,b; Modchang *et al.*, 2010). Ainsi la probabilité qu'une stimulation présynaptique donnée (e.g. PA) induise une libération de NT et donc une réponse postsynaptique est parfois très inférieure à un, et dépend d'une large gamme de modulateurs d'origine endogène ou exogène.

Les **neurotransmetteurs (NT)** sont généralement de petits acides aminés (AA) mais certains peptides plus massifs peuvent aussi jouer ce rôle. Depuis les années 30, où Otto Loewi a identifié, pour la première fois, l'exocytose d'acétylcholine (ACh) des terminaux du nerf vague, un grand nombre de neuromodulateurs a été identifié, mais le consensus pour définir qu'une molécule est un NT s'est établi autour de quatre critères.

- Elle est synthétisée dans le neurone.
- Elle est présente dans des terminaux présynaptiques, et libérée en quantité suffisante pour exercer une action spécifique dans un neurone ou un organe postsynaptique.
- Si on l'administre de manière exogène, dans des concentrations raisonnables, elle produit des effets de même nature que lorsqu'elle est libérée de manière endogène.
- Un mécanisme spécifique permet de l'extraire rapidement de son site d'action ou l'inactiver.

On connaît aujourd'hui neuf NT non-peptidiques (acides aminés (AA) et monoamines), et une cinquantaine de peptides sont considérés comme tels.

- Le glutamate (Glu), principal NT excitateur du SNC est présent dans toutes les zones du cerveau.
- L'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA), principal NT inhibiteur du SNC, est également présent dans toutes les zones du cerveau.
- L'acétylcholine (ACh) est un NT excitateur. Il est aussi modulateur de la transmission glutamatergique, et joue un rôle important dans plusieurs fonctions telles que la mémoire, l'éveil, l'attention, la colère, l'agression, la sexualité et la soif. Par ailleurs, il est le principal NT de la jonction neuromusculaire, entre les neurones moteurs et le muscle, dont il déclenche la contraction.
- La dopamine (DA) est libérée dans les structures impliquées dans le contrôle du mouvement et de la posture, et module aussi l'humeur. Son rôle dans le renforcement positif et la dépendance a également été mis en évidence.
- La noradrénaline (NA) (ou norépinephrine (NE)) est un neuromodulateur important dans les fonctions telles que l'attention, les émotions, le sommeil et l'apprentissage. Ce neuromodulateur est aussi libéré dans le sang où il contracte les vaisseaux sanguins et augmente la fréquence cardiaque.
- La sérotonine (5-HT) contribue à diverses fonctions comme la régulation de la température, le sommeil, l'humeur, l'appétit et la douleur.

**On distingue deux grands types de récepteurs de NT**, en fonction de l'action qu'ils exercent sur les canaux ioniques associés : les récepteurs ionotropes sont des canaux ioniques en eux même, qui s'ouvrent lorsque que leur NT spécifique s'y lie, et les récepteurs métabotropes agissent indirectement sur un ou plusieurs canaux ioniques, en activant un système de messa-

gers secondaires biochimiques dans la cellule postsynaptique. Les récepteurs métabotropes influencent aussi de nombreuses cascades de signalisation intracellulaires, et leur action est par nature plus lente que celle des récepteurs ionotropes. Les deux types peuvent avoir un effet excitateur ou inhibiteur, en fonction du type de canal dont ils déclenchent l'ouverture : un courant entrant (i.e. une charge positive entrante ou une charge négative sortante) dans la cellule postsynaptique (courant postsynaptique excitateur (CPSE)) génère un potentiel postsynaptique excitateur (PPSE), et à l'inverse un courant sortant (i.e. une charge positive sortante ou une charge négative entrante) de la cellule (courant postsynaptique inhibiteur (CPSI)) induit un potentiel postsynaptique inhibiteur (PPSI). Dans les conditions physiologiques, un courant excitateur est généré par l'ouverture d'un canal perméable aux ions sodium ( $\text{Na}^+$ ) et calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), tandis qu'un courant inhibiteur est dû à l'ouverture d'un canal perméable aux ions chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) ou potassium ( $\text{K}^+$ ). Le sens de ces courants est conditionné par les potentiels de réversion de chaque espèce ionique auquel le canal est perméable (potentiel de Nernst et équation de Goldman-Hodgkin-Katz). Chaque NT produit des effets différents sur chaque type de récepteur qu'il active, ce qui permet au relativement petit nombre total de NT de produire une grande diversité d'effets.

Les méthodes de la biologie moléculaire ont permis de caractériser beaucoup de ces récepteurs, ainsi que les cascades biochimiques induites par l'activation des messagers secondaires, et nous allons maintenant nous attacher à décrire les principales caractéristiques de la transmission synaptique dans l'hippocampe.

### 1.7.2 Transmission glutamatergique

Dans les années 60, les travaux de Curtis découvrirent pour la première fois que certains acides aminés tels que l'aspartate et le glutamate pouvaient exercer un effet excitateur sur des neurones de la moelle épinière (Curtis *et al.*, 1960). Il a ensuite été démontré que l'un d'entre eux, le glutamate, était le principal neurotransmetteur excitateur du système nerveux central (Fonnum, 1984). Dans l'hippocampe, il est responsable de la transmission du circuit polysynaptique (cf. sous-section 1.5.1), et la plasticité des synapses glutamatergiques joue un rôle crucial dans l'apprentissage et la mémoire. Après sa libération dans la fente synaptique, le glutamate est recapturé dans les cellules gliales, pour y être dégradé en glutamine par la glutamine synthase. La glutamine diffuse alors de nouveau vers le neurone, où elle est hydrolysée pour redevenir du glutamate.

#### Épines dendritiques

La majorité des connexions synaptiques excitatrices du cerveau des mammifères forment des protubérances aux morphologies variées sur les dendrites postsynaptiques appelées épines dendritiques. Les épines dendritiques forment une tête, séparée de la dendrite par un cou (Gray, 1959; Harris et Stevens, 1989) (Figure 1.8A). La tête de l'épine contient la densité postsynaptique (DPS), une zone dense regroupant les récepteurs de NT et un grand nombre de

## Chapitre 1. Système nerveux et hippocampe

---

protéines telles que les protéines d'échafaudage PSD-95 et Shank (Banker *et al.*, 1974; Adesnik *et al.*, 2005; Gray *et al.*, 2006) (Figure 1.8B).

Les épines dendritiques augmentent significativement la surface de la cellule, maximisant le nombre de synapses (Bannister et Larkman, 1995). L'épine isole aussi la DPS de la dendrite et constitue un sous-compartiment biochimique, dans lequel les messagers secondaires et les protéines sont confinés à proximité de leurs effecteurs (Svoboda *et al.*, 1996; Sabatini *et al.*, 2002; Bloodgood et Sabatini, 2005; Noguchi *et al.*, 2005; Gray *et al.*, 2006). En effet, les épines dendritiques peuvent contenir différents types d'organelles cellulaires, et bien que cette composition soit très variable, vraisemblablement dépendante de leur état de maturité et de potentialisation, on peut y trouver des mitochondries, des endosomes, des ribosomes, ainsi que des prolongements du reticulum endoplasmique (RE). En particulier, la présence ou non d'un prolongement du RE dans une épine est critique dans la mesure où il est capable de relayer l'action de récepteurs couplés à la protéine G (RCPG) (e.g. récepteur métabotrope du glutamate (mGluR), récepteur muscarinique (mAChR)) en libérant du calcium dans le cytosol, via des récepteurs à l'IP3 (IP3r) et des récepteurs à la ryanodine (RyR) (Holbro, 2010).

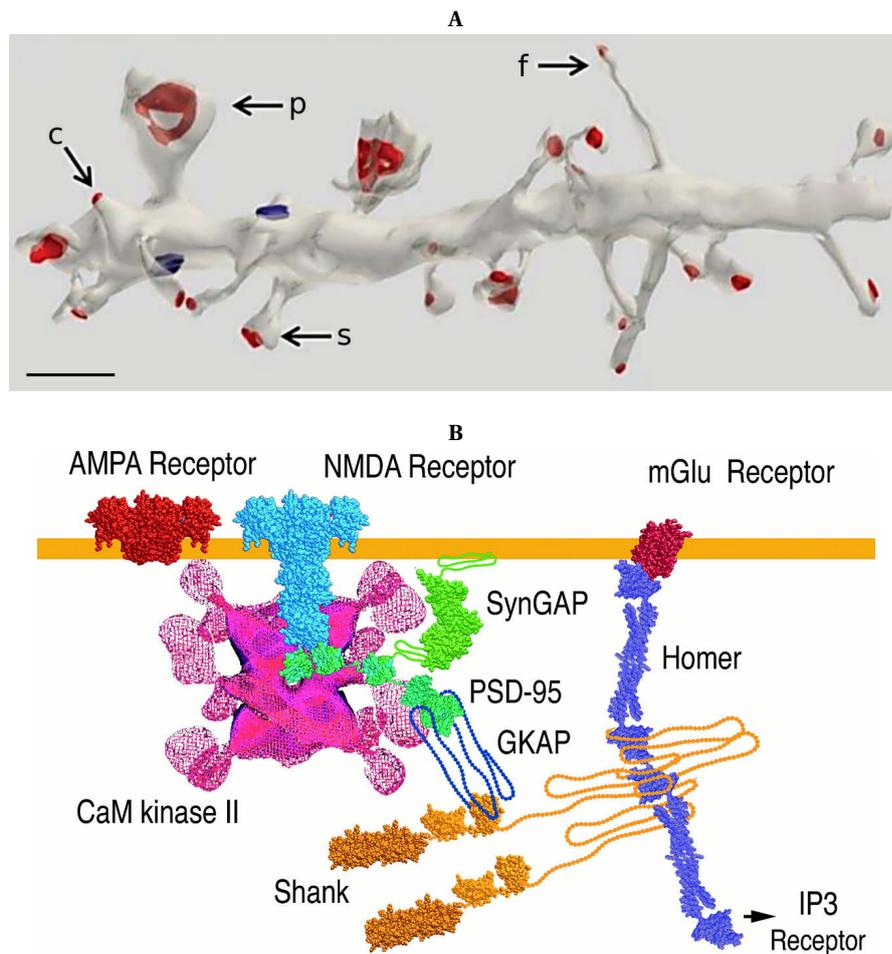
La fonction des épines dendritiques dans l'intégration du signal synaptique fait l'objet de multiples débats (Spruston, 2008), mais il semble exister une corrélation entre le nombre de récepteurs à l'acide  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA) (AMPAr) exprimés et le volume de l'épine (Nusser *et al.*, 1998) et sa distance au soma (Magee et Cook, 2000; Andrasfalvy et Magee, 2001; Nicholson *et al.*, 2006; Katz *et al.*, 2009). Il a en effet été montré que les épines plus volumineuses produisent des CPSE plus amples que les petites (Matsuzaki *et al.*, 2001), mais aussi que les petites épines étaient plus aptes à induire la *Long-Term Potentiation* (LTP), une forme de plasticité synaptique (Matsuzaki *et al.*, 2004).

### Récepteurs ionotropes du glutamate

Les récepteurs ionotropes du glutamate (iGluR) sont responsables de la majorité de la transmission synaptique excitatrice rapide dans le SNC. La liaison de glutamate sur ces récepteurs provoque l'ouverture d'un canal ionique, induisant principalement un influx de  $\text{Na}^+$  dans la cellule et donnant lieu à un PPSE. En fonction de leur pharmacologie, ces récepteurs se classent en trois types, nommés d'après leur agoniste spécifique : les AMPAr, les NMDAr et les récepteurs au kaïnate (acide (2-carboxy-4-isopropényl-3-pyrrolidinyl)-acétique) (KA) (KAr). Ces trois récepteurs forment des structures hétéromériques composées de quatre sous-unités, et sont colocalisés sur les mêmes synapses. Une revue complète des structures, des fonctions et de la pharmacologie de cette famille de récepteurs est proposée dans Traynelis *et al.* (2010) (Figure 1.9).

**Les AMPAr** sont constitués d'une combinaison des sous-unités GluR1, GluR2, GluR3 et GluR4, et forment un canal principalement perméable aux ions sodium et potassium. La présence de la sous-unité GluR2, insérée par épissage alternatif dans le complexe détermine certaines propriétés biophysiques du récepteur, dont en particulier une plus faible conductivité, et

une imperméabilité au  $\text{Ca}^{2+}$ . Les cellules principales de l'hippocampe expriment fortement la sous-unité GluR2, faisant des AMPAR imperméables au  $\text{Ca}^{2+}$  la variante majoritaire. Les sites de liaison pour les agonistes se trouvent dans le domaine extracellulaire N-terminal, et les domaines intracellulaires incluent trois sites de phosphorylation par la protéine kinase A (PKA) (Greengard *et al.*, 1991; Raymond *et al.*, 1993), un site pour la protéine kinase C (PKC) (Tan *et al.*, 1994), ainsi qu'un site pour la CamKII (Barria *et al.*, 1997a; Yakel *et al.*, 1995), modulant aussi la fonction du récepteur. Les AMPAR sont les principaux responsables de la transmission glutamatergique rapide, et leur nombre exprimé à la DPS des épines



**Figure 1.8** – Épines dendritiques et interactions au sein de la densité postsynaptique. **A** - Épines dendritiques d'un neurone pyramidal de CA1, d'une grande variété morphologique, d'après Harris et Weinberg (2012). On y distingue les protubérances de synapses immatures typiques : courtes (c) et filopodia (f), ainsi que les épines matures simples (s) et perforées (p) comportant un cou et une tête. Les densités postsynaptiques (DPS) des épines et des branches dendritiques sont marquées en rouge et bleu, resp. Échelle  $\approx 1 \mu\text{m}$ . **B** - Illustration des interactions au sein de la densité postsynaptique (DPS), d'après Kennedy (2000). Une première implique récepteur au N-méthyl-D-aspartate (NMDA) (NMDAR), protéine kinase calcium-calmoduline (Cam)-dépendante (CamKII), PSD-95 et SynGAP et l'autre lie le mGluR au récepteur phosphatidyl inositol triphosphate (IP3) et au complexe formé par le NMDAR via les échafaudages formés par les protéines Homer et Shank.

dendritiques est constamment régulé par un processus de recyclage actif impliquant des endosomes (Ehlers, 2000; Passafaro *et al.*, 2001).

**Les NMDAr** sont des hétéromultimères des sous-unités NR1 et NR2A-D, formant un canal perméable aux ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Na}^+$ . Responsables de la phase tardive du PPSE, les NMDAr ont en effet une cinétique plus lente que les AMPAr ou les KAR, due entre autres à une faible vitesse de dissociation du glutamate. Outre le site de liaison principal aux agonistes, ce récepteur contient également un site allostérique liant le co-agoniste glycine qui augmente l'affinité pour le glutamate. De plus, le pore du canal est bloqué par la présence d'un ion  $\text{Mg}^{2+}$  sur un site interne (Figure 1.9), qui n'est libéré que lorsque la membrane est dépolarisée, si bien que l'activation des NMDAr ne donne lieu à aucun signal lorsque la membrane postsynaptique est au repos. Sa perméabilité au  $\text{Ca}^{2+}$  lui permet d'activer des messagers secondaires, et en fait un acteur fondamental des mécanismes de développement (Kleckner et Dingledine, 1991), de neurotoxicité (Nadler, 1981; Rothman *et al.*, 1987; Meldrum et Garthwaite, 1990), ou encore de plasticité synaptique (Collingridge, 1987; Larson et Lynch, 1988; Morris *et al.*, 1986). Le domaine intracellulaire possède des sites de phosphorylation pour la PKC, la CamKII et la tyrosine kinase qui modulent le comportement de ce récepteur (Bading et Greenberg, 1991; Moss *et al.*, 1993; Kitamura *et al.*, 1993; Wang et Salter, 1994).

**Les KAR** sont des hétéromultimères formés d'une combinaison des sous-unités GluR5,6,7 et KA1,2. Associés à un canal perméable au potassium, au sodium et au calcium, ils contiennent deux sites de liaison au KA, d'affinités différentes. Mobilisés préférentiellement au niveau présynaptique, dans les fibres moussues par exemple, ils joueraient un rôle modulateur de la libération du glutamate. Le KAR se retrouve également en forte concentration dans les PC du CA3, mais sa fonction exacte reste toutefois encore assez floue. Comme le AMPAr, avec lequel il est souvent confondu, l'insertion par épissage alternatif des sous-unités GluR5 et GluR6 induit des variantes de ses propriétés biophysiques.

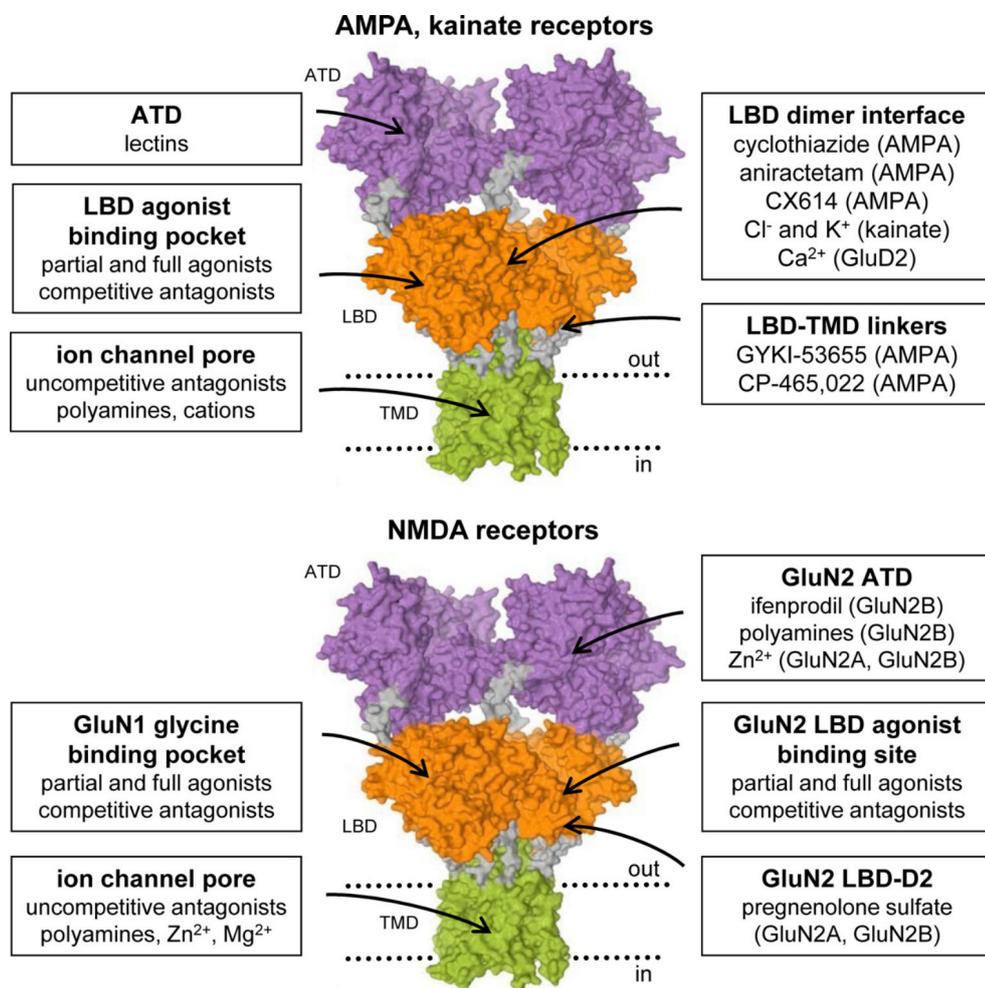
### Récepteurs métabotropes du glutamate

Les mGluR appartiennent à la famille des RCPG, composés de 7 domaines transmembranaires et dont l'action fait intervenir des protéines-G. Ces récepteurs se classent en trois catégories, en fonction de leur composition en AA, de leur voie de transduction du signal, et de leur profil pharmacologique. Le groupe I (mGluR1 et 5) inclut les récepteurs localisés généralement dans le compartiment postsynaptique, liés à la protéine-Gq, et leur activation favorise l'excitabilité de la cellule. Les récepteurs mGluR1 et 5 sont couplés à une phospholipase-C (PLC), qui induit la transformation de phospholipides membranaires en IP3 et diacyl glycérol (DAG). L'augmentation de IP3 provoque la libération de calcium des stocks intracellulaires et donc une augmentation rapide de la concentration du calcium cytosolique, alors que la production du DAG entraîne l'activation de la PKC. Situés en périphérie des épines dendritiques, ils joueraient en outre un rôle dans la stabilisation des NMDAr dans la DPS, via les protéines d'échafaudage Homer et Shank (Kennedy, 2000) (Figure 1.8B). Les groupes II (mGluR2 et 3) et III (mGluR4,6,7 et 8) incluent les récepteurs localisés sur la membrane présynaptique. Ils

agissent en autorécepteurs, et inhibent la libération de NT par la réduction de la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) en activant une protéine-G inhibitrice (Gi) (Shigemoto *et al.*, 1997).

### Transmission glutamatergique dans l'aire CA1

Dans l'aire CA1 de l'hippocampe, les entrées glutamatergiques sont transmises de CA3 par les collatérales de Schaffer (CS) sur les dendrites du *s.r.* et du *s.o.*, et du cortex entorhinal (CE) par la voie perforante (VP) sur les dendrites du *s.l-m.*



**Figure 1.9** – Structure cristallographique et principaux sites de liaisons des récepteurs ionotropes du glutamate, d'après Traynelis *et al.* (2010). Les sites de liaison des agonistes, antagonistes et modulateurs principaux sont indiqués ainsi que les sous-unités cibles entre parenthèses. AMPA et Kainate indiquent que le ligand vise sélectivement la sous-unité GluA ou GluK, resp. Les domaines *amino-terminal* (ATD), *ligand-binding* (LBD), transmembrane (TMD) et les liaisons sont indiqués en violet, orange, vert et gris, resp.

**Les synapses issues des collatérales de Schaffer (CS)** sont composées d'un petit terminal axonal, comportant généralement un site de libération unique, apposé à une épine dendritique dont la taille et la composition varie en fonction de sa position sur l'arbre dendritique et de son état de potentialisation. La probabilité d'exocytose suite à un PA unique est relativement faible ( $< 0.5$ ), et dépendante de l'état de potentialisation de la synapse (Hessler *et al.*, 1993; Rosenmund *et al.*, 1993; Wasling *et al.*, 2004). Les autres caractéristiques présynaptiques, telles que la facilitation par double-impulsion (*paired-pulse facilitation*), ou la quantité de vésicules en réserve, sont homogènes à toutes ces synapses quelle que soit la position de l'épine sur l'arbre dendritique. En revanche, comme montré par Magee et Cook (2000), l'amplitude des PPSE dendritiques issus des AMPAR augmente avec la distance au soma, si bien que la dépolarisation enregistrée au soma est globalement identique quelle que soit la position de la synapse sur l'arbre dendritique. Cette différence est attribuée à une variation du nombre de AMPAR exprimés à la DPS, car la composition en sous-unités est globalement homogène sur cette partie de l'arbre dendritique (Andrasfalvy et Magee, 2001).

Les PPSE évoqués par la stimulation des CS comportent généralement des composantes AMPA et NMDA; mais en fonction des circonstances, une fraction de ces synapses glutamatergiques est dépourvue de la composante AMPA (Isaac *et al.*, 2007; Kullmann, 1994; Liao *et al.*, 1995), qualifiées alors de synapses silencieuses. En effet, le blocage magnésium des NMDAR nécessite d'être levé pour produire un courant, et cette levée est largement dépendante de la dépolarisation induite par un nombre suffisant de AMPAR. La présence d'AMPA est régulée au cours du développement, et alors que la quasi-totalité des synapses des CS sont silencieuses à la naissance, environ la moitié d'entre elles sont devenues fonctionnelles à la troisième semaine (Durand *et al.*, 1996). L'insertion de AMPAR a été observée suite à la stimulation à haute fréquence des CS, par diffusion latérale de récepteurs membranaires vers la DPS (Adesnik *et al.*, 2005), ou par la fusion membranaire d'endosomes contenant des AMPAR (Hayashi *et al.*, 2000; Park *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 1999). Ce phénomène d'insertion d'AMPA est classiquement associé à la *Long-Term Potentiation* (LTP), mais les controverses autour de cette question laissent penser que d'autres phénomènes y prennent aussi une part importante (Enoki *et al.*, 2009; Kramár *et al.*, 2012; Padamsey et Emptage, 2014).

Les NMDAR sont abondamment exprimés dans les synapses glutamatergiques de CA1. Le nombre de NMDAR dans chaque synapse est assez peu variable, et suffisamment faible pour que leur contribution isolée dans un PPSE unitaire soit indétectable dans les conditions physiologiques. Par opposition aux AMPAR, le nombre de NMDAR ne semble pas changer avec l'activité de la synapse, ni varier avec la distance des dendrites au soma (Andrasfalvy et Magee, 2001; Nicholson *et al.*, 2006). Comme déjà évoqué, le NMDAR ne s'ouvre que lorsque la membrane est suffisamment dépolarisée pour lever le blocage  $Mg^{2+}$ , ce qui en fait un détecteur de coïncidence idéal, à même de signaler les dépolarisations simultanées des cellules pré- et postsynaptiques, via un influx transitoire de  $Ca^{2+}$  soutenant la plasticité synaptique (cf. chapitre 5).

Les KAR dans cette aire CA1 semblent être principalement impliqués dans le modulation néga-

tive de la transmission glutamatergique. Les résultats de Frerking et Ohliger-Frerking (2002) tendent à montrer qu'ils agissent présynaptiquement en diminuant le contenu vésiculaire de glutamate, via une interaction avec des protéines-G.

Enfin, les récepteurs mGluR des groupes I et III inhibent la libération de glutamate des compartiments présynaptiques des CS, ayant un effet à la fois sur la transmission excitatrice et sur l'inhibition antérograde des IN (Gereau et Conn, 1995).

**La voie perforante (VP)** innerve la plupart des aires hippocampiques. Les synapses glutamatergiques issues de la VP dans l'aire CA1, situées dans les dendrites les plus distales du *s.l-m*, ont un effet direct limité sur la décharge des PC : leur action semble subvenir de la coïncidence temporelle des signaux de la VP et des CS (Jarsky *et al.*, 2005). De plus, elles exercent une puissante inhibition antérograde, capable de moduler l'intégration des signaux synaptiques issus des CS (Empson et Heinemann, 1995; Jarsky *et al.*, 2005). Le ratio des composantes NMDAr : AMPAr de ces synapses est significativement plus important que celles des CS, et la composition en sous-unités des NMDAr semble différente de celle des synapses de CS, avec moins de récepteurs contenant la sous-unité NR2B (Arrigoni et Greene, 2004). Enfin, des récepteurs mGluR sont exprimés présynaptiquement dans les terminaux d'axones de la VP, et exercent une modulation rétrograde de l'activité de ces synapses (Capogna, 2004).

### 1.7.3 Transmission GABAergique

Comme décrit en sous-section 1.6.2, les réseaux neuronaux de l'hippocampe incluent une variété d'IN GABAergiques qui exercent un contrôle inhibiteur rétrograde ou antérograde, et qui innervent de manière spécifique les corps cellulaires (inhibition périsomatique) ou les dendrites (inhibition dendritique) des cellules principales. Ces IN forment des synapses GABAergiques avec leurs cibles, c'est à dire que le NT libéré dans la fente synaptique est l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA), et qu'il active des récepteurs spécifiques exprimés sur la membrane postsynaptique. Le GABA est l'acide aminé (AA) inhibiteur principal du SNC, présent dans 30 à 50 % des terminaisons synaptiques (Roberts, 1974). Synthétisé à partir du glutamate sous l'action de l'enzyme *Glutamic Acid Decarboxylase* (GAD) (Wu *et al.*, 1973) et accumulé dans les vésicules présynaptiques par le transporteur *Vesicular GABA Transporter* (VGAT) (Sagné *et al.*, 1997), il est capturé après libération par des transporteurs de GABA (GAT) spécifiques (Mager *et al.*, 1993) localisés sur les astrocytes, où il est dégradé en glutamate puis en glutamine.

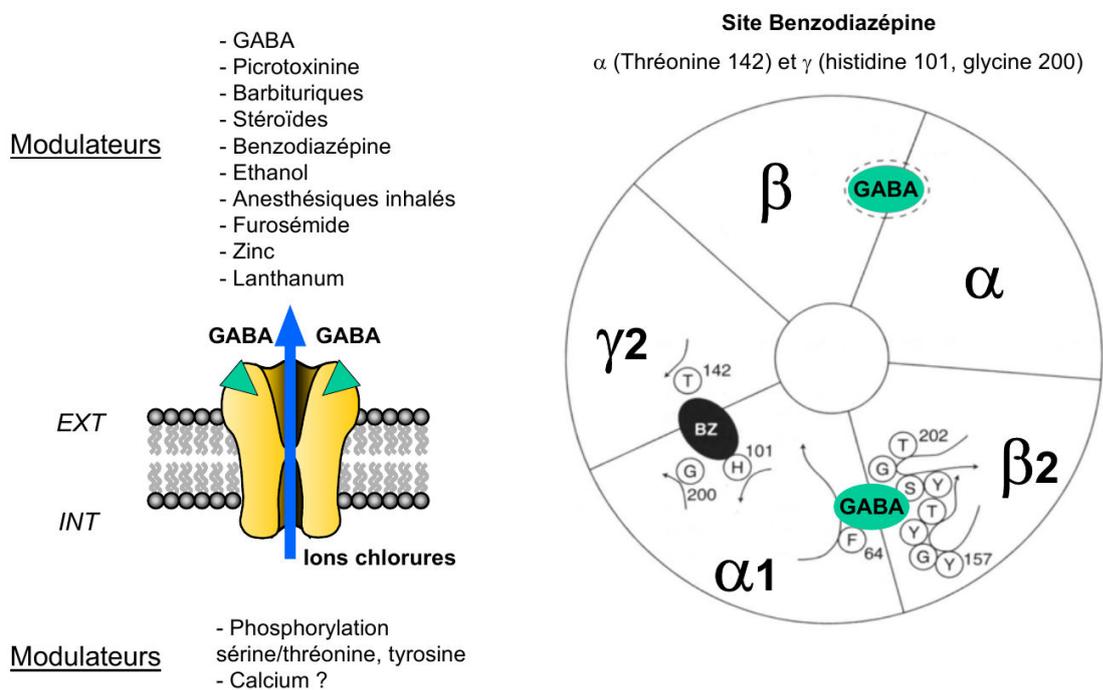
#### Récepteurs du GABA

Il existe trois types de récepteurs au GABA : le récepteur GABA<sub>A</sub> (GABA<sub>A</sub>r) est ionotrope, formant un canal perméable aux ions chlorure (Cl<sup>-</sup>) et responsable de la transmission synaptique inhibitrice rapide d'une majeure partie du SNC ; le récepteur GABA<sub>B</sub> (GABA<sub>B</sub>r), de cinétique plus lente, appartient à la famille des RCPG ; et le récepteur GABA<sub>C</sub> (GABA<sub>C</sub>r) ionotrope est

## Chapitre 1. Système nerveux et hippocampe

situé presque exclusivement dans la rétine.

Constitué d'un assemblage hétéromérique de 5 sous-unités, possédant chacune plusieurs isoformes ( $\alpha_{1-6}$ ,  $\beta_{1-3}$ ,  $\delta$ ,  $\gamma_{1-4}$ ,  $\epsilon$ ,  $\pi$ ,  $\rho_{1-2}$ ), le **GABA<sub>A</sub>R** est le plus complexe de cette famille par la diversité des sous-unités décrites et les différentes propriétés fonctionnelles et pharmacologiques qui en découlent. Par ailleurs, ce récepteur fait l'objet de régulations multiples au cours du développement et dans des pathologies comme l'épilepsie (Drexel *et al.*, 2015). Seul un certain nombre de combinaisons sont représentées dans le cerveau, et dans l'hippocampe, on trouve principalement  $\alpha_2\beta_{2/3}\gamma_2$  et  $\alpha_5\beta_3\gamma_{2/3}$  dans les PC,  $\alpha_1\beta_2\gamma_2$  dans les IN, et  $\alpha_4\beta\delta$  dans les cellules granulaires du GD (McKernan et Whiting, 1996). Il semble donc exister une relative spécificité des sous-unités pour certaines connexions, avec notamment, une expression plus marquée de  $\alpha_1$  dans les interneurons (Loup *et al.*, 2000), une concentration de  $\gamma_2$  vers le soma, ou encore une expression spécifique de  $\alpha_2$  dans le SIA des PC, cible exclusive des cellules axo-axoniques (AAC) (Loup *et al.*, 1998). Bien que complexes à étudier, ces spécificités sont d'une grande importance sur le plan pharmacologique, dans la mesure où une grande variété de substances interagissent avec le GABA<sub>A</sub>R, et que leur affinité dépend largement de sa composition en sous-unités. Par exemple, les benzodiazépines, psychotropes largement utilisés pour traiter l'anxiété (Lagnaoui *et al.*, 2004), modulent la fonction du GABA<sub>A</sub>R en se liant sur un site allostérique formé par  $\alpha_1$  et  $\gamma_2$  (Figure 1.10).



**Figure 1.10** – Structure et sites de liaison du GABA<sub>A</sub>R, d'après Keller (2002). Le schéma de gauche résume les différents AA impliqués dans les liaisons du GABA et des benzodiazépines sur le récepteur GABA<sub>A</sub>. Le schéma de droite illustre les sites formés par la structure pentamérique du récepteur, dans sa composition  $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ .

Le **GABA<sub>B</sub>r** est un RCPG exprimé dans la plupart des structures du SNC, y compris dans les cellules principales et les IN de l'hippocampe (Bischoff *et al.*, 1999), et qui semble impliqué dans des pathologies du SNC telles que l'épilepsie, la schizophrénie, la dépression, et l'addiction (Bettler *et al.*, 2004). C'est un hétérodimère composé des sous-unités GABA<sub>B1</sub>, formant les sites de liaison aux ligands, et de GABA<sub>B2</sub> interagissant avec la protéine-G intracellulaire (Bettler *et al.*, 2004). En tant que RCPG, les effets du GABA<sub>B</sub> sont induits par une cascade de messagers secondaires (protéine-Gi et guanosine triphosphate (GTP)) régulant l'activité de canaux effecteurs. Postsynaptiquement, le GABA<sub>B</sub>r active principalement les canaux potassiques Kir3 (Davies *et al.*, 1990; Sodickson et Bean, 1996) liés à la protéine-G (GIRK), donnant lieu à des CPSI à la cinétique lente. Il est exprimé préférentiellement dans les couches dendritiques des PC de CA1 (Ling et Benardo, 1994; Kulik *et al.*, 2006) et les IN (Khazipov *et al.*, 1995). Exprimé aussi sur les terminaux présynaptiques, le GABA<sub>B</sub>r joue un rôle régulateur important des transmissions excitatrices et inhibitrices, où il diminuerait la probabilité de libération de NT, en inhibant des canaux calciques voltage-dépendant (VDCC) (Wu et Saggau, 1995).

### Transmission GABAergique dans l'aire CA1

**L'inhibition périsonmatique**, exercée principalement par les BC et les AAC utilise le GABA<sub>A</sub>r : elle est rapide et ample, et son caractère phasique lui permet de contrôler précisément la synchronisation et la fréquence de décharge des PC (Pouille et Scanziani, 2001). La synapse unitaire BC-PC est caractérisée par une cinétique rapide, une grande amplitude, et une haute probabilité de transmission, notamment dues au recrutement de récepteurs GABA<sub>A</sub> situés dans la synapse, à la formation de contacts multiples entre une seule paire de neurones (10 à 12, Buhl *et al.* (1995)), et au fort couplage présynaptique entre les VDCC et les vésicules (Bucurenciu *et al.*, 2008). Les BC se connectent aussi entre elles, mais la cinétique de décroissance des CPSI de ces connexions semble être significativement plus rapide (Bartos *et al.*, 2002), probablement à cause de l'expression privilégiée de sous-unités  $\alpha_1$  (Klausberger *et al.*, 2002). De manière générale, les propriétés synaptiques sont dépendantes du type de neurone afférent et de la localisation subcellulaire du compartiment postsynaptique. Ainsi les BC exprimant la PV et celles exprimant la CCK, ainsi que les AAC exercent une inhibition périsonmatique de nature similaire, mais aux propriétés dynamiques différentes.

**L'inhibition dendritique** limite l'excitation des cellules par les entrées glutamatergiques, d'une manière différente de l'inhibition périsonmatique (Miles *et al.*, 1996). La distance électrotonique de ces synapses avec le site d'initiation des PA les rend peu influentes dans le contrôle direct de la décharge des PC, et on qualifie cette inhibition de lente et tonique, par opposition à l'inhibition périsonmatique rapide et phasique. Ainsi les CPSI induits par les NG (Szabadics *et al.*, 2007) et les O-LM (Maccaferri *et al.*, 2000; Elfant *et al.*, 2008) ont de faibles amplitudes (conductance inférieure à 0,5 nS) et des temps de décroissance élevés (> 20 ms). L'action inhibitrice exercée sur les dendrites des PC est moins susceptible de provoquer des hyperpolarisations franches, mais agit plutôt par effet de *shunt* : en augmentant localement la conductance de membrane, la propagation de dépolarisations dendritiques est atténuée,

limitant ainsi les influx de calcium associés et les effets de plasticité subséquents (Miller et Kennedy, 1986). Les CPSI des inhibitions dendritiques antérogrades des CS (Dutar et Nicoll, 1988) et de la VP (Dvorak-Carbone et Schuman, 1999) comportent une composante lente associée à des GABA<sub>B</sub>r postsynaptiques, alors que ceux de l'inhibition rétrograde conduite par les O-LM en semblent dépourvus (Elfant *et al.*, 2008). Enfin l'expression des GABA<sub>B</sub>r dans les terminaux présynaptiques des synapses excitatrices des CS a été décrite : ils agiraient en hétérorécepteurs activés par de faibles concentrations de GABA débordant des synapses inhibitrices (notion de *spillover*), régulant la transmission glutamatergique (Wu et Saggau, 1995). Exprimés aussi présynaptiquement dans les terminaux GABAergiques des IN, ils agissent là en autorécepteurs, limitant l'effet d'activations successives de ces synapses, jouant alors un rôle fonctionnel dans l'induction de LTP (Davies *et al.*, 1991).

### Homéostasie du chlore

Dans les conditions physiologiques chez l'adulte, l'action inhibitrice du GABA<sub>A</sub>r est principalement liée à sa perméabilité à l'ion chlorure Cl<sup>-</sup> : son potentiel de réversion ( $E_{rev}$ ) est inférieur au potentiel de repos de la membrane neuronale dans les conditions physiologiques, ce qui lui permet de conduire des courant sortants hyperpolarisants. En effet la concentration intracellulaire de Cl<sup>-</sup> [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> est maintenue faible (< 20 mM) par rapport à la concentration extracellulaire [Cl<sup>-</sup>]<sub>e</sub> (≈ 100 mM) sous l'action de co-transporteurs cation-chlorure (CCC), dont les types les plus exprimés dans les neurones sont le co-transporteur sodium-potassium-chlorure 1 (NKCC1) et le co-transporteur potassium-chlorure 2 (KCC2) (Blaesse *et al.*, 2009; Ben-Ari *et al.*, 2012). Ces deux transporteurs utilisent les gradients électrochimiques générés par des pompes actives (Na/K ATPase), pour effectuer le cotransport, électriquement neutre, de Cl<sup>-</sup> et d'autres cations. Ils exercent des actions opposées : KCC2 extrait un ion Cl<sup>-</sup> et un ion K<sup>+</sup>, alors que NKCC1 utilise le gradient sodique pour insérer 2 ions Cl<sup>-</sup>, un ion K<sup>+</sup> et un ion Na<sup>+</sup> dans la cellule. L'équilibre du chlore dans les neurones est ainsi strictement régulé par l'expression différentielle de ces deux transporteurs, et l'impact des CCC a été identifié comme majeur dans les processus de développement et dans des pathologies telles que l'autisme et l'épilepsie. En effet, la transmission GABAergique est exprimée avant la transmission glutamatergique, et le GABA transmet une action excitatrice dans les phases précoces du développement (*in utero* et jusqu'à 3 semaines après la naissance chez l'humain), liée à une surexpression relative des NKCC1, induisant une élévation du potentiel de réversion de Cl<sup>-</sup>. Ce mode d'action permet au GABA d'agir comme un facteur trophique, et de construire les premières architectures neuronales spécifiques, en promouvant des formes primitives de synchronisation neuronale et de plasticité synaptique, y compris dans l'hippocampe (Ben-Ari *et al.*, 2007; Wang et Kriegstein, 2008; Galanopoulou, 2007; Cherubini *et al.*, 2011), avant qu'une inversion du rapport KCC2 : NKCC1 ne permette le passage d'une transmission GABAergique excitatrice à une transmission inhibitrice chez l'adulte (Dzhala *et al.*, 2005, 2010). Ainsi, les altérations de la transmission GABAergique et de l'homéostasie du chlore sont le sujet de nombreuses recherches pour le traitement des épilepsies (Bernard *et al.*, 2000; Palma *et al.*, 2006; Huberfeld *et al.*, 2007; Muñoz *et al.*, 2007; Galanopoulou, 2010; Ben-Ari *et al.*, 2012; Löscher *et al.*, 2013),

des pathologies mentales du développement comme les troubles du spectre autistique (TSA) (Pizzarelli et Cherubini, 2011; Cellot et Cherubini, 2014; Tyzio *et al.*, 2014), ou encore des douleurs chroniques (Coull *et al.*, 2003; Keller *et al.*, 2007).

### 1.8 Modulation cholinergique de l'activité hippocampique

La neuromodulation couvre l'ensemble des processus altérant les propriétés des synapses et des neurones, exercés sous l'action de substances nommées neuromodulateurs. La distinction entre un neuromodulateur et un neurotransmetteur est relativement floue (cf. sous-section 1.7.1), mais en général la neuromodulation est plus diffuse, a des cibles moins spécifiques, et agit sur des échelles de temps plus longues que la neurotransmission rapide classique. La neuromodulation est importante en cela qu'elle influence significativement l'ensemble de la fonction de traitement du signal par les réseaux neuronaux. En effet, les synapses, neurones et réseaux ne forment pas des circuits câblés statiques, mais sont au contraire extrêmement plastiques. La neuromodulation de leurs composantes génère une grande variété d'états fonctionnels distincts dans l'espace et dans le temps, apportant à un circuit donné une puissance computationnelle augmentée. La neuromodulation implique des modifications de l'excitabilité des neurones, de leurs propriétés intégratives, de la transmission et de la plasticité synaptique; et un modulateur unique aura le plus souvent un effet conjoint sur plusieurs cibles cellulaires et synaptiques. Au delà de ses effets immédiats, la neuromodulation a des effets à long terme, et peut donner lieu à des changements de l'expression génétique, et de l'architecture neuronale. L'hippocampe est sous l'action de neuromodulateurs variés (qui peuvent aussi être des NT), tels que les monoamines (dopamine (DA), noradrénaline (NA), sérotonine (5-HT)), l'histamine, les purines (adénosine et adénosine triphosphate (ATP)), les endocannabinoïdes, le monoxyde d'azote (NO) et certains neuropeptides (e.g. neuropeptide Y (NPY), substance-P, CCK, opioïdes, leptine, SOM, peptide intestinal vasoactif (VIP), ocytocine (OT), arginine vasopressine (AVP), cortistatine, bombésine, thyrotropin-releasing hormone (TRH)) (Cobb et Lawrence, 2010), mais c'est l'action cholinergique (i.e. liée à l'acétylcholine (ACh)) dans l'hippocampe que nous développerons ici.

L'acétylcholine (ACh), premier NT découvert, est une amine synthétisée de la choline par l'enzyme choline acétyltransférase (CoA). Elle est le NT principal libéré au niveau des jonctions neuromusculaires par les motoneurones de la moelle épinière de tous les vertébrés. Elle joue un rôle principalement excitateur dans le SNC, où son action est transmise par les récepteurs nicotiques (nAChr) ionotropes et les récepteurs muscariniques (mAChr) métabotropes, ainsi originellement nommés selon leurs agonistes sélectifs, respectivement la nicotine et la muscarine. L'ACh joue des rôles importants dans les processus du développement, de l'attention, de l'apprentissage et de la mémoire (Blokland, 1995; Fadda *et al.*, 1996; Hasselmo et Giocomo, 2006; Segal et Auerbach, 1997).

L'ACh est dégradée dans le milieu extracellulaire en choline et en acide acétique, par les enzymes cholinestérases, représentées à 90 % dans le cerveau des mammifères par l'acétylcho-

linestérase (AChE) (Mortensen *et al.*, 1998). L'AChE, grâce à une cinétique rapide de l'ordre de la milliseconde, exerce un contrôle sur la transmission synaptique cholinergique (Massoulié *et al.*, 1993; Massoulié, 2002). De plus, elle permet de limiter le niveau d'ACh ambiant dans le volume extracellulaire, prévenant ses effets toxiques. Ainsi, certains venins de serpent, les gaz de combat (sarin, soman, gaz VX), mais aussi les pesticides organophosphorés sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChEi), irréversibles et toxiques. Aussi, on a constaté une dégénérescence des neurones cholinergiques dans des pathologies telles que la maladie d'Alzheimer (Arendt *et al.*, 1983; Coyle *et al.*, 1983; Giacobini, 2003), et toute une classe d'AChEi réversibles ont été développés afin de maintenir le tonus cholinergique dans le cortex, dont certains sont commercialisés comme le donepezil, la galantamine, la rivastigmine ou la tacrine (Jann, 1998; Standridge, 2004).

### 1.8.1 Innervation cholinergique de l'hippocampe

L'entrée cholinergique principale de l'hippocampe est représentée par un large faisceau de fibres empruntant la voie fornix/fimbria, dont les corps cellulaires sont situés dans le complexe septum médian / diagonale de Broca (SM/DB). Cette voie, appelée voie septo-hippocampique (VSH) forme des axones se ramifiant dans toutes les aires et toutes les couches de la formation hippocampique (Dutar *et al.*, 1995). La VSH constitue une afférence importante dans la fonction hippocampique, jouant le rôle de *pacemaker* sur l'activité des réseaux, contribuant en particulier à la genèse des oscillations thêta, phénomène critique dans la formation de la mémoire (Stewart et Fox, 1990; Buzsáki, 2002). Les terminaisons cholinergiques de la VSH forment des synapses avec les PC et les IN (Frotscher et Léránth, 1985; Léránth et Frotscher, 1987). Pour autant, une large proportion de ces terminaisons ne s'associent pas à des compartiments postsynaptiques spécifiques, supportant l'idée d'une transmission cholinergique duale : l'ACh dans l'hippocampe semble pouvoir agir comme un NT classique, donnant lieu à une réponse rapide via des récepteurs nicotiques (nAChR) postsynaptiques, mais les compartiments postsynaptiques spécifiques à l'ACh semblent rares (Yamasaki *et al.*, 2010). Elle agirait surtout comme neuromodulateur, issue de varicosités non synaptiques ; d'où elle est libérée dans le volume extracellulaire pour activer à distance des mAChR à haute affinité. Il existe aussi un petit nombre d'IN cholinergiques dans l'hippocampe, dont la fonction précise reste à déterminer, mais qui pourraient jouer le rôle d'amplificateur des entrées cholinergiques extrinsèques, et dont la disparition est observée dans la maladie d'Alzheimer (Frotscher *et al.*, 2000; Tricoire et Cea-Del Rio, 2007).

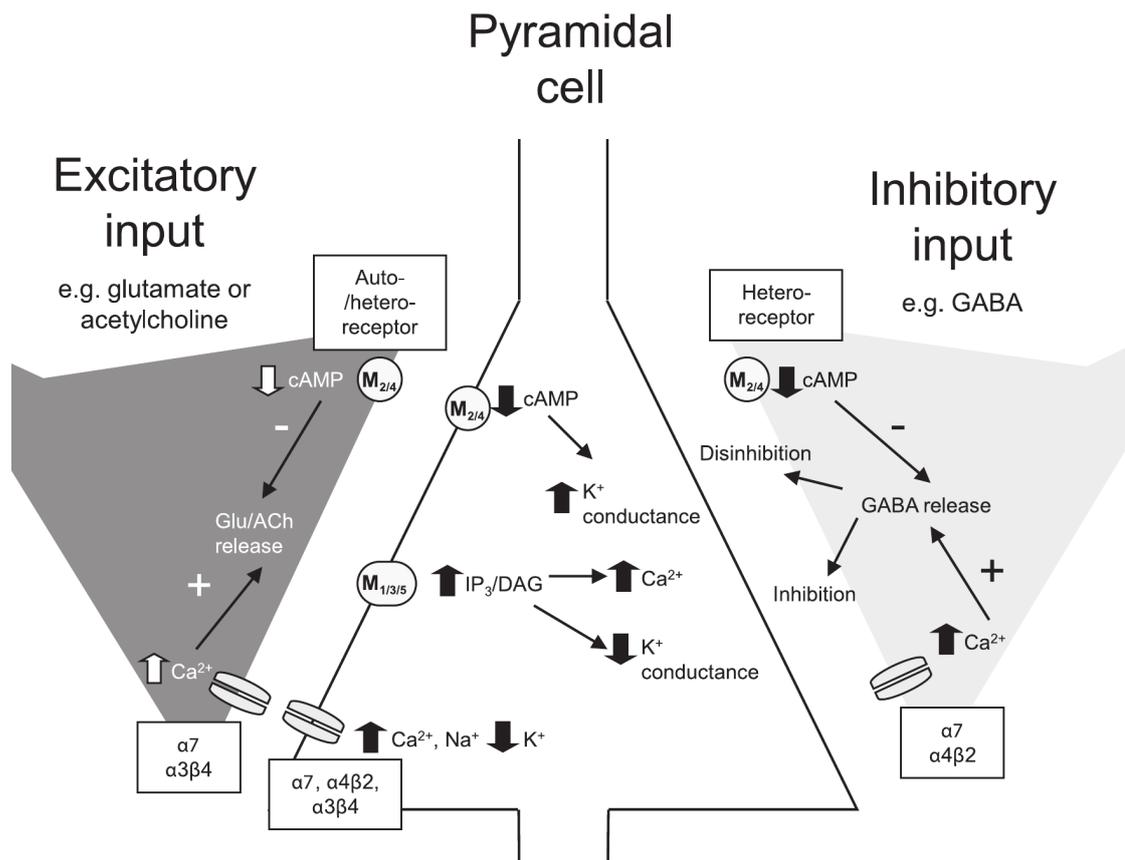
### 1.8.2 Récepteurs cholinergiques

**Les récepteurs nicotiques (nAChR)** sont des multimères composés de 5 sous-unités, formant deux sites de liaison aux ligands sur les domaines extracellulaires, et arrangées symétriquement autour d'un canal central cationique non sélectif. Dans le SNC, on trouve principalement les formes hétéromérique  $(\alpha_4)_2(\beta_2)_3$  et homomérique  $(\alpha_7)_5$ , et cette dernière semble être prépondérante dans l'hippocampe (Cobb et Davies, 2005). Les nAChR ont des

## 1.8. Modulation cholinergique de l'activité hippocampique

cinétiques d'activation et de désactivation rapides, et sont tous perméables à  $\text{Na}^+$  et à  $\text{K}^+$ . Les récepteurs  $\alpha_7$  ont en outre la plus grande perméabilité à  $\text{Ca}^{2+}$  (Drever *et al.*, 2011), et se désensibilisent fortement sous l'action d'une forte concentration de ligand (Papke *et al.*, 2000). Ils sont exprimés dans divers types cellulaires, et compartiments subcellulaires, y compris dans les terminaux présynaptiques glutamatergiques et GABAergiques (Giocomo et Hasselmo, 2005).

**Les récepteurs muscariniques (mAChr)** sont des récepteurs métabotropes, appartenant à la famille des récepteurs couplés à la protéine G (RCPG), dont la structure typique est composée de sept domaines transmembranaires (Peralta *et al.*, 1987; Caulfield et Birdsall, 1998). Cinq sous-types de mAChr ont été classifiés selon leurs ligands spécifiques et le type de messager secondaire qu'ils activent : les récepteurs  $M_1$ ,  $M_3$  et  $M_5$  sont couplés à la protéine-Gq, qui active la PLC ;  $M_2$  et  $M_4$  sont couplés à la protéine-Gi, qui inhibe la production d'AMPc. Les sous-types les plus exprimés dans le cerveau sont - dans l'ordre de leurs abondances relatives -  $M_1$ ,  $M_2$ , et  $M_4$  alors que  $M_3$  et  $M_5$  sont rares (Volpicelli et Levey, 2004; Drever *et al.*, 2011), (Figure 1.11).



**Figure 1.11** – Représentation schématique de la distribution et de l'action des récepteurs nicotiniques (nAChr) et des récepteurs muscariniques (mAChr) dans les neurones de l'hippocampe, d'après Drever *et al.* (2011).

Un faisceau d'études a mis en évidence une grande diversité de la distribution neuroanatomique des mAChr dans l'hippocampe (Cortés et Palacios, 1986; Cortés *et al.*, 1986; Levey *et al.*, 1995; Oki *et al.*, 2005; Rouse *et al.*, 2000, 1998; Rouse et Levey, 1996; Rouse *et al.*, 1999; Yamasaki *et al.*, 2010). Un certain consensus suggérerait que dans l'hippocampe, les récepteurs M<sub>1</sub> et M<sub>3</sub> seraient exprimés dans les PC, alors que M<sub>2</sub> et M<sub>4</sub> seraient plus abondants dans les IN, mais les données indiquent des profils d'expression plus complexes, spécifiques à chaque classe d'IN. Cependant, il semble que l'action des M<sub>1</sub>/M<sub>3</sub> soit associée à une augmentation de l'excitabilité intrinsèque des cellules hippocampiques (Cole et Nicoll, 1984; Lawrence *et al.*, 2006), alors que M<sub>2</sub>/M<sub>4</sub> agirait préférentiellement dans les compartiments présynaptiques en inhibant la libération de NT des axones cholinergiques (Rouse *et al.*, 1999) et glutamatergiques (Hasselmo et Schnell, 1994; Seeger *et al.*, 2004), ainsi que d'IN GABAergiques (Hájos *et al.*, 1998). En particulier, l'étude de Yamasaki *et al.* (2010) a rapporté une expression abondante du récepteur M<sub>1</sub> (M1r) dans les zones extrasynaptiques des dendrites et des épines, ainsi que dans les corps cellulaires des PC de CA1, et un marquage faible ou absent dans les IN.

### 1.8.3 Effets physiologiques de la modulation cholinergique dans l'aire CA1

L'activation pharmacologique spécifique des nAChr provoque généralement une réponse nulle ou faible dans les PC, et une dépolarisation transitoire dans une certaine population d'IN (Frazier *et al.*, 1998; McQuiston et Madison, 1999b). Les nAChr sont exprimés dans les compartiments pré- et postsynaptiques des synapses du *s.r.* (Fabian-Fine *et al.*, 2001), et les nAChr présynaptiques semblent avoir une action sur la probabilité de libération de certaines synapses, car l'application de nicotine diminue la fréquence des CPSE miniatures glutamatergiques issus des fibres moussues et de la VP (Giocomo et Hasselmo, 2005).

En général, l'application exogène d'ACh aux PC provoque une dépolarisation nette du potentiel de membrane, accompagnée par une augmentation de sa résistivité (Cole et Nicoll, 1984). Ces effets résultent de l'activation des mAChr, et ont été observés par la stimulation des afférences cholinergiques ou du noyau septal dans des tranches septohippocampiques (Cole et Nicoll, 1983; Madison *et al.*, 1987; Morton et Davies, 1997; Segal, 1988). L'activation des mAChr module une large gamme de conductances et de messagers secondaires, dont une inhibition du I<sub>M</sub> (canaux Kv7 ou KCNQ), du courant potassique PHP activé par le calcium I<sub>PHP</sub>, du courant de fuite I<sub>leak</sub> (Halliwell, 1990; Colino et Halliwell, 1993), du courant rectifieur entrant I<sub>KIR</sub> et de VDCC (Toselli *et al.*, 1989; Toselli et Lux, 1989a,b; Liu *et al.*, 2006; Tai *et al.*, 2006), ainsi qu'une activation des courants cationiques non spécifiques I<sub>H</sub> (activé par l'hyperpolarisation) et I<sub>cat</sub> (dépendant du Ca<sup>2+</sup>) (Cobb et Lawrence, 2010). Une dépolarisation comparable a été observée dans la plupart des IN de l'hippocampe, mais avec une moindre diminution de la résistivité membranaire (Parra *et al.*, 1998; McQuiston et Madison, 1999a; Lawrence *et al.*, 2006). L'application d'agonistes mAChr provoque une augmentation de la fréquence des décharges des O-LM et des PV-BC, accompagnée par une post-dépolarisation (PDP), dépendantes de M<sub>1</sub>/M<sub>3</sub> via l'activation de I<sub>cat</sub> et l'inhibition de I<sub>M</sub> et I<sub>PHP</sub> (Lawrence *et al.*, 2006). En particulier, les résultats de Gullledge et Kawaguchi (2007) et Dasari et Gullledge

## 1.8. Modulation cholinergique de l'activité hippocampique

---

(2011) montrent une modulation biphasique de l'excitabilité intrinsèque des PC, induite principalement par M1r : une application focale d'ACh produit d'abord une hyperpolarisation liée à la libération intracellulaire du calcium contenu dans le RE, et à l'activation subséquente de canaux potassiques  $Ca^{2+}$ -dépendants (canaux SK), suivie d'une dépolarisation et d'une perte de la propriété de régulation de la fréquence de décharge, suggérant une diminution du courant-M ( $I_M$ ) (Brown et Adams, 1980; Suh et Hille, 2002; Winks *et al.*, 2005). L'activation muscarinique facilite la rétropropagation des PA du soma vers les dendrites (Gulledge *et al.*, 2009), et induit la mobilisation du calcium intracellulaire (Power et Sah, 2002; Cobb et Davies, 2005). Exprimés dans les terminaux glutamatergiques des CS, les récepteurs  $M_2$  (M2r) et/ou les récepteurs  $M_4$  (M4r) diminuent leur probabilité de libération, vraisemblablement par l'inhibition de VDCC de type N (Qian et Saggau, 1997; Seeger *et al.*, 2004; Dasari et Gulledge, 2011). Un effet similaire, mais d'amplitude moindre se produirait dans les terminaux de la VP (Hasselmo et Schnell, 1994), suggérant que l'effet muscarinique présynaptique tendrait à amplifier différentiellement le poids des afférences sensorielles (i.e. de la VP) au profit des récurrences intrahippocampiques (i.e. les CS) (Giocomo et Hasselmo, 2007).

Globalement, la fonction de la transmission cholinergique est d'accroître l'excitabilité et la synchronicité des réseaux glutamatergiques hippocampiques (Cole et Nicoll, 1983; Dutar *et al.*, 1995), par la modulation de conductances ioniques, de messagers secondaires activant la mobilisation du calcium intracellulaire (Power et Sah, 2002). Elle accélère aussi la conduction des dépolarisations dendritiques (Gulledge *et al.*, 2009), ce qui suggère un rôle dans l'intégration du signal et la plasticité synaptique. En effet, un ensemble de résultats tend à montrer que l'ACh (en particulier via M1r) peut moduler ou induire la LTP dans les synapses issues des CS (Auerbach et Segal, 1994, 1996; Shinoe *et al.*, 2005; Fernández de Sevilla *et al.*, 2008), et que l'effet sous-jacent serait lié à une augmentation de la composante NMDA dans les PPSE (Marino *et al.*, 1998; Markram et Segal, 1990a,b), et à l'activation des *Extracellular signal-Regulated Kinases* (ERK) (Berkeley *et al.*, 2001; Hamilton et Nathanson, 2001). Ce lien entre la transmission cholinergique et la plasticité synaptique semble d'autant plus probant qu'ils affectent tous les deux l'activité oscillatoire dans l'hippocampe. Ces oscillations, correspondant à l'activation synchrone de populations de neurones, sont reconnues comme fondamentales dans la formation de la mémoire associative (Buzsáki, 2002) et le codage de l'information dans les structures neuronales (O'Keefe et Recce, 1993). L'infusion de carbachol (CCh) induit des oscillations dans les bandes de fréquence thêta ( $\theta$ , 4-8 Hz) et gamma ( $\gamma$ , 30-100 Hz) dans des tranches d'hippocampe, (MacVicar et Tse, 1989; Fisahn *et al.*, 1998, 2002; Fellous et Sejnowski, 2000), et module positivement l'induction et l'amplitude de la LTP dans les synapses de l'hippocampe (Shinoe *et al.*, 2005). Le développement de stratégies pharmacologiques orientées vers la rectification des anomalies de l'activité oscillatoire associées aux maladies du SNC représente une voie de recherche prometteuse : la compréhension et la caractérisation des « oscillopathies » est susceptible d'avoir un impact significatif dans le traitement des dysfonctions corticales.

Dans cette partie consacrée à la revue et à la synthèse des données issues de la bibliographie, nous avons détaillé les principaux éléments permettant de comprendre les aspects structurels

## **Chapitre 1. Système nerveux et hippocampe**

---

et fonctionnels caractérisant l'hippocampe. Un tel travail de déconstruction est nécessaire à la compréhension des phénomènes neuronaux, et nous verrons dans les chapitres suivants que ces éléments constituent les données de base pour la construction des modèles. Ainsi les chapitres de la partie suivante vont être dédiés à l'explication des méthodes et outils de modélisation et de simulations mis en œuvre dans mon travail, ainsi qu'à la présentation de différents modèles et du processus permettant leur validation, à différentes échelles.

# **Méthodes, outils & modèles mis en œuvre**

## **Partie II**



Les connaissances accumulées sur les propriétés structurelles et fonctionnelles de l'hippocampe ouvrent un vaste espace aux études en modélisation et en simulation. Les méthodes et outils associés s'adressent à différentes échelles, couvrant d'une part les mécanismes moléculaires et biochimiques au niveau subcellulaire et cellulaire, et d'autre part les aspects plus abstraits du traitement de l'information par les réseaux. Le travail mené par Rhenovia Pharma, résolument orienté vers la découverte de médicaments, nécessite le développement de modèles conservant un haut niveau de détails biologiques, afin d'être capable d'observer les mécanismes fins régissant le fonctionnement des cellules dans les conditions physiologiques et pathologiques. Les méthodes et les outils employés dans ce travail, et décrits dans ce chapitre, permettent ce type d'approche, et visent à intégrer les mécanismes subcellulaires dans des modèles à l'échelle des neurones et des circuits, tout en préservant le réalisme biologique des phénomènes microscopiques. Ainsi, les approches computationnelles de plus haut niveau d'abstraction, permettant de traiter les principes d'encodage et de décodage de l'information au niveau des populations neuronales et des circuits à grande échelle ne seront pas abordées ici, mais on pourra les considérer comme des extensions possibles de l'approche mécanistique détaillée ci-après (Dayan, 2005; De Schutter, 2009).

### 2.1 Approche générale de modélisation

De manière générale, la modélisation est d'abord un processus intellectuel, visant à comprendre le comportement observé d'un système. Elle permet de formaliser, de valider et d'affiner des intuitions, d'établir des relations de causalité, de simplifier des phénomènes complexes en mécanismes élémentaires, de séparer les propriétés spécifiques des principes généraux, et éventuellement de produire des prédictions sur les propriétés ou le comportement du système.

La première phase de ce travail consiste à intégrer un ensemble de connaissances acquises sur le système, puis à en extraire et à formuler les concepts de base supposés expliquer son comportement. La formulation d'un modèle conceptuel nécessite peu d'outils et s'établit

surtout par la pensée, éventuellement aidée d'un papier et d'un crayon. Cette étape peut suffire pour aborder et traiter un certain nombre de problèmes, mais trouve ses limites dès lors que le système qu'on souhaite comprendre est complexe. Si le nombre d'unités qui le composent est grand, si des phénomènes multiples et/ou imbriqués régissent son comportement, ou lorsque les propriétés qui en émergent semblent échapper à la logique ou à des lois connues, alors une formulation plus complète et objective peut être requise. Dès cette étape, on choisit le niveau d'abstraction du modèle. La formulation d'un modèle à haut niveau d'abstraction permet de reproduire et de prédire les propriétés générales du système, mais avec des hypothèses fortes sur les mécanismes sous-jacents. À l'inverse, dans une approche mécanistique, on s'intéresse avant tout aux causes des phénomènes observés, et il est important de rester au plus près de la réalité biophysique, en conservant un haut niveau de détails quant aux mécanismes élémentaires microscopiques. Pour autant, un modèle, même détaillé, repose par essence sur un ensemble d'hypothèses permettant de comprendre le système, et il n'est pas souhaitable d'accumuler systématiquement la complexité, pour des raisons pratiques de simulation, mais aussi pour des raisons intellectuelles d'exploitabilité du modèle.

La phase suivante consiste à préciser la définition du modèle conceptuel, afin d'aboutir à un modèle numérique simulable. Les mathématiques permettent d'établir une description formelle, précise et objective des lois régissant les mécanismes composant le système, et les outils de programmation informatique et de calcul numérique permettent de transformer ces équations en code exécutable par un ordinateur.

Ce travail s'accompagne de la formulation des questions qui se posent sur le système, et des hypothèses que l'on souhaite tester grâce au modèle. Une première catégorie de questions participe à la validation du modèle : est-il capable de reproduire un certain nombre d'effets caractéristiques connus du comportement du système ? Pour répondre à cette catégorie de questions, on dispose d'un ensemble de données expérimentales, dites validantes, qui permettent de contraindre le modèle, dans sa structure, dans les hypothèses qu'il contient, et dans les valeurs des paramètres qui le définissent. En outre, des choix de modélisation doivent être faits, concernant l'intégration ou non d'un certain niveau de détails, ou de certains éléments du système ou de son environnement.

Souvent, la décomposition du modèle en sous-structures dont on connaît mieux les caractéristiques est nécessaire. Progressivement et itérativement, on ajuste et on valide les structures et les paramètres des modèles : mécanismes élémentaires, sous-systèmes et système global. Cette phase d'ajustement et de validation implique la recherche des valeurs de paramètres et la reproduction de protocoles expérimentaux et de leurs résultats par simulation. Au fil des itérations, on critique et on réajuste les modèles, on recherche et on intègre de nouvelles données validantes afin d'aboutir à un ensemble de modèles descriptifs, validés transversalement, selon différents critères et sous différents angles. À l'issue de cette étape, on connaît les hypothèses et les limites du modèle, et on lui attribue un niveau de confiance satisfaisant. Ces différentes phases se basent sur le jugement critique de l'expert, tolèrent les hypothèses, les essais et les erreurs, et supposent une connaissance fine du système, ainsi que des com-

posantes, hypothèses et limites de son modèle. En biologie et en neurosciences, ce travail suppose une humilité particulière : les différences inter-espèces, les variations entre les sujets, le caractère évolutif et plastique des systèmes étudiés et les profondes modifications induites par les pathologies donnent lieu à de nombreux paradoxes, à des résultats variables voire contradictoires, à des concepts mouvants. De plus, l'expérimentation requiert d'élaborer des protocoles complexes, où les techniques de mesure modifient ou perturbent le système étudié, et ne permettent souvent qu'une observation indirecte de son comportement. En outre, à la différence d'une démarche technologique où la fonction du système, même complexe, est spécifiée dès le départ, donnant de fait des contraintes au modèle ; la biologie et les neurosciences procèdent par hypothèses sur les fonctions des systèmes observés, où les liens entre les mécanismes cellulaires et les propriétés émergent de leurs interactions sont le plus souvent mal connus.

Sur la base d'un ensemble de modèles descriptifs ayant acquis un degré de validation suffisant, et d'implémentations simulables de leurs équations, on peut poser de nouvelles questions au modèle, lui donnant alors une fonction prédictive. Sans oublier les hypothèses sur lequel il repose, une large gamme d'expérimentations virtuelles s'offrent au chercheur. On peut explorer diverses valeurs de paramètres, simuler des expériences difficiles voire irréalisables en laboratoire, inclure ou omettre des mécanismes, dans le but de tester des hypothèses de fonctionnement ou des configurations spécifiques, d'éclaircir des relations de causalité, d'évaluer les facteurs critiques dans la fonction physiologique, ou encore d'identifier les leviers pouvant mener à des comportements pathologiques.

En synthèse, les différents éléments qui composent le processus de modélisation sont les suivants, et se basent en continu sur un travail d'approfondissement des connaissances générales, de veille documentaire de collecte de données validantes :

1. Proposition d'un modèle conceptuel expliquant le comportement du système.
2. Formulation des questions adressables au modèle.
3. Décomposition du modèle conceptuel et spécification en sous-ensembles élémentaires.
4. Formulation mathématique et implémentation informatique des modèles.
5. Identification des paramètres, simulation et validation des modèles élémentaires.
6. Intégration des modèles élémentaires : validations incrémentales et transversales.
7. Expérimentations numériques (tests d'hypothèses, exploration paramétrique, effets de composés pharmacologiques, etc.).
8. Analyse et interprétation des résultats, formulation de prédictions.
9. Validation ou invalidation des prédictions, critique et revue des modèles (conceptuels, mathématiques, numériques).
10. Formulation de nouvelles hypothèses, recherche et/ou ajout de nouvelles connaissances aux modèles.

À l'évidence, un tel travail est multidisciplinaire : l'approfondissement des connaissances sur les systèmes biologiques, le raffinement et la complexité des techniques expérimentales

permettant de mettre au jour les comportements fins des cellules, mais aussi le degré des expertises scientifiques nécessaires à la formulation mathématique des modèles et à la mise en œuvre des techniques de calcul numérique, imposent la mise en commun de compétences multiples. Ainsi, les travaux présentés ici s'appuient naturellement sur des éléments prélevés à la littérature de différents domaines, ainsi que sur les recherches et les développements effectués par les membres de l'équipe de Rhenovia Pharma, au cours des différents projets qu'elle a mené (Greget, 2011; Sarmis *et al.*, 2013). Ils ont aussi nécessité un important investissement personnel dans la compréhension des systèmes biologiques, de la physique, de la chimie et des mathématiques permettant leur modélisation, ainsi que des techniques et les technologies informatiques associées à la simulation.

## 2.2 Du formalisme de Hodgkin et Huxley aux modèles cinétiques

Plusieurs formalismes ont été proposés pour décrire l'activité des neurones biologiques. Selon le phénomène que l'on tente de reproduire, et les échelles d'espace et de temps dans lesquelles il s'inscrit, plusieurs options se présentent. Le choix d'une option ou d'une autre dépend en grande partie de la possibilité de déterminer les valeurs des paramètres du modèle, de les contraindre par un ensemble de données expérimentales validantes, ainsi que de la complexité de ses équations, qui influencent les ressources calculatoires et les temps de simulation requis pour déterminer une solution.

### 2.2.1 Modèles de Hodgkin et Huxley

Un formalisme fondamental a été établi par Alan Lloyd Hodgkin et Andrew Huxley en 1952, afin de décrire l'électrogenèse et la propagation des potentiels d'action (PA) dans l'axone géant de calamar (Hodgkin et Huxley, 1952), travaux pour lesquels ils ont reçu le prix Nobel de médecine en 1963. Le modèle de Hodgkin et Huxley (HH) représente chaque portion de la membrane d'une cellule excitable par un circuit électrique équivalent (Figure 2.1). Le modèle original ne prend en compte que les conductances sodiques et potassiques nécessaires à la modélisation du PA de l'axone, mais peut être adapté à diverses conductances ioniques, selon les équations (2.1) à (2.5). Ainsi, on peut étendre ce formalisme à tout type de dendrite ou d'axone, en intégrant les termes de diffusion électrotonique du potentiel dans *l'équation du câble* (cf. section 2.5, équation 2.12), et y appliquer un schéma de discrétisation pour en calculer la solution numérique (Carnevale et Hines, 2006).

$$C_m \frac{dV_m(t)}{dt} = \sum_i I_i(V_m(t)) \quad (2.1)$$

$$I_i(t) = \bar{g}_i \cdot m^p \cdot h^q \cdot n^r \cdot (V_m(t) - E_i) \quad (2.2)$$

## 2.2. Du formalisme de Hodgkin et Huxley aux modèles cinétiques

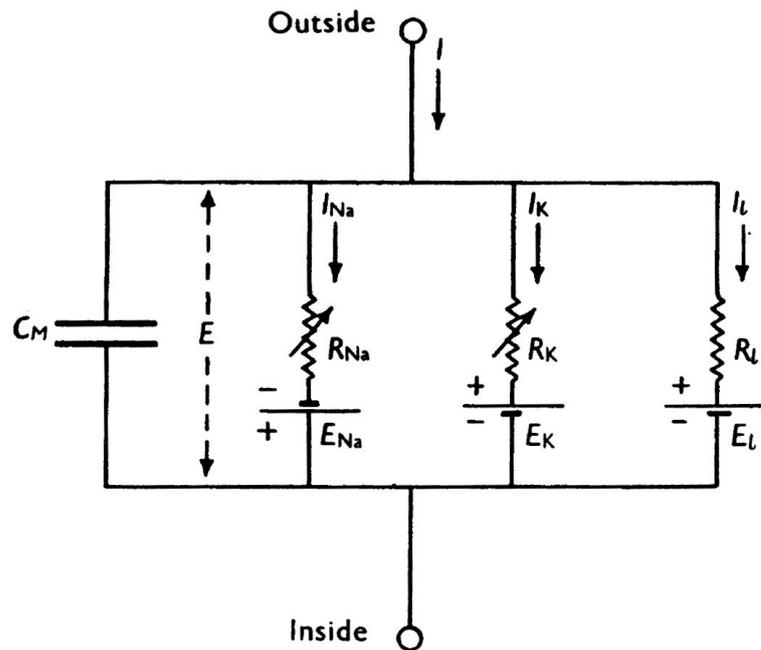
où  $V_m$  est le potentiel de membrane (i.e. la tension entre les milieux extra- et intracellulaires),  $C_m$  est la capacité spécifique de membrane,  $I_i$  est le courant ionique spécifique à chaque canal  $i$ ,  $\bar{g}_i$  est sa conductance maximale,  $E_i$  son potentiel de réversion.  $m, n$  et  $h$  sont les variables d'état représentant la cinétique des transitions d'état du canal nécessaires pour s'ouvrir et se fermer (*gating variables*); et  $p, q, r$  représentent le nombre de ces transitions. Les variables d'état sont gouvernées par des cinétiques du premier ordre dans des formulations équivalentes (2.3) ou (2.4).

$$\frac{dx(t)}{dt} = \alpha_x(V_m) \cdot (1 - x(t)) - \beta_x(V_m) \cdot x(t), \quad x = m, h, n \quad (2.3)$$

$$\frac{dx(t)}{dt} = \frac{x_\infty(V_m) - x(t)}{\tau_x(V_m)}, \quad x = m, h, n, \quad \text{avec :} \quad (2.4)$$

$$x_\infty(V_m) = \frac{\alpha_x(V_m)}{\alpha_x(V_m) + \beta_x(V_m)}, \quad \tau_x(V_m) = \frac{1}{\alpha_x(V_m) + \beta_x(V_m)}, \quad (2.5)$$

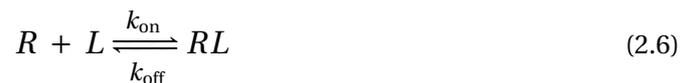
où les fonctions  $x_\infty(V_m)$  et  $\tau_x(V_m)$ , ou  $\alpha_x(V_m)$  et  $\beta_x(V_m)$  de (2.5) peuvent être déterminées empiriquement et approximées par des fonctions de Boltzmann ou des gaussiennes.



**Figure 2.1** – Circuit électrique représentant la membrane dans le modèle de Hodgkin et Huxley original, d'après Hodgkin et Huxley (1952). La différence de potentiel  $E$  entre les milieux intra- (inside) et extracellulaires (outside) est établie par la membrane cellulaire formant une capacité  $C_M$ . Les courants sodiques  $I_{Na}$ , potassiques  $I_K$ , et de fuite  $I_L$  s'établissent par des conductances fixes ( $R_L$ ) ou variables ( $R_{Na}$ ,  $R_K$ ), aux bornes de générateurs de tension représentant les potentiels de réversion ( $E_{Na}$ ,  $E_K$ ,  $E_L$ ) des canaux considérés.

### 2.2.2 Modèles cinétiques

De manière générale, les systèmes biologiques sont constitués d'entités qui se transforment par des réactions biochimiques, se déplacent entre les compartiments cellulaires, et lorsqu'il s'agit de protéines, changent de conformation en fonction des paramètres physico-chimiques de leur environnement. La biologie systémique vise à intégrer ces différents processus et à étudier les propriétés émergentes des systèmes complexes qu'ils constituent. Approcher la physiologie du neurone par ses aspects fonctionnels généraux, et y intégrer les phénomènes microscopiques permettant de comprendre les effets de composés pharmacologiques constituent l'essence du travail mené ici. Une approche permettant de réaliser cet objectif consiste à décrire les protéines qui constituent les récepteurs, les canaux ioniques, les enzymes, etc. par leurs états conformationnels, et les réactions biochimiques par des transitions entre ces états. Les fluctuations de la protéine entre ses différents états conformationnels suivent des processus stochastiques qui peuvent être représentés par des chaînes de Markov à espace d'états discrets, sous l'hypothèse principale que la probabilité d'une transition est déterminée entièrement par l'état présent, indépendamment des états passés. Ce paradigme est classiquement appliqué aux réactions chimiques en général, y compris aux réactions biochimiques catalysées par des enzymes et décrites par l'équation de Michaelis-Menten, et donne lieu à ce qu'on appelle des modèles cinétiques ou *Kinetic Models* (KM) (Resat *et al.*, 2009). Directement dérivés de la notation des réactions chimiques, les KM décrivent l'existence des différents états de la matière, et des flux qui s'opèrent entre eux. Dans un système fermé, la matière est conservée et la somme totale des flux s'annule. La notion d'état et l'unité des flux dépendent alors du contexte : il peut s'agir d'une quantité de matière, d'une masse, d'une densité surfacique ou d'une concentration, ou bien encore de la probabilité d'existence de l'état d'une particule donnée (e.g. état conformationnel d'une protéine). Un exemple simple consiste à représenter la liaison d'un récepteur  $R$  à son ligand  $L$ , formant le complexe  $RL$  :



où  $R$  et  $RL$  sont homogènes à des probabilités,  $L$  est homogène à une concentration,  $k_{\text{on}}$  et  $k_{\text{off}}$  sont les cinétiques d'association et de dissociation, homogènes à  $(M^{-1}.s^{-1})$  et à  $(s^{-1})$ , respectivement, et liées à l'affinité de  $L$  pour  $R$  (constante de dissociation  $k_D = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ ). Ce type de transition élémentaire peut être caractérisé expérimentalement par la technique du *patch-clamp*, pour un canal ou un récepteur-canal (Schorge *et al.*, 2005), et le KM peut être simulé par des algorithmes stochastiques tels que la méthode de Gillespie (Gillespie, 1977; Resat *et al.*, 2009).

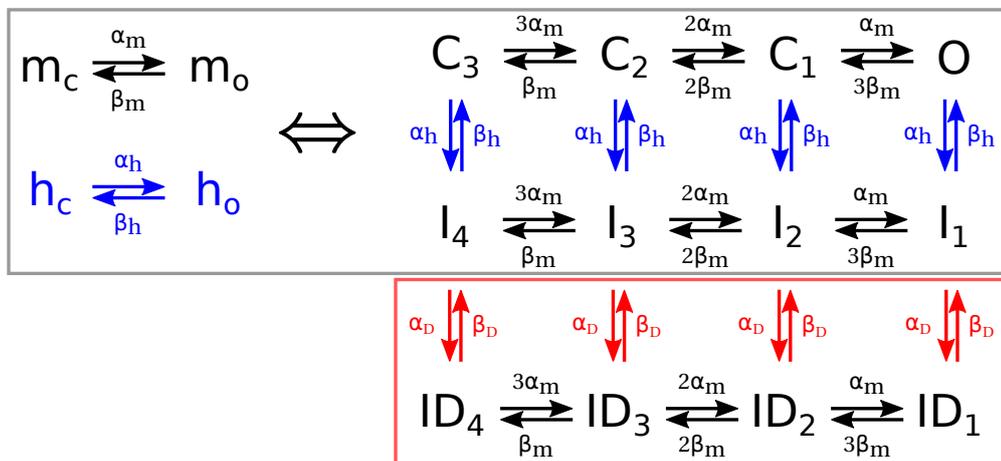
Pour un nombre plus important de récepteurs, on peut considérer les états comme ayant une probabilité d'existence, et utiliser une formulation continue du problème, qui se pose dans notre exemple sous la forme du système d'équations différentielles ordinaires (EDO) (2.7),

## 2.2. Du formalisme de Hodgkin et Huxley aux modèles cinétiques

dont l'évolution temporelle peut être calculée par un algorithme numérique (section 2.3).

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} R \\ RL \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -k_{on} \cdot L & k_{off} \\ k_{on} \cdot L & -k_{off} \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} R \\ RL \end{pmatrix} \quad (2.7)$$

Les modèles issus du formalisme de HH sont en fait assimilables à des KM : les variables d'état  $x$  sont vues comme des portes d'activation et d'inactivation, dont le nombre détermine les différents états du KM, et les fonctions de transition  $\alpha_x(V_m)$  et  $\beta_x(V_m)$  sont les cinétiques de transition (Destexhe *et al.*, 1994). Cette formulation est essentielle pour pouvoir intégrer l'action de molécules pharmacologiques sur ces canaux, car la caractérisation directe de la sensibilité des variables d'état du modèle de HH à la concentration de la molécule est peu aisée. Bien que les nombres de paramètres et d'états soient susceptibles d'être augmentés, des méthodes permettent l'identification des paramètres, et la réduction des temps de calcul (Fink et Noble, 2009). En prenant l'exemple du canal sodique, comportant une variable d'activation  $m$  à trois transitions, et une variable d'inactivation  $h$  à transition unique ( $p = 3$  et  $q = 1$  dans (2.2)), Thomas et Petrou (2013) ont développé le KM équivalent, et intégré les effets des médicaments antiépileptiques (MAE) phénytoïne et carbamazépine. Ces composés ont une activité « usage-dépendante », en se liant préférentiellement sur les canaux dans leurs états inactivés ( $I_i$ ), ce qui revient à ajouter au KM des états représentant leurs probabilités de liaison au canal (Figure 2.2).



**Figure 2.2** – Équivalence entre le modèle de HH et le KM pour le Nav1.2 (cadre gris) et ajout de l'interaction avec la phénytoïne (cadre rouge), d'après Thomas et Petrou (2013). Les variables d'état  $m$  et  $h$  peuvent être dans l'état fermé ( $m_c, h_c$ ) ou ouvert ( $m_o, h_o$ ), et le produit  $m^3 \cdot h$  détermine la probabilité d'ouverture du canal. Pour reproduire cette stœchiométrie, 3 états fermés  $C_i$ , 4 états inactivés  $I_i$  et un état conducteur  $O$  sont nécessaires, avec des probabilités de transitions égales à  $(3 : 2 : 1) \cdot \alpha_m$  et  $(1 : 2 : 3) \cdot \beta_m$  dans le sens de l'ouverture. L'intégration des effets d'un composé  $D$  se liant exclusivement aux états inactivés (e.g. phénytoïne ou carbamazépine), consiste à ajouter les états et les transitions élémentaires correspondants ( $\alpha_D, \beta_D$ ), selon des schémas du type (2.6).

### 2.3 Résolution de systèmes d'équations différentielles ordinaires

Une équation différentielle (ED) est une formulation mathématique permettant de décrire les relations entre une ou plusieurs fonctions inconnues et leurs dérivées. Les ED constituent les modèles mathématiques de nombreux systèmes physiques et biologiques, et leur résolution permet de prédire l'évolution de ces systèmes au cours du temps à partir de leur état initial. On distingue les équations différentielles ordinaires (EDO), où la fonction recherchée dépend d'une variable indépendante unique (e.g. le temps), et les équations aux dérivées partielles (EDP), plus générales, où la fonction dépend de plusieurs variables indépendantes et où interviennent ses dérivées partielles. Ces dernières sont utiles par exemple pour décrire les phénomènes de propagation (e.g. équation de la chaleur, *équation du câble*, cf. section 2.5 et équation 2.12).

Les KM tels que le schéma (2.6) définissent des systèmes d'EDO tels que (2.7), dont la solution analytique peut être calculée à partir des conditions initiales et pour une concentration donnée de ligand  $L$ . Dans les cas d'usage, en particulier lorsque le nombre d'états et d'interactions augmente, et que certains paramètres sont des fonctions du temps, la solution doit être déterminée par des algorithmes de résolution numérique. Ces algorithmes reposent sur la discrétisation de la variable temps, et déterminent de proche en proche l'état du système au pas de temps suivant  $t + \Delta t$ , à partir de l'état courant, en utilisant une approximation locale de la fonction par sa décomposition en série de Taylor.

En notation vectorielle, un système d'EDO s'écrit

$$y' = f(t, y), \quad y(t_0) = y_0 \quad (2.8)$$

où  $y = (y_1, \dots, y_n)^T$  et  $f : \mathbb{R} \times \mathbb{R}^n \rightarrow \mathbb{R}^n$ .

Pour déterminer une approximation de la solution de (2.8) de  $t_0$  à  $T$ , on subdivise l'intervalle  $[t_0, T]$  en sous-intervalles d'extrémités  $t_0 < t_1 < \dots < t_N = T$ , on note  $h_n = t_{n+1} - t_n$  et on calcule l'approximation  $y_n \approx y(t_n)$  par une formule de type :

$$y_{n+1} = y_n + h_n \times \Phi(t_n, y_n, h_n) \quad (2.9)$$

De manière générale, les méthodes numériques reviennent à l'approximation du calcul d'une intégrale, car on peut écrire :

$$y(t_n + h) = y(t_n) + \int_{t_n}^{t_n+h} f(\tau, y(\tau)) d\tau \quad (2.10)$$

La méthode la plus simple, dite méthode d'Euler, consiste à supposer la fonction  $y$  linéaire au voisinage de  $t_n$ , et à n'utiliser que le premier terme de sa décomposition en série de Taylor :

$$y_{n+1} = y_n + h_n \times f(t_n, y_n) \quad (2.11)$$

### 2.3. Résolution de systèmes d'équations différentielles ordinaires

---

Ce schéma d'intégration, bien qu'imprécis et numériquement instable, permet de comprendre la mécanique générale à l'œuvre dans les algorithmes d'intégration.

Une première idée pour l'améliorer consiste à approcher le calcul de l'intégrale dans (2.10) par une formule de quadrature d'ordre plus élevé, et une seconde idée consiste à insérer des points de calcul intermédiaires entre  $t_n$  et  $t_{n+1}$ . Les développements en ce sens ont donné lieu à diverses formules, généralisées au début du 20<sup>e</sup> siècle sous le terme générique de *méthodes de Runge-Kutta* (Butcher, 1996). Une troisième idée, déjà développée par Adams en 1855, consiste à utiliser l'information tirée du calcul de plusieurs pas précédents  $y_n$ , mais aussi ( $y_{n-1}$ ,  $y_{n-2}$ , ...) pour le calcul du pas suivant, donnant lieu aux méthodes multipas (Hairer, 1993).

Ces différentes méthodes utilisent une approximation polynômiale de la dérivée, prise au temps  $t_n$  pour calculer la solution à  $t_{n+1}$ , mais une quatrième idée consiste à utiliser ce polynôme pour estimer la dérivée au temps  $t_{n+1}$ . Les méthodes de cette catégorie sont dites implicites, car elles requièrent une estimation de la dérivée future, et sont numériquement plus stables que les méthodes explicites. Les méthodes de Runge-Kutta et multipas peuvent être formulées de manière implicite, et les formules dites *Backward Differentiation Formulas* (BDF) sont très répandues (Hairer et Wanner, 1996).

Enfin, une dernière idée consiste à ajuster le pas de temps d'intégration aux cinétiques locales de variation du système. En effet, la précision et la stabilité du calcul reposent en grande partie sur l'adéquation entre le pas de temps et la dynamique du système. Sur la base du calcul de l'erreur locale d'intégration, en utilisant par exemple deux méthodes emboîtées d'ordres différents, il est possible d'estimer si le pas de temps est suffisamment petit, ou s'il doit être réduit, pour maintenir l'erreur locale inférieure à une tolérance fixée.

Ces différentes techniques sont le fruit d'une longue histoire et permettent de couvrir un large ensemble de problèmes : l'emploi d'une méthode ou d'une autre dépend notamment de la raideur (*stiffness*) du système (Hairer et Wanner, 1996). Cette notion, quoique vaguement définie, caractérise l'hétérogénéité des vitesses de variation des différentes variables du système. Un système où toutes les constantes de temps sont du même ordre sera dit peu raide, alors qu'un système montrant des variations brusques de ses variables, dues à ses propriétés intrinsèques, ou aux variations de ses entrées, aura un comportement dit raide. Les méthodes explicites sont numériquement plus faciles à calculer, et donneront de bonnes performances pour des systèmes peu raides ou peu perturbés, en particulier si on y adjoint un algorithme d'adaptation dynamique du pas de temps. En revanche, l'emploi de schémas implicites, quoique plus lourds numériquement, est souvent requis pour maintenir la stabilité de la solution lors du calcul de systèmes possédant une vaste gamme de pas de temps et soumis à des perturbations.

La comparaison de différentes méthodes d'intégration a fait l'objet d'un travail extensif, et les différentes options ont été développées et expliquées en détail dans les travaux publiés et les thèses réalisées à Rhenovia Pharma (Greget, 2011; Sarmis *et al.*, 2013; Sarmis, 2013). La performance du calcul, aussi bien en termes de rapidité que de stabilité, est cruciale dans

le processus de modélisation, en particulier lors des phases d'ajustement et de validation, qui requièrent souvent un grand nombre de simulations. Le choix du type d'algorithme et son paramétrage fait appel à l'expertise du développeur, et dépend du type de modèle implémenté, mais le choix d'algorithmes à pas variables, et de schémas implicites (e.g. BDF), sont des options efficaces pour les modèles que nous développons, où des constantes de temps inférieures à la milliseconde côtoient des constantes de temps supérieures à la minute.

### 2.4 Modélisation et simulation à l'échelle moléculaire et synaptique

En biologie systémique et en neurosciences computationnelles, la principale tâche consiste à recueillir les informations issues de la biologie, à proposer un modèle mathématique capable d'intégrer ces informations, et à le valider afin de reproduire en simulation les comportements réels observés. Ce processus est itératif dans la mesure où le corpus de connaissances est en partie mouvant, et où les données dépendent largement des conditions expérimentales. Ainsi, les modèles doivent évoluer constamment pour intégrer toutes ces conditions et suivre l'évolution des connaissances. Il est donc important de disposer d'un ensemble de techniques de travail permettant de rendre efficace la construction, l'extension, la mise en équation, et la simulation des modèles, mais aussi la capitalisation des données expérimentales validantes et des résultats de simulation.

Pour répondre à ces besoins d'intégration, d'extensibilité et de pérennité des modèles, la communauté scientifique a proposé et mis au point un certain nombre de langages standards. Le langage *Systems Biology Markup Language* (SBML) s'est établi sur ces objectifs, en permettant de représenter, indépendamment d'un logiciel précis, différentes classes de phénomènes biologiques, y compris les voies de signalisations métaboliques, les réseaux de régulation génétique, et les KM tels que nous les avons décrits en section 2.2 (Hucka *et al.*, 2003). SBML est un format standard libre et ouvert, basé sur une syntaxe *EXtensible Markup Language* (XML), pris en charge par de nombreux logiciels<sup>1</sup>. Le travail de normalisation de SBML s'est étendu à la création d'une représentation graphique *Systems Biology Graphical Notation* (SBGN) (Novère *et al.*, 2009) et d'une ontologie (Krause *et al.*, 2010) standardisées. La bibliothèque ouverte *Biomodels*<sup>2</sup> regroupe et propose des milliers de modèles SBML à la communauté.

Dans ce contexte, afin de bénéficier de la richesse de la communauté tout en disposant d'outils optimisés pour ses besoins, Rhenovia Pharma a développé ses propres outils et plateformes de modélisation et de simulation, basés entre autres sur SBML, sous l'appellation RHENOMS. Les travaux présentés ici n'ont pas uniquement consisté à utiliser ces logiciels, et j'ai aussi contribué à leur spécification, leur développement et leur amélioration.

Dans sa version 1, RHENOMS est constitué : i) d'un ensemble d'outils destinés aux concepteurs, permettant d'analyser des modèles SBML, de les connecter entre eux, de les simuler

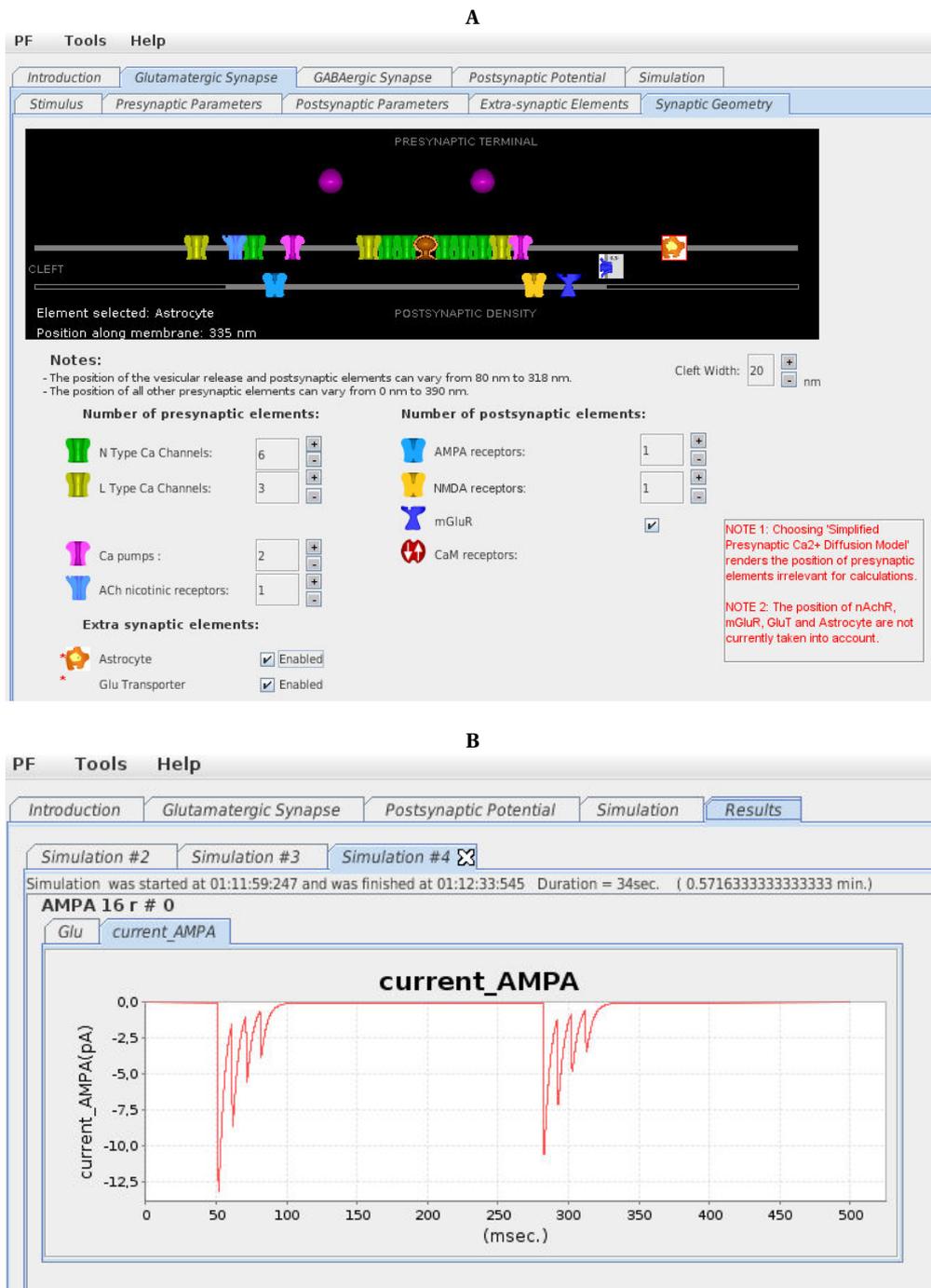
---

1. <http://sbml.org>

2. [www.biomodels.net](http://www.biomodels.net)

## 2.4. Modélisation et simulation à l'échelle moléculaire et synaptique

pour les convertir dans le langage de programmation généraliste Java une fois validés, et ii) d'un logiciel destiné à l'utilisateur final, regroupant les différents éléments constitutifs d'un modèle intégré de synapse (Figure 2.3).



**Figure 2.3** – Exemples de panneaux de l'interface de RHENOMS V1 permettant de configurer le modèle de synapse (A) et de visualiser les résultats de simulation (B).

Développé en collaboration avec l' *University of Southern California* (USC), le logiciel intégré RHENOMS V1/EONS permet de mener simplement et de manière interactive des expériences numériques (Bouteiller *et al.*, 2006; Ambert *et al.*, 2010; Greget, 2011; Hu *et al.*, 2014). Afin de tirer parti de ressources de calcul parallèle, et de logiciels existants comme NEURON (Hines et Carnevale, 1997; Carnevale et Hines, 2006), j'ai participé au développement d'une méthode permettant de distribuer le calcul des modèles synaptiques en parallèle sur plusieurs unités de calcul, communiquant à chaque pas de temps avec le modèle neuronal, en utilisant l'*Application Programming Interface* (API) python de NEURON, et l'implémentation en Java de la bibliothèque *Message Passing Interface* (MPI).

Le développement de RHENOMS s'est poursuivi, en partie sur de nouvelles bases, dans sa version 2. Jusqu'alors, l'implémentation initiale des modèles SBML s'effectuait à l'aide de logiciels-tiers comme CellDesigner (Kitano *et al.*, 2005; Funahashi *et al.*, 2006), et il a été décidé de concevoir un logiciel afin d'avoir le contrôle de l'ensemble du processus de conception des modèles. Ainsi, j'ai contribué à spécifier RHENOMS V2 comme un logiciel intégré permettant :

- d'implémenter et d'importer des KM élémentaires selon le standard SBML,
- de connecter les KM élémentaires et d'exploiter la notion de compartiment du SBML pour constituer des modèles multi-échelles,
- de simuler les modèles et les tests, de sauvegarder et d'afficher les résultats numériques dans une interface d'analyse,
- d'effectuer des expériences numériques complexes, telles que des balayages (*batches*), des études de sensibilité et d'optimisation paramétriques,
- de construire des bibliothèques de validations, afin de capitaliser et de réutiliser les tests, les résultats et les documentations associés,
- de proposer une interface efficace pour les concepteurs de modèles, par la création d'une interface en ligne de commande (console),
- de proposer une interface utilisable par des utilisateurs finaux exploitant les modèles.

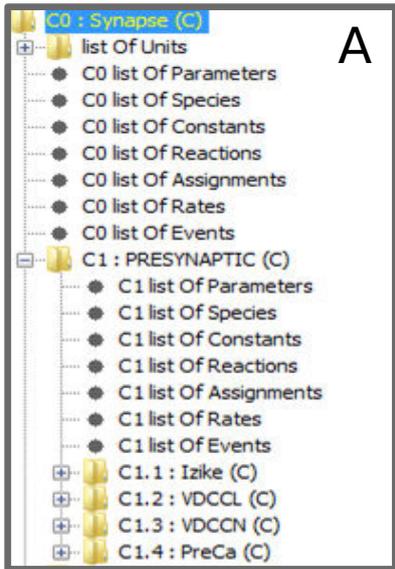
Aussi, son fonctionnement et son utilisation s'articulent autour de différentes phases :

- i) **la phase de conception**, qui consiste à construire le modèle et le fichier SBML ;
- ii) **la phase d'élaboration**, qui consiste à analyser le fichier SBML et à construire explicitement le système d'équations du modèle dans un code exécutable ;
- iii) **la phase de simulation**, qui inclut le choix, le paramétrage et l'exécution de l'algorithme d'intégration ;
- iv) **la phase d'analyse**, permettant le chargement et l'analyse des résultats (*post-processing*).

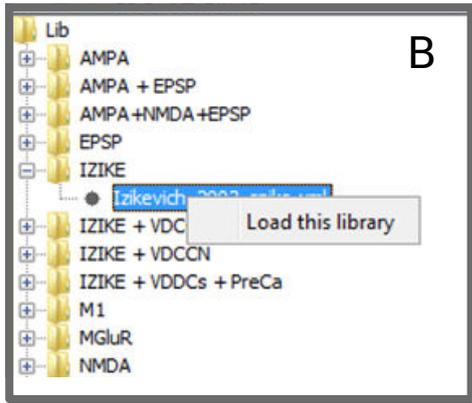
La phase de conception s'appuie sur une interface implémentée en Java, et s'organise en différents panneaux, permettant de visualiser l'arborescence des modèles, de gérer la bibliothèque des modèles, d'éditer le modèle et d'effectuer les opérations en mode console (Figure 2.4). Lors de cette phase, l'utilisateur crée les différents éléments du modèle (espèces, paramètres, réactions, équations, événements), que le logiciel traduit à la volée en code SBML, grâce à la bibliothèque LibSBML (Bornstein *et al.*, 2008). Les phases suivantes s'appuient plus largement

## 2.4. Modélisation et simulation à l'échelle moléculaire et synaptique

**A**



**B**



**C**

```
addParam(C0,MyParam,1.2,COU57)
1 RHENOMS V2> clear
2 RHENOMS V2> addParam(C0,MyParam,1.2,COU57)
3 Parameter added on C0 compartment
```

**D**

ID	Name	list Reactants	list Products	Equation (Names)
C3.1Rc1	re1	R0,Glu	R1	4*kass_re1*R0*Glu-1*kdiss_re1*R1
C3.1Rc2	re2	R1,Glu	R2	3*kass_re1*R1*Glu-2*kdiss_re1*R2
C3.1Rc3	re3	R2,Glu	R3	2*kass_re1*R2*Glu-3*kdiss_re1*R3
C3.1Rc4	re4	R3,Glu	R4	1*kass_re1*R3*Glu-4*kdiss_re1*R4
C3.1Rc5	re5	D0,Glu	D1	3*kass_re5*D0*Glu-kdiss_re5*D1
C3.1Rc6	re6	D1,Glu	D2	3*kass_re1*D1*Glu-kdiss_re1*D2
C3.1Rc7	re7	D2,Glu	D3	2*kass_re1*D2*Glu-2*kdiss_re1*D3
C3.1Rc8	re8	D3,Glu	D4	1*kass_re1*D3*Glu-3*kdiss_re1*D4
C3.1Rc9	re9	E2,Glu	E3	2*kass_re1*E2*Glu-kdiss_re1*E3
C3.1Rc10	re10	E3,Glu	E4	kass_re1*E3*Glu-2*kdiss_re1*E4
C3.1Rc11	re11	R0	D0	4*kass_re11*R0-kdiss_re11*D0
C3.1Rc12	re12	R1	D1	1*kass_re12_init*R1-kdiss_re12*D1
C3.1Rc13	re13	R2	D2	2*kass_re12_init*R2-kdiss_re12*D2
C3.1Rc14	re14	R3	D3	3*kass_re12_init*R3-kdiss_re12*D3
C3.1Rc15	re15			
C3.1Rc16	re16			
C3.1Rc17	re17			
C3.1Rc18	re18			
C3.1Rc19	re19			
C3.1Rc20	re20			
C3.1Rc21	re21			

Edit expression

2\*kass\_re1\*D2\*Glu-2\*kdiss\_re1\*D3+k

Unknown words : k

- k1 --> C2.2P9 [NT\_Diff]
- k2 --> C2.2P11 [NT\_Diff]
- konMem --> C3.2P35 [NMDA]
- kfactor --> C1.4P4 [PreCa]
- kass\_re1 --> C3.1P1 [AMPA]
- kass\_re5 --> C3.1P3 [AMPA]
- kfactorL --> C1.4P9 [PreCa]
- kk2 --> C2.1P5 [NT\_RELEASE]
- kk3 --> C2.1P6 [NT\_RELEASE]
- kdiss\_re1 --> C3.1P2 [AMPA]
- kdiss\_re5 --> C3.1P4 [AMPA]
- kass\_re11 --> C3.1P5 [AMPA]
- kass\_re12 --> C3.1P7 [AMPA]
- kass\_re16 --> C3.1P9 [AMPA]
- konX --> C2.1P1 [NT\_RELEASE]
- konY --> C2.1P3 [NT\_RELEASE]
- kdiss\_re11 --> C3.1P6 [AMPA]
- kdiss\_re12 --> C3.1P8 [AMPA]
- kass\_re19 --> C3.1P11 [AMPA]
- koffX --> C2.1P2 [NT\_RELEASE]

**Figure 2.4** – Exemples de panneaux de l'interface de RHENOMS V2 permettant de structurer les compartiments du modèle dans un arbre (A), de capitaliser les modèles en bibliothèques (B), d'éditer les éléments du modèle en mode console (C) ou interface (D).

sur le langage Python, car il offre une grande richesse de ressources dédiées au calcul scientifique et à l'analyse numérique en général (paquetages Numpy, Scipy, Matplotlib<sup>1</sup>, etc.). De plus, Python s'interface particulièrement bien avec le langage C (via le paquetage Cython<sup>2</sup>), des bibliothèques standard d'algorithmes d'intégration (e.g. CVode<sup>3</sup>), la bibliothèque de calcul parallèle MPI (MPI4py<sup>4</sup>), ainsi qu'avec le logiciel NEURON (cf. section 2.5).

Ainsi, et sans entrer dans de trop amples détails techniques, la phase d'élaboration conduit à la création de code Python contenant la traduction en équations du modèle SBML. La phase de simulation met en œuvre les algorithmes d'intégration pour effectuer des simulations simples et des études paramétriques (*batches*, études de sensibilité et de stabilité, optimisations), exploitant éventuellement des ressources de calcul distribuées via MPI. Enfin, la phase d'analyse permet d'effectuer l'ensemble des analyses graphiques nécessaires à l'exploitation des résultats de simulation (graphes 2D/3D, approximation par des fonctions de Hill et détermination automatique des concentrations efficaces (e.g. concentration efficace médiane (EC<sub>50</sub>), concentration inhibitrice médiane (IC<sub>50</sub>)) de composés, etc.). Enfin, les fichiers SBML peuvent être directement exportés au format NMODL et intégrés au logiciel NEURON, dont nous allons apporter une brève description dans la section suivante.

## 2.5 Modélisation et simulation à l'échelle neuronale et du microcircuit

Grâce à la norme SBML, aux ressources associées, et au logiciel RHENOMS que nous venons de décrire, Rhenovia Pharma dispose d'un ensemble d'outils permettant de construire des bibliothèques de modèles, dont l'échelle s'étend de la molécule à la cellule, incluant les propriétés fonctionnelles des protéines (e.g. récepteurs ionotropes et métabotropes), les réactions biochimiques en général, les voies métaboliques, etc.. Ces outils nous ont permis de reconstruire des modèles complets et détaillés de la physiologie de plusieurs types de synapses (i.e. glutamatergiques et GABAergiques), mais leur champ d'application ne se restreint pas à la neurophysiologie. Dans le contexte des neurosciences computationnelles, un certain nombre de logiciels et de bibliothèques informatiques permettent d'implémenter et de simuler des modèles dont l'échelle s'étend de la synapse aux réseaux de neurones. Une revue de ces principales ressources est fournie par Gleeson *et al.* (2010), et c'est le logiciel NEURON qui a retenu notre choix pour le traitement des problèmes à l'échelle cellulaire et des réseaux de neurones.

### 2.5.1 L'environnement de simulation NEURON

NEURON (Hines et Carnevale, 1997; Carnevale et Hines, 2006) est un environnement de modélisation et de simulation largement utilisé, à la base de centaines de modèles publiés depuis les

---

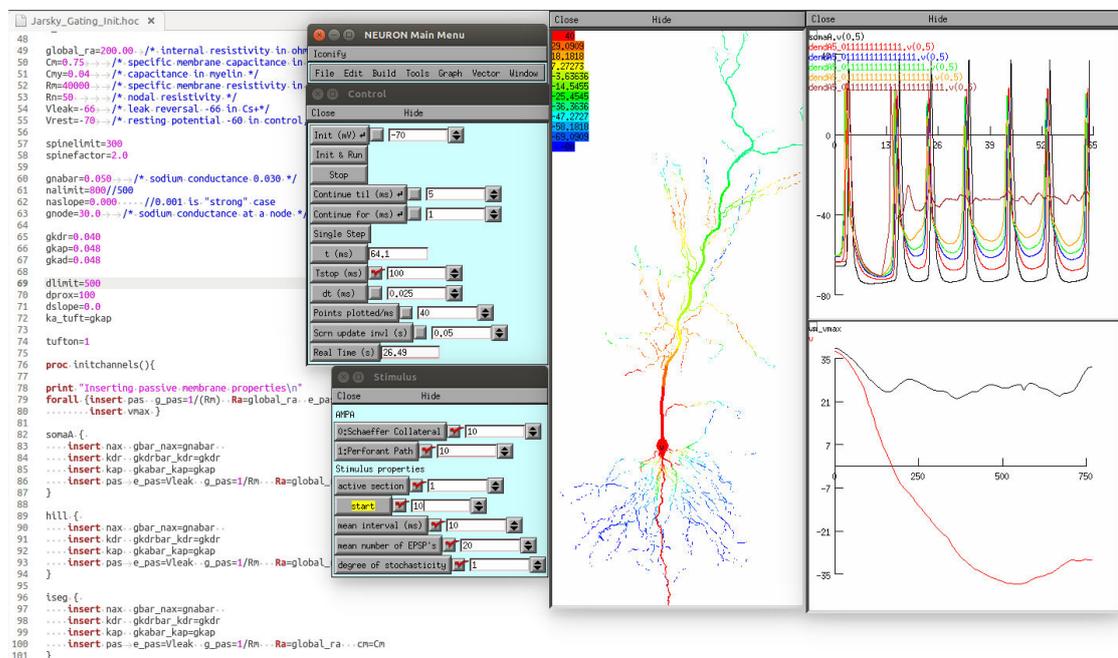
1. <http://www.scipy.org/>
2. <http://cython.org/>
3. <https://computation.llnl.gov/casc/sundials/main.html>
4. <http://mpi4py.scipy.org/>

## 2.5. Modélisation et simulation à l'échelle neuronale et du microcircuit

années 90, dont la plupart alimentent la base ModelDB<sup>1</sup>. Il est basé sur la construction et la simulation de modèles de neurones incluant les mécanismes biophysiques et biochimiques des conductances de membrane, des récepteurs synaptiques, etc.. Il permet de reproduire diverses conditions expérimentales *in vitro* et *in vivo* (enregistrements électrophysiologiques, modulations pharmacologiques), et propose un ensemble de concepts d'écriture qui permettent de bien séparer les aspects biophysiques des aspects calculatoires du travail de modélisation.

Du point de vue de la modélisation, il repose sur la création et la connexion des sections de neurites, définissant la topologie des arborisations composant la morphologie du neurone. Ces sections et leurs attributs sont exprimés dans la syntaxe de l'interpréteur Hoc ou en Python, et peuvent être créés depuis des données morphologiques<sup>2</sup> issus de différents formats standards (e.g. NeuroML<sup>3</sup>). On intègre à ces sections les mécanismes de bas niveau (canaux ioniques, récepteurs synaptiques, homéostasie ionique, diffusion/réaction de molécules dans les compartiments subcellulaires) qui déterminent le comportement électrophysiologique et biochimique de la cellule. Ces mécanismes de base, tels que des KM, sont codés en langage NMODL, traduits en C et compilés pour être directement intégrés aux sections de neurones. Afin de pouvoir encapsuler les modèles et simplifier le passage à des niveaux d'abstraction supérieurs, Hoc dispose de structures de codes orientées-objet (notion de *template*), et l'interface graphique de NEURON permet d'effectuer simplement l'instrumentation et la simulation

1. <https://senselab.med.yale.edu/modeldb/>
2. <http://neuromorpho.org>
3. <http://www.NeuroML.org>



**Figure 2.5** – Exemple de mise œuvre de l'interface de NEURON. On y observe un extrait du code Hoc du modèle de Jarsky *et al.* (2005), ainsi que les panneaux d'interface développés *ad hoc* par les auteurs.

de modèles, ainsi que l'optimisation de paramètres ou la visualisation des résultats (Figure 2.5). Bien que d'apparence rudimentaire, l'interface graphique est très modulable, et permet de créer facilement des interfaces spécifiques au modèle, afin qu'il soit exploitable par un utilisateur non-expert. Enfin, les développeurs de NEURON ont mis au point une API permettant d'exprimer l'ensemble de la syntaxe Hoc en Python, et de garantir une grande extensibilité de ses fonctions (cf. code A.1 en Annexe A).

Du point de vue de la simulation, le calcul du potentiel de membrane se base sur l'équation du câble (2.12) (Rall, 1989), une extension du modèle de membrane de HH (équation (2.1)), qui décrit la relation entre le potentiel de membrane  $V_m$  et les courants transmembranaires  $I_m(V_m, t)$  dans un câble unidimensionnel :

$$\frac{\partial V_m}{\partial t} + I_m(V_m, t) = \frac{\partial^2 V_m}{\partial x^2} \quad (2.12)$$

La résolution numérique de cette équation (2.12) impose un schéma de discrétisation spatiale ; et l'application des lois de Kirchhoff sur la conservation des courants donne lieu à un ensemble de sections et de nœuds connectés, définis par un système d'EDO de la forme :

$$C_m \frac{dV_j}{dt} + i_j = \frac{r}{2.R_a} \frac{V_{j+1} + V_{j-1} - 2.V_j}{\Delta x^2} \quad , \quad (2.13)$$

où  $V_j$  est le potentiel de membrane au nœud de calcul  $j$ , séparé des nœuds adjacents  $j - 1$  et  $j + 1$  d'une distance  $\Delta x$ , pour une section cylindrique de rayon  $r$ , de capacité membranaire spécifique  $C_m$  ( $\mu\text{F.cm}^{-2}$ ), et de résistivité axiale cytoplasmique  $R_a$  ( $\Omega.\text{cm}$ ), sous hypothèse de symétrie axiale, et d'homogénéité des paramètres dans chaque section. La discrétisation et la gestion des conditions aux limites sont assurées par le logiciel, et l'élaboration du système d'équations inclut les mécanismes NMODL à chaque nœud. La résolution de ces systèmes est effectuée par des algorithmes implicites d'Euler et Crank-Nicholson, ou fait appel aux algorithmes à pas variable de la bibliothèque CVode (section 2.3), et l'utilisateur a un contrôle total des différents paramètres tels que les tolérances sur l'erreur de troncature. Aussi, NEURON offre la possibilité de gérer finement et précisément les discontinuités temporelles, par la notion d'événement (*event*) exprimable en NMODL et en Hoc, et par l'utilisation d'algorithmes de détection de seuil permettant le rétro-calcul et la réinitialisation du système d'EDO aux temps exacts des discontinuités. Cette bonne gestion des événements, conjuguée à l'aspect orienté-objet de la syntaxe, permet la simulation efficace de réseaux de neurones, échangeant entre eux les événements synaptiques correspondant aux dates des PA. Enfin, la parallélisation des calculs est rendue possible par l'emploi de MPI, pouvant s'effectuer au niveau du réseau, où chaque processus simule une cellule, et au niveau du neurone unique où le calcul de l'équation du câble de l'arbre dendritique peut être distribué sur différentes unités de calcul (*split et multisplit*) (Hines *et al.*, 2008a,b).

### 2.5.2 Bibliothèque LFP<sub>y</sub>

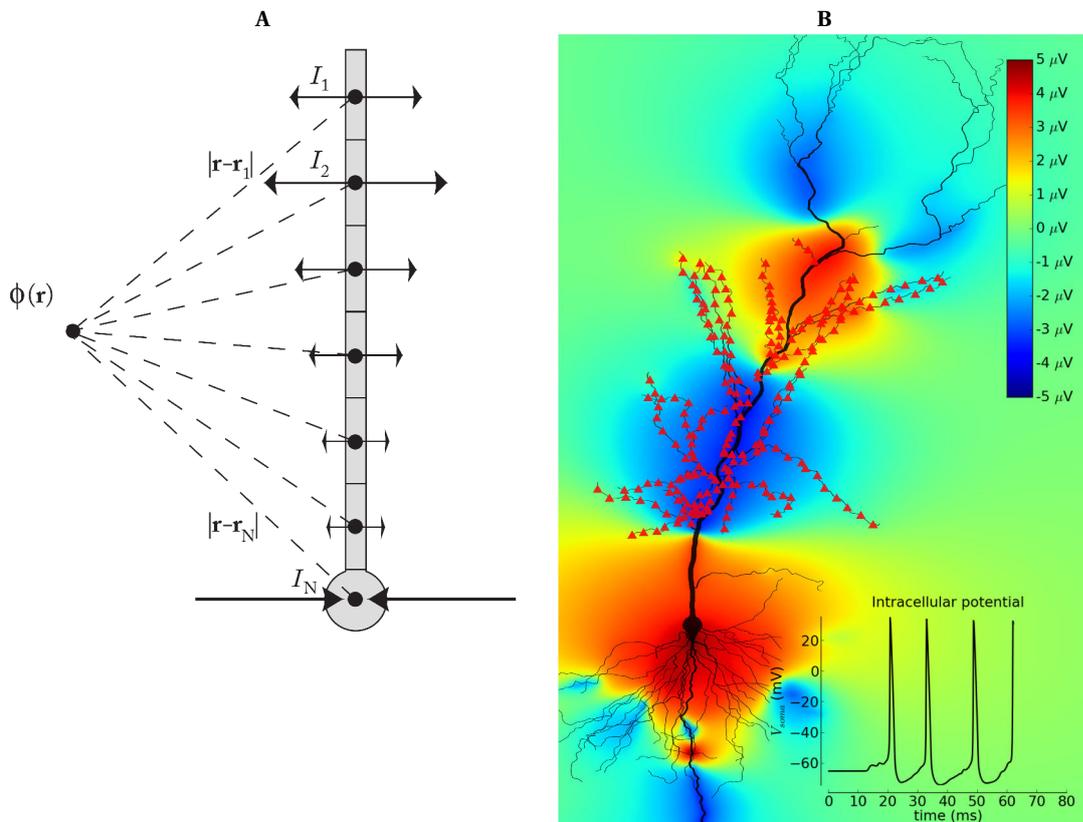
Certaines conditions expérimentales incluent l'enregistrement extracellulaire du signal neuronal. L'observable n'est alors plus directement le potentiel de membrane d'un neurone unique évoluant au cours du temps, mais traduit plutôt la propagation, dans le milieu extracellulaire, des variations de champ électrique induites par les courants transmembranaires de plusieurs neurones locaux. Le potentiel extracellulaire est une observable importante, permettant l'analyse de l'activité de populations de neurones dans des dispositifs *in vitro* (grilles de microélectrodes ou *Micro-Electrodes Array* (MEA)), ou *in vivo* (électrodes implantables simples ou multiples). La composante à haute fréquence du signal extracellulaire (> 500 Hz), dite activité multi-unités (AMU), contient l'information concernant les décharges des neurones au voisinage des électrodes (quelques dizaines de  $\mu\text{m}$ ). Les différentes bandes de la partie basse-fréquence (< 500 Hz) renseignent sur l'intégration synaptique et l'activité coordonnée des populations de neurones dans un rayon d'une centaine de  $\mu\text{m}$ , et constituent le potentiel de champ local (PCL) (ou *Local Field Potential*, LFP) (Lindén *et al.*, 2013). L'AMU fournit alors une mesure des fréquences de décharge d'une population neuronale : elle peut permettre l'identification individuelle des neurones par triangulation des signaux (*spike sorting*), lorsque la grille d'électrodes est suffisamment fine et/ou que l'activité est faible ; et l'analyse des formes des PA extracellulaires porte des informations sur les propriétés intrinsèques des neurones (Gold *et al.*, 2006, 2007). Le PCL permet l'analyse des rythmes oscillatoires : en utilisant des multiélectrodes traversant les différentes couches du cortex ou de l'hippocampe, l'analyse en densité de sources de courant (DSC) permet de déterminer l'origine et la distribution dendritique de ces rythmes (Nicoletis et Ribeiro, 2002; Pettersen *et al.*, 2008; Brette et Destexhe, 2012).

NEURON ne possède pas d'outils permettant de modéliser directement ce type de signal. Pour autant, en utilisant des modèles fidèles à la morphologie et à la biophysique des neurones, il est possible de simuler la propagation du potentiel électrique dans le milieu extracellulaire (Brette et Destexhe, 2012). Sous l'hypothèse quasistatique du champ électrique, et en considérant le milieu extracellulaire comme linéaire, isotrope, homogène, et purement résistif ; le potentiel extracellulaire  $\Phi$ , enregistré à la position  $r$ , généré par  $N$  sources volumiques de courant  $I_n$  aux positions  $r_n$  s'écrit par la relation :

$$\Phi(r, t) = \frac{1}{4\pi\sigma} \sum_{n=1}^N \frac{I_n(t)}{|r - r_n|} , \quad (2.14)$$

où  $\sigma$  est la conductivité du milieu extracellulaire (Figure 2.6A).

La bibliothèque LFP<sub>y</sub> permet de déterminer le potentiel extracellulaire en tout point de l'espace, et de spécifier le dispositif d'électrodes à simuler (Lindén *et al.*, 2013) : elle a été intégrée, et en partie modifiée pour s'adapter à la structure des modèles que nous avons mise au point (Figure 2.6B).



**Figure 2.6** – Modèle et simulation du potentiel extracellulaire. **A** - Représentation schématique du modèle de PCL (équation 2.14), calculant le potentiel extracellulaire issu d'un neurone unique, d'après Brette et Destexhe (2012). Les tailles et directions des flèches illustrent les amplitudes et les orientations des dipôles locaux formés par les courants transmembranaires. **B** - Application au calcul du potentiel de champ formé par un modèle de neurone pyramidal de CA1, lors d'un potentiel d'action. Le gradient de couleur indique l'amplitude instantanée du potentiel extracellulaire (rouge : dépolarisation induite par un courant sortant, bleu : repolarisation induite par un courant entrant). Les triangles rouges indiquent les positions des synapses excitatrices sur les dendrites apicales, et le potentiel intracellulaire enregistré au soma est tracé dans le graphe de l'encart.

## 2.6 Exemple d'intégration de différentes échelles de modélisation

Au fil du développement de la complexité des modèles, il a fallu mettre au point un ensemble d'outils permettant de créer et de gérer efficacement des modèles intégrant différentes échelles, en tirant parti efficacement des outils que nous venons de présenter. Ainsi pour les applications des chapitres 6 et 7, une structure de code commune a été réalisée, reposant sur une bibliothèque de fonctions Python, permettant la création, la simulation, l'analyse et la capitalisation de modèles allant de l'échelle moléculaire à l'échelle du réseau (Figure 2.7, Annexe A).

Les modèles élémentaires SBML et NMODL validés et mis en bibliothèque, sont instanciés dans des *templates* de cellules. Ce sont des classes informatiques, comportant des méthodes et

## 2.6. Exemple d'intégration de différentes échelles de modélisation

---

des attributs, dont les valeurs par défaut correspondent à un comportement de base validé au niveau cellulaire. Il est alors possible d'en créer simplement des instances et de les paramétrer, en minimisant les risques d'altérer leur validité. De la même manière, les modèles de synapses sont encapsulés dans des classes. Ainsi, un fichier-maître permet d'orchestrer les différentes phases de la simulation, en faisant appel à différentes fonctions génériques (code A.1) :

1. **Création des objets cellules** : types, paramètres, nombres, positions dans l'espace.
2. **Connexion des cellules** : distribution des synapses sur les cellules cibles selon leurs types et leurs densités sur le neurone postsynaptique (distributions homogènes ou aléatoires), connexions formelles entre les cellules selon la topologie du réseau (convergence et divergence des projections entre les populations neuronales, Figure 4.8A).
3. **Simulation** : parallélisation sur différentes unités de calcul de l'ordinateur (ou nœuds d'un cluster), basée sur MPI.
4. **Calcul du potentiel extracellulaire** (si requis) : configuration des électrodes virtuelles et calcul du PCL.
5. **Compression et stockage des données** : Les résultats numériques peuvent être compressés par l'algorithme de Douglas-Peucker (Douglas et Peucker, 1973), et sont enregistrés dans une structure de répertoires selon les cellules et synapses auxquelles ils se rapportent.

Lors de l'utilisation d'une ressource de calcul partagée telle qu'un cluster, et lorsque le travail implique le lancement de plusieurs simulations, on crée un script d'exécution (code A.2), qui alloue les ressources nécessaires aux différents travaux, et planifie leur exécution dans une file d'attente (gestionnaire Torque<sup>1</sup> et planificateur Maui<sup>2</sup>).

Différentes méthodes d'analyse et de tracé peuvent ensuite être mises en œuvre par l'utilisateur, et un ensemble de scripts d'usage courant a été mis au point pour faciliter cette démarche (détection de potentiels d'action, analyse fréquentielle, graphes, etc.), sur la base des paquetages Numpy, Scipy et Matplotlib<sup>3</sup>.

Finalement, l'ensemble des paramètres des modèles et de simulation sont centralisés dans un fichier de configuration unique (code A.3), utilisant la structure de dictionnaires Python. Ceci facilite l'édition par l'utilisateur, ou par des scripts annexes (balayages ou optimisations paramétriques), mais permet aussi de mettre les modèles à la disposition d'utilisateurs non-experts. Dans ce but, on peut créer des interfaces graphiques ergonomiques et intuitives, déportées dans des applications clientes légères (technologie Java EE<sup>4</sup>), permettant la configuration et le lancement des calculs sur un cluster centralisé.

---

1. <http://www.adaptivecomputing.com/products/open-source/torque/>

2. <http://sourceforge.net/projects/mauischeduler/>

3. <http://www.scipy.org/>

4. <http://www.oracle.com/technetwork/java/javaee/overview/index.html>

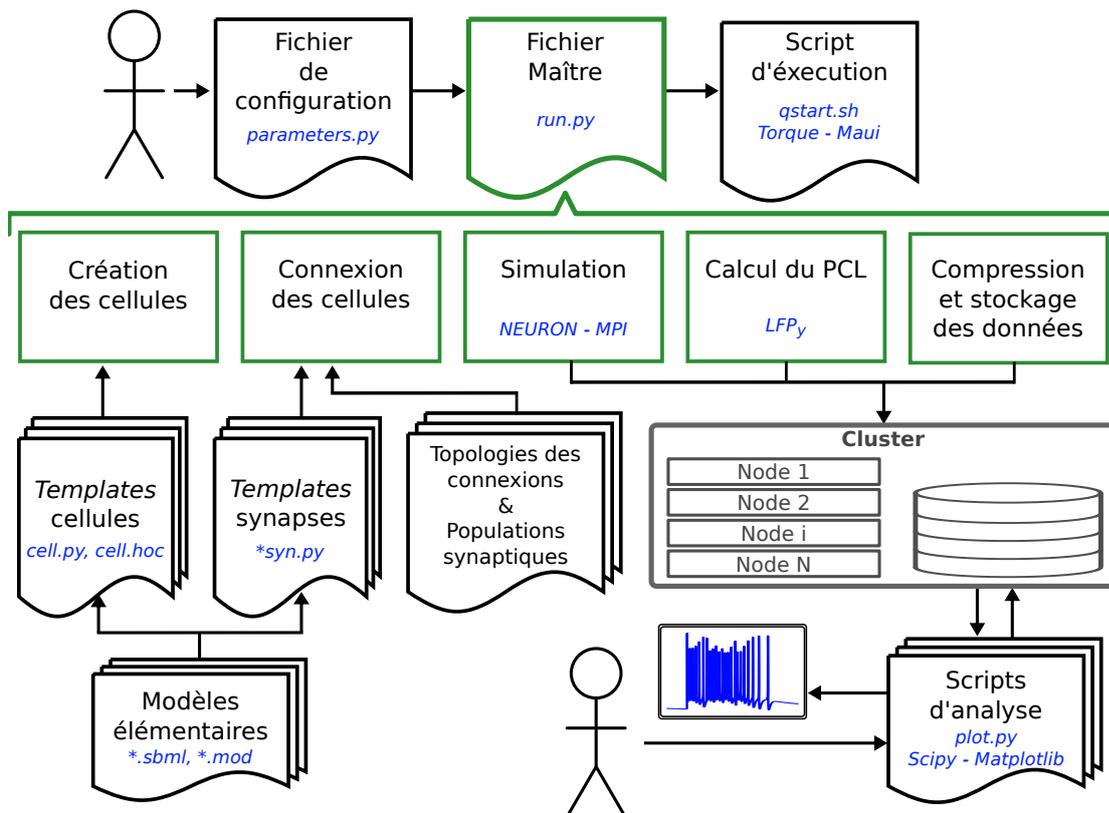


Figure 2.7 – Diagramme du processus d'intégration et de simulation des modèles.

Comme nous venons de le décrire, la modélisation et la simulation appliquées aux neurosciences requièrent l'utilisation de langages et d'outils informatiques spécifiques. La bonne maîtrise de ces méthodes et de ces outils est un préalable nécessaire à la réalisation des modèles, car l'efficacité du développement, la performance de calcul et la qualité des résultats numériques sont des critères importants pour la réussite de nos projets. Dans la mesure où les étapes de développement et de validation requièrent un grand nombre d'itérations, la performance de simulation conditionne en effet directement notre capacité à effectuer l'intégration multi-échelles que nous visons.

Après avoir consacré ce chapitre à la description des méthodes et des outils nécessaires à l'implémentation et à la simulation des modèles, nous allons maintenant aborder les différents modèles effectivement développés dans le cadre de mes travaux de thèse. Le chapitre 3 décrit les modèles des échelles synaptiques et subcellulaires, et le chapitre 4 présente les éléments constitutifs des modèles des neurones et des microcircuits de l'aire CA1 de l'hippocampe.

## Modèles à l'échelle synaptique et subcellulaire

Certains mécanismes moléculaires, synaptiques et cellulaires de l'hippocampe sont ubiquitaires, et à l'œuvre dans différentes zones du système nerveux. Mon travail résumé ici a contribué à établir une bibliothèque de modèles génériques et réutilisables sous forme de modules, où les composants élémentaires s'agrègent dans des modèles de plus haut niveau, grâce aux outils et méthodes décrits dans le chapitre précédent, pour aboutir le cas échéant à la constitution de simulateurs spécifiques à chaque application (e.g. épilepsie). Il n'est pas possible de décrire en détail tous les modèles développés par l'équipe de Rhenovia Pharma, qui ont nécessité un minutieux travail de collecte d'information dans la littérature, d'implémentation, d'optimisation et de validation. Afin toutefois de permettre au lecteur de percevoir globalement la structure et les composants des différents modèles utiles aux applications de la Partie III, j'effectuerai une description globale de ceux que j'ai utilisés, et éventuellement adaptés dans mes travaux, et je fournirai de plus amples détails concernant l'implémentation et la validation des modèles du récepteur au NMDA (NMDAR) et du récepteur  $M_1$  ( $M1r$ ).

### 3.1 Terminal présynaptique

Comme décrit dans la sous-section 1.7.1, le fonctionnement du compartiment présynaptique d'une synapse électrochimique se base sur une cascade d'événements aboutissant à la libération des NT. Une dépolarisation de l'axone (e.g. PA) se propage jusqu'au terminal présynaptique, induisant un influx d'ions calcium  $Ca^{2+}$  par l'activation de VDCC. Le calcium active une famille de protéines « détecteurs » (*Soluble N-ethylmaleimide-Sensitive Factor (NSF) Attachment protein Receptor (SNARE)*), permettant le mouvement puis la fusion des vésicules contenant les NT avec la membrane cellulaire des sites d'exocytose (zone active). Les NT diffusent alors dans la fente synaptique, avant d'activer les récepteurs postsynaptiques et d'être recapturés ou lysés. Ces mécanismes sont relativement conservés entre les différents types de synapses, ce qui permet d'établir un modèle générique du compartiment présynaptique (Figure 3.1A,B). Toutefois, les propriétés fonctionnelles de la libération de NT peuvent varier (probabilité unitaire d'exocytose, contenu quantal des vésicules, facilitation ou dépression suite à des activations successives), et être modulées par l'expression d'autorécepteurs ou

### Chapitre 3. Modèles à l'échelle synaptique et subcellulaire

---

d'hétérorécepteurs différents selon les types cellulaires (ACh, 5-HT, adénosine, etc.).

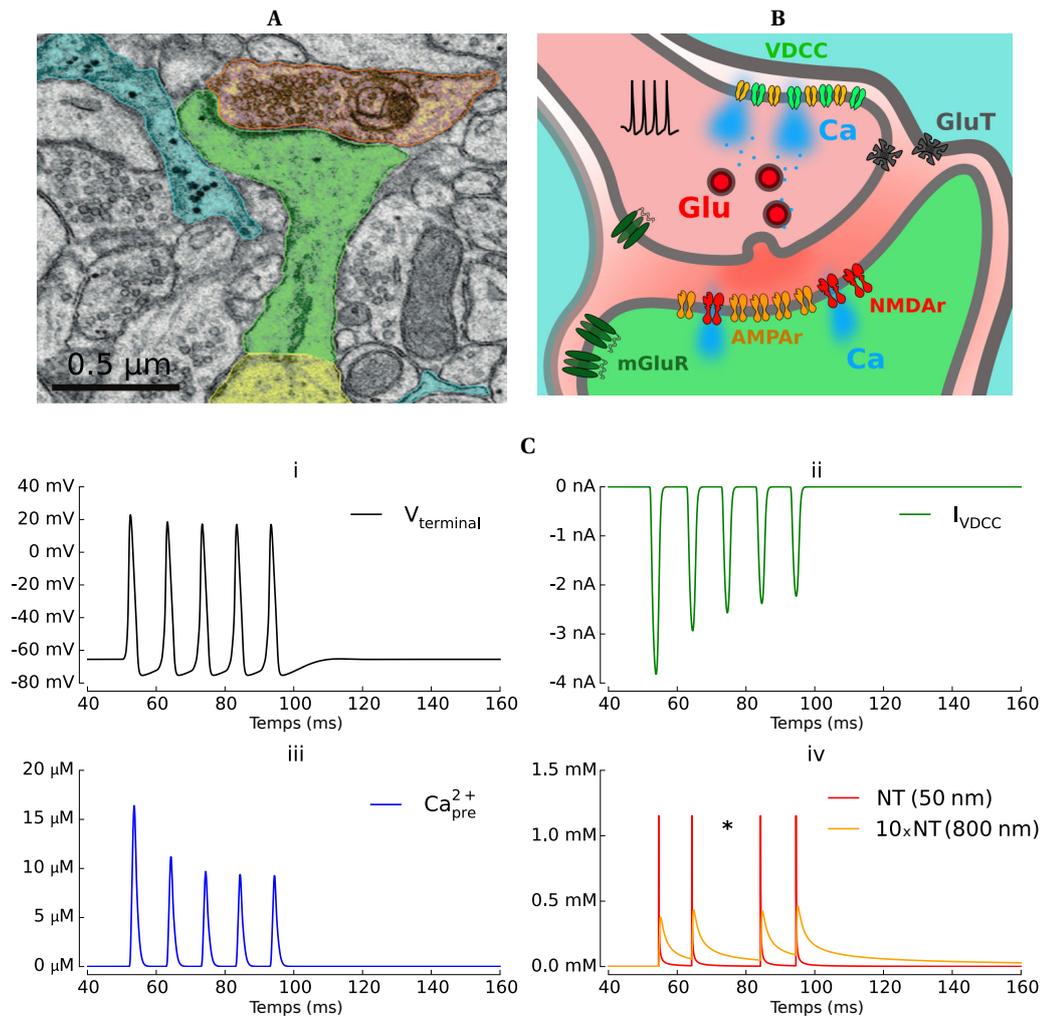
Les VDCC forment une famille de canaux exprimés dans une grande variété de cellules. Les sous-types N et P/Q sont impliqués dans l'exocytose des terminaux présynaptiques (Luebke *et al.*, 1993; Dunlap *et al.*, 1995), groupés en *patches* sur la membrane du terminal. Des modèles de VDCC basés sur le formalisme de HH ont été proposés par Jaffe *et al.* (1994) et Nadkarni *et al.* (2010). Le comportement du calcium dans le compartiment présynaptique répond à une dynamique rapide, où les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de  $\mu\text{M}$  dans les volumes nanométriques séparant les canaux des « détecteurs » de calcium, et se dissiper très rapidement sous l'action de protéines chélatrices (calbindine) et de pompes spécifiques (*Plasma Membrane Calcium ATPase* (PMCA)). Les vésicules sont groupées en différents réservoirs, plus ou moins proches de la zone active, ce qui permet les effets de libération asynchrone, de facilitation par double-impulsion, ou de dépression à court terme. Des KM permettant de reproduire ces effets ont été produits dans la littérature : le modèle proposé par Yamada et Zucker (1992) reproduit ces mécanismes présynaptiques et a été intégré à notre bibliothèque. Aussi, la probabilité d'exocytose  $P_r$  unitaire des synapses de l'hippocampe étant inférieure à un, on ajoute une composante aléatoire au modèle : à chaque fois qu'une vésicule est prête à être libérée, un nombre aléatoire est généré (distribution uniforme  $\mathcal{U}(0, 1)$ ), et déclenche effectivement l'exocytose si celui-ci est supérieur à  $P_r$ .

La distance de quelques dizaines de nanomètres séparant le site d'exocytose et les récepteurs postsynaptiques forme la fente synaptique dans laquelle les NT diffusent. Cet espace restreint donne lieu à une dynamique très rapide de la concentration, et des modèles de bas niveau, intégrant les tortuosités de la fente, et basés sur des simulations stochastiques ont été proposés (Ventriglia et Di Maio, 2000; Raghavachari et Lisman, 2004). Le modèle décrit par Xu-Friedman et Regehr (2004) reproduit les profils de diffusion du glutamate dans la fente. En appliquant une hypothèse de symétrie sphérique, les équations de Savtchenko et Rusakov (2007) permettent d'en donner une solution analytique simple à calculer numériquement (Figure 3.1C). Le développement et la validation de ce modèle sont détaillés dans la thèse de mon collègue (Greget, 2011). Ces différents modèles ont été développés en SBML, et j'ai effectué leur intégration dans un *template* NEURON ; leur application à l'étude de la modulation de la transmission glutamatergique par les récepteurs nicotiques  $\alpha_7$  est décrite dans le chapitre 5. Au modèle de diffusion peuvent être adjoints des modèles de transport des NT : des KM du transporteur de glutamate (GluT) EAAT4, et du GAT1 ont été développés pour des applications pharmacologiques, mais nous n'en ferons pas la description ici.

**Au titre des perspectives**, des modèles plus complexes de l'exocytose ont été proposés (Bennett *et al.*, 2000a,b; Nadkarni *et al.*, 2010; Gabriel *et al.*, 2011), et compte tenu de la taille des compartiments concernés, l'utilisation d'algorithmes stochastiques pour le calcul des probabilités d'exocytose permettrait de mieux prendre en compte les fluctuations microscopiques de ce système. De même, des modèles de diffusion basés sur l'équation de Langevin décrivant le mouvement brownien des molécules permettrait d'intégrer plus finement les fluctuations et les variabilités de ces microstructures (Ventriglia et Di Maio, 2002, 2003). Cependant, le coût de

### 3.1. Terminal présynaptique

calcul qu'impliquent ces méthodes les brident à l'étude d'un petit nombre de synapses, et il est nécessaire de pouvoir effectuer des validations croisées entre les approches stochastiques et continues. En particulier, l'étude de Modchang *et al.* (2010) a montré que l'approche continue était valide, mais trouvait ses limites lorsque la concentration de calcium et la probabilité d'exocytose sont faibles.



**Figure 3.1** – Modélisation du compartiment présynaptique. **A** - Micrographie électronique de la structure d'une synapse glutamatergique de CA1, révélant le terminal présynaptique (orange), l'épine (vert), sa dendrite parente (jaune) et les cellules astrogliales (bleu), d'après Ho *et al.* (2011). **B** - Schéma simplifié du modèle de synapse glutamatergique incluant le terminal présynaptique (orange), les VDCC injectant le calcium (Ca) et permettant l'exocytose de vésicules de NT, qui diffuse dans la fente vers les récepteurs synaptiques (e.g. AMPAr, NMDAr) ou extrasynaptiques (e.g. mGluR) avant d'être recapturé par des transporteurs (e.g. GluT). **C** - Résultats de simulation d'une synapse élémentaire. Une stimulation téτανique de l'axone afférent (5 PA à 100 Hz) mène à la libération de NT dans la fente. Une probabilité d'exocytose  $P_r = 0,3$  donne lieu dans ce cas à l'omission du 3<sup>e</sup> événement (iv, \*), et le modèle de diffusion permet de tenir compte de la distance des récepteurs au site de libération et de l'accumulation de NT (50 nm et 800 nm dans cet exemple).

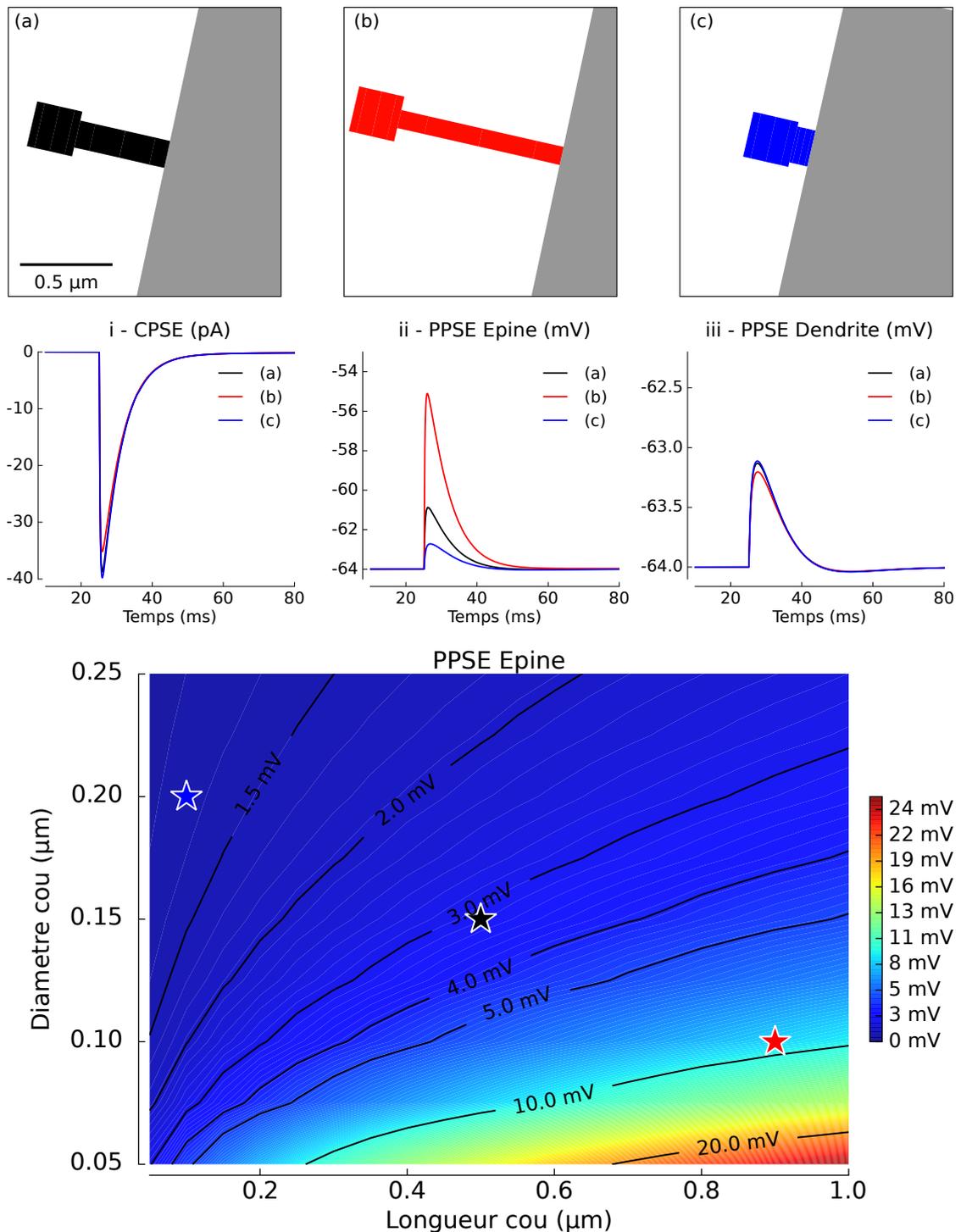
### 3.2 Compartiment postsynaptique glutamatergique

La transmission glutamatergique joue un rôle central dans le traitement du signal hippocampique. Il est donc important de disposer d'un modèle générique et modulaire du compartiment postsynaptique glutamatergique, que l'on pourra paramétrer spécifiquement pour chaque afférence. Les compartiments postsynaptiques glutamatergiques de CA1 expriment des récepteurs à l'AMPA (AMPA) et des récepteurs au NMDA (NMDA). Dans le cas des neurones pyramidaux, ils forment des épines séparant la structure postsynaptique de la dendrite parente (sous-section 1.7.2). Une bonne partie des modèles élémentaires de cette structure ont été validés lors des travaux de mes collègues, et nous n'en effectuerons ici qu'une description brève (Ambert *et al.*, 2010; Greget, 2011; Allam *et al.*, 2012; Sarmis, 2013).

Le modèle de AMPA est un KM, comportant 16 états, initialement proposé par Robert et Howe (2003), et reproduisant les caractéristiques d'activation, d'inactivation et de désensibilisation pour les sous-unités GluR1 et GluR4. Le travail de thèse de mon collègue (Greget, 2011) a consisté à l'adapter précisément à CA1, en optimisant ses paramètres pour reproduire les résultats expérimentaux de Kessler *et al.* (2008), ainsi qu'à mener une étude pharmacologique pour y intégrer les effets de modulateurs allostériques comme les ampakines CX614 (Arai *et al.*, 2000) et aniracetam (Barbour *et al.*, 1994). Un modèle de NMDA a été développé à partir de l'étude de Schorge *et al.* (2005). Il est composé de 15 états permettant de reproduire les cinétiques intrinsèques du récepteur et de sa liaison avec l'agoniste glutamate et le coagoniste glycine, ainsi que les effets du blocage voltage-dépendant du  $Mg^{2+}$ . Une étude portant sur les effets des antagonistes mémantine et acide 2-amino-5-phosphonovalérique (AP5), et sur leurs conséquences fonctionnelles a été publiée (Ambert *et al.*, 2010). Le récepteur mGluR-5 et sa voie de signalisation postsynaptique (protéine-G activant la PLC et libérant le calcium du RE via l'IP3) ont aussi été étudiés. Le modèle inclut un KM cubique à 10 états du récepteur, un modèle d'activation de la PLC, de la formation d'IP3, du récepteur à l'IP3, ainsi que les modèles des flux calciques générés par PMCA, échangeur  $Na^+-Ca^{2+}$  (NCX) et *Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca2+-ATPase* (SERCA), et de la chélation calcique de ce compartiment (calmoduline (Cam), calcineurine (Can)). Les travaux de thèse (Greget, 2011) décrivent ces différents modèles, et une étude des effets de cette voie de transmission, notamment sur le phénomène de LTP a été publiée dans Greget *et al.* (2011).

Ces différents modèles ont été développés et validés en SBML, puis intégrés dans un *template* NEURON, afin d'en effectuer des applications au niveau neuronal. On inclut les récepteurs postsynaptiques à un modèle d'épine dendritique, formé des sections de la tête et du cou, et dont on peut modifier les propriétés géométriques. Comme proposé par Spruston (2008), on montre dans ce modèle que les PPSE enregistrés dans l'épine sont dépendants des dimensions du cou, qui l'isole électriquement de la dendrite parente lorsque son impédance augmente, alors que les PPSE dendritiques ou somatiques sont eux peu influencés (Figure 3.2). L'amplitude du PPSE de l'épine est une observable importante, dans la mesure où l'activation des NMDA ou des canaux voltage-dépendants postsynaptiques (VDCC, Kv, Nav) en dépend (Holbro, 2010).

### 3.2. Compartiment postsynaptique glutamatergique



**Figure 3.2** – Étude de l'influence de la morphologie de l'épine dendritique. Les PPSE enregistrés dans l'épine sont influencés par les dimensions du cou (ii), alors que les PPSE de la dendrite parente le sont peu (iii). Trois situations (a), (b) et (c) sont représentées dans les schémas du haut et les graphes du milieu, et marqués par des étoiles dans la carte du bas correspondant à un balayage paramétrique des paramètres longueur et diamètre du cou de l'épine (noire, rouge et bleue resp.).

### 3.3 Modulation pharmacologique du récepteur NMDA

Dans cette section, nous allons décrire la structure et les principaux tests fonctionnels que j'ai appliqués à un modèle de récepteur au NMDA, dans sa composition de sous-unités NR1/NR2A. De manière générale, un travail important doit être fourni pour diversifier les modèles de récepteurs en fonction de leur composition en sous-unités. Celle-ci peut varier selon les espèces, les stades de développement et les pathologies, et il est fondamental d'enrichir notre bibliothèque de modèles de cette diversité, afin de tenir compte de leurs différences fonctionnelles, de leurs interactions spécifiques avec les substances pharmacologiques, et d'apporter un pouvoir prédictif supplémentaire à nos simulations.

Ce modèle de NMDAr a pour objet de reproduire l'action des agonistes NMDA et glutamate, du coagoniste glycine, des antagonistes compétitifs AP5 et CGP-40116, et des bloqueurs de canal  $Mg^{2+}$ , kétamine et mémantine (Figure 1.9). Le modèle est basé sur la structure proposée par Schorge *et al.* (2005), déjà implémentée à Rhenovia Pharma (Ambert *et al.*, 2010). Mon travail a consisté à intégrer l'action de l'antagoniste CGP-40116 et à étendre la représentation des blocages compétitifs du  $Mg^{2+}$  et de bloqueurs organiques tels que kétamine et mémantine, en rétablissant la validité des propriétés de base du modèle. Le bloc de base de ce KM est constitué de chacun des différents états pris par le récepteur lorsqu'il est libre, que ses deux sites principaux se lient à un agoniste tel que le glutamate (Glu), ou à un antagoniste compétitif, que ses sites secondaires se lient à un coagoniste comme la glycine (Gly), ou encore lorsqu'il s'active ou se désensibilise (Fr-R en Figure 3.3). Les états ouverts O1\* et O2\* permettent de conduire un courant cationique, au travers d'un pore perméable au  $Ca^{2+}$  (66 %), au  $Na^+$  (17 %) et au  $K^+$  (17 %) (Mayer et Westbrook, 1987), pour une conductance maximale totale de 50 pS (Schorge *et al.*, 2005; Dingledine *et al.*, 1999; Traynelis *et al.*, 2010). Les courants sont calculés en tenant compte des concentrations intra- et extracellulaires instantanées des ions, à partir des équations de Goldman-Hodgkin-Katz établissant le  $E_{rev}$  du canal (Mayer et Westbrook, 1987; Jahr et Stevens, 1993).

En tant que bloqueurs,  $Mg^{2+}$ , kétamine et mémantine entrent dans le canal lorsque le récepteur est dans un état ouvert. En supposant que la dynamique propre du récepteur n'est pas modifiée par le bloqueur, on peut dupliquer le bloc de base pour représenter l'ensemble des états pris par le récepteur lorsque le canal est bouché : afin de modéliser la compétition entre le blocage du  $Mg^{2+}$  et d'un bloqueur organique (kétamine et mémantine), deux blocs sont nécessaires (Mg-R et Bl-R dans la Figure 3.3).

Les réponses aux agonistes glutamate, NMDA et glycine ont été validées en regard des résultats de Hedegaard *et al.* (2011), obtenus en protocole *voltage-clamp* sur des oocytes de xénope transfectés (Figure 3.4A). Aussi, les cinétiques intrinsèques du récepteur ont été testées en regard de l'étude de Zhang *et al.* (2008), dont les résultats ont été obtenus sur des patches de cellules *Human Embryonic Kidney* (HEK)-293 transfectées. Après ajustement des paramètres, les cinétiques d'activation, d'inactivation, de désensibilisation et de désinactivation sont conformes aux résultats des différents protocoles de cette étude (Figure B.1).

### 3.3. Modulation pharmacologique du récepteur NMDA

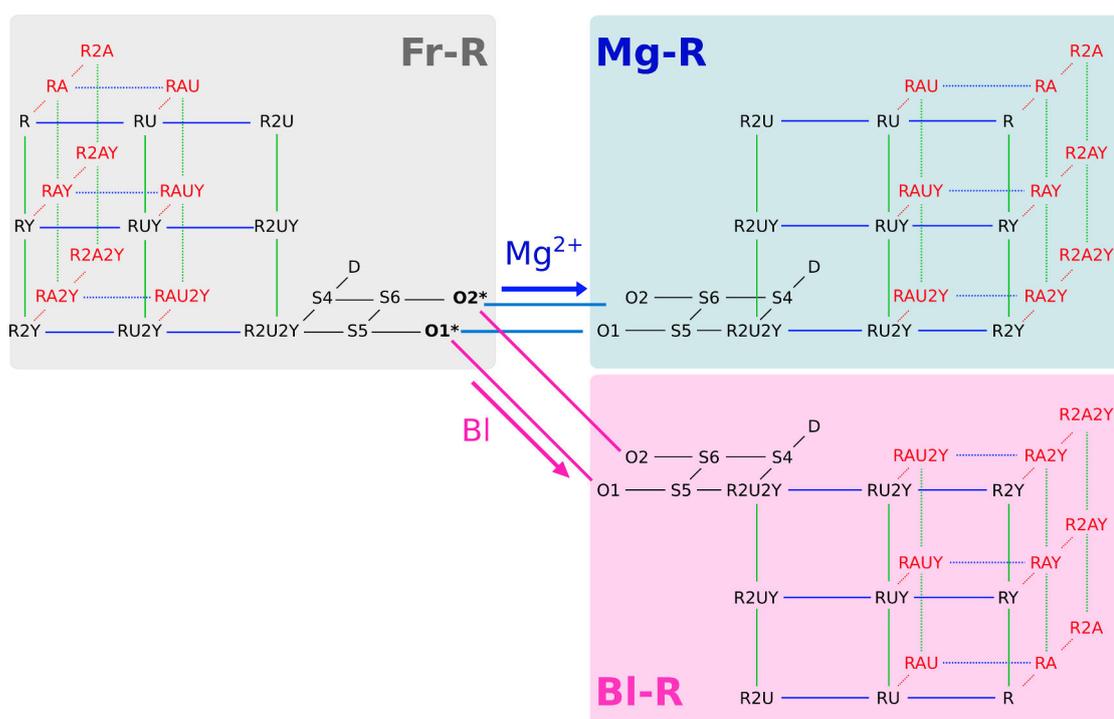
Les cinétiques de blocage par  $Mg^{2+}$  (équations 3.1 et 3.2) et les bloqueurs organiques (équation 3.3) ont été adaptées d'un modèle publié (Kotermanski *et al.*, 2009; Kotermanski et Johnson, 2009), pour reproduire les dose-réponses (DR) de la mémantine et de la kétamine, ainsi que la courbe I/V (courant/voltage) du NMDAr (Nikolaev *et al.*, 2012) (Figure 3.4B). En particulier, la compétition entre le  $Mg^{2+}$  et des bloqueurs organiques provoque un décalage de leurs DR de plus d'un ordre de grandeur, lequel a pu être reproduit par le modèle (Figure 3.4C).

$$k_{on}^{Mg} = 0,59.e \frac{-(V_m + 27,8)}{36,2} + 0,16.e \frac{-(V_m + 16,1)}{13,24} \quad (3.1)$$

$$k_{off}^{Mg} = 23,9.e \frac{V_m + 27,23}{35,9} \quad (3.2)$$

$$k_{on}^{Bl} = \frac{1,5.k_{off}^{Bl}}{V_m + 66,0} \quad (3.3)$$

$$IC_{50}^{Bl}.e \quad 31,6$$



**Figure 3.3** – Modèle cinétique du récepteur NMDA (NR1/NR2A). Le modèle est composé de 3 blocs aux structures similaires, correspondant à l'intervention d'un bloqueur de canal (Fr-R : états sans bloqueur, Mg-R : états bloqués par le  $Mg^{2+}$ , BI-R : états bloqués par un bloqueur organique BI, e.g. kétamine ou mémantine). Dans chaque bloc, l'état R correspond au récepteur libre, RiU correspond aux états liés à l'agoniste (e.g. glutamate ou NMDA, 2 sites, transitions bleues), RjY aux états liés au coagoniste (e.g. glycine, 2 sites, transitions vertes) et RiUjY aux états combinés. Les liaisons avec les antagonistes compétitifs sont noté RkA (e.g. AP5 ou CGP-40116, transitions rouges). Les états S4,5,6, D et O1,2 correspondent à des états intermédiaires, désensibilisés et ouverts (resp.) nécessaires à la cinétique propre du récepteur, et seuls les états O1,2\* sont conducteurs.

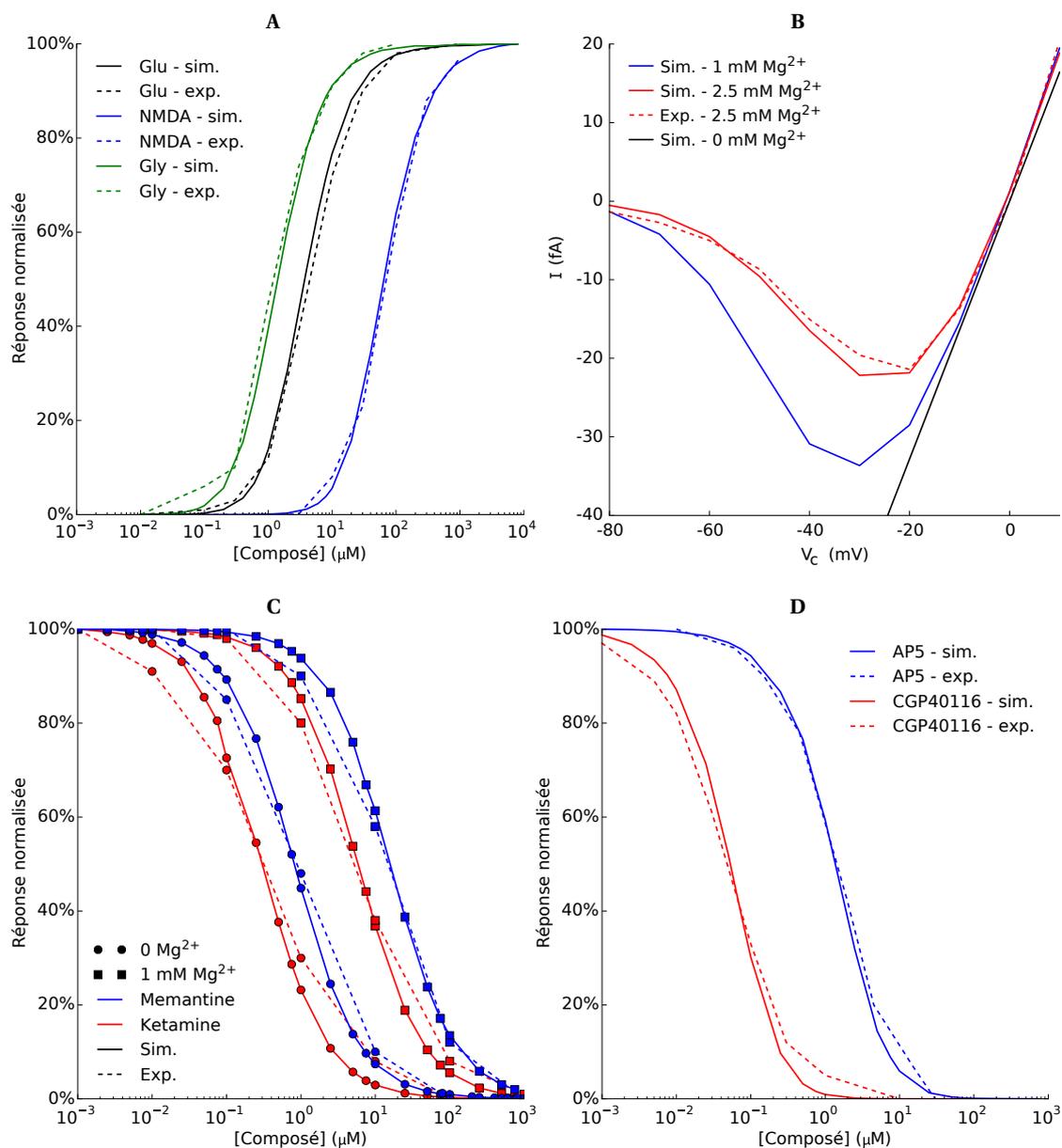
### Chapitre 3. Modèles à l'échelle synaptique et subcellulaire

---

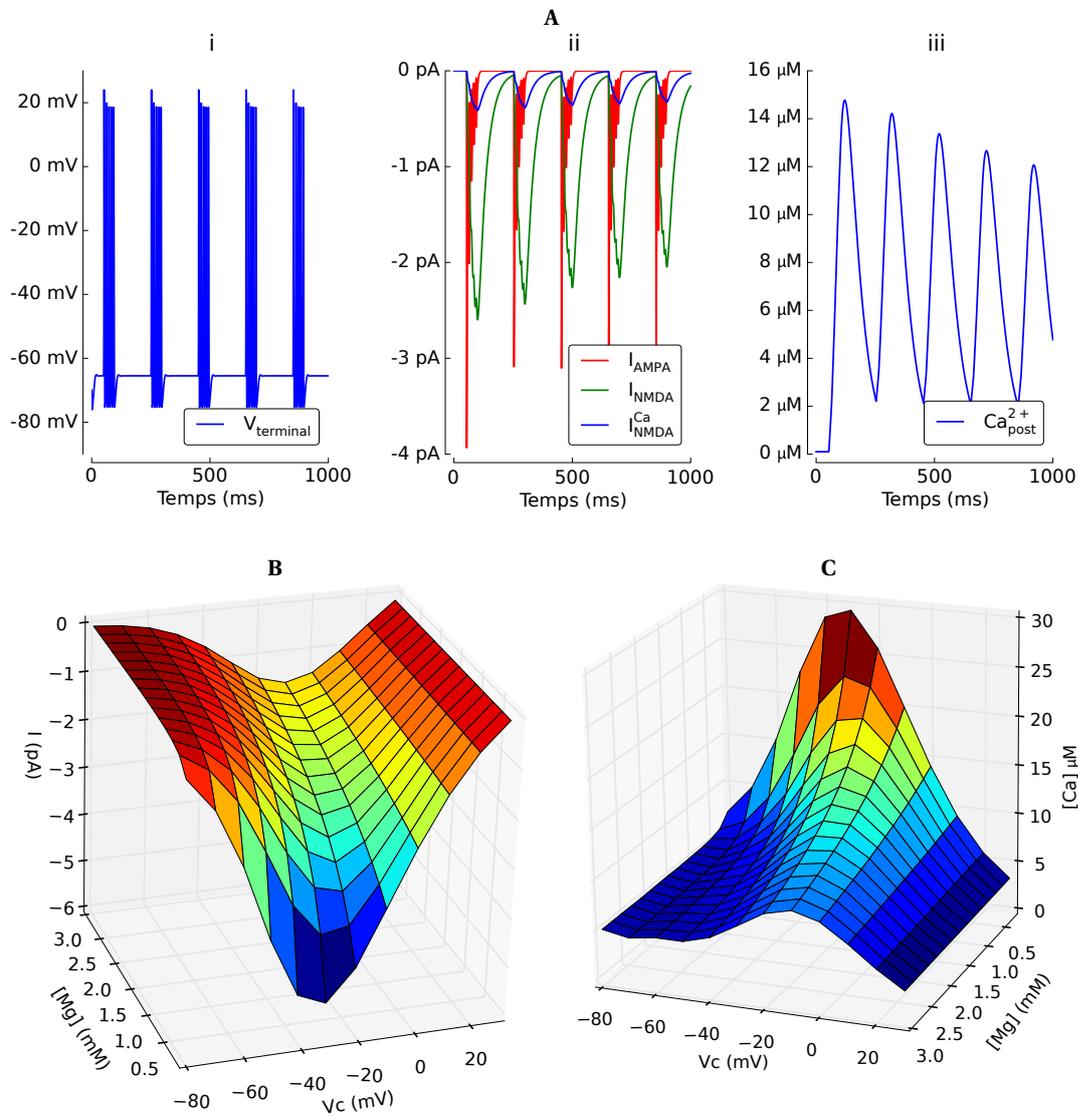
Enfin, l'action d'antagonistes compétitifs, en particulier les composés AP5 et CGP-40116, a été simulée. Benveniste et Mayer (1991) ont étudié les cinétiques et les DR des antagonistes AP5 et CGP-37849, un racémique du CGP-40116. Par ajustement des paramètres, les réponses à ces deux composés ont pu être reproduites. Finalement, la DR du CGP-40116 a pu être validée en regard des résultats de D'Hooge *et al.* (1997), étudiant spécifiquement cet énantiomère (Figure 3.4D).

Le modèle de NMDAr a ensuite été intégré dans un modèle de synapse glutamatergique, incluant les compartiments pré- et postsynaptiques décrits dans les sections précédentes. Dans un test élémentaire (Figure 3.5), la probabilité d'exocytose du mécanisme présynaptique est réglée à 1, et un mécanisme simple d'extrusion du calcium a été intégré à l'épine. Le cou de l'épine est ôté, et la conductance de la section connectée est arbitrairement élevée pour simuler les conditions d'une expérience en *voltage-clamp*, et être en mesure d'observer des CPSE et les flux de  $\text{Ca}^{2+}$  sans biais. Le terminal présynaptique est excité par des trains à 5 Hz, de 5 PA à 100 Hz chacun (stimulation par trains thêta ou *Thêta-Burst Stimulation* (TBS), Figure 3.5A). Dans cette configuration, une série d'expérimentations a été effectuée, en variant le potentiel de commande ( $V_c$ ) et la concentration extracellulaire de  $\text{Mg}^{2+}$ . Le balayage de ces deux paramètres révèle l'influence de la levée du blocage magnésium sur l'amplitude du courant et de la vague calcique générée par le NMDAr (Figure 3.5B). En particulier, on observe que les courants et les flux calciques restent entrants (dépolarisants) pour toutes les valeurs de  $V_c$ , car le potentiel de réversion ( $E_{\text{rev}}$ ) de ce canal est élevé dans les conditions physiologiques et de l'expérimentation ( $[\text{Ca}^{2+}]_i = 100 \text{ nM}$ ,  $[\text{Ca}^{2+}]_o = 2 \text{ mM}$ ,  $[\text{Na}^+]_i = 10 \text{ mM}$ ,  $[\text{Na}^+]_o = 140 \text{ mM}$ ).

### 3.3. Modulation pharmacologique du récepteur NMDA



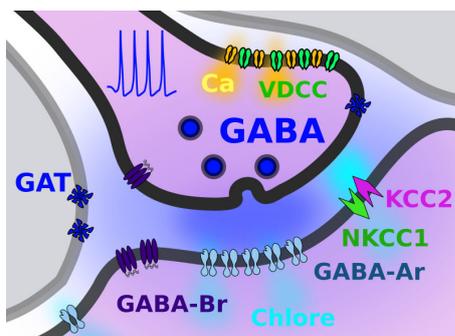
**Figure 3.4** – Validations du modèle de NMDAr. **A** - Le récepteur unique est soumis à une impulsion de composé (1 s), et le courant maximum est enregistré pour chaque concentration. Les DR au Glu (noir) et au NMDA (bleu) sont simulées avec une concentration constante de 30  $\mu\text{M}$  de Gly, et la DR à la Gly (vert) est établie avec 100  $\mu\text{M}$  de Glu (potentiel de commande ( $V_c$ ) = -40 mV,  $[\text{Mg}^{2+}]_o = 0$  mM). Ces résultats simulés sont validés par rapport aux expériences de Hedegaard *et al.* (2011). **B** - La courbe I/V donne l'amplitude du courant conduit I en fonction de  $V_c$ , et reproduit les résultats de Nikolaev *et al.* (2012) pour différentes concentrations de  $\text{Mg}^{2+}$  ( $[\text{Glu}] = 1$  mM,  $[\text{Gly}] = 100$   $\mu\text{M}$ ). **C** - DR des bloqueurs kétamine et mémantine, en compétition avec le  $\text{Mg}^{2+}$ . Les  $\text{IC}_{50}$  de 0,8 et 15,8  $\mu\text{M}$  pour la mémantine, et de 0,3 et 5,9  $\mu\text{M}$  pour la kétamine, avec 0 et 1 mM de  $\text{Mg}^{2+}$  (resp.) sont conformes aux résultats de Kotermanski *et al.* (2009).  $V_c = -66$  mV,  $[\text{Mg}^{2+}]_o = 0$  mM,  $[\text{Glu}] = 1$  mM,  $[\text{Gly}] = 100$   $\mu\text{M}$ . **D** - DR des antagonistes AP5, et CGP-40116. Les DR de l'AP5 ( $\text{IC}_{50} = 1,5$   $\mu\text{M}$ ) et du CGP-40116 ( $\text{IC}_{50} = 54$  nM) sont conformes aux résultats de Benveniste et Mayer (1991) et D'Hooge *et al.* (1997), resp..  $V_c = -60$  mV,  $[\text{Mg}^{2+}]_o = 0$  mM,  $[\text{NMDA}] = 10$   $\mu\text{M}$ ,  $[\text{Gly}] = 3$   $\mu\text{M}$ .



**Figure 3.5** – Intégration du modèle de NMDAR dans une synapse. **A** - Le terminal présynaptique est stimulé par des trains de PA à 100 Hz délivrés à 5 Hz (i). Les CPSE sont conduits par les AMPAR ( $N = 80$ ) et les NMDAR ( $N = 20$ ) insérés dans le compartiment postsynaptique (ii), et les courants calciques, principalement conduits par les NMDAR induisent des vagues de  $Ca^{2+}$  dans l'épine (iii).  $V_c = 0$  mV,  $[Mg^{2+}]_o = 0$  mM. **B,C** - Le balayage du potentiel de commande ( $V_c$ ) et de la concentration extracellulaire de magnésium  $[Mg^{2+}]_o$  révèle la dépendance entre le courant NMDA et le bloc magnésium (B), ainsi que son influence sur la dynamique calcique postsynaptique (C) dans ce protocole.

### 3.4 Compartiment postsynaptique GABAergique

Comme évoqué dans le chapitre 1, l'activité de l'hippocampe repose sur un équilibre entre la transmission excitatrice glutamatergique et la transmission inhibitrice GABAergique, conduite principalement par des interneurons (IN). Nous avons développé un modèle de synapse GABAergique en se basant sur les méthodes décrites précédemment. Les structures des modèles de terminal présynaptique et de diffusion de NT sont identiques à celles du terminal glutamatergique, avec des paramètres (contenu quantal des vésicules, probabilité d'exocytose, coefficient de diffusion, cinétique de recapture, etc.) et des modulateurs présynaptiques différents, spécifiques à chaque projection. Le compartiment postsynaptique GABAergique ne forme pas d'épine, et les récepteurs sont exprimés directement sur la membrane postsynaptique. Des modèles des récepteurs GABA<sub>A</sub> (GABA<sub>A</sub>R) ionotropes et des récepteurs GABA<sub>B</sub> (GABA<sub>B</sub>R) métabotropes ont été développés par l'équipe de Rhenovia Pharma. Bien que présents dans les terminaux présynaptiques d'IN hippocampiques (cf. sous-section 1.7.3), et qu'ils semblent impliqués dans les réponses inhibitrices lentes de certaines projections, l'effet des GABA<sub>B</sub>R n'a pas été spécifiquement étudié dans les applications développées ici.



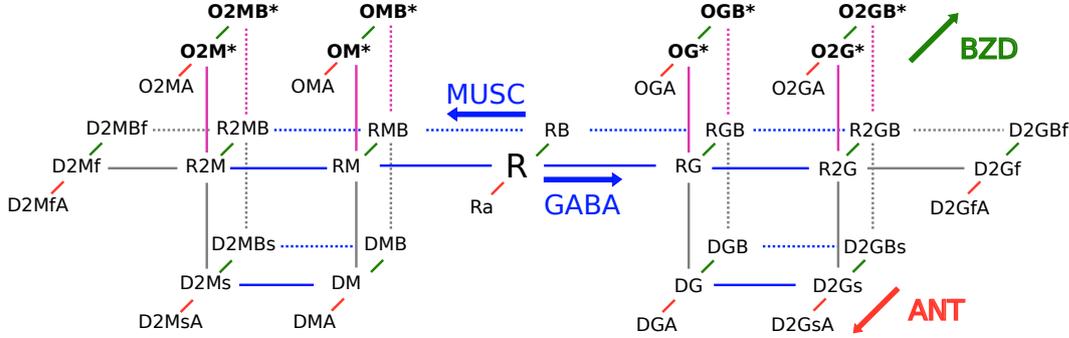
**Figure 3.6** – Illustration du modèle de synapse GABAergique, contenant un terminal présynaptique, les récepteurs insérés sur la membrane postsynaptique, ainsi que les co-transporteurs cation-chlorure (CCC) NKCC1 et KCC2 impliqués dans le maintien de l'homéostasie du chlore.

En conditions normales, l'ouverture des GABA<sub>A</sub>R inhibe la cellule postsynaptique en conduisant un courant hyperpolarisant composé d'ions chlorure (Cl<sup>-</sup>) et bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), avec une perméabilité relative de 4 : 1, pour une conductance élémentaire maximale de 25 pS. Les GABA<sub>A</sub>R de l'hippocampe possèdent deux sites orthostériques, se liant à des agonistes ou des antagonistes, et un site allostérique situé à la jonction des sous-unités  $\alpha_1$  et  $\gamma_2$ , permettant la liaison avec les benzodiazépines et exerçant une action modulatrice (Figure 1.10).

Un KM du GABA<sub>A</sub>R a été développé sur la base de Pugh et Raman (2005). Ces résultats mettent en évidence une désensibilisation biexponentielle, nécessitant l'ajout d'états désensibilisés aux cinétiques différentes ( $DX_{f/s}$  dans la Figure 3.7) ; et le modèle permet d'en reproduire les principales propriétés cinétiques et de réponse à l'agoniste GABA (Figure B.2). Sur cette base, et sans entrer dans les détails du processus de validation, similaire à celui de NMDAR, j'ai enrichi le modèle des états permettant de simuler différentes interactions pharmacologiques. Ainsi l'action d'antagonistes, compétitifs (e.g. gabazine, bicuculline) ou non compétitifs (e.g.

### Chapitre 3. Modèles à l'échelle synaptique et subcellulaire

microtoxine), les effets de modulation allostérique par les benzodiazépines (e.g. diazépam, midazolam), et l'action d'agonistes compétitifs (e.g. muscimol) ont été intégrés au modèle (Figure 3.7).



**Figure 3.7** – Modèle cinétique à 41 états du GABA<sub>A</sub>R. Le récepteur dans son état libre R peut se lier au GABA (états notés RiG, transitions bleues vers la droite), à un agoniste compétitif (e.g. muscimol MUSC, états notés RiM, transitions bleues vers la gauche), ou à un antagoniste compétitif (e.g. bicuculine, Ra). Associé à un agoniste, le récepteur peut s'ouvrir et conduire un courant (états OX\*, transitions roses), ou se désensibiliser (états DX, transitions grises). Depuis tous les états principaux (plan milieu), le récepteur peut lier une benzodiazépine par son site allostérique (BZD, états notés XB en arrière-plan, transitions vertes), et les antagonistes non compétitifs (e.g. gabazine) ou les bloqueurs du pore central (e.g. picrotoxine) se lient préférentiellement aux états désensibilisés et/ou ouverts (premier plan, états notés XA, transitions rouges).

Pour les applications relatives aux altérations de la fonction GABAergique, j'ai développé un modèle des mécanismes régulant l'équilibre du chlore dans la cellule. Il s'agit des modèles de co-transporteurs cation-chlorure (CCC) NKCC1 et KCC2 (cf. sous-section 1.7.3, équations 3.4 et 3.5), et d'accumulation/diffusion de Cl<sup>-</sup> dans les sections de neurites (équation 3.6), adaptés de Doyon *et al.* (2011), et utilisant les résultats de Staley et Proctor (1999); Jedlicka *et al.* (2011); Lewin *et al.* (2012) sur des neurones hippocampiques.

$$I_{Cl,KCC2} = \frac{I_{Cl,KCC2}^{\max} \cdot (E_K - E_{Cl})}{(E_K - E_{Cl}) + V_{\text{half},KCC2}}, \quad (3.4)$$

$$I_{Cl,NKCC1} = \frac{I_{Cl,NKCC1}^{\max} \cdot (E_{NKCC1} - E_{Cl})}{(E_{NKCC1} - E_{Cl}) + V_{\text{half},NKCC1}}, \quad E_{NKCC1} = \frac{E_K + E_{Na}}{2}, \quad (3.5)$$

où  $I_{Cl,KCC2}^{\max} = I_{Cl,NKCC1}^{\max} = 0,3 \text{ mA} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,  $V_{\text{half},KCC2} = 40 \text{ mV}$ ,  $V_{\text{half},NKCC1} = 50 \text{ mV}$ ,  $[Cl^-]_i = 6 \text{ mM}$ ,  $[Cl^-]_o = 120 \text{ mM}$ ,  $[K^+]_i = 110 \text{ mM}$ ,  $[K^+]_o = 5 \text{ mM}$ ,  $[Na^+]_i = 12 \text{ mM}$  et  $[Na^+]_o = 80 \text{ mM}$ .

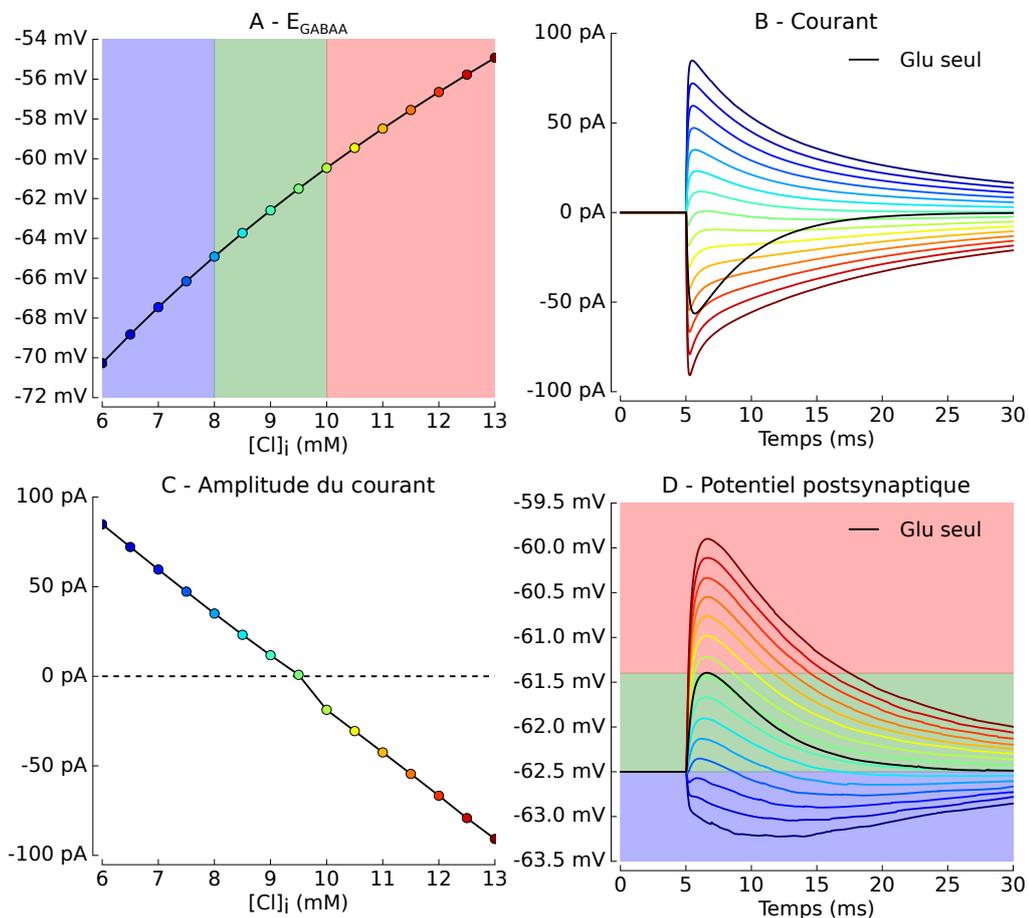
La concentration de chlore dans une section cylindrique d'axe longitudinal ( $y$ ) est donnée par la somme des courants membranaires et d'un terme de diffusion :

$$\text{Vol.} \frac{\partial([Cl^-]_i)}{\partial t} = \frac{S_m}{z_{Cl^-} \cdot F} \cdot \sum I_{Cl^-} + D_{Cl^-} \cdot S_c \cdot \frac{\partial^2([Cl^-]_i)}{\partial y^2}, \quad (3.6)$$

où Vol,  $S_m$  et  $S_c$  sont respectivement le volume, la surface membranaire et la surface de coupe de la section,  $z_{Cl^-}$  la valence de l'ion chlorure et  $F$  la constante de Faraday.

### 3.4. Compartiment postsynaptique GABAergique

Dans un test élémentaire (Figure 3.8), on maintient  $[Cl^-]_i$  à une valeur fixe, on excite simultanément une synapse excitatrice et une synapse inhibitrice, placées sur la dendrite apicale principale d'un modèle de neurone pyramidal de CA1, et on fait varier  $[Cl^-]_i$  entre 6 et 13 mM. Ce test révèle l'existence de trois zones, correspondant à différents modes d'action de  $GABA_{AR}$ . Le courant est hyperpolarisant en dessous de 8 mM (zones bleues), et il dépolarise la membrane au dessus de 10 mM (zones rouges). Dans une zone intermédiaire, le courant est négatif mais insuffisamment important pour être hyperpolarisant (zones vertes). Il atténue alors l'action de la synapse glutamatergique par effet de *shunt*, en augmentant localement la conductance de membrane. Dans la situation plus réaliste d'un neurone soumis à des afférences excitatrices et inhibitrices multiples, cette inversion est le résultat d'une interaction complexe des activités synaptiques, mettant en jeu la puissance et la localisation des différentes synapses, la synchronisation de leurs stimuli, ainsi que l'état passé et instantané d'excitation de la cellule. Une étude de ces effets appliqués aux crises épileptiques est proposée dans le chapitre 6.



**Figure 3.8** – Inversion du courant  $GABA_{AR}$ . L'accroissement de  $[Cl^-]_i$  entre 6 et 13 mM (du bleu au rouge), provoque une élévation du potentiel de réversion du  $GABA_{AR}$  ( $E_{GABAA}$ ) (A). Le déclenchement simultané d'un CPSE et d'un CPSI unitaires sur une section de neurone révèle l'inversion du courant  $GABA_{AR}$  (B,C). Le PPSE, enregistré au soma est rapporté pour les différentes conditions (en noir : stimulus de la synapse glutamatergique seule), révélant une hyperpolarisation, une inhibition par *shunt* puis une dépolarisation de la cellule pour des concentrations intracellulaires de  $Cl^-$  croissantes (D).

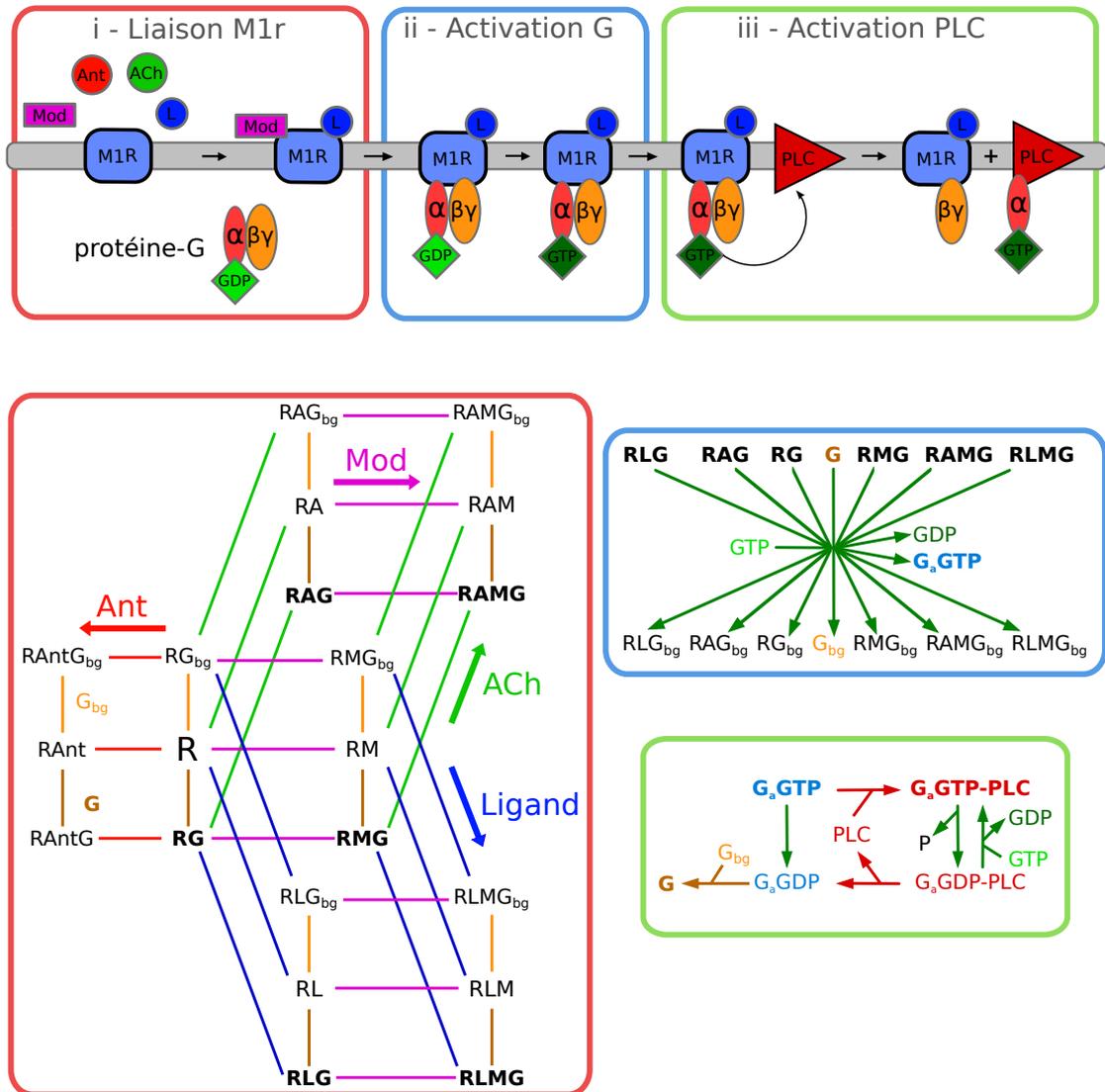
### 3.5 Modèle du récepteur muscarinique M1

Comme décrit dans la section 1.8, l'activité des circuits hippocampiques est sous l'influence de l'acétylcholine (ACh), qui agit à la fois comme un NT et un neuromodulateur. L'ACh est libérée des varicosités et des terminaisons axonales cholinergiques, selon un mécanisme d'exocytose comparable aux autres synapses (section 3.1). Cependant lorsqu'on s'intéresse à l'activation à distance des mAChr, et en l'absence d'une modélisation explicite des afférences cholinergiques, on aura souvent recours à un modèle simplifié où la source maintient la concentration d'ACh constante. Dans ce système, l'acétylcholinestérase (AChE) joue un rôle important dans le contrôle de la concentration d'ACh ; et un KM permettant de simuler son action (i.e. dégradation de l'ACh), en intégrant les effets des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChEi) (e.g. donepezil et physostigmine) a été développé par les équipes de Rhenovia Pharma (Figure B.3). Aussi, l'application pharmacologique du chapitre 5 intègre l'action présynaptique du récepteur nicotinique (nAChr)  $\alpha_7$ . Ses caractéristiques principales, dont sa haute perméabilité au calcium, sa désensibilisation rapide, et l'aspect de « courbe en cloche » de sa DR, ont été reproduites par un KM adapté des résultats de Papke *et al.* (2000) (Figure B.4).

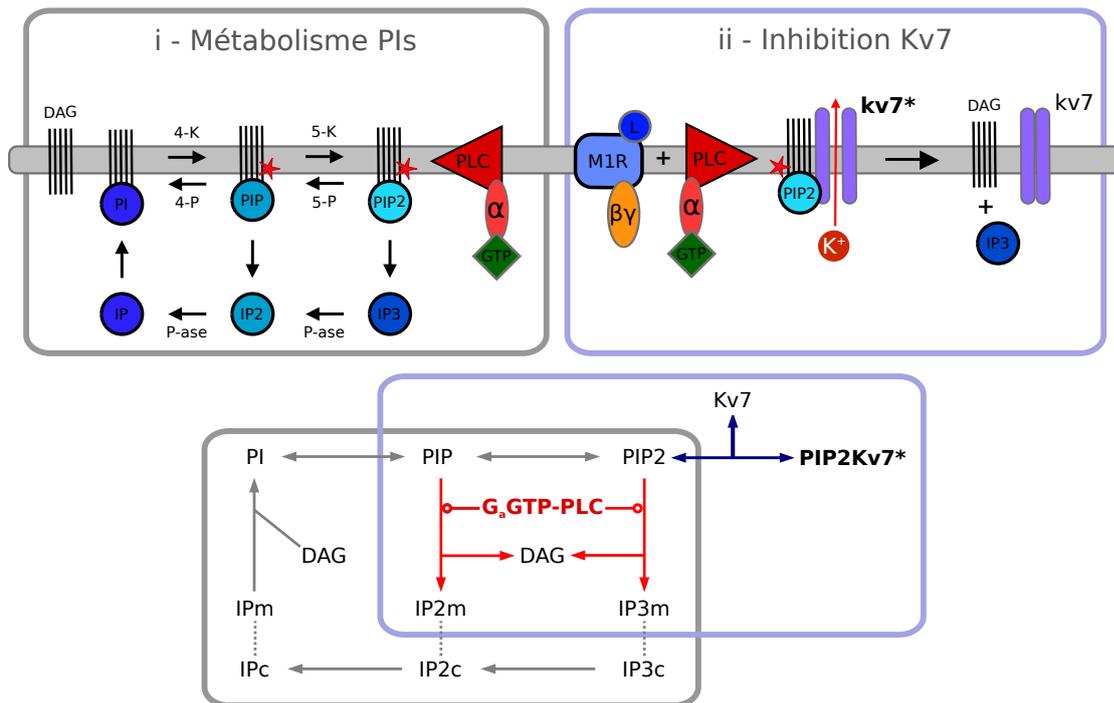
La modulation cholinergique fait intervenir les mAChr, qui sont des RCPG à haute affinité pour l'ACh. En particulier, le M1r est abondamment exprimé sur le soma et les dendrites des neurones pyramidaux de CA1. Cette abondance, qui contraste avec la plus faible densité des varicosités cholinergiques, laisse penser que les M1r sont localisés dans l'hippocampe pour détecter de faibles concentrations ambiantes d'ACh et moduler globalement les propriétés intégratives et l'excitabilité de leurs neurones-hôtes (Yamasaki *et al.*, 2010). Le M1r a deux sites de liaison principaux, le premier interagissant avec un ligand (e.g. ACh, CCh, oxotrémorine-M (Oxo-M)) sur la face extracellulaire de la membrane, et le second interagissant avec une protéine-Gq<sub>11</sub> sur la face intracellulaire (Caulfield et Birdsall, 1998; Wess *et al.*, 1996). L'activation par un agoniste induit un changement de conformation de la protéine, augmentant son affinité pour la protéine-G qui s'y lie à son tour (Figure 3.9). La protéine-G est un complexe hétérotrimérique formé des sous-unités  $\alpha_q$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ , lié à une guanosine diphosphate (GDP). La liaison de ce complexe GDP-G $_{\alpha_q\beta\gamma}$  avec le récepteur provoque la substitution du GDP en GTP, et la dissociation du trimère en sous-unité G $_{\alpha}$ -GTP et en dimère G $_{\beta\gamma}$ , qui activent en aval différents effecteurs intracellulaires.

En particulier, G $_{\alpha}$ -GTP se lie à la PLC pour former un complexe actif, capable d'hydrolyser la phosphoinositide membranaire phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP2) en IP3 et en DAG (Figure 3.10). L'IP3 cytosolique provoque la libération intracellulaire de Ca<sup>2+</sup> du reticulum endoplasmique (RE) via les IP3r, et le DAG membranaire active la PKC (Wess *et al.*, 1996). Le PIP2 est impliqué directement (par interaction avec des protéines et enzymes membranaires et cytosoliques) et indirectement (via ses métabolites e.g. PI(3,4,5)P3, IP3, DAG, acide arachidonique) dans le contrôle de nombreux processus cellulaires. Il exerce en effet des actions sur la signalisation des récepteurs, l'homéostasie calcique et la fonction de canaux ioniques (Suh et Hille, 2002; Di Paolo et De Camilli, 2006; van den Bout et Divecha, 2009; Mao et Yin, 2007) (Figure B.5). Plus précisément le courant neuronal potassique, appelé courant-M

### 3.5. Modèle du récepteur muscarinique M1



**Figure 3.9** – Processus d'activation et KM du M1r. Le KM est constitué de 3 blocs, correspondant aux étapes d'activation du récepteur : i - Liaison d'un ligand (cadres rouges), ii - activation d'une protéine-G (cadres bleus), et iii - activation de la PLC (cadres verts). i - Le récepteur libre (état R) peut se lier de manière compétitive à l'ACh (transitions vertes vers l'arrière-plan), à un ligand L (e.g. Oxo-M, transitions bleues vers le premier plan) ou à un antagoniste (Ant, e.g. atropine, transitions rouges vers la gauche), et en parallèle, de manière non compétitive à un ligand allostérique (Mod, e.g. *Benzyl Quinolone Carboxylic Acid* (BQCA), transitions roses vers la droite). Dans chacun des états de liaison des sites externes (RA,M,L,Ant), le récepteur peut aussi se lier à une protéine-G, dans sa forme trimérique (G, transitions brunes vers le bas) ou dimérique (G<sub>bg</sub>, transitions oranges vers le haut). ii - Dans les états actifs du récepteur (notés en gras), la protéine-G s'active par un échange de nucléotides pour former G<sub>α</sub>-GTP. iii - La protéine-G activée G<sub>α</sub>-GTP se lie à la PLC pour former le complexe G<sub>α</sub>-GTP-PLC, qui peut ensuite se désactiver et reformer la protéine-G trimérique.



**Figure 3.10** – Interaction de la PLC avec le métabolisme des PIs et le Kv7. i - Le métabolisme des PIs est régulé par différentes enzymes (PI 4/5-K/P) et autres phosphatases (P-ase) cytosoliques, et celui-ci est perturbé par l'hydrolyse de PIP et PIP2 par la PLC activée (étoile rouge), qui réduit leur densité membranaire. Dans le KM, les densités membranares sont converties en concentrations cytosoliques pour les espèces non liées à un domaine transmembranaire (IP, IP2, IP3, transitions grises pointillées). ii - L'activation de M1r active la PLC qui, en hydrolysant le PIP2 qui maintient ouvert le canal Kv7, provoque sa fermeture.

( $I_M$ ), est conduit par les canaux KCNQ2/KCNQ3 (Kv7.2/Kv7.3) (Brown et Adams, 1980) et est lié à la présence de PIP2. Il a été montré que les canaux KCNQ2/KCNQ3 étaient maintenus ouverts par PIP2, et que l'activation des M1r avait pour conséquence une inhibition du  $I_M$  (Suh et Hille, 2002; Suh *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2003; Winks *et al.*, 2005; Jensen *et al.*, 2009), via l'hydrolyse de PIP2 par la PLC active (Horowitz *et al.*, 2005; Selyanko *et al.*, 2000; Shapiro *et al.*, 2000). Aussi, la restauration du  $I_M$  après l'activation de M1r est dépendante de la reconstitution de PIP2, impliquant une phosphatidylinositol 4-kinase (PI4K), phosphorylant le phosphatidylinositol (PI) pour produire le phosphatidylinositol 4-phosphate (PIP), et une phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase (PI5K) phosphorylant PIP pour produire PIP2 (Suh et Hille, 2002; Zhang *et al.*, 2003). Des perturbations dans le métabolisme des phosphoinositides (PIs) ont été corrélées à bien des pathologies psychiatriques et neurologiques telles que le retard mental (Attree *et al.*, 1992; Schurman et Scheinman, 2009; Voronov *et al.*, 2008), les troubles bipolaires et la schizophrénie (Saito *et al.*, 2003; Soares *et al.*, 2001; Stopkova *et al.*, 2003), et la maladie d'Alzheimer (Berman *et al.*, 2008; Landman *et al.*, 2006).

Les voies de signalisation de M1r ont un impact majeur sur les fonctions hippocampiques (cf. section 1.8), et un déterminant important de l'augmentation de l'excitabilité neuronale

réside dans le  $I_M$ , généré par des canaux potassiques formés des hétéromères KCNQ2/KCNQ3 (Kv7.2/7.3). L'importance du  $I_M$  s'illustre par le fait qu'une diminution de 25 % de son amplitude conduit à l'épilepsie néonatale chez l'humain (Biervert *et al.*, 1998; Charlier *et al.*, 1998; Singh *et al.*, 1998) et que l'inhibition du gène KCNQ2 est létale chez la souris (Jentsch, 2000). La modulation du  $I_M$  influence l'excitabilité neuronale car il s'active dans la plage de potentiels correspondant à l'initiation des PA, et ses cinétiques d'activation et d'inactivation lentes lui permettent d'agir comme un « frein » à des décharges répétées (Jentsch, 2000; Shah *et al.*, 2008). De plus, les canaux KCNQ2/3 sont maintenus dans le SIA et les noeuds de Ranvier par l'ankyrine-G et colocalisés avec les Nav des neurones principaux (Delmas et Brown, 2005; Jentsch, 2000; Wang *et al.*, 1998; Shah *et al.*, 2002; Pan *et al.*, 2006; Rasmussen *et al.*, 2007; Shah *et al.*, 2008). De manière importante, des inhibiteurs de  $I_M$  comme la linopiridine ou le XE991 seraient épileptogènes, alors que la rétigabine, à l'inverse, module les canaux KCNQ2/3 en décalant leur potentiel d'activation vers des valeurs plus faibles et est utilisée comme anticonvulsivant, suggérant que le  $I_M$  pourrait être une cible pharmacologique appropriée dans le traitement des épilepsies. Aussi, l'effet des composés cholinergiques utilisés contre les symptômes de la maladie d'Alzheimer (e.g. pirenzépine, donepezil) pourrait être en partie induit par la modulation muscarinique négative du  $I_M$  que nous venons de décrire.

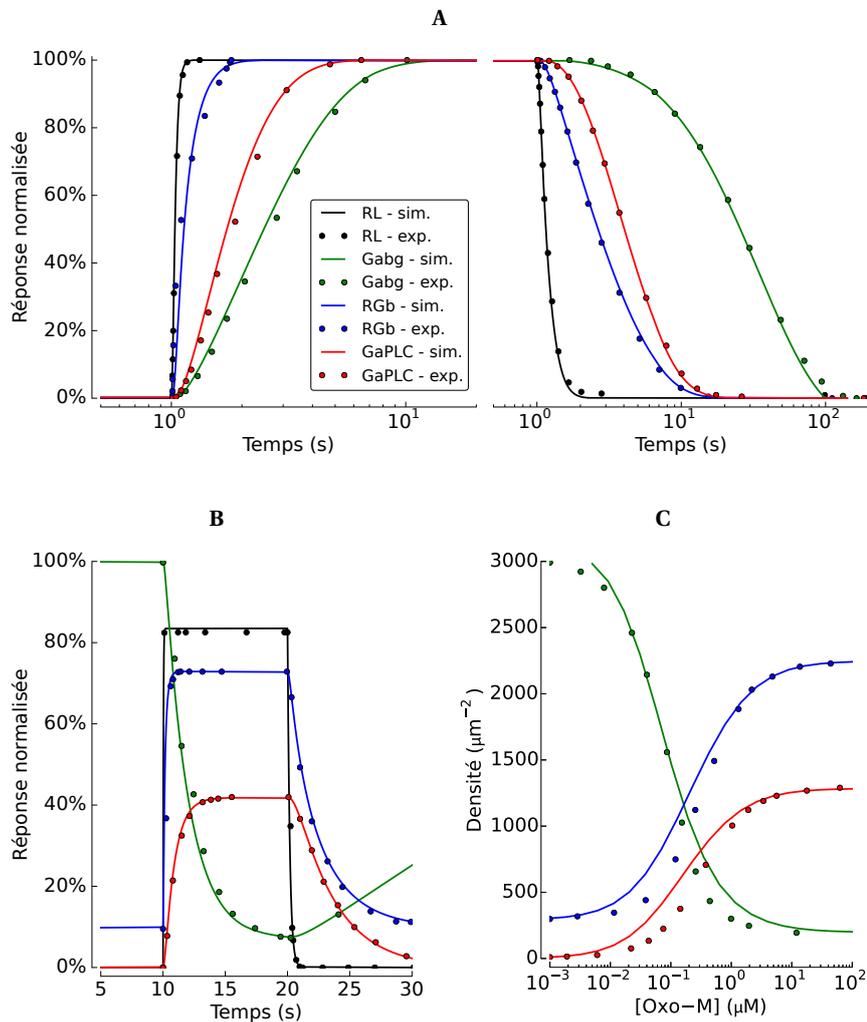
J'ai développé les KM de ces processus sur la base des études de Falkenburger *et al.* (2010b,a) (Figures 3.9, 3.10), qui ont mesuré les différentes espèces de la voie de signalisation de M1r par fluorescence. En effectuant des mesures par *Förster Resonance Energy Transfer* (FRET) sur des cultures cellulaires (tsA201) transfectées avec l'acide désoxyribonucléique (ADN) de M1r marqués par des sondes fluorescentes, et en utilisant des enzymes sensibles au voltage (*Voltage-Sensitive Phosphatase* (VSP)), ils ont pu quantifier les densités et les cinétiques des interactions donnant lieu à l'activation de M1r par un ligand, à sa liaison avec la protéine-Gq, à la séparation de Gq en  $G_{\alpha_q}$  et  $G_{\beta\gamma}$ , à la liaison de  $G_{\alpha_q}$  avec la PLC, et à l'hydrolyse de PIP2 (Jensen *et al.*, 2009). Ils ont en outre dérivé un KM de ces mesures, qu'ils ont validé pour reproduire les résultats des conditions expérimentales (protéines surexprimées pour la mesure FRET) et les conditions physiologiques (expression endogène des protéines) (Falkenburger *et al.*, 2010a), et pour décrire la modulation du  $I_M$  par PIP2 dans ces cellules (Falkenburger *et al.*, 2010b).

Les validations élémentaires de ces modèles ont permis de reproduire l'ensemble des résultats publiés, dans les conditions surexprimées (Figure 3.11) et endogènes (Figure B.6), c'est à dire :

- les cinétiques d'activation et de désactivation des différentes protéines après l'application d'une concentration saturante d'Oxo-M ( $10 \mu\text{M}$ ) (Figures 3.11A et B.6A),
- les quantités absolues des différentes espèces (Figures 3.11B et B.6B),
- les DR à l'Oxo-M (Figures 3.11C et B.6C).

Ensuite, le modèle de la cinétique d'hydrolyse et de reconstitution de PIP2 a été validé en reproduisant les différentes expériences utilisant la VSP, une enzyme dont l'activation par dépolarisation de la membrane permet d'induire un épuisement rapide et intense de la densité de PIP2 (Figure B.7). Enfin, le modèle de  $I_M$  proposé par ces auteurs a été adjoint au modèle de M1r et du cycle des PIs afin d'obtenir la validation globale des effets de cette voie

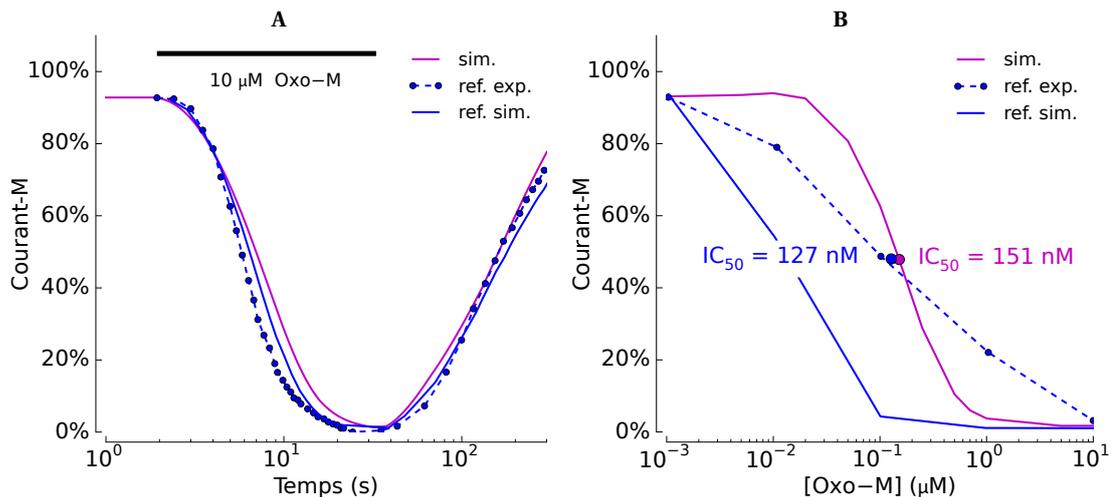
de signalisation. À ce stade, j'ai dû compléter le modèle initial pour convertir les densités membranaires des espèces ne comportant pas de domaine transmembranaire (IP3, IP2, IP) en concentrations cytosoliques, et de boucler le cycle des PIs, en ajoutant leurs étapes de dégradation (Figure 3.10). Ces modifications étaient nécessaires pour obtenir un état d'équilibre stable, puisque la PLC possède une activité basale, produisant de l'IP3 sans activation muscarinique ( $\approx 160$  nM), et pour éviter l'attrition des espèces (e.g. PI) lors de stimulations répétées. La validation finale de la voie de signalisation complète a été obtenue en reproduisant les cinétiques d'inhibition et de restauration du  $I_M$  suite à l'application de  $10 \mu\text{M}$  d'Oxo-M (Figure 3.12A), ainsi que la DR de cette inhibition (Figure 3.12B). Les modifications apportées



**Figure 3.11** – Validation du modèle de M1r dans les conditions de surexpression des protéines. Les différentes observables sont la densité de récepteurs couplés au ligand Oxo-M (RL, noir), de protéine-G trimérique (Gabg, vert), de récepteur lié à  $G_{\beta\gamma}$  (RGb, bleu), et de PLC activée (GaPLC, rouge). L'application simulée de  $10 \mu\text{M}$  d'Oxo-M permet de reproduire numériquement les cinétiques d'activation et de désactivation (A), les quantités (B), ainsi que les DR (C) des différentes espèces issues des résultats de Falkenburger *et al.* (2010a).

### 3.5. Modèle du récepteur muscarinique M1

au modèle ont permis en outre de mieux approcher les valeurs expérimentales, notamment grâce au bouclage du cycle des PIs. Pour autant, un raffinement supplémentaire pourra être apporté au modèle, en intégrant les différentes modulations impliquées dans le cycle des PIs. En particulier, la dépendance au calcium de l'activité des kinases devrait être incluse, en tirant parti des résultats de Purvis *et al.* (2008).



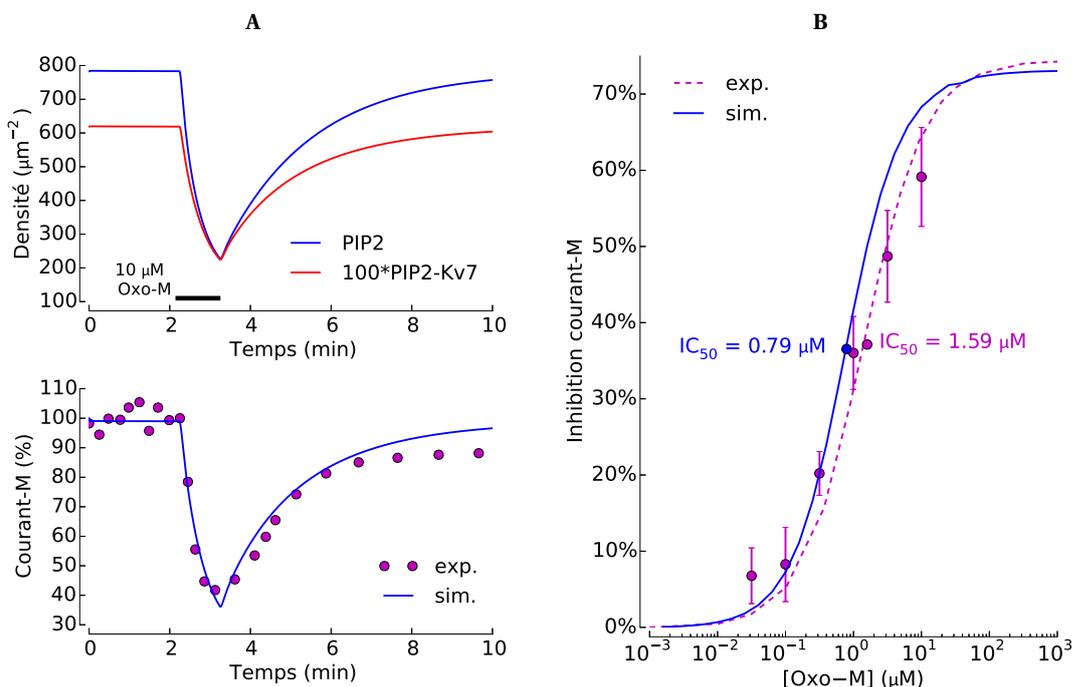
**Figure 3.12** – Validation du modèle de courant-M ( $I_M$ ) activé par M1r. **A** - Inhibition et restauration du  $I_M$  suite à l'application de  $10 \mu\text{M}$  d'Oxo-M. Les résultats simulés reproduisent ceux de Falkenburger *et al.* (2010b). **B** - DR de l'inhibition du  $I_M$  par l'Oxo-M. Les modifications du modèle permettent d'obtenir une  $IC_{50}$  de 151 nM, plus proche des résultats expérimentaux de Falkenburger *et al.* (2010b) ( $IC_{50} = 127 \text{ nM}$ ).

L'expression des protéines dans les cellules transfectées, même dans les conditions endogènes de Falkenburger *et al.* (2010b,a), peut différer de la situation neuronale. Ainsi, lors de l'intégration du modèle M1r dans le neurone pyramidal de CA1, certains paramètres tels que les densités de récepteurs, de protéine-G et de PLC, et des PIs ont été ajustés pour reproduire les résultats de Winks *et al.* (2005), produits à partir de neurones ganglionnaires de rats. Ces résultats montrent en particulier que l'inhibition du  $I_M$  dans ces neurones n'est pas totale suite à l'activation de M1r; et l'ajustement des paramètres, notamment de la densité de M1r ( $\sim 1 \mu\text{m}^{-2}$ , (Yamasaki *et al.*, 2010)), a permis de reproduire la dynamique et la DR de cette interaction (Figure 3.13). Encore, le modèle de courant proposé dans Falkenburger *et al.* (2010b) repose sur une dépendance quadratique entre la densité des canaux liés au PIP2 et le courant Kv7.2/3. Bien qu'il puisse suffire à la description de la situation des cellules utilisées dans l'étude originale, l'absence d'une dépendance au potentiel de membrane et de cinétiques d'activation/désactivation le rend inadéquat dans le cadre d'un modèle de l'électrophysiologie neuronale. L'article de Shah *et al.* (2008) a mis en évidence l'influence fonctionnelle du  $I_M$  sur l'activité de neurones hippocampiques de CA1 : un modèle plus réaliste, basé sur le formalisme de HH a été utilisé dans nos simulations pour l'étude de l'influence des mAChR sur l'activité hippocampique (chapitre 7).

### Chapitre 3. Modèles à l'échelle synaptique et subcellulaire

Comme évoqué dans la section 1.8, l'activation muscarinique déclenche de multiples cascades biochimiques, pour des effets variés sur l'activité neuronale. Le modèle décrit ici simule un effet majeur, et pourra être complété par la cascade de mobilisation du calcium intracellulaire par l'IP3 (en tirant parti des modèles associés au mGluR, déjà implémentés). Cela permettra d'introduire l'activation des KCa SK et BK modulant l'excitabilité dendritique, et reproduisant les effets biphasiques de l'activation muscarinique, observés par Dasari et Gullidge (2011) dans les neurones hippocampiques. Des cascades et observables supplémentaires pourront aussi être ajoutées, tels que l'activation de la PKC ou des ERK, afin de simuler la modulation cholinergique des NMDAR et de la LTP.

Dans ce chapitre, nous avons présenté les différents modèles des synapses et des mécanismes intracellulaires, et expliqué en détails les processus de construction et de validation des modèles de NMDAR et de M1r. Ces modèles permettent de prendre en compte précisément la dynamique des effets de composés pharmacologiques sur ces récepteurs et leurs voies de signalisation. Bien qu'ils puissent être utilisés seuls pour simuler le comportement de systèmes d'expression spécifiques (comme le modèle de M1r de Falkenburger *et al.* (2010a)), notre approche de reconstruction nous amène à les intégrer à l'échelle supérieure, dans des modèles de neurones et de microcircuits que nous allons présenter dans le chapitre suivant.



**Figure 3.13** – Validation du modèle de  $I_M$  neuronal. **A** - Le modèle du cycle des PIs et du  $I_M$  permet de simuler la cinétique et l'amplitude de l'hydrolyse et de la restauration de la densité de PIP2 (en haut, bleu), de la densité de canaux Kv7 actifs (en haut, rouge), et du  $I_M$  (en bas, courbe bleue), suite à l'application de  $10 \mu\text{M}$  d'Oxo-M, reproduisant les résultats de Winks *et al.* (2005) (en bas, points mauves). **B** - DR de l'inhibition du  $I_M$  par l'Oxo-M, validée en regard de Winks *et al.* (2005).

## Modèles à l'échelle des neurones et des microcircuits

En plus des modèles synaptiques et subcellulaires décrits dans le chapitre précédent, mon travail d'implémentation a aussi consisté au développement et à la validation de modèles des neurones composant le microcircuit de l'aire CA1 de l'hippocampe. L'enjeu est d'obtenir des modèles de neurones aux caractéristiques électrophysiologiques réalistes, et de les interconnecter en utilisant les modèles de synapses embarquant les KM des récepteurs et les canaux ioniques décrits précédemment, afin d'effectuer des expérimentations mimant celles réalisées sur des cultures de neurones ou des tranches de cerveau et d'accomplir des études pharmacologiques numériques virtuelles. Élément central de ce microcircuit, le modèle de neurone pyramidal ou cellule pyramidale (PC) mis en œuvre dispose d'une morphologie dendritique détaillée.

### 4.1 Modèle de neurone pyramidal de l'aire CA1

La reproduction précise de la manière dont les entrées synaptiques sont intégrées sur l'arbre dendritique, pour être converties en séquences de décharges spécifiques par les neurones pyramidaux, est une étape importante de la modélisation des bases cellulaires de l'activité hippocampique et de sa fonction de traitement du signal. Une reconstruction 3D de PC de CA1, une identification de leurs propriétés biophysiques membranaires, et une modélisation ont été réalisées dans l'étude de Golding *et al.* (2005). Le neurone sélectionné provient d'une tranche d'hippocampe de rat adulte (55 jours, cellule 3) : son soma était situé dans le *s.p.* (situation normale) ; ses dendrites étaient complètement marquées et épargnées par la coupe ; et son comportement électrophysiologique était stable (e.g. atténuation des dépolarisations sur l'axe somato-dendritique). Ce modèle a été réutilisé dans d'autres travaux computationnels, pour étudier les conditions d'initiation et de propagation des décharges dendritiques sous l'effet de stimuli excitateurs de la voie perforante (VP) (sur les dendrites apicales du *s.l-m*) et de la voie associative/commissurale (sur les dendrites apicales du *s.r.*) (Jarsky *et al.*, 2005).

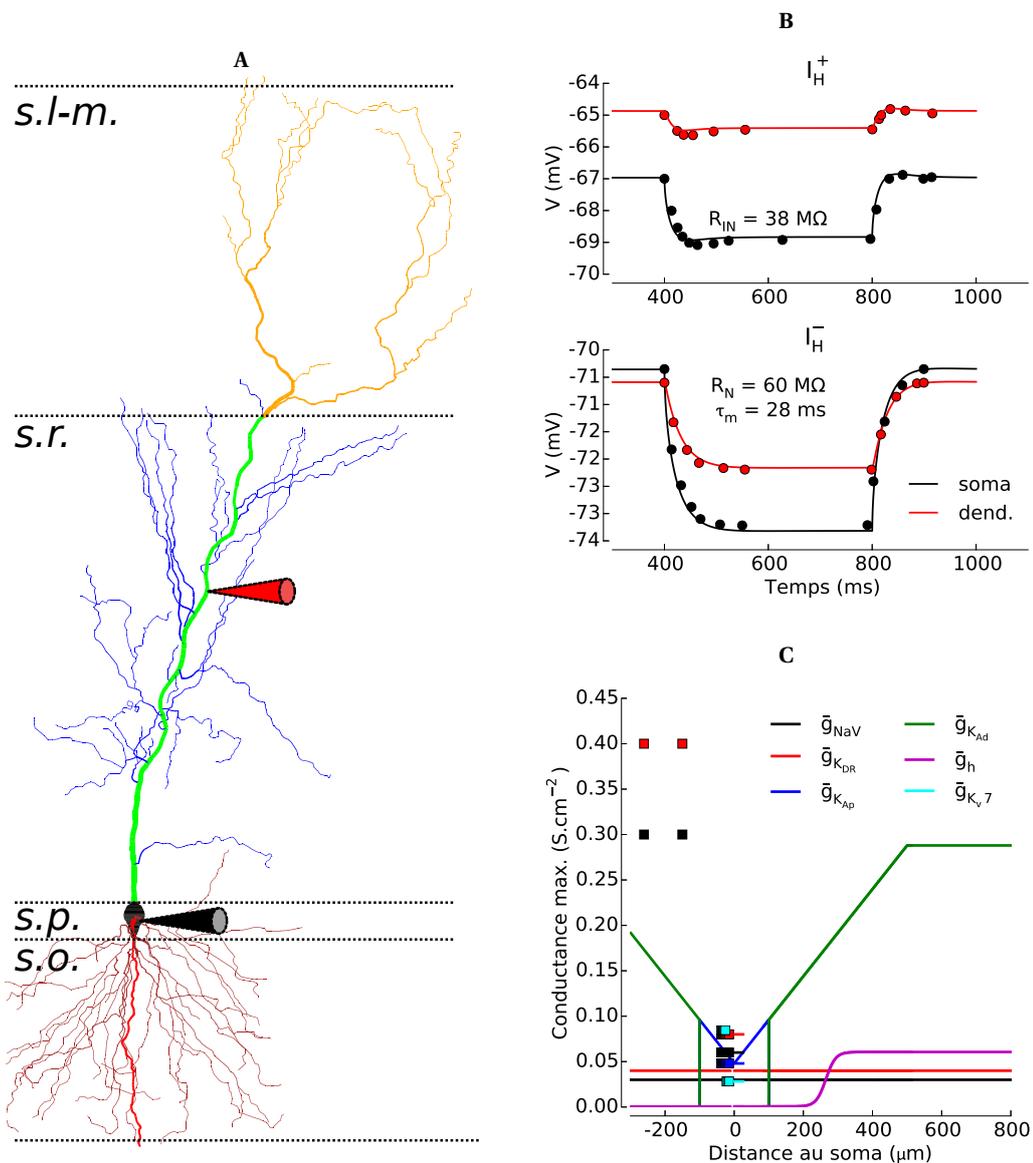
D'une morphologie typique (Figure 4.1A), le modèle de PC comprend un soma placé dans le *s.p.*, un arbre dendritique dit basal et un axone dans le *s.o.*. Partant de l'autre côté du soma, le

tronc principal de la dendrite apicale traverse le *s.r.*, et se sépare en dendrites plus fines dites obliques. À son extrémité, un embranchement de dendrites forment une touffe dans le *s.l-m*. Les dendrites du *s.r.* et du *s.o.* accueillent la majorité des synapses excitatrices provenant du CA3 par les CS, et celles du *s.l-m* reçoivent celles de la VP.

Les propriétés biophysiques élémentaires de ce type de neurone ont été relevées par Golding *et al.* (2005). La résistance d'entrée et la constante de temps du modèle ont été obtenues en ajustant les paramètres de conductivité membranaire spécifique ( $g_m$ ) et de capacité membranaire spécifique ( $C_m$ ), pour reproduire la réponse du neurone à une injection de courant hyperpolarisant dans le soma (Figure 4.1B). En plus des propriétés électriques passives et morphologiques, les dendrites des neurones expriment des conductances actives qui influencent les réponses postsynaptiques et leur confèrent des propriétés intégratives complexes. Par exemple, des PA dendritiques peuvent être générés suite à des dépolarisations suffisantes (Johnston *et al.*, 1996; Häusser *et al.*, 2000) (Figure 4.2).

Les modèles de canaux sodiques et potassiques voltage-dépendant (Nav et Kv), sous forme de conductances spécifiques variables (modèles de HH), ont été intégrés au neurone (Migliore et Shepherd, 2002; Jarsky *et al.*, 2005) (Figure 4.1C). Les Nav sont les principaux responsables de la dépolarisation brutale initiant un PA : leur densité est élevée dans le soma et dans les nœuds de Ranvier de l'axone, plus faible et indépendante de la distance au soma dans les dendrites (Migliore *et al.*, 1999). Les Kv sont eux globalement responsables de la repolarisation de la membrane terminant un PA, et sont déterminants dans la régulation de la fréquence de décharge lors d'une dépolarisation prolongée (Hoffman *et al.*, 1997). Les canaux  $K_{DR}$ , dont la distribution suit celle des Nav, sont impliqués dans la phase tardive de la repolarisation après un PA. Les canaux  $K_A$  ont une distribution dendritique croissant avec la distance au soma, et des propriétés d'activations différentes entre les compartiments proximaux et les dendrites distales ( $K_{Ap}$  et  $K_{Ad}$ ). Ils jouent un rôle majeur en atténuant la propagation rétrograde des PA, et l'application du bloqueur 4-aminopyridine (4-AP) dans le milieu extracellulaire augmente l'excitabilité dendritique de manière critique (Magee, 1998; Migliore *et al.*, 1999) (Figure 4.3A). Ces différents modèles de canaux, dont la cinétique est définie par le formalisme de HH (Figure C.1), reproduisent leurs caractéristiques normales. Leur modulation par l'action d'un composé pharmacologique peut toutefois être rendue complexe, car les variables qui les définissent sont généralement obtenues empiriquement. La méthode permettant d'exprimer un KM équivalent, décrite dans la section 2.2 pour le cas du Nav, pourra être appliquée aux différents autres canaux le cas échéant.

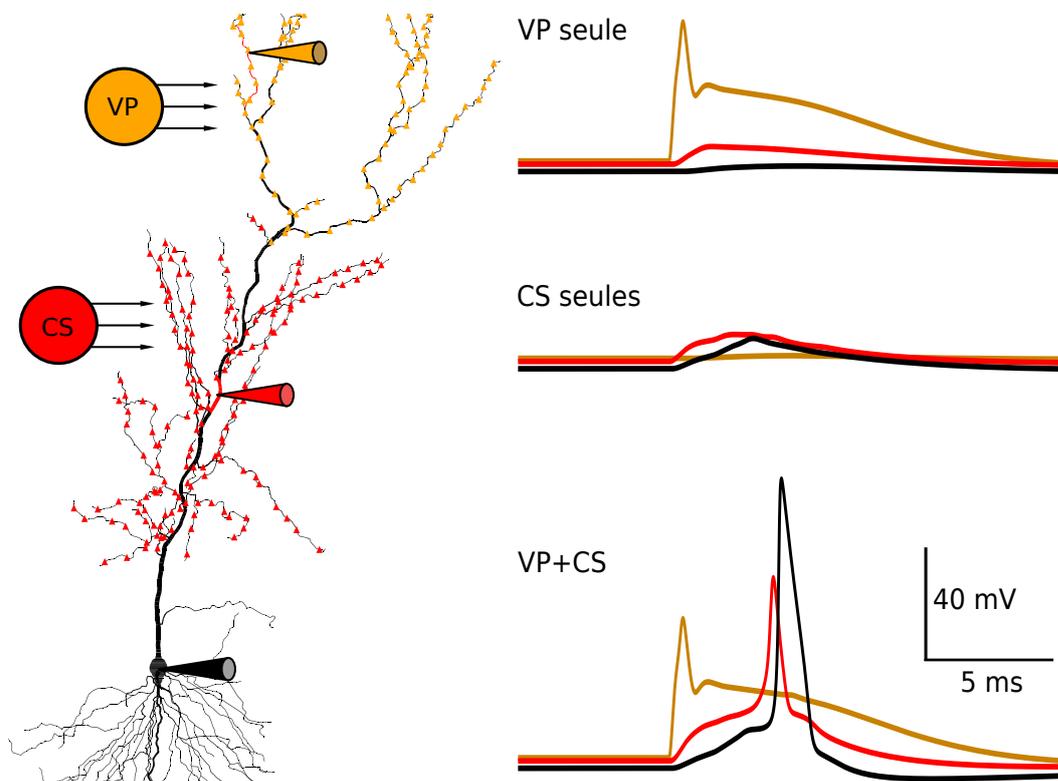
Deux conductances supplémentaires ont été implémentées afin de compléter les propriétés du modèle. Le courant-H ( $I_H$ ) est un courant cationique mixte ( $V_{rev} \simeq -30$  mV), issu des canaux HCN. La distribution, les propriétés cinétiques et l'effet de cette conductance sur la propagation des signaux dendritiques dans les PC de CA1 ont été évalués par Magee (1998).  $I_H$  s'active à des potentiels généralement inférieurs au potentiel de repos de la membrane ( $V_{1/2} \simeq -90$  mV), et son effet est mis en évidence par la diminution de l'hyperpolarisation induite par un courant entrant (Figure 4.1B). Comme mis en évidence par Golding *et al.* (2005)



**Figure 4.1** – Modèle de neurone pyramidal de CA1. **A** - Morphologie du modèle, composé d'un soma dans le *s.p.* (noir), de dendrites basales (rouge foncé) et d'un axone (rouge clair) dans le *s.o.*, d'un tronc apical (vert) se développant en dendrites obliques (bleu) traversant le *s.r.*, et en une touffe dans le *s.l-m.* (orange). Les cônes noirs et rouges représentent les points d'enregistrement pris en **B**. **B** - Hyperpolarisations générées par l'application d'un courant de  $-50 \text{ pA}$  pendant  $400 \text{ ms}$ , enregistrées dans le soma (noir) et dans la dendrite apicale (rouge, cf. **A**). Le tracé du bas ( $I_H^-$ ) est obtenu en bloquant le courant  $I_H$ , et permet de calculer la résistance d'entrée  $R_N$  et la constante de temps de la membrane  $\tau_m$ . Le tracé du haut  $I_H^+$  correspond à la situation contrôle, et permet d'observer la réduction de la résistance de membrane, le décalage de potentiel de repos, et la diminution de l'hyperpolarisation induite par le courant  $I_H$ . Les points correspondent aux données expérimentales relevées dans la Figure 1B et 1C (cellule 3) de Golding *et al.* (2005). **C** - Conductances maximales ( $\text{S}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) des canaux Nav (noir),  $\text{K}_{\text{DR}}$  (rouge),  $\text{K}_A$  proximaux  $\text{K}_{\text{Ap}}$  (bleu) et distaux  $\text{K}_{\text{Ad}}$  (vert), HCN ( $I_H$ , magenta) et  $\text{Kv7}$  ( $I_M$ , cyan), dans les différents neurites en fonction de la distance. Les distances négatives correspondent aux segments situés sous le soma en **A**, et les carrés correspondent aux compartiments axonaux (SIA et nœuds de Ranvier).

et Magee (1998),  $I_H$  réduit la résistance d'entrée du neurone, et sa distribution spatiale non uniforme élève différentiellement le potentiel de repos dendritique (Figure 4.1B, C). Le modèle mis en œuvre reprend les paramétrages ayant permis de mettre en évidence son impact sur l'excitabilité dendritique, et d'expliquer certains des effets de la lamotrigine, un MAE (Poolos *et al.*, 2002; Migliore et Migliore, 2012). Cette implémentation a aussi été validée en reproduisant les effets de  $I_H$  sur le potentiel de repos, sur la résistance de membrane, et sur la propagation dendritique d'hyperpolarisations somatiques rapportés par Golding *et al.* (2005) (Figure 4.1B, Figure 4.3B).

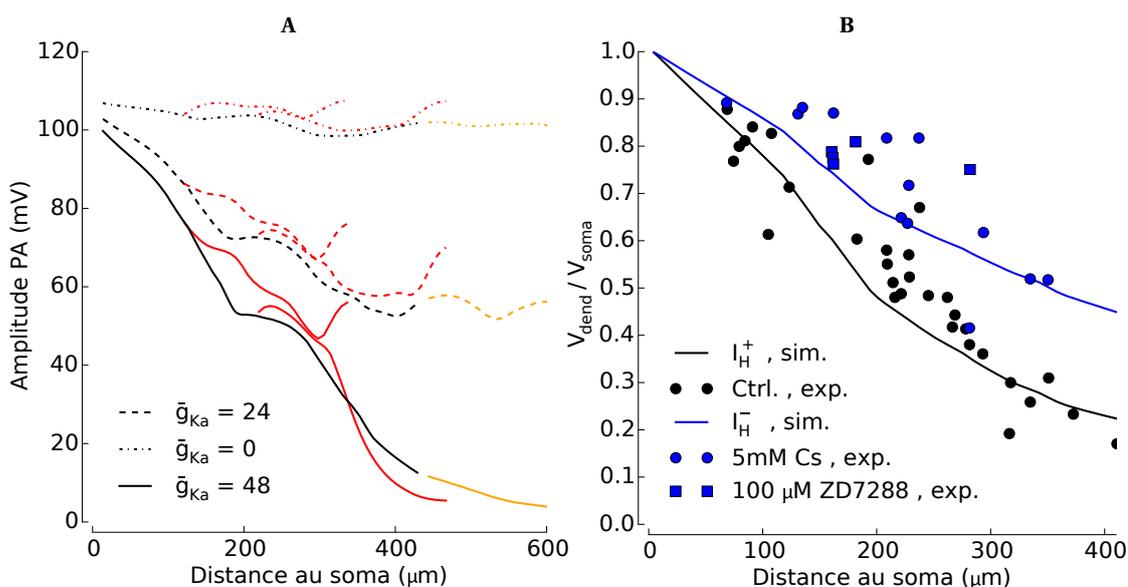
Le courant-M ( $I_M$ ), déjà abordé dans la section 3.5, est conduit par les canaux potassiques Kv7.2/3. Il est modulé par le M1r et sa localisation dans le soma et le SIA lui confère une grande influence sur l'excitabilité des PC de CA1. Son implémentation est basée sur les résultats et le modèle de Shah *et al.* (2008), qui ont mis en évidence son rôle dans la régulation de leur activité. En particulier,  $I_M$  rectifie le potentiel de repos somatique vers des valeurs plus



**Figure 4.2** – Intégration dendritique du signal excitateur. Les dendrites du modèle de PC sont peuplées par une distribution homogène de synapses excitatrices sur les obliques du *s.r.* (rouges, 268) et dans le *s.l-m* (jaunes, 269), modélisées par des conductances variables, tel que décrit dans Jarsky *et al.* (2005) (Figure 3). Alors que la stimulation des synapses du *s.l-m* seule est suffisante pour déclencher un PA dendritique, celui-ci ne se propage pas vers le soma (VP seule). L'activation des synapses du *s.r.* génère une dépolarisation subliminaire de la cellule (CS seules), mais lorsqu'on active simultanément les deux populations synaptiques, le PA dendritique provenant du *s.l-m* peut se propager jusqu'au soma et déclencher un PA somatique.

hyperpolarisées, et il est responsable de l'adaptation de la fréquence des PA suite à une dépolarisation prolongée (Figure 4.4A).

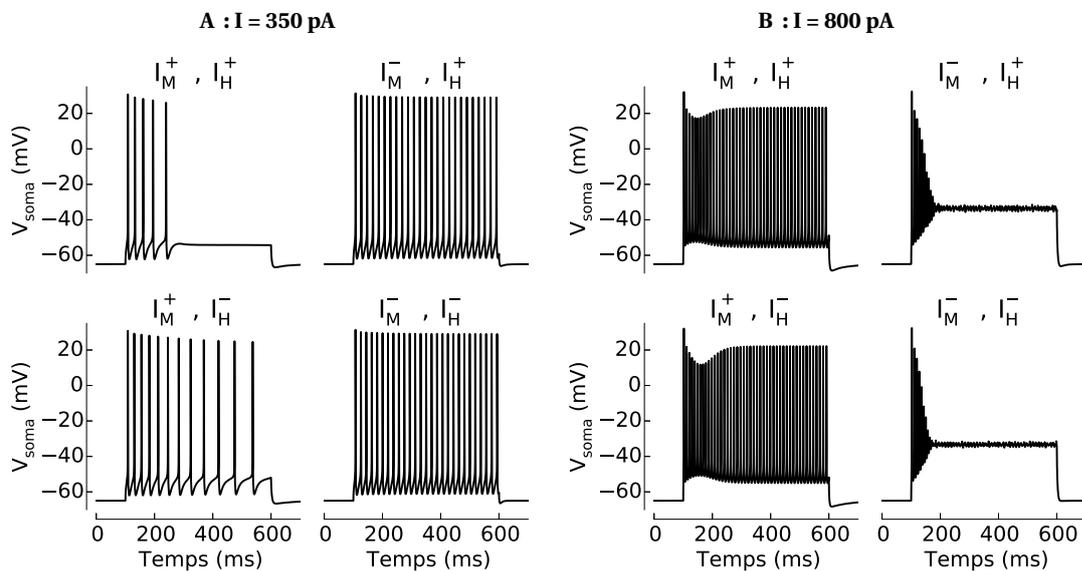
Le modèle est donc validé en regard de différents résultats de référence. D'abord, en reprenant le dispositif de stimulation de Jarsky *et al.* (2005), il reproduit le résultat important que l'activation des synapses excitatrices de la VP est généralement incapable de déclencher une décharge, mais que la stimulation simultanée des CS favorise la propagation des PA dendritiques, et l'occurrence d'un PA somatique (Figure 4.2). Ensuite, lorsqu'on y applique un courant dépolarisant constant, ce modèle reproduit l'adaptation de la décharge du neurone par les courants  $I_H$  et  $I_M$  (Figure 4.4A), et sous l'effet d'un courant intense, il simule l'occurrence d'un bloc de dépolarisation, c'est à dire d'une saturation des canaux sodiques et potassiques empêchant les PA, étudiée par Bianchi *et al.* (2012) (Figure 4.4B, Figure C.2). Enfin, les propriétés intégratives des dendrites sont validées, en reproduisant les profils d'amplitude des PA retropropagés dans les conditions normales, et sous l'influence d'une inhibition des canaux potassiques  $K_A$ , tels que décrits dans Migliore *et al.* (1999) d'une part, et d'autre part en reproduisant l'atténuation



**Figure 4.3** – Simulation de la propagation dendritique des PA et des hyperpolarisations. **A** - Un PA est généré dans le soma par une brève impulsion de courant dépolarisant (1 nA pendant 1,5 ms), et on mesure l'amplitude du PA rétropropagé à des positions variables dans différentes dendrites apicales : le tronc (noir), deux branches obliques du *s.r.* (rouge) et une dendrite du *s.l-m* (jaune). Cette amplitude est modulée par les canaux  $K_A$ , dont on fait varier la conductance maximale  $\bar{g}_{K_A}$  à 48 (valeur normale, traits pleins), 24 (tirets) et 0 (pointillés)  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-2}$ , reproduisant les résultats de Migliore *et al.* (1999) (Figure 1B). **B** - Un courant hyperpolarisant est injecté au soma (50 pA). On mesure l'amplitude de l'hyperpolarisation (à l'état stationnaire, après 400 ms) à différentes positions sur le tronc apical, exprimée relativement à l'amplitude de l'hyperpolarisation somatique. Les simulations reproduisent les résultats expérimentaux de Golding *et al.* (2005), dans les conditions contrôle ( $I_H^+$ , traits et points noirs,  $\text{RMSE} = 95 \cdot 10^{-3}$ ), et sous l'influence des bloqueurs de  $I_H^+$  Chlorure de Césium (Cs) et ZD7288 (traits, points et carrés bleus resp.  $\text{RMSE} = 98 \cdot 10^{-3}$ ).

d'une hyperpolarisation somatique dans la dendrite apicale, dans les conditions normales et en présence de bloqueurs de  $I_H$ , testée par Golding *et al.* (2005) (Figure 4.3B).

La distribution dendritique de VDCC a été aussi caractérisée (Magee et Johnston, 1995; Magee *et al.*, 1998). Ils génèrent des pics de la concentration de calcium après une excitation dendritique, plus lents que les PA. Ces pics calciques sont contraints dans les dendrites, et les dépolarisations associées sont contrées par l'activation de canaux potassiques sensibles au calcium (SK/BK), responsables des PHP suivant les PA (Golding *et al.*, 1999). La signalisation calcique est classiquement associée à des phénomènes de plasticité, mais la caractérisation de ces pics est moins bien établie que celle des PA dépendants du sodium et du potassium (Johnston *et al.*, 1999). De plus, leur modélisation implique d'utiliser, en plus des différents sous-types de VDCC (L-N-T-R-P/Q), les KCa SK et BK, ainsi qu'un modèle d'accumulation/diffusion du calcium dans tous les segments du modèle, pour un coût calculatoire relativement élevé. J'ai toutefois intégré ces différents éléments à partir des résultats de Poirazi et Pissadaki (2010), mais ils restent une option au modèle, qui n'a généralement pas été utilisée dans les applications présentées ici, sauf mention contraire.



**Figure 4.4** – Modulation simulée des décharges du modèle neurone pyramidal par  $I_M$  et  $I_H$ . Sous injection d'un courant continu dépolarisant, la fréquence et l'amplitude des décharges du neurone sont modulées par les courants  $I_M$  et  $I_H$ . **A** - Pour  $I = 350$  pA, le blocage de  $I_M$  et de  $I_H$  inhibe l'adaptation de la fréquence de décharge. **B** - Pour  $I = 800$  pA, le blocage de  $I_M$  induit un bloc de dépolarisation, c'est à dire l'évanescence des PA suite à la suractivation des Nav, empêchant les oscillations entre courants sodiques et potassiques de se produire.

### 4.2 Population synaptique du neurone pyramidal

Comme décrit dans la section 1.7, les PC de CA1 sont sous l'influence de synapses excitatrices glutamatergiques (issue de la VP et des CS), de synapses inhibitrices GABAergiques activées par des IN, et d'une modulation cholinergique (afférences septales). Comme développé dans la section précédente, les dendrites des PC ont des propriétés actives, et l'intégration du signal par le neurone dépend en grande partie du nombre, des proportions et des distributions des entrées synaptiques excitatrices et inhibitrices. L'étude de Megias *et al.* (2001) a permis de reconstruire finement la morphologie d'une PC de l'aire CA1 d'un rat adulte par microscopie optique, et d'évaluer les densités de synapses glutamatergiques et GABAergiques convergeant sur les différentes dendrites, le soma et le SIA par microscopie électronique (Figure 1.5). Il a ainsi été évalué qu'une PC recevait environ 30 000 synapses excitatrices et 1 700 synapses inhibitrices, qu'une grande proportion des épines dendritiques étaient dans le *s.r.*, en particulier dans les obliques (*s.r.* : 55 %, *s.o.* : 39 %, *s.l-m* : 6 %), que les épines du *s.l-m* étaient moins nombreuses mais plus volumineuses, et qu'une fraction importante des synapses inhibitrices étaient localisées dans la zone périsonatque (i.e. soma et base des dendrites principales).

NEURON permet de regrouper les sections d'un neurone dans des listes (SectionList), et les différentes catégories de dendrites établies par Megias *et al.* (2001) ont été appliquées au modèle de PC (tronc apical divisé en 3 portions : *Radiatum Thick proximal/medial/distal*, dendrites obliques du *s.r.* : *Radiatum thin*, dendrites du *s.l-m* : *l-m thick/medium/thin*, dendrites basales *oriens proximal/distal*), afin de pouvoir distribuer les densités de synapses selon ces spécifications (Figure 1.5). Un ensemble de méthodes a été créé pour pouvoir instancier des synapses sur une portion de l'arbre dendritique, suivant des distributions localisées (en spécifiant les positions des synapses sur les sections), homogènes (à partir d'une densité ou d'un nombre, réparties sur la longueur des sections, exemple en Figure 4.2), ou aléatoires (l'algorithme choisit au hasard une fraction de la densité totale de synapses). En utilisant le modèle générique de synapse, il est relativement aisé de paramétrer les différentes populations synaptiques, et de les manipuler pour les stimuler ou pour connecter le terminal à l'axone d'une cellule présynaptique. Il est aussi possible de moduler la complexité de la synapse, en utilisant uniquement le compartiment présynaptique (les stimuli activent alors directement le modèle de diffusion de NT), en passant d'un modèle de récepteur simplifié (conductance variable activée par les événements présynaptiques, dite synapse alpha) à un modèle complexe intégrant des KM, ou en ajoutant les modèles d'accumulation/diffusion des espèces ioniques lorsque c'est nécessaire (e.g. le chlore, cf. section 3.4, et 6.8.2).

Les densités de synapses mesurées par Megias *et al.* (2001) sont prises comme une référence globale pour ajuster la proportion excitation/inhibition et les localisations respectives des différentes projections. Toutefois, la totalité des synapses morphologiquement présentes n'a généralement pas été explicitement intégrée, car il n'est utile d'instancier que les synapses effectivement activées pour simuler le comportement du neurone. De plus, ces contraintes ne permettent pas d'établir la puissance individuelle de chaque synapse : l'étude de Magee et Cook (2000) apporte une contrainte complémentaire, en établissant que l'amplitude des PPSE

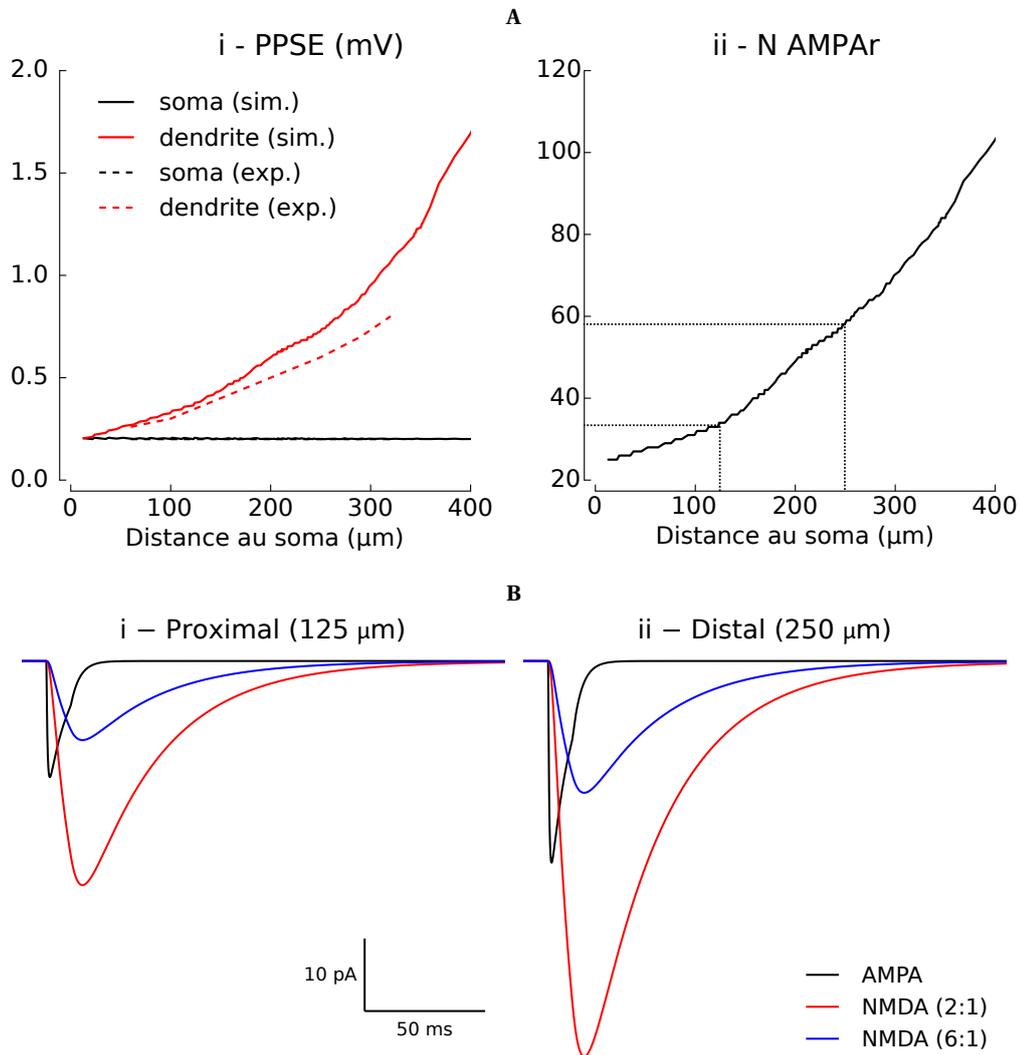
dendritiques unitaires transmis par la conductance de AMPAr augmente avec la distance de la synapse par rapport au soma, et contrebalance l'atténuation dendritique pour générer un PPSE somatique d'amplitude constante ( $\approx 0,2$  mV). Ainsi, en utilisant le modèle générique de synapse glutamatergique décrit en section 3.2, stimulé par une impulsion unitaire, et en le déplaçant le long du tronc apical du modèle de PC, on peut déterminer le nombre de AMPAr nécessaires pour créer cette dépolarisation somatique de 0,2 mV (Figure 4.5A). On observe en outre que le profil simulé des dépolarisations dendritiques en fonction de la distance au soma correspond aux résultats de l'étude. Le léger biais entre les résultats expérimentaux et simulés est attribué à l'emploi de bloqueurs de canaux sodiques (tétrodotoxine (TTX)) et potassiques (Césium) dans les solutions extracellulaires du dispositif expérimental.

Des études ultérieures, notamment Andrasfalvy et Magee (2001) et Smith *et al.* (2003) ont confirmé cette variation de la conductance des synapses excitatrices du *s.r.*, en ajoutant que les propriétés présynaptiques et les cinétiques propres du AMPAr étaient elles invariables, suggérant que la variation du nombre de récepteurs (et non leur composition en sous-unités) peut expliquer ces résultats. L'étude de Andrasfalvy et Magee (2001) inclut l'analyse de la conductance NMDAr de ces mêmes synapses. Les résultats indiquent une relative invariance de ces courants avec la distance au soma, dont on peut déduire un ratio de conductance AMPAr : NMDAr, compris entre 2 : 1 et 6 : 1. L'intégration du modèle de NMDAr dans ces synapses, et la comparaison des réponses unitaires, nous permet d'établir une plage de valeurs possibles entre 5 et 30 NMDAr par synapse (Figure 4.5B).

L'étude de Nicholson *et al.* (2006) corrobore les observations précédentes (Magee et Cook, 2000; Andrasfalvy et Magee, 2001; Megias *et al.*, 2001). En analysant l'expression des AMPAr et NMDAr, ainsi que la proportion de synapses perforées dans les compartiments proximaux et distaux des dendrites apicales, incluant celles du *s.l-m*, il y est montré qu'une corrélation entre le volume de l'épine et le nombre de AMPAr existe (Smith *et al.*, 2003; Katz *et al.*, 2009). En établissant que la proportion de synapses perforées était d'autant plus grande que leur distance au soma était élevée, et que la conductance AMPAr était singulièrement moindre dans le *s.l-m*, ces résultats suggèrent que les compositions en récepteurs des synapses du *s.l-m* suivent des contraintes différentes de celles du *s.r.* Alors qu'on peut faire l'hypothèse que la composition en AMPAr des synapses du *s.r.* doit permettre des PPSE somatiques constants, il y est proposé que le critère dans le *s.l-m* soit de générer des dépolarisations amples déclenchant des PA dendritiques (i.e. permettant d'atteindre le seuil d'activation des canaux sodiques  $\text{Nav} \approx -30$  mV), en cohérence avec les résultats de Jarsky *et al.* (2005) (Figure 4.2).

Ces différents résultats permettent d'établir des critères pour la composition des synapses excitatrices de la VP et de la voie associative, à même de reproduire un comportement électrophysiologique moyen. Pour autant, ces règles sont à considérer comme des repères pour calibrer le modèle, et il est important de rappeler que ces compositions sont sujettes à une variabilité importante entre les cellules, dépendantes de l'âge du sujet expérimental et du protocole employé. L'étude de Marie *et al.* (2005) permet d'entrevoir comment l'activation de voies de transcription impliquées dans la plasticité synaptique peut modifier ces équilibres, in-

## 4.2. Population synaptique du neurone pyramidal



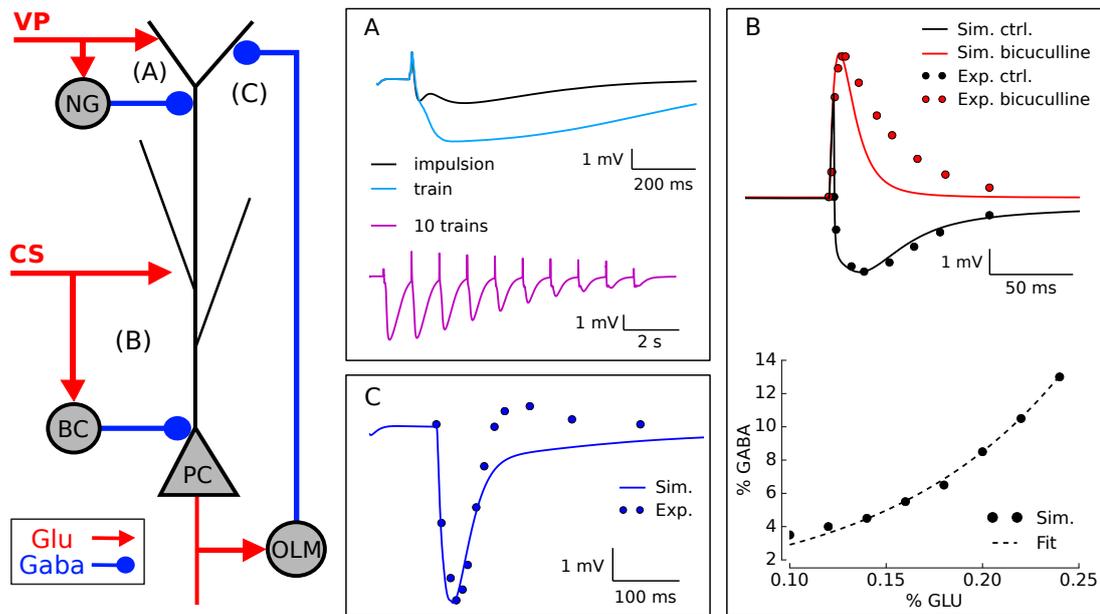
**Figure 4.5** – Composition en récepteurs des synapses glutamatergiques du modèle de PC de CA1. **A** - Détermination du nombre de AMPAR en fonction de la position de la synapse. Le modèle de synapse glutamatergique, contenant uniquement des AMPAR est stimulé par une impulsion unitaire, et on effectue une recherche du nombre de AMPAR nécessaires pour obtenir un PPSE somatique de 0,2 mV. **i** - L'amplitude du PPSE dendritique (rouge) et somatique (noir) est rapportée en fonction de la distance de la synapse au soma. Les traits continus correspondent aux résultats simulés et les tirets aux résultats de Magee et Cook (2000) (Figure 1e). **ii** - Le nombre de AMPAR nécessaires pour obtenir les amplitudes de **i**, en fonction de la distance au soma. **B** - CPSE unitaires de synapses du s.r.. Une synapse unitaire est isolée sur un compartiment à voltage constant ( $V_c = -80$  mV) puis stimulée par une impulsion carrée de glutamate (1 mM pendant 10 ms), en présence de 10  $\mu\text{M}$  de glycine, et sans  $\text{Mg}^{2+}$ , pour simuler les expériences en *patches* excisés de Andrasfalvy et Magee (2001). Les nombres de AMPAR utilisés correspondent aux valeurs des positions proximales (34 à 125  $\mu\text{m}$ ) et distales (59 à 250  $\mu\text{m}$ ) retenues en A-ii (pointillés). Les tracés noirs représentent les courants AMPAR, et les tracés rouges et bleus correspondent aux nombres de NMDAR compris dans la plage des ratios retenus (2 : 1 et 6 : 1, resp.; 17 et 6 en i, 30 et 10 en ii, resp.)

duisant notamment un changement de la fraction de synapses silencieuses. Aussi, les résultats de Poirazi *et al.* (2003) et de Katz *et al.* (2009) suggèrent que les dendrites du *s.r.* formeraient un système d'intégration à deux étages, dont les dendrites obliques seraient les unités de base. Bien que je n'ai pas utilisé cet aspect pour contraindre les paramètres synaptiques, ni étudié ce phénomène en détails, il n'est pas incompatible avec le critère de Magee et Cook (2000).

En plus de la composante excitatrice, les PC de CA1 sont sous l'influence de synapses inhibitrices. Pour réaliser et contraindre un modèle fonctionnel de la PC et du microcircuit de CA1, il est important de tenir compte de l'impact des projections inhibitrices, en particulier de l'inhibition périsonmatique et dendritique, transmises par des IN formant des projections antérogrades (e.g. BC, BSC) et rétrogrades (e.g. O-LM). Les résultats de Megias *et al.* (2001) fournissent une contrainte globale sur les densités morphologiques et les distributions spatiales des différentes synapses. En outre, des données morphologiques et fonctionnelles permettent de déterminer les amplitudes des courants GABAergiques périsonmatiques et dendritiques. Les études de Williams et Stuart (2003) et Andrásfalvy et Mody (2006) établissent que les courants GABAergiques sont relativement constants sur l'arbre dendritique, et une valeur d'environ 20 GABA<sub>A</sub>R permet d'obtenir des amplitudes similaires à celles des CPSI miniatures enregistrés (Figure C.3).

On sait que les IN forment des connexions multiples avec les PC. Par exemple, une BC projette entre 2 et 6 terminaux synaptiques dans la zone périsonmatique (Miles *et al.*, 1996), une BSC établit entre 6 et 10 contacts sur différentes dendrites de la PC (Buhl *et al.*, 1994a), et une O-LM forme environ 10 synapses sur les dendrites distales d'une même PC (Maccaferri *et al.*, 2000; Bezaire et Soltesz, 2013; Müller et Remy, 2014). En l'absence d'une modélisation explicite des IN, il est possible de tirer parti de certaines données fonctionnelles afin de déduire la cinétique et l'amplitude des CPSE dans une configuration donnée. La puissante inhibition dendritique antérograde associée à la voie perforante présente une activation et une désensibilisation lentes, impliquant GABA<sub>A</sub>R et GABA<sub>B</sub>R (Elfant *et al.*, 2008). Les résultats de Dvorak-Carbone et Schuman (1999) et de Pissadaki et Poirazi (2007) nous permettent de paramétrer la composition et le nombre de synapses associées. En appliquant un délai correspondant à un relais disynaptique ( $\approx 2$  ms) entre la date d'activation des synapses glutamatergiques et celle des synapses GABAergiques, on peut reproduire l'amplitude et la cinétique de la réponse (Figure 4.6A). De la même manière, les résultats de Pouille et Scanziani (2001) et de Campanac *et al.* (2013) permettent d'établir une relation entre l'amplitude des PPSE générés par la stimulation des CS, et des PPSI induits par l'activation des BC, et d'en déduire une relation entre les fractions de synapses activées (Figure 4.6B). Enfin, pour l'inhibition rétrograde transmise par les O-LM, NEURON permet de paramétrer un délai entre la décharge de la PC et l'activation synaptique ( $\approx 6$  ms, Saraga *et al.* (2008)), et les caractéristiques de ces synapses ont été validées en regard des travaux de Maccaferri *et al.* (2000) et Elfant *et al.* (2008) (Figure 4.6C).

### 4.3. Modèle simplifié du microcircuit hippocampique



**Figure 4.6** – Ajustement des projections inhibitrices du modèle de PC. Les synapses inhibitrices des PC de CA1 sont activées par des voies antérogrades (A,B) et rétrogrades (C), faisant intervenir différents IN modélisés comme des délais. **A** - Simulation des PPSI somatiques déclenchés par la stimulation de la VP pour une impulsion simple, un train d'impulsions (10 à 100 Hz) et une série de 10 trains, validés d'après Dvorak-Carbone et Schuman (1999) (Fig. 1A, 1B et 3A, resp.). **B** - En haut, simulation d'un PPSI déclenché par la stimulation unique des CS (trait noir), et isolement du PPSE (trait rouge) par application de l'antagoniste du GABA<sub>A</sub> bicuculline, validés d'après Pouille et Scanziani (2001) (points noirs et rouges, resp., Fig 3B). La différence de cinétique de descente observée dépend de l'activation des NMDAR, inhibés dans l'expérimentation. En bas, en simulant différentes combinaisons des fractions de synapses glutamatergiques et GABAergiques périsonomiques activées (d'après Megias *et al.* (2001)), on peut identifier celles produisant un ratio identique (points), et en déduire un modèle analytique (tirets). **C** - Simulation de l'activation des synapses de l'inhibition rétrograde (traits), dont l'amplitude correspond aux résultats de Elfant *et al.* (2008) (Fig. 5C). La différence de cinétique de désactivation est liée au courant  $I_H$ , désactivé dans la simulation.

### 4.3 Modèle simplifié du microcircuit hippocampique

Afin de mieux tenir compte des dynamiques propres des IN, à l'origine des effets de synchronisation dans CA1, et dans le but d'augmenter le champ des questions adressables par nos modèles, en particulier pour l'étude des rythmes neuronaux (chapitre 7), j'ai recherché et implémenté différents modèles des IN, et mis au point un modèle de ce microcircuit.

Le modèle est basé sur différents travaux, dont ceux de Cutsuridis *et al.* (2010a) qui ont décrit un modèle de microcircuit intégrant plusieurs types d'IN et un modèle plus simple de PC, ainsi que ceux de Hajós *et al.* (2004), qui ont étudié plus spécifiquement la modulation du rythme thêta par la voie septo-hippocampique (VSH) (cf. chapitre 7), en utilisant un modèle plus complet intégrant des inhibitions récurrentes dans les populations d'IN.

Le modèle de BC est basé sur les travaux de Wang et Buzsáki (1996), qui ont mis en évidence les

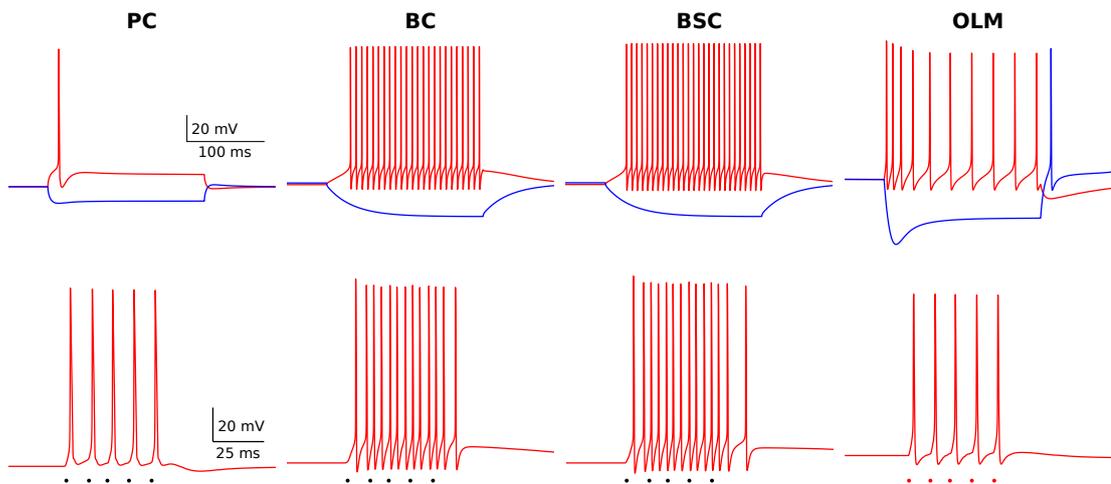
conditions de synchronisation dans la bande  $\gamma$  (20-80 Hz) de ces populations de cellules, puis il a été complété à partir de Cutsuridis *et al.* (2010a) afin d'intégrer une morphologie et des caractéristiques électrophysiologiques plus détaillées. La morphologie dendritique est composée de 22 sections ( $C_m = 0,8 \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$ , résistivité membranaire spécifique ( $R_m$ ) = 40,8  $\text{k}\Omega\cdot\text{cm}^2$ , résistivité cytoplasmique ( $R_c$ ) = 200  $\Omega\cdot\text{cm}$ ). Le soma et les dendrites incluent des conductances  $\text{Nav}$ ,  $\text{K}_{\text{DR}}$ ,  $\text{K}_A$ ,  $\text{VDCC-L}$ ,  $\text{VDCC-N}$  et  $\text{KCa}$ , ainsi qu'un modèle de la dynamique du calcium intracellulaire. Leur soma est placé dans le *s.p.*, et les entrées synaptiques excitatrices, réparties sur l'arbre dendritique et dépourvues d'épines (Freund et Buzsáki, 1996), intègrent des AMPAR et des NMDAR avec un ratio NMDA : AMPA de 20 % (Papp *et al.*, 2013). Le modèle de BSC a des propriétés similaires aux BC, mais une conductance  $\text{Nav}$  plus élevée (0,2  $\text{S}\cdot\text{cm}^{-2}$ ). Ces cellules sont stimulées par les CS, via des synapses glutamatergiques, elles aussi dépourvues d'épines (Maccaferri *et al.*, 2000). Le modèle de cellule O-LM est basé sur Hajós *et al.* (2004). Il est composé d'un compartiment somatique unique ( $C_m = 1,0 \mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$ ,  $R_m = 10 \text{k}\Omega\cdot\text{cm}^2$ ), et inclut les conductances  $\text{Nav}$ ,  $\text{K}_{\text{DR}}$ ,  $\text{VDCC-N}$ ,  $\text{KCa}$ , et le courant  $I_{\text{H}}$  (Müller et Remy, 2014). Les activités de ces différents neurones isolés, en réponse à des injections de courants et à une stimulation synaptique excitatrice sont représentées en Figure 4.7.

Les distributions dendritiques des synapses excitatrices et inhibitrices de ces différents types cellulaires sont décrits dans Gulyás *et al.* (1999) et Müller et Remy (2014). La connectivité entre les populations neuronales est estimée à partir des paramètres de convergence et de divergence des projections, résumés par Hajós *et al.* (2004), Müller et Remy (2014) et Bezaire et Soltesz (2013) (Figure 4.8).

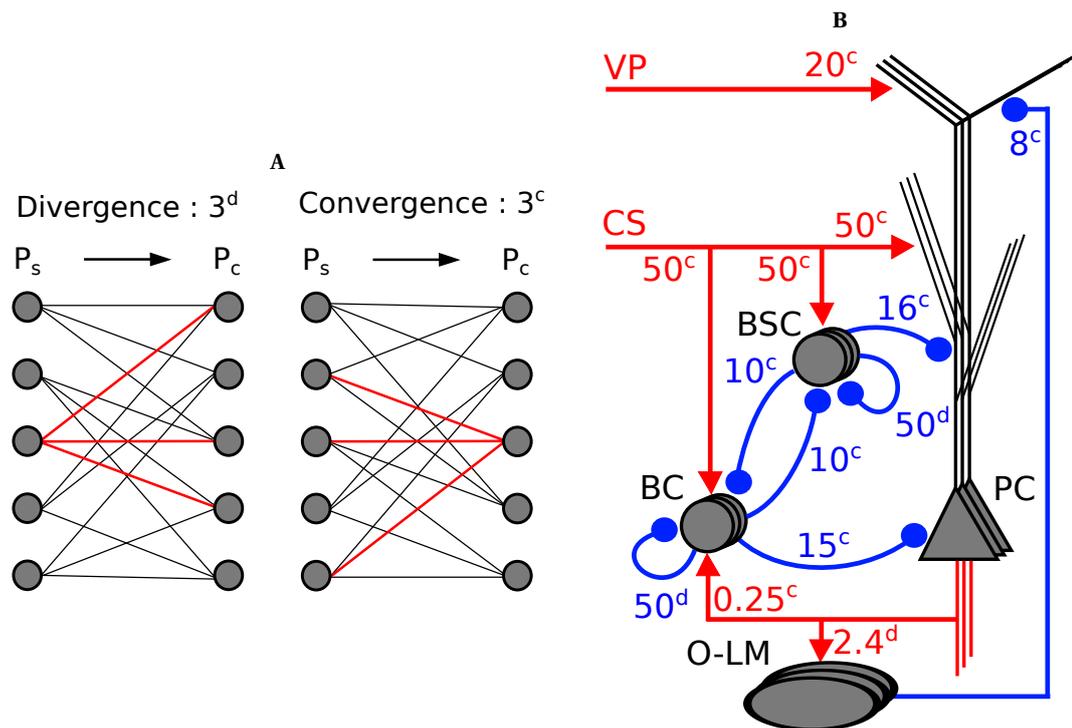
En particulier, les BC forment un réseau contenant une forte densité de connexions récurrentes. Il a été suggéré que les oscillations cohérentes rapides dans la bande  $\gamma$  observées dans les microcircuits corticaux et hippocampiques pouvaient être entraînées par une activité cohérente de ces réseaux d'IN (Buzsáki *et al.*, 1983; Wang et Buzsáki, 1996; Bartos *et al.*, 2002, 2007). En reproduisant les tests décrits dans les travaux de Wang et Buzsáki (1996), on observe que les neurones de ce réseau tendent effectivement à synchroniser leurs activités dans la bande de fréquence gamma ( $\gamma$ , 20-80 Hz) (Figure 4.9). L'effet n'est pas aussi visuellement évident lorsque les IN sont stimulés par des entrées synaptiques, mais cette propension à la synchronisation dans les réseaux d'IN persiste, et est identifiée comme un des mécanismes de la genèse des oscillations hippocampiques (Gloveli *et al.*, 2010).

Dans un exemple de composition, Figure 4.10, le réseau est constitué de 20 PC, 50 BC, 50 BSC, et 50 O-LM, connectés entre eux selon les paramètres décrits en Figure 4.8B. Le système est stimulé par l'activation des CS et de la VP, modélisés comme des trains d'impulsions à 4 Hz, dont les temps d'impulsions sont distribués aléatoirement selon les synapses (distribution normale centrée sur les dates exactes  $\mathcal{N}(\mu = 0 \text{ ms}, \sigma^2 = 75 \text{ ms})$ ), formant des ondes excitatrices au rythme thêta, à la manière de Cutsuridis *et al.* (2010a). Les neurones sont placés à équidistance d'une électrode virtuelle placée dans le *s.p.*, permettant d'enregistrer le potentiel extracellulaire (PCL). On simule deux configurations : la configuration *Contrôle* (A) comprend toutes les connexions, et dans la configuration *Sans-inhibition* (B), on enlève les synapses

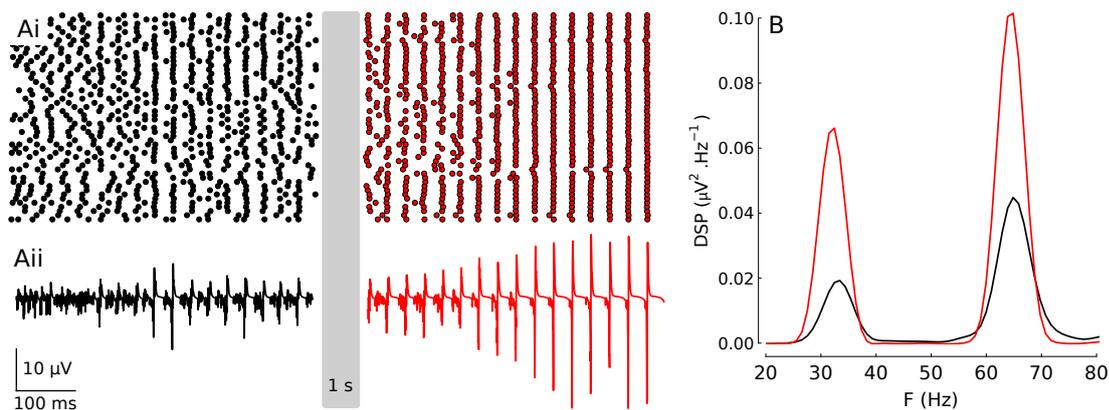
### 4.3. Modèle simplifié du microcircuit hippocampique



**Figure 4.7** – Activité électrophysiologique des modèles d'IN, sous injection d'un courant dépolarisant (50 pA) ou hyperpolarisant (-100 pA) (tracés du haut, rouge et bleu resp.,  $\pm 300$  pA pour la PC), et suite à l'activation des CS par un train de 5 impulsions à 100 Hz (tracés du bas. L'O-LM est stimulée par les PA de la PC).



**Figure 4.8** – **A** - Illustration des notions de convergence et de divergence des projections entre deux populations neuronales. La divergence est définie par le nombre moyen de cellules de la population-cible  $P_c$  contactées par un neurone unique de la population-source  $P_s$  (3 dans l'exemple), et la convergence est le nombre moyen d'afférences reçues de la population source par une cellule postsynaptique (3 dans l'exemple). **B** - Schéma simplifié du modèle de microcircuit de CA1. Les connexions glutamatergiques et GABAergiques sont indiquées par des lignes rouges et bleues respectivement. Les paramètres de convergence ( $X^c$ ) et de divergence ( $Y^d$ ) sont indiqués pour chaque connexion.

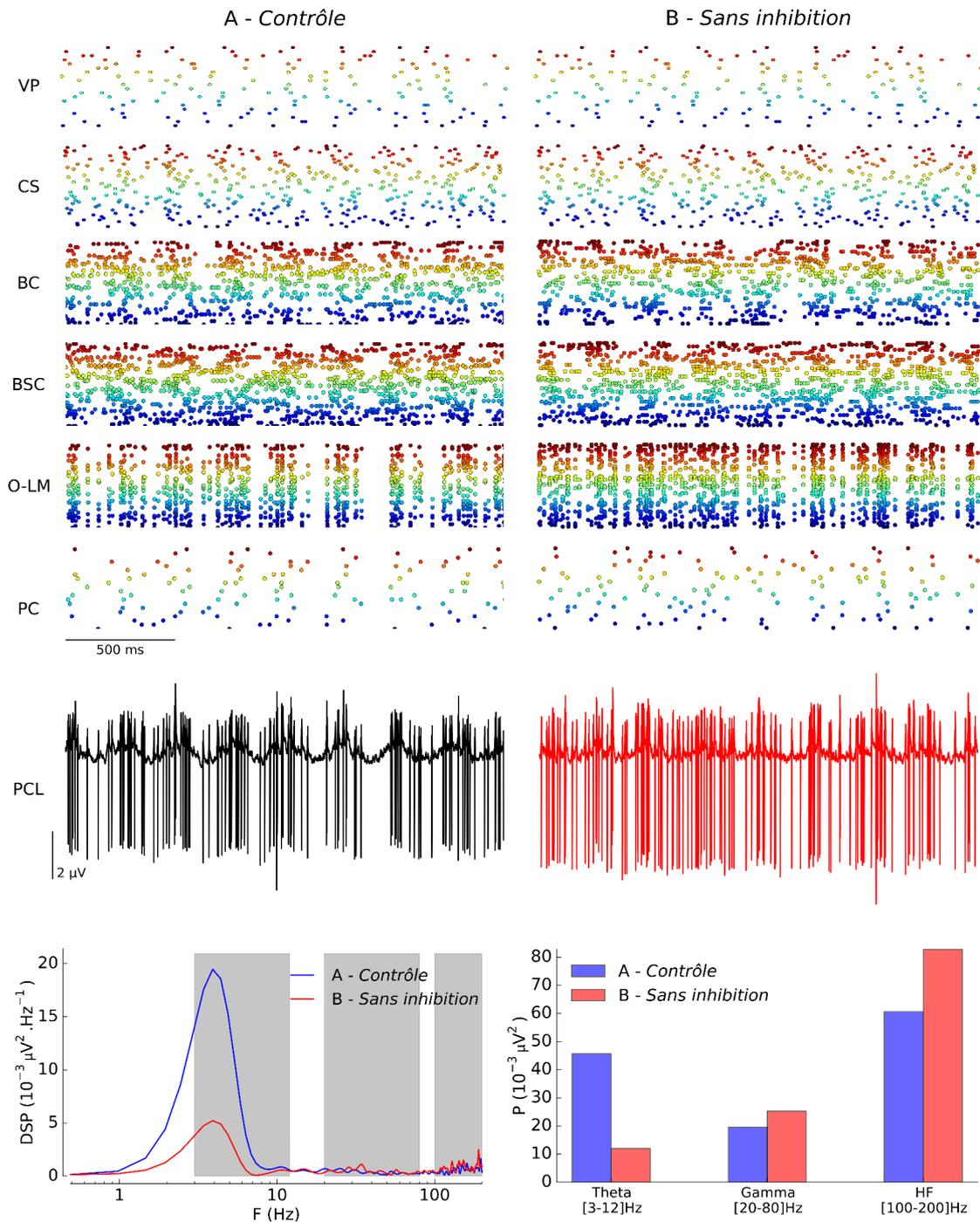


**Figure 4.9** – Synchronisation simulée de l'activité des BC dans la bande  $\gamma$ . Un réseau est composé de 50 BC formant des connexions récurrentes inhibitrices (divergence = 50). On injecte un courant dépolarisant de 60 pA dans chaque cellule, et le système est perturbé à  $t = 0$  par une modification aléatoire de l'intensité du courant pendant 50 ms (distribution normale  $\mathcal{N}(\mu = 100 \text{ pA}, \sigma^2 = 10 \text{ pA})$ ). **A** - Rastergramme (Ai) représentant les décharges des 50 neurones (ordonnée) en fonction du temps (abscisse) et PCL (Aii). Les parties noires et rouges correspondent aux séquences  $t = [0;500]$  et  $[1500;2000]$  ms, (resp.) isolées de la phase transitoire pour plus de clarté. **B** - Estimée de la densité spectrale de puissance (DSP) sur la bande  $[20;80]$  Hz ( $\gamma$ ), calculée par la méthode de Welch ( $F_e=8 \text{ kHz}$ ,  $N_{\text{FFT}} = 2^{13}$ ,  $N_{\text{seg}} = 2^{11}$ ) pour les deux séquences.

inhibitrices formées par les BC et les BSC sur les PC. En calculant la DSP du signal PCL, et en intégrant sa puissance dans les bandes thêta ( $\theta$ , 3-12 Hz), gamma ( $\gamma$ , 20-80 Hz) et HF (100-200 Hz), on observe qu'il contient une forte composante thêta, et que celle-ci dépend largement de l'inhibition antérograde. La puissance dans la bande thêta est en effet largement réduite dans la configuration sans inhibition, au profit des activités de plus haute fréquence, qui reflètent ici une plus grande désorganisation de l'activité électrophysiologique des PC. Dans cet exemple, le rythme thêta est principalement généré par les trains d'impulsions excitatrices de la VP des CS, simulant la situation d'un animal actif. Dans l'application du chapitre 7, on étudiera l'impact de la modulation muscarinique sur la voie septo-hippocampique (VSH), un autre générateur du rythme thêta.

Dans ce modèle, seuls les courants membranaires des PC sont intégrés au signal PCL simulé. Ces cellules sont en effet majoritaires, en termes de densité dans le CA1 ( $\approx 95 \%$ ), et leur alignement et leur anatomie dendritique bipolaire forment des champs ouverts qui sont les principaux générateurs du signal PCL. Par opposition, les populations d'IN sont moins denses, et la plupart d'entre eux sont multipolaires, rendant leur contribution directe négligeable (Makarov *et al.*, 2010). Pour autant, les IN forment des arbres axonaux très vastes ( $\approx 1 \text{ mm}$  pour les BC), et innervent un grand nombre de cellules postsynaptiques (500 à 1500 pour les BC). Ces données justifient l'utilisation d'une plus forte proportion d'IN dans le modèle, car fonctionnellement, et comme le montre cet exemple de simulation, ils prennent un rôle majeur dans la synchronisation de l'activité des populations de cellules principales, et donc dans l'organisation du signal hippocampique.

### 4.3. Modèle simplifié du microcircuit hippocampique



**Figure 4.10** – Exemple de mise en œuvre du modèle de microcircuit de CA1. Rastergrammes des impulsions synaptiques excitatrices de la VP et des CS, et des PA induits dans les BC, les BSC, les O-LM et les PC. PCL enregistré dans le *s.p.*, dans les conditions *Contrôle* (A) et *Sans-inhibition* (B). DSP calculées par la méthode de Welch ( $F_e = 8$  kHz,  $N_{FFT} = 2^{14}$ ,  $N_{seg} = 2^{12}$ ), et puissances intégrées dans les bandes thêta ( $\theta$ , 3-12 Hz), gamma ( $\gamma$ , 20-80 Hz) et HF (100-200 Hz).

### 4.4 Discussion et perspectives

Dans ce chapitre, nous avons présenté les modèles permettant de simuler l'activité des neurones de l'aire CA1 de l'hippocampe. Le modèle de PC permet d'intégrer ses différentes entrées synaptiques et d'étudier la modulation de son activité dans de multiples conditions. De plus, le développement des modèles d'IN permet d'accéder aux phénomènes pris à l'échelle des microcircuits, tout en conservant les mécanismes fins permettant d'étudier les effets induits par des composés pharmacologiques.

Sur le plan technique, ces modèles font partie des derniers développements que j'ai effectués. Ils ont nécessité le passage à la structure de modèles présentée en section 2.6, et à la transformation d'une partie des codes pour qu'ils soient compatibles avec des simulations en calcul parallèle, alors que les résultats précédents se basaient sur des simulations mono-processus. En particulier, il a fallu les rendre compatibles avec la bibliothèque  $LFP_y$  (cf. sous-section 2.5.2), et développer les fonctions permettant :

- d'instancier des cellules et de les simuler en parallèle sous différents processeurs,
- d'établir les connexions logiques entre les neurones et d'instancier les synapses,
- d'effectuer les communications inter-processus pendant la simulation (*parallel NEURON*, basé sur MPI) (Hines *et al.*, 2008b).

La configuration présentée dans l'exemple Figure 4.10 comporte 170 neurones, 13 367 synapses pour un total de 209 807 états déterminés par des EDO. La simulation de ce modèle sur 6 secondes, dure environ 2 heures, en répartissant les calculs sur les 8 nœuds du cluster de Rhenovia Pharma (256 processeurs).

L'intégration de différentes échelles, incluant les modèles élémentaires de récepteurs et de canaux ioniques, instanciés en autant de synapses sur chaque neurone simulé induit une augmentation significative de la complexité des calculs. La simulation de la dynamique d'un récepteur unique peut être effectuée en moins de dix secondes dans un test typique de réponse à une concentration constante d'agoniste, sur un ordinateur individuel. La simulation d'un modèle de neurone, même réaliste sur le plan morphologique et ne comportant pas de modèle détaillé de synapse peut aussi s'effectuer en quelques secondes ou minutes en fonction de son activité. En revanche, les durées de simulation deviennent rapidement très élevées dès lors que l'on cherche à intégrer des KM complexes dans les synapses, des centaines de synapses sur chaque neurone, et des dizaines de neurones pour simuler un microcircuit. De plus, la mémoire requise pour enregistrer les observables des synapses individuelles, ou pour intégrer les courants générateurs des PCL, rend nécessaire l'emploi d'ordinateurs puissants et de techniques permettant la compression des données. Or le développement des modèles nécessite d'effectuer un grand nombre de simulations, afin d'optimiser leurs paramètres, d'analyser les multiples observables, et de valider leur comportement par rapport à différents résultats expérimentaux. C'est pourquoi les équipes de Rhenovia Pharma travaillent à optimiser autant que possible les outils et les méthodes nécessaires au développement des modèles (Greget, 2011; Sarmis, 2013; Sarmis *et al.*, 2013; Bedez *et al.*, 2015; Sarmis *et al.*, 2015). Notre capacité à atteindre de plus hauts niveaux d'intégration, propres à augmenter les capacités prédictives

de nos modèles, dépend en grande partie des travaux de recherche effectués sur les méthodes, les techniques et les technologies de modélisation et de simulation en général.

Plusieurs raffinements pourront être apportés à ces modèles. Le modèle de PC permet de reproduire fidèlement le comportement électrophysiologique de ces neurones. La modélisation détaillée de l'arbre dendritique, permet d'étudier finement les phénomènes de rétropropagation et les modalités de l'intégration dendritique dans des conditions multiples, mais induit un grand nombre de segments et des temps de calcul potentiellement élevés, en particulier lors de la constitution des modèles de réseaux.

Le modèle de PC proposé par Cutsuridis *et al.* (2010a), plus simple dans sa morphologie permet de réduire significativement les temps de calcul, mais les dendrites y sont considérées comme passives, réduisant son potentiel prédictif pour le niveau subcellulaire. Par exemple, l'étude de Poirazi *et al.* (2003) permet de mieux comprendre les modalités de la sommation des entrées dendritiques, et ouvre la voie à de potentielles simplifications du modèle, en conservant ses propriétés intégratives. Par ailleurs, des approches de réduction de la complexité morphologique par analyse de Strahler, appliquées à des modèles de cellules de Purkinje, se sont montrées efficaces pour réduire les temps de calcul (Marasco *et al.*, 2013). D'autres voies permettant la réduction des modèles, tout en préservant leurs propriétés fonctionnelles et dynamiques, sont à l'étude par Rhenovia Pharma et ses partenaires, en utilisant notamment des modèles non-paramétriques de synapses basés sur le développement en séries de Volterra (Berger *et al.*, 2010; Hu *et al.*, 2015).

En outre, les modèles d'IN supplémentaires pourraient être intégrés au modèle du microcircuit de CA1. D'abord, les IN pourvoyant l'inhibition dendritique antérograde dans le *s.l-m* jouent un rôle important (Dvorak-Carbone et Schuman, 1999; Elfant *et al.*, 2008), et devraient être modélisés explicitement. Ensuite, une distinction plus fine pourrait être apportée entre les types d'IN activés par les CS, en particulier les IN *ivy*, et les IN du *s.r.* exprimant la CCK (Vida, 2010). Enfin, les IN dits AAC, recevant les afférences de la VP et ciblant spécifiquement le SIA des PC, semblent avoir une influence importante sur leur décharge. Il semble que les sous-unités de GABA<sub>A</sub>R exprimées sur le SIA des PC soient différentes des autres synapses inhibitrices (Loup *et al.*, 1998), et l'étude de Papp *et al.* (2013) devrait permettre de simuler ses caractéristiques électrophysiologiques comparativement aux BC.

De manière générale, l'intégration incrémentale de nouveaux modèles d'IN relève d'une validation minutieuse : leur diversité, les connaissances parcellaires et la variabilité des conditions d'études rendent difficile le dégagement de principes et la construction de leurs modèles. Ainsi, le travail de synthèse mené par exemple dans Bezair et Soltesz (2013) apparaît être un préalable indispensable à la construction d'un modèle complet du microcircuit de CA1.

Enfin, dans le but de simuler la fonction de mémoire associative de l'hippocampe, il sera nécessaire de poursuivre la caractérisation et la modélisation des structures de CA3 et du GD. Des études utilisant des modèles de neurones simples ont montré qu'il était envisageable de poursuivre un tel objectif (Hasselmo et Schnell, 1994; Koene et Hasselmo, 2009), mais les

limites de puissance de calcul (bien qu'elles soient continuellement repoussées) semblent imposer un intensif travail de réduction des modèles. En cela, l'approche présentée ici, en intégrant les mécanismes de bas niveau, permet de comprendre et d'identifier les effets essentiels, et d'en déduire les simplifications possibles, tout en préservant la possibilité de revenir à des modèles fins pour l'étude des conditions particulières des pathologies. Dans cette perspective, le développement de modèles génériques, de langages standardisés, et l'utilisation d'une structure de code orientée-objet représentent des atouts, permettant une utilisation modulaire des assemblages de modèles.

Plus généralement, cette partie a été consacrée à la présentation des méthodes, des outils et des modèles qui ont été mis en œuvre et développés dans le cadre de mes travaux. Ces éléments constituent un ensemble de ressources disponibles pour de multiples applications : le travail sur les méthodes et les outils permet d'accéder au niveau d'intégration souhaité (du récepteur au microcircuit) et d'obtenir des temps de développement et de simulation raisonnables. La constitution d'une bibliothèque de modèles documentés, génériques et réutilisables permet de capitaliser les ressources et d'accomplir plus rapidement de multiples projets applicatifs. C'est à ce type d'application que nous allons nous intéresser dans la partie suivante.

# **Applications**

## **Partie III**



---

Après avoir présenté les objectifs globaux, le contexte biologique de mon travail puis décrit les outils, les méthodes et les modèles que j'ai mis en œuvre et développés, nous allons aborder dans cette partie les réalisations effectuées dans le cadre de projets applicatifs auxquels j'ai participé durant ma thèse. Ces applications sont en quelque sorte la finalité de nos développements, car elles consistent à tirer parti des connaissances agrégées sur les phénomènes biologiques et sur les technologies de simulation, pour mettre les modèles à l'épreuve de questions effectives posées par le fonctionnement de l'hippocampe et par ses pathologies.

Cette troisième partie est ainsi consacrée à la présentation des travaux et des résultats produits lors de trois projets successifs menés par Rhenovia Pharma. L'évolution de l'entreprise m'a conduit à intervenir dans ces différents projets, qui ont soutenu le développement de nos techniques et leur intégration dans un ensemble cohérent. Ils ont ainsi pour socle commun la modélisation de neurones de l'hippocampe, pour fil conducteur l'intégration de la complexité à l'échelle de la synapse, du neurone et du réseau de neurones, et pour finalité l'étude des effets de composés pharmacologiques dans des contextes pathologiques.

Le premier projet aborde la question de la plasticité synaptique et le phénomène de LTP, considéré comme fondamental à la formation de la mémoire (chapitre 5). Ce thème, développé pour un client institutionnel, a permis de valider la pertinence de l'approche de modélisation à l'échelle de la synapse, qui était la plus aboutie au moment de l'accomplissement de ce projet. Le deuxième projet traite les mécanismes sous-tendant l'épilepsie (chapitre 6). Bien que complexe, cette pathologie a des manifestations cliniques et physiologiques relativement claires, comparées à d'autres pathologies dont l'étiologie et le développement sont largement méconnues, et dont les manifestations sont encore plus subtiles, multiples et complexes. Explorée dans le cadre du consortium de recherche RHENEPI réunissant des experts en épileptologie, cette application a de plus l'avantage de pouvoir être abordée sous l'angle de l'hyperexcitabilité neuronale, et de tirer parti d'une modélisation à l'échelle cellulaire. Le troisième projet qui sera présenté concerne la modulation muscarinique de l'activité hippocampique, et aborde la question des oscillations hippocampiques, en particulier du rythme  $\theta$  (chapitre 7). Ces développements ont été réalisés durant ma troisième année de thèse dans le cadre d'une prestation fournie à un client industriel. Ils ont été un vecteur de l'amélioration de nos techniques vers une plus grande intégration des niveaux de modélisation, permettant entre autres, la mise en œuvre et l'application directe des méthodes de calcul parallèle, de simulation de microcircuits et du potentiel extracellulaire.

Pris dans leur ensemble, ces trois chapitres montrent les progrès effectués au cours de ma thèse et mettent en évidence le potentiel de ces techniques pour l'étude de phénomènes complexes et pour des applications pharmacologiques multiples. Ils permettent de montrer qu'il est possible de construire et d'utiliser des modèles valides couvrant les échelles allant de la molécule aux réseaux de neurones, et posent les bases de simulations de plus haut niveau, axées sur la fonction hippocampique globale.



## Modulation pharmacologique de la potentialisation synaptique

La plasticité synaptique, c'est à dire la propension des synapses à moduler le signal qu'elles transmettent en fonction de leur activité, est aujourd'hui largement reconnue comme un phénomène de base sous-tendant l'apprentissage et la formation de la mémoire dans les circuits neuronaux. Les questions concernant l'impact de la plasticité synaptique sur le fonctionnement du cerveau sain et pathologique sont au centre de la recherche en neurosciences depuis des décennies, car ce phénomène revêt des modalités multiples, et implique des processus biochimiques complexes (Kennedy *et al.*, 2005). Ce chapitre va être consacré à la description d'un modèle simplifié d'un phénomène impliqué dans la plasticité synaptique, appelé potentialisation à long terme ou *Long-Term Potentiation* (LTP). Les résultats présentés dans ce chapitre ont été produits lors d'un projet regroupant des partenaires académiques neurobiologistes, mené pour le compte d'un client institutionnel. Ce projet a accompagné le développement du modèle de synapse glutamatergique décrit dans le chapitre 3, au début de mon travail de thèse : c'est pourquoi tous les modèles que nous avons décrits précédemment ne sont pas intégrés à ces travaux, et les développements les plus récents au niveau neuronal et des microcircuits tiennent lieu de perspectives d'évolution pour l'étude de tels phénomènes.

### 5.1 Plasticité synaptique et Potentialisation à Long Terme (LTP)

Dès le début du 20<sup>e</sup> siècle et les premières descriptions de la neuroanatomie par Ramón y Cajal (Ramón y Cajal, 1909), les neurobiologistes ont émis l'idée que le cerveau encode l'information en modifiant la puissance des connexions entre les neurones simultanément actifs. Cette idée a été formalisée en 1948 par Donald Hebb (Hebb, 1950) :

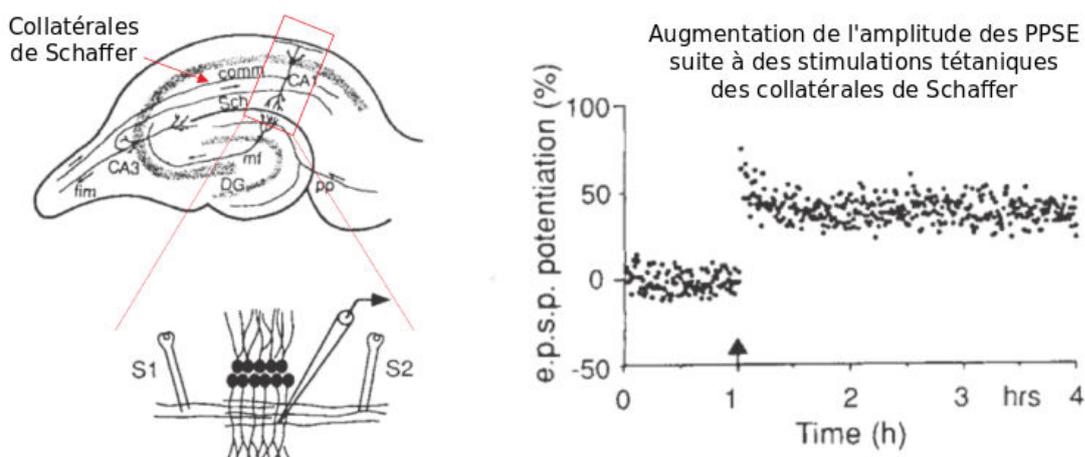
« Let us assume that the persistence or repetition of a reverberatory activity ("or trace") tends to induce lasting cellular changes that add to its stability. [...] When an axon of cell A is near enough to excite a cell B and repeatedly or persistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is increased. »

## Chapitre 5. Modulation pharmacologique de la potentialisation synaptique

Ainsi, dans une interprétation simple, Hebb suggérait que les neurones qui s'activent simultanément tendent à se connecter entre eux, pour former des assemblées de neurones reflétant les associations perçues lors de l'apprentissage. Cette règle a constitué une base fondamentale de réflexion et de recherche sur le rôle de la plasticité synaptique dans la mémoire, et donne toujours lieu à des modèles où son implémentation prend la forme d'un changement du poids des synapses en proportion de la corrélation temporelle des décharges des neurones pré- et postsynaptiques (Dayan, 2005).

Pourtant, ce n'est qu'en 1973 que la preuve d'un phénomène synaptique pouvant sous-tendre l'hypothèse de Hebb a pu être établie, par les travaux de Bliss et Lømo (1973) sur l'hippocampe de lapin. Ils ont montré qu'une stimulation à haute fréquence de la voie perforante entraînait une augmentation persistante (pouvant durer plusieurs jours) de l'efficacité de la transmission synaptique dans le GD. Ce phénomène, appelé *Long-Term Potentiation* (LTP), a été plus tard mis en évidence dans d'autres régions du système nerveux central et périphérique des vertébrés, et en particulier dans l'hippocampe, au niveau des connexions de la voie associative/commissurale entre les CS et les épines dendritiques des PC de CA1 (Andersen *et al.*, 1977) (Figure 5.1).

La LTP est aujourd'hui perçue comme un phénomène fondamental, et est devenue au fil des recherches le modèle physiologique le plus étudié des processus d'apprentissage en général (Bliss et Collingridge, 1993; Lømo, 2003). Ses propriétés laissent en effet penser qu'elle serait un substrat biologique du stockage de l'information, en particulier dans l'hippocampe. D'abord, le renforcement synaptique qu'elle induit persiste jusqu'à plusieurs semaines *in vivo*. Ensuite, les conditions expérimentales de son induction, c'est à dire la stimulation des fibres afférentes par des impulsions brèves et synchrones à haute fréquence (100 Hz), réparties en trains d'ondes entre 5 et 7 Hz, correspondent au rythme thêta ( $\theta$ ), un type d'activité se déroulant naturellement dans l'hippocampe de rats en phase d'exploration (Larson et Lynch, 1988), ou



**Figure 5.1** – Démonstration originale de la LTP d'après Bliss et Collingridge (1993). Des stimulations d'induction sont appliquées aux CS, et on enregistre l'amplitude des PPSE dans les PC de CA1.

## 5.1. Plasticité synaptique et Potentialisation à Long Terme (LTP)

dans l'amygdale lors de tests d'apprentissages liés à la peur (*fear conditioning*) (Rogan *et al.*, 1997; Goosens et Maren, 2002). De plus, la LTP est coopérative et associative, c'est à dire qu'elle est favorisée par la stimulation simultanée de plusieurs axones afférents, et par l'activation concomitante des cellules pré- et postsynaptiques, respectivement. Cette dernière propriété d'associativité répond au postulat de Hebb, et est à l'origine de nombreux questionnements et débats sur l'origine, pré- ou postsynaptique, de l'expression de la LTP (Kullmann, 2012). Enfin, la prévalence de la LTP sur les capacités d'apprentissage a été établie par des tests de comportements *in vivo* chez les rongeurs. Par exemple, en inhibant l'induction de la LTP dans l'hippocampe par un antagoniste des NMDAr, les performances de mémorisation dans différentes tâches comme celle de retrouver une plateforme dissimulée dans une piscine, ou discriminer différentes odeurs, sont significativement réduites (Morris *et al.*, 1986; Staubli *et al.*, 1989).

Parallèlement, alors que la LTP s'établit comme un mécanisme de stockage d'information, un phénomène inverse, dit dépression à long terme ou *Long-Term Depression* (LTD) semble prendre le rôle d'un mécanisme synaptique de l'oubli (Dudek et Bear, 1992). La LTD s'induit par une stimulation à basse fréquence des synapses glutamatergiques, semble faire intervenir le calcium, comme la LTP, mais à des concentrations moins élevées (Malenka et Nicoll, 1993), et activer des voies de signalisation différentes impliquant des phosphatases (Mulkey *et al.*, 1994). L'existence de phénomènes duaux pour la plasticité synaptique est séduisante et prometteuse, mais les mécanismes et le rôle de la LTD dans l'apprentissage ne sont pas aussi clairement établis que pour la LTP.

### 5.1.1 Mécanismes de la LTP

En préalable, il faut distinguer plusieurs phases dans le phénomène de LTP. Il s'initie pendant une phase d'induction durant quelques secondes et impliquant les mécanismes initiateurs, suivie d'une phase d'expression qui modifie effectivement et durablement la puissance de la synapse. À l'image de la mémoire elle-même, la phase d'expression est séparable en une phase précoce transitoire (1 à 3 heures), et en une phase tardive ou de consolidation qui inclut des changements morphologiques plus durables. Alors que les mécanismes d'induction semblent, de manière relativement sûre, faire intervenir une augmentation de la concentration d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  dans le neurone postsynaptique et provoquer l'activation de messagers secondaires, les voies de signalisation subséquentes composant la phase d'expression impliquent des mécanismes de synthèse protéique multiples, qui sont encore l'objet de recherches.

Il a été observé que **l'induction de la LTP** pouvait être bloquée par l'application d'antagonistes spécifiques du récepteur au NMDA (NMDAr) (Collingridge *et al.*, 1983). Comme déjà évoqué, le NMDAr ne s'active et ne conduit de courant que lorsque qu'il est lié à un agoniste comme le glutamate, et que la membrane qui le porte est suffisamment dépolarisée pour lever le blocage voltage-dépendant du canal par l'ion  $\text{Mg}^{2+}$ . Cette propriété unique fait du NMDAr un détecteur de coïncidence entre l'activation du terminal présynaptique et du neurone postsynaptique, et

supporte la propriété d'associativité de la LTP. Ce mécanisme NMDA-dépendant d'induction de la LTP s'applique en particulier aux synapses formées entre les CS et les PC de CA1, qui sont le sujet de l'étude, et semble généralisable à d'autres projections. Pour autant, des mécanismes complémentaires sont à l'œuvre dans certaines synapses : par exemple, les compartiments postsynaptiques des PC de CA3, recevant les projections des fibres moussues sont capables de LTP en l'absence de NMDAr (Harris et Cotman, 1986; Morgan et Teyler, 1999). En revanche, l'augmentation de la concentration de calcium dans le neurone postsynaptique, provoquée ou non par l'ouverture du NMDAr, est reconnue comme l'étape nécessaire à l'induction de la LTP. Des résultats montrent en effet que la libération artificielle de calcium induit la LTP (Malenka *et al.*, 1988), et que la chélation du  $Ca^{2+}$  empêche l'induction (Lynch *et al.*, 1983). Le rôle central de l'augmentation du calcium dans ce phénomène est renforcé par le fait que des récepteurs métabotropes activant la libération intracellulaire de calcium par génération d'IP3, peuvent participer ou suffire à l'induction de LTP : c'est le cas des mAChr (Auerbach et Segal, 1994, 1996; Segal et Auerbach, 1997; Shinoe *et al.*, 2005; Fernández de Sevilla *et al.*, 2008), et de manière plus nuancée, des mGluR 1 et 5 (Nakanishi, 1994; Nevian et Sakmann, 2006).

Les voies de signalisation suivant l'augmentation du calcium constituent **l'expression de la LTP**, c'est à dire les changements fonctionnels et structurels renforçant effectivement la puissance de la synapse. Ces mécanismes apparaissent multiples et complexes : ils procèdent de cascades biochimiques modifiant la conductance synaptique dans une phase précoce et transitoire (1 à 3 heures suivant l'induction), et de mécanismes de synthèse protéique impliquant des changements morphologiques durables des épines dendritiques dans la phase plus tardive de consolidation. La phase précoce implique la protéine kinase calcium-Cam-dépendante (CamKII). Cette holoenzyme, exprimée dans les épines dendritiques, est activée par l'élévation de calcium, et a la capacité de s'autophosphoryler pour rester active longtemps après le pic initial (Kennedy *et al.*, 1983). Cette propriété unique suggère qu'elle pourrait agir comme une mémoire moléculaire, en détectant le stimulus calcique activateur et en relayant durablement un signal d'expression de LTP (Lisman et Goldring, 1988; Fukunaga *et al.*, 1993; Lisman, 1994). Une des actions directes de l'activation de la CamKII serait de renforcer la conductivité des récepteurs à l'AMPA (AMPAr), d'abord en les phosphorylant pour augmenter leur conductance intrinsèque (Barria *et al.*, 1997a,b; Derkach *et al.*, 1999), et ensuite en promouvant leur expression et leur insertion dans la DPS (Camarota *et al.*, 1998; Park *et al.*, 2004; Nicoll et Roche, 2013). Cet effet pourrait donner lieu au renforcement de synapses fonctionnelles, où l'amplitude de la dépolarisation induite par des AMPAr potentialisés deviendrait suffisante pour lever le bloc magnésium des NMDAr, mais aussi à l'activation des synapses dites silencieuses ne contenant que des NMDAr (Isaac *et al.*, 1995; Liao *et al.*, 1995; Shi *et al.*, 1999). Ces synapses silencieuses constituent 25 % des synapses glutamatergiques dans un cerveau adulte, bien plus dans un cerveau immature : leur activation par induction de LTP est compatible avec l'existence d'une coopérativité entre synapses, rendue possible par l'existence de PA dendritiques.

L'adénylate cyclase (AC) est un autre messager secondaire activé par la vague calcique de l'induction. L'AC stimule la formation d'AMPc, qui active elle-même la PKA. Cette kinase

## 5.1. Plasticité synaptique et Potentialisation à Long Terme (LTP)

---

est un relais important, en cela qu'elle favorise l'autophosphorylation de la CamKII dans la phase précoce (Makhinson *et al.*, 1999), et qu'elle promeut la synthèse protéique (y compris de CamKII et de AMPAr) au début de la phase de consolidation, par l'activation du facteur de transcription *C-AMP Response Element-Binding protein* (CREB) (Boshart *et al.*, 1991; Ofir *et al.*, 1991; Impey *et al.*, 1996; Wu *et al.*, 1998; Shi *et al.*, 1999).

Comme proposé dès les origines par Cajal (Ramón y Cajal, 1909) et Hebb (Hebb, 1950), la plasticité synaptique est associée à des **changements structurels des synapses**. Des changements de la structure et du nombre des épines dendritiques sont en effet associés à l'expression tardive de la LTP, contribuant au renforcement durable de l'efficacité synaptique (Carlisle et Kennedy, 2005; Tada et Sheng, 2006; Bourne et Harris, 2008). Il a en outre été montré que l'induction de LTP dans des neurones hippocampiques était susceptible de provoquer un changement morphologique des épines (Matsuzaki *et al.*, 2004; Fortin *et al.*, 2010). De plus, un certain nombre de pathologies du développement menant à des retards mentaux (e.g. syndromes de Down, de Rett, d'Angelman, de l'X fragile), et de maladies neurodégénératives (e.g. maladie d'Alzheimer et de Creutzfeldt-Jakob) ont été corrélées à des anomalies des épines dendritiques (Purpura, 1974; Kaufmann et Moser, 2000; Fiala *et al.*, 2002). L'ancrage de nombreuses protéines sur la densité postsynaptique (DPS) des épines est assuré par des protéines de structure, telles que l'actine filamentaire, dont la polymérisation exerce une influence critique sur la stabilité de la cytoarchitecture (Zhang et Benson, 2000). Ce processus de polymérisation est sous l'influence de nombreuses enzymes, dont on a montré le rôle critique dans la phase de consolidation. Parmi elles, la calpaïne, une protéase intracellulaire calcium-dépendante, clive la spectrine, une protéine d'ancrage de l'actine, et contribue à la stabilité des épines (Lynch et Baudry, 1984). Elle prend part à la LTP (Lynch et Baudry, 1984; del Cerro *et al.*, 1990; Denny *et al.*, 1990), avec deux isoformes semblant jouer des rôles duaux (Baudry *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014).

La plupart des mécanismes décrits situent majoritairement l'induction et l'expression de la LTP dans le compartiment postsynaptique. Pourtant, des résultats suggèrent que des **modifications présynaptiques** pourraient aussi être impliquées : la communauté est encore divisée sur ce point, sans qu'un consensus clair et général n'ait pu être trouvé (Padamsey et Emptage, 2014; Bliss et Collingridge, 2013). Des observations biochimiques ont suggéré que les propriétés de libération du glutamate (nombre de sites d'exocytose, contenu quantal, probabilité d'exocytose) étaient modifiées pendant l'expression de LTP, en particulier dans le GD (Bliss et Collingridge, 2013). Comme l'induction est postsynaptique, un message rétrograde doit circuler entre l'épine et le terminal présynaptique : le monoxyde d'azote (NO) a été identifié comme candidat potentiel pour ce type de message, en observant notamment que le blocage de sa synthèse pouvait inhiber l'expression de LTP (Kantor *et al.*, 1996).

Enfin, de nombreux **autres mécanismes** semblent être associés à l'expression de LTP tels que :

- l'expression des protéines d'adhésion *Neural Cell Adhesion Molecule* (NCAM) (Muller *et al.*, 1996) et intégrine (Staubli *et al.*, 1989),
- une modification de l'arborisation dendritique (Ivanco *et al.*, 2000),
- des réactions des cellules astrocytaires, jouant un rôle dans l'homéostasie extracellulaire (Wenzel *et al.*, 1991; Clements *et al.*, 1992; Diamond et Jahr, 2000),
- l'insertion de sous-unités de AMPAr perméables au  $\text{Ca}^{2+}$  (Fortin *et al.*, 2010).

Ces derniers mécanismes reposent sur des preuves indirectes, et sont sujets à controverses. De manière générale, il semblerait néanmoins que la LTP existe sous différentes formes, dont certaines modalités seraient conservées entre les structures, alors que d'autres seraient plus spécifiques (Park *et al.*, 2014).

De ce point de vue, il est notable que le **signal d'induction** de la LTP revêt une importance critique sur le type et la persistance de la potentialisation (Park *et al.*, 2014). Comme évoqué plus haut, la LTP est induite expérimentalement par des séries d'impulsions brèves à haute fréquence dans les fibres afférentes, et deux protocoles sont classiquement utilisés : le protocole de stimulation à haute-fréquence (SHF) consiste à délivrer un train de décharges (100 Hz pendant 1 seconde), et le protocole de stimulation par trains thêta ou *Thêta-Burst Stimulation* (TBS) consiste en une série de brefs trains d'impulsions rapides, délivrés à la fréquence  $\theta$  (typiquement 5 à 10 trains de 3 à 5 impulsions à 100 Hz, délivrés à 5 Hz). En particulier, les résultats de Zhu *et al.* (2015) ont montré que l'induction par protocole TBS, mais pas SHF, fait appel à la calpaïne-1 et nécessite l'activation de ERK, suggérant des voies de consolidations distinctes, dépendantes du type d'activité afférente.

### 5.2 Contexte et objectifs de l'étude

L'application et les résultats présentés ici se sont inscrits dans un programme de recherche mené pour un client institutionnel et impliquant des laboratoires de neurobiologie expérimentale. Il visait à développer et à valider une plateforme de simulation multisynapses, pouvant être utilisée pour des études translationnelles appliquées à la recherche sur les maladies rares. Il s'agissait dans un premier temps de développer les modèles de synapses glutamatergiques et GABAergiques, constitutifs des plateformes RHENOMS de simulation de l'activité synaptique dans l'hippocampe, et de valider leurs résultats en regard des résultats expérimentaux les plus récents, afin de démontrer leur pertinence et de les exploiter pour l'étude de maladies neurodégénératives.

Les avancées dans la compréhension des mécanismes neurodégénératifs associés par exemple à la maladie d'Alzheimer, ont mis en évidence sa complexité et ses aspects multifactoriels. Les agrégats de bêta-amyloïde et de protéine-tau, associés à une perte neuronale significative dans les régions corticales et subcorticales, sont les caractéristiques morphologiques typiques des cerveaux de patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Cette perte neuronale affecte en particulier les neurones cholinergiques (Arendt *et al.*, 1983; Coyle *et al.*, 1983; Giacobini, 2003),

et toute une classe de médicaments visant à restaurer le tonus cholinergique a été développée (Jann, 1998; Standridge, 2004). De plus, alors que les mécanismes menant à la mort neuronale ne sont pas éclaircis, il existe les preuves d'un dysfonctionnement synaptique et d'altérations des facultés cognitives et de mémorisation, précédant la dégénérescence (Lewczuk *et al.*, 2015). Ces éléments ont mené au développement de molécules limitant la toxicité glutamatergique, telles que la mémantine, un antagoniste non compétitif des NMDAr (Dong *et al.*, 2009), et de modulateurs positifs des AMPAr participant au maintien des fonctions cognitives (Danysz, 2002; Malykh et Sadaie, 2010; Koliaki *et al.*, 2012; Baudry *et al.*, 2012).

Par ailleurs, comme développé dans l'introduction, la difficulté à identifier des composés sélectifs et efficaces est un obstacle majeur au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. La combinaison de composés représente une stratégie prometteuse pour limiter les mécanismes compensatoires, les effets *off-target*, et secondaires qui limitent leur efficacité et leur utilisabilité lorsqu'ils sont appliqués seuls. Un objectif du programme était aussi d'apporter la preuve du concept que la modélisation et la simulation pouvaient être utilisées pour étudier et pour prédire les effets combinés de composés appliqués à différentes concentrations.

Ainsi, une stratégie pourrait être de combiner des composés agissant sur la fonction cholinergique et d'autres agissant sur la fonction glutamatergique. Trois inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChEi) et une ampakine (modulateur allostérique de AMPAr) ont été intégrés à la plateforme afin d'en simuler les actions, y compris en combinaison, sur l'activité synaptique et sur la LTP dans l'hippocampe.

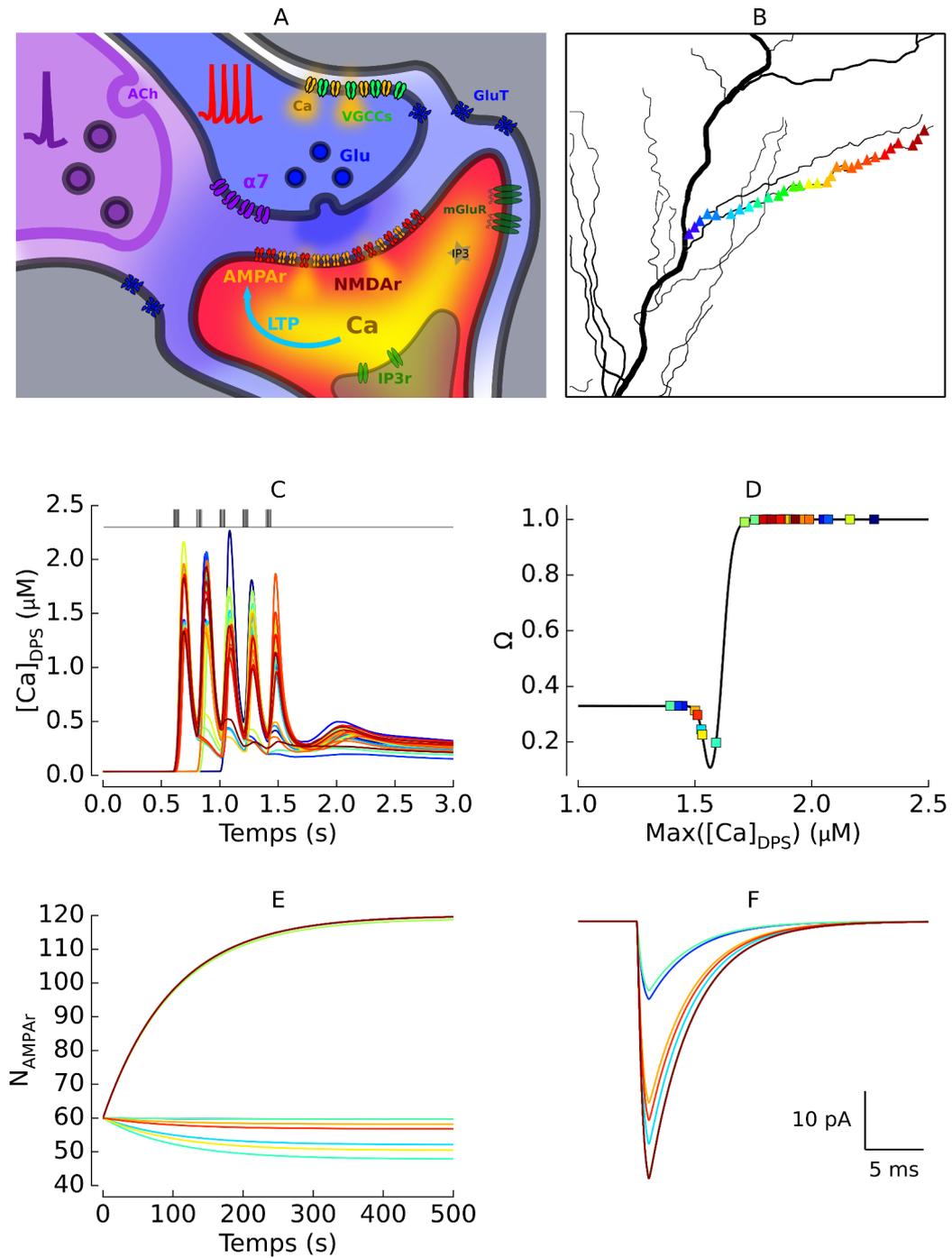
Ce programme a donc accompagné le développement des modèles synaptiques décrits dans le chapitre 3, c'est à dire les modèles de la synapse glutamatergique, incluant le terminal présynaptique, de diffusion et de transport de glutamate dans la fente, du AMPAr, du NMDAr, du mGluR-5 et de sa voie de signalisation, et de l'intégration des courants et de la dynamique du calcium dans l'épine dendritique, ainsi que des modèles de la synapse GABAergique, incluant le terminal présynaptique, la diffusion et le transport du GABA dans la fente, le GABA<sub>A</sub>r et le GABA<sub>B</sub>r couplé au canal *G protein-coupled Inwardly-Rectifying potassium channel* (GIRK). De plus, le choix de l'application au traitement des maladies neurodégénératives a orienté les travaux vers l'établissement d'un modèle de la LTP dans l'aire CA1 de l'hippocampe, et de sa modulation par différents composés pharmacologiques, ayant pour cible le AMPAr d'une part et de la signalisation cholinergique d'autre part. En particulier : le modèle d'AMPAr a été enrichi de l'influence de modulateurs allostériques ; un modèle de nAChR  $\alpha_7$  a été intégré au terminal présynaptique (Figure B.4) ; et un modèle d'AChE, incluant l'influence d'inhibiteurs a été développé (Figure B.3).

### 5.3 Modèle simplifié de LTP

Comme nous venons de l'exposer, le phénomène de LTP semble exister sous des formes diverses, et mettre en jeu des voies de signalisations multiples et complexes. Compte tenu de sa grande part d'inconnu, et dans un effort de synthèse, il nous a paru nécessaire d'implémenter un modèle qui intègre les éléments essentiels de ce phénomène. Nous avons choisi d'implémenter et de mettre en œuvre un tel modèle à partir de celui élaboré et des résultats publiés dans une série d'études (Shouval *et al.*, 2002b,a; Shouval et Kalantzis, 2005; Shah *et al.*, 2006) (Figure D.1). Ce choix a été motivé par la capacité de ce modèle à intégrer de manière relativement simple et synthétique les effets fonctionnels de la LTP en conservant la possibilité d'y inclure des cibles et des mécanismes pharmacologiques au niveau de la synapse (Figure 5.2).

Ce modèle est basé sur la plasticité synaptique induite dans un type de protocole particulier, appelée plasticité synaptique dépendante de la synchronisation des décharges ou *Spike-Timing-Dependent Plasticity* (STDP). La STDP est induite par l'application de dépolarisations brèves et quasi simultanées des compartiments pré- et postsynaptiques. Dans ce protocole, le délai entre les deux dépolarisations conditionne le sens et l'amplitude de la modulation de l'efficacité synaptique (Markram *et al.*, 1997; Sjöström *et al.*, 2001). Bien que ce protocole expérimental soit difficile à mettre en relation avec une activité neuronale *in vivo*, il permet de mettre en évidence l'importance de la synchronisation pré- et postsynaptique, tout en isolant l'induction et l'expression précoce de la LTP NMDAr-dépendante (Shah *et al.*, 2006). De plus, il a permis de concevoir un modèle relativement simple des étapes-clés de l'induction, en se basant sur une caractéristique reliant l'amplitude de la vague calcique à l'augmentation de la conductance AMPAr (Figure 5.2D).

La configuration de référence pour cette application est le modèle de synapse glutamatergique, incluant la LTP, que l'on instancie sur les branches obliques du *s.r.* du modèle de neurone pyramidal décrit dans la section 4.1 (Figure 5.2A,B). On modélise les axones des CS par des sections contenant les conductances  $Nav$  et  $K_{DR}$ , auxquelles on connecte le modèle de terminal présynaptique. Le protocole 5-TBS est simulé par l'application d'impulsions synchrones et brèves de courant dans les axones, qui génèrent des PA se propageant jusque dans le terminal, soit typiquement 5 trains de 5 impulsions à 100 Hz délivrés à 5 Hz (Figure 5.2C). L'exocytose du glutamate est déclenchée par les PA, via l'activation des VDCC et l'augmentation transitoire de calcium dans le terminal (Figure 5.3). Une probabilité unitaire d'exocytose de 0,4 est utilisée dans les conditions contrôle, donnant lieu à des amplitudes variables des courants et des vagues calciques conduites par les NMDAr dans l'épine dendritique (Figure 5.2C). Le maximum d'amplitude de la vague de calcium postsynaptique (pic calcique) active le processus d'expression de LTP (Figure 5.2D), et donne lieu à l'insertion de AMPAr, selon un facteur de potentialisation  $LTP_f$ , augmentant l'amplitude des CPSE unitaires après expression (Figure 5.2E,F).

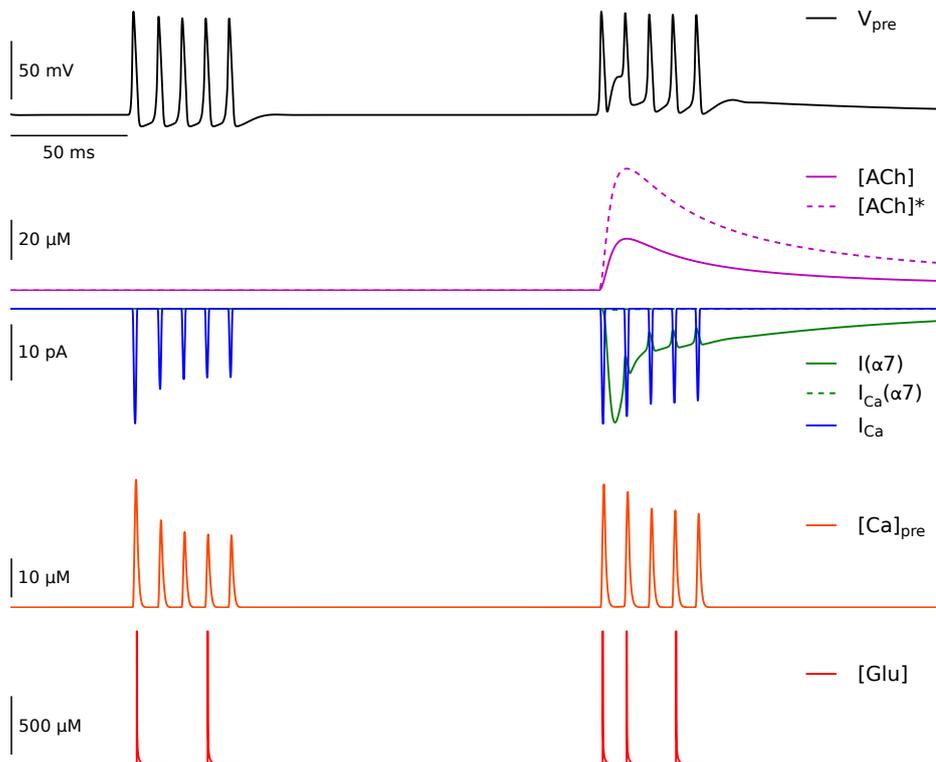


**Figure 5.2** – Modélisation et simulation de l'induction de LTP. **A,B** - Modèle de synapse glutamatergique utilisé pour l'application, et intégration de 30 synapses sur une oblique d'une PC. **C** - L'application de 5 TBS provoque des vagues calciques dans les compartiments présynaptiques. **D** - Le pic calcique (i.e. concentration maximale de la vague) de chaque synapse est « enregistré » par le modèle de LTP, via la fonction  $\Omega$  qui détermine l'amplitude de la potentialisation. Les marques de couleur représentent les pics calciques de chaque synapse. **E** - Modification du nombre d'AMPA de chaque synapse, pendant la phase d'expression. **F** - CPSE déclenchés par l'application d'une impulsion de glutamate (1 mM, 1 ms) pour chaque synapse après la phase d'expression.

## 5.4 Résultats principaux

### 5.4.1 Modulation de l'exocytose de glutamate par les récepteurs nicotiques

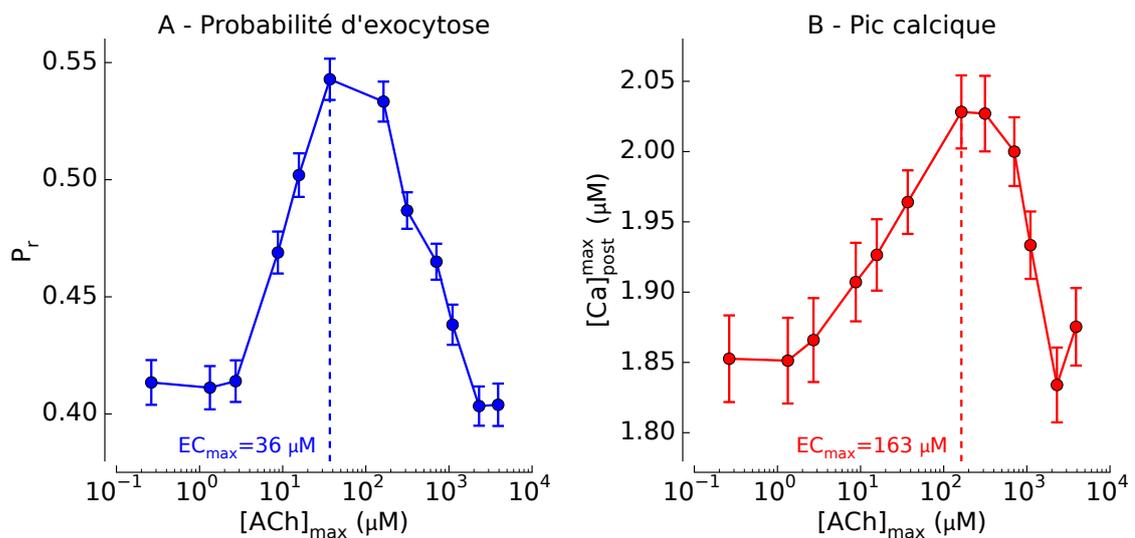
Dans une première partie, l'étude s'est concentrée sur les effets de la modulation de l'exocytose du glutamate par les nAChR  $\alpha_7$ . Une première observation, illustrée dans la configuration de test Figure 5.3, est le caractère indirect de la modulation nicotinique. La faible perméabilité au calcium du récepteur-canal  $\alpha_7$  ( $P_{rel}(Ca^{2+}) = 1\%$ ) ne lui permet pas d'augmenter significativement la concentration locale, propre à favoriser une exocytose. Toutefois, on observe dans le modèle que le courant dépolarisant conduit par  $\alpha_7$  perturbe le potentiel dans le terminal, et amplifie les courants VDCC. Un mode d'action similaire, faisant intervenir une dépolarisation locale et les VDCC a été proposé par Wonnacott *et al.* (1989), sans que cela n'exclue la possibilité d'une composante directe de l'action du nAChR- $\alpha_7$ , où le flux calcique généré dans un nanodomaine proche des vésicules de glutamate serait suffisant pour faciliter leur exocytose.



**Figure 5.3** – Simulation des effets présynaptiques de la modulation nicotinique. Dans une configuration de test, on applique deux TBS aux axones des CS, qui se propagent dans le terminal présynaptique (noir). Lors du deuxième train, on déclenche une exocytose d'ACh, dont l'amplitude est diminuée par l'action de l'AChE (mauve, [ACh]\* : concentration d'ACh sans action de l'AChE). Le courant calcique conduit par l' $\alpha_7$  est négligeable (tirets verts), mais son courant total permet d'élever localement le potentiel de membrane (noir) et d'augmenter l'amplitude des courants calciques conduits par les VDCC (bleu). Les pics de concentration de calcium dans le terminal sont augmentés (orange), ce qui facilite l'exocytose de glutamate (rouge) et augmente sa probabilité.

Ensuite, la modulation de l'exocytose de glutamate par un inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChEi) a été évaluée. Pour ces tests, le protocole d'induction de 5-TBS est couplé à l'activation concomitante de terminaux cholinergiques à 5 Hz. L'ACh délivrée dans la fente synaptique est hydrolysée par l'AChE, modélisée par un KM dont la cinétique peut être modulée par la présence d'AChEi (Figure B.3). On simule ainsi l'effet de l'AChEi sur la concentration maximale d'ACh dans la fente synaptique, qui sera prise comme quantité de référence dans la présentation des résultats pour ne pas révéler les propriétés exactes du composé étudié, afin de respecter les contraintes de confidentialité associées au programme. On fait varier la concentration d'AChEi, et on mesure le nombre d'événements d'exocytose ainsi que le calcium postsynaptique (Figure 5.4). Pour chaque point, 3 simulations ont été effectuées, avec des valeurs différents pour l'initialisation du générateur de nombres aléatoires (*seed*), soit pour 30 synapses un nombre total de 90 mesures pour chaque concentration, dont on extrait la moyenne et l'erreur-type de la moyenne, *standard error of the mean* (s.e.m.).

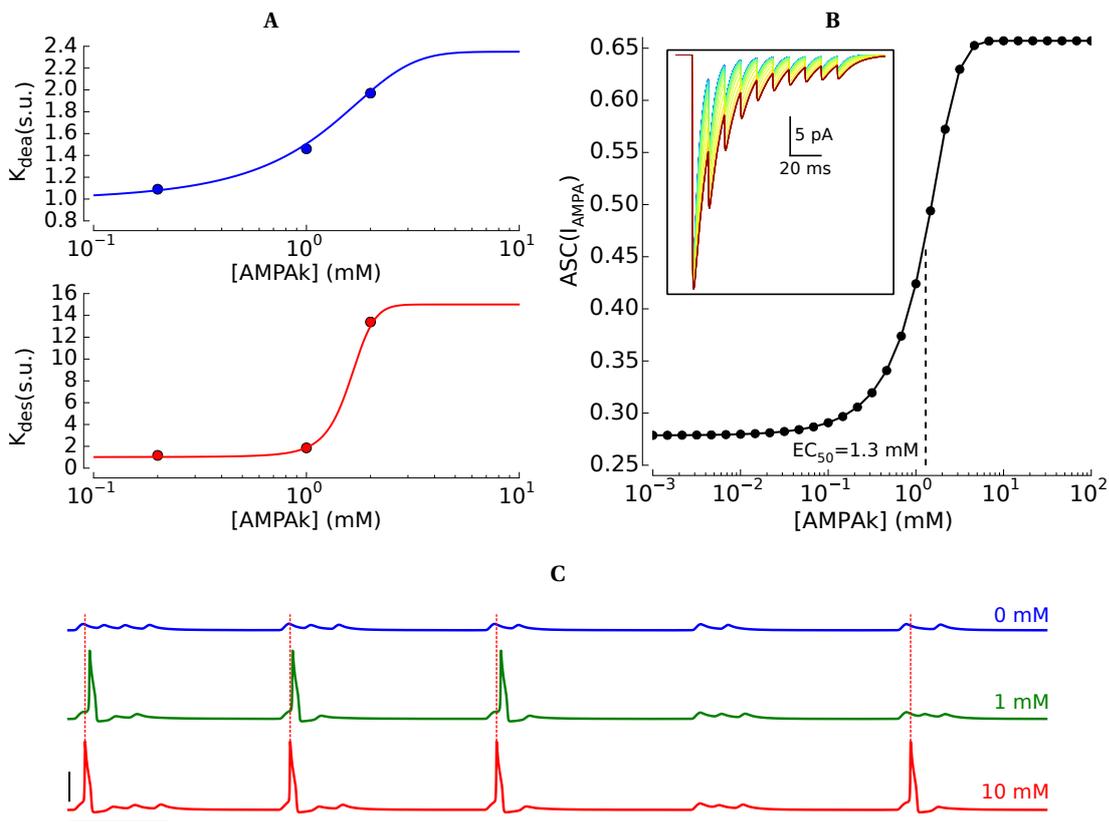
Les dose-réponses (DR) décrivent des « courbes en cloche » caractéristiques de la réponse des nAChR, dont la forte désensibilisation les rendent moins efficaces pour de fortes doses d'agonistes (Figure 5.4). De plus, les pics d'efficacité sont décalés pour les deux observables : la probabilité d'exocytose est maximale pour une concentration d'ACh de 36  $\mu\text{M}$ , et la concentration de calcium dans l'épine est maximale à 163  $\mu\text{M}$ . Cette forme de réponse à un composé pharmacologique représente un obstacle à son utilisabilité, car la maîtrise de la dose exacte disponible au niveau des synapses est sujette à une forte variabilité dans des conditions *in vivo*. Indépendamment des effets secondaires qui peuvent apparaître à de fortes doses et des questions de pharmacocinétique ou de toxicité, ce type de profil est problématique car il sera difficile de prévoir la dose à administrer permettant de rester dans la zone de meilleure efficacité.



**Figure 5.4** – Modulation simulée de la transmission synaptique par l'AChEi. DR, rapportées à la concentration d'ACh, de la probabilité d'exocytose (A,  $P_r$ ), et du maximum de la concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  dans l'épine dendritique (B,  $[\text{Ca}]_{\text{post}}^{\text{max}}$ ), pour le protocole 5-TBS (N = 90, moyenne  $\pm$  s.e.m.).

5.4.2 Modulation des courants postsynaptiques par le modulateur AMPAk

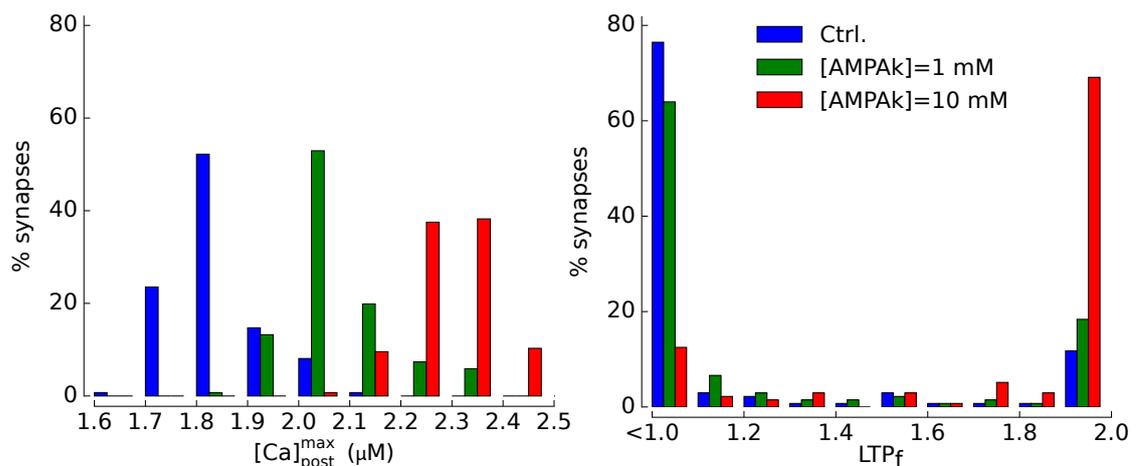
D'autre part, nous avons caractérisé l'effet de l'ampakine AMPAk, un modulateur allostérique positif du AMPAr. L'action de l'AMPAk sur AMPAr est modélisée par l'établissement de fonctions liant sa concentration aux paramètres cinétiques de désactivation et de désensibilisation du récepteur, par les facteurs  $K_{dea}$  et  $K_{des}$  (resp.), à partir de résultats expérimentaux (Barbour *et al.*, 1994) (Figure 5.5A). Ces deux paramètres modifient la quantité de courant transmis par le récepteur : la diminution de la cinétique de désactivation augmente le temps de fermeture du canal après une activation unique, et la diminution de la cinétique de désensibilisation ralentit l'atténuation des réponses suite à des activations répétées. Dans le test élémentaire Figure 5.5B, on déclenche 10 libérations de glutamate à 100 Hz, et on mesure la quantité de courant transmis par le récepteur, afin d'établir la DR du courant AMPAr pour l'AMPAk. L'augmentation des CPSE et des PPSE AMPAr par l'AMPAk augmente la propension de la PC à décharger pendant le protocole 5-TBS, et modifie le *timing* des PA (Figure 5.5C).



**Figure 5.5** – Modulation simulée de la cinétique du AMPAr par l'AMPAk. **A** - Modulation des facteurs de désactivation et de désensibilisation du récepteur comme des fonctions de la concentration d'AMPAk. **B** - DR de la quantité de courant générée (aire sous la courbe  $ASC(I_{AMPA})$ ) par l'application de 10 impulsions à 100 Hz. Insert : réponses temporelles pour les différentes concentrations (du bleu au rouge pour les doses croissantes). **C** - Modification de la décharge de la PC lors du protocole 5-TBS pour [AMPAk] = 0 ; 1 et 10 mM (barres d'échelle /x : 100 ms, /y : 50 mV).

### 5.4.3 Non-linéarité de la LTP : quantification « tout-ou-rien »

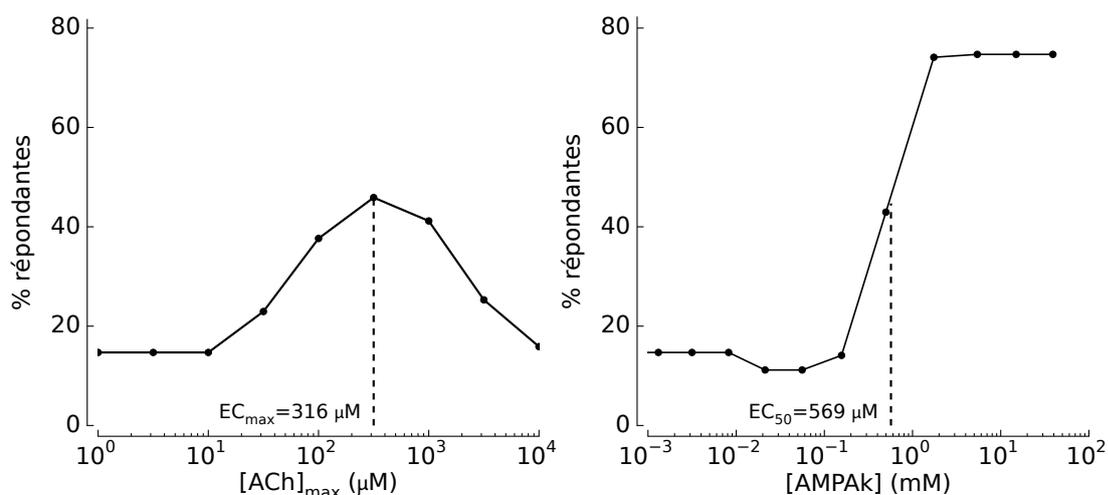
Une autre observation effectuée concerne la manière d'analyser les résultats de l'induction de LTP dans ce modèle. En testant les différents composés, et en recherchant une mesure pour quantifier le degré d'expression de LTP, il est apparu que les synapses se regroupaient majoritairement vers les états potentialisés ou non-potentialisés, laissant une minorité de synapses dans des états intermédiaires. Cette observation résulte de la non-linéarité de la fonction d'induction  $\Omega$  du modèle de LTP. Dans l'exemple Figure 5.6, suite à l'induction par 5-TBS, on remarque que les pics calciques suivent des distributions larges, modulées par la concentration d'AMPAk appliquée, alors qu'au contraire, les facteurs de potentialisation  $LTP_f$  suivent des distributions étroites centrées sur les extrema de la fonction  $\Omega$ . La transition abrupte de la caractéristique  $\Omega$  induit en effet une polarisation de l'expression vers les états extrêmes, et suggère une analyse en « tout-ou-rien » du mécanisme au niveau d'une synapse individuelle. Ainsi, l'effet des composés AChEi et AMPAk peut être évalué en dénombrant les synapses potentialisées ( $LTP_f > 1,5$ ), qualifiées de synapses répondantes (Figure 5.7). Considérant des populations de synapses et sur la base de plusieurs simulations, les DR conservent une progressivité et leurs formes globales, mais cette analyse introduit des changements dans l'amplitude et les concentrations efficaces des composés ( $EC_{50}$ ,  $EC_{max}$ ).



**Figure 5.6** – Histogrammes de répartition des synapses (% de la population) en fonction des pics calciques (à gauche :  $x = [Ca]_{post}^{max}$ ;  $\Delta x = 0,1 \mu M$ ;  $\bar{x} = 1,86$ ;  $2,08$ ; et  $2,30 \mu M$  pour [AMPAk] = 0; 1 et 10 mM resp.) et des facteurs de potentialisation (à droite :  $x = LTP_f$ ;  $\Delta x = 0,1$ ), suite à l'induction de LTP par 5-TBS (N = 150).

### 5.4.4 Étude de combinaisons : AChEi et AMPAk

Un autre aspect important du programme était de démontrer l'intérêt de la modélisation et de la simulation pour l'étude de combinaisons de composés multiples. À titre d'exemple, nous présentons ici les résultats des combinaisons de différentes doses d'AChEi et d'AMPAk, sur la base du même protocole d'induction 5-TBS, en mesurant le pic calcique et la fraction de



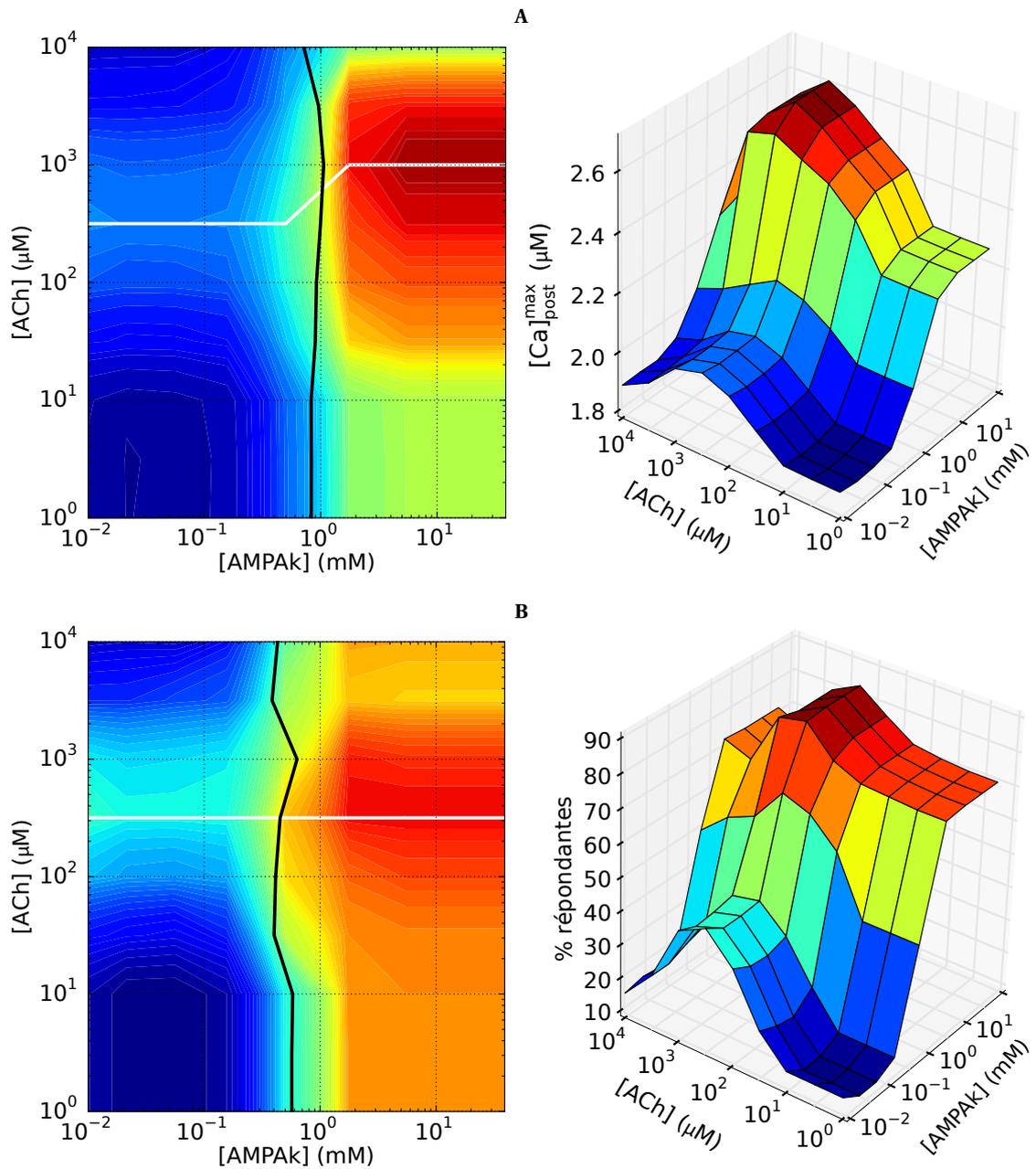
**Figure 5.7** – DR simulées de la fraction de synapses potentialisées (% répondeantes) pour AChEi et pour AMPAk.

synapses répondeantes. On observe Figure 5.8 que les formes des DR sont conservées pour toutes les combinaisons, mais que les amplitudes relatives des effets, et les concentrations efficaces ( $EC_{50}$ ,  $EC_{max}$ ) varient en fonction de la concentration du composé combiné. Par exemple, l' $E_{max}$  de l'ACh sur le pic calcique augmente lors de la présence d'une concentration d'AMPAk supérieure à son  $EC_{50}$  (Figure 5.8A), et la « courbe en cloche » de la réponse nicotinique est moins ample à des concentrations élevées d'AMPAk, lorsqu'on observe la fraction de synapses répondeantes (Figure 5.8B).

Ensuite, une des problématiques réside dans l'évaluation du synergisme des combinaisons. De manière générale, il est intéressant de déterminer les conséquences de l'application conjointe de deux composés : dans le cadre de la toxicologie, cette notion de synergisme est devenue une préoccupation majeure des autorités de régulation des produits chimiques (loi REACH<sup>1</sup>), où on qualifie d'« effet-cocktail » l'ensemble des conséquences néfastes notables de l'exposition à des combinaisons de multiples produits chimiques, qui n'ont pas ou peu d'effet pris indépendamment à des doses faibles. Dans le cadre médical, la prescription de plusieurs médicaments peut produire des réactions complexes, avec des effets exagérés ou diminués par rapport à leurs efficacités individuelles. D'une part, ne connaissant pas les mécanismes d'action exacts des composés, l'efficacité du traitement proposé au patient peut être dramatiquement réduite, et/ou les effets secondaires peuvent être augmentés. À l'inverse, la mise au point rationnelle d'une polythérapie peut conduire à des efficacités supérieures, à l'utilisation de doses moins importantes, et à un meilleur contrôle des effets secondaires.

Brièvement, l'effet pharmacologique d'une combinaison est qualifié d'additif si les composés y contribuent proportionnellement à leurs efficacités propres. L'additivité est attendue si les mécanismes d'action sont effectivement indépendants. Cette même combinaison sera

1. <http://www.developpement-durable.gouv.fr/REACH-contexte-et-mise-en-oeuvre.html>



**Figure 5.8** – Effets simulés des combinaisons AChEi et AMPAk sur la LTP, évalués par la moyenne du pic calcique (A) et la fraction de synapses répondeantes (B). Les cartes à gauche sont les projections des surfaces 3D à droite, et représentent les mêmes données, les couleurs froides et chaudes indiquant respectivement des valeurs faibles et élevées de la variable de l'axe z du graphe 3D. Les lignes blanches et noires des cartes représentent les concentrations efficaces de ACh et AMPAk ( $EC_{max}$  et  $EC_{50}$ , resp.).  $N = 50$  en chaque point.

## Chapitre 5. Modulation pharmacologique de la potentialisation synaptique

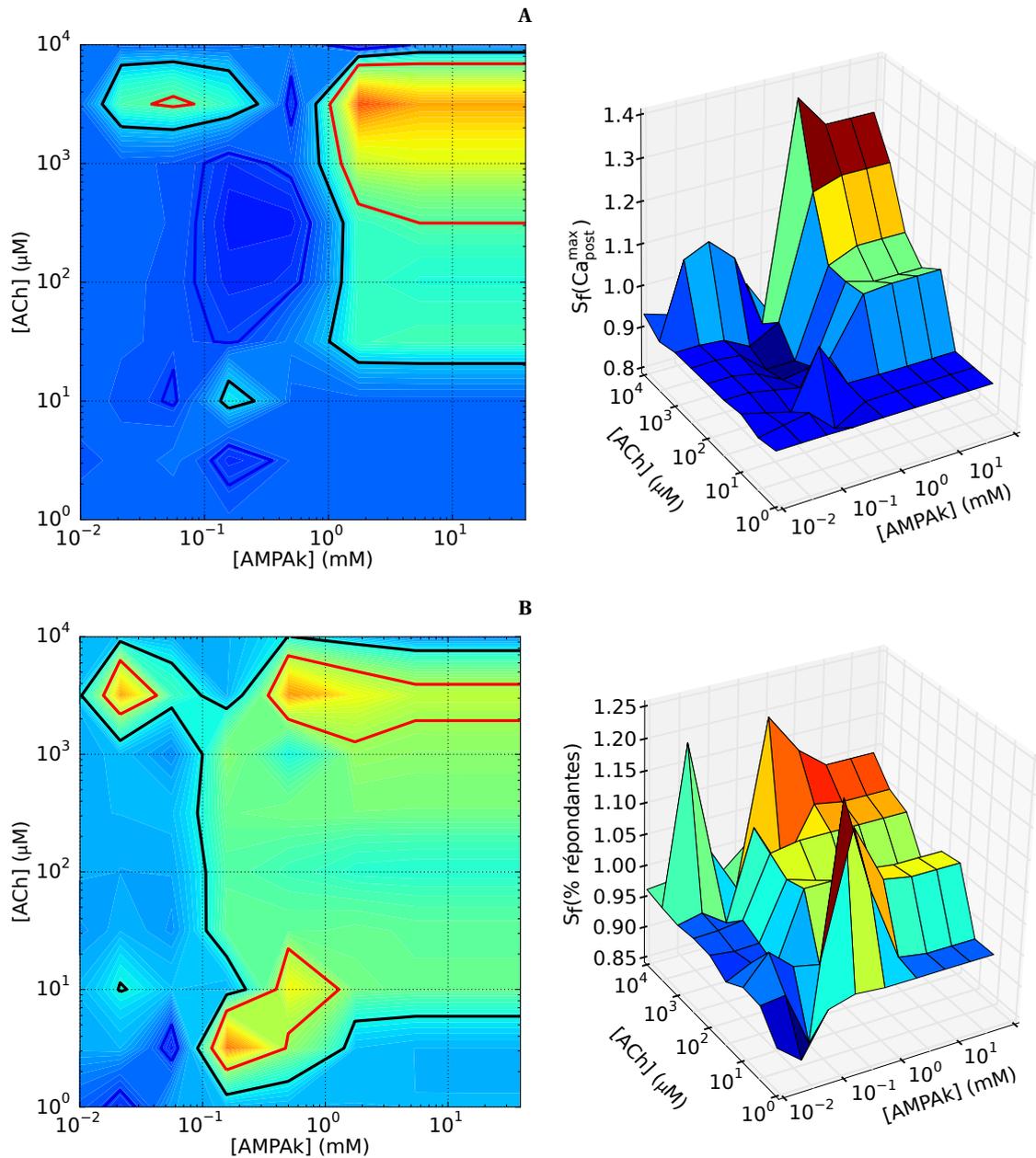
---

qualifiée de synergique (ou d'asynergique, resp.) si l'effet total est supérieur (ou inférieur, resp.) à la somme des effets des composés appliqués seuls. En fonction des situations et des mécanismes d'action des composés étudiés, plusieurs méthodes permettent d'évaluer quantitativement l'efficacité de la combinaison (Tallarida, 2001). Puisque la simulation permet de tester et de combiner virtuellement un grand nombre de composés et de concentrations, nous avons retenu pour cette application, une méthode consistant à calculer un index de synergie (ou facteur de synergie  $S_f$ ) :

$$S_f(x, y) = \frac{Z(x, y) - Z(0, 0)}{(Z(x, 0) - Z(0, 0)) + (Z(0, y) - Z(0, 0))} , \quad (5.1)$$

où  $x$  et  $y$  sont les concentrations de chaque composé pour un point donné,  $Z(x, y)$  est l'effet produit par cette combinaison,  $Z(0, 0)$  est l'effet obtenu en condition contrôle (sans produit), et  $Z(x, 0)$  et  $Z(0, y)$  sont les effets obtenus pour les concentrations  $x$  et  $y$  de produits appliqués seuls.

Cet index établit le ratio entre l'effet combiné et les effets individuels, et permet d'évaluer si la combinaison des deux composés appliqués aux concentrations respectives  $x$  et  $y$  produit un effet asynergique ( $S_f < 1$ ), additif ( $S_f = 1$ ) ou synergique ( $S_f > 1$ ). Appliquée aux effets de différentes combinaisons de concentrations d'AChEi et d'AMPAk, mesurés par le pic calcique et la fraction de synapses répondantes, cette analyse donne lieu aux surfaces de la Figure 5.9. On y observe différents domaines d'efficacité correspondant à une asynergie ou une synergie des deux concentrations (couleurs froides et chaudes, resp.), séparés par la ligne de niveau correspondant à l'additivité (lignes noires,  $S_f = 1$ ). En l'occurrence, en fonction de l'observable analysée, ces domaines peuvent être continus (fraction de synapses répondantes, B) ou discontinus (pic calcique, A), et couvrir des plages plus ou moins grandes des concentrations testées. On observe en revanche que les zones d'efficacité maximale (délimitées par les lignes rouges,  $S_f \geq 1,1$ ) sont relativement conservées entre les deux observables, mais que la zone d'asynergie observée pour le pic calcique (domaine délimité par une ligne bleue,  $S_f < 0,9$  en A) contredit la faible synergie indiquée pour la fraction de synapses répondantes (B). Ces plages de concentrations ont été utilisées par les laboratoires-partenaires du programme pour mener des tests expérimentaux de LTP. Les composés seuls et combinés ont été testés selon des protocoles *in vitro* et *in vivo* et les résultats ont confirmé l'existence de synergies pour plusieurs combinaisons (Figure D.2).

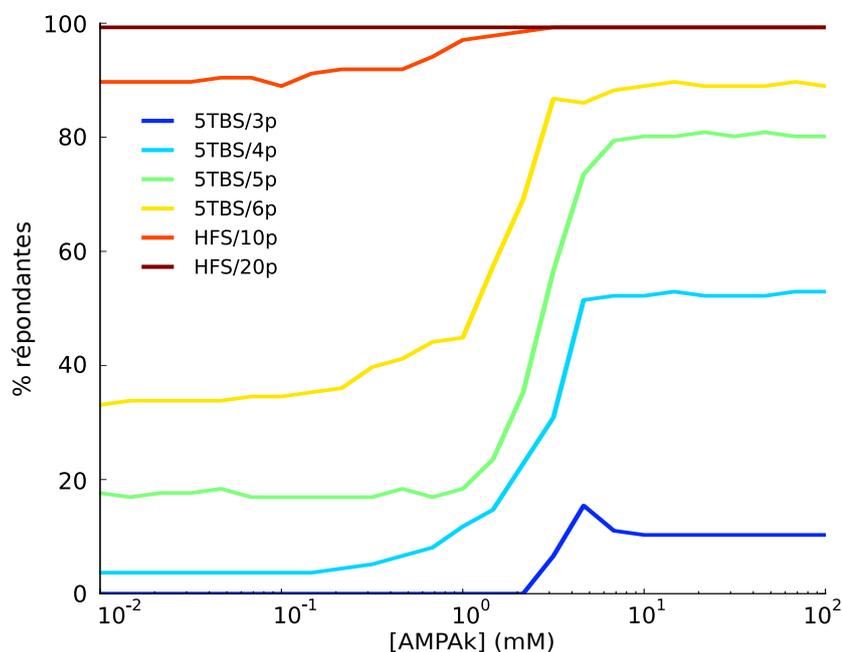


**Figure 5.9** – Indices de synergie  $S_f$  des effets simulés des combinaisons AChEi et AMPAk sur la LTP, calculés par la formule (5.1) en chaque combinaison de concentrations, pour la moyenne du pic calcique (A) et la fraction de synapses ré pondantes (B). Les cartes à gauche sont les projections des surfaces 3D à droite, et représentent les mêmes données, les couleurs froides et chaudes indiquant respectivement des valeurs faibles et élevées de la variable de l'axe  $z$  ( $S_f$ ) du graphe 3D. Les lignes de niveau noires, bleues et rouges représentent des valeurs de  $S_f = 1$ ;  $S_f = 0,9$  et  $S_f = 1,1$  (resp.).  $N = 150$  en chaque point.

### 5.4.5 Importance du protocole d'induction

Enfin, un autre travail de modélisation et de simulation dans ce programme a consisté à évaluer l'impact des protocoles d'induction de LTP sur les résultats pharmacologiques, dont nous avons déjà évoqué certains aspects dans la sous-section 5.1.1. Lors de l'évaluation *in vitro* de l'effet de composés de référence et de combinaisons, il a été constaté que certains d'entre eux n'avaient pas les efficacités attendues. En simulant différents protocoles, il s'est avéré que le protocole SHF employé dans certaines expérimentations n'était pas le plus adapté à nos applications.

En effet, la caractéristique du modèle de LTP comprend une forme de saturation, où l'élévation du pic calcique au delà d'une certaine valeur n'induit pas plus de potentialisation : la simulation des DR de l'AMPAk pour différents protocoles illustre cet effet (Figure 5.10). On observe en effet que la DR de l'AMPAk est dépendante du protocole : par exemple, un protocole trop faible ne permet pas d'observer d'effet significatif, même à des concentrations importantes. À l'inverse, l'emploi de stimuli tétaniques intenses de type SHF provoque des potentialisations maximales et saturent l'expression de la LTP, même en l'absence du composé, ce qui ne permet pas d'en révéler les effets.



**Figure 5.10** – Effets simulés de différents protocoles d'induction de LTP sur la DR de l'AMPAk, exprimés comme la fraction de synapses répondantes ( $N = 150$ ). Les protocoles TBS, notés XTBS/Yp consistent en l'application de X trains de Y impulsions à 100 Hz, délivrés à 5 Hz, et les protocoles SHF notés HFS/Yp consistent en l'application de Y impulsions à 100 Hz.

## 5.5 Discussion et perspectives de l'étude

La plasticité synaptique et la LTP sont les phénomènes synaptiques fondamentaux de la formation de la mémoire, en particulier dans l'hippocampe. L'application que nous venons de présenter ici a consisté en la mise en œuvre de différents modèles, dont un modèle de LTP permettant d'étudier certains aspects de ce phénomène au niveau synaptique. Menée dans le cadre d'un programme de recherche, cette application a permis d'étudier les effets de différents composés pharmacologiques sur la LTP, en révélant les composantes critiques pré- et postsynaptiques de leurs mécanismes d'action. De plus, la modélisation et la simulation appliquée à ce programme a permis d'étudier virtuellement et de prédire l'action des combinaisons de ces produits à de multiples concentrations, et a participé à guider et à améliorer les procédures des tests *in vitro* et *in vivo* mis en œuvre par les partenaires expérimentateurs.

D'abord, le modèle de l'action présynaptique de l'ACh a mis en évidence une modulation concentration-dépendante de la probabilité d'exocytose, qui prend la forme d'une « courbe en cloche » sous l'effet de la désensibilisation des nAChR, et qui se transpose au compartiment postsynaptique par une modulation similaire de l'amplitude de la vague calcique déclenchée par les protocoles simulés d'induction (Figure 5.4). Cette propriété est importante dans le cadre du développement de molécules ciblant les nAChR, car la plage d'action optimale de l'ACh est de fait restreinte. Du point de vue du modèle, ces effets pourraient être mis en perspective par l'ajout de récepteurs présynaptiques, en particulier les mAChR M2/M4, qui exercent une action inhibitrice sur l'exocytose de glutamate dans ces synapses CS-CA1. En outre, une modélisation plus fine des phénomènes présynaptiques pourra être développée, avec l'inclusion de nanodomains de calcium et une modélisation détaillée de l'action des protéines participant à l'exocytose des vésicules (*v*-SNARE, *Synaptic Vesicle glycoprotein 2A* (SV2A)). Dans cette perspective, des simulations prenant en compte les fluctuations stochastiques de l'état des protéines et de la diffusion des molécules (e.g.  $\text{Ca}^{2+}$ ) pourront accroître la précision et le caractère prédictif des résultats (Bennett *et al.*, 2000a,b; Nadkarni *et al.*, 2010), (cf. section 2.2).

Ensuite, l'action postsynaptique d'un modulateur des AMPAr sur la LTP a été modélisée. En modifiant les paramètres cinétiques du récepteur de manière concentration-dépendante, les effets sur la dynamique des CPSE et des pics calciques produits par les protocoles d'induction de LTP ont été simulés. Cette approche montre qu'il est possible de tenir compte des effets de modulateurs allostériques, sans nécessairement ajouter au KM la multitude d'états formés par la liaison de composés allostériques (cf. section 3.5).

Les résultats du modèle ont mené à une analyse en « tout-ou-rien » du phénomène de LTP au niveau synaptique. Cette conclusion est en accord avec des résultats expérimentaux récents (Kramár *et al.*, 2012), suggérant l'existence de synapses avec différents niveaux de potentialisation, et que la gradation de la plasticité s'opérerait par le recrutement de plus ou moins de synapses dans le processus. La question de la nature de la LTP au niveau synaptique, en particulier de savoir si elle est faite d'états discrets ou s'il existe une continuité d'états de potentialisation, reste une question ouverte. La présence de molécules, comme la CamKII,

## Chapitre 5. Modulation pharmacologique de la potentialisation synaptique

---

jouant le rôle de mémoires et d'interrupteurs, et formant des caractéristiques non linéaires du message calcique, encouragent toutefois l'hypothèse d'un phénomène à états discrets (Baudry et Lynch, 2001; Hayer et Bhalla, 2005; Manninen *et al.*, 2010).

Du point de vue du modèle, il est notable encore que cette analyse est la conséquence relativement directe de la forme de la caractéristique d'induction  $\Omega$ , qui peut être sujette à caution, car validée dans le cadre des protocoles particuliers de la STDP (Lisman et Spruston, 2005). Afin de la compléter, des modèles plus complexes sont en cours de développement à Rhenovia Pharma. Il s'agit de prendre en compte explicitement les différentes protéines et les réactions enzymatiques des voies de signalisation de l'expression de la LTP, en réinvestissant les résultats de travaux expérimentaux et computationnels (Castellani *et al.*, 2001, 2005; Castellani et Zironi, 2010; Zhabotinsky, 2000), dont certains abondent à l'hypothèse d'un phénomène bistable (Hayer et Bhalla, 2005) (voir Manninen *et al.* (2010) pour une revue). La plupart de ces modèles concernent néanmoins les phénomènes de l'induction et de la phase précoce de l'expression, et la mise en œuvre de modèles permettant de simuler les phénomènes liés à la consolidation, prenant en compte les mécanismes post-traductionnels et les modifications morphologiques inhérents à la plasticité synaptique pourront fournir de nombreux éclairages sur les propriétés de ce phénomène et de ses dysfonctions pathologiques.

De plus, et en conservant un modèle de LTP similaire à celui présenté ici, il pourra être intéressant d'ajouter les modèles, les protocoles et les observables du niveau neuronal et des microcircuits hippocampiques (chapitre 4), en s'inspirant de résultats existants (Hasselmo et Schnell, 1994; Cutsuridis *et al.*, 2010a). En se basant sur notre modèle de PC capable de simuler l'initiation et la propagation de PA dendritiques, et en l'augmentant éventuellement des effets inhibiteurs GABAergiques et muscariniques, il doit être possible de simuler des séquences excitatrices de la VP, codantes d'une information, leur stockage par potentialisation des synapses des CS, et leur restitution par les séquences de décharges des PC de CA1. À l'aide d'un tel modèle, le caractère prédictif de la simulation de conditions pathologiques et de l'action de médicaments sera enrichi par des observables de plus haut niveau, telles que la qualité de restitution de l'information contenue dans le *timing* des séquences de décharge des voies afférentes. Différentes conditions, incluant des conditions pathologiques comme celles de la maladie d'Alzheimer pourront ainsi être intégrées au modèle, ainsi que l'effet de différents médicaments testés virtuellement (Zou *et al.*, 2011; Culmone et Migliore, 2012).

Le travail présenté dans ce chapitre montre que la simulation permet d'explorer des questions fondamentales et translationnelles, et constitue un outil puissant pour la recherche et le développement de nouveaux traitements pharmacologiques. La possibilité en particulier d'effectuer de nombreux tests et d'explorer systématiquement différentes conditions et méthodes d'analyse, facilite le développement rationnel de combinaisons de molécules à même d'aborder la complexité des origines multifactorielles des maladies neurodégénératives. L'étude de l'épilepsie présentée dans le chapitre suivant permet d'aborder un niveau supplémentaire d'intégration, et d'étudier numériquement les mécanismes de l'hyperexcitabilité neuronale.

## Hyperexcitabilité neuronale & épilepsie méso-temporale

L'épilepsie est une affection neurologique grave caractérisée par la survenue de crises qui sont la conséquence d'une activité effrénée de certaines zones du cerveau, et qui s'accompagne de nombreuses comorbidités affectant dramatiquement la vie des malades. Au delà de l'épilepsie généralisée, dite « grand-mal », dont chacun connaît les manifestations convulsives, il existe diverses formes de la pathologie, dont certaines touchent la formation hippocampique, et qui sont le plus souvent pharmaco-résistantes, telles que l'épilepsie de la face médiale du lobe temporal (EMLT). De plus, l'épilepsie est elle-même un trouble associé à de nombreuses autres pathologies, telles que des maladies du développement (e.g. les TSA, Brooks-Kayal (2010)) ou du vieillissement (e.g. la maladie d'Alzheimer, Noebels (2011)). Pour ces raisons, les neurosciences se sont attachées à expliquer les mécanismes à l'origine de ces troubles, afin de développer des médicaments permettant de les contrer. Pour autant, les conditions de développement et de survenue des crises restent en partie irrésolues, et le besoin clinique est encore important, en particulier pour traiter les formes pharmaco-résistantes de la maladie. Ainsi, le travail de Rhenovia Pharma s'est porté sur l'application de ses technologies de modélisation et de simulation à ces affections, afin d'améliorer le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques, par la recherche de combinaisons de molécules existantes, et/ou par l'identification de nouvelles cibles. Ce travail s'est inscrit dans le programme collaboratif de recherche RHENEPI, formé d'un consortium d'experts en épileptologie expérimentale et clinique, et a conduit au développement de plateformes de simulation permettant de comprendre les mécanismes cellulaires de l'hyperexcitabilité, dans le cadre de l'épilepsie de la face médiale du lobe temporal (EMLT). Modéliser l'épilepsie est un problème épineux, car elle est basée sur des mécanismes complexes faisant intervenir des échelles diverses, de la molécule aux réseaux de neurones. Ce chapitre vise à démontrer la possibilité de décrire certains de ses aspects, à partir des mécanismes neuronaux de base, et à l'aide des résultats expérimentaux de nos partenaires. À l'image de la recherche en ce domaine, ce travail est amené à bien des évolutions, notamment concernant la mise en perspective des modèles et des résultats présentés ici à l'échelle des réseaux.

### 6.1 Généralités sur l'épilepsie

#### 6.1.1 Définitions et Catégories

L'épilepsie est une affection neurologique chronique qui affecte environ 50 millions de personnes dans le monde, soit une prévalence située entre 4 et 10 pour 1 000 personnes, probablement plus élevée encore dans les pays en voie de développement d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Elle est caractérisée par la survenue spontanée et répétée d'événements interrompant le fonctionnement cérébral physiologique : les crises épileptiques traduisent une activité neuronale excessive ou synchrone anormale dans le cerveau, et se manifestent par des convulsions et/ou des pertes de conscience. L'épilepsie est associée à des troubles neurologiques, cognitifs, psychiatriques et socio-professionnels, ainsi qu'à une mortalité deux à trois fois supérieure à celle de la population générale. Dans sa définition conceptuelle, d'après l'International League Against Epilepsy (ILAE), l'épilepsie est donc « un trouble cérébral, caractérisé par une prédisposition durable à générer des crises épileptiques, et les conséquences neurobiologiques, cognitives, psychologiques et sociales de cette affection » (Fisher *et al.*, 2014).

Ainsi, l'épilepsie est par définition un état chronique, et l'apparition d'une crise unique n'est pas suffisante pour en effectuer le diagnostic. On différencie donc deux processus actifs dans la maladie : l'**épileptogenèse** regroupe l'ensemble des événements aboutissant à cet état chronique de prédisposition aux crises, transformant un cerveau sain en cerveau épileptique, et l'**ictogenèse** qualifie l'ensemble des processus précédant et créant les crises chez le patient.

Classifiées par l'ILAE (Figure E.1), les crises épileptiques peuvent être généralisées ou focales (Berg *et al.*, 2010). Les crises généralisées sont caractérisées par une activité paroxystique s'étendant rapidement aux deux hémisphères cérébraux (e.g. crise tonico-clonique, ou crise-absence), alors que les crises focales restent confinées aux régions et réseaux d'un seul hémisphère. Les crises focales sont décrites par la localisation des régions impliquées, et peuvent être des crises du lobe temporal, frontal ou occipital. La terminologie des épilepsies se fait aussi en fonction de leurs causes sous-jacentes (génétiques, structurales/métaboliques), de l'âge de début, ou encore des syndromes électrocliniques associés (i.e. de l'anomalie observée sur l'électroencéphalogramme (EEG)). Un état de mal épileptique se prolongeant plusieurs minutes, ou une succession de crises ne permettant pas le retour à la conscience entre deux attaques est appelé *Status Epilepticus* (SE). C'est un état dangereux, potentiellement mortel, relevant de l'urgence médicale (Chen et Wasterlain, 2006).

Dans un rapport de la commission de terminologie et de classification de l'ILAE, Berg *et al.* (2010) distinguent trois catégories étiologiques de la maladie.

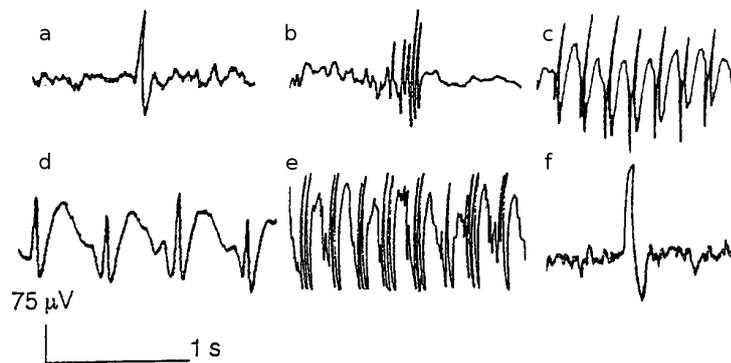
- Épilepsie génétique : la maladie est le résultat direct d'une anomalie génétique dont les crises sont le symptôme principal, et on a pu identifier de manière formelle le ou les gènes impliqués (e.g. SCN1A et syndrome de Dravet).
- Épilepsie structurale/métabolique : une lésion structurale ou un trouble métabolique,

tels qu'un accident vasculaire cérébral (AVC), un traumatisme prénatal ou périnatal, un coup reçu à la tête, ou une infection (e.g. méningite) est clairement à la source de la prédisposition aux crises. Cette catégorie englobe les anomalies du développement, d'origine éventuellement génétique, ayant une conséquence indirecte sur l'origine des crises.

- Épilepsie d'origine inconnue : dans plus de la moitié des cas, on ne peut établir formellement la cause de la maladie, bien qu'on suspecte le plus souvent une origine génétique, ou une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux.

### 6.1.2 Diagnostic

Le diagnostic d'une épilepsie se base sur le recueil des données cliniques (interrogatoire, sémiologie des crises, examen neurologique) et de données anatomiques et fonctionnelles (électroencéphalographie (EEG), tomодensitométrie (TDM), imagerie à résonance magnétique (IRM), imagerie à résonance magnétique fonctionnelle (IRMf), tomographie à émission de positons (TEP), tomographie à émission monophotonique (TEMP), magnétoencéphalographie (MEG)). Parmi cet arsenal diagnostique, l'EEG reste aujourd'hui le moyen principal pour mettre en évidence l'activité épileptique. Les caractéristiques rythmiques de l'activité électrique du cerveau sont des marqueurs fondamentaux de son organisation et de son activité physiologique, et reposent sur la synchronisation des décharges de populations de neurones au travers des réseaux qui le constitue. L'activité EEG physiologique est ainsi constituée d'ondes de périodes relativement stables permettant de définir des bandes de fréquence ou rythmes EEG : delta ( $\delta$ , 1-4 Hz), thêta ( $\theta$ , 4-8 Hz), alpha ( $\alpha$ , 8-14 Hz), bêta ( $\beta$ , 14-30 Hz), et gamma ( $\gamma$ , 30-100 Hz). Les différents rythmes sont utilisés pour identifier des processus cérébraux variés tels que la cognition, la perception, l'action motrice, les stades du sommeil etc. Typiquement, un rythme alpha d'amplitude modérée, dans un EEG de surface, est révélateur d'un état de veille calme (yeux fermés, pas d'activité motrice ou mentale), alors qu'une activité bêta des aires frontales témoigne d'une activité mentale intense. Lors de l'examen clinique, la présence d'une épilepsie est caractérisée par la présence de différents types d'anomalies paroxystiques (i.e. à début et fin brutaux, Figure 6.1), se distinguant nettement du rythme de fond, et s'organisant de manière rythmique, pendant ou entre les crises épileptiques (anomalies ictales ou interictales, resp.). Au delà de l'examen clinique classique, basé sur l'analyse visuelle de ces fluctuations dans le temps, l'EEG connaît de nombreux développements, ayant pour objectif de détecter les signes précoces de la maladie (biomarqueurs), de localiser avec une meilleure précision les foyers épileptiques, d'évaluer les états de conscience et/ou de souffrance des malades, ou encore de mesurer le bénéfice produit par un traitement. On peut citer sans prétendre être exhaustif, les systèmes d'EEG à haute résolution, les modalités combinant l'EEG avec la MEG ou l'IRMf (George *et al.*, 1995; Ritter et Villringer, 2006), et le pharmaco-EEG (Jobert *et al.*, 2012).



**Figure 6.1** – Anomalies élémentaires observables à l'EEG, d'après Briere (2013). La pointe diphasique (a), les polypointes (b), les pointes-onde (c et d), les polypointes-onde (e), et les pointes lentes (f) sont les types d'activités paroxystiques élémentaires observées à l'EEG.

### 6.1.3 Traitements

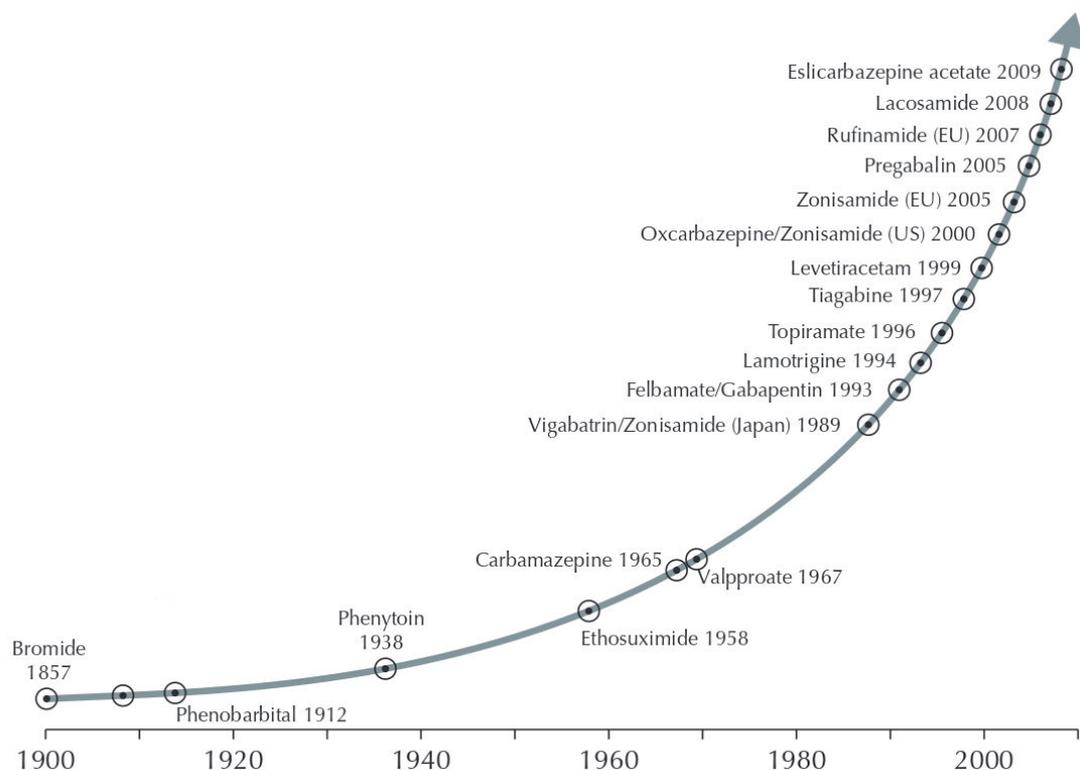
En tant que maladie chronique, l'épilepsie nécessite des traitements pharmacologiques à long terme, et plus d'une quinzaine de médicaments antiépileptiques (MAE) ont été développés pendant ces 20 dernières années. Leurs modes d'action impliquent essentiellement trois types de cibles : les canaux sodiques voltage-dépendant (Nav), les canaux calciques voltage-dépendant (VDCC), et le récepteur GABA<sub>A</sub> (GABA<sub>A</sub>R) (Kwan *et al.*, 2001). Un même médicament peut agir sur plusieurs cibles et sur des processus qui restent parfois encore inconnus. De plus, les MAE ont une efficacité qui varie selon les formes d'épilepsie et aucun n'est « universel ». Ainsi, l'éthosuccimide qui agit sur les VDCC à bas seuil, n'est efficace que sur le syndrome d'absence épileptique (« petit-mal ») et aggrave d'autres formes d'épilepsie. Inversement, la carbamazépine, très efficace sur des formes convulsives peut être aggravante sur les crises non convulsives. Plusieurs générations de MAE ont été développées et sont utilisées couramment en clinique (Figure 6.2). Cependant, ces traitements, bien qu'efficaces chez 70 % des patients, sont associés à des effets secondaires plus ou moins invalidants (problèmes cutanés, prise de poids, sédation, somnolence, trouble de la vigilance, distractibilité, vertiges, troubles de l'humeur, de l'équilibre, troubles cognitifs, toxicité hépatique, etc.). La génération de MAE la plus récente, apparue au début des années 90 (lamotrigine, vigabatrin, topiramate, zonisamide, levetiracetam, tiagabine, gabapentin, prégabaline, et plus récemment le lacosamide), représente une avancée significative sur le plan de la tolérance générale (Arzimanoglou *et al.*, 2010), sans qu'il soit toutefois possible de démontrer un net avantage sur le plan de l'efficacité.

La difficulté la plus préoccupante en clinique est que chez environ 30 % des patients épileptiques, les MAE actuels induisent une réduction insuffisante des crises ou encore sont inefficaces (Kwan et Brodie, 2000; Kwan *et al.*, 2011). Des combinaisons de médicaments sont parfois prescrites mais à ce jour, aucune règle établie ne permet de déterminer celle qui pourrait être la plus bénéfique pour un type de patient donné. La résection chirurgicale de la zone

épileptogène est possible chez certains de ces patients pharmaco-résistants lorsque le foyer épileptique peut être localisé (Engel, 1996, 2001). C'est une prise en charge difficile, risquée et coûteuse et moins d'une dizaine de centres hospitaliers en France peuvent la proposer.

Enfin, il est notable que les traitements actuels visent exclusivement à la prévention et à la suppression des crises, une fois que la maladie est déclarée. Les défis actuels et futurs de l'épileptologie sont donc d'améliorer l'identification des patients à risque d'une part, par des diagnostics précoces associés aux événements susceptibles de déclencher une épilepsie, et de développer des traitements préventifs permettant d'enrayer le développement de la maladie (épileptogénèse) chez ces patients d'autre part.

**À l'évidence, la compréhension des mécanismes à l'œuvre dans les différentes formes de la pathologie est fondamentale pour la découverte de nouveaux traitements à même de modifier les changements neurobiologiques soutenant l'épileptogénèse. Ça n'est qu'en mettant au jour les composantes communes et les différences entre les épilepsies, que l'on pourra déterminer si une situation particulière doit être traitée en mono ou en polythérapie, si les différents traitements doivent être administrés séquentiellement ou en parallèle, et les configurer de manière spécifique pour chaque étiologie et chaque phénotype.**



**Figure 6.2** – Évolution des découvertes de MAE, d'après Arzimanoglou *et al.* (2010).

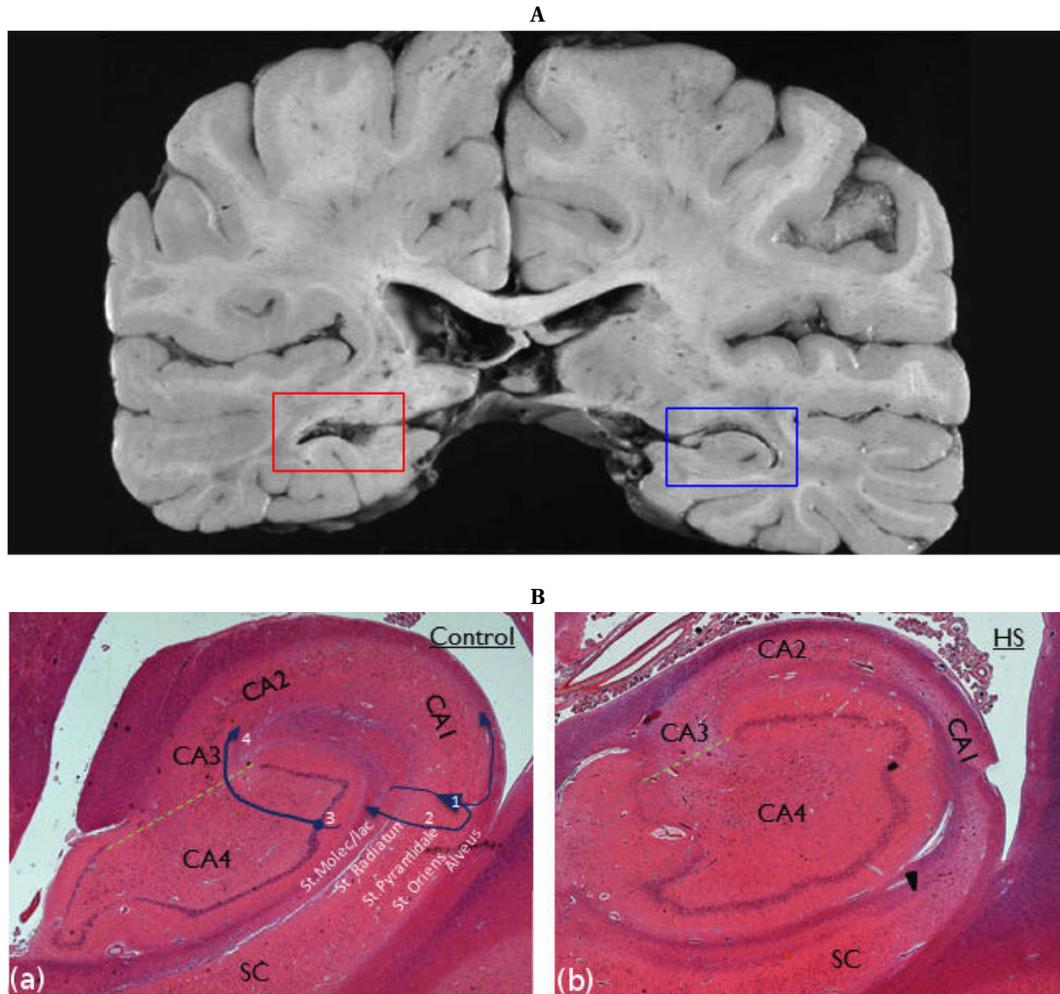
### 6.2 Épilepsie méso-temporale

Les structures mésiales du lobe temporal (cortex entorhinal et piriforme, subiculum, amygdale et hippocampe) ont une propension particulière à la synchronisation neuronale, et sont impliquées dans la majorité des épilepsies du lobe temporal (Jefferys *et al.*, 2012). Le syndrome d'épilepsie de la face médiale du lobe temporal (EMLT) est une forme focale caractérisée par la répétition spontanée de décharges paroxystiques au sein de ces structures, qui diffusent parfois à l'ensemble du cortex ou aux noyaux thalamiques (Wieser, 2004).

Les manifestations cliniques de ces crises incluent des automatismes oro-alimentaires, des vocalisations, des mouvements spontanés des membres contralatéraux, une hyperventilation, une perte de l'équilibre et une amnésie rétrograde. Sur le plan neuropsychologique, l'EMLT implique des déficiences de la mémoire épisodique : des problèmes de mémoire verbale, visuelle et sémantique sont souvent rapportés chez ce type de patient (Wieser, 2004). De plus, des lésions peuvent se produire dans d'autres zones du cerveau, en particulier le lobe temporal néocortical et le néocortex frontal, dégradant d'autres champs de la cognition tels que le langage ou les fonctions exécutives (Bell *et al.*, 2011).

Dans 90 % des cas, les EMLT sont résistantes à la plupart des médicaments antiépileptiques (Wieser, 2004) et la résection chirurgicale du lobe temporal apparaît à l'heure actuelle comme la thérapie curative la plus efficace (Engel, 1996; Wiebe *et al.*, 2001; Engel *et al.*, 2003; Spencer et Huh, 2008; Lee, 2014). Pour autant, de telles interventions présentent de nombreux risques et leurs conséquences neuropsychologiques (troubles de la mémoire, du langage, de l'humeur, ou des fonctions exécutives), peuvent dramatiquement détériorer la qualité de vie du patient, bien qu'il soit le plus souvent soulagé des crises.

Dans 70 % des cas, l'EMLT s'accompagne d'une sclérose hippocampique (SH), caractérisée par une perte cellulaire, centrée sur la couche pyramidale des aires CA1 et CA3, une dispersion des cellules granulaires, un bourgeonnement des fibres moussues et une altération des interneurons (IN) (Figure 6.3). La SH est également caractérisée par une activation massive des cellules astrocytaires, qui deviennent alors majoritaires au sein de l'hippocampe sclérosé et forment une gliose. Même si le lien de causalité entre la SH et l'EMLT fait l'objet de débats, une hypothèse répandue est qu'un événement initial précipitant (*initial precipitating insult* (IPI)) durant l'enfance, pourrait affecter l'hippocampe, et que ce premier choc, se produisant durant une phase critique du développement, ferait le lit, en combinaison avec d'autres facteurs, d'une cascade d'événements propices aux crises et/ou à la perte cellulaire (Mathern *et al.*, 2002).



**Figure 6.3** – Scléroses hippocampiques (SH) observées chez l’humain, d’après Malmgren et Thom (2012). **A** - SH unilatérale (cadre rouge) observée sur une coupe coronale de cerveau humain, résectée post-mortem. **B** - Sections d’hippocampes résectées post-mortem d’un patient neurologiquement normal (a) et d’un patient ayant souffert d’une épilepsie du lobe temporal (ELT) (b). Les sous-régions de l’hippocampe (CA1 à CA4), le subiculum (SC) et les couches de l’hippocampe (*St. Moleculare*, *St. Radiatum*, *St. pyramidale*, *St. Oriens* et Alveus) sont indiqués en (a). On observe clairement la dispersion des cellules granulaires (3 en (a)), et l’atrophie de l’aire CA1.

### 6.3 Hypothèses sur les mécanismes d'épileptogénèse

Que l'on puisse ou non identifier les causes de la maladie, elle est liée à une évolution des propriétés intrinsèques et des schémas de connexion des neurones. Généralement, l'épilepsie se développe en trois phases : un événement initial (traumatisme, AVC, méningite, etc.) agresse le cerveau, et précède une phase de latence pendant laquelle l'épileptogénèse opère, sans crise (mais pas toujours sans symptôme), pour une durée pouvant atteindre plusieurs années (en moyenne 7,5 années pour les patients atteints d'ELT d'après French *et al.* (1993)). Finalement, la maladie se déclare et des crises récurrentes se produisent selon les mécanismes d'ictogénèse. Des éléments suggèrent que l'épileptogénèse pourrait être associée à une réaction inflammatoire et une angiogénèse, causées par une trop grande perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (Rigau *et al.*, 2007; Ravizza *et al.*, 2008), auxquelles des phénomènes toxiques pourraient participer (Pernot, 2009).

L'épileptogénèse est un phénomène complexe à étudier car il est particulièrement difficile de déterminer si les modifications anatomiques et fonctionnelles qu'on observe dans les modèles animaux ou chez les patients favorisent l'apparition des crises, relèvent au contraire de mécanismes de protection ou de compensation du déséquilibre, ou bien encore sont des épiphénomènes. Pour autant, les modèles expérimentaux (Pitkänen *et al.*, 2007; Loscher et Brandt, 2010), et le développement des technologies de profilage moléculaire et génétique, fournissent de nombreux indices quant aux substrats permettant cette mutation du cerveau, et aux stratégies thérapeutiques à adopter (Pitkänen et Lukasiuk, 2011).

Une **réorganisation synaptique** semble être à l'œuvre dans l'épileptogénèse. La dispersion des cellules granulaires du gyrus denté (GD), et le bourgeonnement de leurs axones (fibres moussues) sont observés dans la plupart des modèles animaux, ainsi que chez les patients atteints d'EMLT. Ce bourgeonnement va donner lieu à de nouvelles projections vers l'aire CA3, mais aussi à des connexions récurrentes excitatrices sur le GD, propices à l'hyperexcitabilité. En tant que point d'entrée des afférences corticales dans l'hippocampe (voie perforante (VP)) et relais vers l'aire CA3, le GD occupe une place centrale dans le fonctionnement de cette structure, supportant les processus d'apprentissage et de mémorisation. On lui attribue aussi une fonction de protection de l'aire CA3, assurant le filtrage de signaux corticaux potentiellement hypersynchrones et toxiques. De nombreuses études tendent à montrer qu'une altération de cette fonction de filtrage du GD a lieu pendant la phase de latence, et qu'elle serait liée à une altération des récepteurs GABA<sub>A</sub> (GABA<sub>A</sub>r) (Bernard *et al.*, 2000; Galanopoulou, 2010), à une dérégulation de l'homéostasie du chlore (Pathak *et al.*, 2007), et à une perte sélective d'IN inhibiteurs GABAergiques du hile (Pandit *et al.*, 2013; Sloviter, 1987, 1991; de Lanerolle *et al.*, 1989; Buckmaster et Dudek, 1997).

Au cœur des processus d'inhibition, l'implication des IN GABAergiques fait l'objet d'une attention particulière. On sait que les *Basket Cells* (BC) jouent un rôle critique dans le contrôle de l'excitabilité des cellules pyramidales, et donc dans la protection contre l'excitotoxicité. De plus, le gène SCN1A, muté dans le syndrome de Dravet, mais aussi dans une sous-population

#### 6.4. Hypothèses sur les mécanismes d'ictogénèse

---

de patients atteints d'EMLT, pourrait donner lieu à une réduction de l'expression des canaux sodiques Nav1.1, rendant ces cellules moins excitables, provoquant une inhibition moindre des cellules pyramidales (PC) et produisant des effets toxiques (Goldberg et Coulter, 2013).

Dans la corne d'Ammon (CA), un bourgeonnement des axones des PC de l'aire CA1 a été observé, formant des récurrences excitatrices dans le *stratum oriens* (*s.o.*) et le *stratum radiatum* (*s.r.*), susceptibles de former un réseau hyperexcitable (Esclapez *et al.*, 1999). Aussi, un dysfonctionnement de l'intégration synaptique des PC de CA1 pourrait se produire. Dans les conditions physiologiques, des IN inhibiteurs spécifiques, et différents canaux ioniques membranaires (HCN,  $K_A$ ) permettent de contraindre les entrées synaptiques excitatrices de la VP aux dendrites les plus distales, les empêchant de se propager jusqu'au soma (cf. section 4.1). Il a été montré sur un modèle de souris à laquelle on a injecté de la pilocarpine, une perte de ces IN, une diminution de l'expression des canaux  $K_A$ , une diminution du  $I_H$  (canaux HCN), et une augmentation des courants VDCC-T. Ces modifications conjointes sont à même de changer le mode de décharge des PC, et de leur conférer une excitabilité aberrante (Avoli *et al.*, 2002).

Des **modifications moléculaires** soutiennent nécessairement les manifestations cellulaires que l'on vient de décrire. Le développement de la biologie moléculaire et des technologies d'analyse génétique permet l'identification d'une large gamme de modifications pathologiques. À l'échelle du transcriptôme, elles fournissent un nombre considérable de données suggérant des modifications de l'expression génétique à la suite d'un événement épileptogène initial. Entre autres, il a été rapporté des changements dans l'expression des GABA<sub>A</sub>R, de plusieurs variétés de canaux sodiques, potassiques et calciques voltage-dépendants (Nav, Kv, VDCC resp.), ou des canaux HCN. Ces « canalopathies acquises » affectent le contrôle du potentiel membranaire, la transmission synaptique, et sont donc suspectées de soutenir la modification de l'excitabilité des tissus neuronaux. Un certain nombre de voies de signalisation importantes ont émergé grâce à ces techniques, notamment celles associées aux neurotrophines (*Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), *Tropomyosine-Related Kinase B* (TRKB)), dont les expressions semblent altérées dans la maladie (Scharfman, 2005), et dont la stimulation s'est montrée bénéfique dans des modèles animaux (Pitkänen et Lukasiuk, 2011). La voie *mammalian Target Of Rapamycin* (mTOR) (une enzyme de type serine/threonine kinase, activée par les voies glutamatergiques et régulant la structure et la prolifération neuronale et la plasticité synaptique), ainsi que le facteur de transcription (*RE1*)-*Silencing Transcription Factor* (REST) - régulant l'expression de près de 2 000 gènes - ont aussi révélé des intrications étroites avec les modifications cellulaires liées à l'épileptogénèse (Goldberg et Coulter, 2013).

#### 6.4 Hypothèses sur les mécanismes d'ictogénèse

La crise épileptique est due à une activité synchrone excessive de circuits neuronaux. Le cerveau des patients épileptiques comporte des altérations de leurs circuits, qui ont la capacité

## Chapitre 6. Hyperexcitabilité neuronale & épilepsie méso-temporale

---

de générer spontanément des crises, sans élément déclencheur identifiable. L'hippocampe est une structure particulièrement prédisposée à ces états d'hyperactivités synchrones, en effet :

- i) il comporte de nombreuses connexions excitatrices, éventuellement récurrentes, dont la modulation de l'excitabilité est largement dépendante de la présence de composantes inhibitrices ;
- ii) les synapses qui forment ces circuits sont fortement plastiques, aptes à se renforcer lors de stimulations répétées ;
- iii) il se compose de cellules intrinsèquement capables de générer des trains de décharges à haute fréquence ;
- iv) l'excitabilité des cellules qui le composent est très sensible à la régulation des concentrations ioniques intra- et extracellulaires.

En dehors des crises, qui sont cliniquement manifestes et qui peuvent durer plusieurs dizaines de secondes, l'épilepsie est aussi caractérisée par un type d'activité se produisant entre les crises, appelée anomalie interictale (AI). Ces AI se manifestent à l'EEG par des pics brefs et amples (80-200 ms), se détachant de l'activité basale, mais n'induisent pas de symptômes cliniques. Le corrélat intracellulaire de ce type de pic est une dépolarisation synchrone d'un groupe de neurones, appelée dépolarisation paroxysmale ou *Paroxysmal Depolarizing Shift* (PDS) (Matsumoto et Marsan, 1964). Ces dépolarisations sont amples, durent une dizaine de millisecondes et s'apparentent à des PPSE géants. La génération des PDS résulte d'une mécanique physiologique, comportant une phase d'excitation générée par des afférences glutamatergiques, suivie d'une phase d'inhibition par des synapses GABAergiques, exagérée dans la situation pathologique (Jefferys, 2010). En effet, l'interconnectivité dense de cette structure lui permet d'accomplir ses fonctions, mais a pour conséquence une propension à la génération d'excitations incontrôlées si les relais excitateurs récurrents de ses réseaux ne sont pas compensés. C'est ce qui semble être le cas, au moins dans une certaine mesure, dans la génération des AI, où l'excitation des cellules glutamatergiques se propage rapidement par l'activation de récepteurs ionotropes (KAr, AMPAr, NMDAr), et recrute une large population de neurones dans l'événement épileptique.

Un potentiel particulier à la génération de PDS a été identifié dans les aires CA3 et CA1, dans les cellules sont capables de générer des trains de décharge, et dont les connexions récurrentes (dans l'aire CA3) et les collatérales de Schaffer (CS) (CA3 vers CA1) facilitent la propagation. Certaines cellules pyramidales du CA3 et du CA1 sont capables de générer des trains de potentiels d'action (PA), (e.g. lorsqu'on les soumet à une brève dépolarisation). Ces trains naissent dans les dendrites, où l'activation de canaux sodiques et calciques génère des vagues dépolarisantes (PA dendritiques) suffisamment amples et longues pour provoquer une série de PA dans la région du soma et du segment initial de l'axone (SIA). Ce mécanisme n'est pas unidirectionnel, et les PA peuvent se rétropropager du soma aux dendrites, même si de manière spécifique, les cellules de l'aire CA1 sont moins enclines à la rétropropagation, car la présence de KCa BK dans la région périsonomatique induit des PHP limitant cet « écho » du signal vers les dendrites. Ces capacités des neurones de l'hippocampe à générer des trains de PA à haute fréquence sont vraisemblablement critiques dans le traitement du signal à l'état

#### 6.4. Hypothèses sur les mécanismes d'ictogénèse

---

physiologique, et dans leur propension à initier ou à propager les signaux épileptiformes. Il est donc fondamental de comprendre, à ce niveau subcellulaire, les mécanismes qui sous-tendent la transition d'une excitabilité contrôlée, à une hyperexcitabilité.

Prise au niveau d'un microcircuit, cette propension à générer des trains de décharges a pour conséquence un effet d'amplification du signal. En effet, les synapses glutamatergiques des récurrences de l'aire CA3 ou des CS ont des probabilités de transmission relativement faibles, mais la sommation temporelle de plusieurs PA rapprochés accroît cette probabilité (*paired-pulse facilitation*), et une cellule délivrant un train de PA est susceptible d'entraîner la décharge quasi-synchrone d'une assemblée de neurones (Traub et Wong, 1982).

Par ailleurs, les risques d'excitation et de synchronisation excessives sont contrôlés par différents mécanismes, en particulier par la présence d'IN inhibiteurs. En particulier, les BC responsables de l'inhibition antérograde sont facilement excitables, déchargent en trains à haute fréquence et ont des arbres axonaux denses et étendus. Cela leur permet d'inhiber un grand nombre de cellules pyramidales, et d'être particulièrement capables de détecter et de contrer une vague excitatrice. Il a été établi que les synapses GABAergiques de ce type de connexion étaient modifiées dans l'état épileptique, par une internalisation accrue des GABA<sub>A</sub>R postsynaptiques, des changements des sous-unités exprimées, ou par des altérations de l'homéostasie de l'ion chlorure Cl<sup>-</sup>, ayant pour résultante possible une diminution de la composante inhibitrice sur les PC (Bernard, 2012).

Une question importante réside dans les phénomènes donnant lieu à la **transition des anomalies interictales (AI) vers les crises épileptiques**. Cliniquement, les lieux des AI (zone d'irritation) et des crises (foyer épileptique) peuvent être confondus, ou correspondre à des régions distinctes du cerveau. Dans des tranches d'hippocampe *in vitro*, la zone d'irritation est habituellement dans l'aire CA3, alors que l'emplacement du foyer est plus variable. L'AI se termine normalement au bout de quelques centaines de millisecondes, par des mécanismes permettant l'extinction de la vague de dépolarisation. Dans la crise épileptique qui peut durer plusieurs secondes ou minutes, il faut donc qu'un mécanisme différent, ou un mécanisme additionnel soit à l'œuvre pour générer des dépolarisations prolongées, ou pour déjouer les mécanismes d'extinction. Cette transition de l'AI à la crise est associée à la diminution progressive de potentiels hyperpolarisants suivant les bouffées de décharge, liée à une amplification des PDP augmentant la fréquence et la durée des AI (Matsumoto et Marsan, 1964; Ayala *et al.*, 1970). Ce prolongement des décharges pourrait être sous-tendu par une accumulation du potassium extracellulaire [K<sup>+</sup>]<sub>o</sub>, provenant de la repolarisation des neurones après un PA, et par une saturation des transporteurs ioniques présents sur la membrane des cellules neuronales et astrocytaires supposés maintenir l'homéostasie ionique (McCormick et Contreras, 2001; Barbarosie *et al.*, 2002). L'élévation de [K<sup>+</sup>]<sub>o</sub> augmente directement l'excitabilité neuronale en dépolarisant le potentiel de repos des neurones, très dépendant du gradient transmembranaire de cet ion. Il agit aussi de manière indirecte en réduisant la cinétique de certains transporteurs, tels que les CCC (KCC2, NKCC1), et les transporteurs de neurotransmetteurs glutamate et GABA (GluT, GAT). Un tel mécanisme constitue une rétroaction positive, où l'acti-

vation des neurones provoque une élévation de  $[K^+]_o$ , augmentant l'excitabilité des neurones avoisinants. L'échelle de temps dans laquelle il s'inscrit est suffisamment longue (plusieurs secondes) pour contrer les mécanismes d'extinction des décharges interictales (McCormick et Contreras, 2001; Jefferys, 2007) (Figure E.2). À la différence des AI, les crises impliquent généralement des populations de neurones variées, dépassant le champ local. Typiquement, les crises consistent en des bouffées d'activité à haute fréquence, séparées par des intervalles de calme, laissant imaginer des effets de propagation bouclées et de réverbération. Les phénomènes d'amplification, de propagation et d'extinction des crises semblent impliquer des projections divergentes et des récurrences excitatrices formant des systèmes résonnant à haute fréquence. Les preuves de tels phénomènes sont toutefois difficiles à établir, et les études concluent le plus souvent sur des interactions fonctionnelles complexes entre eux (de Curtis et Avanzini, 2001; Jefferys *et al.*, 2012).

Ainsi, les AI comme les crises semblent résulter de phénomènes intrinsèques aux neurones (e.g. canaux ioniques), de modifications synaptiques (excitatrices et inhibitrices) et extracellulaires (homéostasies de  $Cl^-$  et de  $K^+$ ), ainsi que d'effets de propagation dans les réseaux de neurones, tous constitutifs de rétroactions positives susceptibles de générer des vagues d'hyperactivité (McCormick et Contreras, 2001). Bien que le rôle exact des AI dans l'épilepsie ne soit pas entièrement compris, on peut penser qu'elles sont les prémices, et mettent en jeu des mécanismes plus locaux et temporellement restreints que les crises. Elles sont ainsi plus faciles à appréhender à la fois expérimentalement et dans une approche de modélisation telle que nous la développons, et c'est essentiellement sur elles que nos travaux ont porté dans le cadre de cette étude.

### 6.5 Modèles expérimentaux d'épilepsie

Les modèles expérimentaux d'épilepsie sont des outils fondamentaux pour la compréhension des mécanismes de la pathologie. Sans entrer dans le détail des nombreux modèles, ni en discuter les vertus et limites (mais voir Pitkänen *et al.* (2005)), on peut distinguer deux catégories principales : les modèles aigus et chroniques.

**Les modèles aigus** font usage d'un traitement convulsivant pour déclencher une activité épileptique sur des tissus normaux. Des techniques de stimulation pharmacologique ou électrique sont couramment employées *in vitro* ou *in vivo*. Des molécules bloquant le  $GABA_A$  telles que la pénicilline, la bicuculline, la picrotoxine, ou les canaux potassiques (4-AP) sont aussi classiquement employées. Pour des expérimentations *in vitro*, on utilise souvent des tranches d'hippocampe d'animaux (souvent des rongeurs) fraîchement résectées, que l'on prépare dans des bains de liquide cérébrospinal artificiel dont on modifie les concentrations ioniques. Ainsi une augmentation des concentrations extracellulaires de potassium ou une diminution des concentrations de magnésium ou de calcium extracellulaire sont susceptibles d'induire des décharges épileptiformes qui renseignent les expérimentateurs sur les mécanismes de la crise.

**Les modèles chroniques**, quant à eux, sont des outils précieux pour comprendre comment un tissu normal évolue vers des configurations épileptiques, c'est à dire produisant des AI et des crises. Ces modèles sont a priori plus proches de l'épilepsie clinique, dans la mesure où l'organisation fonctionnelle du cerveau y a évolué d'une situation physiologique vers une situation pathologique, par un processus d'épileptogenèse. Bien souvent, un *Status Epilepticus* (SE) initial est induit par l'injection systémique ou intrahippocampique de KA, par l'injection systémique de pilocarpine, ou par des stimulations électriques répétées (*kindling*). Ce SE initial peut durer plusieurs minutes à plusieurs heures, et induit une perte neuronale et une réorganisation morphologique de l'hippocampe, comparables à une SH (cf. section 6.2, Figure 6.3). Il est suivi par une phase de latence d'une ou deux semaines précédant l'établissement des crises spontanées, qui vont se produire de manière intermittente tout au long de la vie de l'animal. C'est pendant cette phase de latence que vont se produire les processus - encore mal connus - de l'épileptogenèse (section 6.3). D'autres types de modèles permettent d'induire les crises spontanées ou d'accroître la sensibilité de l'animal aux convulsions (abaissement du seuil épileptique), sans induire un SE initial, par application quotidienne de stimulations électriques faibles, ou injection de faibles doses d'une toxine dans l'hippocampe.

## 6.6 Contexte et objectifs de l'étude

Les travaux et les résultats présentés dans ce chapitre se sont inscrits dans le programme collaboratif de recherche RHENEPI. Ce programme a impliqué Rhenovia Pharma en tant que coordinateur et responsable des tâches de modélisation et de simulation, l'entreprise SynapCell<sup>1</sup> en tant que deuxième partenaire industriel, et deux partenaires académiques : l'*Institut de Génomique Fonctionnelle*, CNRS-INSERM (IGF), département de neurosciences<sup>2</sup> pour les expérimentations *in vitro*, et le *Grenoble Institut des Neurosciences*, Université Joseph Fourier, INSERM U836, CHU Grenoble (GIN), équipe « Dynamique des réseaux synchrones épileptiques »<sup>3</sup> pour les expérimentations *in vivo*.

Les objectifs de RHENEPI sont d'apporter des solutions nouvelles au traitement de patients souffrant d'épilepsie par le développement d'une technologie de rupture qui permette de prendre en compte les besoins médicaux majeurs dans ce domaine thérapeutique. Les réalisations de ce projet ont abouti :

- au premier système de modélisation et de biosimulation sur ordinateur de l'épilepsie méso-temporale : RHENOMS-EPI, favorisant la découverte et le développement de nouveaux MAE,
- à un outil logiciel d'analyse d'EEG permettant l'optimisation et la recherche de MAE, basé sur des modèles *in vivo* prédictifs,
- à un modèle d'épilepsie expérimentale *in vitro* intégrant des mécanismes biologiques les plus récents, et permettant l'identification de mécanismes d'interactions protéine-

1. <http://www.synapcell.fr/>

2. <http://www.igf.cnrs.fr/index.php/fr/research-fr/departments-fr/neuroscience-fr>

3. <https://neurosciences.ujf-grenoble.fr/l-institut/equipes-recherche/equipe-depaulis>

protéine qui impactent l'excitabilité neuronale.

Mise en perspective, cette plateforme d'outils, développée conjointement par le consortium, permet la recherche et le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques pour le traitement des épilepsies pharmacorésistantes, et aussi d'identifier les effets proconvulsivants de tous types de médicaments (en développement ou sur le marché), tout en réduisant le recours à l'expérimentation animale.

Le déroulement du programme s'est articulé en trois phases principales du point de vue de la modélisation. La première partie a contribué à l'élaboration des modèles constituant les plateformes RHENOMS aux niveaux synaptique, neuronal et du microcircuit, validées dans des conditions physiologiques (chapitres 3 et 4). Dans un deuxième temps et sur cette base, il a été possible d'étendre la plateforme pour simuler les décharges épileptiques obtenues dans des conditions expérimentales *in vitro* (Low-Mg, 4-AP) et *in vivo* (souris MTLÉ). Dans ces différentes configurations, RHENOMS-EPI a été validée en regard des résultats obtenus pour plusieurs composés par les différents partenaires. Chacun d'entre eux a nécessité l'implémentation des modèles représentant ses cibles, leur validation au niveau élémentaire en référence à des résultats publiés, et leur intégration à la plateforme pour en simuler les effets antiépileptiques. Enfin, la plateforme a permis d'établir les effets et d'éclaircir le mécanisme d'action du complexe Homer-Shank sur l'excitabilité neuronale, de prédire le synergisme de combinaisons de MAE confirmé *in vitro*, et d'étudier l'impact de la dérégulation de l'homéostasie du chlore sur l'excitabilité neuronale pour évaluer l'effet de MAE testés *in vivo*.

En plus de la plateforme de biosimulation, et afin de constituer un ensemble d'outils de recherche efficace, le consortium s'est doté de différentes techniques expérimentales, incluant un modèle d'épilepsie *in vitro* développé par l'équipe IGF, à même d'identifier les mécanismes au niveau subsynaptique, et un modèle d'étude *in vivo* mis en œuvre par l'équipe GIN pour la caractérisation physiopathologique et électrophysiologique d'une part, et par l'équipe SynapCell pour le test de MAE et l'exploitation des données d'activité EEG d'autre part.

## 6.7 Résultats principaux en configuration *in vitro*

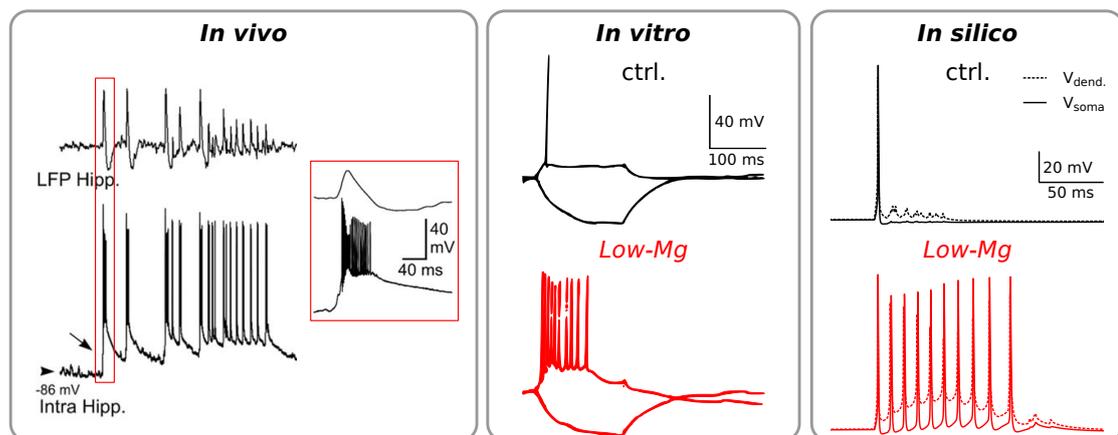
### 6.7.1 Simulation de PDS dans une configuration *Low-Mg*

Comme évoqué dans les sections introductives de ce chapitre, des anomalies interictales (AI) interviennent *in vivo* entre les crises : elles correspondent à des bouffées de décharges neuronales synchrones de petites populations neuronales ne se propageant pas à l'ensemble de la structure hippocampique. L'activité intracellulaire correspondant à ces événements est nommée dépolarisation paroxysmale ou PDS, et a été choisie comme observable de référence pour la modélisation. Ce type d'activité relativement stéréotypée est enregistrée dans plusieurs modèles *ex vivo* et *in vivo* et en particulier dans le modèle de souris MTLE développé par l'équipe du GIN. Cette bouffée de PA constitue en effet une signature neuronale intéressante pour le projet car elle est accessible aux techniques des différents partenaires :

- c'est le corrélat intracellulaire de la « décharge de pointe » observée sur les traces EEG *in vivo*;
- il est possible de la produire dans les conditions d'études *in vitro*;
- elle représente une quantité accessible à l'échelle de modélisation et de simulation développée dans le projet.

Un premier jalon de cette étude a donc été la transformation du modèle de PC afin de simuler les conditions d'expérimentations *in vitro* créant une hyperexcitabilité neuronale à même de produire des décharges épileptiformes (Figure 6.4).

Dans des tranches d'hippocampe, différentes conditions peuvent être utilisées pour induire des décharges épileptiformes et étudier leurs caractéristiques (Avoli *et al.*, 2002). Parmi elles, la préparation d'une tranche baignant dans une solution dépourvue d'ions  $Mg^{2+}$  est connue pour déclencher de telles activités dans différentes structures hippocampiques et parahippocampiques, y compris l'aire CA1 (Traub *et al.*, 1994). Ces trains de décharges spontanées sont dépendants de l'inhibition GABAergique, mais sont complètement bloqués par l'application



**Figure 6.4** – Dépolarisations paroxysmales observées *in vivo* (d'après Langlois *et al.* (2010)), *in vitro* (d'après Mody *et al.* (1987)), et *in silico*, en configuration *Low-Mg*.

d'AP5, un antagoniste compétitif du NMDAr, ce qui en fait la source primaire de dépolarisation (Mody *et al.*, 1987; Avoli *et al.*, 1991). Les expérimentateurs de l'IGF ont mis en place ce type de protocole *Low-Mg*, et ont eu recours à des stimulations des CS de durées et d'intensités variables afin de contrôler la survenue des PDS en fonction des composés à tester. Parmi différentes méthodes pour quantifier leur intensité, le nombre de PA contenu dans les PDS évoqués s'est avéré être la quantité la plus reproductible et la plus fiable pour étudier l'effet des composés.

À partir de la configuration *cellule-unique* décrite en section 4.2, comprenant les synapses excitatrices des CS et inhibitrices des IN, activées par des impulsions (Figure 4.6), nous avons constaté que la suppression du magnésium extracellulaire ( $[Mg^{2+}]_o = 0$ ) provoque des dépolarisations dendritiques amples, se propageant jusqu'au soma et donnant lieu à des trains de décharges à haute fréquence. Ces dépolarisations proviennent des courants NMDAr amplifiés par l'absence du blocage du  $Mg^{2+}$ , et les PDS peuvent être modulés par différents composés agissant sur les récepteurs glutamatergiques et GABAergiques, ainsi que sur les canaux ioniques membranaires.

### 6.7.2 Validation de l'effet de composés de référence

Sur cette base, le modèle a été ajusté pour correspondre aux conditions exactes de la tranche, en reproduisant l'effet de différentes molécules sur les PDS (Figure 6.5). Plusieurs composés de référence ont été testés :

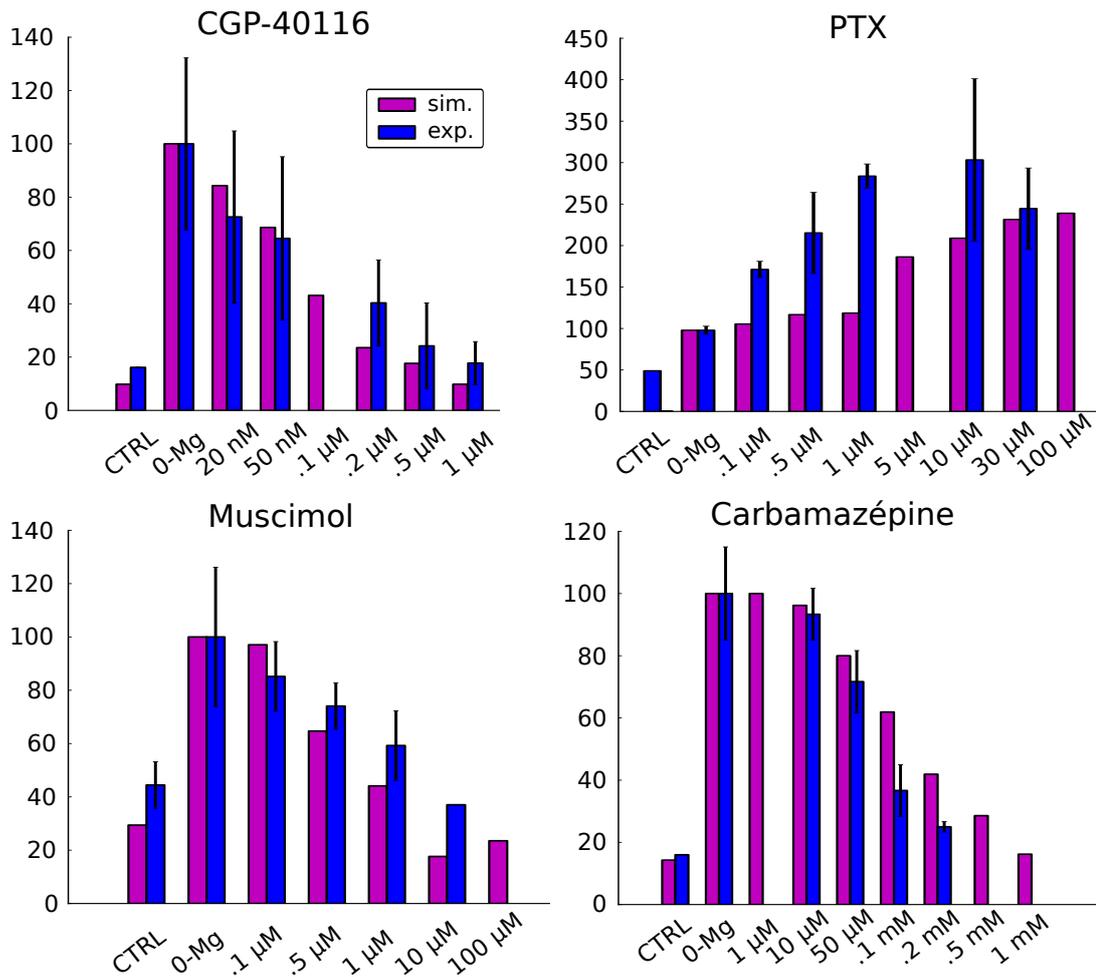
- le CGP-40116, un antagoniste spécifique du NMDAr,
- la picrotoxine (PTX), un bloqueur du  $GABA_{AR}$ ,
- le muscimol (MUSC), un agoniste compétitif du  $GABA_{AR}$ ,
- la carbamazépine (CBZ), un inhibiteur des canaux sodiques voltage-dépendants,
- la lamotrigine (LTG), modélisée par son action inhibitrice du courant  $I_H$ ,
- la tiagabine (TGB), un inhibiteur de la recapture du GABA.

L'implémentation de chacun d'entre eux a consisté à enrichir et à valider les KM de leurs cibles (e.g. CGP-40116 : Figure 3.3 et 3.4, PTX et muscimol : Figure 3.7, CBZ : Figure 2.2). Les modulations concentration-dépendantes du nombre de PA des PDS mesurées expérimentalement ont pu être reproduites par le modèle pour tous les composés, et une synthèse des résultats est présentée en Figure 6.5. Les tests de la tiagabine et de la lamotrigine ont donné lieu à des validations plus indirectes (cf. sections E.1 et E.2).

### 6.7.3 Étude de combinaisons

Les simulations de combinaisons ont ensuite été menées afin d'établir la faisabilité de telles études dans ce programme, et d'évaluer le synergisme possible entre les composés. J'ai choisi de présenter les deux combinaisons CGP-40116/muscimol et lamotrigine/carbamazépine, afin de croiser différents modes d'action (Figure 6.6). Le protocole est identique aux études précédentes, en supprimant le  $Mg^{2+}$  extracellulaire, en appliquant des doses croissantes de

## 6.7. Résultats principaux en configuration *in vitro*



**Figure 6.5** – Validation de l’effet de composés de référence sur le modèle en configuration *Low-Mg*. Les réponses expérimentales (bleu, moyenne  $\pm$  s.e.m.) et simulées (mauve), pour les composés CGP-40116, PTX, muscimol, et carbamazépine, sont exprimées comme le nombre de PA, en pourcentage de la valeur sans composé (0-Mg), en fonction de la concentration appliquée.

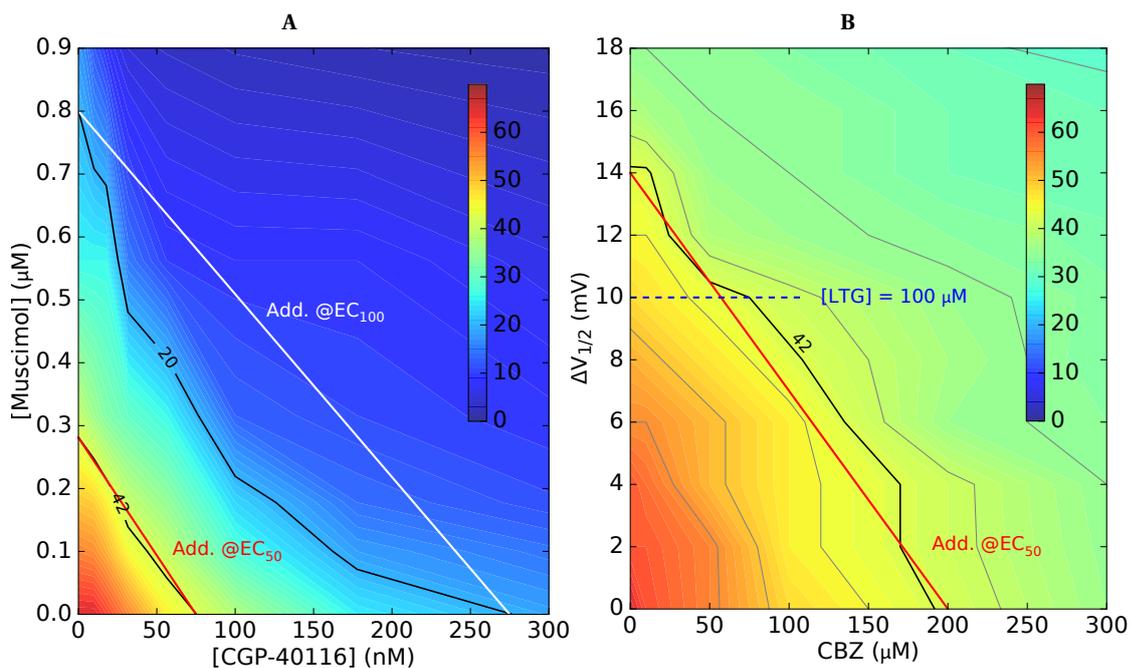
composés, et en mesurant le nombre de décharges cumulées des PDS. Le caractère monotone des DR des composés permet d’utiliser une approche différente de celle présentée au chapitre 5, et les résultats de combinaisons sont présentés sous forme d’isobogrammes en Figure 6.6 (Tallarida, 2001).

La combinaison CGP-40116/muscimol révèle un effet de dose intéressant (Figure 6.6A). Les concentrations combinées de composés requises pour restaurer le nombre de décharges mesurées en condition contrôle (i.e. pour  $[\text{Mg}^{2+}]_o = 1,5 \text{ mM}$ ,  $N = 20$  décharges) sont globalement inférieures à la somme des concentrations requises indépendamment pour obtenir cet effet, représentée par la droite additivité (droite blanche « Add. @EC<sub>100</sub> »). En revanche, on constate que les concentrations combinées produisant la moitié de l’effet maximal ( $N = 42$  décharges) suivent la droite d’additivité correspondante (droite rouge « Add. @EC<sub>50</sub> »). L’additivité de

## Chapitre 6. Hyperexcitabilité neuronale & épilepsie méso-temporale

cette combinaison pour l' $EC_{50}$  a été confirmée expérimentalement par les résultats *in vitro* obtenus par l'équipe IGF, mais la synergie suggérée par les résultats simulés n'a pas pu encore être testée, et nécessiterait une étude plus détaillée.

Selon le même type d'analyse, les résultats simulés de la combinaison lamotrigine/carbamazépine révèlent une additivité aux  $EC_{50}$  (Figure 6.6B). Comme pour l'étude de la lamotrigine seule, son action est exprimée comme un décalage du potentiel de demi-activation du courant  $I_H$  (cf. section E.2), en faisant l'hypothèse de linéarité de sa relation à la dose, autour du point de référence rapporté par Poolos *et al.* (2002) (tirets bleus). Sur cette plage de paramètres, aucune combinaison ne permet de restaurer le nombre de décharges observé en condition contrôle, et la forme globalement convexe des lignes de niveau suggère une asynergie de ces deux paramètres, confirmée par des données précliniques (Czuczwar *et al.*, 2009). Par ailleurs, les cibles de la lamotrigine sont multiples et pour partie indéterminées, et une évaluation préalable de son effet sur ses cibles secondaires serait nécessaire pour évaluer complètement l'effet de ce MAE.

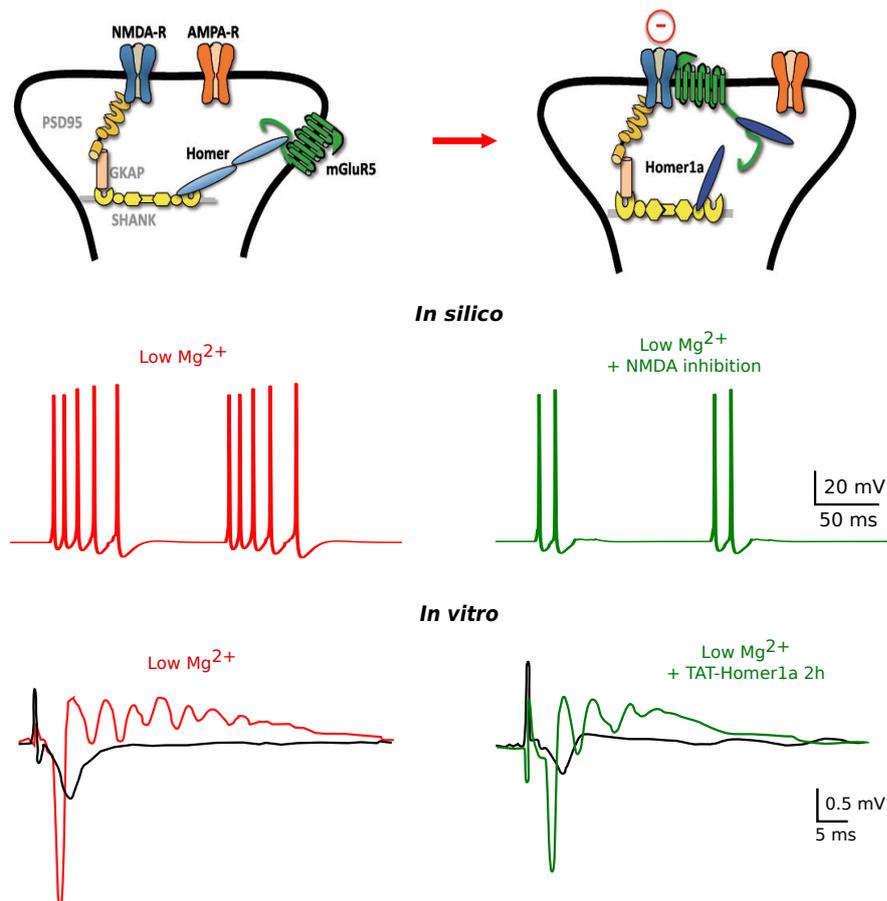


**Figure 6.6** – Simulations des combinaisons CGP-40116/muscimol et carbamazépine/lamotrigine en configuration *Low-Mg*. Les résultats sont exprimés comme le nombre cumulé de décharges, pour différentes combinaisons de concentrations, et comparés aux droites d'additivité (isoboles) pour obtenir 50 % ou 100 % de l'effet obtenu en condition contrôle (droites rouge Add. @ $EC_{50}$  et blanche @ $EC_{100}$ , resp.). **A** - Combinaison CGP-40116/muscimol suggérant une additivité à l' $EC_{50}$ , et une légère synergie à l' $EC_{100}$ . **B** - Combinaison carbamazépine/lamotrigine suggérant une additivité à l' $EC_{50}$  et une asynergie globale. L'effet de la lamotrigine est exprimé par son effet sur le décalage du potentiel de demi-activation du courant  $I_H$  ( $\Delta V_{1/2}$ ), autour du point de référence fourni par Poolos *et al.* (2002) pour [LTG] = 100 µM (tirets bleus).

### 6.7.4 Impact du complexe Homer-Shank sur l'excitabilité neuronale

Un des aspects du programme couvrait l'étude des mécanismes impliquant le complexe Homer-Shank dans l'excitabilité neuronale. Les NMDAR et mGluR5 sont physiquement reliés au niveau postsynaptique par un complexe multiprotéique composé de Homer, Shank, GKAP et PSD95, lequel maintient mGluR5 dans la zone périssynaptique (Figure 1.8B). La protéine monomérique Homer1a entre en compétition avec les protéines Homer dimériques et libère mGluR5 du reste du complexe (Figure 6.7). L'équipe de l'IGF avait préalablement montré qu'Homer1a est surexprimée dans les conditions épileptiques, induisant une inhibition constitutive (indépendante de la liaison d'un agoniste) du NMDAR par mGluR5, et des modifications de la dynamique calcique postsynaptique.

Sur la base du modèle de compartiment postsynaptique, nous avons testé différentes hypothèses concurrentes quant aux mécanismes pouvant mener à cette inhibition (diminution



**Figure 6.7** – Mécanisme et effet de Homer1a sur l'activité épileptique prédite *in silico*, confirmée *in vitro*. La modélisation de l'inhibition du NMDAR induite par Homer1a provoque une diminution du nombre de PA intracellulaires obtenu dans la configuration *Low-Mg* simulée (*In silico*). Expérimentalement, l'expression de Homer1a induit une réduction du nombre des décharges extracellulaires enregistrées en configuration *Low-Mg* (*In vitro*).

d'activité de la  $GTP_{ase}$ , modification de l'affinité du mGluR5 pour la protéine-G, diminution de l'activité de la PLC, déplacement du mGluR, etc.). Par simulation, l'hypothèse selon laquelle la rupture du complexe Homer-Shank induirait une migration des mGluR vers la DPS s'est montrée la plus à même de reproduire les changements de dynamique calcique postsynaptique mesurés expérimentalement, en tenant compte des contributions relatives des flux transmembranaires NMDAR et de la libération intracellulaire de la voie mGluR-IP3 (non présenté). La simulation de ces modifications en configuration *Low-Mg* a permis de prédire que l'inhibition des NMDAR était susceptible de réduire de 57 % le nombre de décharges, sans pour autant supprimer totalement les PDS (Figure 6.7). Les tests *in vitro* ont confirmé cette diminution du nombre de décharges, mais aussi que ce mécanisme, supposé être compensatoire des crises (Cavarsan *et al.*, 2012), ne suffisait pas à les supprimer totalement dans ce protocole.

### 6.8 Résultats principaux en configuration *in vivo*

Une phase importante du programme a consisté à poursuivre la modélisation des phénomènes d'hyperexcitabilité neuronale pouvant donner lieu à l'épilepsie, en s'approchant des conditions pathologiques de l'EMLT. À partir de la caractérisation d'un modèle expérimental *in vivo* de souris épileptique (souris MTLE pour *mesiotemporal lobe epilepsy*), j'ai ainsi fait évoluer le modèle vers la configuration dite *KA-MTLE*. Les travaux présentés dans cette section sont l'objet d'un article collaboratif en cours de soumission (Stambouljian-Platel et Legendre, 2015).

#### 6.8.1 Caractérisation du modèle expérimental *in vivo* utilisé dans l'étude

Plusieurs modèles animaux permettent d'étudier l'EMLT, essentiellement chez le rat, par induction pharmacologique ou des stimulations répétées du système limbique (White, 2003b). La plupart de ces modèles ne reproduisent pas toutes les caractéristiques de la maladie : en particulier, la résistance aux traitements antiépileptiques classiques, souvent observée chez les patients, n'est le plus souvent pas reproduite (Nissinen et Pitkänen, 2007). Les équipes du GIN et SynapCell ont mis au point un modèle de souris qui développent une EMLT suite à l'injection unilatérale d'une faible dose de kainate (acide (2-carboxy-4-isopropényl-3-pyrrolidiny)-acétique) (KA) dans l'hippocampe dorsal (Suzuki *et al.*, 1995; Riban *et al.*, 2002). Ce modèle reproduit la plupart des syndromes électrocliniques et des caractéristiques morphologiques (e.g. sclérose hippocampique (SH), dispersion des cellules granulaires) de l'EMLT et développe les résistances pharmacologiques typiques de cette forme d'épilepsie (Le Duigou *et al.*, 2005; Heinrich *et al.*, 2006; Bressand *et al.*, 2009).

Dans le cadre de ce programme, l'équipe du GIN a effectué la caractérisation physiopathologique de la souris MTLE, par des techniques de marquage immunohistochimique, et de transfert de protéines (*Western Blot* (WB)). Ces mesures ont permis de quantifier les modifications d'expression de différentes protéines impliquées dans la transmission synaptique et dans le maintien de l'homéostasie ionique cellulaire dans l'hippocampe de ces souris.

En particulier, les mesures par WB ont montré que :

- les expressions des sous-unités  $\alpha 1$ ,  $\alpha 3$  et  $\gamma 2$  du  $\text{GABA}_{\text{A}}$ r étaient augmentées ;
- les expressions des sous-unités R1 et R2 du  $\text{GABA}_{\text{B}}$ r étaient diminuées ;
- les expressions des sous-unités NR1, NR2A, NR2B et GluR1, GluR2 du NMDAr et AMPAr (resp.) étaient diminuées.

De plus, ces mesures montrent une inversion du rapport d'expression des co-transporteurs cation-chlorure (CCC), c'est à dire une augmentation pour NKCC1 et une diminution pour KCC2, suggérant une altération de l'homéostasie de l'ion  $\text{Cl}^-$ , et de la signalisation GABAergique dans l'hippocampe de ces souris.

### 6.8.2 Simulations en configuration *in vivo*-MTLE

Par cette caractérisation de la souris MTLE, l'objectif était de fournir des éléments quantitatifs permettant de soutenir le développement des modèles numériques vers une configuration proche de l'*in vivo*. En se basant sur ces mesures de l'expression des protéines, et sur un faisceau de résultats publiés montrant des modifications de l'homéostasie du chlore dans les neurones dans les conditions pathologiques, le travail s'est focalisé sur l'implémentation des modèles relatifs aux mécanismes d'accumulation, de diffusion, et de transport transmembranaire de cet ion par les CCC, ainsi que sur l'étude de l'impact des modifications de la signalisation GABAergique dans la situation pathologique (cf. section 3.4).

La modélisation et la simulation appliquées à cette étude ont permis de corroborer numériquement l'hypothèse, dite du « GABA-excitateur », selon laquelle l'homéostasie du chlore de certains neurones de l'hippocampe serait modifiée dans des conditions pathologiques telles que l'épilepsie (Cohen *et al.*, 2002; Huberfeld *et al.*, 2007). Selon cette hypothèse, une concentration intracellulaire de chlore élevée entraînerait une inversion du courant conduit par les  $\text{GABA}_{\text{A}}$ r d'une action hyperpolarisante vers une action dépolarisante, susceptible d'être à la source de l'activité épileptique (Figure 6.8). L'élévation du chlore intracellulaire pourrait

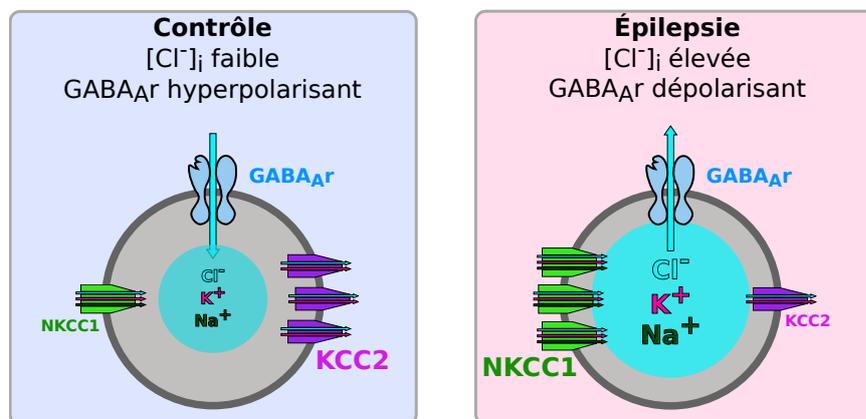
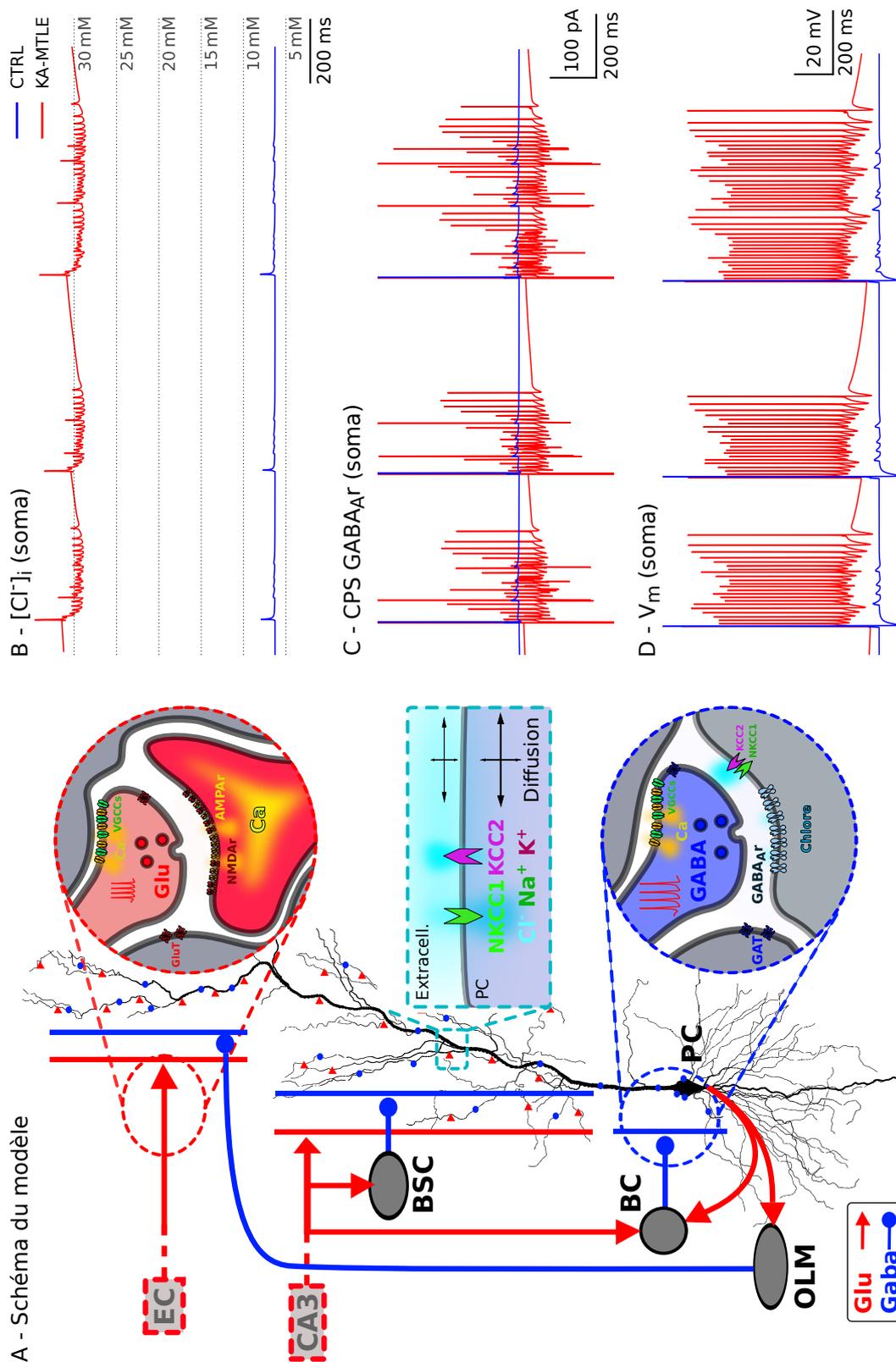


Figure 6.8 – Illustration de l'hypothèse du « GABA-excitateur » dans l'épilepsie.

résulter de changements d'expression des CCC NKCC1 et KCC2 (Palma *et al.*, 2006; Muñoz *et al.*, 2007), et les effets anticonvulsivants de la bumétanide, un bloqueur de NKCC1 dans différents modèles et chez les patients atteints d'EMLT corroborent cette hypothèse (Delpire et Mount, 2002; Palma *et al.*, 2006; Eftekhari *et al.*, 2013; Löscher *et al.*, 2013).

Le modèle de PC présenté au chapitre 4 a été utilisé, et une configuration de microcircuit, incluant les modèles d'IN BC, BSC et O-LM a été développée pour simuler les voies d'inhibition dendritique et périsonmatique, antérograde et rétrograde projetant sur les PC (Figure 6.9A). Les entrées excitatrices de la VP et des CS ont été modélisées par des trains d'impulsions représentant les PA stimulant les terminaux présynaptiques de chaque synapse. Les impulsions sont délivrées à une fréquence moyenne de 4 Hz, et chaque date est décalée aléatoirement selon une distribution normale ( $\mathcal{N}(\mu = 0 \text{ ms}, \sigma^2 = 75 \text{ ms})$ ) afin d'introduire un bruit et désynchroniser le signal d'entrée, à la manière des travaux de (Cutsuridis *et al.*, 2010a), (section 4.3, Figure 4.10). Les afférences de la VP forment 20 synapses sur les dendrites de la PC placées dans le *s.l-m*; les CS forment 50 synapses sur les dendrites de la PC couvrant le *s.r.*, et respectivement 20 et 25 synapses sur les dendrites apicales de la BC et la BSC. L'inhibition antérograde dendritique et périsonmatique est fournie par des synapses GABAergiques entre la BSC et les dendrites obliques et la BC et les dendrites primaires de la PC (resp.). L'inhibition rétrograde est conduite par des synapses glutamatergiques entre la PC et l'O-LM, puis par des synapses GABAergiques entre l'O-LM et les dendrites les plus distales (*s.l-m*) de la PC. Ces synapses sont distribuées de manière homogène sur leurs cibles dendritiques, en respectant les proportions contraintes par les données anatomiques de Megias *et al.* (2001), les conductances unitaires (Maccaferri *et al.*, 2000; Papp *et al.*, 2013; Müller et Remy, 2014), et l'équilibre excitation/inhibition de ces différentes projections (Pouille et Scanziani, 2001; Saraga *et al.*, 2008). Les modèles de synapses utilisés dans cette application sont ceux décrits dans le chapitre 3, intégrant les influences des composés antiépileptiques CGP-40116 (antagoniste NMDA : Figure 3.4, 6.5), picrotoxine et muscimol (Figure 6.5).

Les sections des modèles de neurones intègrent les mécanismes d'accumulation et de diffusion intra- et extracellulaires de chlore, ainsi que les modèles de NKCC1 et KCC2, dont les cinétiques dépendent de la concentration locale instantanée des espèces ioniques transportées, tel que décrit en section 3.4. La concentration extracellulaire de chlore ( $[Cl^-]_o$ ) est considérée pour un volume limité autour des sections, et échange passivement avec une source à concentration fixe (Carnevale et Hines, 2006; Doyon *et al.*, 2011). La densité de KCC2 a été ajustée pour obtenir une vitesse de décroissance de  $6,4 \text{ mM}\cdot\text{s}^{-1}$  dans les dendrites du *s.l-m*, reproduisant les résultats de Staley et Proctor (1999). La densité de NKCC1 a été ajustée pour obtenir  $[Cl^-]_i = 6 \text{ mM}$  au repos, produisant une inversion des CPSI GABA<sub>A</sub>R à  $-70,3 \text{ mV}$ , compatible avec les valeurs rapportées pour les PC de l'aire CA1 de la souris MTLE (Le Duigou *et al.*, 2008). Sous l'action exclusive des NKCC1 ou des KCC2, les valeurs au repos de  $[Cl^-]_i$  sont de  $66,0 \text{ mM}$  et  $5,5 \text{ mM}$ , respectivement. Les concentrations des espèces ioniques au repos sont  $[Na^+]_i = 12 \text{ mM}$ ;  $[Na^+]_o = 80 \text{ mM}$ ;  $[K^+]_i = 110 \text{ mM}$ ;  $[K^+]_o = 5 \text{ mM}$ ;  $[HCO_3^-]_i = 11,8 \text{ mM}$ ;  $[HCO_3^-]_o = 25 \text{ mM}$ ;  $[Cl^-]_i = 6 \text{ mM}$ ;  $[Cl^-]_o = 120 \text{ mM}$ , donnant lieu aux potentiels de réversion à l'équilibre :  $E_{Na^+} = 50,4 \text{ mV}$ ;  $E_{K^+} = -82,1 \text{ mV}$ ;  $E_{HCO_3^-} = -19,9 \text{ mV}$ , et  $E_{Cl^-} = -79,5 \text{ mV}$ .



**Figure 6.9** – Schéma du modèle (A) et exemple de simulation en configuration *KA-MTLE*, montrant l'augmentation de  $[Cl^-]_i$  (B), l'inversion des courants GABA<sub>A</sub>r (C), et l'occurrence de décharges épileptiques (D).

De manière importante, les synapses GABAergiques sont distribuées sur les dendrites de la PC selon leurs densités anatomiques rapportées par (Megias *et al.*, 2001). Bien que seule une fraction d'entre elles soient effectivement connectées à des stimuli présynaptiques dans le modèle, et que la diffusion volumique de GABA ne soit pas modélisée (pas de *spillover* entre les synapses), ces synapses permettent de simuler l'action tonique induite par des composés GABA-mimétiques comme l'agoniste GABA<sub>A</sub>r muscimol.

Le protocole de simulation utilisé consiste en une période quiescente où aucun stimulus n'est appliqué, permettant aux concentrations ioniques de se stabiliser, suivie d'une période de mesure où les impulsions excitatrices sont appliquées. Les différents paramètres sont testés dans des simulations distinctes, en conservant une même valeur d'initialisation du générateur de nombres aléatoires (*seed*), afin de conserver les signaux excitateurs et les connexions synaptiques identiques entre les simulations, et de pouvoir effectuer des comparaisons directes entre les réponses.

La Figure 6.9 décrit le modèle utilisé pour ces études, ainsi que les résultats de simulation obtenus en appliquant les différentes modifications d'expression mesurées pour les CCC, les récepteurs au GABA et au glutamate, constituant la configuration dite *KA-MTLE* du modèle. En comparaison à la configuration contrôle, on observe que la concentration intracellulaire de chlore  $[Cl^-]_i$  atteint une valeur d'environ 30 mM à l'équilibre. Cette valeur élevée de  $[Cl^-]_i$  a pour effet d'augmenter le potentiel de réversion des GABA<sub>A</sub>r ( $E(GABA_{Ar})$ ), qui conduisent alors des courants négatifs en moyenne. Les dépolarisations induites par ces courants dépassent le seuil d'activation des Nav, et déclenchent des PA. Comme d'une part les courants GABA<sub>A</sub>r ont des temps de désactivation relativement longs, et d'autre part les rétroactions GABAergiques du microcircuit sont rendues excitatrices, ces PA s'auto-entretiennent et donnent lieu à des trains de décharges à haute fréquence s'apparentant aux dépolarisations paroxysmales (PDS) observées expérimentalement.

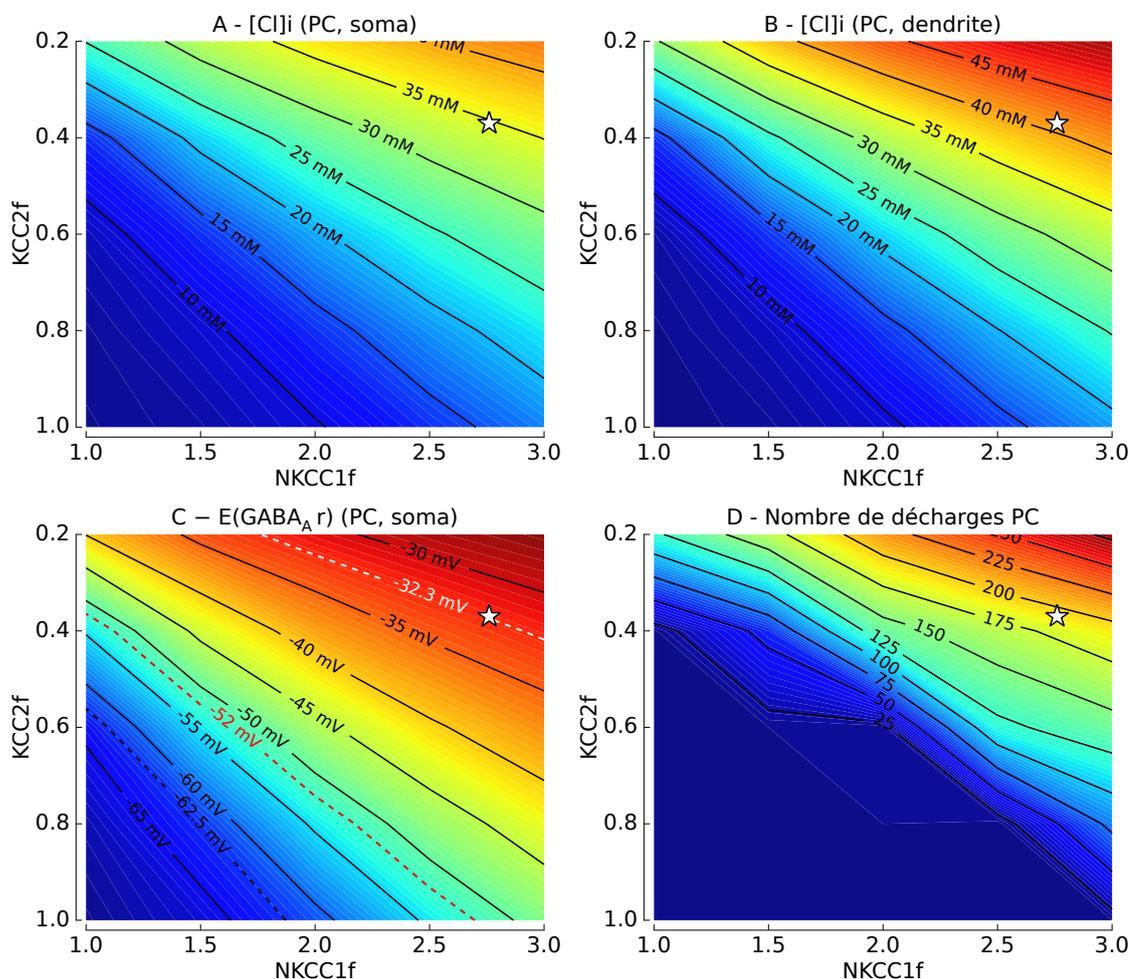
### 6.8.3 Impact de l'altération de l'expression des CCC

L'application directe dans le modèle des changements d'expression mesurés expérimentalement est discutable : la technique du WB utilise un homogénat de tissus pour estimer les quantités de protéines présentes, mais ne constitue pas une mesure précise de la composition membranaire des neurones dans une zone donnée (e.g. CA1) ni sur une population ciblée (PC ou IN). En outre, la plupart des études dans d'autres conditions suggèrent que la concentration de chlore est sujette à une importante variabilité intercellulaire (Huberfeld *et al.*, 2007). Bien qu'en ce qui concerne les CCC, les variations mesurées soient comparables à celles rapportées par d'autres études (Palma *et al.*, 2006; Muñoz *et al.*, 2007; Cai *et al.*, 2013), j'ai étudié les effets provoqués par un déséquilibre d'expression des CCC sur des plages de paramètres (Figure 6.10).

Les expressions de NKCC1 et KCC2 sont rapportées à leurs valeurs dans les conditions contrôle, exprimées comme des facteurs NKCC1f et KCC2f, et les valeurs correspondant aux mesures

## 6.8. Résultats principaux en configuration *in vivo*

WB ( $[NKCC1f; KCC2f] = [2,76; 0,37]$ ) sont marquées par une étoile blanche. Cette analyse révèle que  $[Cl^-]_i$  dans la PC varie de manière monotone et quasi-linéaire avec l'expression des CCC (croissant avec NKCC1, décroissant avec KCC2), et peut atteindre des valeurs de 35 mM dans le soma (Figure 6.10A), plus élevées encore dans les dendrites apicales (Figure 6.10B). En observant  $E(GABA_{Ar})$  et le nombre de décharges (Figure 6.10C et D), on remarque que l'activité de la PC est contenue tant que  $E(GABA_{Ar})$  est au dessous du potentiel de repos (tirets noirs), et qu'elle augmente significativement lorsque  $E(GABA_{Ar})$  dépasse le seuil de déclenchement des PA. Cela montre que la seule modification d'expression des CCC (configuration dite KA-CCC) peut mener à une accumulation de chlore dans la cellule, et qu'elle est le levier principal de l'hyperexcitabilité dans ce modèle.



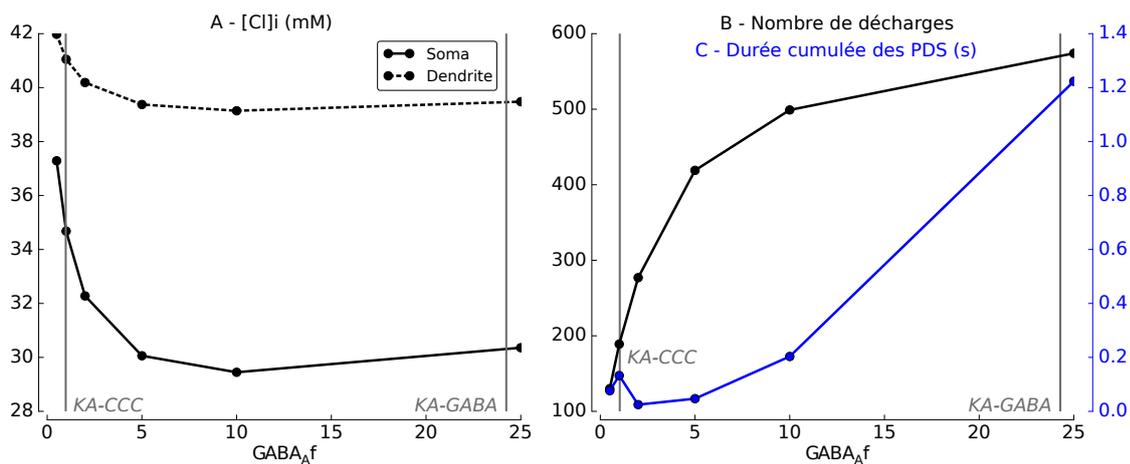
**Figure 6.10** – Étude paramétrique de l'expression des CCC en configuration *in vivo*. Impact simulé des modifications combinées d'expression de NKCC1 et de KCC2 sur  $[Cl^-]_i$  dans le soma (A) et les dendrites (B) de la PC, sur le potentiel de réversion des GABA<sub>A</sub>r du soma (C), et sur le nombre de PA. L'étoile blanche correspond à la configuration KA-CCC du modèle.

### 6.8.4 Une surexpression de GABA<sub>A</sub>R favorise l'hyperexcitabilité

La transmission GABAergique semble significativement altérée dans l'hippocampe de la souris MTLE, et les mesures WB rapportent une augmentation drastique de l'expression de sous-unités composant les GABA<sub>A</sub>R. Pour les mêmes raisons qu'évoqué plus haut, les effets de tels changements ont été évalués *in silico* sur une plage de paramètres (Figure 6.11).

En partant de la configuration KA-CCC précédente, produisant une nette augmentation de  $[Cl^-]_i$  et de l'excitabilité de la PC, le nombre de GABA<sub>A</sub>R a été modifié entre 0,5 et 25 fois sa valeur initiale (facteur GABA<sub>A</sub>f) dans les différentes synapses du modèle. On observe que le nombre de décharges et la durée cumulée des PDS augmentent avec GABA<sub>A</sub>f, appuyant l'hypothèse qu'une surexpression des GABA<sub>A</sub>R renforce l'hyperexcitabilité. On observe aussi que l'hyperactivité du neurone diminue  $[Cl^-]_i$  dans le soma et dans une moindre mesure dans les dendrites. Notamment, et en cohérence avec les résultats en simulation de Lewin *et al.* (2012), la concentration de chlore dans les dendrites reste significativement supérieure à celle du soma, suggérant que l'inhibition dendritique, transmise ici par la BSC et l'O-LM, est la première impactée par l'inversion de polarité des GABA<sub>A</sub>R.

Parmi les différentes sous-unités mesurées en WB, la sous-unité  $\gamma 2$  semble d'importance prépondérante pour le paramétrage du modèle. En effet, alors que  $\alpha 2$  est plus abondante que  $\alpha 3$  dans l'hippocampe (Tietz *et al.*, 1999), son expression semble restreinte au SIA des PC (Loup *et al.*, 1998), qui est la cible des AAC. J'ai choisi de ne pas inclure cette voie au modèle, compte-tenu du caractère critique du SIA dans le contrôle des PA qui nécessiterait une étude spécifique. Ainsi pour la suite de l'analyse, j'ai appliqué une surexpression du nombre de GABA<sub>A</sub>R correspondant à la mesure en WB de la sous-unité  $\gamma 2$ , et formant la configuration dite KA-GABA du modèle ( $[NKCC1f; KCC2f; GABA_Af] = [2,76; 0,37; 24,27]$ ).

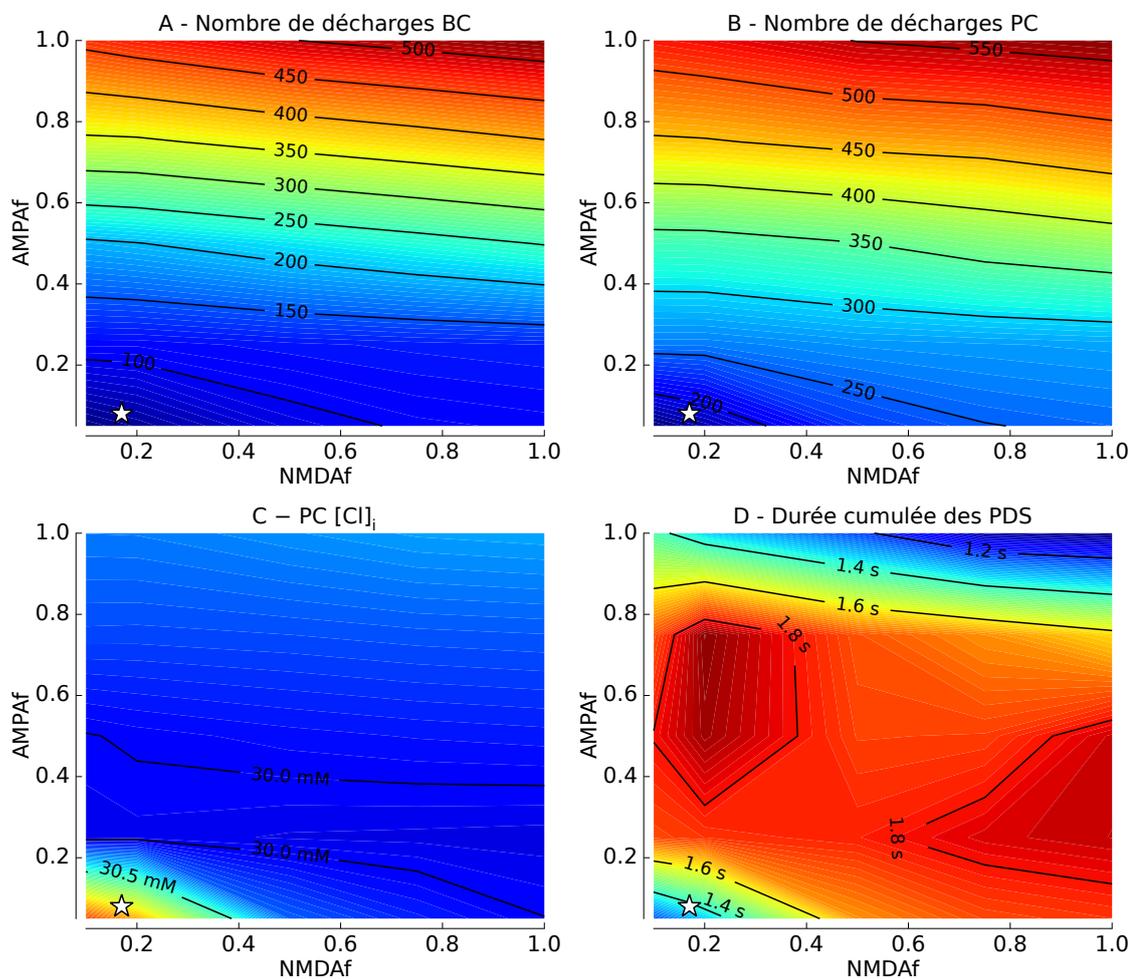


**Figure 6.11** – Étude paramétrique sur l'expression des GABA<sub>A</sub>R en configuration *in vivo*. Impact simulé de la modification d'expression des GABA<sub>A</sub>R sur  $[Cl^-]_i$  dans le soma et les dendrites (A), ainsi que sur le nombre de décharges de la PC (B) et la durée cumulée des PDS (C). Les lignes verticales correspondent aux configurations KA-CCC et KA-GABA du modèle.

### 6.8.5 Une sous-expression des iGluR mitige l'hyperexcitabilité

Comme pour les CCC et le GABA<sub>A</sub>R, j'ai évalué *in silico* les effets de différents niveaux de modification d'expression des récepteurs glutamatergiques AMPAR et NMDAR. À partir de la configuration *KA-GABA* précédente, et selon les mêmes protocoles, différentes simulations ont été effectuées, en variant le nombre des AMPAR et des NMDAR exprimés dans les synapses glutamatergiques, proportionnellement à leurs valeurs contrôle selon les paramètres notés AMPAf et NMDAf (Figure 6.12).

On observe que le niveau d'équilibre de  $[Cl^-]_i$  n'est pas significativement impacté par l'expression des récepteurs glutamatergiques, mais que le nombre de PA des IN et de la PC varie de manière monotone avec AMPAf et NMDAf, selon une pente significativement supérieure pour AMPAf. La durée cumulée des PDS est elle aussi non-monotone selon AMPAf, et croissante



**Figure 6.12** – Étude paramétrique sur l'expression des AMPAR et NMDAR en configuration *KA-MTLE*. Impact simulé de la modification d'expression des AMPAR et NMDAR sur le nombre de décharges de la BC (A), de la PC (B), sur  $[Cl^-]_i$  dans le soma de la PC (C), et sur la durée cumulée des PDS (D). L'étoile blanche correspond à la configuration *KA-MTLE* du modèle.

avec NMDA<sub>f</sub>. La partie décroissante observée pour AMPA<sub>f</sub> > 0,7 s'explique par une capacité réduite du neurone à décharger à haute fréquence lorsque la conductivité de la membrane est augmentée (ici par les AMPA<sub>r</sub>), et dépend du critère de définition du PDS (ici : une séquence de deux PA ou plus, tous séparés de moins de 16,6 ms, soit 60 Hz).

Globalement, ces résultats indiquent que la sous-expression des récepteurs glutamatergiques mesurée expérimentalement provoque une réduction globale de l'excitabilité, et suggère l'existence d'un mécanisme de compensation permettant de réduire la puissance des afférences excitatrices dans ce système déjà hyperexcitable. Parmi les différentes sous-unités mesurées par WB, j'ai pris en référence la modification de GluR1 (-92 %) pour AMPA<sub>f</sub> et celle de NR1, commune aux différents NMDA<sub>r</sub>, pour NMDA<sub>f</sub>. Ainsi, la configuration intégrant l'ensemble des changements d'expression applicables au modèle est notée *KA-MTLE* ([NKCC1f; KCC2f; GABA<sub>Af</sub>; AMPA<sub>f</sub>; NMDA<sub>f</sub>] = [2,76; 0,37; 24,27; 0,08; 0,17]).

### 6.8.6 Simulation de l'effet de MAE en configuration *in vivo*

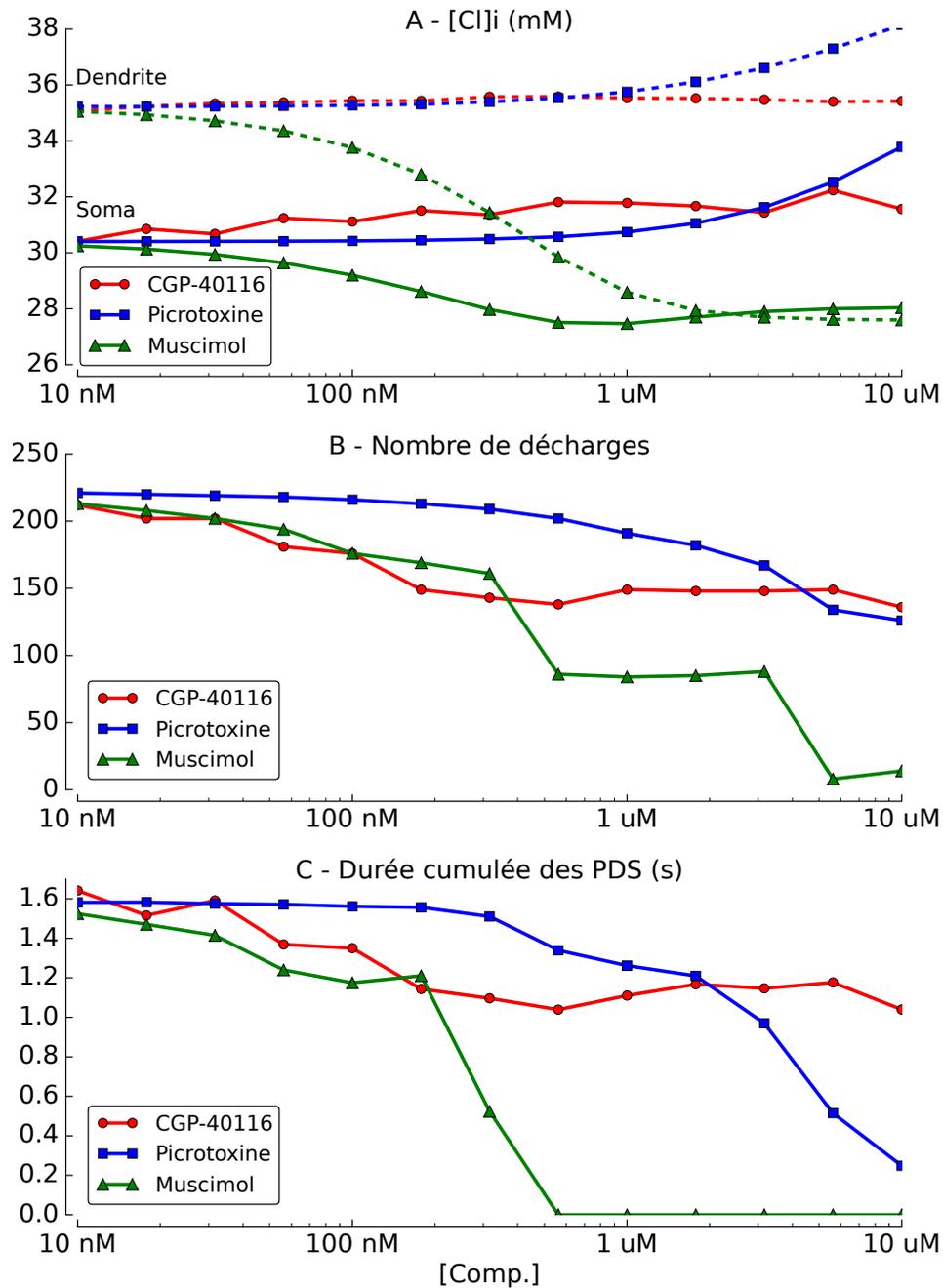
L'étude paramétrique précédente montre que le déséquilibre d'expression des CCC induit une accumulation intracellulaire de chlore, qui combinée à une surexpression des GABA<sub>A</sub><sub>r</sub>, augmente l'excitabilité des neurones et provoque des décharges paroxysmales, alors que la diminution d'expression des récepteurs ionotropes du glutamate tend à en atténuer les effets. À partir de la configuration *KA-MTLE*, j'ai testé les effets de trois composés interagissant avec les récepteurs GABA<sub>A</sub> et NMDA, sur l'homéostasie du chlore et l'excitabilité neuronale. En utilisant le même protocole, des concentrations différentes de CGP-40116 (un antagoniste des NMDA<sub>r</sub>), de picrotoxine (bloqueur du canal des GABA<sub>A</sub><sub>r</sub>), ou de muscimol (un agoniste GABA<sub>A</sub><sub>r</sub>) sont appliquées en début de chaque simulation (Figure 6.13).

Les effets simulés de CGP-40116 sont une réduction concentration-dépendante du nombre de décharges et de la durée cumulée des PDS (Figure 6.13). Ce résultat est en accord avec les expérimentations *in vivo* menées par l'équipe du GIN, qui montrent une suppression partielle des crises chez la souris MTLE, après injection intrahippocampique de CGP-40116 (-45 % sur la durée cumulée des crises, Stamboulian-Platel et Legendre (2015)). Cet effet est principalement dû à l'inhibition de la transmission glutamatergique ciblant les IN, car les courants NMDA<sub>r</sub> sont quasiment inefficaces dans la PC en configuration *KA-MTLE*. Notamment, les premières expérimentations en ce sens, utilisant une configuration sans IN, ne montraient aucun impact du CGP-40116 sur la réduction des PDS. Les afférences excitatrices pourvoyant les IN restent suffisantes à déclencher leur décharge dans la configuration *KA-MTLE*, et les résultats de simulation suggèrent que cette signalisation glutamatergique peut être une cible pour réduire l'occurrence des décharges même si la composante GABA<sub>A</sub>ergique est prépondérante sous cette hypothèse et dans ce modèle. De plus, CGP-40116 ne modifie pas directement  $[Cl^-]_i$ , et la modification de l'équilibre du chlore résulte de l'activité neuronale réduite, diminuant l'efflux net de chlore des GABA<sub>A</sub><sub>r</sub> (Figure 6.13A).

Une question importante posée à cette étape de l'étude consistait à comprendre pourquoi

## 6.8. Résultats principaux en configuration *in vivo*

les expérimentations montrent que le muscimol, un agoniste GABA<sub>A</sub>r diminue les crises de manière significative, alors que la picrotoxine, un antagoniste, n'a qu'un effet marginal ou nul. Ces résultats, mis en perspective avec l'hypothèse du « GABA-excitateur », sont paradoxaux, et nous avons tenté par la modélisation et la simulation d'y apporter un éclairage nouveau.



**Figure 6.13** – Effets des composés CGP-40116, muscimol et picrotoxine en configuration *KA-MTLE* sur  $[Cl^-]_i$  dans le soma et les dendrites de la PC (A, lignes et tirets, resp.), sur le nombre de décharges de la PC (B), ainsi que sur la durée cumulée des PDS (C), générés par la simulation du modèle en configuration *KA-MTLE*.

En tant qu'agoniste, le muscimol active l'ensemble des synapses GABAergiques présentes sur les cellules. Cela est pris en compte par le modèle en intégrant la totalité des synapses GABAergiques sur la PC, selon les densités spécifiées par les données anatomiques de Megias *et al.* (2001). En effet, les premières modélisations de l'action du muscimol, ne prenant pas en compte l'ensemble de ces synapses, ne permettaient pas de mettre au jour l'effet de ce composé. La présence continue de l'agoniste induit une ouverture prolongée des canaux des GABA<sub>A</sub>r perméables au chlore : dans la situation où  $[Cl^-]_i$  est élevée, l'efflux provoqué par cette activation tonique induit un déplacement de l'équilibre du chlore et une normalisation de  $E(GABA_{Ar})$  vers des potentiels plus négatifs. L'amplitude relative de ce décalage de  $[Cl^-]_i$  est plus importante dans les dendrites, ce qui suggère que les neurites les plus fins (i.e. avec un rapport surface/volume plus important) sont globalement plus sensibles à des variations d'expression des canaux et des transporteurs de cet ion (Figure 6.13A).

L'effet simulé du muscimol inclut une diminution concentration-dépendante du nombre de PA et de la durée cumulée des PDS allant jusqu'à une suppression complète des PDS au delà de 500 nM (Figure 6.13). Une transition abrupte a lieu entre 100 nM et 500 nM, attribuable à l'utilisation d'un nombre limité de cellules, ainsi qu'à un protocole de stimuli stéréotypés, qui ne révèlent pas la diversité de la connectivité réelle, ni de la variabilité intercellulaire. Cela ne remet toutefois pas en cause la conclusion des simulations, où l'activation des GABA<sub>A</sub>r par le muscimol induit une diminution significative de l'hyperexcitabilité neuronale.

Au contraire du muscimol, la picrotoxine est un bloqueur de canal dit « usage-dépendant », c'est à dire qu'il ne peut exercer son action d'antagoniste que sur des récepteurs déjà activés et ouverts. La simulation de ses effets montre qu'il n'a pas d'action directe sur l'équilibre du chlore. Ainsi, dans cette situation de surexpression des GABA<sub>A</sub>r, il ne diminue l'activité épileptique qu'à des concentrations élevées, et favorise l'accumulation de chlore dans le neurone (Figure 6.13).

### 6.9 Discussion et perspectives de l'étude

L'épilepsie est une pathologie complexe résultant de l'hyperexcitabilité des neurones et de la propagation d'événements oscillatoires dans les circuits. Le besoin clinique associé aux épilepsies, en particulier à l'EMLT, est important à cause d'une fraction importante de patients résistants aux traitements pharmacologiques habituels, mais aussi dans le cas des épilepsies associées à d'autres pathologies du développement et du vieillissement.

La modélisation et la simulation de ces phénomènes est une tâche difficile, car ils impliquent des mécanismes multiples d'initiation, de maintien, et de compensation, intriqués à différentes échelles de temps et d'espace. Le travail réalisé par Rhenovia Pharma et ses partenaires, dans le cadre du programme RHENEPI, a permis de comprendre la dynamique des processus générant l'hyperexcitabilité neuronale, et d'étudier en simulation l'impact des mécanismes inhérents à plusieurs modèles expérimentaux d'épilepsie. Mon travail présenté ici a permis de compléter la première preuve du concept de modélisation multi-échelles (de la synapse au

neurone), par l'établissement d'un modèle valide dans des conditions physiologiques. Grâce à cette plateforme, il a été possible de valider les hypothèses définissant l'impact du complexe Homer-Shank sur la transmission synaptique, et de conceptualiser les effets mécanistiques sous-jacents. Ce travail a également permis de démontrer la faisabilité de la conversion de la plateforme physiologique vers des configurations de type pathologique, en modifiant les caractéristiques à l'échelle moléculaire. En développant la configuration *Low-Mg* du modèle, j'ai pu valider, par la simulation, l'effet pro- ou antiépileptique de différents composés. Cette configuration s'est révélée capable de prédire les effets de certains MAE et de combinaisons dans les conditions *in vitro*. De plus, j'ai pu tirer profit des résultats de caractérisation d'un modèle expérimental *in vivo* d'EMLT pour :

- étudier l'impact des dérégulations pathologiques qui ont été rapportées,
- évaluer l'impact de MAE dans ces conditions,
- mettre au jour certains phénomènes non-intuitifs associés à l'hypothèse du « GABA-excitateur ».

D'autre part, le verrou technologique que représentait les limites de puissance de calcul au début du projet a pu être levé par l'utilisation d'outils optimisés et par la mise en œuvre d'un cluster de processeurs (cf. chapitre 2), qui ont permis d'atteindre les différents objectifs du projet et de disposer d'un outil de recherche et d'étude performant, constitutif d'un atout majeur pour Rhenovia Pharma.

Les simulations en configuration *Low-Mg* s'appuient sur un modèle de niveau neuronal, représentant les mécanismes cellulaires générant les PDS et reproduisant les effets de MAE mesurés expérimentalement, servant de base au développement des autres configurations. L'expérimentation sur tranches d'hippocampe induit une destruction partielle des connexions des circuits neuronaux, ce qui justifie en partie l'utilisation d'une configuration *cellule-unique*. Il a en effet été montré que les tranches fraîches ne permettent pas d'observer certains types d'activités oscillatoires, alors que les cultures neuronales et les tranches organotypiques le permettent (Goutagny *et al.*, 2009). En fonction de l'épaisseur de la tranche et du mode de préparation, les microcircuits sont toutefois en partie préservés, et une perspective en ce sens consiste à en effectuer la modélisation, afin d'étudier leur impact sur l'excitabilité de la PC dans la configuration *Low-Mg*.

La configuration *KA-MTLE* comporte un niveau supplémentaire d'intégration, par l'ajout de modèles d'IN et l'utilisation de stimuli plus proches de la physiologie. En plus des difficultés inhérentes aux techniques expérimentales d'induction de l'état de mal, de caractérisation *in vivo* de la pathologie, et de mesure des effets des MAE, la recherche des mécanismes importants, leur mise en équation et la constitution d'un modèle réaliste restant simulable présentent aussi des difficultés. La complexité d'un modèle intégrant les mécanismes synaptiques et subcellulaires impacte les temps de simulation : d'abord, la stabilisation des concentrations ioniques s'établit sur plusieurs secondes, et le coût de résolution de l'équation de diffusion de chlore sur chaque segment de neurite est élevé. Ensuite, la modélisation des effets pharmacologiques impose d'utiliser les modèles complets des synapses, des récepteurs et des canaux. Enfin, l'état d'hyperexcitabilité induit un nombre élevé de décharges à haute fréquence des

différents neurones, forçant l'algorithme de résolution à utiliser un petit pas de calcul, ce qui crée finalement les conditions d'un modèle lourd au sens computationnel.

D'un point de vue biologique, ce modèle fournit une image fine des conséquences d'une dérégulation de l'homéostasie du chlore dans le neurone, et est un premier pas dans l'intégration des effets subcellulaires et cellulaires au niveau d'un microcircuit. Pour autant, il est appelé à plusieurs développements. En premier lieu, ce modèle prend essentiellement en compte la transmission synaptique GABAergique rapide régulant l'activité des PC. L'altération de l'équilibre entre excitation et inhibition dans les pathologies telles que l'épilepsie semble relever d'une mécanique complexe impliquant des GABA<sub>A</sub>R extrasynaptiques, sensibles à de faibles concentrations de GABA ambiant, et soutenant une inhibition tonique par effet de *shunt* (i.e. une augmentation de la conductivité membranaire à même d'atténuer les dépolarisations) (Fritschy, 2008; Egawa et Fukuda, 2013; Pandit *et al.*, 2013). Les simulations de cette étude mettent en évidence l'effet du muscimol et étayent cette importance suspectée de la signalisation GABAergique extrasynaptique, mais les données présentes ne permettent pas d'établir si la modification d'expression des GABA<sub>A</sub>R affecte préférentiellement les récepteurs synaptiques ou extrasynaptiques. Les voies d'amélioration du modèle en ce sens consisteront ainsi :

- à développer un modèle de la diffusion volumique de GABA créant cette concentration ambiante,
- à implémenter des modèles spécifiques des différentes compositions en sous-unités du GABA<sub>A</sub>R et leur distribution sur les différents neurites,
- à intégrer des GABA<sub>B</sub>R présents dans les compartiments pré- et postsynaptiques de certaines connexions (cf. sous-section 1.7.3).

Les validations de tels modèles supposeront aussi le recueil de données expérimentales supplémentaires, car les résultats disponibles à ce jour sont encore lacunaires.

Par ailleurs, le modèle de microcircuit pourra être complété. D'abord, la voie inhibitrice transmise par les IN AAC, ciblant les SIA des PC joue nécessairement un rôle important dans leur décharge : la contribution relative de cette voie devrait également être évaluée. Ensuite, le microcircuit modélisé intègre des instances uniques de chaque type d'IN. Mises à part les considérations de temps de calcul qui seraient obligatoirement augmentés par l'intégration de populations d'IN interconnectés, il est notable que les premiers tests en ce sens ont présenté des complexités intéressantes : les nombreuses connexions GABAergiques récurrentes entre les IN, dans un contexte de « GABA-excitateur » et de surexpression des récepteurs GABAergiques, semblent rapidement donner lieu à des blocs de dépolarisation, c'est à dire à une extinction de leurs décharges par excès d'excitation. Un tel effet sur les IN a été observé expérimentalement (Yi *et al.*, 2015), et appelle à de plus amples développements.

De plus, la configuration pathologique est rendue particulièrement difficile à établir au niveau du réseau, car les hippocampes malades sont sujets à d'importantes modifications morphologiques et fonctionnelles. D'une part, certains neurones présentent un bourgeonnement de leurs projections axonales, et forment de nombreuses synapses, s'apparentant à une poussée

neuronal effrénée. Ce bourgeonnement a des conséquences largement indéterminées, mais pourrait donner lieu à des connexions récurrentes excitatrices favorables à la propagation d'activités épileptiformes (Esclapez *et al.*, 1999). Une étude de l'impact de ce bourgeonnement et de la formation de connexions excitatrices récurrentes sur l'excitabilité du réseau pourra être menée *in silico* sur un modèle de microcircuit. D'autre part, le développement d'une sclérose hippocampique (SH), souvent observée dans les modèles animaux et chez les patients atteints d'EMLT, traduit une mort cellulaire particulièrement forte dans les aires CA3 et CA1. Ce phénomène, dont les liens de causalité avec l'épileptogénèse sont objets de controverses (Malmgren et Thom, 2012), suggère que les cellules de ces aires sont les cibles principales de processus cytotoxiques. De nombreux travaux attribuent une place centrale au GD dans ce processus (cf. section 6.3), et une autre voie de développement consistera à mettre en œuvre une modélisation de cette structure. Pour autant, les modèles et résultats présentés ici sont génériques et généralisables, et on peut imaginer qu'ils représentent une situation précédant et/ou initiant la SH.

De manière générale, la grande variété des cibles et des mécanismes d'action inhérents à l'épilepsie, et visés par les MAE ouvre un large champ de théories et de stratégies thérapeutiques. Du point de vue de la modélisation, de nouvelles implémentations et développements, relevant de son évolution et de son exploitation, sont envisageables. Tout d'abord, certaines cibles moléculaires, au plus bas niveau restent à exploiter et à approfondir.

- i) Les mécanismes relatifs à la recapture et à la dégradation des neurotransmetteurs restent en effet complexes à traiter, car les corrélations entre la dynamique de leurs variations et les acteurs de leur cycle métabolique (cellules gliales, enzymes de dégradation, transporteurs, etc.) sont difficiles à obtenir expérimentalement, en particulier dans le milieu extracellulaire.
- ii) La pharmacologie des VDCC dendritiques et des canaux potassiques voltage-dépendants, nécessiterait un développement plus fin, afin de les implémenter en tant que cible de certains MAE (lévétiracetam, lamotrigine).
- iii) Les cibles présentes au niveau présynaptique sont aussi appelées à des raffinements, considérant que l'extraction de leurs propriétés dynamiques et leur modélisation présente des difficultés particulières (effets probabilistes, nanodomains de calcium, influence des afférences cholinergiques, etc.).

Ensuite, dans la perspective de découverte de nouvelles cibles, et le repositionnement de molécules applicables à l'épilepsie, on peut envisager de développer et d'intégrer des mécanismes tels que ceux de la signalisation cholinergique muscarinique, dont l'implication dans l'intégration du signal pourrait aussi jouer un rôle sur l'excitabilité et la rythmicité des oscillations neuronales.

Par ailleurs, les phénomènes d'oscillations associés à l'épilepsie dépassent l'échelle du microcircuit, et l'implémentation de modèles d'oscillation à l'échelle des populations neuronales apporterait des éléments complémentaires aux résultats du modèle actuel. À ce titre, le développement d'un modèle capable de simuler les résonances à grande échelle des crises

épileptiques est contraint à l'intégration de larges populations neuronales (Jefferys, 2010). Des approches de modélisation nourrissant ces objectifs ont été proposées dans la littérature (Traub *et al.*, 1994; Wendling *et al.*, 2002; Heilman et Quattrochi, 2004; Wendling, 2008; Vincent *et al.*, 2011; Wendling *et al.*, 2012; Goodfellow *et al.*, 2012; Ratnadurai-Giridharan *et al.*, 2014) (revues dans Case et Soltesz (2011); Soltesz et Staley (2011); Case *et al.* (2012); Wendling *et al.* (2015)), mais rares sont celles proposant les détails subcellulaires et synaptiques intégrés par notre approche. La caractérisation expérimentale des conditions pathologiques dans ce programme a permis la modélisation de certains mécanismes et la compréhension d'effets complexes permettant d'expliquer les phénomènes liés à l'épilepsie, ainsi que de corroborer numériquement l'hypothèse du « GABA-excitateur ». En appliquant cette méthode de manière incrémentale et itérative, on pourra compléter les mécanismes des modèles, tester de nouvelles hypothèses, guider les procédures expérimentales, afin de raffiner la compréhension des phénomènes épileptiques et d'apporter de nouvelles solutions aux patients.

Enfin, les mécanismes associés à des changements d'expression des CCC, induisant des modifications de l'équilibre du chlore dans les cellules, et aboutissant à une inversion de l'action GABAergique sont associés au développement neuronal périnatal. Durant la vie embryonnaire et jusqu'aux premières semaines postnatales, l'action GABAergique est excitatrice et permet la construction des premières architectures neuronales (cf. sous-section 1.7.3). La maturation s'accompagne d'une inversion du rapport KCC2 : NKCC1 permettant la transition vers une signalisation GABAergique inhibitrice. Des altérations de ces processus peuvent conduire à des épilepsies infantiles, et ont été corrélées à l'occurrence des troubles du spectre autistique (TSA) (Pizzarelli et Cherubini, 2011; Cellot et Cherubini, 2014; Tyzio *et al.*, 2014). La découverte récente de ces phénomènes dans le développement, et de comorbidités importantes entre l'épilepsie et les TSA suggèrent qu'il existe un lien étroit entre l'hyperexcitabilité neuronale et les pathologies du développement (Brooks-Kayal, 2010; Frye *et al.*, 2013). Par ailleurs, le valproate est un médicament utilisé pour traiter l'épilepsie, mais est aussi un outil expérimental d'induction d'autisme chez les rongeurs : son utilisation en tant que MAE pendant la grossesse est reconnue comme un facteur de risque de troubles neuro-développementaux graves (Roullet *et al.*, 2013; Ornoy *et al.*, 2015), et est en cours de réévaluation par l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). Ainsi, les mécanismes modélisés et mis en œuvre dans le cadre de l'EMLT pourront être exploités pour l'étude de plusieurs autres situations, dont les pathologies du développement telles que les TSA.

Le travail présenté dans ce chapitre montre que la simulation permet d'explorer et de comprendre les mécanismes à l'œuvre dans des pathologies, et constitue un outil puissant pour la recherche et le développement de nouveaux traitements pharmacologiques. La possibilité en particulier de manipuler les paramètres du modèle pour tester des hypothèses de recherche et évaluer les effets des mécanismes pathologiques et des molécules pharmacologiques permet d'aborder leur complexité et d'envisager une véritable ingénierie des médicaments. L'intégration de multiples échelles de modélisation reste toutefois une nécessité pour appréhender la complexité de ces systèmes, et l'application proposée dans le chapitre suivant constitue une étape supplémentaire dans cette démarche.

## Modulation muscarinique de l'activité neuronale hippocampique

Dans les chapitres précédents, différents modèles constitutifs de l'activité des neurones de l'hippocampe ont été décrits. L'importance d'une modélisation fine des effets microscopiques permettant d'intégrer les effets pharmacologiques a été démontrée dans deux applications. Le besoin d'intégration, à l'échelle des circuits, des phénomènes régissant l'activité neuronale a été souligné, dans le but d'accéder aux observables expérimentales et aux manifestations cliniques des pathologies et de leurs traitements.

L'électroencéphalographie (EEG) révèle l'existence d'oscillations à différentes fréquences, qui témoignent de l'activité coordonnée de populations de neurones dans les structures corticales et hippocampiques. Ces oscillations, qui sont sous l'influence modulatrice d'afférences externes, notamment de noyaux subcorticaux, ont été corrélées à différents comportements *in vivo* ainsi qu'à certaines pathologies. Comme évoqué dans le chapitre 1, l'acétylcholine (ACh) module l'activité hippocampique : les récepteurs muscariniques (mACh) jouent un rôle prépondérant dans l'excitabilité des PC, ainsi que dans l'émergence d'oscillations amples à basse fréquence (3-12 Hz), constituant le rythme appelé thêta ( $\theta$ ). De nombreuses données expérimentales et cliniques suggèrent que ce rythme est associé à la mémoire et à la cognition.

Dans ce chapitre, nous aborderons la question de la modulation de l'activité hippocampique par des composés agissant sur les voies cholinergiques, ayant pour cibles les récepteurs muscariniques (mACh) (composés muscariniques). Une première partie de l'étude a permis de mettre en place les différents éléments de modélisation constitutifs des mécanismes d'action des mACh, sur l'excitabilité des PC et l'activité spontanée de tranches d'hippocampe. La seconde partie a consisté à mettre en place un modèle minimal, faisant intervenir les circuits du septum médian (SM) et les projections de la voie septo-hippocampique (VSH), afin de simuler les oscillations thêta observées *in vivo* chez le rat anesthésié, et d'étudier numériquement leur modulation par des composés muscariniques.

Cette application est l'objet des développements les plus récents de mon travail de thèse, qui ont permis de mettre en œuvre les modèles et les techniques de simulation au niveau du microcircuit de CA1 (sections 2.6 & 4.3), ainsi que les méthodes associées à la simulation des

potentiels extracellulaires (sous-section 2.5.2). Ce travail est appelé à de nombreux développements, et constitue un pas vers la constitution d'un modèle unifié d'hippocampe, propre à la compréhension de son fonctionnement, et à la recherche de traitements des nombreuses pathologies qui l'affectent.

### 7.1 Rythme thêta et voie septohippocampique

Un objectif majeur des neurosciences computationnelles est de comprendre comment les circuits neuronaux encodent, traitent, stockent et restituent l'information. Pour l'atteindre, il faut identifier les liens entre l'activité des neurones pris individuellement et les comportements observés des réseaux qu'ils constituent (Cobb et Vida, 2010). En particulier, les données expérimentales et cliniques indiquent que l'hippocampe joue un rôle central dans de nombreux mécanismes cognitifs et émotionnels (Kahana *et al.*, 2001; Buzsáki, 2002; Hajós *et al.*, 2004). Le fonctionnement du système hippocampique a été analysé aux niveaux subcellulaires, cellulaires et des circuits dans le but de comprendre les liens entre l'activité des neurones et l'émergence de différents états fonctionnels et de certains comportements. Le caractère oscillatoire de l'activité de la formation hippocampique et du système limbique en général est reconnue comme fondamentale à sa compréhension, mais les relations entre l'activité neuronale unitaire et le traitement de l'information au niveau des réseaux sont encore peu comprises.

L'activité des réseaux résulte de décharges collectives de plusieurs neurones, et peut être étudiée expérimentalement en enregistrant les flux de courant se propageant dans le milieu extracellulaire, générant des variations de potentiels visibles à l'EEG. À différents niveaux d'enregistrement, et dans de nombreux modèles expérimentaux et cliniques, ces observables sont constituées de rythmes imbriqués, dont les fréquences, les phases et les amplitudes sont caractéristiques de différents états fonctionnels, de différents comportements et de certaines pathologies, et semblent convoier l'information au travers des structures cérébrales (Buzsáki, 2002). Les modes oscillatoires les mieux caractérisés dans l'hippocampe sont les rythmes thêta ( $\theta$ , 3-12 Hz) et gamma ( $\gamma$ , 30-80 Hz), fonctionnellement très liés, et tous deux générés dans une grande variété de comportements et d'activités.

Le rythme gamma est constitué d'oscillations rapides de l'activité extracellulaire enregistrée dans différentes zones du cerveau. Il témoigne de l'activation simultanée et brève de plusieurs PC, et semble émerger de l'action inhibitrice des IN du microcircuit, en particulier ceux pourvoyant l'inhibition périsomatique (Gloveli *et al.*, 2010; Buzsáki et Wang, 2012). Il est par exemple possible en simulation d'obtenir la synchronisation dans cette bande de fréquence d'une population de BC interconnectées (Figure 4.9, Wang et Buzsáki (1996); Buhry (2010); Kopell *et al.* (2010)). *In vivo*, l'amplitude des oscillations gamma est modulée par une oscillation « porteuse » de plus basse fréquence : le rythme thêta.

Le rythme thêta est observé *in vivo* dans l'hippocampe du rat lorsqu'il est engagé dans des activités d'exploration et des tâches d'apprentissage (Buzsáki, 2006), ainsi que chez la plu-

part des mammifères y compris l'humain (Ekstrom *et al.*, 2003, 2005). Le rythme thêta est indispensable aux processus d'apprentissage et de mémoire (O'Keefe et Nadel, 1978; Pavlides *et al.*, 1988; Buzsáki, 1989; Huerta et Lisman, 1993; Klimesch, 1999). Il semble être associé à la LTP (Tsanov et Manahan-Vaughan, 2009), ainsi qu'à diverses pathologies comme la maladie d'Alzheimer (Villette *et al.*, 2010; Zou *et al.*, 2011), l'épilepsie (Chauviere, 2010), ou la schizophrénie (Lisman et Buzsáki, 2008). Avec la découverte des cellules de lieu, qui créent des cartes cognitives de l'espace (O'Keefe et Dostrovsky, 1971; O'Keefe, 1976; O'Keefe et Nadel, 1978; Ekstrom *et al.*, 2003; Eichenbaum, 2010), l'identification de ces signatures oscillatoires de l'activité hippocampique constitue les prémices de la compréhension du codage neuronal de l'information. De nombreuses théories ont émergé sur ces bases (Lengyel *et al.*, 2005) : le phénomène dit de précession de phase dans le rythme thêta, suggérant que l'encodage de l'information pourrait se faire de manière alternée avec sa restitution, selon les phases de l'oscillation thêta, y occupe une place centrale (O'Keefe et Recce, 1993; Hasselmo *et al.*, 2002; Hasselmo, 2005; Lisman, 2005; Manns *et al.*, 2007; Lisman et Buzsáki, 2008; Hasselmo et Stern, 2014).

### 7.1.1 Le septum comme générateur du rythme thêta hippocampique

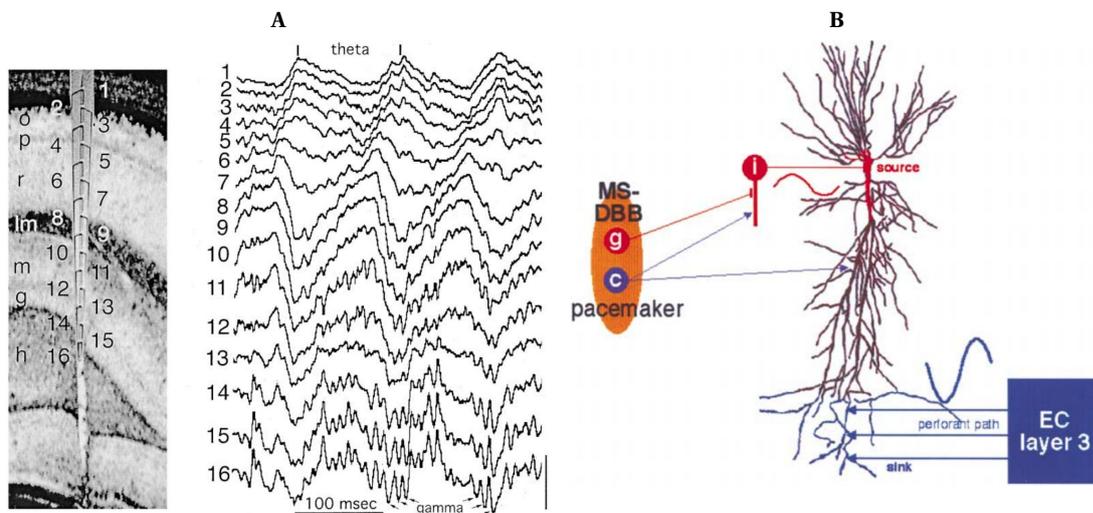
Le rythme thêta hippocampique est la résultante de générateurs de courants agissant sur les différentes dendrites des PC. D'une part, les projections du CE sur les dendrites du *s.l-m*, et des CS sur les dendrites du *s.r* forment des entrées excitatrices cohérentes à ce rythme (Kocsis *et al.*, 1999) ; d'autre part les projections inhibitrices périsomatiques génèrent aussi des trains d'ondes cohérents à la fréquence thêta (Buzsáki, 2002). Ces activités cohérentes constituent les dipôles générateurs des oscillations thêta enregistrées dans l'hippocampe, dont l'amplitude et la phase varient selon les couches (Figure 7.1A). Globalement, les structures parahippocampiques (subiculum, cortex périrhinal et entorhinal, amygdale) peuvent développer ce type d'activité cohérente et entraîner l'hippocampe, mais ne sont pas des générateurs intrinsèques. Aussi, les différentes structures de l'hippocampe (CA3, CA1, GD), en particulier certains types d'IN (e.g. O-LM) semblent avoir une propension particulière à synchroniser leurs activités et à développer des résonances dans cette bande de fréquence sans pour autant que leur capacité à générer ce type d'oscillations de manière autonome et dans des conditions physiologiques ne soit fermement établie (Hu *et al.*, 2002; Buzsáki, 2006).

C'est en amont, dans les structures du complexe septum médian / diagonale de Broca (SM/DB), que les générateurs primaires du rythme thêta ont été identifiés, car il a été observé que des lésions de cette aire l'abolissent dans la plupart de leurs cibles corticales (Petsche *et al.*, 1962). En particulier, les théories actuelles sur l'origine du rythme thêta attribuent un rôle central aux réseaux de neurones GABAergiques interconnectés de ce complexe, qui agiraient comme des résonateurs et des générateurs de rythme (Stewart et Fox, 1989; Vertes et Kocsis, 1997; Buzsáki, 2002; Vertes *et al.*, 2004) (Figure 7.1B).

Le septum est un noyau situé en avant de l'hippocampe, auquel il est réciproquement connecté

## Chapitre 7. Modulation muscarinique de l'activité neuronale hippocampique

par la fimbria et le fornix (Figure 7.2A). L'activité du septum est modulée par une connexion bidirectionnelle cholinergique avec le noyau supramammillaire (SuM) et les noyaux hypothalamiques. Ces voies ascendantes jouent des rôles importants dans la genèse des oscillations hippocampiques (Risold et Swanson, 1997; Borhegyi et Freund, 1998; Leranth *et al.*, 1999), en particulier certains noyaux du tronc cérébral (e.g. *nucleus pontis oralis* (nPO)) dont la stimulation électrique induit une oscillation thêta ample dans l'hippocampe de l'animal anesthésié (Vertes et Kocsis, 1997; Leranth *et al.*, 1999; Leung et Péroquin, 2010), relayée par le *nucleus incertus* et le SuM (Nuñez *et al.*, 2006; Teruel-Martí *et al.*, 2008). Les parties latérales du septum reçoivent les projections hippocampiques, et ont été récemment associées à la modulation du rythme thêta hippocampique (Chee *et al.*, 2015). Ses portions médiales (i.e. SM/DB) projettent des fibres glutamatergiques, GABAergiques et cholinergiques vers différentes structures distantes dont l'hippocampe, formant la voie septo-hippocampique (VSH), déterminante dans la genèse du rythme thêta hippocampique (Figure 7.2B). Alors que le rôle et les cibles des projections glutamatergiques sont relativement peu éclaircis (Sotty *et al.*, 2003; Huh *et al.*, 2010), il semble que les neurones GABAergiques aient des activités rythmiques propres à générer et à moduler la fréquence propre du rythme thêta (Wang, 2002; Sotty *et al.*, 2003), et que les neurones cholinergiques, dont l'activité est plus lente, exercent une modulation en



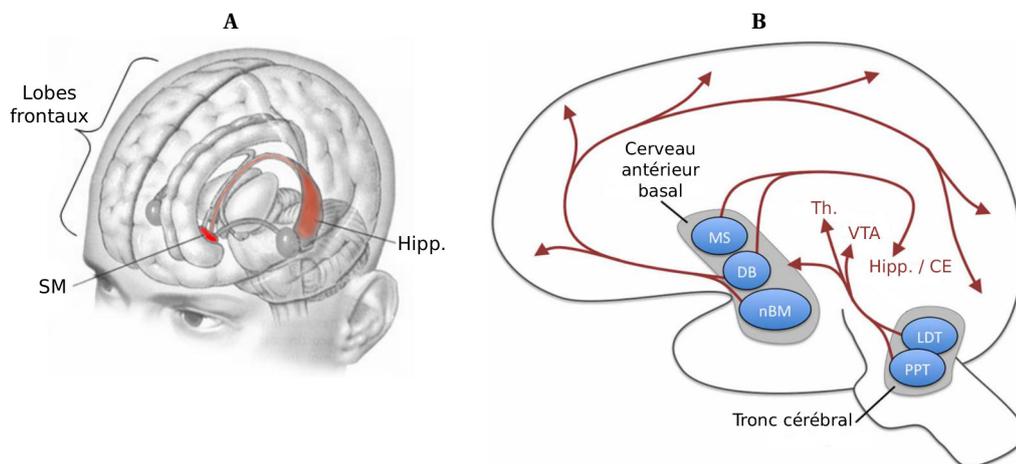
**Figure 7.1** – Générateurs du rythme thêta observé dans l'hippocampe **A** - Une multiélectrode linéaire implantée dans l'axe CA1-GD permet d'enregistrer le profil des oscillations du potentiel extracellulaire dans l'hippocampe d'un rat lors d'une activité d'exploration. L'amplitude et la phase du rythme thêta varient selon la couche enregistrée (du *s.o.* (o) au *s.l-m* (lm)), et certaines composantes présentent des oscillations gamma imbriquées dans le rythme thêta (éch. verticale : 1 mV). D'après Bragin *et al.* (1995). **B** - Modèle classique des générateurs de courant thêta dans l'hippocampe, où le SM/DB (MS-DBB) est le générateur primaire, d'après Buzsáki (2002). Les projections cholinergiques (c) transmettent une dépolarisation tonique des PC et des IN (i) via des mAChr. Les projections GABAergiques (g) hyperpolarisent les IN de manière rythmique, et produisent des CPSI périsonatiques dans les PC à l'origine des sources de courants dans le *s.p.* (rouge). Les CPSE générés par les projections du CE sont responsables des oscillations observées dans les couches dendritiques distales (bleu, EC layer 3).

## 7.1. Rythme thêta et voie septohippocampique

amplitude de l'oscillation hippocampique (Vinogradova *et al.*, 1993, 1998).

L'importance du tonus cholinergique est révélée par la possibilité d'induire des oscillations thêta par infusion de carbachol (CCh) (un agoniste cholinergique non sélectif) dans des tranches d'hippocampe, ou de manière systémique dans l'hippocampe ou le septum *in vivo* (Vandecasteele *et al.*, 2014), ou au contraire de les bloquer de la même manière par un antagoniste muscarinique (atropine, scopolamine) (Vinogradova *et al.*, 1998). La composante « atropine-résistante » du rythme thêta hippocampique, observée principalement dans les couches dendritiques distales et émanant des capacités oscillatoires du CE et de l'aire CA3, reflète la prédisposition de ces structures à résonner et à entretenir partiellement ce type d'oscillation : il semble toutefois que l'activation des projections cholinergiques de la VSH soit un préalable nécessaire à l'induction du rythme thêta dans les conditions physiologiques (Buzsáki, 2002; Hentschke *et al.*, 2007).

Pour autant, la transmission cholinergique n'a pas les propriétés suffisantes pour créer à elle seule les sources de courants à l'origine du rythme thêta : les fibres cholinergiques n'innervent pas spécifiquement les strates dendritiques concernées (Kamondi *et al.*, 1998; Ruivo et Mellor, 2013), et les cinétiques d'activation et de désactivation des mAChR (e.g. les M1r des PC) sont trop lentes pour générer des courants à ces fréquences (Cole et Nicoll, 1983; Hasselmo et Fehlau, 2001). Ainsi, les projections GABAergiques joueraient un rôle prépondérant dans l'entraînement effectif du rythme thêta : il a en effet été observé que les neurones GABAergiques du SM (SM-GABA) forment des synapses spécifiquement avec certains IN hippocampiques, en particulier les IN responsables de l'inhibition périsonatique (Freund et Antal, 1988; Ruivo et



**Figure 7.2** – Septum médian et voie septohippocampique. **A** - Situation anatomique du SM et de la VSH, d'après White (2003a). **B** - Projections cholinergiques principales du cerveau, d'après Newman *et al.* (2012). Les structures du cerveau antérieur basal : septum médian (MS), la bande diagonale de Broca (DB) et *nucleus basalis magnocellularis* (nBM) innervent de manière diffuse différentes structures corticales et subcorticales. Les structures du tronc cérébral : noyau tegmental pédonculopontin (PPT) et tegmentum pontique latérodorsal (LDT) projettent vers le thalamus et le cerveau antérieur basal.

Mellor, 2013), et que des agonistes muscariniques appliqués dans le SM activent sélectivement les SM-GABA (Wu *et al.*, 2000). Des données obtenues sur le rat ont montré qu'une grande proportion des cellules du SM/DB sont GABAergiques, et que la plupart d'entre elles s'activent selon des profils rythmiques de décharge, par des trains de PA synchrones avec le rythme thêta hippocampique (Sotty *et al.*, 2003; Simon *et al.*, 2006). Ces populations de neurones inhibiteurs ont ainsi les propriétés fonctionnelles adéquates pour produire une désinhibition synchrone des PC, via les IN de l'hippocampe. Les projections réciproques de certains IN hippocampiques vers le septum pourraient participer à la synchronisation de ces populations (Denham et Borisyuk, 2000; Jinno, 2009; Hangya *et al.*, 2009).

Il est maintenant largement accepté que les projections cholinergiques et GABAergiques de la VSH jouent des rôles conjoints dans l'induction du rythme thêta, permettant l'orchestration synchrone des activités des neurones de la formation hippocampique (Smythe *et al.*, 1992; Chrobak *et al.*, 2000; Gillies *et al.*, 2002; Buzsáki, 2002; Ruivo et Mellor, 2013; Long *et al.*, 2015). Bien qu'un certain nombre de questions subsistent quant à sa fonction exacte, il semble qu'un dysfonctionnement de ces structures du SM et de la VSH puisse altérer la formation de la mémoire (Parent et Baxter, 2004; Villette *et al.*, 2010; Zou *et al.*, 2011).

### 7.2 Contexte et objectifs de l'étude

Le travail de modélisation de cette application s'est déroulé dans le cadre d'une collaboration industrielle, dont l'objectif était d'étudier en simulation l'effet de composés cholinergiques sur les comportements électrophysiologiques de l'hippocampe, observés expérimentalement *in vitro* et *in vivo*. Plus particulièrement, il s'agissait d'établir la faisabilité de telles études, en démontrant la capacité des modèles à générer des observables simulées reproduisant les effets enregistrés au niveau extracellulaire dans des configurations de type *Micro-Electrodes Array* (MEA) *in vitro* sur tranches d'hippocampe d'une part, et les données d'électrophysiologie enregistrées *in vivo* par des multiélectrodes implantées chez des rats anesthésiés d'autre part. Ces données nous ont été fournies par notre partenaire, et la présentation des résultats de ce chapitre obéit donc à des contraintes de confidentialité.

Dans la configuration *in vitro*, l'observable principale retenue est l'activité spontanée de décharge des PC dite activité multi-unités (AMU), et mon travail s'est concentré sur la simulation de ce type d'enregistrement, et sur la modulation de l'AMU par des composés muscariniques. Dans la configuration *in vivo*, une stimulation électrique est appliquée aux noyaux de la formation réticulée nPO, permettant de générer des oscillations thêta amples, dont j'ai ensuite étudié les mécanismes de genèse et la modulation par des composés muscariniques.

La première partie du travail a mené à la construction des modèles de mAChR, en particulier le M1r (section 3.5), à son intégration dans le modèle de PC de CA1 (section 4.1), et au développement des techniques de simulation du potentiel de champ local (PCL) (sous-section 2.5.2). Les résultats expérimentaux obtenus avec trois composés nous ont été fournis afin de permettre la construction et l'ajustement de ce modèle, et les paramètres élémentaires concernant l'ac-

tivité pharmacologique de deux autres composés (mode d'action sur les mAChr, spécificité, concentrations efficaces et efficacité) nous ont été indiqués afin que les simulations de leurs effets sur l'activité spontanée des tranches dans les mêmes conditions, soient effectuées en aveugle.

La deuxième partie visait à étendre le premier modèle vers la situation *in vivo*. Le travail a consisté à construire le modèle de microcircuit incluant la connectivité locale entre les PC et les IN (section 4.3), puis à modéliser l'influence de la VSH afin de simuler les oscillations thêta induites par la stimulation du nPO. J'ai modifié la configuration d'enregistrement du modèle pour permettre de simuler les PCL enregistrés par une multiélectrode linéaire placée dans l'axe CA1-GD (Figures 7.1A et 7.5), et d'étudier la modulation, par des composés muscariniques, des puissances des signaux PCL des différentes strates dendritiques, dans les bandes de fréquence thêta et gamma. Comme pour la configuration *in vitro*, les résultats de deux composés nous ont été fournis pour permettre l'ajustement du modèle, et les paramètres élémentaires d'activité pharmacologique de deux autres composés (incluant les données pharmacocinétiques) nous ont été indiqués afin de simuler leurs effets en aveugle dans les mêmes conditions.

## 7.3 Modélisation et résultats

### 7.3.1 Modulation muscarinique de l'excitabilité hippocampique *in vitro*

Pour reproduire les résultats d'électrophysiologie *in vitro*, l'implémentation des modèles s'est basée sur une démarche de construction progressive, des mécanismes élémentaires aux systèmes plus intégrés. Comme évoqué dans la section 1.8, le M1r joue un rôle central dans la modulation de l'excitabilité des PC hippocampiques : le développement de ce modèle élémentaire et de sa voie de signalisation intégrant le cycle des PIs et l'inhibition du courant  $I_M$  (canaux Kv7.2/3) sont décrits en section 3.5.

Sur cette base, trois composés nous ont été proposés par notre partenaire pour configurer le modèle. Pour les raisons de confidentialité évoquées, nous utiliserons ici des dénominations génériques :

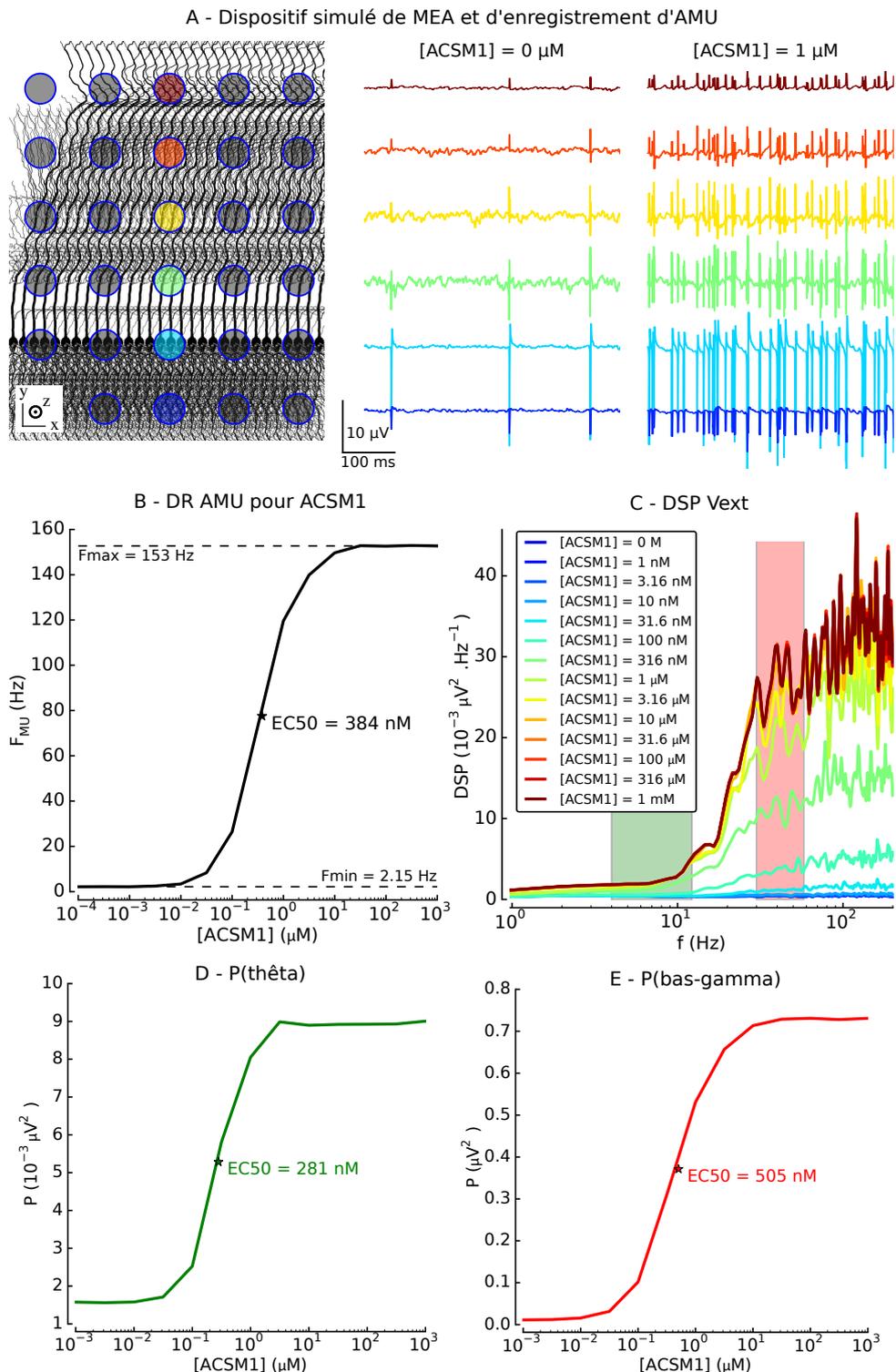
- **ACSM1** est un Agoniste Complet et Spécifique du M1r. Il active de manière spécifique les M1r, et induit l'activation des voies de signalisation.
- **ACNSM** est un Agoniste Complet Non Spécifique des mAChr. Il active les différents types de mAChr avec des affinités différentes, et induit l'activation des voies de signalisation. Son utilisation pour la modélisation permet d'évaluer les effets relatifs du M1r par rapport aux autres sous-types.
- **MAPM1** est un Modulateur Allostérique Positif du M1r. Il se lie au site allostérique du M1r, n'active pas de lui-même les voies de signalisation, mais potentialise l'effet d'autres agonistes, en augmentant l'affinité du récepteur pour les ligands extra- ou intracellulaires (e.g. protéine-G). Deux tests nous ont été fournis : le premier permettant d'établir la DR d'ACSM1 en présence d'une concentration fixe de MAPM1, et l'autre

permettant d'établir la DR de MAPM1 en présence d'une concentration fixe d'ACNSM. Le développement de ligands des sites allostériques du M1r est une voie de recherche intéressante : certaines de ces molécules ont montré des résultats prometteurs dans le traitement de la schizophrénie et la maladie d'Alzheimer, car ils bénéficient d'une plus grande spécificité, limitant les effets secondaires (Marlo *et al.*, 2009; Budzik *et al.*, 2010).

Les effets élémentaires de ces composés sur le M1r sont modélisés en utilisant les paramètres publiés et ceux fournis par notre partenaire. Ces paramètres proviennent de systèmes d'analyse *in vitro* permettant de mesurer l'affinité d'un ligand en compétition avec un ligand marqué (« déplacement », e.g. Birdsall *et al.* (1978); Lazareno et Birdsall (1995)), de quantifier l'activation des protéines-G ou la libération de calcium dans des systèmes d'expression spécifiques (Ma *et al.*, 2009; Odagaki et Toyoshima, 2012; Odagaki *et al.*, 2013). En fonction du type d'expérimentation disponible, les paramètres de liaison du composé et d'activation des protéines-G dans le modèle, ( $k_{on}$  et  $k_{off}$ , Figure 3.9) sont ajustés pour obtenir les concentrations efficaces ( $EC_{50}$ ) et les efficacités maximales ( $E_{max}$ ), en choisissant les quantités simulées correspondant aux observables expérimentales (e.g.  $G_a$ -GTP-PLC, PIP2).

À partir du modèle de l'interaction de M1r avec le cycle des PIs et de l'inhibition du courant  $I_M$  (canaux Kv7.2/3, section 3.5), j'ai modélisé et simulé l'influence de ces molécules sur l'excitabilité d'une PC. L'exemple du composé ACSM1 est proposé en Figure F.1 : la validation élémentaire est effectuée en appliquant des concentrations constantes du composé, et en mesurant la densité de protéines-G activées (A, GaPLC) et l'inhibition du courant  $I_M$  (A, Inhibition courant-M). L'augmentation d'activité unitaire (activité simple-unité (ASU)) de la PC est testée en appliquant des entrées synaptiques glutamatergiques permettant d'obtenir l'activité spontanée observée en tranches (564 synapses sur les dendrites du *s.r.*, activées à des dates aléatoires à une fréquence moyenne de 1 Hz pendant 30 secondes), en mesurant les PA générés et en calculant leur fréquence moyenne (Figure F.1B,  $F_{SU}$ ). On constate dans ces différents tests que les concentrations efficaces et l'amplitude des effets sont très dépendantes de l'observable et du protocole, les  $EC_{50}$  étant modifiées de plus d'un ordre de grandeur.

Ensuite, une configuration permettant de reproduire les activités multi-unités (AMU) enregistrées sur tranche d'hippocampe a été établie. Plusieurs instances de modèles de PC sont réparties sur le plan  $(x, y)$ , et alignées dans l'axe  $x$  selon leur soma (Figure 7.3A). Une grille d'électrodes d'enregistrement virtuelles est apposée sur le plan  $(x, y)$ , à 50  $\mu m$  du plan des cellules (selon  $z$ ), en utilisant la bibliothèque LFP<sub>y</sub> (sous-section 2.5.2), configurée selon les données techniques des MEA utilisées dans l'expérience. Ainsi, les PCL d'une population de PC, dans différentes strates dendritiques peuvent être simulés, et l'AMU peut être enregistrée pour différentes concentrations de composés. En réalité, les expérimentateurs ont enregistré uniquement les signaux des électrodes placées au niveau du *s.p.* : on observe effectivement que c'est dans cette strate que les PA extracellulaires sont les plus amples (électrode et traces de couleur cyan dans la Figure 7.3A). On effectue la détection des PA extracellulaires à partir des signaux de ces électrodes, et on établit la DR de l'AMU pour les différents composés (Figure 7.3B). De plus, on effectue l'analyse fréquentielle de ces signaux en calculant leur



**Figure 7.3** – Modèle de MEA et réponse extracellulaire simulée de ACSM1. **A** - Configuration du modèle reproduisant le dispositif expérimental de MEA, et extraits des PCL enregistrés par les différentes électrodes (couleurs correspondantes) pour  $[ACSM1] = 0$  et  $1 \mu M$ . **B** - DR de l'AMU pour ACSM1 obtenue par détection des PA extracellulaires. **C** - DSP des signaux enregistrés par l'électrode du *s.p.* pour différentes concentrations d'ACSM1, calculées par la méthode de Welch ( $F_e = 8$  kHz;  $N_{FFT} = 2^{14}$ ;  $N_{seg} = 2^{12}$ ). **D,E** - DR des puissances dans les bandes  $\theta$  (3-12 Hz) et bas-gamma (30-60 Hz), obtenues par intégration de la DSP.

## Chapitre 7. Modulation muscarinique de l'activité neuronale hippocampique

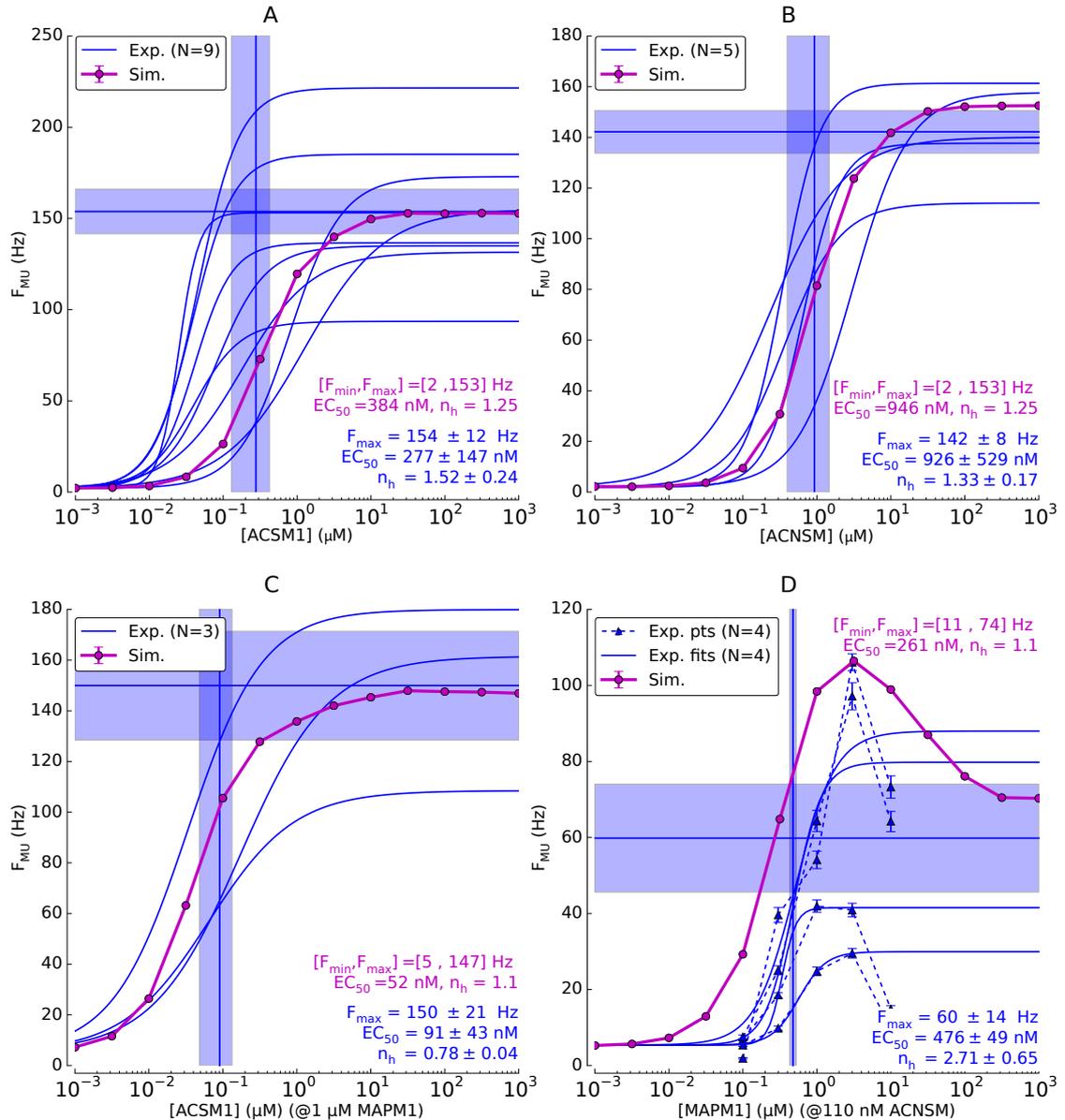
---

DSP par la méthode de Welch (Figure 7.3C), et en intégrant les puissances sur différentes bandes de fréquence, en particulier celles correspondant aux rythmes thêta ( $\theta$ , 3-12 Hz) et au sous-ensemble bas-gamma (30-60 Hz).

On observe à nouveau que les DR sont dépendantes de l'observable : en particulier l' $EC_{50}$  de l'AMU (Figure 7.3B) est plus faible que l' $EC_{50}$  de l'ASU (Figure E1B). On constate en outre que les DSP ne révèlent pas de pics significativement amples, mais que les puissances augmentent graduellement à toutes les fréquences en fonction de la concentration d'ACSM1, avec une amplitude plus élevée pour les fréquences supérieures à 20 Hz. Des résultats similaires ont été obtenus pour les autres composés, et suggèrent que cette configuration du modèle ne permet pas d'induire des oscillations thêta, comme cela a été observé expérimentalement pour des agonistes muscariniques non-spécifiques tels que l'ACNSM. Il semble en effet que les PC de CA1 seules, même stimulées par l'activation des M1r ne sont pas capables de générer ce type d'oscillation, et que l'intégration des IN inhibiteurs est nécessaire. En outre, comme évoqué dans l'introduction, il semble que les récurrences excitatrices plus nombreuses dans CA3 rendent cette aire plus apte à osciller à thêta que CA1 dans les protocoles *in vitro*.

Cette partie de l'étude n'étant pas consacrée à l'étude des oscillations, la validation du modèle s'est concentrée sur les données d'AMU. Les ajustement principaux ont consisté à adapter les stimuli glutamatergiques et le nombre de PC incluses au modèle pour obtenir les fréquences de décharges spontanées observées expérimentalement en l'absence de composé, ainsi que l'amplitude de l'augmentation d'activité induite par ACSM1 (Figure 7.4A). Les simulations des effets des autres composés ont reproduit de manière directe et relativement fiable les résultats expérimentaux, sans nécessiter d'ajustements majeurs, confirmant que le développement et la validation incrémentale des différents éléments du modèle permettait d'obtenir un niveau de validité satisfaisant. En particulier, les résultats de simulation de l'effet de l'ACNSM sur l'AMU suggèrent que son mode d'action principal est bien lié au M1r, car en l'absence d'autres mAChr dans le modèle, l'amplitude et l' $EC_{50}$  de la DR sont proches des valeurs expérimentales (Figure 7.4B). Aussi, la potentialisation de l'ACSM1 par le MAPM1 a été reproduite : le décalage simulé de l' $EC_{50}$  de sa DR de l'ACSM1 en présence de 1  $\mu$ M de MAPM1 correspond à l'expérimentation (Figure 7.4C), même si le nombre de données expérimentales est faible pour ce composé. Enfin, la DR de MAPM1 en présence de 110 nM d'ACNSM prend une forme non-monotone, qui s'explique par une moins grande affinité de la protéine-G pour le récepteur dans les états modulés (états R\*M dans la Figure 3.9), qui atténue l'effet à de fortes concentrations de MAPM1. Cette tendance semble observée dans l'expérimentation, même si le nombre d'expériences est faible dans cette configuration (Figure 7.4D).

Conformément au plan de travail, deux autres composés ont été modélisés et simulés en aveugle. Il s'agit d'APNSM, un agoniste partiel non-sélectif des mAChr, et d'AAPM1 un agoniste allostérique partiel sélectif du M1r. Les modèles et simulations de ces composés ont été effectués et livrés, mais il n'a pas été possible de les comparer aux résultats expérimentaux (Figure E2). Nos partenaires nous ont notifié la conformité des résultats avec leurs données expérimentales, et ont proposé de reporter leur étude à la configuration *in vivo*.



**Figure 7.4** – Simulation des AMU pour les composés ACSM1 (A), ACNSM (B) et MAPM1 (C&D). Les courbes représentent les DR simulées (bleu), et les fonctions de Hill représentant les résultats expérimentaux, obtenues par la méthode des moindres carrés (courbes noires). Les droites et bandes grisées horizontales et verticales représentent les moyennes et s.e.m. des effets maximaux et des  $EC_{50}$  (resp.) pour chaque composé; et les valeurs sont indiquées dans les zones de texte. **D** - Les points expérimentaux sont indiqués pour illustrer la tendance expérimentale apparente d'une moindre efficacité aux concentrations élevées de MAPM1 (triangles et tirets noirs).

### 7.3.2 Modulation muscarinique du rythme thêta généré *in vivo*

La deuxième partie du travail visait à développer un modèle capable de simuler certaines caractéristiques de l'activité électrophysiologique observée *in vivo* chez le rat anesthésié. Le premier objectif était de modéliser les conditions expérimentales permettant de produire des oscillations thêta dans l'aire CA1 de l'hippocampe, et le second était d'étudier la modulation de ces oscillations par des composés muscariniques proposés par le partenaire.

Les expérimentations menées par notre partenaire consistent en l'anesthésie d'un rat Sprague-Dawley adulte par injection d'uréthane, puis à l'implantation d'une électrode intracérébrale dans un référentiel stéréotaxique. L'électrode est implantée dans l'hippocampe dorsal selon l'axe CA1-GD et permet d'enregistrer le PCL dans le *s.l-m* du CA1. Pour certaines expériences, l'électrode est de type linéaire à 16 pôles, permettant l'enregistrement dans les différentes strates (*s.o.*, *s.p.*, *s.r.* et *s.l-m*, Figure 7.1A). Une électrode de stimulation est aussi implantée dans le noyau nPO du tronc cérébral : l'application de stimulations électriques à haute fréquence (250 Hz) dans ce noyau permet d'induire des oscillations thêta hippocampiques de manière reproductible. Des séquences de stimulations de 6 secondes sont appliquées toutes les 100 secondes sur toute l'expérience. Les PCL sont enregistrés en continu (pendant et entre les séquences de stimulation) et permettent d'observer la modulation du signal par les composés dans ces deux conditions. Les puissances dans les bandes thêta ( $\theta$ , 3-12 Hz) et gamma ( $\gamma$ , 30-100 Hz) sont quantifiées par intégration de la transformée de Fourier rapide (TFR). Les composés de test et le véhicule sont injectés par voie systémique en injection sous-cutanée, juste après la 9<sup>e</sup> séquence de stimulation afin de mesurer l'activité basale et l'effet du composé sur un même animal. Par ailleurs, des échantillons de plasma sanguin sont collectés à intervalles réguliers pendant l'expérience pour estimer leur pharmacocinétique, et un échantillon de tissu cérébral est prélevé en fin d'expérience afin de mesurer l'exposition du cerveau à ces molécules.

Bien que l'anesthésie empêche d'observer les liens entre l'activité oscillatoire et le comportement, elle permet de constituer des mesures stables de l'activité d'un hippocampe intact, et de tester l'effet de substances en limitant les perturbations et les biais (Cobb et Vida, 2010). L'anesthésie permet d'immobiliser l'animal pour l'implantation d'électrodes intrahippocampiques, et l'organisation en couches de l'hippocampe permet de discriminer précisément l'origine des sources de courant. En effet, les projections excitatrices et inhibitrices des IN sont ségréguées à certaines couches de l'arborisation dendritique des PC, et l'utilisation de multi-électrodes linéaires permet de distinguer l'origine des sources de courants extracellulaires. De plus, l'utilisation d'uréthane est reconnue pour inhiber la composante « atropine-résistante » du rythme thêta hippocampique, en particulier les générateurs de rythme situés dans le CE et le CA3 (Kramis *et al.*, 1975; Buzsáki, 2002), ce qui permet de simplifier en partie l'analyse des résultats expérimentaux ainsi que la constitution du modèle.

Les résultats de deux composés nous ont été fournis afin d'effectuer l'ajustement du modèle. Pour les raisons de confidentialité évoquées, nous utiliserons ici des dénominations

génériques :

- **AChEi** est un inhibiteur réversible de l'acétylcholinestérase (AChE), utilisé dans le traitement de la maladie d'Alzheimer, et exerçant son effet en limitant la dégradation de l'ACh, augmentant ainsi sa concentration extracellulaire.
- **MAPMI** est le modulateur allostérique positif du M1r utilisé pour les expériences *in vitro* de la première partie.

Deux composés supplémentaires nous ont été proposés pour effectuer des tests en aveugle, c'est à dire que les caractéristiques pharmacocinétiques et les paramètres élémentaires de leur activité pharmacologique (cibles, concentrations efficaces et efficacités maximales) nous ont été fournis au moment du développement, et les résultats expérimentaux ne nous ont été dévoilés qu'après la production des résultats simulés :

- **APNSM** est un agoniste partiel non-sélectif des mAChr. Ses cibles sont, par ordre d'affinité : M1r ( $EC_{50} = 14$  nM,  $E_{max} = 88$  %), récepteur M<sub>3</sub> (M3r) ( $EC_{50} = 14$  nM,  $E_{max} = 100$  %), M4r ( $EC_{50} = 199$  nM,  $E_{max} = 55$  %), M2r ( $EC_{50} = 430$  nM,  $E_{max} = 30$  %). Les affinités et les efficacités rapportées ici sont issues de données fournies par le partenaire et de valeurs publiées.
- **AAPMI** est un agoniste allostérique partiel sélectif du M1r ( $EC_{50} = 24$  nM,  $E_{max} = 68$  %).

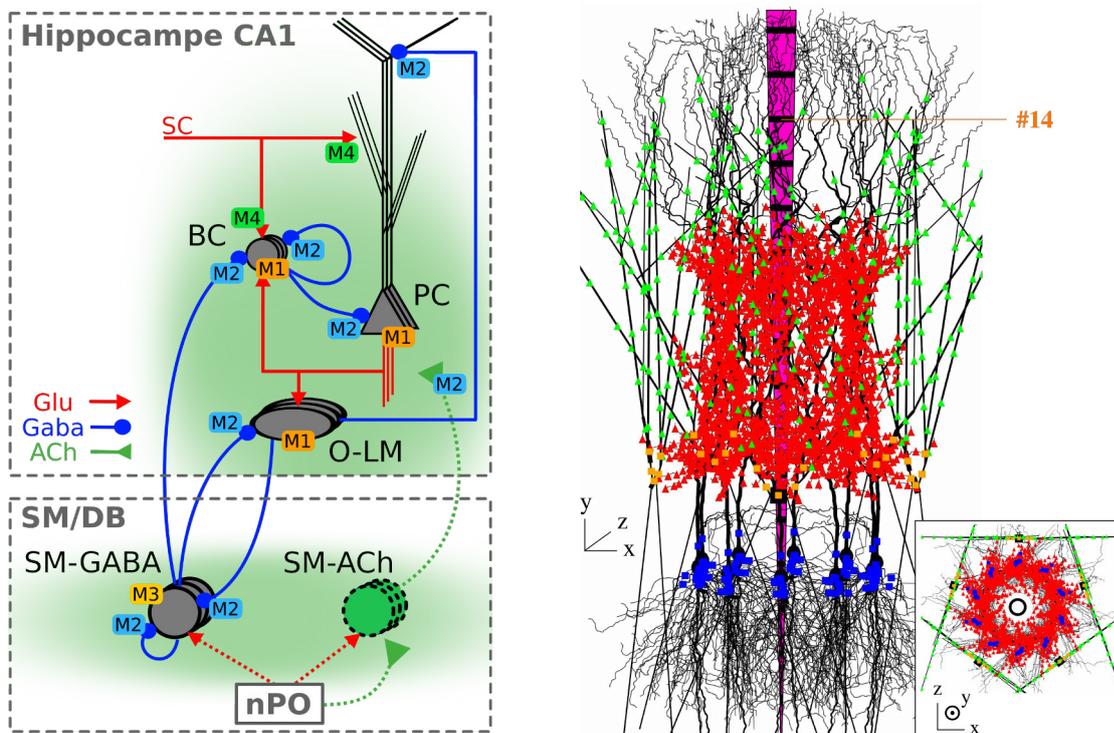
Le premier objectif était de développer un modèle capable de simuler l'apparition d'oscillations thêta suite à la stimulation du nPO. Comme développé dans l'introduction de ce chapitre, ce type de rythme émerge des populations neuronales du SM/DB et des projections cholinergiques et GABAergiques de la VSH. Un modèle de cette interaction entre les SM-GABA et les IN de l'hippocampe est proposé dans Hajós *et al.* (2004), et a servi de base pour le développement (Figure 7.5). Le modèle de SM-GABA est issu de l'étude de Wang (2002), qui a permis d'expliquer les mécanismes ioniques à l'origine de décharges synchrones au rythme gamma, organisées en séquences au rythme thêta, phénomène dit de « gamma embarqué dans le thêta », et observées expérimentalement dans ces cellules (Serafin *et al.*, 1996). Il s'agit en particulier d'un courant potassique à désactivation lente ( $I_{KS}$ ), qui permet de stopper temporairement les décharges, et de donner lieu à un tel comportement oscillatoire du potentiel de membrane (Wang, 2002). La connectivité entre les neurones hippocampiques et avec les SM-GABA est ainsi paramétrée selon les spécifications de Hajós *et al.* (2004) (Figure 7.5, Figure 4.8).

Les oscillations simulées dans Hajós *et al.* (2004) résultent de l'interaction entre les populations O-LM et SM-GABA : la stimulation du tronc cérébral est modélisée par l'injection d'un courant continu dans ces neurones, dont l'intensité est rendue aléatoire selon une distribution normale ( $I_{inj}^{O-LM} = \mathcal{N}(\mu = 40; \sigma^2 = 40)$  pA et  $I_{inj}^{MS-GABA} = \mathcal{N}(\mu = 6; \sigma^2 = 0,6)$  pA dans notre implémentation). Cette stimulation augmente l'activité des deux populations neuronales : les projections récurrentes inhibitrices entre les SM-GABA induisent leur synchronisation dans la bande gamma (selon le même mécanisme que les BC, Figure 4.9), et les projections inhibitrices réciproques avec les O-LM synchronisent les séquences dans la bande thêta, permettant de simuler effectivement ce phénomène de « gamma embarqué dans le thêta » (Figure F3A).

## Chapitre 7. Modulation muscarinique de l'activité neuronale hippocampique

Dans ce modèle, l'émergence du rythme thêta est donc conditionnée à la stimulation concomitante des SM-GABA et des O-LM (Figure F3C), qui représente alors l'effet de l'activation des voies cholinergiques du système septohippocampique, justifiée par la présence de mAChR sur les O-LM et les SM-GABA. Pour autant, cette hypothèse peut être questionnée car, expérimentalement, la stimulation du nPO déclenche l'apparition du thêta hippocampique dans un délai très bref ( $\approx 100$  ms), peu compatible avec les constantes de temps d'une activation muscarinique ( $\approx 1$  min., Figure 3.13, (Hasselmo et Fehlau, 2001), Fig.2 de Vertes et Kocsis (1997)). De plus :

- le thêta septal obtenu par stimulation du tronc cérébral est largement atropine-résistant,
- l'abolition du thêta hippocampique n'empêche pas les populations du SM de conserver leur activité rythmique (Stewart et Fox, 1989),
- le thêta septal est en avance de phase sur le thêta hippocampique (Hangya *et al.*, 2009), indiquant que le SM dispose des populations neuronales suffisantes à la génération autonome



**Figure 7.5** – Modèle du circuit septohippocampique. Gauche : représentation schématique des différentes populations neuronales du modèle, des connexions entre elles, et des modèles de mAChR intégrés. Les contours discontinus indiquent les éléments qui ne sont pas modélisés explicitement : la stimulation du nPO est modélisée par l'injection de courant dans les SM-GABA, et les voies cholinergiques sont modélisées par des concentrations constantes d'ACh. Droite : positionnement dans l'espace des PC et des BC, selon une symétrie radiale d'axe  $y$  : les neurones sont disposés sur un cercle dans le plan  $(x, z)$ , au centre duquel est placé l'électrode d'enregistrement (insert : projection dans le plan  $(x, y)$  du même modèle). Par souci de clarté, seules 10 PC et 5 BC sont illustrées. Les marques rouges, bleues, vertes et jaunes illustrent les positions des synapses des CS sur les PC, des BC sur les PC, des CS sur les BC, et des BC sur les BC, respectivement.

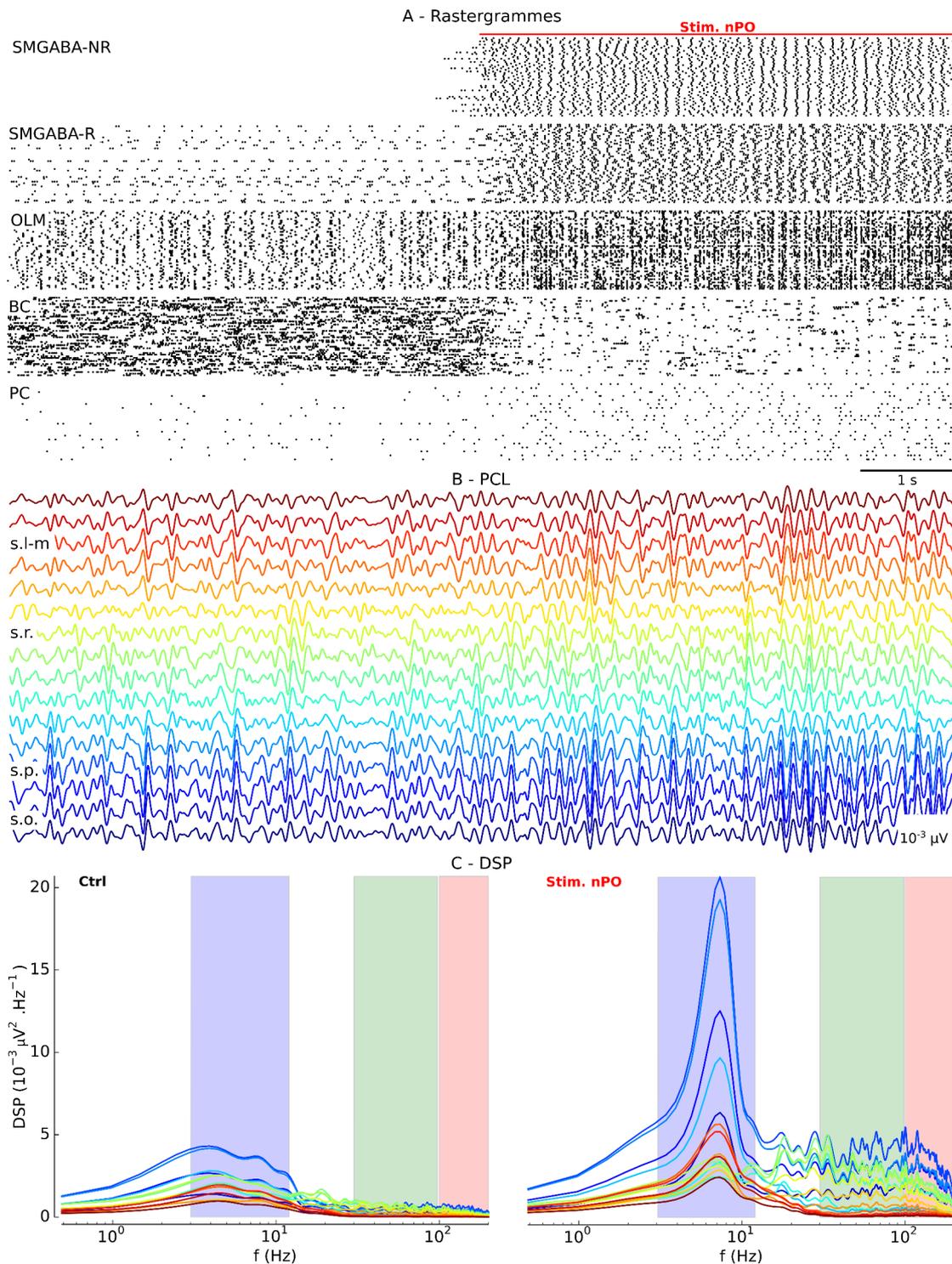
d'un rythme thêta, du moins qu'une voie hippocamposeptale n'y est pas nécessaire. Enfin, l'existence de sous-populations, à proportions équivalentes de SM-GABA rythmiques et non-rythmiques, suggère qu'un système oscillant similaire à celui proposé par Hajós *et al.* (2004) existe au sein même du SM (Sotty *et al.*, 2003; Simon *et al.*, 2006). Le modèle a ainsi été modifié selon cette hypothèse, en désactivant les conductances  $I_{KS}$  sur la moitié de la population de SM-GABA, et en n'injectant le courant dépolarisant que sur les SM-GABA. Ainsi modélisée, la stimulation du nPO permet de créer un rythme thêta intrinsèque au septum, résultant de l'interaction entre les SM-GABA rythmiques (SMGABA-R) et non-rythmiques (SMGABA-NR), se propageant vers les IN hippocampiques par les projections GABAergiques de la VSH et finalement aux PC par les microcircuits locaux (Figure 7.5, 7.6A).

De manière importante, les neurones cholinergiques du SM/DB, les projections associées de la VSH, et la diffusion volumique d'ACh dans l'hippocampe ne sont pas modélisés explicitement : on utilise des concentrations constantes, dont les valeurs ont été ajustées pour reproduire les modulations de puissance thêta et gamma observées expérimentalement (10 nM et 100 nM hors de, et pendant les séquences de stimulation du nPO, resp.).

Pour étudier les modulations induites par les différents composés à tester, une revue de la littérature a tout d'abord permis de distribuer les différents sous-types de mAChr sur les neurones du modèle et de valider leurs effets. En synthèse, M1r est exprimé dans l'hippocampe sur les PC (section 3.5) et les IN (Nagode *et al.*, 2011; Bell *et al.*, 2013), M2r sur les terminaisons axonales des fibres de la VSH (Rouse et Levey, 1996; Rouse *et al.*, 1999, 2000) et des IN hippocampiques (Behrends et ten Bruggencate, 1993; Hájos *et al.*, 1998), M3r sur les SM-GABA (Vilaró *et al.*, 1992; Levey *et al.*, 1995; Rouse et Levey, 1996; Alreja *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2003), et M4r sur les terminaisons axonales des collatérales de Schaffer (Levey *et al.*, 1995; Dasari et Gulledge, 2011) (Figure 7.5). Par hypothèse, la structure du modèle de M1r et de son effet sur les canaux Kv7 a été reprise pour M3r, et les actions présynaptiques des M2r et M4r ont été modélisées par des fonctions de Hill diminuant la probabilité d'exocytose des vésicules de NT. J'ai ensuite adapté les concentrations efficaces et les efficacités maximales de chaque composé sur ces cibles à partir de résultats publiés pour des composés de référence (Jakubík *et al.*, 1997; Qian et Saggau, 1997; Wood *et al.*, 1999; Jakubik *et al.*, 2011).

Les modèles de neurones hippocampiques sont placés selon une symétrie axiale, au centre de laquelle est placé le modèle d'électrode linéaire permettant de simuler les PCL dans les différentes strates dendritiques (Figure 7.5) et de calculer leur DSP (Figure 7.6B,C). Comme certaines expérimentations mises en œuvre ne comprenaient pas l'utilisation d'une multi-électrode, mais d'une électrode simple placée dans le *s.l-m*, seul le canal 14 du modèle a été utilisé pour les analyses de la suite de l'étude (Figure 7.5). Le modèle est constitué de 20 PC, 50 BC, 50 O-LM, et 100 SM-GABA, et seuls les courants membranaires des PC sont intégrés au calcul du PCL (cf. justification en section 4.3). La durée simulée est de 2 minutes, le composé à tester est appliqué en début de simulation et les résultats sont analysés sur les 10 dernières secondes, afin d'obtenir l'état stable. Chaque synapse issue des CS est stimulée par des impulsions de fréquence moyenne 1 Hz, réparties aléatoirement sur la durée de stimulation

## Chapitre 7. Modulation muscarinique de l'activité neuronale hippocampique



**Figure 7.6** – Oscillations thêta simulées par l'excitation des cellules GABAergiques du SM. **A** - Rastergrammes des différentes populations neuronales du modèle, où la stimulation du nPO est appliquée après 5 s. **B** - PCL enregistrés par les différents canaux de l'électrode linéaire virtuelle, après filtrage passe-bande sur 2-15 Hz, permettant d'observer les oscillations thêta. **C** - DSP des signaux des différents canaux (couleurs correspondant à B), sur les plages 0-5 s (Ctrl., gauche) et 5-10 s (Stim. nPO, droite), calculées par la méthode de Welch ( $F_e = 8 \text{ kHz}$ ;  $N_{\text{FFT}} = 2^{14}$ ;  $N_{\text{seg}} = 2^{12}$ ).

selon une distribution uniforme ( $t_i = \mathcal{U}(0, t_{sim})$ ), ce qui permet d'obtenir une stimulation excitatrice aléatoire. Plusieurs simulations sont effectuées pour chaque concentration de composé, dans les conditions correspondant aux phases de stimulation du nPO et de repos (conditions « stimulée » et « non-stimulée », resp.), en utilisant une valeur différente pour l'initialisation des générateurs de nombres aléatoires (*seed*), ce qui donne lieu à des schémas de connexion différents tout en respectant les spécifications de convergence/divergence des connexions (Figure 4.8, suppléments de Hajós *et al.* (2004)), et à des séquences différentes des stimuli excitateurs. Seuls les résultats de la condition « stimulée » sont présentés ici, mais les résultats de la condition « non-stimulée » ont aussi servi de référence pour le paramétrage et la validation du modèle.

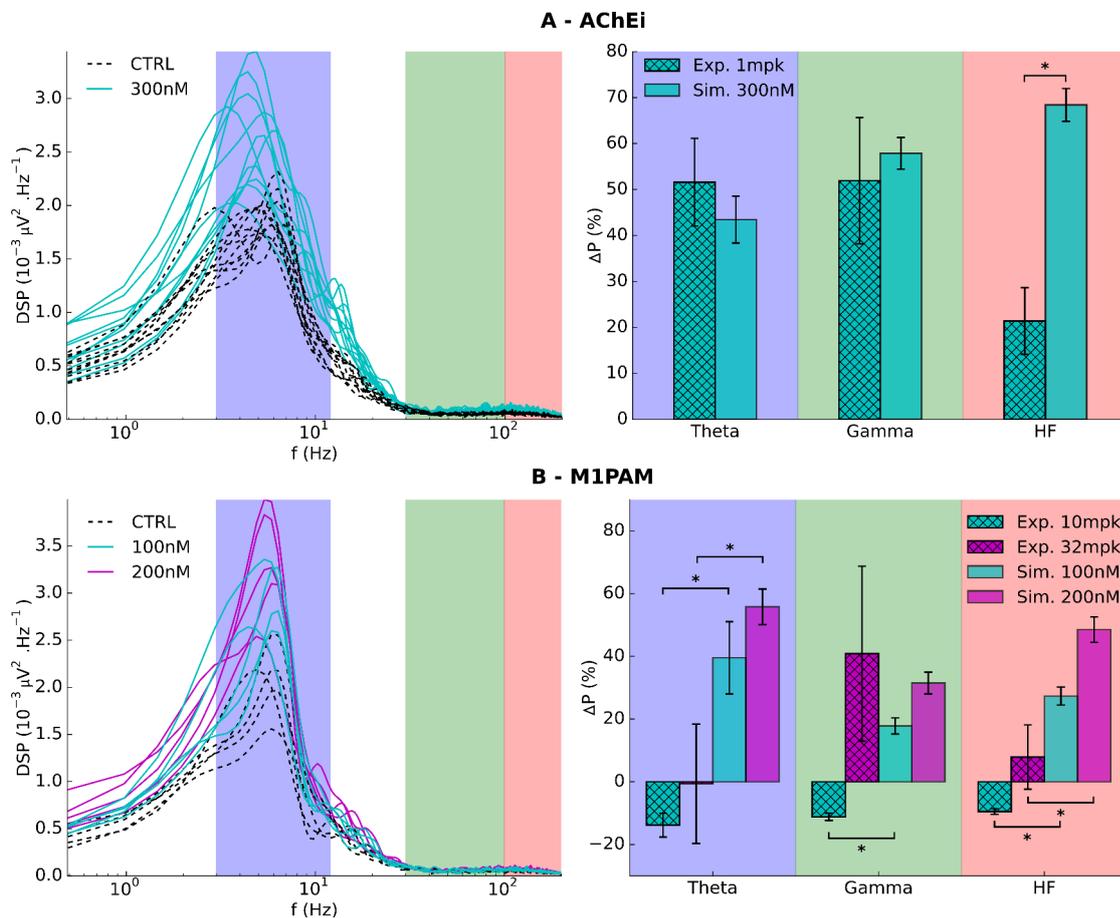
Le réglage du modèle s'est appuyé sur la comparaison des résultats simulés avec les résultats expérimentaux des composés AChEi et M1PAM (Figure 7.7). Pour tous les composés, les concentrations appliquées dans le modèle ont été calculées à partir des dosages effectués sur les échantillons de plasma sanguin collectés au cours de l'expérimentation, et de tissus d'hippocampe prélevés en fin d'expérience. Le ratio entre la concentration cérébrale et la concentration sanguine finales a permis d'estimer la concentration moyenne de composé présente pendant l'expérimentation et de l'appliquer au modèle. La variation de puissance expérimentale est établie comme le rapport de la puissance enregistrée dans les bandes thêta ( $\theta$ , 3-12 Hz), gamma ( $\gamma$ , 30-100 Hz) et haute-fréquence (HF, 100-200 Hz), pendant les séquences de stimulation suivant l'injection du composé et la puissance enregistrée lors des séquences de stimulation précédant l'injection. Les moyennes et s.e.m. de chaque bande sont calculées pour les différents rats. Une approche similaire est adoptée pour les résultats de simulation, où pour chaque *seed*, une simulation est effectuée sans application de composé (CTRL) et une autre avec la concentration à tester du composé. Bien que la puissance statistique des échantillons soit faible (cf. Halsey *et al.* (2015)), la différence entre les résultats expérimentaux et simulés est évaluée par un test t de Welch (fonction `scipy.stats.ttest_ind`<sup>1</sup>), et les écarts significatifs ( $p < 0,05$ ) entre les échantillons expérimentaux et simulés sont marqués dans les Figures 7.7, 7.8, 7.9 et 7.10.

Pour la validation du modèle, l'intensité moyenne des courants appliqués aux SM-GABA a été ajustée pour obtenir une puissance thêta maximale à 6 Hz, et les concentrations d'ACh ont été ajustées pour que la modulation des puissances thêta et gamma par l'AChEi soient nulles en condition « non-stimulée » (non présenté), et égale en moyenne aux résultats expérimentaux en condition « stimulée » ( $\approx 50\%$ , Figure 7.7A). Les résultats expérimentaux pour M1PAM auraient dû permettre d'affiner l'ajustement du modèle en isolant les effets spécifiques au M1r de ceux des autres mAChr, mais le faible nombre de rats testés associé à une pharmacocinétique peu favorable (i.e. les concentrations effectives dans le cerveau sont faibles) n'ont pas permis d'obtenir des résultats expérimentaux reproductibles (Figure 7.7B). L'ajustement du modèle s'est donc limité à la comparaison des effets du seul composé AChEi, non sélectif, laissant place à une certaine incertitude quant aux influences relatives des différents mAChr.

1. [http://docs.scipy.org/doc/scipy-0.15.1/reference/generated/scipy.stats.ttest\\_ind.html](http://docs.scipy.org/doc/scipy-0.15.1/reference/generated/scipy.stats.ttest_ind.html)

## Chapitre 7. Modulation muscarinique de l'activité neuronale hippocampique

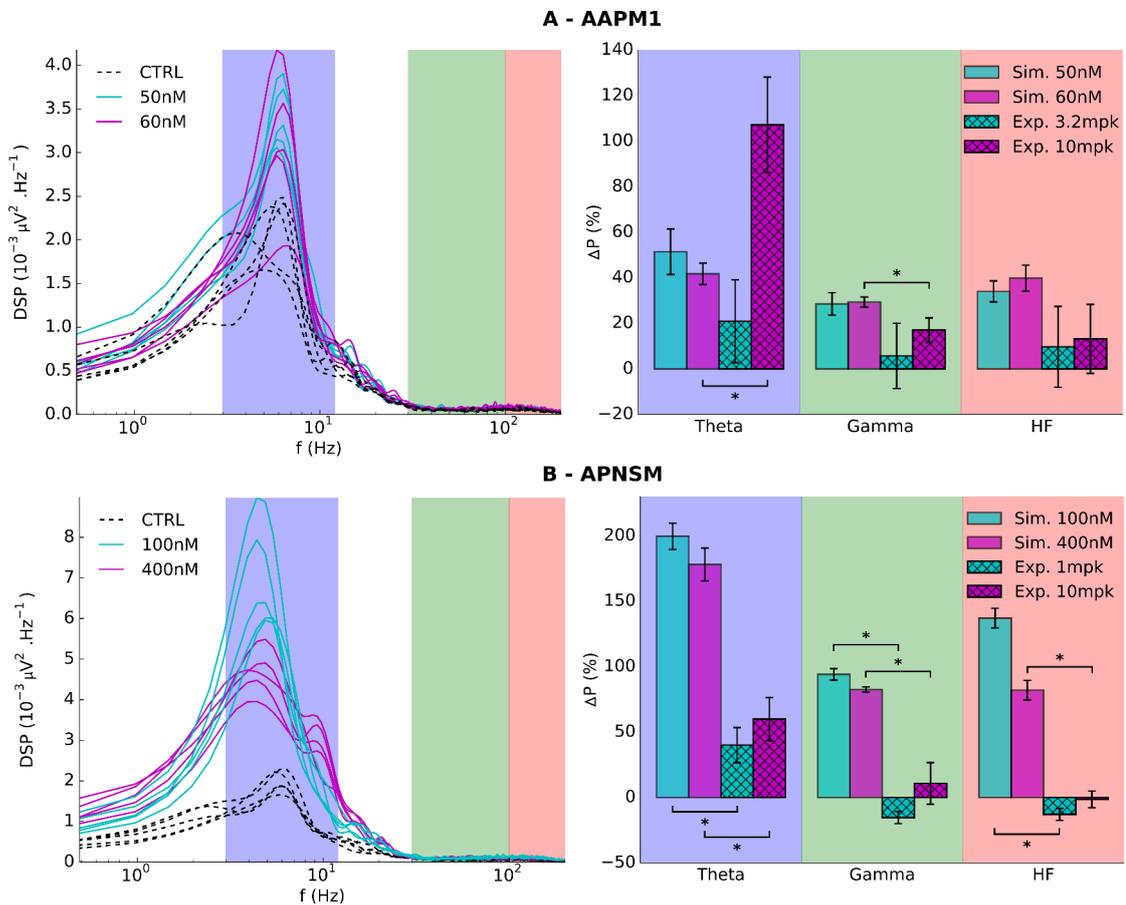
Pour autant, les simulations des effets des composés à tester en aveugle AAPM1 et APNSM ont été effectuées conformément au plan de travail initial, c'est à dire sans avoir connaissance des résultats expérimentaux avant la livraison des résultats simulés. Après réception des résultats expérimentaux, la comparaison a révélé que le modèle a bien permis de prédire les effets du composé AAPM1, pour les trois bandes de fréquence considérées, avec des variations de puissances comparables aux effets expérimentaux (Figure 7.8A, 2 écarts significatifs sur 6 comparaisons). De plus, l'absence d'effet-dose pour les deux correspondances testées (50 nM pour 3,2 mg/kg et 60 nM pour 10 mg/kg) a été confirmée par l'expérience. En revanche, un écart significatif a été relevé pour APNSM. Les expériences révèlent que ce composé augmente la puissance thêta sans affecter significativement les puissances gamma et HF, alors que le modèle prévoyait une augmentation significativement supérieure de toutes les puissances (Figure 7.8B). Comme anticipé, les amplitudes relatives des effets des



**Figure 7.7** – Modulation des caractéristiques fréquentielles du PCL par les composés AChEi (A) et M1PAM (B). Les DSP issues de différentes simulations sont présentées à gauche, pour les conditions CTRL et les concentrations de composé testées (méthode de Welch;  $F_e = 8$  kHz;  $N_{FFT} = 2^{14}$ ;  $N_{seg} = 2^{12}$ ). Les histogrammes à droite représentent les variations de puissance moyennes dans les bandes thêta, gamma et HF ( $\Delta P$ , moy.  $\pm$  s.e.m.) expérimentales (hachures) et simulées (AChEi :  $N_{exp} = 5$ ,  $N_{sim} = 11$ ; M1PAM :  $N_{exp} = 2$ ,  $N_{sim} = 5$  pour les deux concentrations testées; \* :  $p < 0,05$  au test t de Welch).

différents mAChR sont difficiles à établir par l'utilisation d'un unique composé non-sélectif AChEi pour la validation.

L'analyse de cette divergence a révélé une tendance du modèle à surestimer les effets induits par M1r et M3r, et à minimiser les effets des M2r et M4r, suggérant une révision des paramètres de la modulation présynaptique des M2r et M4r (Figure 7.5). Le modèle de leur action est basé sur des études établissant la modulation dose-dépendante par le CCh de la concentration de calcium présynaptique ( $[Ca]_{pre}$ ) dans les synapses CS-PC dans CA1 (Qian et Saggau (1997), Figure F.4A). Par hypothèse, l'observable  $[Ca]_{pre}$  a été prise comme référence pour moduler directement la probabilité de la transmission synaptique  $P_T$  dans les modèles, en ajustant les paramètres ( $E_{max}$ ,  $EC_{50}$ ,  $n_H$ ) à partir des données spécifiques des composés à tester pour M2r et M4r. Cette hypothèse rend effectivement minime l'efficacité de l'inhibition présynaptique

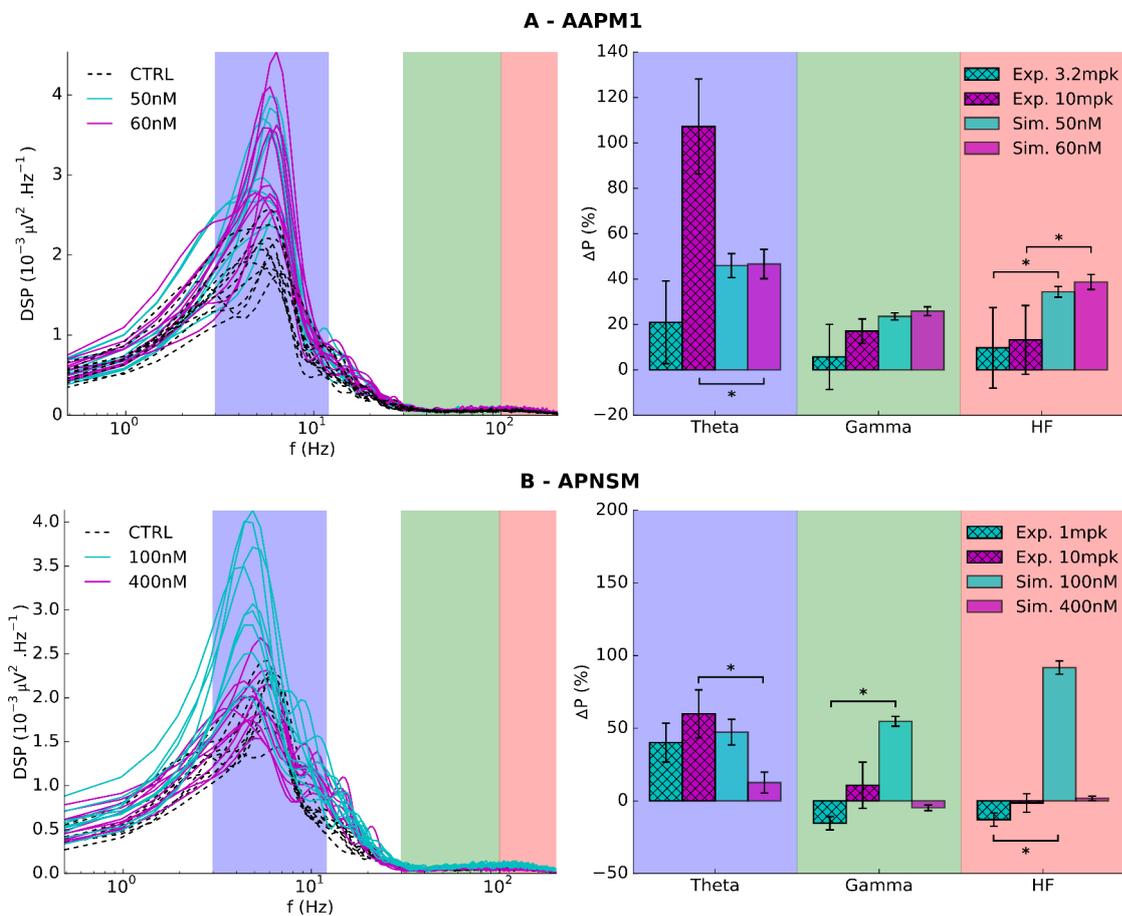


**Figure 7.8** – Modulation des caractéristiques fréquentielles du PCL par les composés de test en aveugle AAPM1 (A) et APNSM (B). Les DSP issues de différentes simulations sont présentées à gauche, pour les conditions CTRL et les concentrations de composé testées (méthode de Welch ;  $F_e = 8$  kHz,  $N_{FFT} = 2^{14}$  ;  $N_{seg} = 2^{12}$ ). Les histogrammes à droite représentent les variations de puissance moyennes dans les bandes thêta, gamma et HF ( $\Delta P$ , moy.  $\pm$  s.e.m.) expérimentales (hachures) et simulées (AAPM1@3.2mpk :  $N_{exp} = 4$ , AAPM1@10mpk :  $N_{exp} = 2$ , AAPM1@50 & 60 nM :  $N_{sim} = 5$ ; APNSM@1mpk :  $N_{exp} = 5$ , APNSM@10mpk :  $N_{exp} = 6$ , AAPM1@100 & 400 nM :  $N_{sim} = 5$ ; \* :  $p < 0,05$  au test t de Welch).

## Chapitre 7. Modulation muscarinique de l'activité neuronale hippocampique

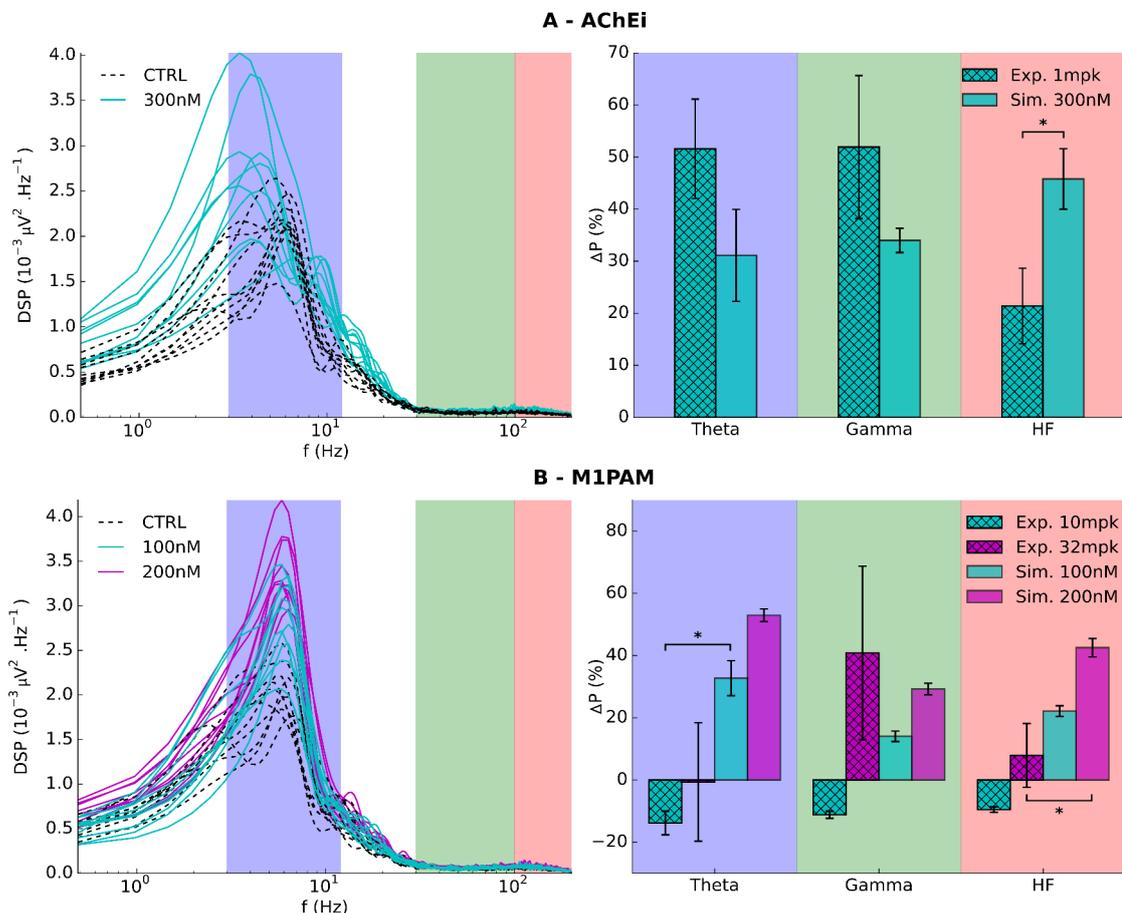
des M2r et M4r, avec des diminutions maximales de  $P_r$  inférieures à 10 %. Nous avons révisé cette hypothèse, en utilisant l'observable fesp de cette même étude (amplitude des PPSE extracellulaires enregistrés dans le *s.r.* de CA1) comme référence pour la fonction de Hill modulant  $P_r$ . La modulation est plus ample sur cette observable : cette différence témoigne de la non-linéarité des mécanismes de la transduction synaptique, et indique que le paramètre  $P_r$  est plus proche de l'observable postsynaptique (Figure E4).

La révision du modèle a effectivement permis de diminuer l'amplification simulée de la puissance thêta par APNSM, la rendant plus compatible avec les résultats expérimentaux (Figure 7.9B) et réduisant le nombre de différences significatives. De plus, les réponses simulées mettent en évidence un effet concentration-dépendant intéressant, où l'amplification



**Figure 7.9** – Modulation des caractéristiques fréquentielles du PCL par les composés de test en aveugle AAPM1 (A) et APNSM (B) après révision du modèle. Les DSP issues de différentes simulations sont présentées à gauche, pour les conditions CTRL et les concentrations de composé testées (méthode de Welch ;  $F_e = 8$  kHz ;  $N_{FFT} = 2^{14}$  ;  $N_{seg} = 2^{12}$ ). Les histogrammes à droite représentent les variations de puissance moyennes dans les bandes thêta, gamma et HF ( $\Delta P$ , moy.  $\pm$  s.e.m.) expérimentales (hachures) et simulées (AAPM1@3.2mpk :  $N_{exp} = 4$ , AAPM1@10mpk :  $N_{exp} = 2$ , AAPM1@50 & 60 nM :  $N_{sim} = 10$ ; APNSM@1mpk :  $N_{exp} = 5$ , APNSM@10mpk :  $N_{exp} = 6$ , APNSM@100 & 400 nM :  $N_{sim} = 10$ ; \* :  $p < 0,05$  au test t de Welch).

des puissances dans les trois bandes de fréquences est plus importante pour 100 nM que pour 400 nM. Le protocole expérimental ne permet pas de mettre clairement en évidence un tel effet car les concentrations effectives dans l'hippocampe ne sont pas pas précisément maîtrisées ni connues. La simulation suggère néanmoins ici que l'absence d'effet significatif sur les bandes gamma et HF observée expérimentalement résulte d'une compétition entre un effet amplificateur et un effet inhibiteur aux faibles et fortes concentrations d'APNSM, respectivement. Pour autant, cette étude révèle une certaine complexité des effets de modulateurs muscariniques non spécifiques (et par extension des AChEi), où la composante inhibitrice présynaptique inclut des paramètres sensibles sur lesquels une validation affinée est à prévoir. Les simulations pour les trois autres composés ont été effectuées sur le modèle révisé, car ces modifications influencent aussi l'action de l'ACh endogène. Ces derniers résultats montrent



**Figure 7.10** – Modulation des caractéristiques fréquentielles du PCL par les composés AChEi (A) et M1PAM (B) après révision du modèle. Les DSP issues de différentes simulations sont présentées à gauche, pour les conditions CTRL et les concentrations de composé testées (méthode de Welch ;  $F_c = 8$  kHz ;  $N_{FFT} = 2^{14}$  ;  $N_{seg} = 2^{12}$ ). Les histogrammes à droite représentent les variations de puissance moyennes dans les bandes thêta, gamma et HF ( $\Delta P$ , moy.  $\pm$  s.e.m.) expérimentales (hachures) et simulées (AChEi :  $N_{exp} = 5$ ,  $N_{sim} = 11$  ; M1PAM :  $N_{exp} = 2$ ,  $N_{sim} = 10$  pour les deux concentrations testées ; \* :  $p < 0,05$  au test t de Welch).

une influence négligeable de la révision sur les effets simulés des composés spécifiques au M1r (Figure 7.9A, Figure 7.10B), et une diminution des amplifications induites par AChEi n'augmentant pas le nombre différences significatives par rapport aux résultats du modèle initial (Figure 7.10B). Cet écart suggère toutefois qu'un nouveau cycle de réglage/validation serait nécessaire pour améliorer la validité de ce modèle, et devra être pris en compte pour de futures études.

### 7.4 Discussion et perspectives de l'étude

L'application développée dans ce programme collaboratif a permis de démontrer la pertinence de l'approche pour construire des modèles permettant de reproduire des résultats expérimentaux témoignant d'effets complexes, et d'établir la faisabilité de telles études. Ces travaux ont donné lieu à des interactions et des échanges intéressants et constructifs entre les partenaires. Rhenovia Pharma a pu bénéficier de l'expertise du partenaire pour améliorer la pertinence de ses services destinés à des clients industriels d'une part, et les résultats et analyses produits par les modèles ont permis d'affiner la compréhension des mécanismes de la modulation cholinergique, propres au développement de nouvelles molécules spécifiques. Sur la base de deux modèles complémentaires, il a été possible de reproduire la modulation concentration-dépendante de l'activité spontanée de tranches d'hippocampe par des composés cholinergiques, ainsi que la modulation des caractéristiques fréquentielles des rythmes oscillatoires enregistrés *in vivo* sur des rats anesthésiés. Le travail de modélisation mis en œuvre dans ce programme a inclus le développement des techniques permettant la simulation du potentiel de champ local (PCL), l'application des techniques de simulation en parallèle de l'activité de populations neuronales, et l'investigation d'effets pharmacologiques aux mécanismes complexes s'établissant sur différentes échelles allant des récepteurs aux réseaux. Les simulations ont permis de reproduire la plupart des effets observés expérimentalement dans les deux configurations, et la capacité prédictive de ces modèles a pu être démontrée par le test en aveugle de plusieurs composés.

La configuration *in vitro* a permis de mesurer la modulation de l'activité spontanée de tranches d'hippocampe par un agoniste sélectif du M1r (ACSM1), un agoniste non spécifique des mAChR (ACNSM), et un modulateur allostérique positif spécifique du M1r (MAPM1). Le modèle de cette configuration représente principalement une assemblée de PC de CA1 incluant le modèle de M1r, ainsi que le dispositif d'enregistrement MEA, et permet de simuler la modulation de l'AMU par les composés étudiés. Les résultats montrent que ce modèle est suffisant pour simuler l'augmentation d'activité induite par les trois composés testés. En particulier, les résultats pour les composés spécifiques au M1r indiquent que la méthode de développement et de validation incrémentale des mécanismes élémentaires permet d'accéder avec un bon niveau de confiance à des effets de plus haut niveau d'intégration. De plus, l'amplitude de l'effet induit par le composé non sélectif ACNSM confirme que le M1r est un vecteur principal de la modulation cholinergique dans l'hippocampe. Bien que l'hypothèse d'un effet principalement basé sur M1r semble être valide dans cette configuration, il est

possible cependant que ce modèle ne soit pas suffisant pour identifier les phénomènes plus complexes induits par la compétition des effets des différents mAChR sur différentes populations neuronales de l'hippocampe. Par exemple, les résultats de la configuration *in vivo* ont montré que des agonistes muscariniques non spécifiques exercent une inhibition significative de la transmission glutamatergique entre les CS et les PC de CA1. Il est aussi bien établi que le CCh, un agoniste muscarinique non spécifique est capable d'induire différentes oscillations cohérentes dans des tranches d'hippocampe, dont le rythme thêta (Fellous et Sejnowski, 2000). L'étude computationnelle de tels effets a été proposée dans la littérature (Tiesinga *et al.*, 2001; Fellous *et al.*, 2001) : elle intègre principalement les effets du CCh via M1r, et montre notamment que le rythme thêta observé dans ces conditions naît dans CA3 des connexions récurrentes entre les PC, et que les populations d'IN jouent un rôle prépondérant dans la synchronisation de l'activité des PC aux rythmes thêta et gamma. L'extension du modèle pour l'étude de ces effets est possible, et nécessitera le développement d'un modèle de l'aire CA3, intégrant les populations d'IN ainsi que les récurrences excitatrices entre les PC. À cette étape du projet, une telle extension du modèle a été proposée, mais il s'est avéré préférable de poursuivre le travail sur le modèle de la configuration *in vivo*.

Le modèle de la configuration *in vivo* a introduit un certain nombre de complexités supplémentaires, nécessaires pour la simulation du rythme thêta. Il a fallu dans un premier temps identifier les mécanismes les plus probables permettant de relier la stimulation du tronc cérébral (nPO) à l'émergence de cette activité, et déterminer un modèle suffisant pour étudier la modulation pharmacologique des caractéristiques fréquentielles des PCL enregistrés *in vivo* chez le rat anesthésié. À ce titre, les techniques de simulation du PCL mises en œuvre pour la configuration *in vitro* ont pu être réinvesties et adaptées à ce nouveau modèle. Les populations neuronales du SM/DB et les projections de la VSH, GABAergiques en particulier, ont été identifiées comme fondamentales à l'émergence du rythme thêta hippocampique dans ces conditions : le modèle développé a permis d'en modéliser les mécanismes et d'en simuler les effets. Afin de respecter la cohérence avec les données expérimentales fournies et publiées, il a notamment été nécessaire de modifier un modèle de référence, et d'apporter plus de détails à la modélisation des populations de neurones GABAergiques du SM (SM-GABA), en discriminant des sous-populations d'activités rythmique et non-rythmique. Par ce travail, il a été possible de simuler les interactions intrinsèques au SM permettant d'expliquer le caractère autonome de cette structure dans la genèse et l'entraînement du rythme thêta hippocampique. En outre, alors que les effets proexcitateurs des composés testés dans la configuration *in vitro* semblaient principalement liés à l'action de M1r, il est apparu important d'identifier les différents sous-types de mAChR susceptibles d'exercer une action modulatrice sur l'activité hippocampique *in vivo*, et d'en développer les modèles pour effectuer les études pharmacologiques. Dans la mesure où certains des composés à tester sont non spécifiques (AChEi, APNSM), les modèles des actions des M1,2,3,4r ont été intégrés aux modèles de neurones et de synapses du SM et de l'hippocampe. Les données expérimentales pour deux composés (AChEi et M1PAM) ont permis d'ajuster le modèle, mais le caractère non spécifique du composé AChEi, et le nombre limité de résultats expérimentaux pour M1PAM ont quelque peu limité

## Chapitre 7. Modulation muscarinique de l'activité neuronale hippocampique

---

la précision du paramétrage, en particulier pour les modèles des effets présynaptiques liés à M2r et M4r. Le test en aveugle des composés AAPM1 et APNSM a permis de révéler une bonne prédictivité du modèle pour les composés spécifiques à M1r, mais aussi de remettre en cause une hypothèse de paramétrage du modèle de l'action de M2r et M4r : une révision du modèle a alors permis de produire des résultats simulés proches des données expérimentales pour APNSM, sans dégrader ceux des autres composés. Cet aléa permet de confirmer la nécessité d'effectuer des validations diverses permettant d'appréhender les différentes facettes des mécanismes modélisés, en particulier lorsque les phénomènes à l'étude font intervenir des compétitions d'effets, comme c'est le cas dans notre étude avec les composés cholinergiques non spécifiques. Pour conclure sur ce point, il faut souligner l'apport de la modélisation pour la compréhension des interactions entre des mécanismes complexes, qui même lorsque les simulations échouent à reproduire un résultat expérimental donné, permet d'affiner les connaissances acquises et de tester de nouvelles hypothèses.

Globalement, les résultats expérimentaux et simulés concordent pour suggérer que si le tonus cholinergique exerce un rôle modulateur probablement important au bon fonctionnement de ce système, il n'est pas le support essentiel de la formation du rythme thêta, qui semble reposer en premier lieu sur les interactions GABAergiques au sein du SM et entre le SM et les IN hippocampiques. L'effet concentration-dépendant du composé APNSM donne l'occasion de jeter un regard nouveau sur la relation entre les effets modulateurs pré- et postsynaptiques des composés muscariniques.

De manière générale, les influences relatives des différents sous-types exprimés sur les populations neuronales de ce système pourront être étudiées en simulation. Par ailleurs, une modélisation affinée des populations de neurones cholinergiques du SM/DB, des projections associées de la VSH, ainsi que de la diffusion volumique d'ACh dans l'hippocampe pourra être envisagée. Le modèle pourra aussi être étendu à l'étude du rythme thêta hippocampique chez l'animal éveillé, où entrent en jeu d'autres relais/générateurs comme l'aire CA3 ou le CE. Un tel travail permettra de reconstruire progressivement les principales populations et interactions neuronales à l'œuvre dans le circuit polysynaptique hippocampique, d'autant qu'un certain nombre de modèles élémentaires et de neurones déjà développés pourront être appliqués à ces autres sous-structures. En revanche, la complexité calculatoire des modèles résultants impliquera sûrement d'avoir recours à des stratégies de réduction de modèles : des « ponts » méthodologiques devront être construits entre des modèles fins et les modèles fonctionnels plus grossiers afin d'accéder à un modèle plus large du fonctionnement de l'hippocampe. Par exemple, les chaînes d'états et d'interactions reliant l'activation du M1r à l'inhibition du Kv7 pourront être réduites à un jeu d'équations de modulation du courant  $I_M$  au niveau du modèle global, dans la mesure où l'effet du composé aura été qualifié sur le modèle fin. De même, il pourra être nécessaire de déterminer les composantes électrophysiologiques essentielles des différents neurones afin d'en extraire des modèles aux caractéristiques morphologiques (i.e. nombre de dendrites) simplifiées (cf. discussion de la section 4.3).

Enfin, un travail d'intégration devra être entrepris, en poursuivant l'objectif de la constitution

d'un modèle unifié d'hippocampe : les modèles des mécanismes biochimiques de la plasticité synaptique, dont certains sont déjà réalisés, pourront être incorporés à un modèle du circuit trisynaptique, afin d'être en mesure d'étudier l'impact de la modulation cholinergique, de ses dérégulations pathologiques, et de l'effet de médicaments, sur les mécanismes oscillatoires de ces sous-structures et sur leurs liens avec la formation de la mémoire.

Pris dans leur ensemble, les trois chapitres de cette partie montrent les progrès effectués au cours de ma thèse et mettent en évidence le potentiel de ces techniques pour l'étude de phénomènes complexes et pour des applications pharmacologiques multiples. La construction progressive de modèles multi-échelles allant de la molécule aux microréseaux, permet d'étudier numériquement de nombreux phénomènes physiologiques et pathologiques tels que la plasticité synaptique, l'hyperexcitabilité neuronale ou les rythmes oscillatoires de réseaux de neurones. Ces modèles constituent, pour Rhenovia Pharma et ses clients, un ensemble de plateformes numériques permettant la compréhension et la recherche de traitements innovants des pathologies associées à la mémoire, à l'épilepsie, ainsi qu'aux « oscillopathies ».



**Conclusion**

**Partie IV**



---

## Synthèse

Cette thèse financée par Rhenovia Pharma, et réalisée dans le cadre de ses activités de recherche et développement, avait pour but d'étendre les techniques de modélisation et de simulation, d'enrichir la base de modèles disponibles, et d'appliquer ces développements dans le cadre des projets menés par l'entreprise. Globalement, ces travaux répondent à un souci de compréhension et d'agrégation des phénomènes identifiés comme importants dans le fonctionnement et les altérations de l'hippocampe. L'approche de Rhenovia Pharma adopte une logique de construction qui permet de modéliser les différents mécanismes, et d'aboutir à des simulations reproduisant qualitativement et quantitativement l'évolution des différentes grandeurs caractéristiques du traitement du signal neuronal, à partir de données positives issues de la neurobiologie. L'objectif est de constituer une bibliothèque de modèles de différents mécanismes impliqués dans les fonctions des systèmes neuronaux, et de concevoir des plateformes de simulation permettant d'étudier numériquement les effets de composés pharmacologiques. Les difficultés principales de ce travail résultent de la complexité des systèmes et des phénomènes étudiés, dont les mécanismes s'inscrivent dans une large plage d'échelles de temps et d'espace, ainsi que des problématiques inhérentes aux études expérimentales en biologie, où les grandeurs mesurées sont à la fois dépendantes des techniques et des protocoles utilisés, et sujettes à d'importantes variations entre les individus.

La première partie de ce manuscrit est dédiée à la présentation des bases neurobiologiques et à la description des mécanismes constitutifs du système que l'on cherche à comprendre : l'hippocampe. Cette structure est impliquée dans les processus de formation de la mémoire, et l'altération de son fonctionnement est présumée centrale dans de nombreuses pathologies induisant un déficit cognitif, à toutes les périodes de la vie, telles que les troubles du spectre autistique (TSA), l'épilepsie ou la maladie d'Alzheimer. Son haut degré d'organisation et les connaissances accumulées sur son fonctionnement en font un sujet d'étude particulièrement intéressant dans le cadre de projets de modélisation et de simulation.

**L'extraction et la synthèse des données fournies par les neurosciences expérimentales sont un préalable indispensable à la démarche de reconstruction adoptée dans ces travaux de modélisation. Cette démarche, et l'objectif que nous poursuivons, nous amène à porter une attention particulière aux caractéristiques fonctionnelles des neurones, à leurs interconnexions, ainsi qu'aux mécanismes synaptiques et subcellulaires intervenant dans l'intégration et la modulation des signaux neuronaux.**

La deuxième partie aborde les méthodes et outils mis en œuvre, et présente les modèles, à différentes échelles, qui ont été utiles aux projets.

Le chapitre 2 résume l'approche générale, la logique de constitution des modèles, les méthodes numériques de simulation utilisées, ainsi que les outils permettant de les implémenter : le formalisme de Hodgkin et Huxley (HH), les modèles cinétiques ou *Kinetic Models* (KM) et les algorithmes de résolution des systèmes d'équations y sont décrits, puis les environnements de modélisation et de simulation utilisés dans nos études sont présentés. Les contributions

## Conclusion

---

techniques principales associées à mon travail de thèse concernent la participation aux spécifications et aux tests des plateformes RHENOMS de modélisation, l'utilisation du logiciel NEURON, en particulier de ses fonctionnalités de parallélisation des simulations, ainsi que la mise en place d'une structure de code permettant de faciliter le développement de modèles multi-échelles, en tirant parti des langages orientés-objet utilisés, des technologies de simulation en parallèle, et des fonctions de calcul scientifique associées au langage Python. Compte-tenu de la complexité des systèmes étudiés, et de l'objectif d'intégration des échelles allant du récepteur au microcircuit, ce travail sur les méthodes et les outils est essentiel à la réussite des projets applicatifs. Mon travail sur ce point s'inscrit dans une démarche globale de l'entreprise, dont l'équipe travaille depuis des années à l'optimisation des méthodes (Greget *et al.*, 2011; Sarmis, 2013; Bedez *et al.*, 2015; Sarmis *et al.*, 2015).

Le chapitre 3 détaille les éléments constituant les modèles de synapses glutamatergiques et GABAergiques, qui sont les composantes excitatrices et inhibitrices principales de la transmission synaptique dans l'hippocampe. Une présentation plus complète des modèles de NMDAr et de M1r permet de comprendre les processus de développement et de validation de modèles cinétiques complexes à l'échelle des récepteurs, en intégrant différents mécanismes de l'action de composés pharmacologiques. Le NMDAr joue un rôle important dans la transmission glutamatergique hippocampique, car le courant calcique qu'il conduit est directement impliqué dans la maturation et la plasticité synaptique ainsi que dans les phénomènes de toxicité liés à l'hyperexcitabilité. Son KM est constitué de multiples états qui permettent de simuler les différents comportements dynamiques du récepteur, dont en particulier le blocage voltage-dépendant du canal par l'ion  $Mg^{2+}$ , et l'action simultanée d'un agoniste, d'un co-agoniste, d'un antagoniste et d'un bloqueur organique tel que la mémantine. Cet exemple montre l'intérêt de mettre au point des KM pour l'étude des effets pharmacologiques, car ils tiennent compte des cinétiques propres à chaque changement d'état du récepteur et des paramètres biophysiques (potentiel de membrane, température, concentrations ioniques, etc.), et permettent de simuler de multiples configurations, dont celles impliquant des combinaisons de ligands. Le M1r est un récepteur métabotrope de l'ACh abondamment exprimé dans l'hippocampe, où il exerce une action tonique excitatrice associée à la régulation et à la synchronisation de l'activité des neurones hippocampiques. Le KM de ce récepteur inclut les états et les transitions représentant ses interactions avec deux agonistes compétitifs, un antagoniste compétitif, un ligand allostérique (modulateur ou agoniste) non compétitif, ainsi qu'avec la protéine-G, le messenger secondaire de son activation. Il est couplé à un modèle représentant le cycle des phosphoinositides (PIs) et l'inhibition du canal Kv7 par hydrolyse du PIP2. Ces modèles permettent de simuler un mode d'action majeur de ce récepteur dans les neurones hippocampiques : un résultat important associé à leur développement a été de pouvoir adapter la version originale représentant son action dans des cellules transfectées à un paramétrage compatible avec des résultats expérimentaux obtenus sur des neurones.

Le chapitre 4 décrit les différents modèles développés et utilisés à l'échelle des neurones pour construire un modèle du microcircuit de l'aire CA1. Les principales caractéristiques du modèle de cellule pyramidale (PC) y sont détaillées : la composition en canaux ioniques

---

de ses arborisations dendritiques lui confère des propriétés intégratives spécifiques, qui ont pu être reproduites par le modèle. De plus, les données expérimentales permettent de contraindre la distribution subcellulaire des différentes synapses, afin d'obtenir un modèle où l'équilibre entre les composantes synaptiques excitatrices et inhibitrices est respecté. Enfin, un modèle simplifié du microcircuit hippocampique a été implémenté, incluant les principaux interneurons (IN) GABAergiques responsables des voies locales d'inhibition. Ces populations d'IN et leurs projections forment les microcircuits permettant le contrôle local de l'activité des cellules principales, et les simulations de ce système ont permis de reproduire des effets spécifiques, tels que la synchronisation de certaines populations d'IN dans la bande de fréquence gamma.

**Cette partie de mon travail constitue le socle des applications de la Partie III, et a permis de démontrer la possibilité d'intégrer un grand nombre de résultats expérimentaux dans des modèles numériques complexes, capables de simuler les effets allant jusqu'à l'échelle des microcircuits, tout en conservant les mécanismes moléculaires fins permettant d'expliquer l'action de composés pharmacologiques. De manière importante, le travail réalisé pour intégrer le logiciel NEURON à notre gamme d'outils et pour mettre en œuvre les techniques de simulations en parallèle a permis de réduire considérablement les temps de calculs, rendant possible l'intégration multi-échelles de ces modèles et leur application dans les projets.**

La troisième partie décrit les recherches et les travaux réalisés dans le cadre de trois programmes successifs, qui ont accompagné le développement des techniques de modélisation et ont permis leur mise en application. Ainsi, chacun de ces trois travaux adressent les questions relatives à différents niveaux d'intégration : le chapitre 5 traite de la modulation pharmacologique de la *Long-Term Potentiation* (LTP) au niveau synaptique, le chapitre 6 aborde la question de l'hyperexcitabilité au niveau neuronal, et le chapitre 7 étudie les effets de la modulation muscarinique des oscillations au niveau des microcircuits et des populations neuronales.

Le chapitre 5 décrit un projet de recherche collaboratif dont l'objectif était d'étudier les mécanismes de la *Long-Term Potentiation* (LTP) et l'effet de composés pharmacologiques sur son induction. La LTP est un phénomène par lequel la puissance individuelle des synapses est augmentée sous l'effet de stimuli à haute-fréquence. Il est considéré comme essentiel à la formation de la mémoire, en particulier dans l'hippocampe, et des altérations de ses mécanismes produisent des effets délétères sur la cognition dans de nombreuses conditions pathologiques. La revue de ses mécanismes a permis d'établir différentes phases dans la LTP, et d'identifier le calcium postsynaptique comme un facteur essentiel à ce phénomène dans sa phase d'induction. Le modèle de LTP proposé est issu de résultats expérimentaux obtenus par des protocoles de *Spike-Timing-Dependent Plasticity* (STDP), et permet de lier l'amplitude du pic calcique postsynaptique à l'insertion de nouveaux récepteurs à l'AMPA (AMPA), augmentant les courants postsynaptiques suite à des stimulations à haute fréquence des collatérales de Schaffer (CS). Il s'insère dans le modèle de synapse glutamatergique décrit

## Conclusion

---

au chapitre 3, augmenté aussi d'un modèle de la modulation présynaptique par les récepteurs nicotiques (nAChr)  $\alpha 7$ . Les études sur ce modèle ont permis de simuler l'action d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase (AChEi) sur la probabilité d'exocytose des vésicules de glutamate dans le compartiment présynaptique par le nAChr  $\alpha 7$ , en mettant en évidence une action indirecte faisant intervenir les VDCC. L'action d'un modulateur allostérique du AMPAR a aussi été modélisée, ce qui a permis de simuler les effets combinés de ces deux composés à différentes concentrations, et d'évaluer leur caractère synergique. De plus, l'analyse du modèle montre qu'il obéit à un comportement bistable, et suggère une analyse en 'tout-ou-rien' des mécanismes de la LTP au niveau synaptique. Enfin, l'évaluation en simulation de différents protocoles d'induction a permis de mettre en évidence leur impact sur les effets observés des composés, et de favoriser l'amélioration des protocoles mis en œuvre par les expérimentateurs.

Le chapitre 6 traite de la question des facteurs aboutissant à l'hyperexcitabilité neuronale et à l'épilepsie. Ces travaux ont été effectués dans le cadre du projet collaboratif de recherche RHE-NEPI, dont le but était de développer des outils expérimentaux et de modélisation permettant de favoriser la compréhension des mécanismes et la recherche de médicament antiépileptique (MAE). Ces travaux se sont concentrés sur l'épilepsie de la face médiale du lobe temporal (EMLT), une forme largement pharmacorésistante d'épilepsie touchant l'hippocampe, et ont permis la mise au point de la plateforme de simulation RHENOMS-EPI. Ce modèle permet de simuler l'occurrence de décharges à haute fréquence épileptiformes dites *Paroxysmal Depolarizing Shifts* (PDS), dans deux configurations, correspondant à des modèles expérimentaux *in vitro* et *in vivo* d'épilepsie. La première, dite configuration *Low-Mg* est obtenue *in vitro* par la diminution de la concentration extracellulaire de  $Mg^{2+}$ , qui a pour effet d'amplifier les courants conduits par les NMDAR, et donne lieu à des PDS. Les PDS obtenus *in vitro*, ainsi que leur modulation par différents composés de référence ont pu être reproduits par le modèle, permettant une première validation. L'étude de deux combinaisons a permis de prédire le caractère concentration-dépendant du synergisme de la combinaison CGP-4016 / muscimol, et l'additivité de la combinaison carbamazépine / lamotrigine. De plus, cette configuration du modèle a permis de préciser les mécanismes d'action du complexe protéique synaptique Homer-Shank et de prédire son effet anti-excitateur. La configuration *in vivo* - chez la souris MTLE - vise à simuler les effets des altérations observées dans un modèle de souris épileptique développé et caractérisé par nos partenaires de projet. Le modèle numérique se base sur une configuration incluant les PC et les IN de l'aire CA1 de l'hippocampe, et a permis de corroborer l'hypothèse dite du « GABA-excitateur ». En incluant au modèle les mécanismes d'accumulation et de transport de l'ion  $Cl^-$  par les co-transporteurs cation-chlorure (CCC) NKCC1 et KCC2, nous avons en effet pu montrer qu'une dérégulation de l'expression de ces transporteurs était susceptible d'augmenter significativement la concentration intracellulaire de chlore, d'inverser la polarité des courants conduits par les récepteurs GABA<sub>A</sub> (GABA<sub>A</sub>r), les rendant excitateurs et capables de déclencher des PDS. À partir de la caractérisation physiopathologique des tissus d'hippocampe de ces souris, c'est à dire en mesurant les niveaux d'expression des protéines composant les récepteurs du glutamate et du GABA, et des CCC

---

par marquage immunohistochimique et par transfert de protéines (*Western Blot* (WB)), le modèle a été paramétré pour produire des PDS et simuler l'action de différents MAE. Une étude paramétrique a été effectuée sur le modèle afin de montrer que le changement d'équilibre entre KCC2 et NKCC1 pouvait augmenter sensiblement la concentration intracellulaire de chlore et être source d'hyperexcitabilité, que la surexpression des GABA<sub>A</sub>R favorisait cette hyperexcitabilité, et que la sous-expression des récepteurs ionotropes du glutamate (iGluR) la réduisait. La simulation des effets de trois MAE a permis de reproduire les résultats expérimentaux, et d'expliquer les mécanismes par lesquels ils produisent leurs effets. En particulier, il est proposé que l'effet antiépileptique du muscimol (agoniste du GABA<sub>A</sub>R), paradoxal dans le contexte du GABA excitateur, fasse suite à un effet de « drainage » du chlore, provoqué par une activation tonique des GABA<sub>A</sub>R.

Le chapitre 7 aborde le sujet de la modulation cholinergique de l'activité hippocampique, en particulier des rythmes thêta et gamma. Ces travaux ont été réalisés dans le cadre d'une collaboration industrielle : ils ont été l'occasion de mettre en œuvre les modèles à l'échelle des microcircuits et les techniques de simulation des PCL, d'étudier les mécanismes de synchronisation des activités neuronales, d'étendre le modèle à la structure du septum médian / diagonale de Broca (SM/DB) et à la VSH, et d'étudier les effets modulateurs de molécules agissant sur les récepteurs muscariniques (mAChR). La première partie du projet a consisté à mettre en place un modèle de tranche d'hippocampe permettant de simuler l'activité multi-unités (AMU) enregistrée par des *Micro-Electrodes Arrays* (MEA) extracellulaires, de reproduire et de prédire l'augmentation d'activité induite par des composés agissant sur le M1r. La deuxième partie du projet concernait la modulation des activités oscillatoires, en particulier du rythme thêta, enregistrées *in vivo* dans des hippocampes de rats anesthésiés. Une revue de littérature a permis d'établir les différentes structures et mécanismes impliqués dans la génération du rythme thêta hippocampique, et de spécifier un modèle compatible avec le protocole et les résultats expérimentaux de notre partenaire. À partir d'un modèle de référence, une configuration dans laquelle les populations de neurones GABAergiques du SM constituent le générateur primaire du rythme thêta hippocampique a été développée. Ce modèle simule l'apparition du rythme thêta hippocampique suite à la stimulation du tronc cérébral, et intègre les principaux mAChR sur les compartiments cellulaires des populations neuronales où ils sont exprimés. Ainsi, nous avons ajusté le modèle à partir des résultats expérimentaux représentant les modulations de puissances des signaux PCL dans les bandes thêta (3-12 Hz), gamma (30-100 Hz) et HF (100-200 Hz) par deux composés. En dépit des limitations identifiées du processus d'ajustement et de validation, il a été possible de prédire en aveugle l'effet d'un agoniste de M1r, et la validation d'un autre agoniste muscarinique non sélectif a été obtenue après révision des paramètres du modèle. Dans l'ensemble, ces résultats montrent que la modulation cholinergique relève d'une interaction complexe d'effets, et que le modèle réalisé a été capable d'en capturer les mécanismes essentiels.

**Globalement, le travail fourni durant cette thèse a significativement contribué à enrichir les techniques employées par Rhénovia Pharma, et à permettre la réussite des projets entrepris. D'abord le développement et la validation de différents modèles « élémentaires »**

## Conclusion

---

ont permis d'identifier des mécanismes fondamentaux, et de comprendre le mode d'action de certains composés pharmacologiques. Ensuite ma contribution au travail sur les méthodes et les outils a permis de rendre plus efficace le processus de développement et de validation. La structure de code que j'ai développée et les techniques que j'ai mises en œuvre ont permis de lever le verrou technologique associé aux temps de simulations, et de concevoir des modèles intégrés couvrant les échelles allant de la molécule au micro-circuit. Enfin, j'ai développé et exploité ces modèles multi-échelles, dans le cadre de projets applicatifs qui ont permis de démontrer l'applicabilité de nos méthodes à la recherche et au développement de médicaments. Ces projets ont permis d'établir des plateformes numériques d'étude des phénomènes de plasticité synaptique, d'hyperexcitabilité neuronale, et des rythmes hippocampiques, permettant la compréhension et la recherche de traitements innovants des pathologies associées à la mémoire, à l'épilepsie, ainsi qu'aux « oscillopathies ».

## Perspectives

Par essence, le processus de modélisation procède d'un compromis entre la constitution de modèles suffisamment complexes pour intégrer les mécanismes fins et capturer les phénomènes essentiels des systèmes réels, et la volonté de les synthétiser de manière simple pour qu'il reste possible de les appréhender intellectuellement. Ainsi, un modèle donné n'est jamais ni complet ni parfait, mais il peut en revanche être utile pour apporter un éclairage nouveau sur le système qu'il prétend représenter. La validation incrémentale selon plusieurs critères, la mise en concurrence de différents modèles, la multiplication des expériences virtuelles et la comparaison avec les procédures expérimentales semblent être des composantes importantes à ce projet de compréhension des phénomènes neuronaux. Les discussions et perspectives spécifiques à chaque application sont détaillées à la fin des chapitres correspondants. Il s'agit globalement d'étendre les capacités descriptives et prédictives des modèles tout en minimisant les contraintes de calculabilité (en termes de puissance et de temps).

Premièrement, les modèles des niveaux moléculaires et subcellulaires pourront être raffinés et augmentés par de nouvelles voies de signalisation et mécanismes biochimiques. La diversification des sous-unités de récepteurs ayant des propriétés spécifiques, et le développement de modèles détaillés des phénomènes de diffusion des différentes espèces (neurotransmetteurs, ions, etc.) pourront être menés, en faisant éventuellement usage de techniques permettant de simuler les fluctuations aléatoires des grandeurs à cette échelle microscopique (e.g. méthode de Gillespie). Ces développements trouveront leurs applications directes pour la prise en compte des changements d'expression des sous-unités de récepteurs (NMDA<sub>r</sub>, GABA<sub>A</sub><sub>r</sub>) observés dans certaines conditions pathologiques comme l'épilepsie, ou encore pour la modélisation de la diffusion volumique des NT, qui joue aussi un rôle important dans la neurotransmission et la neuromodulation non-synaptique. Par ailleurs, la constitution des KM pourra s'appuyer sur les méthodes de calcul des interactions protéines-protéines à partir de modèles structurels des molécules, afin de prédire les paramètres cinétiques de liaisons

---

et d'établir un couplage méthodologique entre les données de structure chimique et leurs activités fonctionnelles (e.g. Launay (2007)).

Deuxièmement, les modèles de réseaux pourront être étendus. Dans le CA1, les IN comme les AAC ou ceux spécifiques au *s.l-m* pourront être intégrés, dans la mesure où leurs projections et leurs effets ont été caractérisés. Progressivement, les modèles des neurones et des microcircuits des autres aires hippocampiques (CA3, GD) et des structures parahippocampiques (subiculum, CE) pourront aussi être développés, afin d'aboutir à un modèle qui inclue les composantes principales du circuit trisynaptique. De plus, on pourra chercher à tendre vers une modélisation plus proche de la réalité morphologique de l'hippocampe, en tenant compte des densités des différents types de neurones dans les aires étudiées, pour aboutir par exemple au modèle de l'anatomie d'une tranche d'hippocampe (Bezaire et Soltesz, 2013). L'objectif associé à de tels modèles est de pouvoir simuler les mécanismes d'encodage et de restitution de séquences d'activité neuronale, associés notamment au rythme  $\theta$  et à la LTP, que l'on suppose être centraux dans la formation de la mémoire associative. Les concepts associés à ces phénomènes s'éclaircissent peu à peu, et des modèles ont déjà été proposés en ce sens (Hasselmo et Schnell, 1994; Hasselmo *et al.*, 2002; Koene et Hasselmo, 2009; Cutsuridis *et al.*, 2010a). La réalisation de modèles intégrant à la fois ces phénomènes abstraits de traitement de l'information et les mécanismes fins des niveaux moléculaires, synaptiques et subcellulaires, représentera une avancée significative ; ils constitueront un outil précieux pour la compréhension des pathologies et le développement de stratégies thérapeutiques innovantes.

Troisièmement, on pourra projeter d'accroître la plage des échelles temporelles accessibles par nos modèles, afin de pouvoir coupler efficacement les phénomènes ayant une faible constante de temps (e.g. diffusion des NT dans la fente synaptique), et ceux s'établissant sur plusieurs minutes ou plusieurs heures (e.g. mécanismes épigénétiques, morphogenèse, etc.). Les efforts en ce sens trouveront leurs applications à tous les mécanismes relevant des modifications lentes associées à la pathogenèse des maladies chroniques du système nerveux, ou encore plus directement à la modélisation des mécanismes de l'expression et de la consolidation de la LTP. D'autre part, on pourra chercher à développer les liens avec des approches de modélisation des propriétés pharmacocinétiques des composés étudiés, car à l'évidence, l'efficacité d'une molécule est largement dépendante de sa capacité à franchir les différentes barrières séparant son administration de ses cibles. Pour atteindre ces objectifs, un travail consistant à mettre en œuvre des algorithmes de parallélisation des calculs sur différentes échelles de temps est en cours à Rhenovia Pharma (Bedez *et al.*, 2015). Il est notamment fait appel à la famille d'algorithmes dits para-réels, permettant d'augmenter significativement les performances de résolution de systèmes d'EDP (Aubanel, 2011), et leur applicabilité à des systèmes d'EDO est en cours d'évaluation.

Par ailleurs, ces différentes extensions des modèles à de plus amples gammes d'échelles spatiales et temporelles ne pourront a priori pas se faire sans un effort de réduction de leur complexité, car l'accumulation de KM élémentaires comportant des dizaines d'états, instan-

## Conclusion

---

ciés en autant de synapses et de neurones nécessaires à la constitution d'un modèle complet de réseau se heurtera nécessairement à des limites de calculabilité, malgré l'amélioration des algorithmes et l'augmentation continue de puissance des ordinateurs. Dans cette perspective, on pourra recourir à des approches consistant à diminuer le nombre d'états et d'équations, à changer le paradigme de modélisation en ré-interrogeant les hypothèses (e.g. modèles non-paramétriques, réduction de Strahler, cf. section 4.3), ou bien à tirer parti de méthodes algorithmiques utilisées dans d'autres domaines d'application telles que la réduction d'ordre (Benner et Faßbender, 2013).

Enfin, le développement d'interfaces utilisateurs permettant de mettre les différents modèles à la disposition d'utilisateurs « non-développeurs » est en cours. Le travail mené pour améliorer les outils a permis de rendre plus rapide le processus de développement et de validation des modèles, mais il est essentiel que ceux-ci puissent être soumis à des utilisateurs finaux : quel que soit leur niveau d'intégration (modèles élémentaires, plateformes complètes) ou leur complexité, ces modèles sont autant d'outils utiles à la compréhension et à la recherche, et il est souhaitable que les acteurs de la recherche en neurosciences puissent en faire usage.

## **Annexes**

## **Partie V**



Code A.1 – Extraits du code-maître décrit dans la section 2.6

```
1 # IMPORTS
2 import sys,os
3 import numpy as np # paquetage numpy
4 from mpi4py import MPI # API MPI pour python
5 from neuron import h # API NEURON pour python
6 import LFPy
7 from pynrn_utils import * # fonctions génériques de configuration
8 from netconfig import * # fonctions de configuration des réseaux
9
10 # ARGUMENTS DU SCRIPT
11 paramfilepath = sys.argv[1] # Fichier de paramètres
12 resultspath = sys.argv[2] # Répertoire parent des résultats
13 # ATTRIBUTION DU RANG D'EXECUTION
14 pc = h.ParallelContext()
15 rank = int(pc.id())
16 # DEFINITION, CREATION ET CONNEXION DES CELLULES
17 CELLS = defCells(pc,NET)
18 makeCells(pc,CELLS)
19 makeCons(pc, CELLS, NET)
20
21 # CONFIGURATIONS SPECIFIQUES AU TEST
22 for gid,dic in CELLS.items():
23     if dic['rank'] == int(pc.id()) :
24         # Objet cellule de ce processus
25         cello = dic['cello']
26         # Sélection d'un type de cellule
27         elif dic['type'] == 'OLM' :
28             # Modification d'un paramètre
29             h("AChIN = 100e-6")
30
31 # DEFINITION DES ENREGISTREMENTS
32 init_records(pc, CELLS,tstart=100e3,tstop=110e3)
33 #INITIALISATION
34 cvode = h.CVode() # calcul à pas variable
35 cvode.active(1)
```

## Annexe A. Suppléments du chapitre 2

---

```
36 NetInit(pc, CELLS)
37 # SIMULATION
38 pc.psolve(glob_params['tstopms'])
39 # SAUVEGARDE DES ENREGISTREMENTS
40 save_results(pc, CELLS,resultspath, **Els_params)
41 # CALCUL DU LFP
42 sum_LFP(pc, CELLS, resultspath, ctypes=['PC'])
43 # COMPRESSION PAR DOUGLAS-PEUCKER
44 clean_results(pc, CELLS,resultspath,skipfiles=["LFP.txt", "spikes.txt"])
45 pc.barrier()
46 # FIN
47 sys.exit()
```

---

**Code A.2** – Exemple de script d'exécution décrit dans la section 2.6

```
1  #!/bin/bash
2  NODES=node01,node02,node03,node04,node05,node06,node07,node08
3  #PBS -S /bin/bash
4  # NOMBRE DE NOEUDS ET DE PROCESSUS PAR NOEUDS REQUIS
5  #PBS -l nodes=8:ppn=26
6  # DUREE DE TRAVAIL MAXIMALE REQUISE
7  #PBS -l walltime=6:00:00
8  # NOM DE LA TACHE
9  #PBS -N DRUGA_SEED_49_400nM
10 # REDIRECTION DE LA SORTIE STANDARD
11 #PBS -o ./BATCH/SEED_49/400nM/out.log
12 # REDIRECTION DE LA SORTIE ERREUR
13 #PBS -e ./BATCH/SEED_49/400nM/err.log
14 #PBS -M arnaud.legendre@rhenovia.com # ADRESSE DE DESTINATAIRE DES COURRIELS DE
    NOTIFICATION
15 #PBS -m ae # NOTIFICATIONS AU DEPART (b), A L'ARRET (e), OU EN CAS D'ERREUR (e)
16 cd $PBS_O_WORKDIR
17 # COMMANDE A EXECUTER
18 mpirun -n 220 -H $NODES python26 ./BATCH/SEED_49/400nM/run.py 49 400e-6 ./BATCH/SEED_49
    /400nM/parameters.py ./BATCH/SEED_49/400nM/
```

## Annexe A. Suppléments du chapitre 2

Code A.3 – Extraits du fichier de configuration décrit dans la section 2.6

```
1 # PARAMETRES GLOBAUX DE SIMULATION
2 glob_params = {
3     'nsegs_method' : 'lambda_f',      # Discrétisation spatiale des sections
4     'lambda_f' : 100,                 # Discrétisation spatiale des sections
5     'tstopms' : 110e3,                # Date de fin de simulation (ms)
6     'timeres_python' : 2**-3,        # Pas de temps pour calcul de LFP (ms)
7     'verbose' : False,               # Sortie de débogage
8 }
9
10 NET = {}
11 # DEFINITION ET PARAMETRAGE DES CELLULES DU RESEAU
12 NET['Cells'] = {
13     # NOM DU TYPE DE CELLULE
14     'PC' : {
15         'N' : 20, # Nombre de cellules
16         'cello_params' : {
17             'morphology' : './MODELS/PCs/PCs_morpho.hoc',
18             'templatefile' : './MODELS/PCs/PCs_template.hoc',
19             'v_init' : -64., # Potentiel de membrane initial
20             'passive' : True, # Utilisation du mécanisme de membrane passif
21             'Ra' : 150., # Resistivité cytoplasmique (ohm.cm)
22             'cm' : 1, # Capacitance spécifique de membrane (uF.cm-2)
23             [...]
24             'extracellular' : True, # calcul du PCL
25         },
26         'params' : {
27             'with_Im' : True, # Utilisation du récepteur M1
28             'M1R_Density' : 1.0, # Densité du récepteur M1 au soma (um-2)
29             'M1R_Agonist' : 'X', # Type d'agonsite M1 {'X','OXO-M','CCH'}
30             'M1R_Agonist_kon' : 3.33, # kon de l'agoniste
31             [...]
32         },
33         # VARIABLES A ENREGISTRER
34         'recvars' : {
35             'vsoma' : 'soma(0.5)._ref_v',
36             'ACh' : 'M1R._ref_ACh',
37             'GaPLC' : 'inositol._ref_GaPLC',
38             'gmod' : 'soma(0.5)._ref_gmod_kv7',
39             'PIP2' : 'soma(0.5)._ref_PIP2_kv7',
40         }
41     },
42
43     'BC' : {
44         'N' : 50,
45         [...]
46     },
47
48 # DEFINITION ET PARAMETRAGE DES CONNEXIONS ET STIMULI DU RESEAU
49 NET['Cons'] = {
50
```

```

51 # Exemple d'un stimulus appliqué aux collatérales de Schaffer
52 'SC_PC' : { # Nom de la connexion
53     'source' : 'NetStim', # La source est une séquence d'impulsions
54     'target' : 'PC',
55     'delay' : 100e3,
56     'Nspikes' : 11,
57     'Fspikes' : 1.1,
58     'Nbursts' : 1,
59     'Fbursts' : 0.04,
60     'seed' : None,
61     'syn_params' : { # Définition des synapses
62         'seclist' : 'radiatum_thin', # Dendrites cibles (SectionList)
63         'method' : 'homogenous', # Méthode de distribution {'homogenous', 'localized', 'randomized'}
64         'number' : 120, # Nombre de synapses
65         'keys_post' : { # Paramètres du compartiment postsynaptique
66             'Syntype' : 'Glu',
67             [...]
68         },
69     }
70 },
71
72 'SC_BC' : {
73     'source' : 'NetStim',
74     'target' : 'BC',
75     [...]
76 },
77
78 # Exemple de connexions récurrentes dans la population des Basket cells
79 'BC_BC' : {
80     'source' : 'BC',
81     'target' : 'BC',
82     'div' : 30, # Convergence / divergence des projections {'conv', 'div'}
83     'recurrent' : True, #False,
84     'syn_params' : {
85         'seclist' : 'basals',
86         'method' : 'randloc',
87         [...]
88     }
89 },
90 [...]
91 }
92
93
94 # DEFINITION ET PARAMETRAGE DES ELECTRODES
95 Els_X = np.zeros(16)
96 Els_Y = np.linspace(-150, -150+15*50, 16)
97 Els_Z = np.zeros(Els_X.shape)
98
99 Els_N = np.empty((Els_X.flatten().shape[0], 3))
100 for i in xrange(Els_N.shape[0]): Els_N[i,] = [0, 0, 1] # Vecteurs normaux aux contacts
101

```

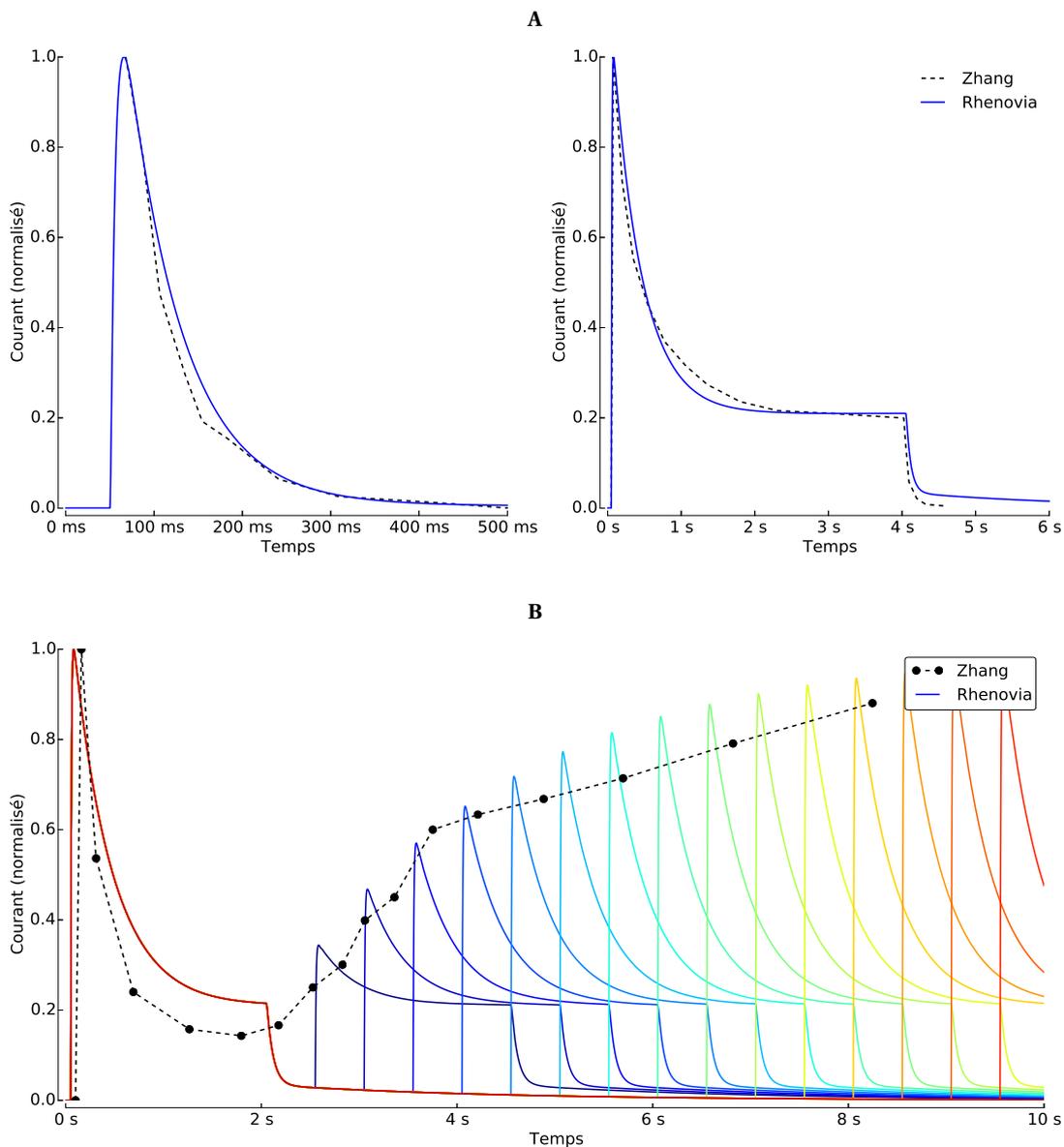
## Annexe A. Suppléments du chapitre 2

---

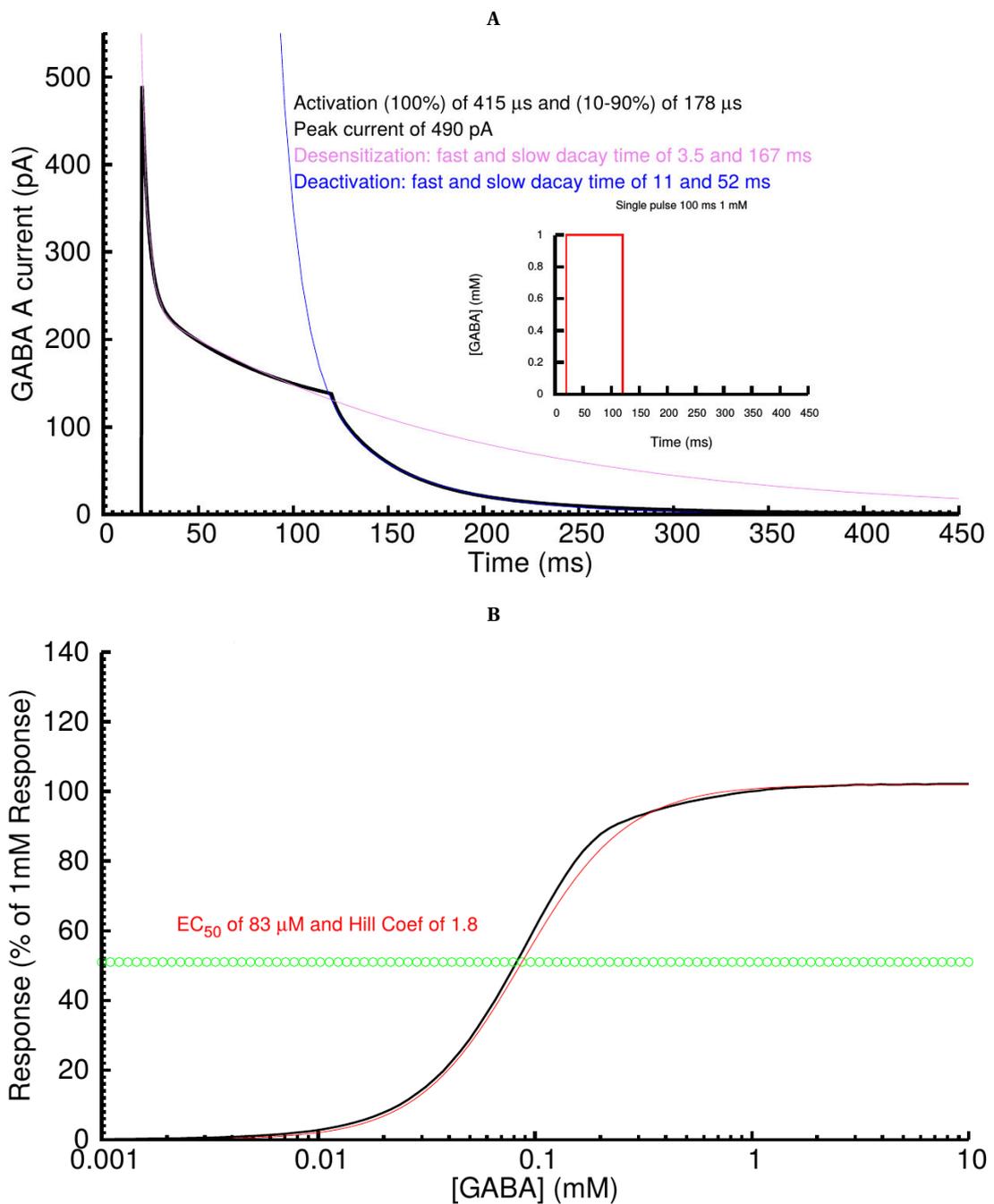
```
102 Els_params = {
103     'sigma' : 0.3, # Conductivité du milieu
104     'x' : Els_X.flatten(), # Coordonnées x des positions (vecteur 1D)
105     'y' : Els_Y.flatten(), # Coordonnées y des positions (vecteur 1D)
106     'z' : Els_Z.flatten(), # Coordonnées z des positions (vecteur 1D)
107     'method' : 'linesource', # méthode de calcul {'linesource', 'pointsource'}
108     'r' : 25, # Résistance de l'électrode
109     'N' : N, # Vecteur normal à l'électrode
110 }
```

**B**

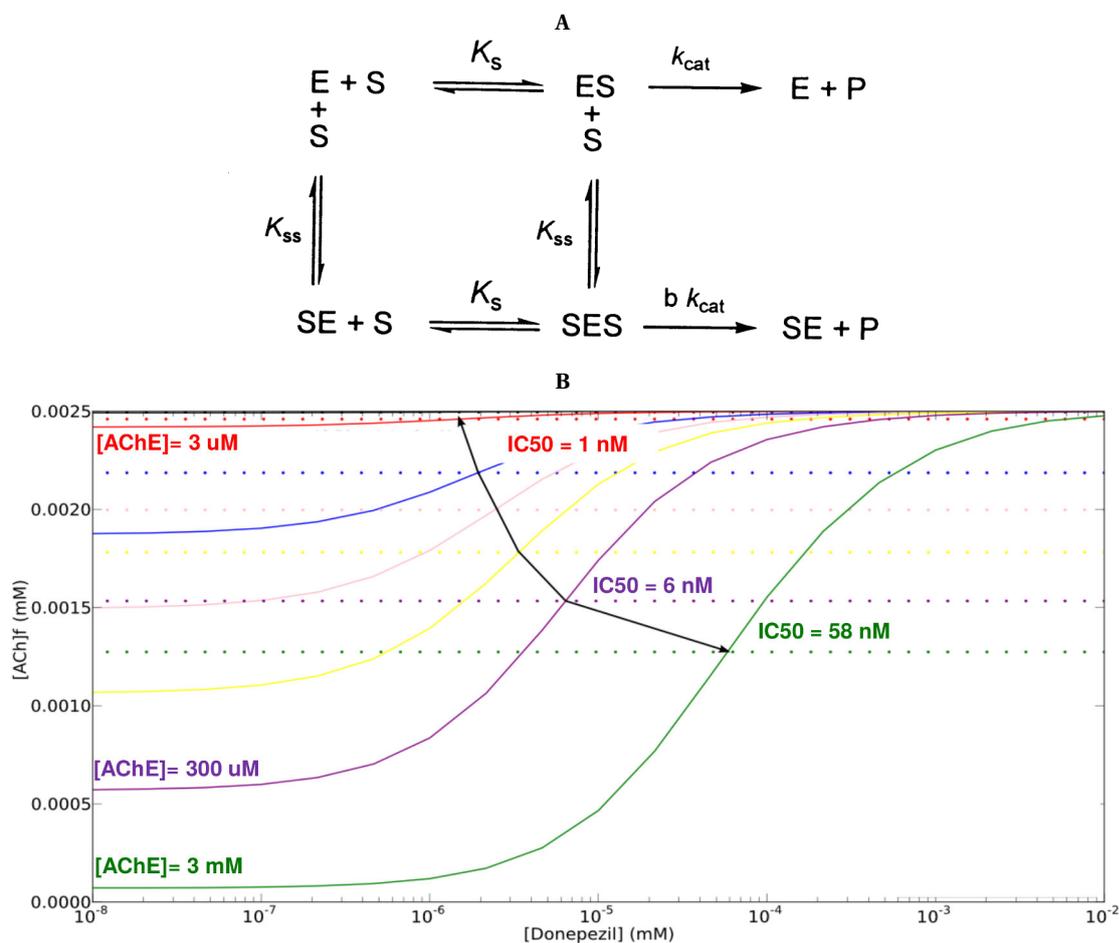
## **Suppléments du chapitre 3**



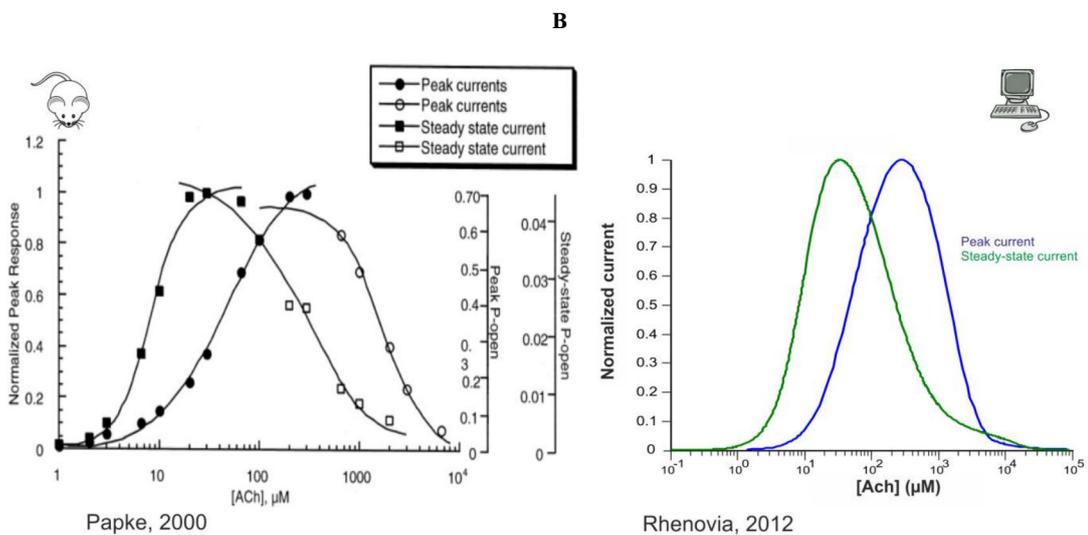
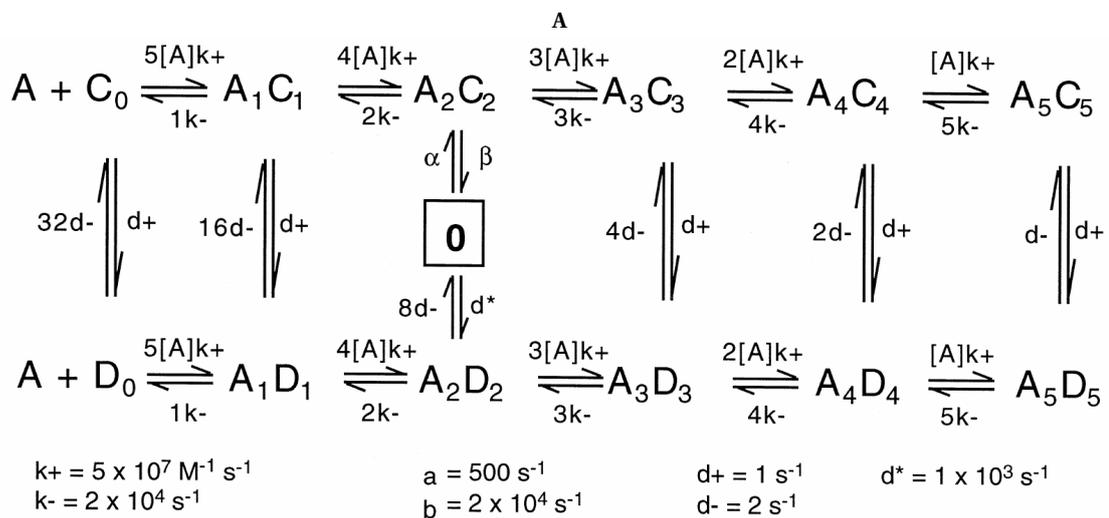
**Figure B.1** – Validation de la cinétique du modèle de NMDAr par rapport aux résultats de Zhang *et al.* (2008). **A** - Le récepteur unique est soumis à une impulsion courte (1 ms) ou longue (4 s) de 1 mM de glutamate, afin d'ajuster les cinétiques d'activation et d'inactivation (gauche), et de désensibilisation (droite). **B** - La cinétique de désinactivation est validée par un protocole de double-impulsion de glutamate (2 impulsions de 2 s à 1 mM [Glu]).  $V_c = -100$  mV,  $[Mg^{2+}] = 0$  mM,  $[Gly] = 100$   $\mu$ M.



**Figure B.2** – Validation des propriétés cinétiques et de la DR du modèle de GABA<sub>A</sub>R, soumis à une impulsion de GABA, en regard des résultats de Pugh et Raman (2005). **A** - Cinétique du courant GABA<sub>A</sub>R soumis à une impulsion de 100 ms de 1 mM de GABA.  $V_c = 0$  mV; potentiel de réversion du GABA<sub>A</sub>R ( $E_{GABAA}$ ) = -70 mV; N = 650 récepteurs. **B** - DR de l'amplitude du courant GABA<sub>A</sub>R pour le GABA, dans les conditions utilisées en (A).



**Figure B.3** – Modèle de l’AChE. **A** - KM de l’AChE (E), s’associant à son substrat S (ACh) en deux sites, selon les constantes d’association  $K_{ss}$  et  $K_s$ , et le catabolisant selon les cinétiques  $k_{cat}$  et  $b k_{cat}$ , pour former le produit P (choline (Ch)), d’après Kovarik *et al.* (2003). **B** - Extrait de validation du modèle, concernant l’inhibition de l’AChE par le donepezil. En prenant une concentration initiale constante d’ACh de  $2,5 \mu\text{M}$ , le donepezil inhibe de façon dose-dépendante l’AChE. Cette réponse dépend aussi de la concentration d’AChE, et la valeur de référence prise correspond à  $[\text{AChE}] = 300 \mu\text{M}$ , pour un  $\text{IC}_{50}$  de 6 nM, ajusté sur les données *in vitro* de Akasofu *et al.* (2008).



**Figure B.4** – Extraits de la validation du modèle de nAChR  $\alpha_7$ . **A** - KM du nAChR  $\alpha_7$ , incluant les 5 liaisons possibles avec l'ACh et les phénomènes de désensibilisation, d'après Papke *et al.* (2000). **B** - Extrait de validation du modèle, reproduisant la DR du récepteur à l'ACh, issue des résultats de Papke *et al.* (2000).

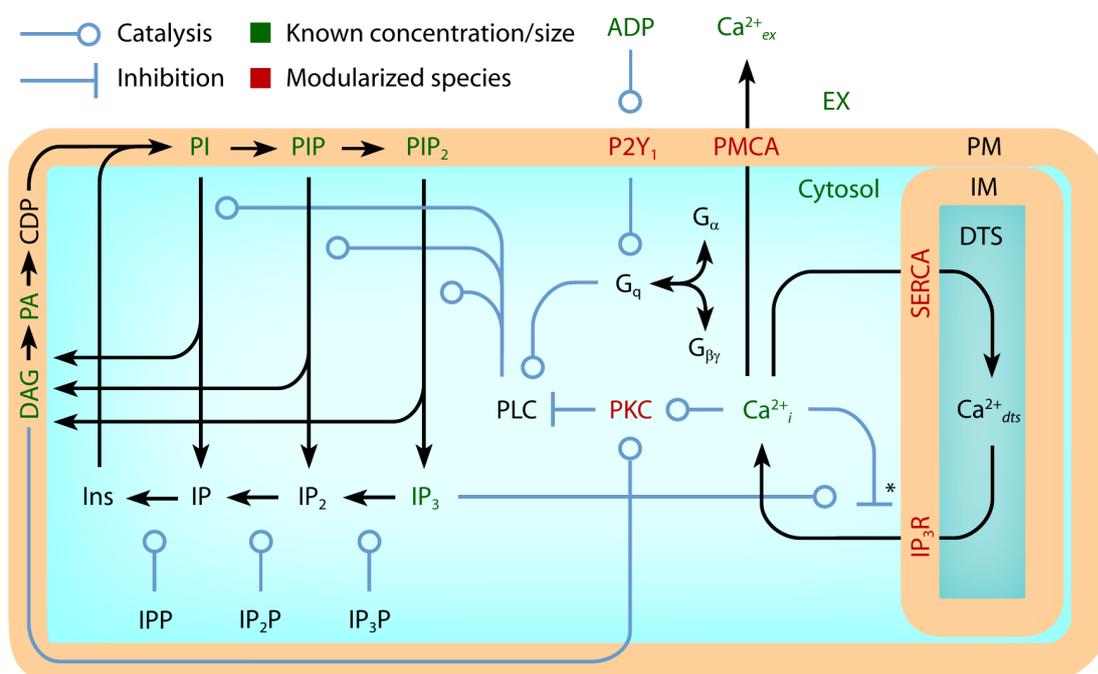
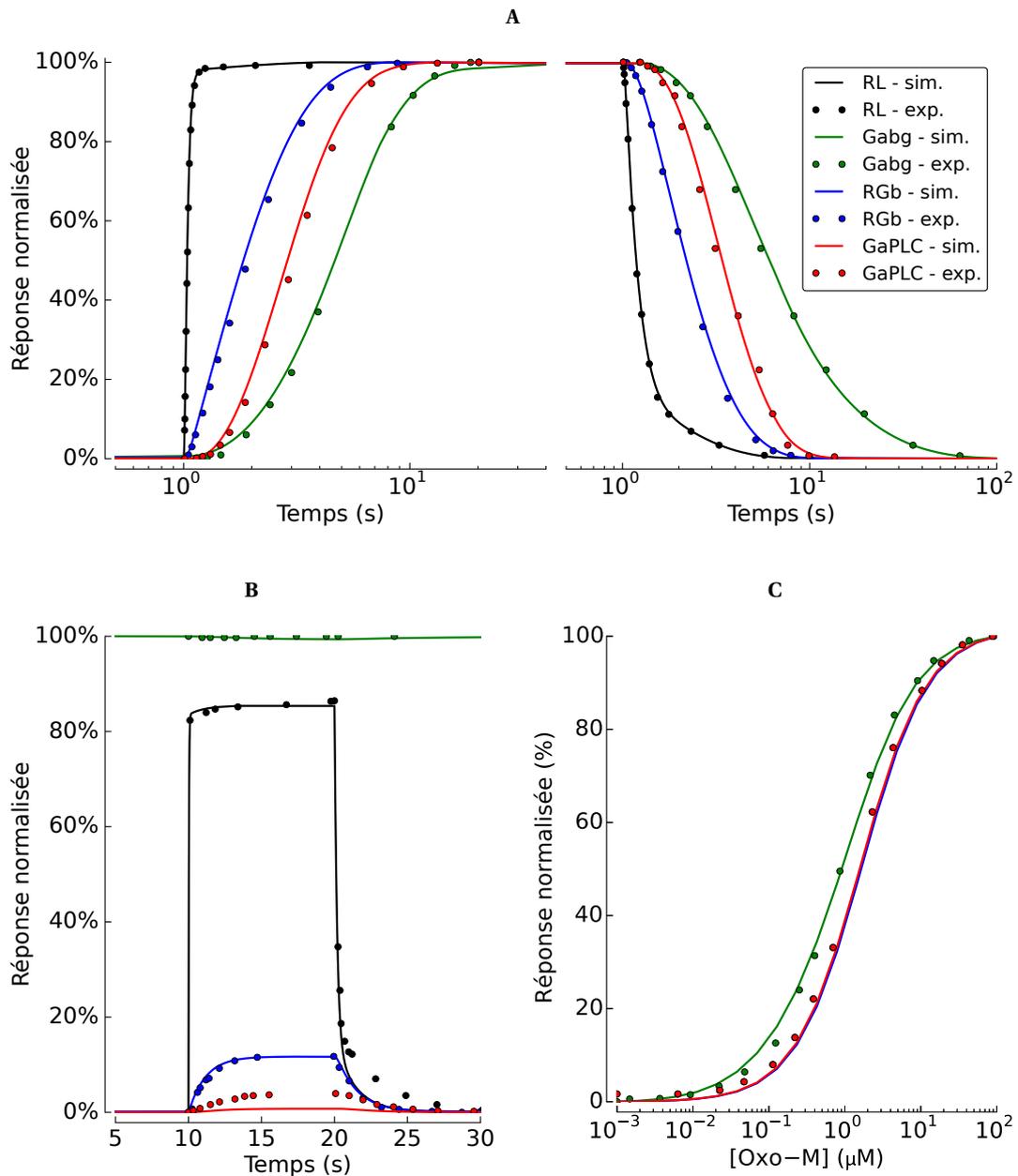
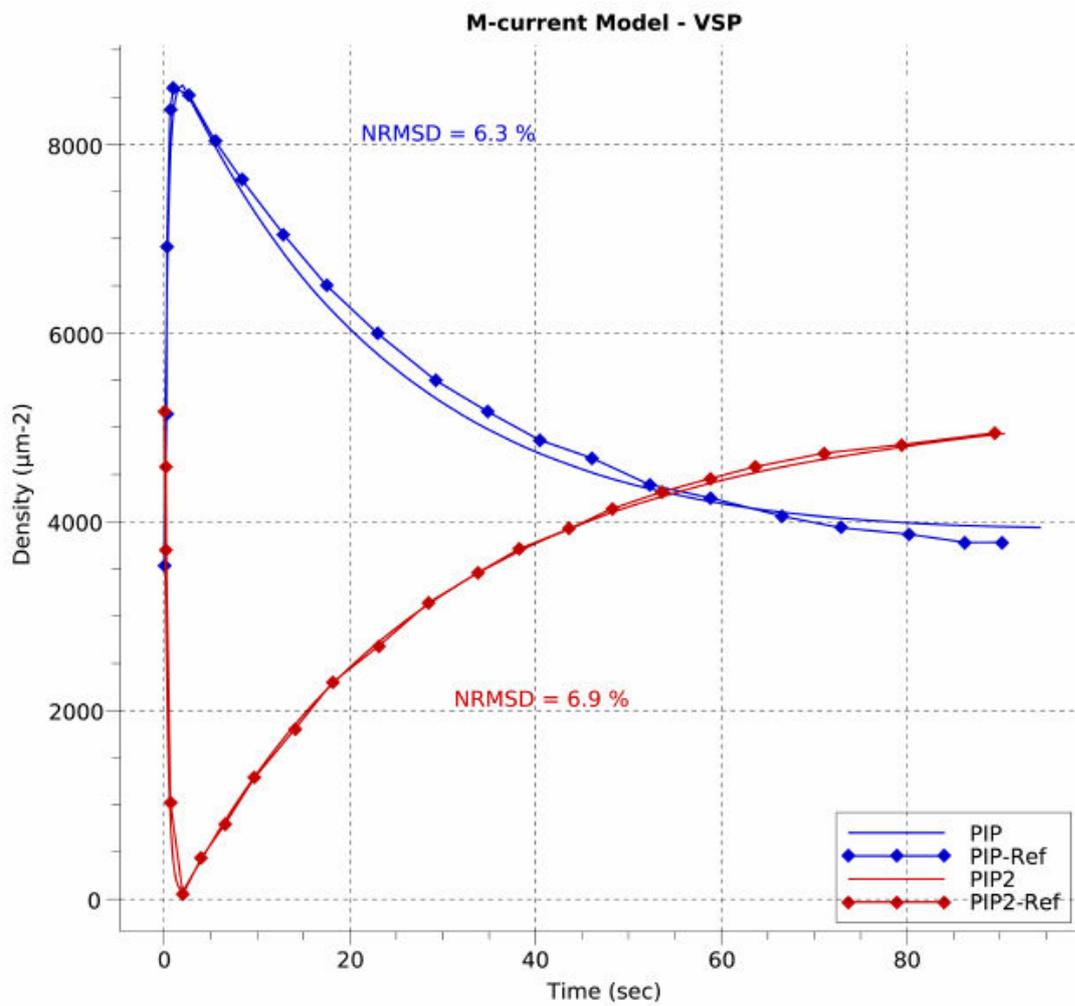


Figure B.5 – Homéostasie calcique et cycle des phosphoinositides dans les plaquettes sanguines, d'après Purvis *et al.* (2008).



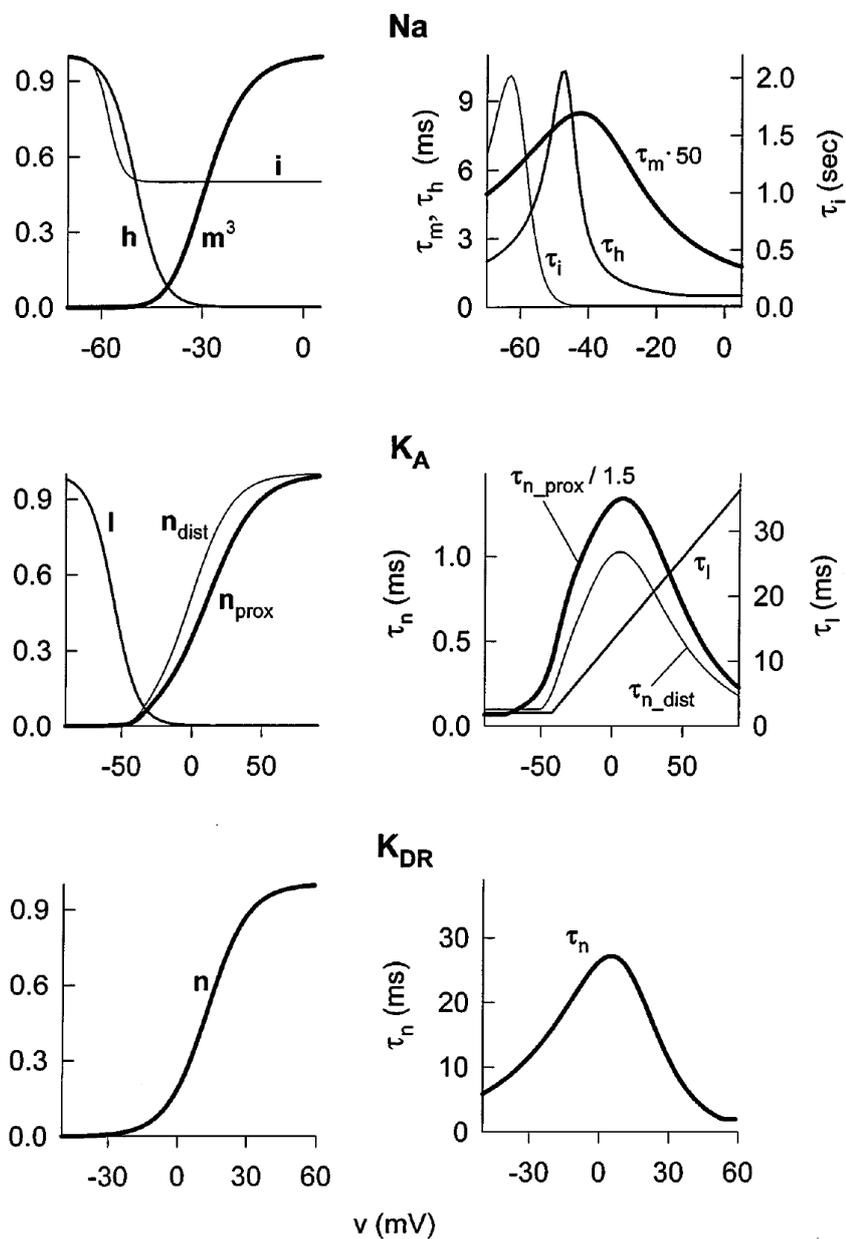
**Figure B.6** – Validation du modèle de M1r dans les conditions d'expression endogène des protéines. Les différentes observables sont la densité de récepteurs couplés au ligand Oxo-M (RL, noir), de protéine G trimérique (Gabg, vert), de récepteur lié à  $G_{\beta\gamma}$  (RGb, bleu), et de PLC activée (GaPLC, rouge). L'application simulée de  $10 \mu\text{M}$  d'Oxo-M permet de reproduire les cinétiques d'activation et de désactivation (A), les quantités (B), ainsi que les DR (C) des différentes espèces issues des résultats de Falkenburger *et al.* (2010a). La différence observée sur l'activation de la PLC (courbe et points rouges en B) a été étudiée, et s'est révélée résulter d'une erreur d'échelle dans la figure publiée : la validité de notre simulation a été validée par l'auteur.



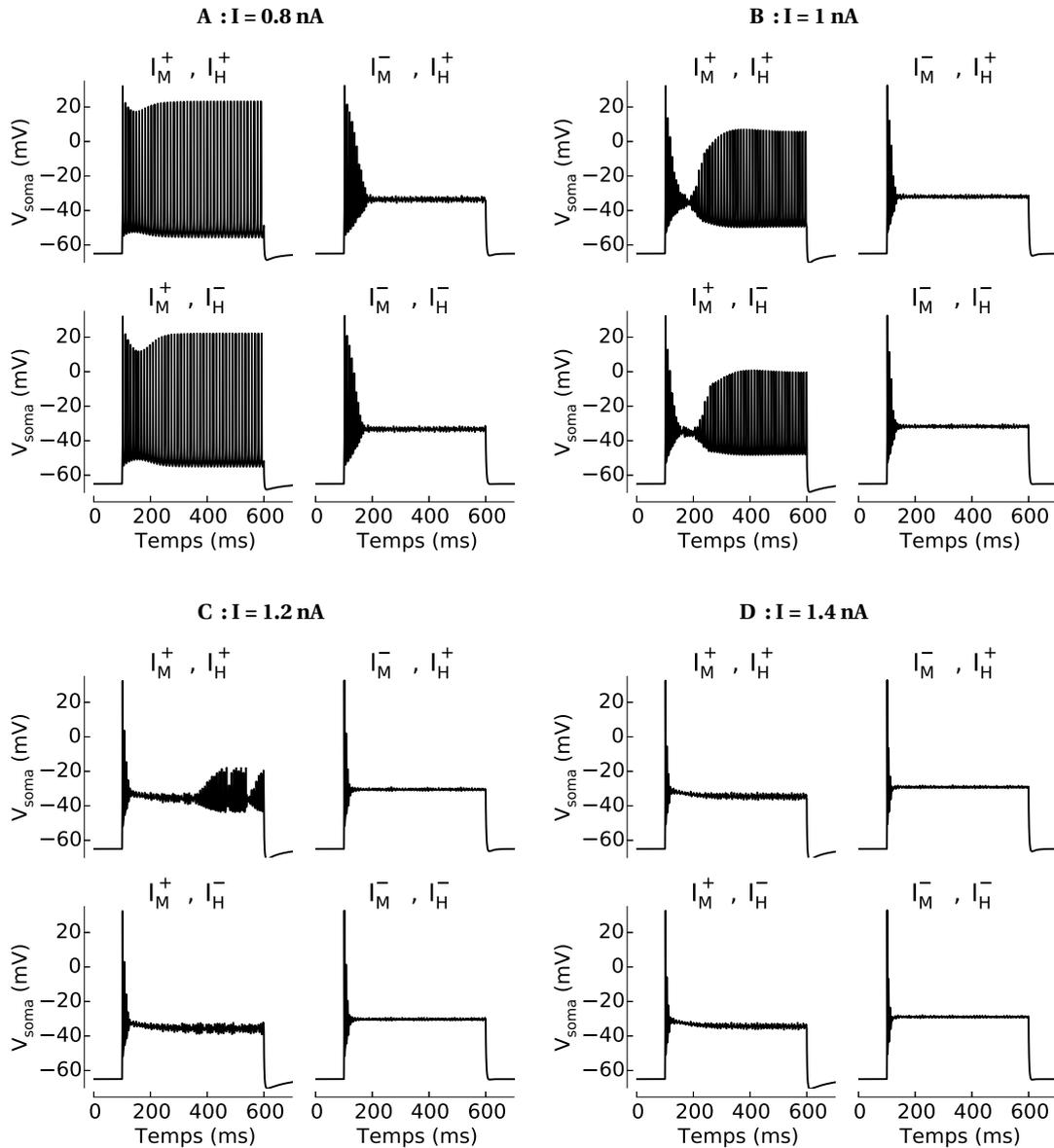
**Figure B.7** – Extrait de validation de la cinétique du PIP2 sous l’action de VSP. L’activation de la VSP (par une dépolarisation à +100 mV pendant 2 s) dégrade rapidement le PIP2 et PIP. La cinétique simulée de reconstitution de la densité de PIP2 (ligne rouge) reproduit les résultats de Falkenburger *et al.* (2010b)

**C**

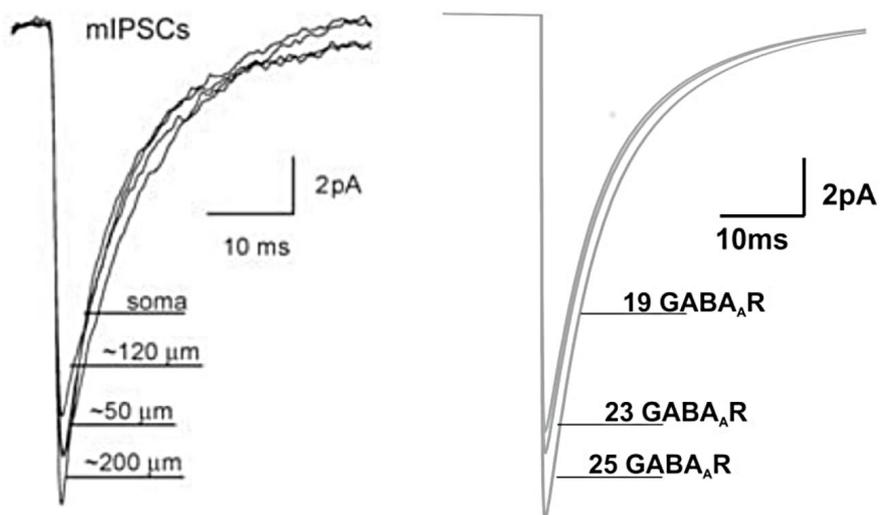
## **Suppléments du chapitre 4**



**Figure C.1** – Dépendance au potentiel des variables des modèles de canaux dendritiques Nav,  $K_{Aprox/dist}$  et  $K_{DR}$ , d’après Migliore *et al.* (1999).



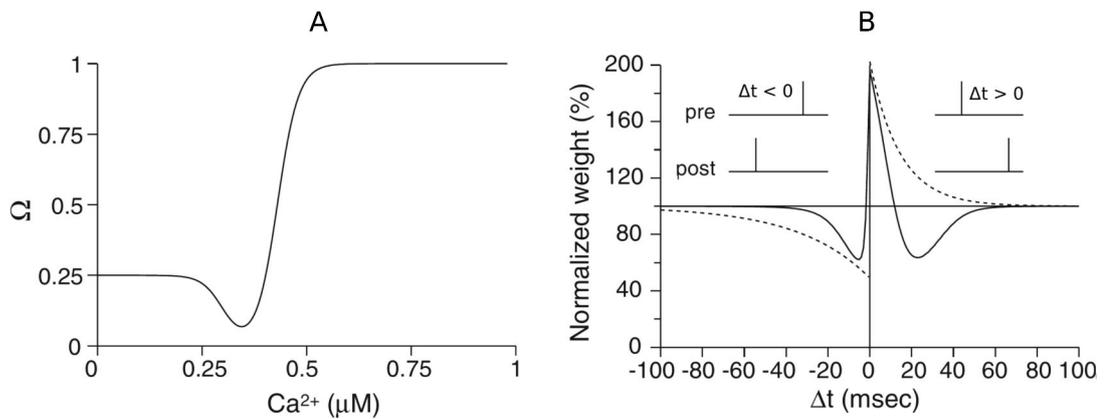
**Figure C.2** – Modulation du bloc de dépolarisation du neurone pyramidal par  $I_M$  et  $I_H$ . L'injection d'un courant somatique dépolarisant induit la décharge répétée du neurone, dont la fréquence et l'amplitude sont modulées par les courants  $I_M$  et  $I_H$  (A : 0,8 nA ; B : 1 nA ; C : 1,2 nA ; D : 1,4 nA). Un courant intense induit un bloc de dépolarisation, c'est à dire un blocage des PA suite à la suractivation des NaV, empêchant les oscillations entre courants sodiques et potassiques de se produire. Le courant  $I_M$ , et  $I_H$  dans une moindre mesure, permettent de réduire le seuil d'apparition du bloc de dépolarisation.



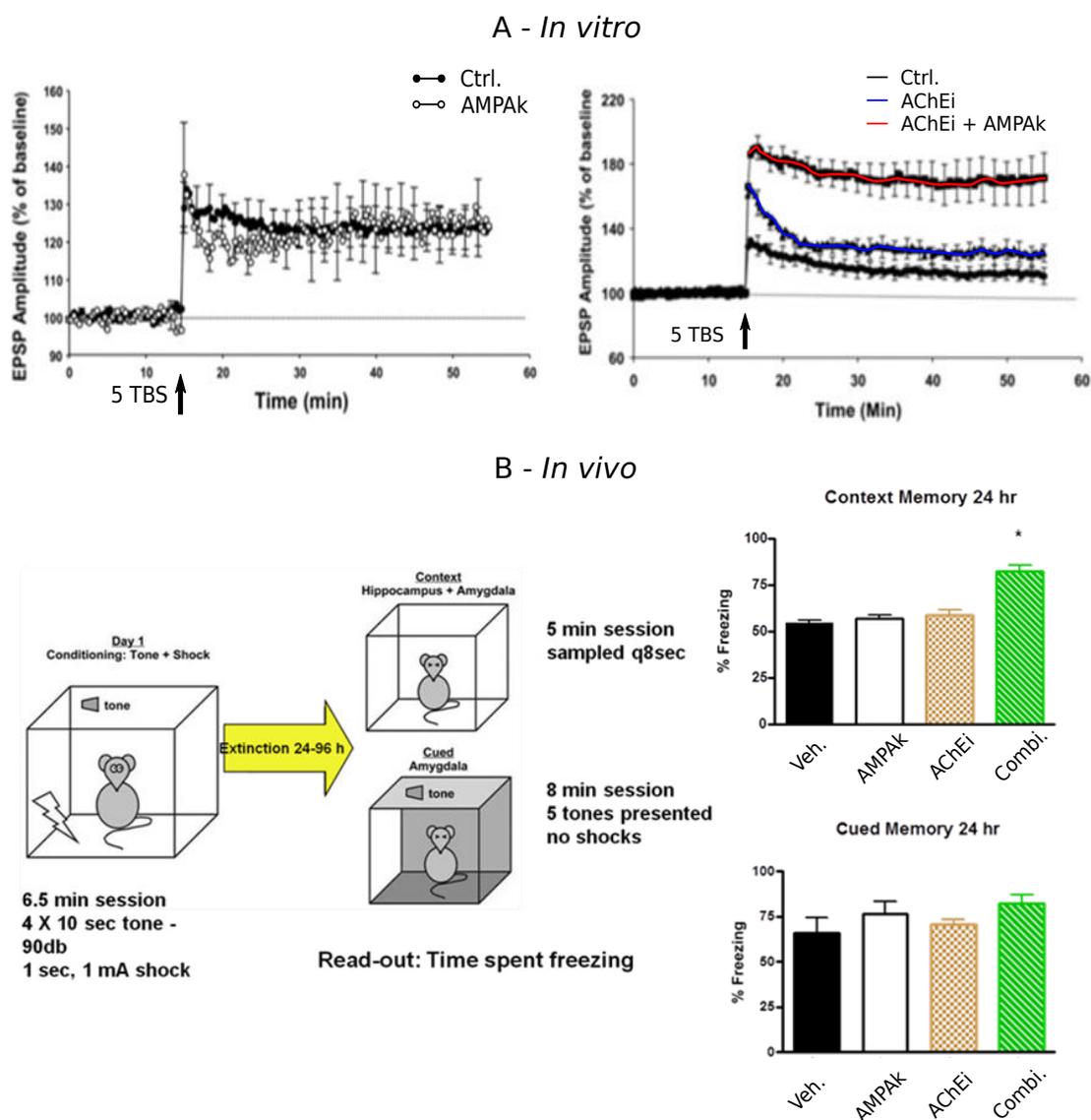
**Figure C.3** – Amplitude des CPSI miniatures sur une PC de CA1. Comparaison des enregistrements de Andrásfalvy et Mody (2006) (Figure 4F), et des simulations utilisant une synapse GABAergique unique incluant 19, 23 ou 25 GABA<sub>A</sub>R.

## D

## Suppléments du chapitre 5



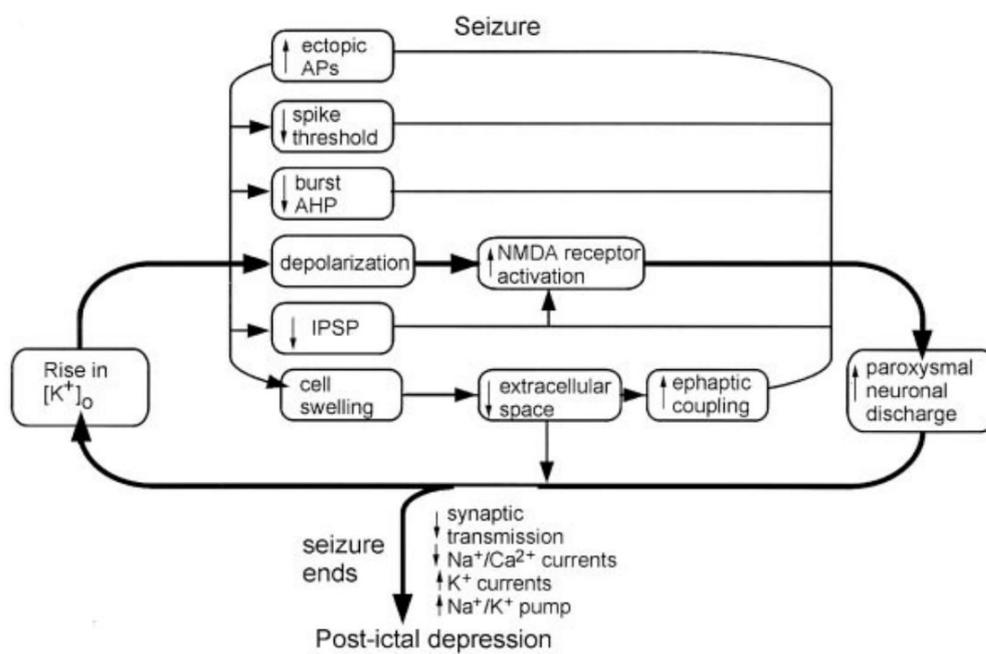
**Figure D.1** – Caractéristiques du modèle de LTP, d’après Shah *et al.* (2006). **A** - La fonction  $\Omega$  détermine le sens et l’amplitude de la modulation de la conductance synaptique, comme une caractéristique de la concentration maximale de calcium atteinte dans le compartiment postsynaptique lors de la stimulation. **B** - Courbe de plasticité obtenue par le modèle en fonction du délai entre les impulsions pré- et postsynaptiques, comparée aux caractéristiques expérimentales (tirets).



**Figure D.2** – Tests expérimentaux de la modulation de LTP par AMPAK et AChEi. **A** - LTP induite *in vitro* sur des tranches d'hippocampe de souris, mesurée par l'augmentation d'amplitude des PPSE produits par stimulation des CS, suite à l'induction par le protocole 5-TBS. L'AMPAK appliquée seule n'augmente pas significativement la LTP par rapport au contrôle (graphe du haut) ; l'AChEi appliqué seul augmente la LTP d'environ 10 % par rapport au contrôle ; la combinaison AChEi & AMPAK provoque une augmentation d'environ 80 %. **B** - Effets de AMPAK et AChEi dans des tests de mémoire *in vivo* chez la souris. La combinaison AChEi + AMPAK augmente le marqueur de mémoire contextuelle (durée du *freezing* sur présentation du contexte seul dans le protocole de *fear conditioning*), alors que les composés appliqués seuls n'induisent pas de modification. Les effets ne sont pas significatifs sur le marqueur de mémoire induite (durée du *freezing* après émission du signal de rappel).

- Crises Généralisées
  - Tonico-cloniques (quelle que soit la combinaison)
  - Absences
    - Typiques
    - Atypiques
    - Absences avec caractéristique particulière
      - Absences Myocloniques
      - Absences avec Myoclonies Palpébrales
  - Myocloniques
    - Myocloniques
    - Myoclonos atoniques
    - Myoclonos toniques
  - Cloniques
  - Toniques
  - Atoniques
- Crises Focales
- Inconnues
- Spasmes Epileptiques

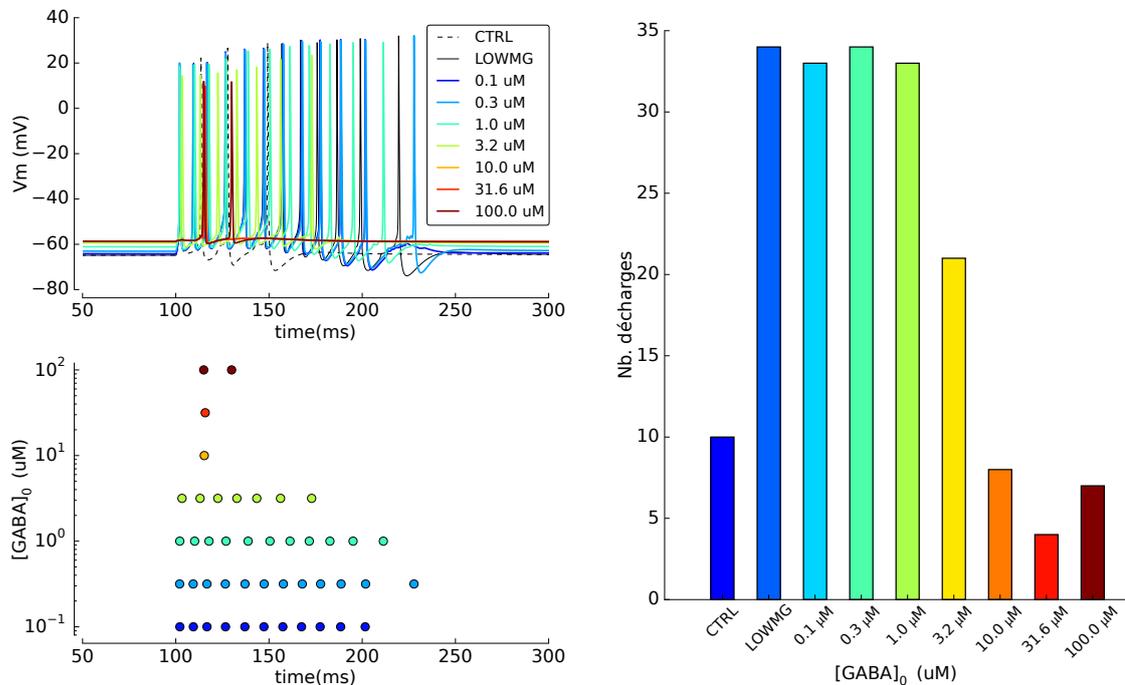
**Figure E.1** – Classification des crises épileptiques retenue par l'ILAE, d'après Berg *et al.* (2010).



**Figure E.2** – Rôle du potassium extracellulaire dans les crises épileptiques, d'après McCormick et Contreras (2001).

## E.1 Effets de la tiagabine en configuration *Low-Mg*

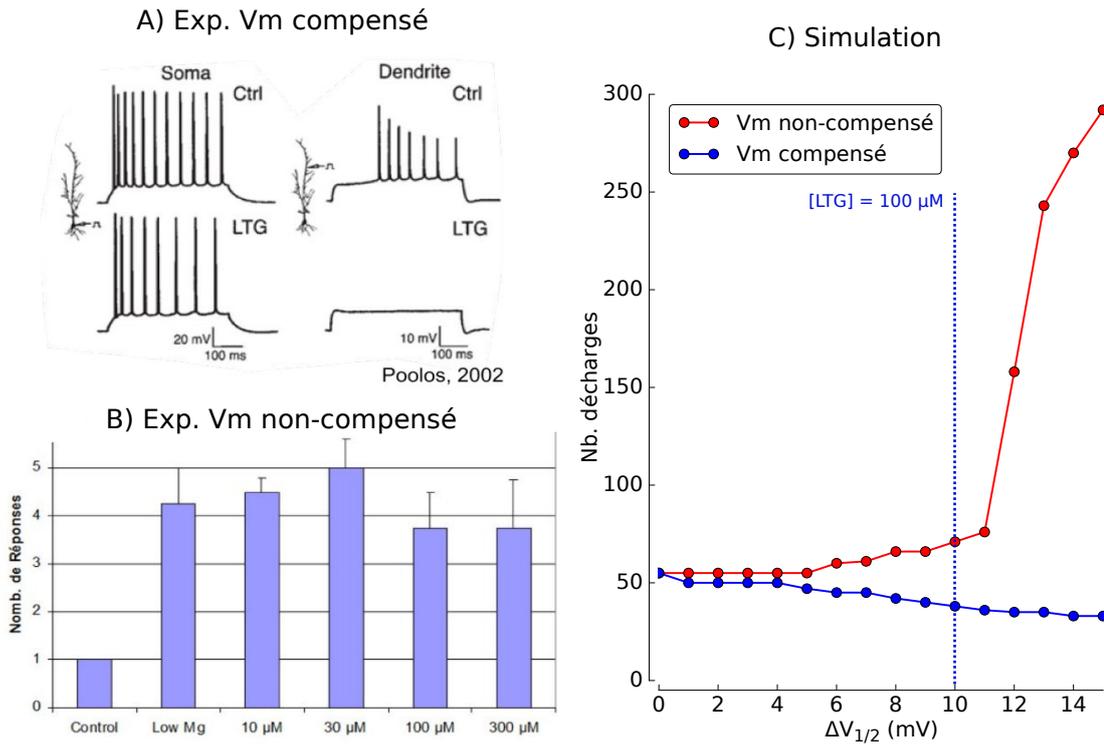
La tiagabine est un inhibiteur de la recapture du GABA dans les synapses inhibitrices. En utilisant le modèle de transporteur de GABA (GAT)-1, j'ai évalué l'effet d'une diminution de son activité, jusqu'à son inhibition totale, sans observer d'effet notable sur les PDS, tendant à montrer qu'une simple augmentation du courant inhibiteur est insuffisante pour contrer les dépolarisations NMDA-dépendantes de cette configuration. Nous avons ensuite étudié une deuxième hypothèse, selon laquelle une accumulation du neurotransmetteurs dans la fente synaptique s'établirait suite à des stimulations répétées. Dans ces conditions, nous n'avons pas non plus observé d'effet antiépileptique, suggérant qu'un effet local sur la recapture du GABA n'est pas suffisant pour diminuer l'excitabilité. Il est intéressant de noter que les tests menés *in vitro* ont révélé une augmentation du nombre de post-décharges au sein des PDS. Bien que difficile à expliquer, on peut supposer que les fortes stimulations utilisées pour induire les décharges épuisent rapidement les synapses inhibitrices, effet éventuellement augmenté par l'inhibition de la recapture du GABA. Afin d'étayer notre résultat, nous avons ensuite testé l'effet d'une augmentation de la concentration de base du GABA sur l'ensemble des post-synapses GABA du neurone (et pas seulement celles activées dans le circuit). Ce test a révélé cette fois l'effet antiépileptique classiquement obtenu (Figure E.3). Cette étude de la tiagabine a donc mené au test de 3 hypothèses qui révèlent une différence importante entre les modèles expérimentaux, en fournissant des indices fonctionnels.



**Figure E.3** – Effet antiexcitateur simulé de la tiagabine (inhibiteur de la recapture de GABA) en configuration *Low-Mg*. L'augmentation de la concentration de base de GABA ( $[GABA]_0$ ) réduit la durée des PDS (gauche), et diminue le nombre total des décharges (droite).

## E.2 Effets de la lamotrigine en configuration *Low-Mg*

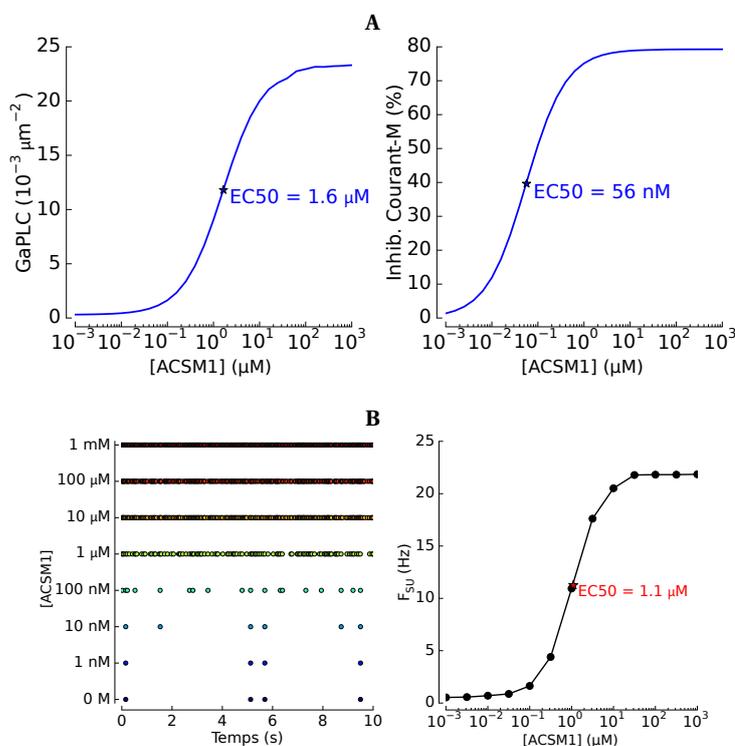
La lamotrigine est un MAE aux cibles multiples, incluant les canaux sodiques voltage-dépendant ( $I_{Na}$ ) et les canaux HCN responsables du courant-H ( $I_H$ ). S'en référant à Poolos *et al.* (2002) et Poolos (2005), nous avons implémenté cette cible et modélisé l'effet de ce composé. Comme développé dans le chapitre 4,  $I_H$  est un courant mixte potassique et sodique, dépolarisant au potentiel de repos et ne se désactivant pas. Son rôle serait de stabiliser le neurone autour de son potentiel de membrane et d'en diminuer l'excitabilité. L'effet de la lamotrigine sur cette cible, relativement mal décrit dans la littérature, serait une augmentation du potentiel de demi-activation du canal ( $V_{1/2}$ ), conduisant à une augmentation de son activité hyperpolarisante pendant la dépolarisation prolongée des dendrites lors des PDS. N'ayant pas accès à une caractéristique liant la concentration de lamotrigine au décalage de  $V_{1/2}$ , nous avons utilisé directement cette variable, en testant différentes valeurs à proximité du point de référence publié ( $\Delta V_{1/2} = +10$  mV pour  $[LTG] = 100 \mu\text{M}$ ). Les variations de ce paramètre ( $V_{1/2}$  des canaux HCN) ont révélé par la simulation l'ambivalence de l'effet de ce courant rapporté dans la littérature comme à la fois pro- et anti- excitateur, dépendamment des conditions d'études. Au repos, la lamotrigine amplifie le courant tonique dépolarisant  $I_H$  dans les dendrites, augmentant le potentiel de repos pour un effet globalement pro-excitateur. Dans l'étude de Poolos *et al.* (2002), ce décalage du potentiel de repos est compensé, et maintenu constant par une injection de courant, et les simulations confirment que cette manipulation permet d'en révéler l'effet anti-excitateur (Figure E.4A,C). En revanche, les expérimentations du programme n'intégrant pas cette compensation du potentiel dendritique, les différentes concentrations de lamotrigine appliquées n'ont pas révélé d'effet significatif (Figure E.4B), et les simulations dans ces conditions révèlent effectivement que l'effet pro-excitateur n'apparaît que pour des décalages de  $V_{1/2}$  supérieurs à + 12 mV (Figure E.4C).



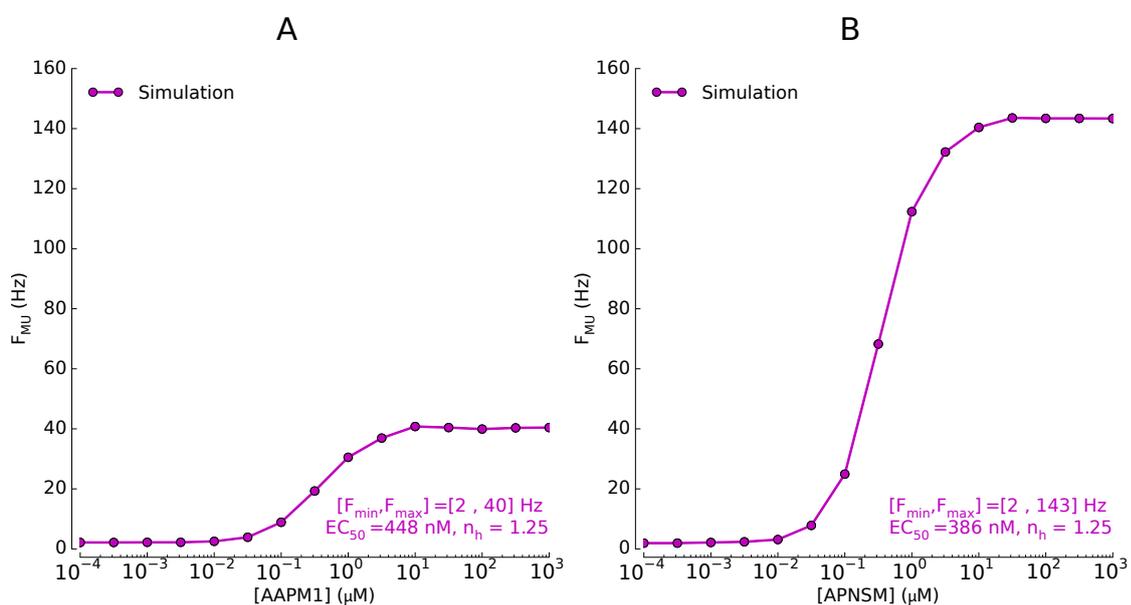
**Figure E.4** – Effets protocole-dépendant de la lamotrigine en configuration *Low-Mg*. **A** - Protocole de Poolos *et al.* (2002), incluant une compensation de la dépolarisation dendritique tonique de la lamotrigine et révélant un effet anti-excitateur. **B** - Dans le protocole expérimental de l'IGF, la lamotrigine n'a pas d'effet notable. **C** - Le modèle confirme l'effet anti-excitateur obtenu avec compensation du potentiel (courbe bleue, Vm compensé), et un effet pro-excitateur sans compensation (courbe rouge, Vm non-compensé). L'effet de la lamotrigine est exprimé par son effet sur le décalage du potentiel de demi-activation du courant  $I_H$  ( $V_{1/2}$ ), autour du point de référence obtenu par Poolos *et al.* (2002) pour  $[LTG] = 100 \mu M$  (tirets bleus).



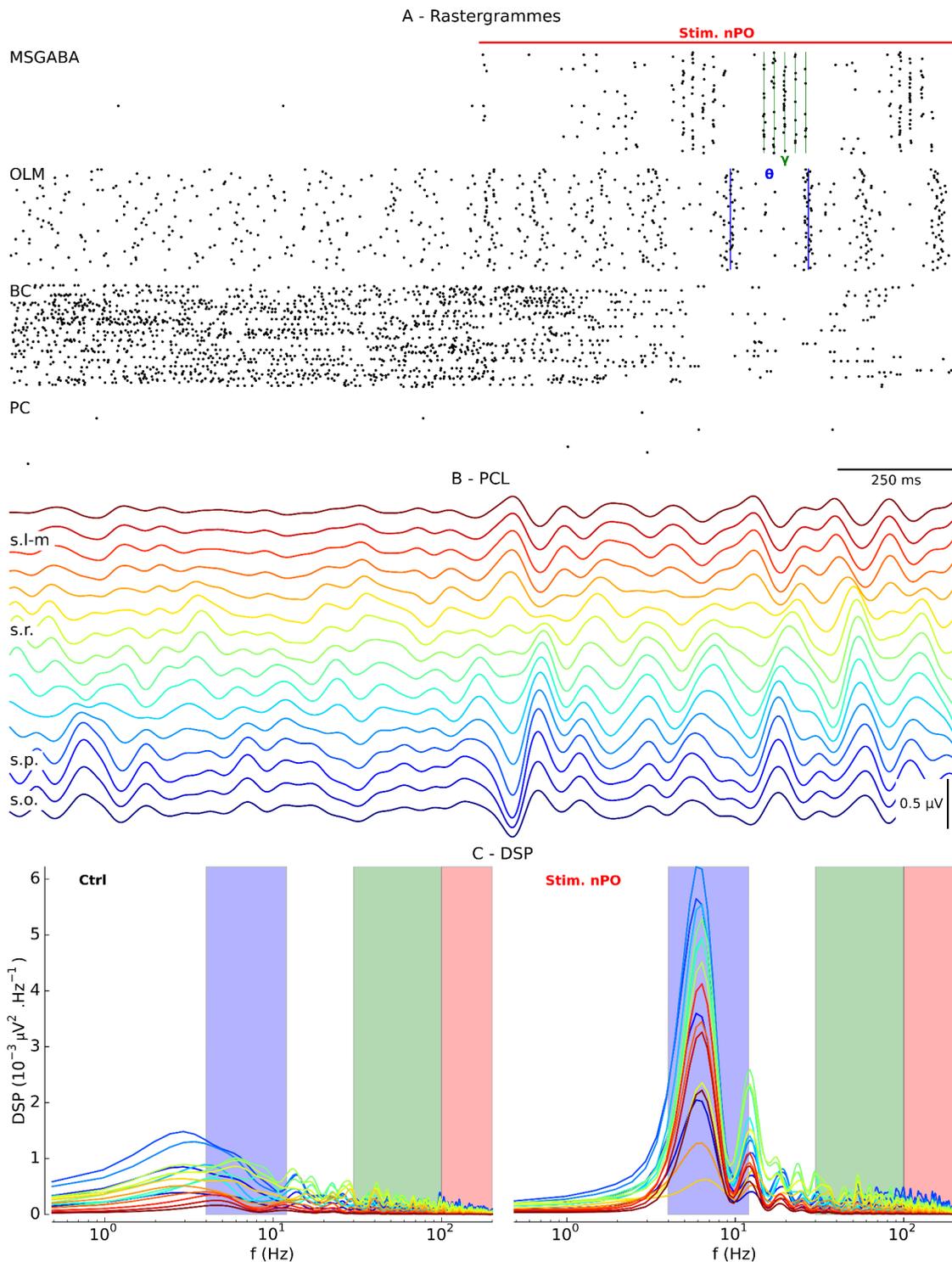
## Suppléments du chapitre 7



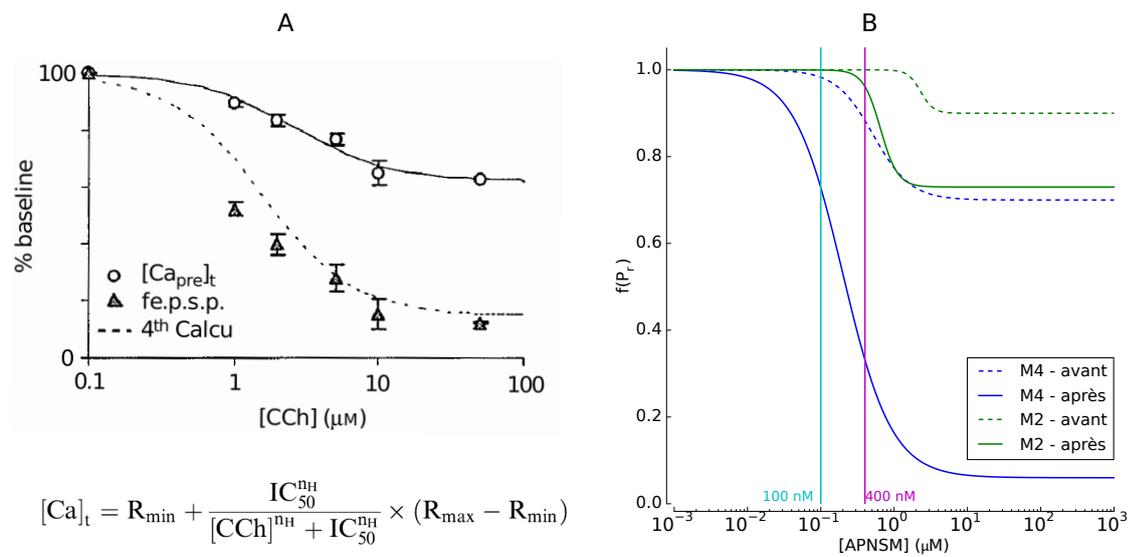
**Figure E.1** – Validation de l’effet et réponse d’une PC unique à des doses croissantes de ACSM1. **A** - L’ajustement des paramètres du composé est effectué par la simulation de l’activation des voies de signalisation du M1r et par la mesure des quantités correspondant à des observables expérimentales. Différentes simulations consistant en l’application d’une concentration constante du composé permettent de construire les courbes DR pour l’observable GaPLC (gauche) et la fraction d’inhibition du courant  $I_M$  (droite). **B** - Simulation de l’effet de différentes doses du composé sur l’activité d’une PC. Des entrées glutamatergiques sont appliquées à des dates aléatoires et à une fréquence moyenne de 1 Hz ( $T_{\text{stim}} = (t_1, t_2, \dots, t_N) = \mathcal{U}(0, T_{\text{simulation}})$ ). Gauche : Rastergramme représentant les PA de la PC en fonction du temps pour différentes concentrations de ACSM1. Droite : le nombre de PA est rapporté à une fréquence moyenne  $F_{\text{SU}}$ , pour différentes concentrations d’ACSM1, permettant d’établir sa DR.



**Figure E2** – DR simulées des AMU pour les composés AAPM1 et APNSM, qui sont les composés simulés en aveugle dans l’application du chapitre 7.



**Figure E3** – Oscillations thêta simulées par l’excitation des cellules GABAergiques du SM et des O-LM. **A** - Rastergrammes des différentes populations neuronales du modèle, où la stimulation du nPO est appliquée après 5 s. Les lignes verticales illustrent les décharges groupées au rythme gamma (vert, écart entre chaque ligne  $\Delta t = 20$  ms) et thêta (bleu, écart entre chaque ligne  $\Delta t = 162$  ms). **B** - PCL enregistrés par les différents canaux de l’électrode linéaire virtuelle, après filtrage passe-bande sur [2;15] Hz, permettant d’observer les oscillations thêta. **C** - DSP des signaux des différents canaux (couleurs correspondant à B), sur les plages [0;5] s (Ctrl, gauche) et [5;10] s (Stim. nPO, droite), calculées par la méthode de Welch ( $F_e = 8$  kHz;  $N_{\text{FFT}} = 2^{14}$ ;  $N_{\text{seg}} = 2^{12}$ ).



**Figure E4** – Révision du modèle de l'action d'APNSM sur M2r et M4r pour la configuration *in vivo*. **A** - DR de l'action du CCh sur la concentration de calcium présynaptique des synapses CS-PC de CA1 ([Ca]<sub>pre,t</sub>), et sur l'amplitude des PPSE extracellulaires (fe.p.s.p.). La courbe continue correspond à la fonction de Hill [Ca]<sub>t</sub>, et la courbe discontinue correspond à [Ca]<sub>t</sub><sup>4</sup>, se rapprochant de la réponse de l'observable fe.p.s.p.. D'après Qian et Saggau (1997) (Figure 3). **B** - DR de la fonction de modulation de la probabilité d'exocytose correspondant à l'action d'APNSM sur M2r (vert) et M4r (bleu). Les courbes discontinues correspondent aux paramétrages avant révision, dérivés de l'observable [Ca]<sub>pre,t</sub> pour le composé APNSM en (A), et les courbes continues correspondent aux paramétrages après révision, dérivés de l'observable fe.p.s.p en (A). Les lignes verticales cyan et magenta indiquent les deux concentrations utilisées dans l'application du chapitre 7.

## Bibliographie

- ADESNIK, H., NICOLL, R. A. et ENGLAND, P. M. (2005). Photoinactivation of native AMPA receptors reveals their real-time trafficking. *Neuron*, 48(6):977–985.
- AKASOFU, S., KIMURA, M., KOSASA, T., SAWADA, K. et OGURA, H. (2008). Study of neuroprotection of donepezil, a therapy for alzheimer's disease. *Chem Biol Interact*, 175(1-3):222–226.
- ALLAM, S. L., GHADERI, V. S., BOUTEILLER, J.-M. C., LEGENDRE, A., AMBERT, N., GREGET, R., BISCHOFF, S., BAUDRY, M. et BERGER, T. W. (2012). A computational model to investigate astrocytic glutamate uptake influence on synaptic transmission and neuronal spiking. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 6:70.
- ALLERHEILIGEN, S. R. B. (2010). Next-generation model-based drug discovery and development : quantitative and systems pharmacology. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 88(1):135–137.
- ALREJA, M., WU, M., LIU, W., ATKINS, J. B., LERANTH, C. et SHANABROUGH, M. (2000). Muscarinic tone sustains impulse flow in the septohippocampal GABA but not cholinergic pathway : Implications for learning and memory. *The Journal of Neuroscience*, 20(21):8103–8110.
- AMARAL, D. et WITTER, M. P. (1995). Hippocampal formation. *In The Rat Nervous System*. Academic Press.
- AMBERT, N., GREGET, R., HAEBERLÉ, O., BISCHOFF, S., BERGER, T. W., BOUTEILLER, J.-M. et BAUDRY, M. (2010). Computational studies of NMDA receptors : differential effects of neuronal activity on efficacy of competitive and non-competitive antagonists. *Open access bioinformatics*, 2:113–125.
- ANDERSEN, P., BLISS, T. V. P. et SKREDE, K. K. (1971). Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Experimental Brain Research*, 13(2):222–238.
- ANDERSEN, P., SUNDBERG, S. H., SVEEN, O. et WIGSTRÖM, H. (1977). Specific long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices. *Nature*, 266(5604):736–737.
- ANDRASFALVY, B. K. et MAGEE, J. C. (2001). Distance-dependent increase in AMPA receptor number in the dendrites of adult hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci*, 21(23):9151–9159.
- ANDRÁSFALVY, B. K. et MODY, I. (2006). Differences between the scaling of miniature IPSCs and EPSCs recorded in the dendrites of CA1 mouse pyramidal neurons. *The Journal of Physiology*, 576(1):191–196.
- ARAI, A. C., KESSLER, M., ROGERS, G. et LYNCH, G. (2000). Effects of the potent ampakine CX614 on hippocampal and recombinant AMPA receptors : Interactions with cyclothiazide and GYKI 52466. *Molecular Pharmacology*, 58(4):802–813.
- ARENDRT, T., BIGL, V., ARENDRT, A. et TENNSTEDT, A. (1983). Loss of neurons in the nucleus basalis of meynert in alzheimer's disease, paralysis agitans and korsakoff's disease. *Acta Neuropathologica*, 61(2):101–108.
- ARRIGONI, E. et GREENE, R. W. (2004). Schaffer collateral and perforant path inputs activate different subtypes of NMDA receptors on the same CA1 pyramidal cell. *British Journal of Pharmacology*, 142(2):317–322.

## Bibliographie

---

- ARZIMANOGLU, A., BEN-MENACHEM, E., CRAMER, J., GLAUSER, T., SEERUTHUN, R. et HARRISON, M. (2010). The evolution of antiepileptic drug development and regulation. *Epileptic Disorders : International Epilepsy Journal with Videotape*, 12(1):3–15.
- ATTREE, O., OLIVOS, I. M., OKABE, I., BAILEY, L. C., NELSON, D. L., LEWIS, R. A., MCINNES, R. R. et NUSSBAUM, R. L. (1992). The lowe's oculocerebrorenal syndrome gene encodes a protein highly homologous to inositol polyphosphate-5-phosphatase. *Nature*, 358(6383):239–242.
- AUBANEL, E. (2011). Scheduling of tasks in the parareal algorithm. *Parallel Comput.*, 37(3):172–182.
- AUERBACH, J. M. et SEGAL, M. (1994). A novel cholinergic induction of long-term potentiation in rat hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 72(4):2034–2040.
- AUERBACH, J. M. et SEGAL, M. (1996). Muscarinic receptors mediating depression and long-term potentiation in rat hippocampus. *The Journal of Physiology*, 492 ( Pt 2):479–493.
- AVOLI, M., D'ANTUONO, M., LOUVEL, J., KÖHLING, R., BIAGINI, G., PUMAIN, R., D'ARCANGELO, G. et TANCREDI, V. (2002). Network and pharmacological mechanisms leading to epileptiform synchronization in the limbic system in vitro. *Progress in Neurobiology*, 68(3):167–207.
- AVOLI, M., DRAPEAU, C., LOUVEL, J., PUMAIN, R., OLIVIER, A. et VILLEMURE, J. G. (1991). Epileptiform activity induced by low extracellular magnesium in the human cortex maintained in vitro. *Annals of Neurology*, 30(4):589–596.
- AYALA, G. F., MATSUMOTO, H. et GUMNIT, R. J. (1970). Excitability changes and inhibitory mechanisms in neocortical neurons during seizures. *Journal of Neurophysiology*, 33(1):73–85.
- BADING, H. et GREENBERG, M. E. (1991). Stimulation of protein tyrosine phosphorylation by NMDA receptor activation. *Science (New York, N.Y.)*, 253(5022):912–914.
- BANKER, G., CHURCHILL, L. et COTMAN, C. W. (1974). Proteins of the postsynaptic density. *The Journal of Cell Biology*, 63(2 Pt 1):456–465.
- BANNISTER, N. J. et LARKMAN, A. U. (1995). Dendritic morphology of CA1 pyramidal neurones from the rat hippocampus : II. spine distributions. *The Journal of Comparative Neurology*, 360(1):161–171.
- BARBAROSIE, M., LOUVEL, J., D'ANTUONO, M., KURCEWICZ, I. et AVOLI, M. (2002). Masking synchronous GABA-mediated potentials controls limbic seizures. *Epilepsia*, 43(12):1469–1479.
- BARBOUR, B., KELLER, B. U., LLANO, I. et MARTY, A. (1994). Prolonged presence of glutamate during excitatory synaptic transmission to cerebellar purkinje cells. *Neuron*, 12(6):1331–1343.
- BARRIA, A., DERKACH, V. et SODERLING, T. (1997a). Identification of the ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II regulatory phosphorylation site in the alpha-amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionate-type glutamate receptor. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(52):32727–32730.
- BARRIA, A., MULLER, D., DERKACH, V., GRIFFITH, L. C. et SODERLING, T. R. (1997b). Regulatory phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by CaM-KII during long-term potentiation. *Science (New York, N.Y.)*, 276(5321):2042–2045.
- BARTOS, M., VIDA, I., FROTSCHER, M., MEYER, A., MONYER, H., GEIGER, J. R. P. et JONAS, P. (2002). Fast synaptic inhibition promotes synchronized gamma oscillations in hippocampal interneuron networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(20):13222–13227.
- BARTOS, M., VIDA, I. et JONAS, P. (2007). Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. *Nature Reviews. Neuroscience*, 8(1):45–56.
- BAUDRY, M., CHOU, M. M. et BI, X. (2013). Targeting calpain in synaptic plasticity. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 17(5):579–592.
- BAUDRY, M., KRAMAR, E., XU, X., ZADRAN, H., MORENO, S., LYNCH, G., GALL, C. et BI, X. (2012). Ampa-kinases promote spine actin polymerization, long-term potentiation, and learning in a mouse model of angelman syndrome. *Neurobiology of Disease*, (0).

- BAUDRY, M. et LYNCH, G. (2001). Remembrance of arguments past : how well is the glutamate receptor hypothesis of LTP holding up after 20 years? *Neurobiology of Learning and Memory*, 76(3):284–297.
- BEAR, M. F., CONNORS, B. W. et PARADISO, M. A. (2007). *Neurosciences à la découverte du cerveau*. Pradel Editions.
- BEDEZ, M., BELHACHMI, Z., HAEBERLÉ, O., MOUSSAOUI, S., BOUTEILLER, J.-M. et BISCHOFF, S. (2015). A fully parallel in time and space algorithm for simulating the electrical activity of a neural tissue.
- BEHRENDTS, J. C. et ten BRUGGENCATE, G. (1993). Cholinergic modulation of synaptic inhibition in the guinea pig hippocampus in vitro : excitation of GABAergic interneurons and inhibition of GABA-release. *Journal of Neurophysiology*, 69(2):626–629.
- BELL, B., LIN, J. J., SEIDENBERG, M. et HERMANN, B. (2011). The neurobiology of cognitive disorders in temporal lobe epilepsy. *Nature Reviews. Neurology*, 7(3):154–164.
- BELL, L. A., BELL, K. A. et MCQUISTON, A. R. (2013). Synaptic muscarinic response types in hippocampal CA1 interneurons depend on different levels of presynaptic activity and different muscarinic receptor subtypes. *Neuropharmacology*, 73:160–173.
- BEN-ARI, Y., GAIARSA, J.-L., TYZIO, R. et KHAZIPOV, R. (2007). GABA : a pioneer transmitter that excites immature neurons and generates primitive oscillations. *Physiological Reviews*, 87(4):1215–1284.
- BEN-ARI, Y., KHALILOV, I., KAHLE, K. T. et CHERUBINI, E. (2012). The GABA excitatory/inhibitory shift in brain maturation and neurological disorders. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*, 18(5):467–486.
- BENNANI, Y. L. (2012). Drug discovery in the next decade : innovation needed ASAP. *Drug Discovery Today*, 17 Suppl:S31–44.
- BENNER, P. et FASSBENDER, H. (2013). Model order reduction : Techniques and tools. In BAILLIEUL, J. et SAMAD, T., éditeurs : *Encyclopedia of Systems and Control*, pages 1–10. Springer London.
- BENNETT, M. R., FARNELL, L. et GIBSON, W. G. (2000a). The probability of quantal secretion near a single calcium channel of an active zone. *Biophysical journal*, 78(5):2201–2221.
- BENNETT, M. R., FARNELL, L. et GIBSON, W. G. (2000b). The probability of quantal secretion within an array of calcium channels of an active zone. *Biophysical journal*, 78(5):2222–2240.
- BENVENISTE, M. et MAYER, M. L. (1991). Structure-activity analysis of binding kinetics for NMDA receptor competitive antagonists : the influence of conformational restriction. *British Journal of Pharmacology*, 104(1):207–221.
- BERG, A. T., BERKOVIC, S. F., BRODIE, M. J., BUCHHALTER, J., CROSS, J. H., VAN EMDE BOAS, W., ENGEL, J., FRENCH, J., GLAUSER, T. A., MATHERN, G. W., MOSHÉ, S. L., NORDLI, D., PLOUIN, P. et SCHEFFER, I. E. (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies : Report of the ILAE commission on classification and terminology, 2005–2009. *Epilepsia*, 51(4):676–685.
- BERGER, T., SONG, D., CHAN, R. et MARMARELIS, V. (2010). The neurobiological basis of cognition : Identification by multi-input, multioutput nonlinear dynamic modeling. *Proceedings of the IEEE*, 98(3):356–374.
- BERKELEY, J. L., GOMEZA, J., WESS, J., HAMILTON, S. E., NATHANSON, N. M. et LEVEY, A. I. (2001). M1 muscarinic acetylcholine receptors activate extracellular signal-regulated kinase in CA1 pyramidal neurons in mouse hippocampal slices. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 18(5):512–524.
- BERMAN, D. E., DALL'ARMI, C., VORONOV, S. V., MCINTIRE, L. B. J., ZHANG, H., MOORE, A. Z., STANISZEWSKI, A., ARANCIO, O., KIM, T.-W. et DI PAOLO, G. (2008). Oligomeric amyloid-beta peptide disrupts phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate metabolism. *Nature Neuroscience*, 11(5):547–554.
- BERNARD, C. (2012). Alterations in synaptic function in epilepsy. In NOEBELS, J. L., AVOLI, M., ROGAWSKI, M. A., OLSEN, R. W. et DELGADO-ESCUETA, A. V., éditeurs : *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*. National Center for Biotechnology Information (US), Bethesda (MD), 4th édition.

## Bibliographie

---

- BERNARD, C., COSSART, R., HIRSCH, J. C., ESCLAPEZ, M. et BEN-ARI, Y. (2000). What is GABAergic inhibition? how is it modified in epilepsy? *Epilepsia*, 41 Suppl 6:S90–95.
- BETTLER, B., KAUPMANN, K., MOSBACHER, J. et GASSMANN, M. (2004). Molecular structure and physiological functions of GABAB receptors. *Physiological Reviews*, 84(3):835–867.
- BEZAIRE, M. J. et SOLTESZ, I. (2013). Quantitative assessment of CA1 local circuits : Knowledge base for interneuron-pyramidal cell connectivity. *Hippocampus*.
- BIANCHI, D., MARASCO, A., LIMONGIELLO, A., MARCHETTI, C., MARIE, H., TIROZZI, B. et MIGLIORE, M. (2012). On the mechanisms underlying the depolarization block in the spiking dynamics of CA1 pyramidal neurons. *Journal of Computational Neuroscience*.
- BIERTVET, C., SCHROEDER, B. C., KUBISCH, C., BERKOVIC, S. F., PROPPING, P., JENTSCH, T. J. et STEINLEIN, O. K. (1998). A potassium channel mutation in neonatal human epilepsy. *Science (New York, N.Y.)*, 279(5349):403–406.
- BIRDSALL, N. J., BURGEN, A. S. et HULME, E. C. (1978). The binding of agonists to brain muscarinic receptors. *Molecular pharmacology*, 14(5):723–736.
- BISCHOFF, S., LEONHARD, S., REYMANN, N., SCHULER, V., SHIGEMOTO, R., KAUPMANN, K. et BETTLER, B. (1999). Spatial distribution of GABA(b)r1 receptor mRNA and binding sites in the rat brain. *The Journal of Comparative Neurology*, 412(1):1–16.
- BLAESSE, P., AIRAKSINEN, M. S., RIVERA, C. et KAILA, K. (2009). Cation-chloride cotransporters and neuronal function. *Neuron*, 61(6):820–838.
- BLISS, T. V. et COLLINGRIDGE, G. L. (1993). A synaptic model of memory : long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361(6407):31–39.
- BLISS, T. V. et COLLINGRIDGE, G. L. (2013). Expression of NMDA receptor-dependent LTP in the hippocampus : bridging the divide. *Molecular Brain*, 6:5.
- BLISS, T. V. P. et LØMO, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2):331–356.
- BLOKLAND, A. (1995). Acetylcholine : a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Research. Brain Research Reviews*, 21(3):285–300.
- BLOODGOOD, B. L. et SABATINI, B. L. (2005). Neuronal activity regulates diffusion across the neck of dendritic spines. *Science (New York, N.Y.)*, 310(5749):866–869.
- BORHEGYI, Z. et FREUND, T. F. (1998). Dual projection from the medial septum to the supramammillary nucleus in the rat. *Brain Research Bulletin*, 46(5):453–459.
- BORNSTEIN, B. J., KEATING, S. M., JOURAKU, A. et HUCKA, M. (2008). LibSBML : An API library for SBML. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 24(6):880–881.
- BOSHART, M., WEIH, F., NICHOLS, M. et SCHÜTZ, G. (1991). The tissue-specific extinguisher locus TSE1 encodes a regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinase. *Cell*, 66(5):849–859.
- BOURNE, J. N. et HARRIS, K. M. (2008). Balancing structure and function at hippocampal dendritic spines. *Annual Review of Neuroscience*, 31:47–67.
- BOUTEILLER, J.-M. C., QIU, Y., ZIANE, M. B., BAUDRY, M. et BERGER, T. W. (2006). EONS : an online synaptic modeling platform. *Conference proceedings : ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference*, 1:4155–4158.
- BRADY, L. S., WINSKY, L., GOODMAN, W., OLIVERI, M. E. et STOVER, E. (2009). NIMH initiatives to facilitate collaborations among industry, academia, and government for the discovery and clinical testing of novel models and drugs for psychiatric disorders. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(1):229–243.

- BRAGIN, A., JANDÓ, G., NÁDASDY, Z., HETKE, J., WISE, K. et BUZSÁKI, G. (1995). Gamma (40-100 Hz) oscillation in the hippocampus of the behaving rat. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 15(1 Pt 1):47–60.
- BRESSAND, K., ROUCARD, C. et DEPAULIS, A. (2009). La souris MTLE : un modèle validé pour l'évaluation de molécules anti-épileptiques pour le traitement de l'épilepsie mésiotemporale. *Epilepsies*, 21(2): 184–192.
- BRETTE, R. et DESTEXHE, A. (2012). *Handbook of Neural Activity Measurement*. Cambridge University Press.
- BRIERE, C. (2013). Introduction à l'électro-encéphalographie (EEG).
- BROOKS-KAYAL, A. (2010). Epilepsy and autism spectrum disorders : are there common developmental mechanisms? *Brain & Development*, 32(9):731–738.
- BROWN, D. A. et ADAMS, P. R. (1980). Muscarinic suppression of a novel voltage-sensitive  $K^+$  current in a vertebrate neurone. *Nature*, 283(5748):673–676.
- BUCKMASTER, P. S. et DUDEK, F. E. (1997). Neuron loss, granule cell axon reorganization, and functional changes in the dentate gyrus of epileptic kainate-treated rats. *The Journal of Comparative Neurology*, 385(3):385–404.
- BUCURENCIU, I., KULIK, A., SCHWALLER, B., FROTSCHER, M. et JONAS, P. (2008). Nanodomain coupling between  $Ca^{2+}$  channels and  $Ca^{2+}$  sensors promotes fast and efficient transmitter release at a cortical GABAergic synapse. *Neuron*, 57(4):536–545.
- BUDZIK, B., GARZYA, V., SHI, D., FOLEY, J. J., RIVERO, R. A., LANGMEAD, C. J., WATSON, J., WU, Z., FORBES, I. T. et JIN, J. (2010). 2' biaryl amides as novel and subtype selective m1 agonists. part i : Identification, synthesis, and initial SAR. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(12):3540–3544.
- BUHL, E. H., COBB, S. R., HALASY, K. et SOMOGYI, P. (1995). Properties of unitary IPSPs evoked by anatomically identified basket cells in the rat hippocampus. *The European Journal of Neuroscience*, 7(9):1989–2004.
- BUHL, E. H., HALASY, K. et SOMOGYI, P. (1994a). Diverse sources of hippocampal unitary inhibitory postsynaptic potentials and the number of synaptic release sites. *Nature*, 368(6474):823–828.
- BUHL, E. H., HAN, Z. S., LÖRINCZI, Z., STEZHKA, V. V., KARNUP, S. V. et SOMOGYI, P. (1994b). Physiological properties of anatomically identified axo-axonic cells in the rat hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 71(4):1289–1307.
- BUHRY, L. (2010). *Estimation de paramètres de modèles de neurones biologiques sur une plate-forme de SNN (Spiking Neural Network) implantés "insilico"*. Thèse de doctorat.
- BUTCHER, J. C. (1996). A history of runge-kutta methods. *Applied Numerical Mathematics - APPL NUMER MATH*, 20(3):247–260.
- BUZSÁKI, G. (1989). Two-stage model of memory trace formation : a role for "noisy" brain states. *Neuroscience*, 31(3):551–570.
- BUZSÁKI, G. (2002). Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, 33(3):325–340.
- BUZSAKI, G. (2006). *Rhythms of the Brain*. Oxford University Press.
- BUZSÁKI, G., LEUNG, L. W. et VANDERWOLF, C. H. (1983). Cellular bases of hippocampal EEG in the behaving rat. *Brain Research*, 287(2):139–171.
- BUZSÁKI, G. et WANG, X.-J. (2012). Mechanisms of gamma oscillations. *Annual review of neuroscience*, 35:203–225.
- CAI, X., YANG, L., ZHOU, J., ZHU, D., GUO, Q., CHEN, Z., CHEN, S. et ZHOU, L. (2013). Anomalous expression of chloride transporters in the sclerosed hippocampus of mesial temporal lobe epilepsy patients. *Neural Regeneration Research*, 8(6):561–568.
- CAMMAROTA, M., BERNABEU, R., LEVI DE STEIN, M., IZQUIERDO, I. et MEDINA, J. H. (1998). Learning-specific, time-dependent increases in hippocampal  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase

## Bibliographie

---

- II activity and AMPA GluR1 subunit immunoreactivity. *The European Journal of Neuroscience*, 10(8):2669–2676.
- CAMPANAC, E., GASSELIN, C., BAUDE, A., RAMA, S., ANKRI, N. et DEBANNE, D. (2013). Enhanced intrinsic excitability in basket cells maintains excitatory-inhibitory balance in hippocampal circuits. *Neuron*, 77(4):712–722.
- CAPOGNA, M. (2004). Distinct properties of presynaptic group II and III metabotropic glutamate receptor-mediated inhibition of perforant pathway-CA1 EPSCs. *The European Journal of Neuroscience*, 19(10):2847–2858.
- CARLISLE, H. J. et KENNEDY, M. B. (2005). Spine architecture and synaptic plasticity. *Trends in Neurosciences*, 28(4):182–187.
- CARNEVALE, N. T. et HINES, M. L. (2006). *The NEURON Book*. Cambridge University Press, Cambridge.
- CASE, M. et SOLTESZ, I. (2011). Computational modeling of epilepsy. *Epilepsia*, 52(Suppl 8):12–15.
- CASE, M. J., MORGAN, R. J., SCHNEIDER, C. J. et SOLTESZ, I. (2012). Computer modeling of epilepsy. In NOEBELS, J. L., AVOLI, M., ROGAWSKI, M. A., OLSEN, R. W. et DELGADO-ESCUETA, A. V., éditeurs : *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*. National Center for Biotechnology Information (US), Bethesda (MD), 4th édition.
- CASTELLANI, G. C., QUINLAN, E. M., BERSANI, F., COOPER, L. N. et SHOUVAL, H. Z. (2005). A model of bidirectional synaptic plasticity : From signaling network to channel conductance. *Learning & Memory*, 12(4):423–432.
- CASTELLANI, G. C., QUINLAN, E. M., COOPER, L. N. et SHOUVAL, H. Z. (2001). A biophysical model of bidirectional synaptic plasticity : Dependence on AMPA and NMDA receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(22):12772–12777.
- CASTELLANI, G. C. et ZIRONI, I. (2010). Biophysics-based models of LTP/LTD. In CUTSURIDIS, V., GRAHAM, B., COBB, S. et VIDA, I., éditeurs : *Hippocampal Microcircuits*, pages 555–570. Springer New York, New York, NY.
- CAULFIELD, M. P. et BIRDSALL, N. J. M. (1998). International union of pharmacology. XVII. classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacological Reviews*, 50(2):279–290.
- CAVARSAN, C. F., TESCAROLLO, F., TESONE-COELHO, C., MORAIS, R. L. T., MOTTA, F. L. T., BLANCO, M. M. et MELLO, L. E. (2012). Pilocarpine-induced status epilepticus increases homer1a and changes mGluR5 expression. *Epilepsy Research*, 101(3):253–260.
- CELLOT, G. et CHERUBINI, E. (2014). GABAergic signaling as therapeutic target for autism spectrum disorders. *Frontiers in Pediatrics*, 2:70.
- CHARLIER, C., SINGH, N. A., RYAN, S. G., LEWIS, T. B., REUS, B. E., LEACH, R. J. et LEPPERT, M. (1998). A pore mutation in a novel KQT-like potassium channel gene in an idiopathic epilepsy family. *Nature Genetics*, 18(1):53–55.
- CHAUVIÈRE, L. (2010). *Déficits cognitifs et altération de l'activité de réseau au cours de l'épileptogénèse dans un modèle expérimental d'épilepsie du lobe temporal*. Aix Marseille 2.
- CHEE, S.-S. A., MENARD, J. L. et DRINGENBERG, H. C. (2015). The lateral septum as a regulator of hippocampal theta oscillations and defensive behavior in rats. *Journal of Neurophysiology*, 113(6):1831–1841.
- CHEN, J. W. Y. et WASTERLAIN, C. G. (2006). Status epilepticus : pathophysiology and management in adults. *The Lancet. Neurology*, 5(3):246–256.
- CHERUBINI, E., GRIGUOLI, M., SAFIULINA, V. et LAGOSTENA, L. (2011). The depolarizing action of GABA controls early network activity in the developing hippocampus. *Molecular Neurobiology*, 43(2):97–106.
- CHROBAK, J. J., LÖRINCZ, A. et BUZSÁKI, G. (2000). Physiological patterns in the hippocampo-entorhinal cortex system. *Hippocampus*, 10(4):457–465.

- CLEMENTS, J. D., LESTER, R. A., TONG, G., JAHR, C. E. et WESTBROOK, G. L. (1992). The time course of glutamate in the synaptic cleft. *Science (New York, N.Y.)*, 258(5087):1498–1501.
- COBB, S. et LAWRENCE, J. J. (2010). Neuromodulation of hippocampal cells and circuits. In CUTSURIDIS, V., GRAHAM, B., COBB, S. et VIDA, I., éditeurs : *Hippocampal Microcircuits*, numéro 5 de Springer Series in Computational Neuroscience, pages 187–246. Springer New York.
- COBB, S. et VIDA, I. (2010). Neuronal activity patterns in anaesthetized animals. In CUTSURIDIS, V., GRAHAM, B., COBB, S. et VIDA, I., éditeurs : *Hippocampal Microcircuits*, numéro 5 de Springer Series in Computational Neuroscience, pages 277–291. Springer New York.
- COBB, S. R. et DAVIES, C. H. (2005). Cholinergic modulation of hippocampal cells and circuits. *The Journal of Physiology*, 562(Pt 1):81–88.
- COHEN, I., NAVARRO, V., CLEMENCEAU, S., BAULAC, M. et MILES, R. (2002). On the origin of interictal activity in human temporal lobe epilepsy in vitro. *Science*, 298:1418–21. 5597.
- COLE, A. E. et NICOLL, R. A. (1983). Acetylcholine mediates a slow synaptic potential in hippocampal pyramidal cells. *Science (New York, N.Y.)*, 221(4617):1299–1301.
- COLE, A. E. et NICOLL, R. A. (1984). Characterization of a slow cholinergic post-synaptic potential recorded in vitro from rat hippocampal pyramidal cells. *The Journal of Physiology*, 352:173–188.
- COLINO, A. et HALLIWELL, J. V. (1993). Carbachol potentiates q current and activates a calcium-dependent non-specific conductance in rat hippocampus in vitro. *The European Journal of Neuroscience*, 5(9):1198–1209.
- COLLINGRIDGE, G. (1987). Synaptic plasticity. the role of NMDA receptors in learning and memory. *Nature*, 330(6149):604–605.
- COLLINGRIDGE, G. L., KEHL, S. J. et MCLENNAN, H. (1983). Excitatory amino acids in synaptic transmission in the schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *The Journal of Physiology*, 334:33–46.
- CORTÉS, R. et PALACIOS, J. M. (1986). Muscarinic cholinergic receptor subtypes in the rat brain. i. quantitative autoradiographic studies. *Brain Research*, 362(2):227–238.
- CORTÉS, R., PROBST, A., TOBLER, H. J. et PALACIOS, J. M. (1986). Muscarinic cholinergic receptor subtypes in the human brain. II. quantitative autoradiographic studies. *Brain Research*, 362(2):239–253.
- COULL, J. A. M., BOUDREAU, D., BACHAND, K., PRESCOTT, S. A., NAULT, F., SÍK, A., DE KONINCK, P. et DE KONINCK, Y. (2003). Trans-synaptic shift in anion gradient in spinal lamina i neurons as a mechanism of neuropathic pain. *Nature*, 424(6951):938–942.
- COYLE, J. T., PRICE, D. L. et DELONG, M. R. (1983). Alzheimer's disease : a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science (New York, N.Y.)*, 219(4589):1184–1190.
- CULMONE, V. et MIGLIORE, M. (2012). Progressive effect of beta amyloid peptides accumulation on CA1 pyramidal neurons : a model study suggesting possible treatments. *Frontiers in computational neuroscience*, 6:52.
- CURTIS, D. R., PHILLIS, J. W. et WATKINS, J. C. (1960). The chemical excitation of spinal neurones by certain acidic amino acids. *The Journal of Physiology*, 150:656–682.
- CUTSURIDIS, V., COBB, S. et GRAHAM, B. P. (2010a). Encoding and retrieval in a model of the hippocampal CA1 microcircuit. *Hippocampus*, 20(3):423–446.
- CUTSURIDIS, V., GRAHAM, B., COBB, S. et VIDA, I., éditeurs (2010b). *Hippocampal Microcircuits : A Computational Modeler's Resource Book*. Springer, 1st edition. édition.
- CZUCZWAR, S. J., KAPLANSKI, J., SWIDERSKA-DZIEWIT, G., GERGONT, A., KROCZKA, S. et KACINSKI, M. (2009). Pharmacodynamic interactions between antiepileptic drugs : preclinical data based on isobolography. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 5:131–6. 2.
- DANYSZ, W. (2002). Positive modulators of AMPA receptors as a potential treatment for schizophrenia. *Current Opinion in Investigational Drugs (London, England : 2000)*, 3(7):1062–1066.

## Bibliographie

---

- DASARI, S. et GULLEDGE, A. T. (2011). M1 and m4 receptors modulate hippocampal pyramidal neurons. *Journal of neurophysiology*, 105(2):779–792.
- DAVIES, C. H., DAVIES, S. N. et COLLINGRIDGE, G. L. (1990). Paired-pulse depression of monosynaptic GABA-mediated inhibitory postsynaptic responses in rat hippocampus. *The Journal of Physiology*, 424:513–531.
- DAVIES, C. H., STARKEY, S. J., POZZA, M. F. et COLLINGRIDGE, G. L. (1991). GABA autoreceptors regulate the induction of LTP. *Nature*, 349(6310):609–611.
- DAYAN, P. (2005). *Theoretical Neuroscience : Computational And Mathematical Modeling of Neural Systems*. Massachusetts Institute of Technology Press.
- DE CURTIS, M. et AVANZINI, G. (2001). Interictal spikes in focal epileptogenesis. *Progress in Neurobiology*, 63(5):541–567.
- DE LANEROLLE, N. C., KIM, J. H., ROBBINS, R. J. et SPENCER, D. D. (1989). Hippocampal interneuron loss and plasticity in human temporal lobe epilepsy. *Brain Research*, 495(2):387–395.
- DE SCHUTTER, E., éditeur (2009). *Computational Modeling Methods for Neuroscientists*. The MIT Press.
- DEL CERRO, S., LARSON, J., OLIVER, M. W. et LYNCH, G. (1990). Development of hippocampal long-term potentiation is reduced by recently introduced calpain inhibitors. *Brain Research*, 530(1):91–95.
- DELMAS, P. et BROWN, D. A. (2005). Pathways modulating neural KCNQ/m (kv7) potassium channels. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(11):850–862.
- DELPIRE, E. et MOUNT, D. B. (2002). Human and murine phenotypes associated with defects in cation-chloride cotransport. *Annual Review of Physiology*, 64:803–843.
- DENHAM, M. J. et BORISYUK, R. M. (2000). A model of theta rhythm production in the septal-hippocampal system and its modulation by ascending brain stem pathways. *Hippocampus*, 10(6):698–716.
- DENNY, J. B., POLAN-CURTAIN, J., GHUMAN, A., WAYNER, M. J. et ARMSTRONG, D. L. (1990). Calpain inhibitors block long-term potentiation. *Brain Research*, 534(1-2):317–320.
- DERKACH, V., BARRIA, A. et SODERLING, T. R. (1999). Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(6):3269–3274.
- DESTEXHE, A., MAINEN, Z. F. et SEJNOWSKI, T. J. (1994). Synthesis of models for excitable membranes, synaptic transmission and neuromodulation using a common kinetic formalism. *Journal of Computational Neuroscience*, 1(3):195–230.
- D’HOOGHE, R., RAES, A., VAN BOGAERT, P. P., GEELHAND, M. et DE DEYN, P. P. (1997). Selective block of n-methyl-d-aspartic acid (NMDA)-evoked whole-cell currents in mouse cultured spinal neurones by CGP 40116. *British Journal of Pharmacology*, 120(2):211–214.
- DI PAOLO, G. et DE CAMILLI, P. (2006). Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. *Nature*, 443(7112):651–657.
- DIAMOND, J. S. et JAHR, C. E. (2000). Synaptically released glutamate does not overwhelm transporters on hippocampal astrocytes during high-frequency stimulation. *Journal of Neurophysiology*, 83(5):2835–2843.
- DINGLEDINE, R., BORGES, K., BOWIE, D. et TRAYNELIS, S. F. (1999). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological Reviews*, 51(1):7–62.
- DONG, X.-x., WANG, Y. et QIN, Z.-h. (2009). Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacologica Sinica*, 30(4):379–387.
- DOUGLAS, D. H. et PEUCKER, T. K. (1973). Algorithms for the reduction of the number of points required to represent a digitized line or its caricature. *Cartographica : The International Journal for Geographic Information and Geovisualization*, 10(2):112–122.

- DOYON, N., PRESCOTT, S. A., CASTONGUAY, A., GODIN, A. G., KRÖGER, H. et DE KONINCK, Y. (2011). Efficacy of synaptic inhibition depends on multiple, dynamically interacting mechanisms implicated in chloride homeostasis. *PLoS computational biology*, 7(9):e1002149.
- DREVER, B. D., RIEDEL, G. et PLATT, B. (2011). The cholinergic system and hippocampal plasticity. *Behavioural Brain Research*, 221(2):505–514.
- DREXEL, M., PUHAKKA, N., KIRCHMAIR, E., HÖRTNAGL, H., PITKÄNEN, A. et SPERK, G. (2015). Expression of GABA receptor subunits in the hippocampus and thalamus after experimental traumatic brain injury. *Neuropharmacology*, 88:122–133.
- DUDEK, S. M. et BEAR, M. F. (1992). Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of n-methyl-d-aspartate receptor blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(10):4363–4367.
- DUNLAP, K., LUEBKE, J. I. et TURNER, T. J. (1995). Exocytotic  $ca^{2+}$  channels in mammalian central neurons. *Trends in Neurosciences*, 18(2):89–98.
- DURAND, G. M., KOVALCHUK, Y. et KONNERTH, A. (1996). Long-term potentiation and functional synapse induction in developing hippocampus. *Nature*, 381(6577):71–75.
- DUTAR, P., BASSANT, M. H., SENUT, M. C. et LAMOUR, Y. (1995). The septohippocampal pathway : structure and function of a central cholinergic system. *Physiological Reviews*, 75(2):393–427.
- DUTAR, P. et NICOLL, R. A. (1988). Pre- and postsynaptic GABAB receptors in the hippocampus have different pharmacological properties. *Neuron*, 1(7):585–591.
- DVORAK-CARBONE, H. et SCHUMAN, E. M. (1999). Patterned activity in stratum lacunosum moleculare inhibits CA1 pyramidal neuron firing. *Journal of neurophysiology*, 82(6):3213–3222.
- DZHALA, V. I., KUCHIBHOTLA, K. V., GLYKYS, J. C., KAHLE, K. T., SWIERCZ, W. B., FENG, G., KUNER, T., AUGUSTINE, G. J., BACSKAI, B. J. et STALEY, K. J. (2010). Progressive NKCC1-dependent neuronal chloride accumulation during neonatal seizures. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(35):11745–11761.
- DZHALA, V. I., TALOS, D. M., SDRULLA, D. A., BRUMBACK, A. C., MATHEWS, G. C., BENKE, T. A., DELPIRE, E., JENSEN, F. E. et STALEY, K. J. (2005). NKCC1 transporter facilitates seizures in the developing brain. *Nature Medicine*, 11(11):1205–1213.
- EFTekhARI, S., MEHVARI HABIBABADI, J., NAJAFI ZIARANI, M., HASHEMI FESHARAKI, S. S., GHARAKHANI, M., MOSTAFAVI, H., JOGHATAEI, M. T., BELADIMOGHADAM, N., RAHIMIAN, E. et HADJIGHASSEM, M. R. (2013). Bumetanide reduces seizure frequency in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 54(1):e9–12.
- EGAWA, K. et FUKUDA, A. (2013). Pathophysiological power of improper tonic GABAA conductances in mature and immature models. *Frontiers in Neural Circuits*, 7.
- EHLERS, M. D. (2000). Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting. *Neuron*, 28(2):511–525.
- EICHENBAUM, H. (2010). Spatial and behavioral correlates of hippocampal neuronal activity : A primer for computational analysis. In CUTSURIDIS, V., GRAHAM, B., COBB, S. et VIDA, I., éditeurs : *Hippocampal Microcircuits*, numéro 5 de Springer Series in Computational Neuroscience, pages 293–312. Springer New York.
- EKSTROM, A. D., CAPLAN, J. B., HO, E., SHATTUCK, K., FRIED, I. et KAHANA, M. J. (2005). Human hippocampal theta activity during virtual navigation. *Hippocampus*, 15(7):881–889.
- EKSTROM, A. D., KAHANA, M. J., CAPLAN, J. B., FIELDS, T. A., ISHAM, E. A., NEWMAN, E. L. et FRIED, I. (2003). Cellular networks underlying human spatial navigation. *Nature*, 425(6954):184–188.
- ELFANT, D., PÁL, B. Z., EMPTAGE, N. et CAPOGNA, M. (2008). Specific inhibitory synapses shift the balance from feedforward to feedback inhibition of hippocampal CA1 pyramidal cells. *The European journal of neuroscience*, 27(1):104–113.

## Bibliographie

---

- EMPSON, R. M. et HEINEMANN, U. (1995). Perforant path connections to area CA1 are predominantly inhibitory in the rat hippocampal-entorhinal cortex combined slice preparation. *Hippocampus*, 5(2):104–107.
- ENGEL, J. (1996). Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research*, 26(1):141–150.
- ENGEL, J. (2001). Mesial temporal lobe epilepsy : what have we learned? *The Neuroscientist : A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, 7(4):340–352.
- ENGEL, J., WIEBE, S., FRENCH, J., SPERLING, M., WILLIAMSON, P., SPENCER, D., GUMNIT, R., ZAHN, C., WESTBROOK, E. et ENOS, B. (2003). Practice parameter : Temporal lobe and localized neocortical resections for epilepsy report of the quality standards subcommittee of the american academy of neurology, in association with the american epilepsy society and the american association of neurological surgeons. *Neurology*, 60(4):538–547.
- ENOKI, R., HU, Y.-L., HAMILTON, D. et FINE, A. (2009). Expression of long-term plasticity at individual synapses in hippocampus is graded, bidirectional, and mainly presynaptic : optical quantal analysis. *Neuron*, 62(2):242–253.
- ESCLAPEZ, M., HIRSCH, J. C., BEN-ARI, Y. et BERNARD, C. (1999). Newly formed excitatory pathways provide a substrate for hyperexcitability in experimental temporal lobe epilepsy. *The Journal of Comparative Neurology*, 408(4):449–460.
- FABIAN-FINE, R., SKEHEL, P., ERRINGTON, M. L., DAVIES, H. A., SHER, E., STEWART, M. G. et FINE, A. (2001). Ultrastructural distribution of the  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor subunit in rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 21(20):7993–8003.
- FADDA, F., MELIS, F. et STANCAMPIANO, R. (1996). Increased hippocampal acetylcholine release during a working memory task. *European Journal of Pharmacology*, 307(2):R1–2.
- FALKENBURGER, B. H., JENSEN, J. B. et HILLE, B. (2010a). Kinetics of m1 muscarinic receptor and g protein signaling to phospholipase c in living cells. *The Journal of General Physiology*, 135(2):81–97.
- FALKENBURGER, B. H., JENSEN, J. B. et HILLE, B. (2010b). Kinetics of PIP2 metabolism and KCNQ2/3 channel regulation studied with a voltage-sensitive phosphatase in living cells. *The Journal of General Physiology*, 135(2):99–114.
- FELLOUS, J. M. et SEJNOWSKI, T. J. (2000). Cholinergic induction of oscillations in the hippocampal slice in the slow (0.5–2 Hz), theta (5–12 Hz), and gamma (35–70 Hz) bands. *Hippocampus*, 10(2):187–197.
- FELLOUS, J. M., TIESINGA, P. H. E., JOSÉ, J. V. et SEJNOWSKI, T. J. (2001). Computational model of carbachol-induced delta, theta and gamma-like oscillations in hippocampus. *Neurocomputing*, 38–40:587–593.
- Fernández de SEVILLA, D., NÚÑEZ, A., BORDE, M., MALINOW, R. et BUÑO, W. (2008). Cholinergic-mediated IP3-receptor activation induces long-lasting synaptic enhancement in CA1 pyramidal neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 28(6):1469–1478.
- FIALA, J. C., SPACEK, J. et HARRIS, K. M. (2002). Dendritic spine pathology : cause or consequence of neurological disorders? *Brain Research. Brain Research Reviews*, 39(1):29–54.
- FINK, M. et NOBLE, D. (2009). Markov models for ion channels : versatility versus identifiability and speed. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367(1896):2161–2179.
- FISAHN, A., PIKE, F. G., BUHL, E. H. et PAULSEN, O. (1998). Cholinergic induction of network oscillations at 40 Hz in the hippocampus in vitro. *Nature*, 394(6689):186–189.
- FISAHN, A., YAMADA, M., DUTTARROY, A., GAN, J.-W., DENG, C.-X., MCBAIN, C. J. et WESS, J. (2002). Muscarinic induction of hippocampal gamma oscillations requires coupling of the m1 receptor to two mixed cation currents. *Neuron*, 33(4):615–624.

- FISHER, R. S., ACEVEDO, C., ARZIMANOGLU, A., BOGACZ, A., CROSS, J. H., ELGER, C. E., ENGEL, J., FORSGREN, L., FRENCH, J. A., GLYNN, M., HESDORFFER, D. C., LEE, B. I., MATHERN, G. W., MOSHÉ, S. L., PERUCCA, E., SCHEFFER, I. E., TOMSON, T., WATANABE, M. et WIEBE, S. (2014). ILAE official report : a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55(4):475–482.
- FONNUM, F. (1984). Glutamate : a neurotransmitter in mammalian brain. *Journal of Neurochemistry*, 42(1):1–11.
- FORTIN, D. A., DAVARE, M. A., SRIVASTAVA, T., BRADY, J. D., NYGAARD, S., DERKACH, V. A. et SODERLING, T. R. (2010). Long-term potentiation-dependent spine enlargement requires synaptic  $Ca^{2+}$ -permeable AMPA receptors recruited by CaM-kinase i. *The Journal of Neuroscience*, 30(35):11565–11575.
- FRAZIER, C. J., BUHLER, A. V., WEINER, J. L. et DUNWIDDIE, T. V. (1998). Synaptic potentials mediated via alpha-bungarotoxin-sensitive nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal interneurons. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 18(20):8228–8235.
- FRENCH, J. A., WILLIAMSON, P. D., THADANI, V. M., DARCEY, T. M., MATTSON, R. H., SPENCER, S. S. et SPENCER, D. D. (1993). Characteristics of medial temporal lobe epilepsy : I. results of history and physical examination. *Annals of Neurology*, 34(6):774–780.
- FREKING, M. et OHLIGER-FREKING, P. (2002). AMPA receptors and kainate receptors encode different features of afferent activity. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(17):7434–7443.
- FREUND, T. et BUZSÁKI, G. (1996). Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus*, 6(4):347–470.
- FREUND, T. F. et ANTAL, M. (1988). GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature*, 336(6195):170–173.
- FRISK, V. et MILNER, B. (1990). The relationship of working memory to the immediate recall of stories following unilateral temporal or frontal lobectomy. *Neuropsychologia*, 28(2):121–135.
- FRITSCHY, J.-M. (2008). Epilepsy, e/i balance and GABA(a) receptor plasticity. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 1:5.
- FROTSCHER, M. et LÉRÁNT, C. (1985). Cholinergic innervation of the rat hippocampus as revealed by choline acetyltransferase immunocytochemistry : a combined light and electron microscopic study. *The Journal of Comparative Neurology*, 239(2):237–246.
- FROTSCHER, M., VIDA, I. et BENDER, R. (2000). Evidence for the existence of non-GABAergic, cholinergic interneurons in the rodent hippocampus. *Neuroscience*, 96(1):27–31.
- FRYE, R. E., ROSSIGNOL, D., CASANOVA, M. F., BROWN, G. L., MARTIN, V., EDELSON, S., COBEN, R., LEWINE, J., SLATTERY, J. C., LAU, C., HARDY, P., FATEMI, S. H., FOLSOM, T. D., MACFABE, D. et ADAMS, J. B. (2013). A review of traditional and novel treatments for seizures in autism spectrum disorder : findings from a systematic review and expert panel. *Frontiers in Public Health*, 1:31.
- FUKUNAGA, K., STOPPINI, L., MIYAMOTO, E. et MULLER, D. (1993). Long-term potentiation is associated with an increased activity of  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase II. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(11):7863–7867.
- FUNAHASHI, A., MATSUOKA, Y., JOURAKU, A., KITANO, H. et KIKUCHI, N. (2006). CellDesigner : A modeling tool for biochemical networks. In *Proceedings of the 38th Conference on Winter Simulation, WSC '06*, pages 1707–1712, Monterey, California. Winter Simulation Conference.
- GABRIEL, T., GARCÍA-PÉREZ, E., MAHFOOZ, K., GOÑI, J., MARTÍNEZ-TURRILLAS, R., PÉREZ-OTAÑO, I., LO, D. C. et WESSELING, J. F. (2011). A new kinetic framework for synaptic vesicle trafficking tested in synapsin knock-outs. *The Journal of Neuroscience*, 31(32):11563–11577.
- GALANOPOULOU, A. S. (2007). Developmental patterns in the regulation of chloride homeostasis and GABA(a) receptor signaling by seizures. *Epilepsia*, 48 Suppl 5:14–18.

## Bibliographie

---

- GALANOPOULOU, A. S. (2010). Mutations affecting GABAergic signaling in seizures and epilepsy. *Pflügers Archiv : European Journal of Physiology*, 460(2):505–523.
- GEORGE, J. S., AINE, C. J., MOSHER, J. C., SCHMIDT, D. M., RANKEN, D. M., SCHLITT, H. A., WOOD, C. C., LEWINE, J. D., SANDERS, J. A. et BELLIVEAU, J. W. (1995). Mapping function in the human brain with magnetoencephalography, anatomical magnetic resonance imaging, and functional magnetic resonance imaging. *Journal of Clinical Neurophysiology : Official Publication of the American Electroencephalographic Society*, 12(5):406–431.
- GEREAU, R. W. et CONN, P. J. (1995). Multiple presynaptic metabotropic glutamate receptors modulate excitatory and inhibitory synaptic transmission in hippocampal area CA1. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 15(10):6879–6889.
- GIACOBINI, E. (2003). Cholinergic function and alzheimer's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 18(Suppl 1):S1–5.
- GILLESPIE, D. T. (1977). Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *The Journal of Physical Chemistry*, 81(25):2340–2361.
- GILLIES, M. J., TRAUB, R. D., LEBEAU, F. E. N., DAVIES, C. H., GLOVELI, T., BUHL, E. H. et WHITTINGTON, M. A. (2002). A model of atropine-resistant theta oscillations in rat hippocampal area CA1. *The Journal of Physiology*, 543(Pt 3):779–793.
- GIOCOMO, L. M. et HASSELMO, M. E. (2005). Nicotinic modulation of glutamatergic synaptic transmission in region CA3 of the hippocampus. *The European Journal of Neuroscience*, 22(6):1349–1356.
- GIOCOMO, L. M. et HASSELMO, M. E. (2007). Neuromodulation by glutamate and acetylcholine can change circuit dynamics by regulating the relative influence of afferent input and excitatory feedback. *Molecular Neurobiology*, 36(2):184–200.
- GLEESON, P., SILVER, R. A. et STEUBER, V. (2010). Computer simulation environments. In CUTSURIDIS, V., GRAHAM, B., COBB, S. et VIDA, I., éditeurs : *Hippocampal Microcircuits*, numéro 5 de Springer Series in Computational Neuroscience, pages 593–609. Springer New York.
- GLOVELI, T., KOPELL, N. et DUGLADZE, T. (2010). Neuronal activity patterns during hippocampal network oscillations in vitro. In CUTSURIDIS, V., GRAHAM, B., COBB, S. et VIDA, I., éditeurs : *Hippocampal Microcircuits*, numéro 5 de Springer Series in Computational Neuroscience, pages 247–276. Springer New York.
- GOLD, C., HENZE, D. A. et KOCH, C. (2007). Using extracellular action potential recordings to constrain compartmental models. *Journal of computational neuroscience*, 23(1):39–58.
- GOLD, C., HENZE, D. A., KOCH, C. et BUZSÁKI, G. (2006). On the origin of the extracellular action potential waveform : A modeling study. *Journal of neurophysiology*, 95(5):3113–3128.
- GOLDBERG, E. M. et COULTER, D. A. (2013). Mechanisms of epileptogenesis : a convergence on neural circuit dysfunction. *Nature reviews. Neuroscience*, 14(5):337–349.
- GOLDING, N. L., JUNG, H.-y., MICKUS, T. et SPRUSTON, N. (1999). Dendritic calcium spike initiation and repolarization are controlled by distinct potassium channel subtypes in CA1 pyramidal neurons. *The Journal of Neuroscience*, 19(20):8789–8798.
- GOLDING, N. L., MICKUS, T. J., KATZ, Y., KATH, W. L. et SPRUSTON, N. (2005). Factors mediating powerful voltage attenuation along CA1 pyramidal neuron dendrites. *J Physiol*, 568(Pt 1):69–82.
- GOODFELLOW, M., TAYLOR, P. N., WANG, Y., GARRY, D. J. et BAIER, G. (2012). Modelling the role of tissue heterogeneity in epileptic rhythms. *The European Journal of Neuroscience*, 36(2):2178–2187.
- GOOSENS, K. A. et MAREN, S. (2002). Long-term potentiation as a substrate for memory : evidence from studies of amygdaloid plasticity and pavlovian fear conditioning. *Hippocampus*, 12(5):592–599.
- GOUTAGNY, R., JACKSON, J. et WILLIAMS, S. (2009). Self-generated theta oscillations in the hippocampus. *Nature Neuroscience*, 12(12):1491–1493.

- GRABOWSKI, H. (2004). Are the economics of pharmaceutical research and development changing? : productivity, patents and political pressures. *PharmacoEconomics*, 22(2 Suppl 2):15–24.
- GRASELA, T. H. et SLUSSER, R. (2010). Improving productivity with model-based drug development : an enterprise perspective. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 88(2):263–268.
- GRAY, E. G. (1959). Electron microscopy of synaptic contacts on dendrite spines of the cerebral cortex. *Nature*, 183(4675):1592–1593.
- GRAY, N. W., WEIMER, R. M., BUREAU, I. et SVOBODA, K. (2006). Rapid redistribution of synaptic PSD-95 in the neocortex in vivo. *PLoS biology*, 4(11):e370.
- GREENGARD, P., JEN, J., NAIRN, A. C. et STEVENS, C. F. (1991). Enhancement of the glutamate response by cAMP-dependent protein kinase in hippocampal neurons. *Science (New York, N.Y.)*, 253(5024):1135–1138.
- GREGET, R. (2011). *Modélisation et simulation informatique de la transmission nerveuse*. Thèse de doctorat, Mulhouse.
- GREGET, R., PERNOT, F., BOUTEILLER, J.-M. C., GHADERI, V., ALLAM, S., KELLER, A. F., AMBERT, N., LEGENDRE, A., SARMIS, M., HAEBERLE, O., FAUPEL, M., BISCHOFF, S., BERGER, T. W. et BAUDRY, M. (2011). Simulation of postsynaptic glutamate receptors reveals critical features of glutamatergic transmission. *PLoS ONE*, 6(12):e28380.
- GROENEWEGEN, H. J., Vermeulen-Van der ZEE, E., te KORTSCHOT, A. et WITTER, M. P. (1987). Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. a study using anterograde transport of phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neuroscience*, 23(1):103–120.
- GULLEDGE, A. T., BUCCI, D. J., ZHANG, S. S., MATSUI, M. et YEH, H. H. (2009). M1 receptors mediate cholinergic modulation of excitability in neocortical pyramidal neurons. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(31):9888–9902.
- GULLEDGE, A. T. et KAWAGUCHI, Y. (2007). Phasic cholinergic signaling in the hippocampus : functional homology with the neocortex? *Hippocampus*, 17(5):327–332.
- GULYÁS, A. I., HÁJOS, N. et FREUND, T. F. (1996). Interneurons containing calretinin are specialized to control other interneurons in the rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 16(10):3397–3411.
- GULYÁS, A. I., MEGIÁS, M., EMRI, Z. et FREUND, T. F. (1999). Total number and ratio of excitatory and inhibitory synapses converging onto single interneurons of different types in the CA1 area of the rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 19(22):10082–10097.
- HAIRER, E. (1993). *Solving Ordinary Differential Equations I*, volume 8 de *Springer Series in Computational Mathematics*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- HAIRER, E. et WANNER, G. (1996). *Solving Ordinary Differential Equations II*, volume 14 de *Springer Series in Computational Mathematics*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.
- HAJÓS, M., HOFFMANN, W. E., ORBÁN, G., KISS, T. et ERDI, P. (2004). Modulation of septo-hippocampal theta activity by GABAA receptors : an experimental and computational approach. *Neuroscience*, 126(3):599–610.
- HÁJOS, N., PAPP, E. C., ACSÁDY, L., LEVEY, A. I. et FREUND, T. F. (1998). Distinct interneuron types express m2 muscarinic receptor immunoreactivity on their dendrites or axon terminals in the hippocampus. *Neuroscience*, 82(2):355–376.
- HALLIWELL, J. V. (1990). Physiological mechanisms of cholinergic action in the hippocampus. *Progress in Brain Research*, 84:255–272.
- HALSEY, L. G., CURRAN-EVERETT, D., VOWLER, S. L. et DRUMMOND, G. B. (2015). The fickle p value generates irreproducible results. *Nature Methods*, 12(3):179–185.
- HAMILTON, S. E. et NATHANSON, N. M. (2001). The m1 receptor is required for muscarinic activation of mitogen-activated protein (MAP) kinase in murine cerebral cortical neurons. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(19):15850–15853.

## Bibliographie

---

- HANGYA, B., BORHEGYI, Z., SZILÁGYI, N., FREUND, T. F. et VARGA, V. (2009). GABAergic neurons of the medial septum lead the hippocampal network during theta activity. *The Journal of Neuroscience*, 29(25):8094–8102.
- HARRIS, E. W. et COTMAN, C. W. (1986). Long-term potentiation of guinea pig mossy fiber responses is not blocked by n-methyl d-aspartate antagonists. *Neuroscience Letters*, 70(1):132–137.
- HARRIS, K. M. et STEVENS, J. K. (1989). Dendritic spines of CA 1 pyramidal cells in the rat hippocampus : serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. *J Neurosci*, 9(8):2982–2997.
- HARRIS, K. M. et WEINBERG, R. J. (2012). Ultrastructure of synapses in the mammalian brain. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(5).
- HASSELMO, M. E. (2005). What is the function of hippocampal theta rhythm?—linking behavioral data to phasic properties of field potential and unit recording data. *Hippocampus*, 15(7):936–949.
- HASSELMO, M. E., BODELÓN, C. et WYBLE, B. P. (2002). A proposed function for hippocampal theta rhythm : separate phases of encoding and retrieval enhance reversal of prior learning. *Neural Computation*, 14(4):793–817.
- HASSELMO, M. E. et FEHLAU, B. P. (2001). Differences in time course of ACh and GABA modulation of excitatory synaptic potentials in slices of rat hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 86(4):1792–1802.
- HASSELMO, M. E. et GIOCOMO, L. M. (2006). Cholinergic modulation of cortical function. *Journal of molecular neuroscience : MN*, 30(1-2):133–135.
- HASSELMO, M. E. et SCHNELL, E. (1994). Laminar selectivity of the cholinergic suppression of synaptic transmission in rat hippocampal region CA1 : computational modeling and brain slice physiology. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 14(6):3898–3914.
- HASSELMO, M. E. et STERN, C. E. (2014). Theta rhythm and the encoding and retrieval of space and time. *NeuroImage*, 85 Pt 2:656–666.
- HÄUSSER, M., SPRUSTON, N. et STUART, G. J. (2000). Diversity and dynamics of dendritic signaling. *Science (New York, N.Y.)*, 290(5492):739–744.
- HAYASHI, Y., SHI, S. H., ESTEBAN, J. A., PICCINI, A., PONCER, J. C. et MALINOW, R. (2000). Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII : requirement for GluR1 and PDZ domain interaction. *Science (New York, N.Y.)*, 287(5461):2262–2267.
- HAYER, A. et BHALLA, U. S. (2005). Molecular switches at the synapse emerge from receptor and kinase traffic. *PLoS Comput Biol*, 1(2):e20.
- HEBB, D. O. (1950). Organization of behavior. *Journal of Clinical Psychology*, 6(3):307–307.
- HEDEGAARD, M. K., HANSEN, K. B., ANDERSEN, K. T., BRÄUNER-OSBORNE, H. et TRAYNELIS, S. F. (2011). Molecular pharmacology of human NMDA receptors. *Neurochem Int*.
- HEILMAN, A. D. et QUATTROCHI, J. (2004). Computational models of epileptiform activity in single neurons. *Bio Systems*, 78(1-3):1–21.
- HEINRICH, C., NITTA, N., FLUBACHER, A., MÜLLER, M., FAHRNER, A., KIRSCH, M., FREIMAN, T., SUZUKI, E., DEPAULIS, A., FROTSCHER, M. et HAAS, C. A. (2006). Reelin deficiency and displacement of mature neurons, but not neurogenesis, underlie the formation of granule cell dispersion in the epileptic hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 26(17):4701–4713.
- HENTSCHKE, H., PERKINS, M. G., PEARCE, R. A. et BANKS, M. I. (2007). Muscarinic blockade weakens interaction of gamma with theta rhythms in mouse hippocampus. *The European Journal of Neuroscience*, 26(6):1642–1656.
- HESSLER, N. A., SHIRKE, A. M. et MALINOW, R. (1993). The probability of transmitter release at a mammalian central synapse. *Nature*, 366(6455):569–572.

- HINES, M. L. et CARNEVALE, N. T. (1997). The NEURON simulation environment. *Neural Computation*, 9(6):1179–1209.
- HINES, M. L., EICHNER, H. et SCHÜRMAN, F. (2008a). Neuron splitting in compute-bound parallel network simulations enables runtime scaling with twice as many processors. *Journal of computational neuroscience*, 25(1):203–210.
- HINES, M. L., MARKRAM, H. et SCHÜRMAN, F. (2008b). Fully implicit parallel simulation of single neurons. *Journal of computational neuroscience*, 25(3):439–448.
- HO, V. M., LEE, J.-A. et MARTIN, K. C. (2011). The cell biology of synaptic plasticity. *Science*, 334(6056):623–628.
- HODGKIN, A. L. et HUXLEY, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of Physiology*, 117(4):500–544.
- HOFFMAN, D. A., MAGEE, J. C., COLBERT, C. M. et JOHNSTON, D. (1997). K<sup>+</sup> channel regulation of signal propagation in dendrites of hippocampal pyramidal neurons. *Nature*, 387(6636):869–875.
- HOLBRO, N. (2010). *Structure-function analysis on the level of individual synapses*. phd, University of Basel.
- HOPKINS, A. L. (2008). Network pharmacology : the next paradigm in drug discovery. *Nature Chemical Biology*, 4(11):682–690.
- HOROWITZ, L. F., HIRDES, W., SUH, B.-C., HILGEMANN, D. W., MACKIE, K. et HILLE, B. (2005). Phospholipase c in living cells : activation, inhibition, ca<sup>2+</sup> requirement, and regulation of m current. *The Journal of General Physiology*, 126(3):243–262.
- HU, E. Y., BOUTEILLER, J. M., SONG, D., BAUDRY, M. et BERGER, T. (2015). An efficient representation enables complex synapse dynamics modeling in large-scale simulations. *submitted*.
- HU, E. Y., BOUTEILLER, J.-M. C., HUANG, M., DONG SONG, n. et BERGER, T. (2014). A comparison between direct and indirect measurements of neurotransmitter vesicle release dynamics : A computational study. *Conference proceedings : ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference*, 2014:1155–1158.
- HU, H., VERVAEKE, K. et STORM, J. F. (2002). Two forms of electrical resonance at theta frequencies, generated by m-current, h-current and persistent na<sup>+</sup> current in rat hippocampal pyramidal cells. *The Journal of physiology*, 545(Pt 3):783–805.
- HUBERFELD, G., WITTNER, L., CLEMENCEAU, S., BAULAC, M., KAILA, K., MILES, R. et RIVERA, C. (2007). Perturbed chloride homeostasis and GABAergic signaling in human temporal lobe epilepsy. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(37):9866–9873.
- HUCKA, M., FINNEY, A., SAURO, H. M., BOLOURI, H., DOYLE, J. C., KITANO, H., ARKIN, A. P., BORNSTEIN, B. J., BRAY, D., CORNISH-BOWDEN, A., CUELLAR, A. A., DRONOV, S., GILLES, E. D., GINKEL, M., GOR, V., GORYANIN, I. I., HEDLEY, W. J., HODGMAN, T. C., HOFMEYR, J. H., HUNTER, P. J., JUTY, N. S., KASBERGER, J. L., KREMLING, A., KUMMER, U., LE NOVÈRE, N., LOEW, L. M., LUCIO, D., MENDES, P., MINCH, E., MJOLSNESS, E. D., NAKAYAMA, Y., NELSON, M. R., NIELSEN, P. F., SAKURADA, T., SCHAFF, J. C., SHAPIRO, B. E., SHIMIZU, T. S., SPENCE, H. D., STELLING, J., TAKAHASHI, K., TOMITA, M., WAGNER, J. et WANG, J. (2003). The systems biology markup language (SBML) : A medium for representation and exchange of biochemical network models. *Bioinformatics*, 19(4):524–531.
- HUERTA, P. T. et LISMAN, J. E. (1993). Heightened synaptic plasticity of hippocampal CA1 neurons during a cholinergically induced rhythmic state. *Nature*, 364(6439):723–725.
- HUGHES, B. (2008). 2007 FDA drug approvals : a year of flux. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 7(2):107–109.
- HUH, C. Y. L., GOUTAGNY, R. et WILLIAMS, S. (2010). Glutamatergic neurons of the mouse medial septum and diagonal band of broca synaptically drive hippocampal pyramidal cells : relevance

## Bibliographie

---

- for hippocampal theta rhythm. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(47):15951–15961.
- IMPEY, S., MARK, M., VILLACRES, E. C., POSER, S., CHAVKIN, C. et STORM, D. R. (1996). Induction of CRE-mediated gene expression by stimuli that generate long-lasting LTP in area CA1 of the hippocampus. *Neuron*, 16(5):973–982.
- ISAAC, J. T., NICOLL, R. A. et MALENKA, R. C. (1995). Evidence for silent synapses : implications for the expression of LTP. *Neuron*, 15(2):427–434.
- ISAAC, J. T. R., ASHBY, M. C. et MCBAIN, C. J. (2007). The role of the GluR2 subunit in AMPA receptor function and synaptic plasticity. *Neuron*, 54(6):859–871.
- IVANCO, T. L., RACINE, R. J. et KOLB, B. (2000). Morphology of layer III pyramidal neurons is altered following induction of LTP in sensorimotor cortex of the freely moving rat. *Synapse (New York, N.Y.)*, 37(1):16–22.
- JAFFE, D. B., ROSS, W. N., LISMAN, J. E., LASSER-ROSS, N., MIYAKAWA, H. et JOHNSTON, D. (1994). A model for dendritic  $Ca^{2+}$  accumulation in hippocampal pyramidal neurons based on fluorescence imaging measurements. *Journal of Neurophysiology*, 71(3):1065–1077.
- JAHR, C. E. et STEVENS, C. F. (1993). Calcium permeability of the n-methyl-d-aspartate receptor channel in hippocampal neurons in culture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(24):11573–11577.
- JAKUBÍK, J., BACÁKOVÁ, L., EL-FAKAHANY, E. E. et TUCEK, S. (1997). Positive cooperativity of acetylcholine and other agonists with allosteric ligands on muscarinic acetylcholine receptors. *Molecular pharmacology*, 52(1):172–179.
- JAKUBIK, J., JANICKOVA, H., EL-FAKAHANY, E. et DOLEZAL, V. (2011). Negative cooperativity in binding of muscarinic receptor agonists and GDP as a measure of agonist efficacy. *British Journal of Pharmacology*, 162(5):1029–1044.
- JANN, M. W. (1998). Pharmacology and clinical efficacy of cholinesterase inhibitors. *American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists*, 55 Suppl 2:S22–25.
- JARSKY, T., ROXIN, A., KATH, W. L. et SPRUSTON, N. (2005). Conditional dendritic spike propagation following distal synaptic activation of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Nat Neurosci*, 8(12):1667–1676.
- JEDLICKA, P., DELLER, T., GUTKIN, B. S. et BACKUS, K. H. (2011). Activity-dependent intracellular chloride accumulation and diffusion controls GABA(a) receptor-mediated synaptic transmission. *Hippocampus*, 21(8):885–898.
- JEFFERYS, J. G. (2007). Epilepsy in vitro : electrophysiology and computer modeling. In *Epilepsy : a comprehensive textbook*. Lippincott, williams & wilkins édition.
- JEFFERYS, J. G. R. (2010). Advances in understanding basic mechanisms of epilepsy and seizures. *Seizure*, 19(10):638–646.
- JEFFERYS, J. G. R., JIRUSKA, P., DE CURTIS, M. et AVOLI, M. (2012). Limbic network synchronization and temporal lobe epilepsy. In NOEBELS, J. L., AVOLI, M., ROGAWSKI, M. A., OLSEN, R. W. et DELGADO-ESCUETA, A. V., éditeurs : *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*. National Center for Biotechnology Information (US), Bethesda (MD), 4th édition.
- JENSEN, J. B., LYSSAND, J. S., HAGUE, C. et HILLE, B. (2009). Fluorescence changes reveal kinetic steps of muscarinic receptor-mediated modulation of phosphoinositides and  $Kv7.2/7.3$   $K^{+}$  channels. *The Journal of General Physiology*, 133(4):347–359.
- JENTSCH, T. J. (2000). Neuronal KCNQ potassium channels : physiology and role in disease. *Nature Reviews. Neuroscience*, 1(1):21–30.

- JINNO, S. (2009). Structural organization of long-range GABAergic projection system of the hippocampus. *Frontiers in Neuroanatomy*, 3.
- JOBERT, M., WILSON, F. J., RUIGT, G. S. F., BRUNOVSKY, M., PRICHEP, L. S., DRINKENBURG, W. H. I. M. et IPEG PHARMACO-EEG GUIDELINES COMMITTEE (2012). Guidelines for the recording and evaluation of pharmaco-EEG data in man : the international pharmaco-EEG society (IPEG). *Neuropsychobiology*, 66(4):201–220.
- JOHNSTON, D., HOFFMAN, D. A., COLBERT, C. M. et MAGEE, J. C. (1999). Regulation of back-propagating action potentials in hippocampal neurons. *Current opinion in neurobiology*, 9(3):288–292.
- JOHNSTON, D., MAGEE, J. C., COLBERT, C. M. et CRISTIE, B. R. (1996). Active properties of neuronal dendrites. *Annual review of neuroscience*, 19:165–186.
- KAHANA, M. J., SEELIG, D. et MADSEN, J. R. (2001). Theta returns. *Current Opinion in Neurobiology*, 11(6):739–744.
- KAITIN, K. I. (2010). Deconstructing the drug development process : the new face of innovation. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 87(3):356–361.
- KAMONDI, A., ACSÁDY, L., WANG, X. J. et BUZSÁKI, G. (1998). Theta oscillations in somata and dendrites of hippocampal pyramidal cells in vivo : activity-dependent phase-precession of action potentials. *Hippocampus*, 8(3):244–261.
- KANDEL, E., SCHWARTZ, J., JESSELL, T., SIEGELBAUM, S. et HUDSPETH, A. J. (2012). *Principles of Neural Science, Fifth Edition*. McGraw Hill Professional.
- KANTOR, D. B., LANZREIN, M., STARY, S. J., SANDOVAL, G. M., SMITH, W. B., SULLIVAN, B. M., DAVIDSON, N. et SCHUMAN, E. M. (1996). A role for endothelial NO synthase in LTP revealed by adenovirus-mediated inhibition and rescue. *Science (New York, N.Y.)*, 274(5293):1744–1748.
- KATZ, Y., MENON, V., NICHOLSON, D. A., GEINISMAN, Y., KATH, W. L. et SPRUSTON, N. (2009). Synapse distribution suggests a two-stage model of dendritic integration in CA1 pyramidal neurons. *Neuron*, 63(2):171–177.
- KAUFMANN, W. E. et MOSER, H. W. (2000). Dendritic anomalies in disorders associated with mental retardation. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 10(10):981–991.
- KELLER, A. F. (2002). *Plasticité de l'inhibition synaptique au cours du développement et lors de douleurs inflammatoires dans le système nociceptif spinal chez le Rat*. Strasbourg 1.
- KELLER, A. F., BEGGS, S., SALTER, M. W. et DE KONINCK, Y. (2007). Transformation of the output of spinal lamina I neurons after nerve injury and microglia stimulation underlying neuropathic pain. *Molecular Pain*, 3:27.
- KENNEDY, M. B. (2000). Signal-processing machines at the postsynaptic density. *Science (New York, N.Y.)*, 290(5492):750–754.
- KENNEDY, M. B., BEALE, H. C., CARLISLE, H. J. et WASHBURN, L. R. (2005). Integration of biochemical signalling in spines. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(6):423–434.
- KENNEDY, M. B., BENNETT, M. K. et ERONDU, N. E. (1983). Biochemical and immunochemical evidence that the "major postsynaptic density protein" is a subunit of a calmodulin-dependent protein kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80(23):7357–7361.
- KESSLER, M., SUZUKI, E., MONTGOMERY, K. et ARAI, A. C. (2008). Physiological significance of high and low affinity agonist binding to neuronal and recombinant AMPA receptors. *Neurochemistry international*, 52(8):1383–1393.
- KHAZIPOV, R., CONGAR, P. et BEN-ARI, Y. (1995). Hippocampal CA1 lacunosum-moleculare interneurons : modulation of monosynaptic GABAergic IPSCs by presynaptic GABAB receptors. *Journal of Neurophysiology*, 74(5):2126–2137.

## Bibliographie

---

- KITAMURA, Y., MIYAZAKI, A., YAMANAKA, Y. et NOMURA, Y. (1993). Stimulatory effects of protein kinase c and calmodulin kinase II on n-methyl-d-aspartate receptor/channels in the postsynaptic density of rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 61(1):100–109.
- KITANO, H., FUNAHASHI, A., MATSUOKA, Y. et ODA, K. (2005). Using process diagrams for the graphical representation of biological networks. *Nature Biotechnology*, 23(8):961–966.
- KLAUSBERGER, T., ROBERTS, J. D. B. et SOMOGYI, P. (2002). Cell type- and input-specific differences in the number and subtypes of synaptic GABA(a) receptors in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(7):2513–2521.
- KLAUSBERGER, T. et SOMOGYI, P. (2008). Neuronal diversity and temporal dynamics : the unity of hippocampal circuit operations. *Science (New York, N.Y.)*, 321(5885):53–57.
- KLECKNER, N. W. et DINGLEDINE, R. (1991). Regulation of hippocampal NMDA receptors by magnesium and glycine during development. *Brain Research. Molecular Brain Research*, 11(2):151–159.
- KLEE, R., FICKER, E. et HEINEMANN, U. (1995). Comparison of voltage-dependent potassium currents in rat pyramidal neurons acutely isolated from hippocampal regions CA1 and CA3. *Journal of Neurophysiology*, 74(5):1982–1995.
- KLIMESCH, W. (1999). EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance : a review and analysis. *Brain Research Reviews*, 29(2–3):169–195.
- KOCSIS, B., BRAGIN, A. et BUZSÁKI, G. (1999). Interdependence of multiple theta generators in the hippocampus : a partial coherence analysis. *The Journal of Neuroscience*, 19(14):6200–6212.
- KOENE, R. A. et HASSELMO, M. E. (2009). Hippocampus : Computational models. In SQUIRE, L. R., éditeur : *Encyclopedia of Neuroscience*, pages 1137–1142. Academic Press, Oxford.
- KOLA, I. et LANDIS, J. (2004). Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nature Reviews. Drug Discovery*, 3(8):711–715.
- KOLIAKI, C. C., MESSINI, C. et TSOLAKI, M. (2012). Clinical efficacy of aniracetam, either as monotherapy or combined with cholinesterase inhibitors, in patients with cognitive impairment : a comparative open study. *CNS neuroscience & therapeutics*, 18(4):302–312.
- KOPELL, N., BÖRGERS, C., PERVOUCHINE, D., MALERBA, P. et TORT, A. (2010). Gamma and theta rhythms in biophysical models of hippocampal circuits. In CUTSURIDIS, V., GRAHAM, B., COBB, S. et VIDA, I., éditeurs : *Hippocampal Microcircuits*, numéro 5 de Springer Series in Computational Neuroscience, pages 423–457. Springer New York.
- KOTERMANSKI, S. E. et JOHNSON, J. W. (2009). Mg<sup>2+</sup> imparts NMDA receptor subtype selectivity to the alzheimer's drug memantine. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 29(9):2774–2779.
- KOTERMANSKI, S. E., WOOD, J. T. et JOHNSON, J. W. (2009). Memantine binding to a superficial site on NMDA receptors contributes to partial trapping. *J Physiol*, 587(Pt 19):4589–4604.
- KOVARIK, Z., RADIĆ, Z., BERMAN, H. A., SIMEON-RUDOLF, V., REINER, E. et TAYLOR, P. (2003). Acetylcholinesterase active centre and gorge conformations analysed by combinatorial mutations and enantiomeric phosphonates. *Biochemical Journal*, 373(1):33.
- KRAMÁR, E. A., BABAYAN, A. H., GAVIN, C. F., COX, C. D., JAFARI, M., GALL, C. M., RUMBAUGH, G. et LYNCH, G. (2012). Synaptic evidence for the efficacy of spaced learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(13):5121–5126.
- KRAMIS, R., VANDERWOLF, C. H. et BLAND, B. H. (1975). Two types of hippocampal rhythmical slow activity in both the rabbit and the rat : relations to behavior and effects of atropine, diethyl ether, urethane, and pentobarbital. *Experimental Neurology*, 49(1 Pt 1):58–85.
- KRAUSE, E., UHLENDORF, J., LUBITZ, T., SCHULZ, M., KLIPP, E. et LIEBERMEISTER, W. (2010). Annotation and merging of SBML models with semanticSBML. *Bioinformatics*, 26(3):421–422.

- KULIK, A., VIDA, I., FUKAZAWA, Y., GUETG, N., KASUGAI, Y., MARKER, C. L., RIGATO, F., BETTLER, B., WICKMAN, K., FROTSCHER, M. et SHIGEMOTO, R. (2006). Compartment-dependent colocalization of kir3.2-containing k<sup>+</sup> channels and GABAB receptors in hippocampal pyramidal cells. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(16):4289–4297.
- KULLMANN, D. (2012). The mother of all battles 20 years on : Is LTP expressed pre- or postsynaptically? *The Journal of Physiology*.
- KULLMANN, D. M. (1994). Amplitude fluctuations of dual-component EPSCs in hippocampal pyramidal cells : implications for long-term potentiation. *Neuron*, 12(5):1111–1120.
- KWAN, P. et BRODIE, M. J. (2000). Early identification of refractory epilepsy. *The New England Journal of Medicine*, 342(5):314–319.
- KWAN, P., SCHACHTER, S. C. et BRODIE, M. J. (2011). Drug-resistant epilepsy. *New England Journal of Medicine*, 365(10):919–926.
- KWAN, P., SILLS, G. J. et BRODIE, M. J. (2001). The mechanisms of action of commonly used antiepileptic drugs. *Pharmacology & Therapeutics*, 90(1):21–34.
- LAGNAOUI, R., DEPONT, E., FOURRIER, A., ABOUELFATH, A., BÉGAUD, B., VERDOUX, H. et MOORE, N. (2004). Patterns and correlates of benzodiazepine use in the french general population. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 60(7):523–529.
- LANDMAN, N., JEONG, S. Y., SHIN, S. Y., VORONOV, S. V., SERBAN, G., KANG, M. S., PARK, M. K., DI PAOLO, G., CHUNG, S. et KIM, T.-W. (2006). Presenilin mutations linked to familial alzheimer's disease cause an imbalance in phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(51):19524–19529.
- LANGLOIS, M., POLACK, P. O., BERNARD, H., DAVID, O., CHARPIER, S., DEPAULIS, A. et DERANSART, C. (2010). Involvement of the thalamic parafascicular nucleus in mesial temporal lobe epilepsy. *J Neurosci*, 30:16523–35. 49.
- LARSON, J. et LYNCH, G. (1988). Role of n-methyl-d-aspartate receptors in the induction of synaptic potentiation by burst stimulation patterned after the hippocampal theta-rhythm. *Brain Research*, 441(1-2):111–118.
- LAUNAY, G. (2007). *L'étude théorique des interactions protéine-protéine*. Thèse de doctorat.
- LAWRENCE, J. J., STATLAND, J. M., GRINSPAN, Z. M. et MCBAIN, C. J. (2006). Cell type-specific dependence of muscarinic signalling in mouse hippocampal stratum oriens interneurons. *The Journal of Physiology*, 570(Pt 3):595–610.
- LAZARENO, S. et BIRDSALL, N. J. (1995). Detection, quantitation, and verification of allosteric interactions of agents with labeled and unlabeled ligands at g protein-coupled receptors : interactions of strychnine and acetylcholine at muscarinic receptors. *Molecular pharmacology*, 48(2):362–378.
- LE DUIGOU, C., BOUILLERET, V. et MILES, R. (2008). Epileptiform activities in slices of hippocampus from mice after intra-hippocampal injection of kainic acid. *J Physiol*, 586:4891–904. Pt 20.
- LE DUIGOU, C., WITTNER, L., DANGLLOT, L. et MILES, R. (2005). Effects of focal injection of kainic acid into the mouse hippocampus in vitro and ex vivo. *The Journal of Physiology*, 569(Pt 3):833–847.
- LEE, S. K. (2014). Treatment strategy for the patient with hippocampal sclerosis who failed to the first antiepileptic drug. *Journal of Epilepsy Research*, 4(1):1–6.
- LENGYEL, M., HUHN, Z. et ERDI, P. (2005). Computational theories on the function of theta oscillations. *Biological Cybernetics*, 92(6):393–408.
- LERANTH, C., CARPI, D., BUZSAKI, G. et KISS, J. (1999). The entorhino-septo-supramammillary nucleus connection in the rat : morphological basis of a feedback mechanism regulating hippocampal theta rhythm. *Neuroscience*, 88(3):701–718.
- LÉRÁNT, C. et FROTSCHER, M. (1987). Cholinergic innervation of hippocampal GAD- and somatostatin-immunoreactive commissural neurons. *The Journal of Comparative Neurology*, 261(1):33–47.

## Bibliographie

---

- LEUNG, L. S. et PÉLOQUIN, P. (2010). Cholinergic modulation differs between basal and apical dendritic excitation of hippocampal CA1 pyramidal cells. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 20(8):1865–1877.
- LEVEY, A. I., EDMUNDS, S. M., KOLIATSOS, V., WILEY, R. G. et HEILMAN, C. J. (1995). Expression of m1-m4 muscarinic acetylcholine receptor proteins in rat hippocampus and regulation by cholinergic innervation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 15(5 Pt 2):4077–4092.
- LEWCZUK, P., MROCZKO, B., FAGAN, A. et KORNHUBER, J. (2015). Biomarkers of alzheimer's disease and mild cognitive impairment : A current perspective. *Advances in Medical Sciences*, 60(1):76–82.
- LEWIN, N., AKSAY, E. et CLANCY, C. E. (2012). Computational modeling reveals dendritic origins of GABAA-mediated excitation in CA1 pyramidal neurons. *PLoS ONE*, 7(10).
- LIAO, D., HESSLER, N. A. et MALINOW, R. (1995). Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice. *Nature*, 375(6530):400–404.
- LINDÉN, H., HAGEN, E., LEŚKI, S., NORHEIM, E. S., PETTERSEN, K. H. et EINEVOLL, G. T. (2013). LFPy : a tool for biophysical simulation of extracellular potentials generated by detailed model neurons. *Frontiers in Neuroinformatics*, 7:41.
- LING, D. S. et BENARDO, L. S. (1994). Properties of isolated GABAB-mediated inhibitory postsynaptic currents in hippocampal pyramidal cells. *Neuroscience*, 63(4):937–944.
- LISMAN, J. (1994). The CaM kinase II hypothesis for the storage of synaptic memory. *Trends in Neurosciences*, 17(10):406–412.
- LISMAN, J. (2005). The theta/gamma discrete phase code occurring during the hippocampal phase precession may be a more general brain coding scheme. *Hippocampus*, 15(7):913–922.
- LISMAN, J. et BUZSÁKI, G. (2008). A neural coding scheme formed by the combined function of gamma and theta oscillations. *Schizophrenia Bulletin*, 34(5):974–980.
- LISMAN, J. et SPRUSTON, N. (2005). Postsynaptic depolarization requirements for LTP and LTD : a critique of spike timing-dependent plasticity. *Nature neuroscience*, 8(7):839–841.
- LISMAN, J. E. et GOLDRING, M. A. (1988). Feasibility of long-term storage of graded information by the ca2+/calmodulin-dependent protein kinase molecules of the postsynaptic density. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(14):5320–5324.
- LIU, L., ZHAO, R., BAI, Y., STANISH, L. E., EVANS, J. E., SANDERSON, M. J., BONVENTRE, J. V. et RITTENHOUSE, A. R. (2006). M1 muscarinic receptors inhibit l-type ca2+ current and m-current by divergent signal transduction cascades. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(45):11588–11598.
- LØMO, T. (2003). The discovery of long-term potentiation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 358(1432):617–620.
- LONG, L. L., BUNCE, J. G. et CHROBAK, J. J. (2015). Theta variation and spatiotemporal scaling along the septotemporal axis of the hippocampus. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 9:37.
- Lorente de Nó, R. (1934). Studies on the structure of the cerebral cortex. continuation of the study of the ammonic system. (46):113–117.
- LOSCHER, W. et BRANDT, C. (2010). Prevention or modification of epileptogenesis after brain insults : Experimental approaches and translational research. *Pharmacological Reviews*, 62(4):668–700.
- LÖSCHER, W., PUSKARJOV, M. et KAILA, K. (2013). Cation-chloride cotransporters NKCC1 and KCC2 as potential targets for novel antiepileptic and antiepileptogenic treatments. *Neuropharmacology*, 69:62–74.
- LOUP, E., WEINMANN, O., YONEKAWA, Y., AGUZZI, A., WIESER, H. G. et FRITSCHY, J. M. (1998). A highly sensitive immunofluorescence procedure for analyzing the subcellular distribution of GABAA recep-

- tor subunits in the human brain. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry : Official Journal of the Histochemistry Society*, 46(10):1129–1139.
- LOUP, F., WIESER, H. G., YONEKAWA, Y., AGUZZI, A. et FRITSCHY, J. M. (2000). Selective alterations in GABAA receptor subtypes in human temporal lobe epilepsy. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(14):5401–5419.
- LUEBKE, J. I., DUNLAP, K. et TURNER, T. J. (1993). Multiple calcium channel types control glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. *Neuron*, 11(5):895–902.
- LYNCH, G. et BAUDRY, M. (1984). The biochemistry of memory : a new and specific hypothesis. *Science (New York, N.Y.)*, 224(4653):1057–1063.
- LYNCH, G., LARSON, J., KELSO, S., BARRIONUEVO, G. et SCHOTTLER, F. (1983). Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature*, 305(5936):719–721.
- MA, L., SEAGER, M. A., SEAGER, M., WITTMANN, M., JACOBSON, M., BICKEL, D., BURNO, M., JONES, K., GRAUFEILDS, V. K., XU, G., PEARSON, M., MCCAMPBELL, A., GASPARI, R., SHUGHRUE, P., DANZIGER, A., REGAN, C., FLICK, R., PASCARELLA, D., GARSON, S., DORAN, S., KREATSOULAS, C., VENG, L., LINDSLEY, C. W., SHIPE, W., KUDUK, S., SUR, C., KINNEY, G., SEABROOK, G. R. et RAY, W. J. (2009). Selective activation of the m1 muscarinic acetylcholine receptor achieved by allosteric potentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(37):15950–15955.
- MACCAFERRI, G., DAVID, J., ROBERTS, B., SZUCS, P., COTTINGHAM, C. A. et SOMOGYI, P. (2000). Cell surface domain specific postsynaptic currents evoked by identified GABAergic neurones in rat hippocampus in vitro. *The Journal of Physiology*, 524(1):91–116.
- MACVICAR, B. A. et TSE, F. W. (1989). Local neuronal circuitry underlying cholinergic rhythmical slow activity in CA3 area of rat hippocampal slices. *The Journal of Physiology*, 417:197–212.
- MADISON, D. V., LANCASTER, B. et NICOLL, R. A. (1987). Voltage clamp analysis of cholinergic action in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 7(3):733–741.
- MAGEE, J., HOFFMAN, D., COLBERT, C. et JOHNSTON, D. (1998). Electrical and calcium signaling in dendrites of hippocampal pyramidal neurons. *Annual review of physiology*, 60:327–346.
- MAGEE, J. C. (1998). Dendritic hyperpolarization-activated currents modify the integrative properties of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *The Journal of Neuroscience*, 18(19):7613–7624.
- MAGEE, J. C. et COOK, E. P. (2000). Somatic EPSP amplitude is independent of synapse location in hippocampal pyramidal neurons. *Nat Neurosci*, 3(9):895–903.
- MAGEE, J. C. et JOHNSTON, D. (1995). Characterization of single voltage-gated na<sup>+</sup> and ca<sup>2+</sup> channels in apical dendrites of rat CA1 pyramidal neurons. *The Journal of Physiology*, 487(Pt 1):67–90.
- MAGER, S., NAEVE, J., QUICK, M., LABARCA, C., DAVIDSON, N. et LESTER, H. A. (1993). Steady states, charge movements, and rates for a cloned GABA transporter expressed in xenopus oocytes. *Neuron*, 10(2):177–188.
- MAKAROV, V. A., MAKAROVA, J. et HERRERAS, O. (2010). Disentanglement of local field potential sources by independent component analysis. *Journal of Computational Neuroscience*, 29(3):445–457.
- MAKHINSON, M., CHOTINER, J. K., WATSON, J. B. et O'DELL, T. J. (1999). Adenylyl cyclase activation modulates activity-dependent changes in synaptic strength and ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase II autophosphorylation. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 19(7):2500–2510.
- MALENKA, R. C., KAUER, J. A., ZUCKER, R. S. et NICOLL, R. A. (1988). Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science (New York, N.Y.)*, 242(4875):81–84.
- MALENKA, R. C. et NICOLL, R. A. (1993). NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity : multiple forms and mechanisms. *Trends in Neurosciences*, 16(12):521–527.

## Bibliographie

---

- MALMGREN, K. et THOM, M. (2012). Hippocampal sclerosis—origins and imaging. *Epilepsia*, 53 Suppl 4:19–33.
- MALYKH, A. G. et SADAIE, M. R. (2010). Piracetam and piracetam-like drugs : from basic science to novel clinical applications to CNS disorders. *Drugs*, 70(3):287–312.
- MANNINEN, T., HITURI, K., KOTALESKI, J. H., BLACKWELL, K. T. et LINNE, M.-L. (2010). Postsynaptic signal transduction models for long-term potentiation and depression. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 4.
- MANNS, J. R., ZILLI, E. A., ONG, K. C., HASSELMO, M. E. et EICHENBAUM, H. (2007). Hippocampal CA1 spiking during encoding and retrieval : relation to theta phase. *Neurobiology of Learning and Memory*, 87(1):9–20.
- MAO, Y. S. et YIN, H. L. (2007). Regulation of the actin cytoskeleton by phosphatidylinositol 4-phosphate 5 kinases. *Pflügers Archiv : European Journal of Physiology*, 455(1):5–18.
- MARASCO, A., LIMONGIELLO, A. et MIGLIORE, M. (2013). Using strahler's analysis to reduce up to 200-fold the run time of realistic neuron models. *Scientific Reports*, 3.
- MARIE, H., MORISHITA, W., YU, X., CALAKOS, N. et MALENKA, R. C. (2005). Generation of silent synapses by acute in vivo expression of CaMKIV and CREB. *Neuron*, 45(5):741–752.
- MARINO, M. J., ROUSE, S. T., LEVEY, A. I., POTTER, L. T. et CONN, P. J. (1998). Activation of the genetically defined m1 muscarinic receptor potentiates n-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor currents in hippocampal pyramidal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(19):11465–11470.
- MARKRAM, H., LÜBKE, J., FROTSCHER, M. et SAKMANN, B. (1997). Regulation of synaptic efficacy by coincidence of postsynaptic APs and EPSPs. *Science (New York, N.Y.)*, 275(5297):213–215.
- MARKRAM, H. et SEGAL, M. (1990a). Acetylcholine potentiates responses to n-methyl-d-aspartate in the rat hippocampus. *Neuroscience Letters*, 113(1):62–65.
- MARKRAM, H. et SEGAL, M. (1990b). Long-lasting facilitation of excitatory postsynaptic potentials in the rat hippocampus by acetylcholine. *The Journal of Physiology*, 427:381–393.
- MARLO, J. E., NISWENDER, C. M., DAYS, E. L., BRIDGES, T. M., XIANG, Y., RODRIGUEZ, A. L., SHIREY, J. K., BRADY, A. E., NALYWAIKO, T., LUO, Q., AUSTIN, C. A., WILLIAMS, M. B., KIM, K., WILLIAMS, R., ORTON, D., BROWN, H. A., LINDSLEY, C. W., WEAVER, C. D. et CONN, P. J. (2009). Discovery and characterization of novel allosteric potentiators of m1 muscarinic receptors reveals multiple modes of activity. *Molecular Pharmacology*, 75(3):577–588.
- MASSOULIÉ, J. (2002). The origin of the molecular diversity and functional anchoring of cholinesterases. *Neuro-Signals*, 11(3):130–143.
- MASSOULIÉ, J., PEZZEMENTI, L., BON, S., KREJCI, E. et VALLETTE, F. M. (1993). Molecular and cellular biology of cholinesterases. *Progress in Neurobiology*, 41(1):31–91.
- MATHERN, G. W., ADELSON, P. D., CAHAN, L. D. et LEITE, J. P. (2002). Hippocampal neuron damage in human epilepsy : Meyer's hypothesis revisited. *Progress in Brain Research*, 135:237–251.
- MATSUMOTO, H. et MARSAN, C. A. (1964). CORTICAL CELLULAR PHENOMENA IN EXPERIMENTAL EPILEPSY : INTERICTAL MANIFESTATIONS. *Experimental Neurology*, 9:286–304.
- MATSUZAKI, M., ELLIS-DAVIES, G. C., NEMOTO, T., MIYASHITA, Y., IINO, M. et KASAI, H. (2001). Dendritic spine geometry is critical for AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Nature Neuroscience*, 4(11):1086–1092.
- MATSUZAKI, M., HONKURA, N., ELLIS-DAVIES, G. C. R. et KASAI, H. (2004). Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature*, 429(6993):761–766.
- MAYER, M. L. et WESTBROOK, G. L. (1987). Permeation and block of n-methyl-d-aspartic acid receptor channels by divalent cations in mouse cultured central neurones. *The Journal of physiology*, 394:501–527.

- MCCORMICK, D. A. et CONTRERAS, D. (2001). On the cellular and network bases of epileptic seizures. *Annual review of physiology*, 63:815–846.
- MCKERNAN, R. M. et WHITING, P. J. (1996). Which GABAA-receptor subtypes really occur in the brain? *Trends in Neurosciences*, 19(4):139–143.
- MCQUISTON, A. R. et MADISON, D. V. (1999a). Muscarinic receptor activity induces an afterdepolarization in a subpopulation of hippocampal CA1 interneurons. *The Journal of Neuroscience*, 19(14):5703–5710.
- MCQUISTON, A. R. et MADISON, D. V. (1999b). Nicotinic receptor activation excites distinct subtypes of interneurons in the rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 19(8):2887–2896.
- MEGIAS, M., EMRI, Z., FREUND, T. et GULYÁS, A. (2001). Total number and distribution of inhibitory and excitatory synapses on hippocampal CA1 pyramidal cells. *Neuroscience*, 102(3):527–540.
- MELDRUM, B. et GARTHWAITE, J. (1990). Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 11(9):379–387.
- MIGLIORE, M., HOFFMAN, D. A., MAGEE, J. C. et JOHNSTON, D. (1999). Role of an a-type  $k^+$  conductance in the back-propagation of action potentials in the dendrites of hippocampal pyramidal neurons. *J Comput Neurosci*, 7(1):5–15.
- MIGLIORE, M. et MIGLIORE, R. (2012). Know your current  $i(h)$  : interaction with a shunting current explains the puzzling effects of its pharmacological or pathological modulations. *PloS one*, 7(5): e36867.
- MIGLIORE, M. et SHEPHERD, G. M. (2002). Emerging rules for the distributions of active dendritic conductances. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(5):362–370.
- MIKULA, S., STONE, J. M. et JONES, E. G. (2008). BrainMaps.org - interactive high-resolution digital brain atlases and virtual microscopy. *Brains, minds & media : journal of new media in neural and cognitive science and education*, 3:bmm1426.
- MILES, R., TÓTH, K., GULYÁS, A. I., HÁJOS, N. et FREUND, T. F. (1996). Differences between somatic and dendritic inhibition in the hippocampus. *Neuron*, 16(4):815–823.
- MILLER, S. G. et KENNEDY, M. B. (1986). Regulation of brain type II  $ca_{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase by autophosphorylation : a  $ca_{2+}$ -triggered molecular switch. *Cell*, 44(6):861–870.
- MODCHANG, C., NADKARNI, S., BARTOL, T. M., TRIAMPO, W., SEJNOWSKI, T. J., LEVINE, H. et RAPPEL, W.-J. (2010). A comparison of deterministic and stochastic simulations of neuronal vesicle release models. *Physical biology*, 7(2):026008.
- MODY, I., LAMBERT, J. D. et HEINEMANN, U. (1987). Low extracellular magnesium induces epileptiform activity and spreading depression in rat hippocampal slices. *Journal of Neurophysiology*, 57(3):869–888.
- MORGAN, S. L. et TEYLER, T. J. (1999). VDCCs and NMDARs underlie two forms of LTP in CA1 hippocampus in vivo. *Journal of Neurophysiology*, 82(2):736–740.
- MORRIS, R. G., ANDERSON, E., LYNCH, G. S. et BAUDRY, M. (1986). Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an n-methyl-d-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 319(6056):774–776.
- MORTENSEN, S. R., HOOPER, M. J. et PADILLA, S. (1998). Rat brain acetylcholinesterase activity : developmental profile and maturational sensitivity to carbamate and organophosphorus inhibitors. *Toxicology*, 125(1):13–19.
- MORTON, R. A. et DAVIES, C. H. (1997). Regulation of muscarinic acetylcholine receptor-mediated synaptic responses by adenosine receptors in the rat hippocampus. *The Journal of Physiology*, 502 ( Pt 1):75–90.

## Bibliographie

---

- MOSS, S. J., BLACKSTONE, C. D. et HUGANIR, R. L. (1993). Phosphorylation of recombinant non-NMDA glutamate receptors on serine and tyrosine residues. *Neurochemical Research*, 18(1):105–110.
- MULKEY, R. M., ENDO, S., SHENOLIKAR, S. et MALENKA, R. C. (1994). Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature*, 369(6480):486–488.
- MULLARD, A. (2015). 2014 FDA drug approvals. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 14(2):77–81.
- MÜLLER, C. et REMY, S. (2014). Dendritic inhibition mediated by o-LM and bistratified interneurons in the hippocampus. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 6:23.
- MULLER, D., WANG, C., SKIBO, G., TONI, N., CREMER, H., CALAORA, V., ROUGON, G. et KISS, J. Z. (1996). PSA-NCAM is required for activity-induced synaptic plasticity. *Neuron*, 17(3):413–422.
- MUNOS, B. (2010). Can open-source drug r&d repower pharmaceutical innovation? *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 87(5):534–536.
- MUÑOZ, A., MÉNDEZ, P., DEFELIPE, J. et ALVAREZ-LEEFMANS, F. J. (2007). Cation-chloride cotransporters and GABA-ergic innervation in the human epileptic hippocampus. *Epilepsia*, 48(4):663–673.
- NADKARNI, S., BARTOL, T. M., SEJNOWSKI, T. J. et LEVINE, H. (2010). Modelling vesicular release at hippocampal synapses. *PLoS computational biology*, 6(11):e1000983.
- NADLER, J. V. (1981). Role of excitatory pathways in the hippocampal damage produced by kainic acid. *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, 27:395–402.
- NAGODE, D. A., TANG, A.-H., KARSON, M. A., KLUGMANN, M. et ALGER, B. E. (2011). Optogenetic release of ACh induces rhythmic bursts of perisomatic IPSCs in hippocampus. *PLoS ONE*, 6(11):e27691.
- NAKANISHI, S. (1994). Metabotropic glutamate receptors : synaptic transmission, modulation, and plasticity. *Neuron*, 13(5):1031–1037.
- NEVIAN, T. et SAKMANN, B. (2006). Spine  $ca^{2+}$  signaling in spike-timing-dependent plasticity. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(43):11001–11013.
- NEWMAN, E. L., GUPTA, K., CLIMER, J. R., MONAGHAN, C. K. et HASSELMO, M. E. (2012). Cholinergic modulation of cognitive processing : insights drawn from computational models. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 6:24.
- NICHOLSON, D. A., TRANA, R., KATZ, Y., KATH, W. L., SPRUSTON, N. et GEINISMAN, Y. (2006). Distance-dependent differences in synapse number and AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Neuron*, 50(3):431–442.
- NICOLELIS, M. A. L. et RIBEIRO, S. (2002). Multielectrode recordings : the next steps. *Current Opinion in Neurobiology*, 12(5):602–606.
- NICOLL, R. A. et ROCHE, K. W. (2013). Long-term potentiation : Peeling the onion. *Neuropharmacology*, 74:18–22.
- NIKOLAEV, M. V., MAGAZANIK, L. G. et TIKHONOV, D. B. (2012). Influence of external magnesium ions on the NMDA receptor channel block by different types of organic cations. *Neuropharmacology*, 62(5-6):2078–2085.
- NISSINEN, J. et PITKÄNEN, A. (2007). Effect of antiepileptic drugs on spontaneous seizures in epileptic rats. *Epilepsy Research*, 73(2):181–191.
- NOBELS, J. (2011). A perfect storm : Converging paths of epilepsy and alzheimer's dementia intersect in the hippocampal formation. *Epilepsia*, 52 Suppl 1:39–46.
- NOGUCHI, J., MATSUZAKI, M., ELLIS-DAVIES, G. C. R. et KASAI, H. (2005). Spine-neck geometry determines NMDA receptor-dependent  $ca^{2+}$  signaling in dendrites. *Neuron*, 46(4):609–622.
- NOVÈRE, N. L., HUCKA, M., MI, H., MOODIE, S., SCHREIBER, F., SOROKIN, A., DEMIR, E., WEGNER, K., ALADJEM, M. I., WIMALARATNE, S. M., BERGMAN, F. T., GAUGES, R., GHAZAL, P., KAWAJI, H., LI, L., MATSUOKA, Y., VILLÉGER, A., BOYD, S. E., CALZONE, L., COURTOT, M., DOGRUSOZ, U., FREEMAN, T. C., FUNAHASHI, A., GHOSH, S., JOURAKU, A., KIM, S., KOLPAKOV, F., LUNA, A., SAHLE, S., SCHMIDT, E.,

- WATTERSON, S., WU, G., GORYANIN, I., KELL, D. B., SANDER, C., SAURO, H., SNOEP, J. L., KOHN, K. et KITANO, H. (2009). The systems biology graphical notation. *Nature Biotechnology*, 27(8):735–741.
- NUÑEZ, A., CERVERA-FERRI, A., OLUCHA-BORDONAU, E., RUIZ-TORNER, A. et TERUEL, V. (2006). Nucleus incertus contribution to hippocampal theta rhythm generation. *The European Journal of Neuroscience*, 23(10):2731–2738.
- NUSSER, Z., LUJAN, R., LAUBE, G., ROBERTS, J. D., MOLNAR, E. et SOMOGYI, P. (1998). Cell type and pathway dependence of synaptic AMPA receptor number and variability in the hippocampus. *Neuron*, 21(3):545–559.
- ODAGAKI, Y., KINOSHITA, M. et TOYOSHIMA, R. (2013). Pharmacological characterization of m1 muscarinic acetylcholine receptor-mediated gq activation in rat cerebral cortical and hippocampal membranes. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*.
- ODAGAKI, Y. et TOYOSHIMA, R. (2012). Muscarinic acetylcholine receptor-mediated activation of g(q) in rat brain membranes determined by guanosine-5'-o-(3-[35S]thio)triphosphate ([35S]GTPγS) binding using an anti-g protein scintillation proximity assay. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 119(5):525–532.
- OFIR, R., DWARKI, V. J., RASHID, D. et VERMA, I. M. (1991). CREB represses transcription of fos promoter : role of phosphorylation. *Gene Expression*, 1(1):55–60.
- O'KEEFE, J. (1976). Place units in the hippocampus of the freely moving rat. *Experimental Neurology*, 51(1):78–109.
- O'KEEFE, J. et DOSTROVSKY, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, 34(1):171–175.
- O'KEEFE, J. et NADEL, L. (1978). *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Oxford University Press, Oxford ; New York.
- O'KEEFE, J. et RECCE, M. L. (1993). Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus*, 3(3):317–330.
- OKI, T., TAKAGI, Y., INAGAKI, S., TAKETO, M. M., MANABE, T., MATSUI, M. et YAMADA, S. (2005). Quantitative analysis of binding parameters of [3H]n-methylscopolamine in central nervous system of muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. *Brain Research. Molecular Brain Research*, 133(1):6–11.
- ORNOY, A., WEINSTEIN-FUDIM, L. et ERGAZ, Z. (2015). Prenatal factors associated with autism spectrum disorder (ASD). *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*.
- PADAMSEY, Z. et EMPTAGE, N. (2014). Two sides to long-term potentiation : a view towards reconciliation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 369(1633): 20130154.
- PALMA, E., AMICI, M., SOBRERO, F., SPINELLI, G., DI ANGELANTONIO, S., RAGOZZINO, D., MASCIA, A., SCOPPETTA, C., ESPOSITO, V., MILEDI, R. et EUSEBI, F. (2006). Anomalous levels of cl- transporters in the hippocampal subiculum from temporal lobe epilepsy patients make GABA excitatory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(22):8465–8468.
- PAN, Z., KAO, T., HORVATH, Z., LEMOS, J., SUL, J.-Y., CRANSTOUN, S. D., BENNETT, V., SCHERER, S. S. et COOPER, E. C. (2006). A common ankyrin-g-based mechanism retains KCNQ and NaV channels at electrically active domains of the axon. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(10):2599–2613.
- PANDIT, S., JEONG, J. A., JO, J. Y., CHO, H. S., KIM, D. W., KIM, J. M., RYU, P. D., LEE, S. Y., KIM, H. W., JEON, B. H. et PARK, J. B. (2013). Dual mechanisms diminishing tonic GABAA inhibition of dentate gyrus granule cells in noda epileptic rats. *Journal of Neurophysiology*, 110(1):95–102.
- PAPKE, R. L., MEYER, E., NUTTER, T. et UTESHEV, V. V. (2000). alpha7 receptor-selective agonists and modes of alpha7 receptor activation. *European Journal of Pharmacology*, 393(1–3):179–195.

## Bibliographie

---

- PAPP, O. I., KARLÓCAI, M. R., TÓTH, I. E., FREUND, T. F. et HÁJOS, N. (2013). Different input and output properties characterize parvalbumin-positive basket and axo-axonic cells in the hippocampal CA3 subfield. *Hippocampus*, 23(10):903–918.
- PARENT, M. B. et BAXTER, M. G. (2004). Septohippocampal acetylcholine : Involved in but not necessary for learning and memory? *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 11(1):9–20.
- PARK, M., PENICK, E. C., EDWARDS, J. G., KAUER, J. A. et EHLERS, M. D. (2004). Recycling endosomes supply AMPA receptors for LTP. *Science (New York, N.Y.)*, 305(5692):1972–1975.
- PARK, P., VOLIANSKIS, A., SANDERSON, T. M., BORTOLOTTO, Z. A., JANE, D. E., ZHUO, M., KAANG, B.-K. et COLLINGRIDGE, G. L. (2014). NMDA receptor-dependent long-term potentiation comprises a family of temporally overlapping forms of synaptic plasticity that are induced by different patterns of stimulation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 369(1633).
- PARRA, P., GULYÁS, A. I. et MILES, R. (1998). How many subtypes of inhibitory cells in the hippocampus? *Neuron*, 20(5):983–993.
- PASSAFARO, M., PIÈCH, V. et SHENG, M. (2001). Subunit-specific temporal and spatial patterns of AMPA receptor exocytosis in hippocampal neurons. *Nature Neuroscience*, 4(9):917–926.
- PATHAK, H. R., WEISSINGER, E., TERUNUMA, M., CARLSON, G. C., HSU, F.-C., MOSS, S. J. et COULTER, D. A. (2007). Disrupted dentate granule cell chloride regulation enhances synaptic excitability during development of temporal lobe epilepsy. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(51):14012–14022.
- PAVLIDES, C., GREENSTEIN, Y. J., GRUDMAN, M. et WINSON, J. (1988). Long-term potentiation in the dentate gyrus is induced preferentially on the positive phase of theta-rhythm. *Brain Research*, 439(1-2):383–387.
- PERALTA, E. G., ASHKENAZI, A., WINSLOW, J. W., SMITH, D. H., RAMACHANDRAN, J. et CAPON, D. J. (1987). Distinct primary structures, ligand-binding properties and tissue-specific expression of four human muscarinic acetylcholine receptors. *The EMBO Journal*, 6(13):3923–3929.
- PERNOT, F. (2009). *Événements moléculaires et cellulaires associés à l'épileptogenèse dans deux modèles murins d'injection intrahippocampique de toxiques : implication des mécanismes neuro-inflammatoires*. Thèse de doctorat, Grenoble 1.
- PETSCHKE, H., STUMPF, C. et GOGOLAK, G. (1962). [the significance of the rabbit's septum as a relay station between the midbrain and the hippocampus. i. the control of hippocampus arousal activity by the septum cells]. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 14:202–211.
- PETTERSEN, K. H., HAGEN, E. et EINEVOLL, G. T. (2008). Estimation of population firing rates and current source densities from laminar electrode recordings. *Journal of computational neuroscience*, 24(3):291–313.
- PISSADAKI, E. K. et POIRAZI, P. (2007). Modulation of excitability in CA1 pyramidal neurons via the interplay of entorhinal cortex and CA3 inputs. *Neurocomputing*, 70(10–12):1735–1740.
- PITKÄNEN, A., KHARATISHVILI, I., KARHUNEN, H., LUKASIUK, K., IMMONEN, R., NAIRISMÄGI, J., GRÖHN, O. et NISSINEN, J. (2007). Epileptogenesis in experimental models. *Epilepsia*, 48 Suppl 2:13–20.
- PITKÄNEN, A. et LUKASIUK, K. (2011). Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets. *The Lancet. Neurology*, 10(2):173–186.
- PITKÄNEN, A., SCHWARTZKROIN, P. A. et MOSHÉ, S. L. (2005). *Models of Seizures and Epilepsy*. Academic Press.
- PIZZARELLI, R. et CHERUBINI, E. (2011). Alterations of GABAergic signaling in autism spectrum disorders. *Neural Plasticity*, 2011.
- POIRAZI, P., BRANNON, T. et MEL, B. W. (2003). Arithmetic of subthreshold synaptic summation in a model CA1 pyramidal cell. *Neuron*, 37(6):977–987.

- POIRAZI, P. et PISSADAKI, E.-K. (2010). The making of a detailed CA1 pyramidal neuron model. In CUTSURIDIS, V., GRAHAM, B., COBB, S. et VIDA, I., éditeurs : *Hippocampal Microcircuits*, numéro 5 de Springer Series in Computational Neuroscience, pages 317–352. Springer New York.
- POOLOS, N. P. (2005). The h-channel : a potential channelopathy in epilepsy? *Epilepsy & Behavior : E&B*, 7(1):51–56.
- POOLOS, N. P., MIGLIORE, M. et JOHNSTON, D. (2002). Pharmacological upregulation of h-channels reduces the excitability of pyramidal neuron dendrites. *Nature neuroscience*, 5(8):767–774.
- POUILLE, F. et SCANZIANI, M. (2001). Enforcement of temporal fidelity in pyramidal cells by somatic feed-forward inhibition. *Science*, 293(5532):1159–1163.
- POWER, J. M. et SAH, P. (2002). Nuclear calcium signaling evoked by cholinergic stimulation in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(9):3454–3462.
- PUGH, J. R. et RAMAN, I. M. (2005). GABAA receptor kinetics in the cerebellar nuclei : evidence for detection of transmitter from distant release sites. *Biophysical journal*, 88(3):1740–1754.
- PURPURA, D. P. (1974). Dendritic spine "dysgenesis" and mental retardation. *Science (New York, N.Y.)*, 186(4169):1126–1128.
- PURVES, D. (2001). *Neuroscience*. Sinauer Associates, 2nd édition.
- PURVIS, J. E., CHATTERJEE, M. S., BRASS, L. F. et DIAMOND, S. L. (2008). A molecular signaling model of platelet phosphoinositide and calcium regulation during homeostasis and P2Y1 activation. *Blood*, 112(10):4069–4079.
- QIAN, J. et SAGGAU, P. (1997). Presynaptic inhibition of synaptic transmission in the rat hippocampus by activation of muscarinic receptors : involvement of presynaptic calcium influx. *British Journal of Pharmacology*, 122(3):511–519.
- RAGHAVACHARI, S. et LISMAN, J. E. (2004). Properties of quantal transmission at CA1 synapses. *Journal of Neurophysiology*, 92(4):2456–2467.
- RALL, W. (1989). Methods in neuronal modeling. pages 9–92. MIT Press, Cambridge, MA, USA.
- Ramón y CAJAL, S. (1909). *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés. Généralités, moëlle, ganglions rachidiens, bulbe et protubérances / par S. Ramon Cajal,...* A. Maloine (Paris).
- RASMUSSEN, H. B., FRØKJAER-JENSEN, C., JENSEN, C. S., JENSEN, H. S., JØRGENSEN, N. K., MISONOU, H., TRIMMER, J. S., OLESEN, S.-P. et SCHMITT, N. (2007). Requirement of subunit co-assembly and ankyrin-g for m-channel localization at the axon initial segment. *Journal of Cell Science*, 120(Pt 6):953–963.
- RATNADURAI-GIRIDHARAN, S., STEFANESCU, R. A., KHARGONEKAR, P. P., CARNEY, P. R. et TALATHI, S. S. (2014). Genesis of interictal spikes in the CA1 : a computational investigation. *Frontiers in Neural Circuits*, 8:2.
- RAVIZZA, T., GAGLIARDI, B., NOÉ, F., BOER, K., ARONICA, E. et VEZZANI, A. (2008). Innate and adaptive immunity during epileptogenesis and spontaneous seizures : evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy. *Neurobiology of Disease*, 29(1):142–160.
- RAYMOND, L. A., BLACKSTONE, C. D. et HUGANIR, R. L. (1993). Phosphorylation and modulation of recombinant GluR6 glutamate receptors by cAMP-dependent protein kinase. *Nature*, 361(6413):637–641.
- RESAT, H., PETZOLD, L. et PETTIGREW, M. F. (2009). Kinetic modeling of biological systems. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 541:311–335.
- RIBAN, V., BOUILLERET, V., PHAM-LE, B. T., FRITSCHY, J. M., MARESCAUX, C. et DEPAULIS, A. (2002). Evolution of hippocampal epileptic activity during the development of hippocampal sclerosis in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*, 112:101–111. 1.

## Bibliographie

---

- 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 LERNER-NATOLI, M. (2007). Angiogenesis is associated with blood-brain barrier permeability in temporal lobe epilepsy. *Brain : A Journal of Neurology*, 130(Pt 7):1942–1956.
- RISOLD, P. Y. et SWANSON, L. W. (1997). Connections of the rat lateral septal complex. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 24(2-3):115–195.
- RITTER, P. et VILLRINGER, A. (2006). Simultaneous EEG-fMRI. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30(6):823–838.
- ROBERT, A. et HOWE, J. R. (2003). How AMPA receptor desensitization depends on receptor occupancy. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(3):847–858.
- ROBERTS, E. (1974). Gamma-aminobutyric acid and nervous system function—a perspective. *Biochemical Pharmacology*, 23(19):2637–2649.
- ROBINSON, D. K. et SETHURAMAN, N. (2010). How innovative technology is moving biologics into the 21st century. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 87(3):261–263.
- ROGAN, M. T., STÄUBLI, U. V. et LEDOUX, J. E. (1997). Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature*, 390(6660):604–607.
- ROSENMUND, C., CLEMENTS, J. D. et WESTBROOK, G. L. (1993). Nonuniform probability of glutamate release at a hippocampal synapse. *Science (New York, N.Y.)*, 262(5134):754–757.
- ROTHMAN, S. M., THURSTON, J. H. et HAUHART, R. E. (1987). Delayed neurotoxicity of excitatory amino acids in vitro. *Neuroscience*, 22(2):471–480.
- ROULLET, F. I., LAI, J. K. Y. et FOSTER, J. A. (2013). In utero exposure to valproic acid and autism—a current review of clinical and animal studies. *Neurotoxicology and Teratology*, 36:47–56.
- ROUSE, S. T., GILMOR, M. L. et LEVEY, A. I. (1998). Differential presynaptic and postsynaptic expression of m1-m4 muscarinic acetylcholine receptors at the perforant pathway/granule cell synapse. *Neuroscience*, 86(1):221–232.
- ROUSE, S. T., HAMILTON, S. E., POTTER, L. T., NATHANSON, N. M. et CONN, P. J. (2000). Muscarinic-induced modulation of potassium conductances is unchanged in mouse hippocampal pyramidal cells that lack functional m1 receptors. *Neuroscience letters*, 278(1-2):61–64.
- ROUSE, S. T. et LEVEY, A. I. (1996). Expression of m1-m4 muscarinic acetylcholine receptor immunoreactivity in septohippocampal neurons and other identified hippocampal afferents. *The Journal of Comparative Neurology*, 375(3):406–416.
- ROUSE, S. T., MARINO, M. J., POTTER, L. T., CONN, P. J. et LEVEY, A. I. (1999). Muscarinic receptor subtypes involved in hippocampal circuits. *Life Sciences*, 64(6-7):501–509.
- RUIVO, L. M. T.-G. et MELLOR, J. R. (2013). Cholinergic modulation of hippocampal network function. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 5:2.
- SABATINI, B. L., OERTNER, T. G. et SVOBODA, K. (2002). The life cycle of ca(2+) ions in dendritic spines. *Neuron*, 33(3):439–452.
- SAGNÉ, C., EL MESTIKAWY, S., ISAMBERT, M. F., HAMON, M., HENRY, J. P., GIROS, B. et GASNIER, B. (1997). Cloning of a functional vesicular GABA and glycine transporter by screening of genome databases. *FEBS letters*, 417(2):177–183.
- SAITO, T., STOPKOVA, P., DIAZ, L., PAPOLOS, D. F., BOUSSEMART, L. et LACHMAN, H. M. (2003). Polymorphism screening of PIK4CA : possible candidate gene for chromosome 22q11-linked psychiatric disorders. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics : The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 116B(1):77–83.
- SARAGA, E., BALENA, T., WOLANSKY, T., DICKSON, C. T. et WOODIN, M. A. (2008). Inhibitory synaptic plasticity regulates pyramidal neuron spiking in the rodent hippocampus. *Neuroscience*, 155(1):64–75.

- SARAGA, F., NG, L. et SKINNER, F. K. (2006). Distal gap junctions and active dendrites can tune network dynamics. *Journal of neurophysiology*, 95(3):1669–1682.
- SARMIS, M. (2013). *Etude de l'activité neuronale : optimisation du temps de simulation et stabilité des modèles*. Thèse de doctorat, Mulhouse.
- SARMIS, M., BOUTEILLER, J.-M. C., AMBERT, N., LEGENDRE, A., BISCHOFF, S., HAEBERLÉ, O. et BAUDRY, M. (2013). Assessing numerical resolution methods performance for kinetic models of receptors and channels. *Journal of Computer Science & Systems Biology*, 6(3):150–164 (Article).
- SARMIS, M., BOUTEILLER, J.-M. C., AMBERT, N., LEGENDRE, A., BISCHOFF, S., HAEBERLÉ, O., BAUDRY, M. et ORJUELA, R. (2015). Stability constraints of markov state kinetic models based on routh-hurwitz criterion. *submitted*, (3).
- SAVTCHENKO, L. P. et RUSAKOV, D. A. (2007). The optimal height of the synaptic cleft. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(6):1823–1828.
- SCHARFMAN, H. E. (2005). Brain-derived neurotrophic factor and epilepsy—a missing link? *Epilepsy Currents*, 5(3):83–88.
- SCHORGE, S., ELENES, S. et COLQUHOUN, D. (2005). Maximum likelihood fitting of single channel NMDA activity with a mechanism composed of independent dimers of subunits. *J Physiol*, 569(Pt 2):395–418.
- SCHURMAN, S. J. et SCHEINMAN, S. J. (2009). Inherited cerebrenal syndromes. *Nature Reviews. Nephrology*, 5(9):529–538.
- SEEGER, T., FEDOROVA, I., ZHENG, F., MIYAKAWA, T., KOUSTOVA, E., GOMEZA, J., BASILE, A. S., ALZHEIMER, C. et WESS, J. (2004). M2 muscarinic acetylcholine receptor knock-out mice show deficits in behavioral flexibility, working memory, and hippocampal plasticity. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(45):10117–10127.
- SEGAL, M. (1988). Synaptic activation of a cholinergic receptor in rat hippocampus. *Brain Research*, 452(1-2):79–86.
- SEGAL, M. et AUERBACH, J. M. (1997). Muscarinic receptors involved in hippocampal plasticity. *Life Sciences*, 60(13-14):1085–1091.
- SELYANKO, A. A., HADLEY, J. K., WOOD, I. C., ABOGADIE, F. C., JENTSCH, T. J. et BROWN, D. A. (2000). Inhibition of KCNQ1-4 potassium channels expressed in mammalian cells via m1 muscarinic acetylcholine receptors. *The Journal of Physiology*, 522 Pt 3:349–355.
- SERAFIN, M., WILLIAMS, S., KHATEB, A., FORT, P. et MÜHLETHALER, M. (1996). Rhythmic firing of medial septum non-cholinergic neurons. *Neuroscience*, 75(3):671–675.
- SHAH, M. M., MIGLIORE, M., VALENCIA, I., COOPER, E. C. et BROWN, D. A. (2008). Functional significance of axonal kv7 channels in hippocampal pyramidal neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(22):7869–7874.
- SHAH, M. M., MISTRY, M., MARSH, S. J., BROWN, D. A. et DELMAS, P. (2002). Molecular correlates of the m-current in cultured rat hippocampal neurons. *The Journal of physiology*, 544(Pt 1):29–37.
- SHAH, N. T., YEUNG, L. C., COOPER, L. N., CAI, Y. et SHOVAL, H. Z. (2006). A biophysical basis for the inter-spike interaction of spike-timing-dependent plasticity. *Biological Cybernetics*, 95(2):113–121.
- SHAPIRO, M. S., ROCHE, J. P., KAFTAN, E. J., CRUZBLANCA, H., MACKIE, K. et HILLE, B. (2000). Reconstitution of muscarinic modulation of the KCNQ2/KCNQ3 k(+) channels that underlie the neuronal m current. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(5):1710–1721.
- SHI, S. H., HAYASHI, Y., PETRALIA, R. S., ZAMAN, S. H., WENTHOLD, R. J., SVOBODA, K. et MALINOW, R. (1999). Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation. *Science (New York, N.Y.)*, 284(5421):1811–1816.

## Bibliographie

---

- SHIGEMOTO, R., KINOSHITA, A., WADA, E., NOMURA, S., OHISHI, H., TAKADA, M., FLOR, P. J., NEKI, A., ABE, T., NAKANISHI, S. et MIZUNO, N. (1997). Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 17(19):7503–7522.
- SHINOE, T., MATSUI, M., TAKETO, M. M. et MANABE, T. (2005). Modulation of synaptic plasticity by physiological activation of m1 muscarinic acetylcholine receptors in the mouse hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 25(48):11194–11200.
- SHOUVAL, H. Z., BEAR, M. F. et COOPER, L. N. (2002a). A unified model of NMDA receptor-dependent bidirectional synaptic plasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(16):10831–10836.
- SHOUVAL, H. Z., CASTELLANI, G. C., BLAIS, B. S., YEUNG, L. C. et COOPER, L. N. (2002b). Converging evidence for a simplified biophysical model of synaptic plasticity. *Biological Cybernetics*, 87(5-6):383–391.
- SHOUVAL, H. Z. et KALANTZIS, G. (2005). Stochastic properties of synaptic transmission affect the shape of spike time-dependent plasticity curves. *Journal of Neurophysiology*, 93(2):1069–1073.
- SIK, A., TAMAMAKI, N. et FREUND, T. F. (1993). Complete axon arborization of a single CA3 pyramidal cell in the rat hippocampus, and its relationship with postsynaptic parvalbumin-containing interneurons. *The European Journal of Neuroscience*, 5(12):1719–1728.
- SIMON, A. P., POINDESSOUS-JAZAT, F., DUTAR, P., EPELBAUM, J. et BASSANT, M.-H. (2006). Firing properties of anatomically identified neurons in the medial septum of anesthetized and unanesthetized restrained rats. *The Journal of Neuroscience*, 26(35):9038–9046.
- SINGH, N. A., CHARLIER, C., STAUFFER, D., DUPONT, B. R., LEACH, R. J., MELIS, R., RONEN, G. M., BJERRE, I., QUATTLEBAUM, T., MURPHY, J. V., MCHARG, M. L., GAGNON, D., ROSALES, T. O., PEIFFER, A., ANDERSON, V. E. et LEPPERT, M. (1998). A novel potassium channel gene, KCNQ2, is mutated in an inherited epilepsy of newborns. *Nature Genetics*, 18(1):25–29.
- SJÖSTRÖM, P. J., TURRIGIANO, G. G. et NELSON, S. B. (2001). Rate, timing, and cooperativity jointly determine cortical synaptic plasticity. *Neuron*, 32(6):1149–1164.
- SLOVITER, R. S. (1987). Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science (New York, N.Y.)*, 235(4784):73–76.
- SLOVITER, R. S. (1991). Permanently altered hippocampal structure, excitability, and inhibition after experimental status epilepticus in the rat : The “dormant basket cell” hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy. *Hippocampus*, 1(1):41–66.
- SMITH, M. A., ELLIS-DAVIES, G. C. R. et MAGEE, J. C. (2003). Mechanism of the distance-dependent scaling of schaffer collateral synapses in rat CA1 pyramidal neurons. *The Journal of Physiology*, 548(Pt 1):245–258.
- SMITH, M. L. et MILNER, B. (1989). Right hippocampal impairment in the recall of spatial location : encoding deficit or rapid forgetting? *Neuropsychologia*, 27(1):71–81.
- SMYTHE, J. W., COLOM, L. V. et BLAND, B. H. (1992). The extrinsic modulation of hippocampal theta depends on the coactivation of cholinergic and GABA-ergic medial septal inputs. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 16(3):289–308.
- SOARES, J. C., DIPPOLD, C. S., WELLS, K. F., FRANK, E., KUPFER, D. J. et MALLINGER, A. G. (2001). Increased platelet membrane phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate in drug-free depressed bipolar patients. *Neuroscience Letters*, 299(1-2):150–152.
- SODICKSON, D. L. et BEAN, B. P. (1996). GABAB receptor-activated inwardly rectifying potassium current in dissociated hippocampal CA3 neurons. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(20):6374–6385.

- SOLTESZ, I. et STALEY, K., éditeurs (2011). *Computational Neuroscience in Epilepsy*. Academic Press, 1<sup>ère</sup> édition.
- SOTTY, E., DANIK, M., MANSEAU, E., LAPLANTE, E., QUIRION, R. et WILLIAMS, S. (2003). Distinct electrophysiological properties of glutamatergic, cholinergic and GABAergic rat septohippocampal neurons : novel implications for hippocampal rhythmicity. *The Journal of Physiology*, 551(Pt 3):927–943.
- SPENCER, S. et HUH, L. (2008). Outcomes of epilepsy surgery in adults and children. *The Lancet Neurology*, 7(6):525–537.
- SPRUSTON, N. (2008). Pyramidal neurons : dendritic structure and synaptic integration. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(3):206–221.
- SPRUSTON, N., JONAS, P. et SAKMANN, B. (1995). Dendritic glutamate receptor channels in rat hippocampal CA3 and CA1 pyramidal neurons. *The Journal of Physiology*, 482(Pt 2):325–352.
- STALEY, K. J. et PROCTOR, W. R. (1999). Modulation of mammalian dendritic GABA(a) receptor function by the kinetics of cl<sup>-</sup> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport. *The Journal of Physiology*, 519 Pt 3:693–712.
- STAMBOULIAN-PLATEL, S. et LEGENDRE, A. (2015). Activation of GABAA receptors suppresses focal seizures in a mouse model of mesiotemporal lobe epilepsy : in vivo and in silico evidence. *soumis*.
- STANDRIDGE, J. B. (2004). Pharmacotherapeutic approaches to the treatment of alzheimer's disease. *Clinical Therapeutics*, 26(5):615–630.
- STAUBLI, U., THIBAUT, O., DILORENZO, M. et LYNCH, G. (1989). Antagonism of NMDA receptors impairs acquisition but not retention of olfactory memory. *Behavioral Neuroscience*, 103(1):54–60.
- STEWART, M. et FOX, S. E. (1989). Two populations of rhythmically bursting neurons in rat medial septum are revealed by atropine. *Journal of Neurophysiology*, 61(5):982–993.
- STEWART, M. et FOX, S. E. (1990). Do septal neurons pace the hippocampal theta rhythm ? *Trends in Neurosciences*, 13(5):163–168.
- STOPKOVA, P., SAITO, T., FANN, C. S. J., PAPOLOS, D. E., VEVERA, J., PACLT, I., ZUKOV, I., STRYJER, R., STROUS, R. D. et LACHMAN, H. M. (2003). Polymorphism screening of PIP5K2A : a candidate gene for chromosome 10p-linked psychiatric disorders. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics : The Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 123B(1):50–58.
- SUH, B.-C. et HILLE, B. (2002). Recovery from muscarinic modulation of m current channels requires phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate synthesis. *Neuron*, 35(3):507–520.
- SUH, B.-C., HOROWITZ, L. F., HIRDES, W., MACKIE, K. et HILLE, B. (2004). Regulation of KCNQ2/KCNQ3 current by g protein cycling the kinetics of receptor-mediated signaling by gq. *The Journal of General Physiology*, 123(6):663–683.
- SUZUKI, F., JUNIER, M. P., GUILHEM, D., SORENSEN, J. C. et ONTENIENTE, B. (1995). Morphogenetic effect of kainate on adult hippocampal neurons associated with a prolonged expression of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience*, 64:665–74. 3.
- SVOBODA, K., TANK, D. W. et DENK, W. (1996). Direct measurement of coupling between dendritic spines and shafts. *Science (New York, N.Y.)*, 272(5262):716–719.
- SZABADICS, J., TAMÁS, G. et SOLTESZ, I. (2007). Different transmitter transients underlie presynaptic cell type specificity of GABAA,slow and GABAA,fast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(37):14831–14836.
- SZIRMAI, I., BUZSÁKI, G. et KAMONDI, A. (2012). 120 years of hippocampal schaffer collaterals. *Hippocampus*, 22(7):1508–1516.
- TADA, T. et SHENG, M. (2006). Molecular mechanisms of dendritic spine morphogenesis. *Current Opinion in Neurobiology*, 16(1):95–101.
- TAI, C., KUZMISKI, J. B. et MACVICAR, B. A. (2006). Muscarinic enhancement of r-type calcium currents in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *The Journal of Neuroscience*, 26(23):6249–6258.

## Bibliographie

---

- TALLARIDA, R. J. (2001). Drug synergism : Its detection and applications. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 298(3):865–872.
- TAN, S. E., WENTHOLD, R. J. et SODERLING, T. R. (1994). Phosphorylation of AMPA-type glutamate receptors by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase c in cultured hippocampal neurons. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 14(3 Pt 1):1123–1129.
- TERUEL-MARTÍ, V., CERVERA-FERRI, A., NUÑEZ, A., VALVERDE-NAVARRO, A. A., OLUCHA-BORDONAU, F. E. et RUIZ-TORNER, A. (2008). Anatomical evidence for a ponto-septal pathway via the nucleus incertus in the rat. *Brain Research*, 1218:87–96.
- THOMAS, E. A. et PETROU, S. (2013). Network-specific mechanisms may explain the paradoxical effects of carbamazepine and phenytoin. *Epilepsia*.
- THOMPSON, S. M. et WONG, R. K. (1991). Development of calcium current subtypes in isolated rat hippocampal pyramidal cells. *The Journal of Physiology*, 439:671–689.
- TIESINGA, P. H., FELLOUS, J. M., JOSÉ, J. V. et SEJNOWSKI, T. J. (2001). Computational model of carbachol-induced delta, theta, and gamma oscillations in the hippocampus. *Hippocampus*, 11(3):251–274.
- TIETZ, E. I., KAPUR, J. et MACDONALD, R. L. (1999). Functional GABAA receptor heterogeneity of acutely dissociated hippocampal CA1 pyramidal cells. *Journal of Neurophysiology*, 81(4):1575–1586.
- TONI, N. (2000). *Modifications morphologiques associées à la plasticité synaptique*. Thèse de doctorat, University of Geneva.
- TOSELLI, M., LANG, J., COSTA, T. et LUX, H. D. (1989). Direct modulation of voltage-dependent calcium channels by muscarinic activation of a pertussis toxin-sensitive g-protein in hippocampal neurons. *Pflügers Archiv : European Journal of Physiology*, 415(3):255–261.
- TOSELLI, M. et LUX, H. D. (1989a). GTP-binding proteins mediate acetylcholine inhibition of voltage dependent calcium channels in hippocampal neurons. *Pflügers Archiv : European Journal of Physiology*, 413(3):319–321.
- TOSELLI, M. et LUX, H. D. (1989b). Opposing effects of acetylcholine on the two classes of voltage-dependent calcium channels in hippocampal neurons. *EXS*, 57:97–103.
- TRAUB, R. D., JEFFERYS, J. G. et WHITTINGTON, M. A. (1994). Enhanced NMDA conductance can account for epileptiform activity induced by low  $mg^{2+}$  in the rat hippocampal slice. *The Journal of Physiology*, 478 Pt 3:379–393.
- TRAUB, R. D. et WONG, R. K. (1982). Cellular mechanism of neuronal synchronization in epilepsy. *Science (New York, N.Y.)*, 216(4547):745–747.
- TRAYNELIS, S. E., WOLLMUTH, L. P., MCBAIN, C. J., MENNITI, F. S., VANCE, K. M., OGDEN, K. K., HANSEN, K. B., YUAN, H., MYERS, S. J. et DINGLEDINE, R. (2010). Glutamate receptor ion channels : structure, regulation, and function. *Pharmacol Rev*, 62(3):405–496.
- TRICOIRE, L. et CEA-DEL RIO, C. A. (2007). Illuminating cholinergic microcircuits in the neocortex. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(45):12119–12120.
- TSANOV, M. et MANAHAN-VAUGHAN, D. (2009). Long-term plasticity is proportional to theta-activity. *PLoS ONE*, 4(6).
- TYZIO, R., NARDOU, R., FERRARI, D. C., TSINTSADZE, T., SHAHROKHI, A., EFTEKHARI, S., KHALILOV, I., TSINTSADZE, V., BROUCHOUD, C., CHAZAL, G., LEMONNIER, E., LOZOVAYA, N., BURNASHEV, N. et BENARI, Y. (2014). Oxytocin-mediated GABA inhibition during delivery attenuates autism pathogenesis in rodent offspring. *Science (New York, N.Y.)*, 343(6171):675–679.
- VAN DEN BOUT, I. et DIVECHA, N. (2009). PIP5K-driven PtdIns(4,5)p2 synthesis : regulation and cellular functions. *Journal of Cell Science*, 122(Pt 21):3837–3850.
- VANDECASTEELE, M., VARGA, V., BERÉNYI, A., PAPP, E., BARTHÓ, P., VENANCE, L., FREUND, T. F. et BUZSÁKI, G. (2014). Optogenetic activation of septal cholinergic neurons suppresses sharp wave ripples and

- enhances theta oscillations in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(37):13535–13540.
- VENTRIGLIA, F. et DI MAIO, V. (2000). A brownian simulation model of glutamate synaptic diffusion in the femtosecond time scale. *Biological Cybernetics*, 83(2):93–109.
- VENTRIGLIA, F. et DI MAIO, V. (2002). Stochastic fluctuations of the synaptic function. *Bio Systems*, 67(1-3):287–294.
- VENTRIGLIA, F. et DI MAIO, V. (2003). Stochastic fluctuations of the quantal EPSC amplitude in computer simulated excitatory synapses of hippocampus. *Bio Systems*, 71(1-2):195–204.
- VERTES, R. P., HOOVER, W. B. et VIANA DI PRISCO, G. (2004). Theta rhythm of the hippocampus : subcortical control and functional significance. *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*, 3(3):173–200.
- VERTES, R. P. et KOCSIS, B. (1997). Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience*, 81(4):893–926.
- VIDA, I. (2010). Morphology of hippocampal neurons. In CUTSURIDIS, V., GRAHAM, B., COBB, S. et VIDA, I., éditeurs : *Hippocampal Microcircuits*, numéro 5 de Springer Series in Computational Neuroscience, pages 27–67. Springer New York.
- VILARÓ, M. T., WIEDERHOLD, K. H., PALACIOS, J. M. et MENGOD, G. (1992). Muscarinic m2 receptor mRNA expression and receptor binding in cholinergic and non-cholinergic cells in the rat brain : a correlative study using in situ hybridization histochemistry and receptor autoradiography. *Neuroscience*, 47(2):367–393.
- VILLETTE, V., POINDESSOUS-JAZAT, F., SIMON, A., LÉNA, C., ROULLOT, E., BELLESSERT, B., EPELBAUM, J., DUTAR, P. et STÉPHAN, A. (2010). Decreased rhythmic GABAergic septal activity and memory-associated theta oscillations after hippocampal amyloid- $\beta$  pathology in the rat. *The Journal of Neuroscience*, 30(33):10991–11003.
- VINCENT, R. D., COURVILLE, A. et PINEAU, J. (2011). A bistable computational model of recurring epileptiform activity as observed in rodent slice preparations. *Neural Networks : The Official Journal of the International Neural Network Society*, 24(6):526–537.
- VINOGRADOVA, O. S. (2001). Hippocampus as comparator : role of the two input and two output systems of the hippocampus in selection and registration of information. *Hippocampus*, 11(5):578–598.
- VINOGRADOVA, O. S., BRAZHNIK, E. S., STAFEKHINA, V. S. et KITCHIGINA, V. F. (1993). Acetylcholine, theta-rhythm and activity of hippocampal neurons in the rabbit—II. septal input. *Neuroscience*, 53(4):971–979.
- VINOGRADOVA, O. S., KITCHIGINA, V. F. et ZENCHENKO, C. I. (1998). Pacemaker neurons of the forebrain medial septal area and theta rhythm of the hippocampus. *Membrane & Cell Biology*, 11(6):715–725.
- VOLPICELLI, L. A. et LEVEY, A. I. (2004). Muscarinic acetylcholine receptor subtypes in cerebral cortex and hippocampus. In DESCARRIES, L., STERIADE, M. et KRNJEVIC, K., éditeurs : *Progress in Brain Research*, volume 145 de *Acetylcholine in the Cerebral Cortex*, pages 59–66. Elsevier.
- VORONOV, S. V., FRERE, S. G., GIOVEDI, S., POLLINA, E. A., BOREL, C., ZHANG, H., SCHMIDT, C., AKESON, E. C., WENK, M. R., CIMASONI, L., ARANCIO, O., DAVISSON, M. T., ANTONARAKIS, S. E., GARDINER, K., DE CAMILLI, P. et DI PAOLO, G. (2008). Synaptotagmin 1-linked phosphoinositide dyshomeostasis and cognitive deficits in mouse models of down's syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(27):9415–9420.
- WANG, D. D. et KRIEGSTEIN, A. R. (2008). GABA regulates excitatory synapse formation in the neocortex via NMDA receptor activation. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(21):5547–5558.

## Bibliographie

---

- WANG, H. S., PAN, Z., SHI, W., BROWN, B. S., WYMORE, R. S., COHEN, I. S., DIXON, J. E. et MCKINNON, D. (1998). KCNQ2 and KCNQ3 potassium channel subunits : molecular correlates of the m-channel. *Science (New York, N.Y.)*, 282(5395):1890–1893.
- WANG, X.-J. (2002). Pacemaker neurons for the theta rhythm and their synchronization in the septohippocampal reciprocal loop. *Journal of neurophysiology*, 87(2):889–900.
- WANG, X. J. et BUZSÁKI, G. (1996). Gamma oscillation by synaptic inhibition in a hippocampal interneuronal network model. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 16(20):6402–6413.
- WANG, Y., ZHU, G., BRIZ, V., HSU, Y.-T., BI, X. et BAUDRY, M. (2014). A molecular brake controls the magnitude of long-term potentiation. *Nature Communications*, 5:3051.
- WANG, Y. T. et SALTER, M. W. (1994). Regulation of NMDA receptors by tyrosine kinases and phosphatases. *Nature*, 369(6477):233–235.
- WASLING, P., HANSE, E. et GUSTAFSSON, B. (2004). Developmental changes in release properties of the CA3-CA1 glutamate synapse in rat hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 92(5):2714–2724.
- WENDLING, F. (2008). Computational models of epileptic activity : a bridge between observation and pathophysiological interpretation. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 8(6):889–896.
- WENDLING, F., BARTOLOMEI, F., BELLANGER, J. J. et CHAUVEL, P. (2002). Epileptic fast activity can be explained by a model of impaired GABAergic dendritic inhibition. *The European Journal of Neuroscience*, 15(9):1499–1508.
- WENDLING, F., BARTOLOMEI, F., MINA, E., HUNEAU, C. et BENQUET, P. (2012). Interictal spikes, fast ripples and seizures in partial epilepsies—combining multi-level computational models with experimental data. *Eur J Neurosci*, 36:2164–77. 2.
- WENDLING, F., BENQUET, P., BARTOLOMEI, F. et JIRSA, V. (2015). Computational models of epileptiform activity. *Journal of Neuroscience Methods*.
- WENZEL, J., LAMMERT, G., MEYER, U. et KRUG, M. (1991). The influence of long-term potentiation on the spatial relationship between astrocyte processes and potentiated synapses in the dentate gyrus neuropil of rat brain. *Brain Research*, 560(1-2):122–131.
- WESS, J., BLIN, N., YUN, J., SCHÖNEBERG, T. et LIU, J. (1996). Molecular aspects of muscarinic receptor assembly and function. *Progress in Brain Research*, 109:153–162.
- WHITE, A. M. (2003a). What happened? alcohol, memory blackouts, and the brain. *Alcohol Research & Health : The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 27(2):186–196.
- WHITE, H. S. (2003b). Preclinical development of antiepileptic drugs : past, present, and future directions. *Epilepsia*, 44 Suppl 7:2–8.
- WIEBE, S., BLUME, W. T., GIRVIN, J. P. et ELIASZIW, M. (2001). A randomized, controlled trial of surgery for temporal-lobe epilepsy. *New England Journal of Medicine*, 345(5):311–318.
- WIESER, H.-G. (2004). Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Epilepsia*, 45(6):695–714.
- WILLIAMS, S. R. et STUART, G. J. (2003). Voltage- and site-dependent control of the somatic impact of dendritic IPSPs. *The Journal of Neuroscience*, 23(19):7358–7367.
- WINKS, J. S., HUGHES, S., FILIPPOV, A. K., TATULIAN, L., ABOGADIE, F. C., BROWN, D. A. et MARSH, S. J. (2005). Relationship between membrane phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate and receptor-mediated inhibition of native neuronal m channels. *The Journal of Neuroscience*, 25(13):3400–3413.
- WONNACOTT, S., IRONS, J., RAPIER, C., THORNE, B. et LUNT, G. G. (1989). Presynaptic modulation of transmitter release by nicotinic receptors. *Progress in Brain Research*, 79:157–163.
- WOOD, M. D., MURKITT, K. L., HO, M., WATSON, J. M., BROWN, F., HUNTER, A. J. et MIDDLEMISS, D. N. (1999). Functional comparison of muscarinic partial agonists at muscarinic receptor subtypes hM1,

- hM2, hM3, hM4 and hM5 using microphysiometry. *British Journal of Pharmacology*, 126(7):1620–1624.
- WU, J. Y., MATSUDA, T. et ROBERTS, E. (1973). Purification and characterization of glutamate decarboxylase from mouse brain. *The Journal of Biological Chemistry*, 248(9):3029–3034.
- WU, L., WELLS, D., TAY, J., MENDIS, D., ABBOTT, M. A., BARNITT, A., QUINLAN, E., HEYNEN, A., FALLON, J. R. et RICHTER, J. D. (1998). CPEB-mediated cytoplasmic polyadenylation and the regulation of experience-dependent translation of alpha-CaMKII mRNA at synapses. *Neuron*, 21(5):1129–1139.
- WU, L. G. et SAGGAU, P. (1995). GABAB receptor-mediated presynaptic inhibition in guinea-pig hippocampus is caused by reduction of presynaptic  $ca^{2+}$  influx. *The Journal of Physiology*, 485 ( Pt 3):649–657.
- WU, M., NEWTON, S. S., ATKINS, J. B., XU, C., DUMAN, R. S. et ALREJA, M. (2003). Acetylcholinesterase inhibitors activate septohippocampal GABAergic neurons via muscarinic but not nicotinic receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 307(2):535–543.
- WU, M., SHANABROUGH, M., LERANTH, C. et ALREJA, M. (2000). Cholinergic excitation of septohippocampal GABA but not cholinergic neurons : Implications for learning and memory. *The Journal of Neuroscience*, 20(10):3900–3908.
- XU-FRIEDMAN, M. A. et REGEHR, W. G. (2004). Structural contributions to short-term synaptic plasticity. *Physiological Reviews*, 84(1):69–85.
- YAKEL, J. L., VISSAVAJHALA, P., DERKACH, V. A., BRICKEY, D. A. et SODERLING, T. R. (1995). Identification of a  $ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase II regulatory phosphorylation site in non-n-methyl-D-aspartate glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(5):1376–1380.
- YAMADA, W. et ZUCKER, R. (1992). Time course of transmitter release calculated from simulations of a calcium diffusion model. *Biophysical Journal*, 61(3):671–682.
- YAMASAKI, M., MATSUI, M. et WATANABE, M. (2010). Preferential localization of muscarinic m1 receptor on dendritic shaft and spine of cortical pyramidal cells and its anatomical evidence for volume transmission. *The Journal of Neuroscience*, 30(12):4408–4418.
- YI, F., DECAN, E., STOLL, K., MARCEAU, E., DEISSEROTH, K. et LAWRENCE, J. J. (2015). Muscarinic excitation of parvalbumin-positive interneurons contributes to the severity of pilocarpine-induced seizures. *Epilepsia*, 56(2):297–309.
- ZHABOTINSKY, A. M. (2000). Bistability in the  $ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase-phosphatase system. *Biophysical Journal*, 79(5):2211–2221.
- ZHANG, H., CRACIUN, L. C., MIRSHAHI, T., ROHÁCS, T., LOPES, C. M. B., JIN, T. et LOGOTHETIS, D. E. (2003). PIP(2) activates KCNQ channels, and its hydrolysis underlies receptor-mediated inhibition of m currents. *Neuron*, 37(6):963–975.
- ZHANG, W. et BENSON, D. L. (2000). Development and molecular organization of dendritic spines and their synapses. *Hippocampus*, 10(5):512–526.
- ZHANG, W., HOWE, J. R. et POPESCU, G. K. (2008). Distinct gating modes determine the biphasic relaxation of NMDA receptor currents. *Nature Neuroscience*, 11(12):1373–1375.
- ZHU, G., LIU, Y., WANG, Y., BI, X. et BAUDRY, M. (2015). Different patterns of electrical activity lead to long-term potentiation by activating different intracellular pathways. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 35(2):621–633.
- ZIGMOND, M. J., BLOOM, F. E., LANDIS, S. C., ROBERTS, J. L. et SQUIRE, L. R., éditeurs (1998). *Fundamental Neuroscience*. Academic Press, San Diego, Calif., 1st edition édition.
- ZOU, X., COYLE, D., WONG-LIN, K. et MAGUIRE, L. (2011). Computational study of hippocampal-septal theta rhythm changes due to  $\beta$ -amyloid-altered ionic channels. *PloS one*, 6(6):e21579.



# Table des figures

0.1	Processus de recherche et de développement de nouveaux médicaments . . . . .	2
0.2	Situation des dépenses de R&D de l'industrie pharmaceutique . . . . .	5
1.1	Principales subdivisions anatomiques du système nerveux central . . . . .	15
1.2	Situation anatomique de l'hippocampe chez l'humain . . . . .	17
1.3	Structure de l'hippocampe . . . . .	19
1.4	Connectivité hippocampique . . . . .	21
1.5	Distribution des synapses sur les dendrites d'une cellule pyramidale . . . . .	25
1.6	Interneurones de l'hippocampe . . . . .	27
1.7	Microcircuits de l'aire CA1 de l'hippocampe . . . . .	28
1.8	Épines dendritiques et interactions au sein de la densité postsynaptique . . . . .	33
1.9	Récepteurs ionotropes du glutamate . . . . .	35
1.10	Structure et sites de liaison du récepteur GABA <sub>A</sub> . . . . .	38
1.11	Récepteurs nicotiniques et muscariniques dans l'hippocampe . . . . .	43
2.1	Circuit électrique équivalent du modèle de Hodgkin et Huxley original . . . . .	53
2.2	Modèle cinétique équivalent au modèle de HH pour le canal sodique Nav1.2 . . . . .	55
2.3	Interface de RHENOMS V1 . . . . .	59
2.4	Interface de RHENOMS V2 . . . . .	61
2.5	Interface de NEURON . . . . .	63
2.6	Modèle et simulation du potentiel extracellulaire . . . . .	66
2.7	Processus d'intégration et de simulation des modèles . . . . .	68
3.1	Modélisation du compartiment présynaptique . . . . .	71
3.2	Étude de l'influence de la morphologie de l'épine dendritique . . . . .	73
3.3	Modèle cinétique du récepteur NMDA (NR1/NR2A) . . . . .	75
3.4	Validations du modèle de NMDAr . . . . .	77
3.5	Intégration du modèle de NMDAr dans une synapse . . . . .	78
3.6	Illustration du modèle de synapse GABAergique . . . . .	79
3.7	Modèle cinétique du GABA <sub>A</sub> r . . . . .	80
3.8	Inversion du courant GABA <sub>A</sub> r . . . . .	81
3.9	Processus d'activation et KM du M1r . . . . .	83

## Table des figures

---

3.10	Interaction de la PLC avec le métabolisme des PIs et le Kv7 . . . . .	84
3.11	Validation du modèle de M1r . . . . .	86
3.12	Validation du modèle de courant-M ( $I_M$ ) activé par M1r . . . . .	87
3.13	Validation du modèle de $I_M$ neuronal . . . . .	88
4.1	Modèle de neurone pyramidal de CA1 . . . . .	91
4.2	Intégration dendritique du signal excitateur . . . . .	92
4.3	Propagation dendritique des PA et des hyperpolarisations . . . . .	93
4.4	Modulation simulée des décharges du modèle neurone pyramidal par $I_M$ et $I_H$ . . . . .	94
4.5	Composition en récepteurs des synapses glutamatergiques du modèle de PC de CA1 . . . . .	97
4.6	Ajustement des projections inhibitrices du modèle de PC . . . . .	99
4.7	Activité électrophysiologique des modèles d'IN . . . . .	101
4.8	Convergence et divergence - Schéma simplifié du modèle de microcircuit de CA1 . . . . .	101
4.9	Synchronisation simulée de l'activité BC dans la bande $\gamma$ . . . . .	102
4.10	Exemple de mise en œuvre du modèle de microcircuit de CA1 . . . . .	103
5.1	Démonstration originale de la LTP . . . . .	112
5.2	Modélisation et simulation de l'induction de LTP . . . . .	119
5.3	Simulation des effets présynaptiques de la modulation nicotinique . . . . .	120
5.4	Modulation simulée de la transmission synaptique par l'AChEi . . . . .	121
5.5	Modulation simulée de la cinétique du AMPAR par l'AMPAk . . . . .	122
5.6	Répartition des synapses selon les pics calciques et des facteurs de potentialisation par induction de LTP . . . . .	123
5.7	Dose-réponses de AChEi et AMPAk exprimées comme la fraction de synapses potentialisées . . . . .	124
5.8	Effets simulés des combinaisons AChEi et AMPAk . . . . .	125
5.9	Indices de synergie des combinaisons simulées AChEi et AMPAk . . . . .	127
5.10	Effets simulés de différents protocoles d'induction de LTP sur la DR de l'AMPAk . . . . .	128
6.1	Anomalies élémentaires observables à l'EEG . . . . .	134
6.2	Évolution des découvertes de médicaments antiépileptiques . . . . .	135
6.3	Scléroses hippocampiques observées chez l'humain . . . . .	137
6.4	Dépolarisations paroxysmales observées <i>in vivo</i> , <i>in vitro</i> , et <i>in silico</i> . . . . .	145
6.5	Validation de l'effet de composés de référence sur le modèle en configuration Low-Mg . . . . .	147
6.6	Simulations des combinaisons CGP-40116/muscimol et carbamazépine/lamotrigine en configuration <i>Low-Mg</i> . . . . .	148
6.7	Mécanisme et effet de Homer1a sur l'activité épileptique <i>in vitro</i> . . . . .	149
6.8	Illustration de l'hypothèse du « GABA-excitateur » dans l'épilepsie . . . . .	151

6.9	Schéma du modèle et simulation de l'occurrence de décharges épileptiques en configuration <i>KA-MTLE</i> . . . . .	153
6.10	Étude paramétrique de l'expression des CCC en configuration <i>in vivo</i> . . . . .	155
6.11	Étude paramétrique sur l'expression des GABA <sub>A</sub> R en configuration <i>in vivo</i> . . . . .	156
6.12	Étude paramétrique sur l'expression des AMPAr et NMDAr en configuration <i>in vivo</i> . . . . .	157
6.13	Effets des composés CGP-40116, muscimol et picrotoxine sur le modèle en configuration <i>KA-MTLE</i> . . . . .	159
7.1	Générateurs du rythme thêta observé dans l'hippocampe . . . . .	168
7.2	Septum médian et voie septohippocampique . . . . .	169
7.3	Modèle de MEA et réponse extracellulaire simulée de ACSM1 . . . . .	173
7.4	Simulation des AMU pour les composés ACSM1, ACNSM et MAPM1 . . . . .	175
7.5	Modèle du circuit septohippocampique . . . . .	178
7.6	Oscillations thêta simulées par l'excitation des cellules GABAergiques du SM . . . . .	180
7.7	Modulation des caractéristiques fréquentielles du PCL par les composés AChEi et M1PAM . . . . .	182
7.8	Modulation des caractéristiques fréquentielles du PCL par les composés de test en aveugle AAPM1 et APNSM . . . . .	183
7.9	Modulation des caractéristiques fréquentielles du PCL par les composés de test en aveugle AAPM1 et APNSM après révision du modèle . . . . .	184
7.10	Modulation des caractéristiques fréquentielles du PCL par les composés AChEi et M1PAM après révision du modèle . . . . .	185
B.1	Validation de la cinétique du modèle de NMDAr . . . . .	210
B.2	Extraits de la validation du modèle de GABA <sub>A</sub> R . . . . .	211
B.3	Modèle de l'AChE . . . . .	212
B.4	Extraits de la validation du modèle de nAChr $\alpha_7$ . . . . .	213
B.5	Homéostasie calcique et cycle des phosphoinositides dans les plaquettes sanguines . . . . .	214
B.6	Complément de validation du modèle de M1r . . . . .	215
B.7	Validation de la cinétique du PIP2 sous l'action de VSP . . . . .	216
C.1	Variables des modèle des canaux dendritiques . . . . .	218
C.2	Modulation du bloc de dépolarisation du neurone pyramidal par $I_M$ et $I_H$ . . . . .	219
C.3	Amplitude des CPSI miniatures sur une PC de CA1 . . . . .	220
D.1	Caractéristiques du modèle de LTP . . . . .	221
D.2	Tests expérimentaux de la modulation de LTP par AMPAk et ACHEi . . . . .	222
E.1	Classification des crises épileptiques . . . . .	223
E.2	Rôle du potassium dans les crises épileptiques . . . . .	224

## Table des figures

---

E.3	Simulation de l'effet de la tiagabine en configuration <i>Low-Mg</i> . . . . .	225
E.4	Effet de la lamotrigine en conditions <i>Low-Mg</i> . . . . .	227
F.1	Validation de l'effet et réponse d'une PC unique à des doses croissantes de ACSM1229	
F.2	DR simulées des AMU pour les composés AAPM1 et APNSM. . . . .	230
F.3	Oscillations thêta simulées par l'excitation des cellules GABAergiques du SM et des O-LM . . . . .	231
F.4	Révision du modèle de l'action d'APNSM sur M2r et M4r pour la configuration <i>in vivo</i> . . . . .	232

## Liste des acronymes

**4-AP** 4-aminopyridine. 90, 142, 144

**5-HT** sérotonine. 30, 41, 70

**AA** acide aminé. 30, 34, 37, 38

**AAC** cellule axo-axonique. 26–28, 38, 39, 105, 156, 162, 199

**AC** adénylate cyclase. 114

**ACh** acétylcholine. 30, 41, 42, 44, 45, 70, 82, 83, 120, 121, 124, 125, 129, 165, 177–179, 181, 185, 188, 194, 212, 213

**AChE** acétylcholinestérase. 41, 42, 82, 117, 120, 121, 177, 212, 271

**AChEi** inhibiteur de l'acétylcholinestérase. 42, 82, 117, 121, 123–127, 181, 185, 196, 270

**ADN** acide désoxyribonucléique. 85

**AI** anomalie interictale. 140–143, 145

**AMPA** acide  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique. 32, 36, 72, 114, 195, 273

**AMPAr** récepteur à l'AMPA. 32–34, 36, 37, 71, 72, 78, 96, 97, 100, 114–119, 122, 129, 140, 151, 157, 158, 195, 196, 270, 271

**AMPc** adénosine monophosphate cyclique. 35, 43, 114

**AMU** activité multi-unités. 65, 170, 172–175, 186, 197, 230, 271, 272

**ANSM** agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 164

**AP5** acide 2-amino-5-phosphonovalérique. 72, 74–77, 146

**API** *Application Programming Interface*. 60, 64

**ASU** activité simple-unité. 172, 174

**ATP** adénosine triphosphate. 41, 70, 278

**AVC** accident vasculaire cérébral. 133, 138

**AVP** arginine vasopressine. 41

**BC** *Basket Cell*. 26, 28, 39, 44, 98–100, 102, 103, 105, 138, 141, 152, 157, 166, 177–179, 270

**BDNF** *Brain-Derived Neurotrophic Factor*. 139

**BQCA** *Benzyl Quinolone Carboxylic Acid*. 83

## Liste des acronymes

---

- BSC** cellule bistratifiée. 26, 28, 98, 100, 102, 103, 152, 156
- CA** corne d'Ammon. 17, 18, 22, 26, 139
- Cam** calmoduline. 33, 72, 114, 274
- CamKII** protéine kinase calcium-Cam-dépendante. 33, 34, 114, 115, 129
- Can** calcineurine. 72
- CCC** co-transporteurs cation-chlorure. 40, 79, 80, 141, 151, 152, 154, 155, 157, 158, 164, 196, 271
- CCh** carbachol. 45, 82, 169, 183, 187, 232
- CCK** cholécystokinine. 24, 26, 39, 41, 105
- CE** cortex entorhinal. 16, 18, 20, 23, 35, 167–169, 176, 188, 199
- CG** cellule granulaire. 17, 20, 24, 38
- Ch** choline. 212
- C<sub>m</sub>** capacité membranaire spécifique. 90, 100
- CoA** choline acétyltransférase. 41
- CPF** cortex préfrontal. 18
- CPSE** courant postsynaptique excitateur. 31, 32, 44, 76, 78, 81, 97, 98, 118, 119, 122, 129, 168
- CPSI** courant postsynaptique inhibiteur. 31, 39, 40, 81, 98, 152, 168, 220, 271
- CREB** *C-AMP Response Element-Binding protein*. 115
- CS** collatérale de Schaffer. 20, 21, 24, 28, 35–37, 40, 45, 90, 92, 93, 95, 98–103, 105, 112, 114, 118, 120, 129, 130, 140, 141, 146, 152, 167, 178, 179, 183, 187, 195, 222, 232
- DA** dopamine. 30, 41
- DAG** diacyl glycérol. 34, 82
- DPS** densité postsynaptique. 31–34, 36, 114, 115, 150, 269
- DR** dose-réponse. 75–77, 82, 85–88, 121–124, 128, 147, 171–175, 211, 213, 215, 229, 230, 232, 270, 272
- DSC** densité de sources de courant. 65
- DSP** densité spectrale de puissance. 102, 103, 173, 174, 179, 180, 182–185, 231
- EC<sub>50</sub>** concentration efficace médiane. 62, 123–125, 147, 148, 172, 174, 175, 177, 183
- ED** équation différentielle. 56
- EDO** équation différentielle ordinaire. 54, 56, 64, 104, 199
- EDP** équation aux dérivées partielles. 56, 199
- EEG** électroencéphalogramme. 132–134, 140, 143–145, 165, 166
- E<sub>GABAA</sub>** potentiel de réversion du GABA<sub>A</sub>r. 211

- ELT** épilepsie du lobe temporal. 137, 138
- EMLT** épilepsie de la face médiale du lobe temporal. 131, 136, 138, 139, 150, 152, 160, 161, 163, 164, 196
- E<sub>rev</sub>** potentiel de réversion. 24, 40, 74, 76
- ERK** *Extracellular signal-Regulated Kinases*. 45, 88, 116
- FRET** *Förster Resonance Energy Transfer*. 85
- GABA** acide  $\gamma$ -aminobutyrique. 22, 24, 30, 37, 40, 79, 80, 117, 146, 154, 162, 211, 225, 275
- GABA<sub>A</sub>r** récepteur GABA<sub>A</sub>. 37–40, 79–81, 98, 99, 105, 117, 134, 138, 139, 141, 142, 146, 151–160, 162, 196–198, 211, 220, 269, 271, 274
- GABA<sub>B</sub>r** récepteur GABA<sub>B</sub>. 37, 39, 40, 79, 98, 117, 151, 162
- GABA<sub>C</sub>r** récepteur GABA<sub>C</sub>. 37
- GAD** *Glutamic Acid Decarboxylase*. 37
- GAT** transporteur de GABA. 37, 70, 141, 225
- GD** gyrus denté. 17, 18, 22, 24, 26, 38, 105, 112, 115, 138, 163, 167, 168, 171, 199
- GDP** guanosine diphosphate. 82
- GIN** *Grenoble Institut des Neurosciences*, Université Joseph Fourier, INSERM U836, CHU Grenoble. 143–145, 150, 158
- GIRK** *G protein-coupled Inwardly-Rectifying potassium channel*. 117
- Glu** glutamate. 30, 74, 77, 210
- GluT** transporteur de glutamate. 70, 141
- Gly** glycine. 74, 77
- g<sub>m</sub>** conductivité membranaire spécifique. 90
- GTP** guanosine triphosphate. 39, 82
- HCN** *Hyperpolarization-activated Cyclic Nucleotide-gated*. 24, 90, 91, 139, 226
- HEK** *Human Embryonic Kidney*. 74
- HH** Hodgkin et Huxley. 52, 55, 64, 70, 87, 90, 193
- H.M.** Henry Gustav Molaison. 15
- IC<sub>50</sub>** concentration inhibitrice médiane. 62, 77, 87
- IGF** *Institut de Génomique Fonctionnelle*, CNRS-INSERM. 143, 144, 146, 148, 149, 227
- iGluR** récepteur ionotrope du glutamate. 197
- I<sub>H</sub>** courant-H. 24, 28, 44, 90–94, 99, 100, 139, 146, 148, 226, 227
- ILAE** International League Against Epilepsy. 132, 223
- I<sub>M</sub>** courant-M. 23, 44, 45, 82, 84–88, 92, 93, 171, 172, 188, 229, 270

## Liste des acronymes

---

- IN** interneurone. 18, 22–24, 26, 28, 37–40, 42, 44, 79, 95, 98–102, 104, 105, 136, 138, 139, 141, 146, 152, 154, 157, 158, 161, 162, 166–171, 174, 176, 177, 179, 187, 188, 195, 196, 199, 270
- IP3** phosphatidyl inositol triphosphate. 32–34, 72, 82, 86, 88, 114, 150, 276
- IP3r** récepteur à l'IP3. 32, 82
- IRM** imagerie à résonance magnétique. 133
- IRMf** imagerie à résonance magnétique fonctionnelle. 133
- KA** kaïnate (acide (2-carboxy-4-isopropényl-3-pyrrolidinyl)-acétique)). 32, 34, 143, 150, 153, 154, 157–159, 161, 271, 276
- KAr** récepteur au KA. 32, 34, 36, 140
- KCa** canal potassique activé par le calcium. 23, 24, 88, 94, 100, 140
- KCC2** co-transporteur potassium-chlorure 2. 40, 79, 80, 141, 151, 152, 154, 155, 164, 196, 197
- KM** modèle cinétique ou *Kinetic Model*. 54–56, 58, 60, 63, 70, 72, 74, 79, 82–85, 89, 90, 95, 104, 121, 129, 146, 193, 194, 198, 199, 212, 213, 269
- Kv** canal potassique voltage-dépendant. 23, 72, 90, 139
- LTD** *Long-Term Depression*. 113
- LTP** *Long-Term Potentiation*. 8, 32, 36, 40, 45, 72, 88, 109, 111–119, 123, 125–130, 167, 195, 196, 199, 221, 222, 270, 271
- M1r** récepteur M<sub>1</sub>. 44, 45, 69, 82–88, 92, 169–172, 174, 177, 179, 181, 183, 186–188, 194, 197, 215, 229, 269–271
- M2r** récepteur M<sub>2</sub>. 45, 177, 179, 183, 184, 188, 232, 272
- M3r** récepteur M<sub>3</sub>. 177, 179, 183
- M4r** récepteur M<sub>4</sub>. 45, 177, 179, 183, 184, 188, 232, 272
- mAChR** récepteur muscarinique. 9, 32, 41–44, 82, 87, 114, 129, 165, 168–171, 174, 177–179, 181, 183, 186, 187, 197
- MAE** médicament antiépileptique. 9, 55, 92, 134, 135, 143, 144, 148, 161, 163, 164, 196, 197, 226, 270
- MEA** *Micro-Electrodes Array*. 65, 170, 172, 173, 186, 197, 271
- MEG** magnétoencéphalographie. 133
- mGluR** récepteur métabotrope du glutamate. 32–34, 37, 71, 72, 88, 114, 117, 149, 150
- MPI** *Message Passing Interface*. 60, 62, 64, 67, 104
- mTOR** *mammalian Target Of Rapamycin*. 139
- NA** noradrénaline. 30, 41
- NAc** noyau accumbens. 18, 20
- nAChR** récepteur nicotinique. 41–44, 82, 117, 120, 121, 129, 196, 213, 271

- Nav** canal sodique voltage-dépendant. 23, 28, 55, 72, 85, 90, 91, 94, 96, 100, 118, 134, 139, 154, 218, 226
- NCAM** *Neural Cell Adhesion Molecule*. 116
- NCX** échangeur Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>. 72
- NE** norépinephrine. 30
- NG** cellule neurogliaforme. 28, 39
- NKCC1** co-transporteur sodium-potassium-chlorure 1. 40, 79, 80, 141, 151, 152, 154, 155, 164, 196, 197
- NMDA** N-methyl-D-aspartate. 33, 36, 69, 72, 74, 75, 77, 78, 113, 158, 277
- NMDAr** récepteur au NMDA. 32–34, 36, 37, 69, 71, 72, 74–79, 88, 96, 97, 99, 100, 113, 114, 117, 118, 140, 146, 149–151, 157, 158, 194, 196, 198, 210, 225, 269, 271
- NO** monoxyde d'azote. 41, 115
- nPO** *nucleus pontis oralis*. 168, 170, 171, 176–181, 187, 231
- NPY** neuropeptide Y. 41
- NSF** *N-ethylmaleimide-Sensitive Factor*. 69, 279
- NT** neurotransmetteur. 29–31, 35, 37, 39, 41, 42, 44, 69–71, 79, 82, 95, 179, 198, 199
- O-LM** *Oriens-Lacunosum Moleculare*. 26–28, 39, 40, 44, 98, 100, 101, 103, 152, 156, 167, 177–179, 231, 272
- OMS** Organisation Mondiale de la Santé. 132
- OT** ocytocine. 41
- Oxo-M** oxotrémorine-M. 82, 83, 85–88, 215
- PA** potentiel d'action. 23, 26, 28–30, 36, 39, 45, 52, 64–66, 69, 71, 76, 78, 85, 90, 92–94, 96, 101, 103, 114, 118, 122, 130, 140, 141, 145–147, 149, 152, 154–158, 160, 170, 172, 173, 219, 229, 270
- PC** cellule pyramidale. 17, 18, 20–26, 28, 34, 37–39, 42, 44, 45, 89, 90, 92, 95–105, 112, 114, 119, 122, 130, 139, 141, 145, 152, 154–162, 165–172, 174, 176, 178, 179, 183, 186, 187, 194, 196, 220, 229, 232, 270–272
- PCL** potentiel de champ local. 65–67, 100, 102–104, 170–173, 176, 179, 180, 182–187, 197, 231, 271
- PDP** post-dépolarisation. 44, 141
- PDS** *Paroxysmal Depolarizing Shift*. 140, 145–147, 150, 154, 156–161, 196, 197, 225, 226
- PHP** post-hyperpolarisation. 23, 26, 44, 94, 140
- PI** phosphatidylinositol. 84, 86
- PI4K** phosphatidylinositol 4-kinase. 84
- PI5K** phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase. 84

## Liste des acronymes

---

- PIP** phosphatidylinositol 4-phosphate. 84, 216
- PIP2** phosphatidylinositol 4,5-biphosphate. 82, 84, 85, 87, 88, 172, 194, 216, 271
- PIs** phosphoinositides. 84–88, 171, 172, 194, 270
- PKA** protéine kinase A. 33, 114
- PKC** protéine kinase C. 33, 34, 82, 88
- PLC** phospholipase-C. 34, 43, 72, 82–87, 150, 215, 270
- PMCA** *Plasma Membrane Calcium ATPase*. 70, 72
- PPSE** potentiel postsynaptique excitateur. 31, 32, 34, 36, 45, 72, 73, 81, 95–99, 112, 122, 140, 184, 222, 232
- PPSI** potentiel postsynaptique inhibiteur. 31, 98, 99
- PTX** picrotoxine. 146, 147
- PV** parvalbumine. 24, 26, 39, 44
- QI** quotient intellectuel. 15
- R<sub>c</sub>** résistivité cytoplasmique. 100
- RCPG** récepteur couplé à la protéine G. 32, 34, 37, 39, 43, 82
- RE** reticulum endoplasmique. 32, 45, 72, 82
- REST** (*RE1*)-*Silencing Transcription Factor*. 139
- R<sub>m</sub>** résistivité membranaire spécifique. 23, 100
- RMSE** *Root-Mean-Square Error*, racine-carrée de l'erreur quadratique moyenne. 93
- RyR** récepteur à la ryanodine. 32
- SBGN** *Systems Biology Graphical Notation*. 58
- SBML** *Systems Biology Markup Language*. 58, 60, 62, 70, 72
- SE** *Status Epilepticus*. 132, 143
- s.e.m.** erreur-type de la moyenne, *standard error of the mean*. 121, 147, 175, 181–185
- SERCA** *Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase*. 72
- SH** sclérose hippocampique. 136, 137, 143, 150, 163
- SHF** stimulation à haute-fréquence. 116, 128
- SIA** segment initial de l'axone. 23, 26, 28, 38, 85, 91, 92, 95, 105, 140, 156, 162
- s.l.** *stratum lucidum*. 17, 24
- s.l-m** *stratum lacunosum moleculare*. 18, 22, 23, 25, 26, 28, 35, 37, 89–93, 95, 96, 105, 152, 167, 168, 176, 179, 199
- SM** septum médian. 165, 169, 170, 178–180, 187, 188, 197, 231, 271, 272, 279
- SM/DB** septum médian / diagonale de Broca. 42, 167, 168, 170, 177, 179, 187, 188, 197

- SM-GABA** neurone GABAergique du SM. 169, 170, 177–179, 181, 187
- SNARE** *Soluble NSF Attachment protein Receptor*. 69, 129
- SNC** système nerveux central. 4, 13–15, 30, 32, 37, 39, 41, 42, 45, 269
- SNP** système nerveux périphérique. 13
- s.o.** *stratum oriens*. 17, 22, 23, 25, 26, 28, 35, 89–91, 95, 139, 168, 176
- SOM** somatostatine. 24, 28, 41
- s.p.** *stratum pyramidale*. 17, 26, 28, 89, 91, 100, 103, 168, 172, 173, 176
- s.r.** *stratum radiatum*. 17, 22–25, 28, 35, 44, 89–93, 95–98, 105, 118, 139, 152, 167, 172, 176, 184
- STDP** *Spike-Timing-Dependent Plasticity*. 118, 130, 195
- SuM** noyau supramamillaire. 168
- SV2A** *Synaptic Vesicle glycoprotein 2A*. 129
- TBS** stimulation par trains thêta ou *Thêta-Burst Stimulation*. 76, 116, 118–123, 128, 222
- TDM** tomodensitométrie. 133
- TEMP** tomographie à émission monophotonique. 133
- TEP** tomographie à émission de positons. 133
- TFR** transformée de Fourier rapide. 176
- TRH** thyrotropin-releasing hormone. 41
- TRKB** *Tropomyosine-Related Kinase B*. 139
- TSA** troubles du spectre autistique. 41, 131, 164, 193
- TTX** tétrodotoxine. 96
- USC** *University of Southern California*. 60
- V<sub>c</sub>** potentiel de commande. 76–78, 97, 210, 211
- VDCC** canal calcique voltage-dépendant. 23, 24, 29, 39, 44, 45, 69–72, 94, 100, 118, 120, 134, 139, 163, 196
- VIP** peptide intestinal vasoactif. 41
- VP** voie perforante. 18, 20, 24, 26, 28, 35, 37, 40, 44, 45, 89, 90, 92, 93, 95, 96, 99, 100, 102, 103, 105, 130, 138, 139, 152
- VSH** voie septo-hippocampique. 42, 99, 102, 165, 168–171, 177, 179, 187, 188, 197
- VSP** *Voltage-Sensitive Phosphatase*. 85, 216, 271
- WB** *Western Blot*. 150, 151, 154–156, 158, 197
- XML** *EXtensible Markup Language*. 58





