HAL
open science

Stimulation, surveillance et algorithme de détection du noyau antérieur du thalamus dans le cadre d'un modèle d'épilepsie focale motrice chez le primate

Ariana Sherdil

To cite this version:

Ariana Sherdil. Stimulation, surveillance et algorithme de détection du noyau antérieur du thalamus dans le cadre d'un modèle d'épilepsie focale motrice chez le primate. Neurosciences. Université Grenoble Alpes, 2017. Français. NNT : 2017GREAV046 . tel-01684772

HAL Id: tel-01684772

https://theses.hal.science/tel-01684772v1

Submitted on 15 Jan 2018

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.

Communauté
UNIVERSITÉ Grenoble Alpes

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTE UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Neurosciences Neurobiologie**

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Ariana SHERDIL

Thèse dirigée par **Brigitte PIALLAT, Maitre de Conférence, Université Grenoble Alpes**

préparée au sein de **L'Institut des Neurosciences de Grenoble** dans **l'École Doctorale Chimie & Sciences du Vivant**

Implication et stimulation du noyau antérieur du thalamus dans un modèle d'épilepsie mésio-temporale chez le primate non-humain.

Thèse soutenue publiquement le « **5 juillet 2017**»,
devant le jury composé de :

Mme DEVERGNAS Anaëlle
Professeur associé, Atlanta, Membre
Mme WIRTH Sylvia
Chargée de recherche, Bron, Membre
Mr Fabrice BARTOLOMEI
Praticien Hospitalier-Professeur des Universités, Marseille, Rapporteur
Mr Driss BOUSSAOUD
Directeur de recherche, Marseille, Rapporteur
Mr Stéphan CHABARDES
Praticien Hospitalier-Professeur des Universités, La Tronche, Président

Remerciements

Je voudrais en premier lieu remercier Brigitte Piallat, ma directrice de thèse pour m'avoir accueillie au sein de la plateforme primate depuis toutes ces années, et pour m'avoir accompagné, formé et donné les moyens de réaliser mon travail.

Je voudrais ensuite remercier Olivier David pour m'avoir accueillie au sein de son équipe et pour avoir pris le temps de relire mon travail ainsi que pour m'avoir encouragée et conseillée sur Matlab.

De plus je tiens à exprimer ma reconnaissance aux membres du jury d'avoir accepté dévaluer mon travail.

Merci Sandrine pour ton aide précieuse pendant ces nombreuses heures passées en manip, de m'avoir apporté de nombreuses connaissances et pour t'être si bien occupée des « gros ».

Merci à mon Roomy devant l'éternel, Damien. Ces années avec toi dans le bureau ont été les meilleures de ma thèse tabernacle !

Merci à la GIN meufs, Lena Woodenleg, Maman de mini génie, Mum soon to be choupinette et choupi (sans oublier mini buddah). Merci pour votre soutien, votre bonne humeur et ces bonnes soirées « ciné » passées ensemble.

Thank you Subodh, le maitre des points, for your help and your happiness when we worked together.

Merci Véro pour ton aide précieuse et pour ta bienveillance.

Merci Aurélie pour ton aide pendant ton stage, et ta bonne humeur. On peut aller chez Jacky maintenant, j'ai le temps.

Je vais maintenant avoir du mal à établir une liste exhaustive de toutes les autres personnes qui m'ont aidé. Merci à mes amis, mes copains, mes coupains du bad, les gens de passage qui m'ont aidé et soutenu…

Merci à ma famille et tout particulièrement à mes parents, d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir épaulé et soutenu depuis le début.

Merci Antoine pour ta patience, ton amour et pour avoir accepté de vivre cette aventure avec moi, pour la vie.

Je souhaiterais dédier ce travail à mes parents.

« Pourquoi tombons-nous Mr Bruce ? Pour mieux nous relever ! »

Abréviations

ANT	Noyau Antérieur du Thalamus
DALY	Disability Adjusted Life Years
EC	Cortex entorhinal
EEG	Electroencéphalogramme
ELT	Epilepsie du lobe temporal
GABA	Acide gamma aminobutirique
$GABA_AR$	Récepteurs GABAergiques
GHB	Le gamma-hydroxybutyrate
Glu	Glutamate
HPC	Hippocampe
KA	Acide Kaïnique
LFP	Local fiels potential
mGLUR	Récepteurs glutamatergiques
ML	Midline
MSIE	Mort subite et inattendue en épilepsie
MTLE	Epilepsie mésio temporale
NHP	Primate non humain
PNC	Pénicilline
PTZ	Pentylènetrazole
QOL	Qualité de vie
SD	Standard Deviation
SE	Status epilepticus
SH	Sclérose hippocampique
VNS	Stimulation du nerf vague

Sommaire

I. La Pathologie épileptique. 7

1. Un peu d'histoire. 7
2. Définition. 8
3. Epidémiologie. 10
4. Etiologie. 12
   a. Epilepsie structurale. 12
   b. Epilepsie génétique. 13
   c. Epilepsie infectieuse. 13
   d. Epilepsie immune. 14
   e. Epilepsie d'origine inconnue 14
5. Classification des épilepsies. 15
   a. Identification du foyer de l'épilepsie. 15
   b. Altération de la conscience du malade pendant une crise. 17

II. Les épilepsies temporales et leurs traitements actuels. 18

1. Définition. 18
2. Les sous-types d'épilepsie temporale 19
   a. Le sous-type mésial. 19
   b. Le sous-type temporo-polaire. 20
   c. Le sous-type mésio-latéral. 20
   d. Le sous-type latéral. 21
   e. Le sous-type temporal « plus ». 21
3. Les thérapies actuelles. 21
   a. Les médicaments antiépileptiques. 21
   b. La chirurgie de résection. 27
   c. Le gamma knife. 30
   d. La stimulation du nerf vague. 31
   e. La stimulation cérébrale profonde. 33

III. Les modèles animaux dans l'épilepsie. 33

1. Les modèles d'épilepsie génétique. 35

a. Les modèles de mutation. 35
2. Les modèles d'épilepsie induite. 36
a. Le modèle kindling de l'épilepsie du lobe temporal. 36
b. Le modèle kaïnate. 37
c. Le modèle pilocarpine. 38
d. Les modèles d'application locale de métaux ou toxines. 38
e. Le modèle GHB. 39
f. Le modèle PTZ. 39
g. Le modèle pénicilline. 40
IV. Epilepsie et notion de réseau. 41
1. Le concept. 41
2. Le démarrage des crises. 42
3. Le maintien et la propagation des crises. 42
4. L'arrêt des crises. 43
5. En dehors des crises. 43
6. Le réseau thalamo-cortical. 44
a. Le système limbique. 44
b. Le réseau thalamo-cortical dans les MTLEs. 50
V. Neuromodulation électrique du réseau épileptique dans les MTLEs. 51
a. Hippocampe & amygdale (stimulation du focus). 51
b. Noyau antérieur du thalamus et stimulation à distance du foyer. 56
Problématique Générale 61
➢ Caractérisation d'un modèle à la demande d'épilepsie mésio temporale chez le primate non humain (Article I). 62
I. Introduction 63
II. Material & Methods 64
III. Results 70
IV. Discussion 76
➢ L'Etude de la cohérence entre le ANT et l'HPC prédit l'efficacité de la stimulation du ANT pour réduire les crises temporales (Article II) 80
I. Introduction 81
II. Results 83
III. Discussion 92
IV. Conclusion 95
V. Methods 96

I. Principaux résultats 105
II. Perspectives..... 109

Préambule

I. La Pathologie épileptique.

L'épilepsie est une maladie neurologique chronique qui consiste en une hyper activité hyper synchrone d'un groupe de neurones. Le type d'épilepsie, et donc la symptomatologie, dépend du siège de cette hyperactivité, c'est à dire du foyer et de l'éventuelle propagation qui pourrait en découdre.

1. Un peu d'histoire.

Le terme « épilepsie » vient du grec signifiant saisir par surprise. La médecine grecque antique fut la première à se libérer des croyances ancestrales pour lesquelles épilepsie était synonyme de possession.

C'est vers les années 1300 que le terme apparaît dans le langage médical occidental avec la traduction des écrits de Galien.

Pendant la première moitié du Moyen Âge la médecine ne progresse guère, les mentalités étant toujours fortement imprégnées de croyances magiques et religieuses, ou la maladie était synonyme de châtiment divin.

La Renaissance n'est pas plus propice aux progrès, les élites préférant se tourner vers la littérature et les arts. Mais en 1585, le barbier-chirurgien Ambroise Paré décrivit avec beaucoup de minutie les symptômes de patients épileptiques qu'il avait eu à traiter [1].

Il faudra attendre 1770 et la sortie du troisième tome du « Traité des nerfs et de leurs Maladies » [2] du Dr Tissot pour rompre avec la pensée magique encore en vigueur au siècle des Lumières concernant la neurologie et en particulier l'épilepsie.

La Révolution Française entraînera en 1789 une réorganisation du système universitaire et médicale, permettant aux élèves d'examiner les patients de leur vivant, mais également après leur mort, ce qui permit des avancées considérables et la description de nouvelles pathologies. De cette nouvelle énergie, la neurologie française n'émergera qu'un demi-siècle plus tard lorsque Charcot remplacera le mot « névralgie » par le terme « neurologie ». L'épileptologie émergera à son tour avec son individualisation des autres affections neurologiques et surtout psychiatriques entre 1850 et 1880. Le XIXème fut un siècle de découvertes médicales et biologiques majeures : Deiters en 1865 identifie le corps cellulaire, l'axone et les réseaux neuronaux, Darwin présente sa théorie de l'évolution et Mendel ses lois de l'hérédité, Du Bois Reymond décrit le potentiel d'action...

Les premiers travaux EEG dans l'épilepsie furent publiés entre 1935 et 1940, puis furent bloqués par la Seconde Guerre Mondiale, qui apporta la création de l'Institut Nationale d'Hygiène (INH, actuelle INSERM). Les travaux reprirent en 1947 grâce à de grands noms comme Gastaut, Courjon, Loiseau... En 1984 parut la première édition des Syndromes épileptiques de l'enfant et de l'adolescent, fruit d'une collaboration entre J. Roger, C . Dravet, M. Bureau, F.E. Dreifuss et P. Wolf. Leur proposition de classification syndromique des épilepsies fut adoptée par la communauté internationale des épileptologues en 1989. D'autres éditions suivirent, apportant de nombreux autres symptômes épileptiques découverts ultérieurement.

2. Définition.

D'après l'ILAE (International League Against Epilepsy) la définition conceptuelle de la crise et de l'épilepsie est la suivante [3]:

- Une crise d'épilepsie est la présence transitoire de signes et /ou symptômes dus à une activité neuronale excessive et synchrone dans le cerveau.

- L'épilepsie est un trouble cérébral caractérisé par une prédisposition durable à générer des crises épileptiques et par les conséquences neurobiologiques, cognitives, psychologiques et sociales de cette affection. La définition de l'épilepsie requiert la survenue d'au moins une crise épileptique.

D'une façon très schématique, on peut résumer l'épilepsie à un déséquilibre entre les propriétés excitatrices et inhibitrices de la membrane synaptique. Les 2 principaux types de synapses impliqués dans l'épilepsie sont les synapses glutamatergiques qui sont excitatrices (*Figure 1A*), et les synapses GABAergiques qui sont inhibitrices (*Figure 1B*).

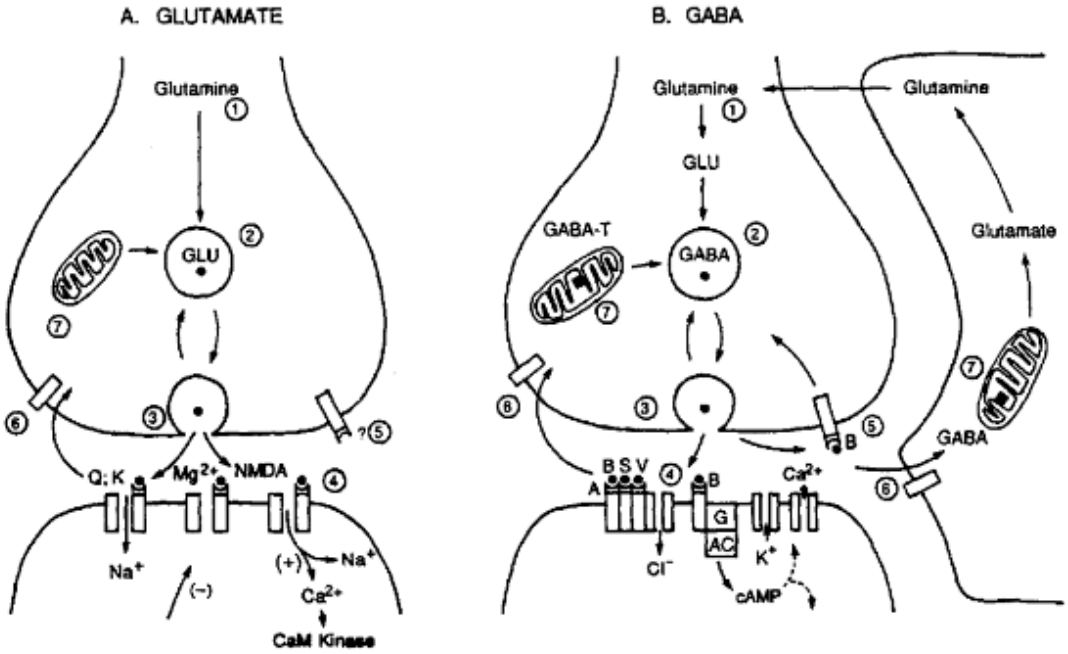


Figure 1: Mécanismes moléculaires des synapses chimiques
A. Glutamatergique. *(1)* synthèse du glutamate (GLU) à partir de glutamine, *(2)* transport et stockage, *(3)* libération du GLU par exocytose et *(4)* fixation du GLU aux récepteurs AMPA (Q), kainate (K), GluR et NMDA. Les récepteurs AMPA et kainate laissent passer des flux de Na^+ et K^+, le récepteur NMDA permet également sélectivement l'entrée de Ca^{2+} quand la membrane est dépolarisée (+). Lorsque la membrane est hyperpolarisée (-), Mg^{2+} bloque le site de fixation. Le GLU libéré dans la fente synaptique semble être régulé par des récepteurs pré-synaptiques *(5)*, et recapté *(6)* puis dégradé intra-cellulairement *(7)*.
B. GABAergiques. *(1)* synthèse du GABA à partir de glutamine, *(2)* transport et stockage, *(3)* libération du GABA par exocytose et *(4)* fixation du GABA aux récepteurs $GABA_A$, qui peut être bloquée par la bicuculline (B), strychtine (S) ou être modifiée par le valium (V) ; les récepteurs $GABA_B$ sont quant à eux liés via une protéine G à l'ouverture de canaux K^+ sur la fente synaptique ou à la réduction du Ca^{2+}; *(5)* la libération du GABA est sous le contrôle des récepteurs $GABA_B$; et le GABA est recapté *(6)* puis re transformé en glutamine *(7)*. [4]

L'état d'hyper excitabilité qui caractérise l'épilepsie peut résulter d'une augmentation de l'excitation synaptique, d'une diminution de l'inhibition synaptique, d'une altération des canaux voltage dépendants, ou d'une altération de la concentration intra ou extra cellulaire en faveur de la dépolarisation membranaire.

3. Epidémiologie.

Science qui étudie, au sein de populations (humaines, animales, végétales), la fréquence et la répartition des problèmes de santé dans le temps et dans l'espace, ainsi que le rôle et les facteurs qui les déterminent (Larousse).

Le taux d'incidence de l'épilepsie dans les pays développés est d'environ 5 pour 10 000 personnes par an [5], et est plus élevé chez les enfants et les personnes âgées. Les personnes les moins aisées présentent une incidence à travers le monde plus forte pour des raisons encore méconnues [6]. Des problèmes sanitaires, d'accès aux soins et un plus grand risque d'infection pourraient contribuer à ce doublement de l'incidence à 10 malades pour 10 000 personnes par an.

L'incidence chez les enfants a fortement diminué ces trente dernières années, sûrement dû à un mode de vie plus sain des futures mères et aux programmes de vaccination. Cependant, une forte augmentation de l'incidence chez les personnes âgées a été observée en Europe et aux Etats-Unis, ce qui pourrait être la conséquence de l'augmentation de l'espérance de vie (tout particulièrement chez les personnes avec des maladies dégénératives ou cardiovasculaires) [7,8].

La prévalence en Europe (entre 45 et 50 cas pour 10 000 personnes [9]), se situe en dessous de la moyenne mondiale effectuée sur 105 pays (89.3 pour 10 000 [10]). Le nombre moyen de

personnes souffrant d'épilepsie varie en fonction des régions du globe (*Figure 2*). Alors qu'il est de 125,9 et 112,9 pour 10 000 personnes respectivement en Amérique et en Afrique, il est de 99,7 en Asie du sud-est, 94 dans l'est méditerranéen et 36,6 dans l'ouest pacifique.

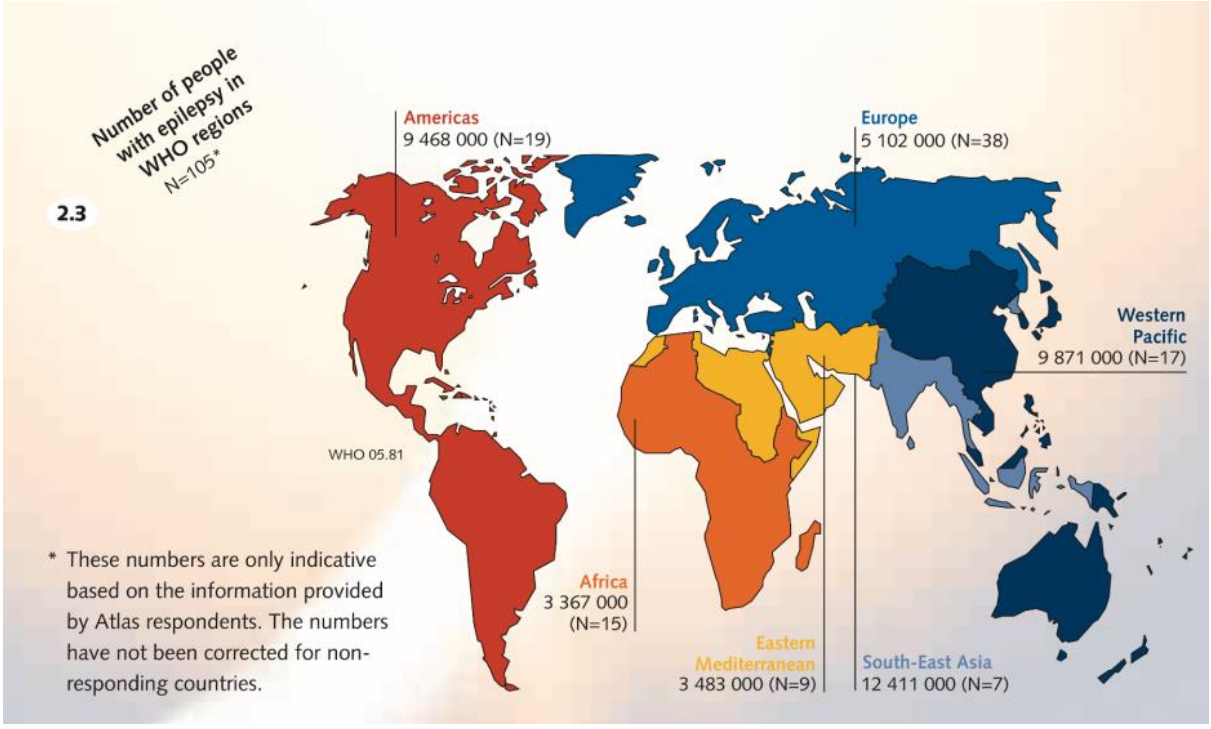


Figure 2: Carte schématisant la prévalence de l'épilepsie dans le monde.
Les valeurs ont été calculées à partir des données de 105 pays (N= nombre de pays/105)[10].

L'épilepsie toucherait environ 65 millions de personnes dans le monde, dont 80% d'entre elles vivraient dans des pays développés [11]. D'après l'OMS - *Organisation Mondiale de la Santé* - [12] l'épilepsie représenterait 0,5%[13] de la charge mondiale de morbidité (évaluation dans le temps qui combine les années de vie perdues du fait d'une mortalité prématurée et celles qui le sont du fait des années vécues sans être en pleine santé). En 2012, l'épilepsie était responsable d'une perte d'environ 20,6 millions d'années d'espérance de vie corrigée de l'incapacité (EVCI ou DALY – *Disability Adjuced Life Year*, somme des années de vie potentiellement perdues en raison d'une mortalité prématurée et des années de vie productives perdues en raison d'incapacité). Ce chiffre est comparable au DALY du cancer du sein chez la femme et à celui du cancer du poumon chez l'homme [14]. Elle a aussi des conséquences économiques importantes en termes de besoins de soins de santé, de décès prématurés et de perte de productivité.

Les personnes épileptiques sont plus susceptibles à une mort prématurée. Une épilepsie symptomatique peut réduire l'espérance de vie jusqu'à 18 ans. Les morts subites, traumatismes, suicides, pneumonies ou status epilepticus (SE) sont plus communs chez les personnes souffrant d'épilepsie que chez les autres.

4. Etiologie.

L'étude de l'épidémiologie et la surveillance des étiologies connues sont très importantes car certaines étiologies sont prédictibles et offrent ainsi une opportunité d'intervention unique pouvant prévenir la survenue d'une épilepsie. L'étiologie de l'épilepsie peut se diviser en 6 catégories [3] : structurale, génétique, infectieuse, métabolique, immune et inconnue.

a. Epilepsie structurale.

Elle est définie par une anomalie visible en neuro-imagerie.

Les épilepsies structurales présentent des anomalies anatomiques qui, combinées aux évaluations électro-cliniques permettent de conclure que cette anomalie est bien la cause de l'épilepsie. Les épilepsies structurales peuvent être acquises (AVC, traumatisme ou infection) ou bien d'origine génétique (malformations du développement cortical). En dépit du fait que ces malformations puissent être d'origine génétique, elles sont la cause première de l'épilepsie du patient.

L'identification d'une telle lésion requiert des protocoles d'imagerie IRM spécifiques à l'épilepsie. Certaines associations entre étiologie structurale et épilepsie sont bien connues. C'est notamment le cas dans les épilepsies mésio-temporales (MTLEs) avec la présence d'une sclérose hippocampique (SH). La connaissance de ces associations est importante afin d'assurer une bonne lecture de l'imagerie du patient.

Certaines anomalies peuvent être à la fois génétiques et acquises. C'est le cas notamment de la polymicrogyrie qui peut être secondaire à une mutation ou bien secondairement acquise suite à une infection.

b. Epilepsie génétique.

Elle résulte directement d'une mutation connue ou présumée.

Les épilepsies d'étiologie génétique sont très diverses, et dans la plupart des cas les gênes concernés n'ont pas encore été découverts.

- La conclusion d'une épilepsie d'origine génétique peut être uniquement basée sur l'historique familial du patient. En effet, il s'agit d'une pathologie à transmissions autosomique dominante (l'allèle morbide est sur un chromosome non sexuel ou bien sa présence est suffisante en un seul exemplaire).
- Une étiologie génétique peut être suggérée par des recherches dans une population donnée présentant les mêmes syndromes (épilepsie myoclonique juvénile ou les absences épileptiques chez l'enfant).
- Une base moléculaire peut avoir été identifiée qui impliquerait un unique gêne ou un nombre variant de copies.

Il est important de noter que la génétique n'égale pas l'hérédité. De plus en plus de nouvelles mutations sont identifiées, cela signifie que la mutation s'est faite au sein même du patient, qu'il n'en a pas hérité. Une étiologie génétique n'exclut donc pas ne contribution environnementale. Il est dorénavant accepté que les facteurs environnementaux contribuent à la pathologie épileptique [15].

c. Epilepsie infectieuse.

Elle est le résultat d'une infection.

Il s'agit de l'étiologie la plus fréquente à travers le monde [16]. Ce concept décrit l'épilepsie comme un symptôme de l'infection. Les exemples les plus courants de cette étiologie sont le VIH, la toxoplasmose, la malaria, le virus Zika ou la tuberculose.

Une étiologie infectieuse entraîne l'implication de traitements spécifiques. Une étiologie infectieuse peut également concerner un développement post infectieux de l'épilepsie, comme dans le cas de l'encéphalite virale entraînant des crises à la suite de la phase aigüe de l'infection.

d. Epilepsie immune.

Elle résulte directement d'un trouble immun.

L'étiologie immune peut être conceptualisée comme due à une inflammation auto-immune du système nerveux central. Le diagnostic s'est amélioré ces dernières années, notamment grâce à un meilleur accès aux tests d'anticorps.

e. Epilepsie d'origine inconnue

La cause n'est pas encore connue.

Il reste encore de nombreux patients dont la cause de l'épilepsie n'est toujours pas connue. Dans cette catégorie, il est impossible de faire un diagnostic spécifique, à part en se basant sur la sémiologie électro clinique.

Les épilepsies les plus fréquentes sont complexes, avec des causes environnementales agissant sur un arrière-plan présentant des susceptibilités génétiques, le tout arbitré par la variation génétique.

La répartition dans la population de l'épilepsie est très hétérogène. Des différences significatives sont présentes en fonction du sexe, de l'âge et également du niveau social, économique et géographique, se manifestant par une différence d'accès à l'éducation et aux soins.

L'incidence de l'épilepsie est plus importante chez les hommes (5,1 vs 4,6 pour 10 000 pour les femmes), probablement dû au fait qu'ils ont des comportements plus à risque avec de ce fait une augmentation de l'incidence de traumatismes crâniens, avec ou sans association à l'alcool ou à la consommation de drogue [17]. Les épilepsies juvéniles quant à elles touchent plus les filles que les garçons (19 : 11) [18].

L'épilepsie a une distribution selon l'âge qui présente 2 pics : le premier a lieu dans les premières années de la vie, et le second après 60 ans.

Les épilepsies ayant des causes génétiques se manifestent généralement au plus jeune âge, et les épilepsies chez les populations plus âgées font généralement suite à un accident (AVC, infarctus...). L'incidence annuelle chez les personnes au-delà de 60 ans est de 134 pour 100 000 (contre 50 pour 100 000 dans le reste de la population).

5. Classification des épilepsies.

La classification des épilepsies revisitée par l'ILAE (International League Against Epilepsy) en début d'année 2017 [19] a pour but d'améliorer le diagnostic et de classer les épilepsies de façon plus simple et précise.

Cette classification se base essentiellement sur 2 critères :

- Où la crise commence-t-elle dans le cerveau ?
- Le malade présente-t-il une altération de la conscience ?

a. Identification du foyer de l'épilepsie.

Le foyer de l'épilepsie est défini comme la zone du cerveau d'où la crise est originaire [20]. L'identification de celui-ci est la première étape, cruciale afin de pouvoir ajuster le traitement, la possibilité d'opérer et les possibles causes.

Un nouveau cadre de classification des épilepsies a été développé au sein de l'ILAE (Fisher et al. 2017), *Figure 3*. Ce nouveau cadre introduit la notion de réseau épileptique. Un réseau est considéré comme un ensemble de neurones constituant des nœuds (ou nodes) interconnectés les uns au autres et qui participent à des actions communes déterminantes dans l'expression des crises.

i. Epilepsies focales.

Elles concernent une zone appartenant à réseau limité d'un seul hémisphère du cerveau.

Les crises peuvent être non motrices (absence), motrices ou sensitives :

- Crises motrices avec clonies ou spasmes toniques
- Crises phonatoires avec une impossibilité de parler
- Crises somato-sensistives avec des sensations de picotement ou d'engourdissements
- Crises visuelles avec hallucinations
- Crises auditives avec hallucinations ou acouphènes
- Crises olfactives avec odeurs indésirables
- Crises gustatives avec hallucinations gustatives souvent associées à une hyper-salivation

La classification « focale à bilatérale » est le nouveau terme pour « généralisation secondaire ».

ii. Epilepsies généralisées.

Elles commencent dans une zone appartenant à un ensemble de réseaux dans les deux hémisphères du cerveau, et elles se propagent rapidement à ces réseaux.

Les crises peuvent être non motrices (absence) ou bien motrices :

- Tonico-clonique. Se déroule en 3 phases : la chute (phase tonique) avec perte de conscience et contraction de l'ensemble du corps. La tétanie des muscles se fragmente et le relâchement est intermittent (phase clonique), puis la phase postcritique, où le patient reprend progressivement conscience
- Clonique

iii. Origines inconnues.

Il s'agit d'épilepsies dont l'étiologie et le foyer ne sont pas identifiés. Une reclassification peut être effectuée à postériori.

Les crises peuvent être non motrices (absence), motrices ou inclassables. Le terme inclassable comprend à la fois les crises ne correspondant pas aux autre catégories et celles ne présentant pas assez d'information pour permettre une caractérisation.

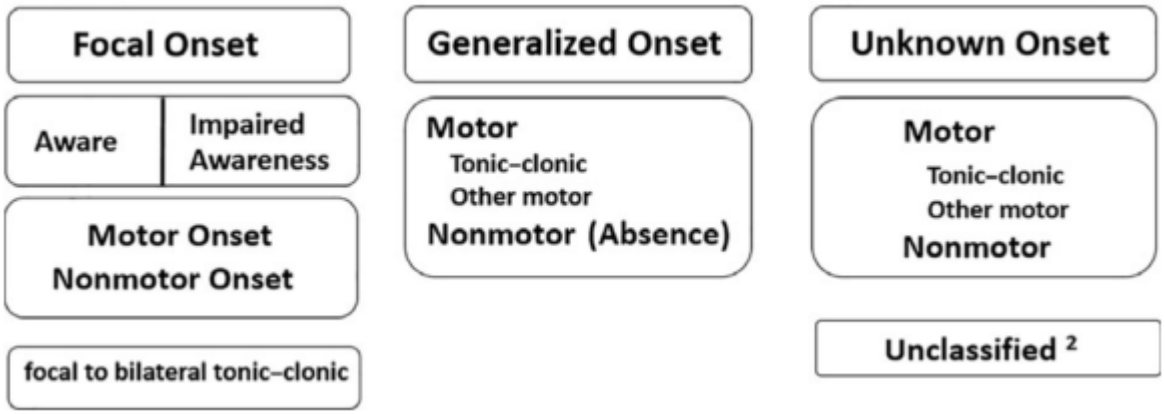


Figure 3: Le cadre de classification des épilepsies de l'ILAE[19].

b. Altération de la conscience du malade pendant une crise.

Ce critère est très important car il est l'un des facteurs déterminants de la sécurité du malade, entraînant un fort handicap et étant une potentielle source de blessure.

Critères	Evaluation des critères
1. Non réactif (0 ou 1)	**Le patient n'exécute pas de simples commandes verbales (ex: tapez dans vos mains).**
2. Absence d'attention visuelle (0 ou 1)	**Le patient présente des réponses inappropriées aux stimuli externes (ex: le patient ne regarde pas l'examinateur pendant l'examen).**
3. Absence d'interaction avec l'examinateur (0 ou 1)	**Le patient ne présente aucun autre signe (que l'attention visuelle) à l'examinateur.**
4. Absence de conscience de la crise (0 ou 1)	**Le patient ne fait pas rapport qu'il est en crise (ex: il n'appelle pas l'examinateur au début de la crise).**
5. Comportement inapproprié (0 ou 1)	**Le patient présente un comportement automatique, non inhibé ou un état de non réactivité.**
6. Amnésie post ictale (0 ou 1)	**Le patient ne se rappelle pas de sa crise.**
7. Amnésie des évènements de crise (0 ou 1)	**Le patient ne se rappelle pas des évènements ayant eu lieu au cours de la crise.**
8. Appréciation globale de la conscience effectuée par un praticien expérimenté (0, 1 ou 2)	**0: pas d'altération. 1: légère altération. 2: altération complète.**

Tableau1: Echelle de la conscience du malade pendant une crise [21]

L'altération de la conscience est un phénomène habituel des épilepsies généralisées, et survient fréquemment dans les épilepsies du lobe temporal (60 à 80% des patients).

Ce phénomène peut être expliqué par le fait que l'épilepsie est un phénomène d'hyper synchronisation entre différentes régions pouvant être distantes des foci de crises. Cette synchronisation excessive empêcherait l'information d'être communiquée au sein de ce réseau car les structures les plus importantes au maintien de la conscience sont en hyper synchronie. Dans le cadre des crises sans altération de conscience, le réseau est moins perturbé permettant ainsi une connexion partielle entre les structures et ainsi le maintien de la conscience.

II. Les épilepsies temporales et leurs traitements actuels.

1. Définition.

Les épilepsies du lobe temporal (ELTs) sont les épilepsies focales les plus courantes. Elles surviennent généralement dès l'enfance ou chez le jeune adulte. Les généralisations secondaires sont exceptionnelles, en dehors de celles ayant conduit au diagnostic initial de la maladie.

Les symptômes les plus courants sont des manifestations viscéro-sensitives (gêne respiratoire, sensation de chaleur ou de froid, sensations épigastriques...), des troubles sensoriels (déjà-vu, déjà-vécu, réminiscence...) ou bien des manifestations émotionnelles (angoisse, peur...). Ces différents signes sont accompagnés de signes végétatifs tels que pâleur, tachycardie, sudation, polypnée ou bradypnée.

L'altération de la conscience est le plus souvent secondaire, mais peut-être absente, même lors de la survenue des automatismes. Ces automatismes sont très souvent de type oro-alimentaire (mâchonnements) de façon précoce à la survenue de la crise, puis de type gestuel plus tardivement.

La phase post-ictale se manifeste généralement par une confusion du malade avec désorientation, un trouble important de la vigilance, une aphasie et également moins fréquemment des manifestations dysthymiques (euphorie, pleurs...). L'amnésie de l'épisode peut être totale.

2. Les sous-types d'épilepsie temporale

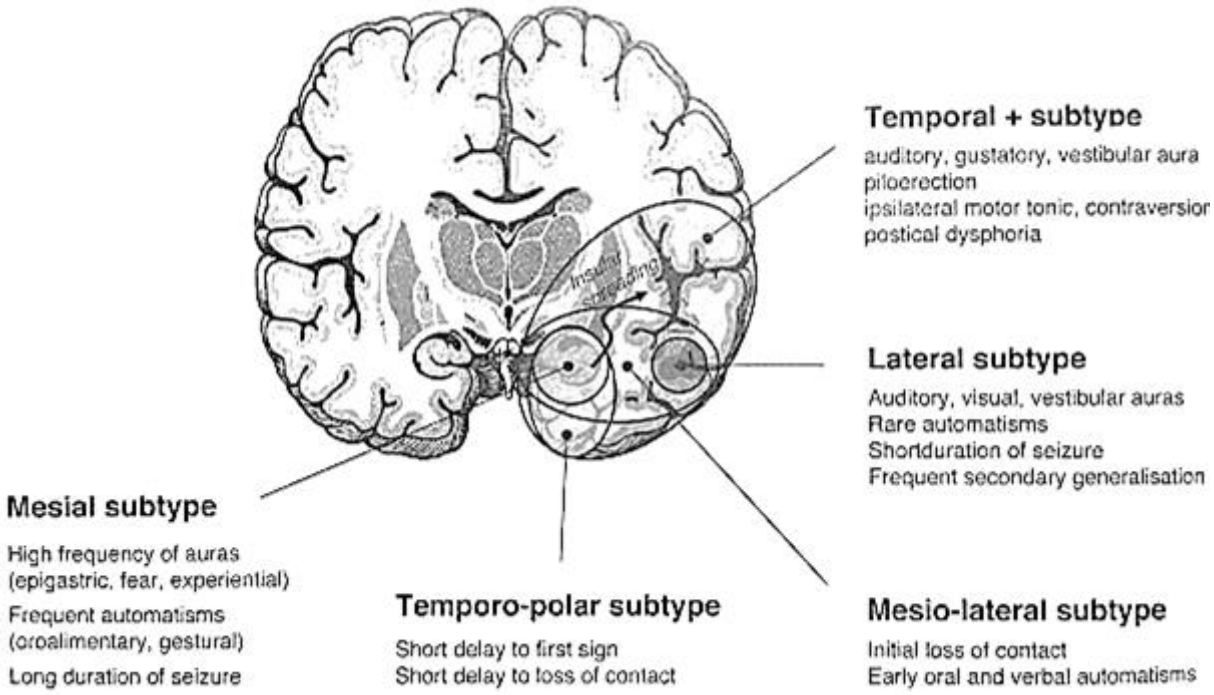


Figure 4: Classification des sous-types de TLE et leurs principales caractéristiques cliniques [22] (adapté de Kahane & Bartolomei [23])

a. Le sous-type mésial.

Le terme MTLE correspond à une TLE présentant un hippocampe sclérosé [24] (visible à l'IRM ou bien en histologie), c'est à dire qu'il présente une perte neuronale responsable d'une atrophie. Cette perte de volume peut cependant être compensée par une gliose astrocytaire.

Diverses études ont tenté de déterminer le rôle de la sclérose hippocampique (SH) dans la génération des crises. Trente-cinq [25] à quarante-huit pourcent [26] des crises d'origine hippocampique, ne sont pas associées à une SH. La SH n'apparait donc pas comme un facteur prédicateur et s'avère donc indépendante d'un focus hippocampique [27]. En effet, dans de nombreux cas de MTLE, les crises commencent dans l'amygdale, ou bien à la fois dans l'amygdale et le l'hippocampe (HPC). D'autres structures mésio-temporales peuvent

également être génératrices potentielles, comme le gyrus parahippocampique [28] ou bien encore le cortex entorhinal (EC) [29].

Ce panel de foci potentiels n'engendre pas forcément de symptômes très différents. Cependant, les enregistrements EEG profonds lors des crises permettent de différentier focus hippocampique et focus extra-hippocampique :

- Un focus hippocampique présente une hyper synchronie des structures à l'amorce de la crise par présence de spikes périodiques de basse fréquence et haute amplitude [30,31] ;
- Un focus du EC dans le cadre d'un couplage HPC/EC présente une émergence initiale de décharges rapides de bas voltage [32].

Il semble donc plus réaliste de considérer toutes ces structures du lobe mésio-temporal comme un réseau épileptogénique dans le cadre de la MTLE [23].

b. Le sous-type temporo-polaire.

Ryvlin & al. a soumis le concept que le pôle temporal pouvait être une région clé dans la genèse de crises [33].

Les premiers signes cliniques ainsi que la perte de contact avec le patient apparaissent plus tôt dans les crises temporo-polaires que dans les crises du MTL, suggérant ainsi le rôle clé joué par le pôle temporal dans la propagation des crises au cortex régional. Comme vu précédemment (II.2.a), ce type de crise commence le plus fréquemment par une activité rapide de bas voltage.

c. Le sous-type mésio-latéral.

Il a été montré qu'un nombre significatif de crises provenant du lobe temporal et se manifestant par des décharges rapides de bas voltage commencent presque simultanément (entre 0 et 3 s de délais) dans les structures mésiales et latérales du lobe temporal [34,35].

Les crises de type mésio-latérales se manifestent le plus fréquemment par une perte de contact initiale ainsi que des automatismes oro-alimentaires, verbaux et vocaux précoces ; recoupant ainsi en partie les symptômes temporo-polaires.

d. Le sous-type latéral.

Les cas sont rares, et présentent généralement des auras auditives ou une perte de contact initiale. Les crises sont courtes, et ont une fréquente tendance à la généralisation dans un second temps [34].

e. Le sous-type temporal « plus ».

Ce terme décrit les épilepsies dans lesquelles le lobe temporal ainsi que les structures avoisinantes sont impliquées (insula, frontal et pariétal opercule, et le carrefour temporo-pariéto occipitale) [36].

Il est possible de différencier une TLE d'une TLE « plus » grâce à certains signes cliniques ictaux : hallucinations gustatives, vertige rotatoire, et illusions auditives au commencement de la crise ; tête et/ou les yeux tournent dans le sens opposé au côté atteint, piloérection et présence de signes moteurs ipsilatéraux pendant le déroulement de la crise ; ainsi qu'une dysphorie après la crise.

3. Les thérapies actuelles.

a. Les médicaments antiépileptiques.

Ces dernières années de plus en plus d'antiépileptiques (AED) ont été découverts et permettent ainsi aux patients et aux médecins d'avoir de nouvelles options de traitement. En effet, depuis 1993 le programme de développement de médicaments anticonvulsivants a contribué à la réussite du développement de plusieurs médicaments cliniquement efficaces pour le traitement symptomatique de l'épilepsie et dont la tolérance et la pharmacocinétique sont meilleures [38]. Malgré le succès apparent du processus de découverte, un besoin important persiste pour rendre plus efficaces et moins toxiques les médicaments antiépileptiques, particulièrement pour 30% des patients dont les crises restent réfractaires aux médicaments actuellement disponibles [39].

Le *tableau 2* liste de façon non exhaustive les principaux AED actuellement utilisés ainsi que leurs modes d'action [40]. Ce mode d'action peut être un critère important dans le choix du médicament le mieux adapté au patient. Au niveau cellulaire, trois mécanismes sont actuellement reconnus : la modulation des canaux voltage dépendant, l'augmentation de la neurotransmission inhibitrice et l'atténuation de la transmission excitatrice.

Nom de la molécule	Formule	*Nom commercial*	Mode d'action présumé
Carbamazépine		*Tégrétol ®*	Inhibiteur des canaux sodium
Clonazepam		*Rivotril®*	Augmentation du GABA
Diazepam		*Valium®*	Augmentation du GABA
Ethosuximide		*Zarontin ®*	Modification des canaux calcium
Gabapentine		*Neurontin®*	Modulation des canaux calcium
Lacosamide		*Vimpat®*	Inhibition des canaux sodium
Levitiracetam		*Keppra*	Modulation des protéines des vésicules synaptiques
Oxcarbazepine		*Trileptal®*	Inhibition des canaux sodium
Phenobarbital		*Gardenal®*	Augmentation du GABA
Phenytoine		*Dihydan®*	Inhibition des canaux sodium
Pregabaline		*Lyrica®*	Modulation des canaux calcium
Tiagabine		*Gabitril®*	Augmentation du GABA
Topiramate		*Topamax®*	Réduction du glutamate, modulation des canaux sodium, modification des canaux calcium

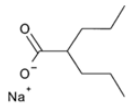
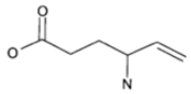
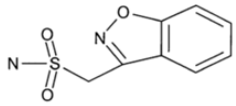
Valproate		***Dépakine®***	**Augmentation du GABA**
Vigabatrine		***Sabril®***	**Augmentation du GABA**
Zonisamide		***Zonegran®***	**Inhibition des canaux sodium**

Tableau 2: Tableau listant les AEDs utilisés [40] et le VIDAL.

De nouvelles thérapies médicamenteuses sont actuellement à l'étude, utilisant des molécules moins sujettes aux effets secondaires. Mais les médicaments ne sont pas toujours efficaces, dans ce cas-là on parle de pharmaco résistance.

i. La pharmaco résistance.

Définition

La Haute Autorité à la Santé préconise la définition suivante :

- persistance des crises ;
- de nature épileptique certaine ;
- suffisamment fréquentes ou invalidantes ;
- chez un patient compilant ;
- suivant depuis au moins 2 ans un traitement antiépileptique correctement prescrit.

Cette définition sous-entend que d'autres éventuelles causes de résistance ont été écartées :

- diagnostic erroné (crises d'origine psychogène ou cardiaque) ;
- posologie insuffisante
- interactions médicamenteuses
- non suivi du traitement
- pathologies associées ou mauvaise hygiène de vie favorisant la survenue de crises.

Il est recommandé que le diagnostic d'épilepsie pharmaco résistante ne soit posé qu'après la prise en monothérapie d'au moins deux AEDs de profils pharmacologiques différents, et d'au moins une association de deux AEDs pendant une durée suffisante pour en apprécier l'effet [41].

Environ 50% des patients nouvellement diagnostiqués ne présenteront plus de crise après la prise d'un premier médicament. Ceux dont le premier traitement aura échoué auront de moins en moins de chance de contrôle de leur épilepsie au fur et à mesure des essais de nouveaux médicaments [39].

Le nombre et la durée des traitements essayés méritent d'être réévalués en fonction de l'âge du patient (chez l'enfant il faut prendre en considération les dommages cognitifs et comportementaux dus à une épilepsie active, ainsi que la meilleure capacité de réorganisation post chirurgie du cerveau immature), et du type d'épilepsie (certaines épilepsies comme l'épilepsie mésio-temporale (MTLE) chez l'adulte ou bien le syndrome de Rasmussen chez l'enfant sont connus pour être pharmaco-résistant dans une grande majorité des cas).

La MTLE est une maladie progressive, la survenue des crises est initialement contrôlée par les AEDs, puis dans 60 à 90% des cas une pharmaco résistance s'installe [42]. La sclérose hippocampique (SH) est l'anormalité histologique la plus fréquente chez les adultes avec pharmaco résistante MTLE (33,6%) [43]. Une comparaison des effets du traitement antiépileptique a été menée entre des patients présentant une TLE avec SH et des patients avec une TLE sans SH [44]. Chez 31 % des patients sans SH le traitement était parfaitement efficace (absence de crise), alors que seul 10 % des patients avec SH ne présentait plus de crise. La présence d'une SH est considérée comme le facteur principal d'une faible efficacité des AEDs.

La qualité de vie (QOL, Quality of Life en anglais) est souvent affectée dans le cadre de maladies chroniques telles que le diabète, l'hypertension et l'épilepsie. La QOL décrit l'exploration de la qualité de vie des patients (comment une personne se sent dans sa vie de tous les jours et son degré d'intégration dans la société active).

Une augmentation du nombre de crises est directement corrélée à la survenue d'anxiété et de dépression. La longueur de la maladie ainsi que la survenue tardive de celle-ci sont également liées à la dépression. Un patient sur deux souffrant d'épilepsie pharmaco résistante s'avère être dépressif, et a ainsi plus de risque de comportements suicidaires ou de passage à l'acte, comparé au reste de la population [45]. Cet aspect négatif sur la QOL est encore plus marqué chez ces patients pharmaco résistants, car en comparaison à ceux en rémission, les patients pharmaco résistants obtiennent des scores moins bons à tous les tests de QOL [46].

Certaines sortes d'épilepsies comme la MTLE entraînent des problèmes cognitifs et de ce fait influencent grandement la QOL. Les fonctions pouvant être touchées par une répétition de crises temporales ainsi que par la présence d'une SH incluent l'intelligence, l'apprentissage, les fonctions visuo-spatiales et la mémorisation.

En 1999 il a été démontré que même l'employabilité était impactée [47]: seulement 35% des patients épileptiques âgés en moyenne de 38 ans ont un travail à plein temps.

ii. La mort subite et inattendue en épilepsie (MSIE)

Elle est également appelée SUDEP (*Sudden Unexpected Death in Epilepsy*) en anglais.

Les patients épileptiques ont un taux de mortalité plus élevé que la population générale.

Les principales causes de mortalité sont les suivantes :

- mort due à un problème neurologique découlant de l'épilepsie
- accident pendant la crise (traumatisme, chute, étouffement)
- SE
- suicide
- MSIE
- mort due au traitement

La MSIE représente entre 8 et 17% des morts épileptiques [48].En 2000 la dépense annuelle pour un patient épileptique aux Etats-Unis était estimée à 12.5 billions de dollars ; l'épilepsie pharmaco résistante représentant une part non négligeable de ces dépenses [49]. Une autre étude a démontré qu'il y a un lien direct entre la dépense et la sévérité de l'épilepsie ; les

patients présentant une pharmaco résistance coûtent huit fois plus cher que ceux dont l'épilepsie est contrôlée [50].

Il est donc important et nécessaire de mettre en place de nouvelles thérapies alternatives à la médication.

b. La chirurgie de résection.

La chirurgie de résection apporte de bons résultats en réduisant la fréquence des crises, par différentes approches : l'amygdalo-hippocampectomie sélective, ou la lobectomie temporale, pour les plus courantes.

Pour qu'un patient puisse être candidat à une chirurgie de résection il doit remplir certains critères :

- un diagnostic avéré d'épilepsie
- une épilepsie intraitable par les médicaments
- une épilepsie invalidante
- un focus pouvant être réséqué
- un patient motivé
- une cause qui n'est pas une pathologie évolutive
- une forte probabilité qu'un meilleur contrôle améliorera la qualité de vie

Si le patient remplit tous ces critères, une évaluation pré chirurgicale ainsi qu'une IRM sont effectuées.

Une résection corticale circonscrite de la zone épileptogène chez des malades ne présentant pas de lésion est appelée topectomie (*Figure 6D*). La localisation et l'extension de la topectomie sont déterminées par la recherche invasive du foyer. Si le lobe temporal est tout ou en partie épileptogène, une lobectomie sera réalisée (*Figure 6C*). Une variante très utilisée il y a quelques années dans le cas d'épilepsies temporales focales consistait à réséquer les 2/3 antérieurs du lobe temporal (*Figure 6B*). Les progrès de ces dernières années, notamment en électrophysiologie ont permis d'adapter les résections au cas par cas.

L'amygdalo-hippocampectomie est aujourd'hui préférée (*Figure 6A*). Elle consiste à réséquer uniquement les amygdales, l'hippocampe et le gyrus parahippocampique du côté atteint, sans toucher au néocortex basal et latéral du lobe temporal.

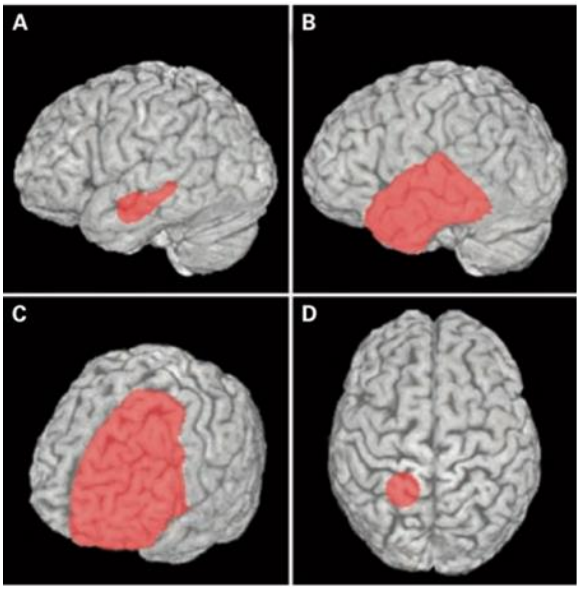


Figure 6: Exemples de techniques standardisées en chirurgie de l'épilepsie [51] :
- **A- Amygdalohippocampectomie sélective**
- **B- Résection antérieure des 2/3 du lobe temporal**
- **C- Lobectomie**
- **D- Topectomie**

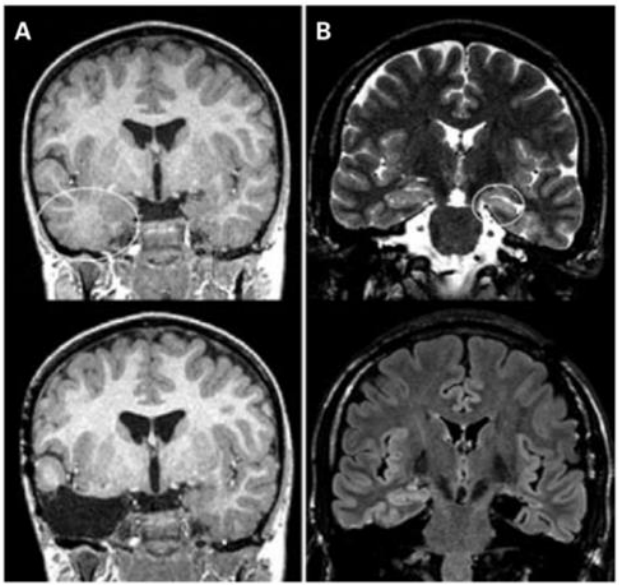


Figure 7: Images IRM préopératoires (série du haut) et postopératoires (série du bas) :
- **A- Résection antérieure des 2/3 du lobe temporal droit dans une dysplasie corticale focale du pôle temporal droit**
- **B- Amygdalohippocampectomie sélective dans une sclérose de l'hippocampe gauche**

Une nouvelle classification a été proposée par l'ILAE concernant les résultats de la résection en prenant en considération la fréquence des crises, *Tableau 3*. Les crises pouvant survenir pendant le mois suivant la chirurgie ne sont pas comptabilisées, et ne sont pas prédictives de la présence de crises à long terme. La classe 3 concerne des crises qui sont le plus souvent nocturnes et tonico-cloniques. Au-delà de la classe 5 pour laquelle la chirurgie n'a ni significativement amélioré ni empiré la situation clinique, on peut considérer que l'épilepsie a été empirée par l'intervention.

Classification	Définition
1	Plus aucune crise ; ni d'auras[1]

2	Plus aucune crise ; que des auras
3	1 à 3 jours par an avec des crises ; ± auras
4	4 jours de crise par an à 50% de réduction de la fréquence de crise ; ± auras
5	Moins de 50% de réduction de la fréquence des crises à 100% d'augmentation de la fréquence de crise ; ± auras
6	Plus de 100% d'augmentation de la fréquence de crise ; ± auras

Tableau 3: Classification des résultats de résection selon l'ILAE [52]
[1] : Une aura est considérée comme une expérience subjective qui n'affecte pas les fonctions du patient

La littérature suggère que les résultats obtenus entre les patients présentant une SH et ceux avec une imagerie IRM normale sont différents. L'étude de Berkovic [53] a montré que 5 ans après la chirurgie, 21% des patients avec une IRM normale ne présentaient plus de crise, contre 50% chez les patients avec une SH. Une absence de crise sur au moins 2 ans est observée par 36% des patients présentant une IRM préopératoire normale, contre 62% pour ceux avec une SH.

Une étude rétrospective a démontré qu'un taux moyen de 70% (33-93%) des patients ayant eu une résection un an auparavant n'avait plus de crise [54]. Dans des études sur un suivi post résection à 5 ans, 62-83% des patients n'avaient plus de crise [55–58]. Ces fortes variations dans les taux peuvent être expliquées par les différences dans les protocoles pharmaceutiques post opératoire : certaines équipes stoppaient les traitements alors que d'autres poursuivaient la médication pré opératoire. Le principal facteur contribuant à ces échec est probablement la résection incomplète de la zone épileptique (une résection incomplète des structures mésio-temporales entraîne un plus fort risque de récidive) [59]. Ces échecs peuvent aussi être dus à un réseau épileptique complexe chez le patient, comprenant un ensemble de régions localisées dans le lobe temporal et à distance des structures avoisinantes [60]. Le pronostique post-chirurgical pourrait ainsi être lié au degré d'extension aux structures sous-corticales du réseau épileptique. Ainsi, le résultat d'une chirurgie de résection serait meilleur chez un patient ayant un faible taux de synchronisation, et moins bon dans le cas d'une forte synchronisation (voir IV).

La chirurgie de résection classique visant à retirer les structures du lobe temporal pourrait ainsi être insuffisante dans certains cas, car elle ne perturberait pas tous les réseaux épileptiques (ceci pourrait être une explication supplémentaire aux échecs).

c. Le gamma knife.

La radio chirurgie ciblant les structures mésio-temporales peut être proposée comme une alternative à une opération à crâne ouvert chez les patients ayant une MTLE associée à une SH, limitant ainsi invasivité et morbidité.

Le gamma-knife permet de délivrer en une seule fois une dose d'irradiation ionisante suffisante pour faire nécroser un volume très précis de tissu sans irradier de façon significative les tissus environnants. Le but est de reproduire sans anesthésie, sans craniotomie, avec une hospitalisation brève et donc à moindre coût, une amygdalo-hippocampectomie sélective. Les signes IRM de la destruction de la région apparaissent 12 mois (± 3) après l'irradiation, souvent précédés d'une période avec une augmentation des auras et de la fréquence des crises [61].

Une étude européenne [62] a été menée sur 21 patients ainsi qu'une étude nord-américaine [63] sur 30 patients. Les résultats coïncident dans ces deux études : observation d'une réduction significative de la fréquence des crises dans la première année et absence de crise chez 65% des patients dès la deuxième année. Le temps de latence moyen avant l'observation d'une baisse de la fréquence des crises est de 9 à 18 mois.

Les effets secondaires à long terme de cette technique restent cependant assez vagues. En effet, Bartolomei & al. [61] indique que les patients suivis pendant plusieurs années présentent principalement des changements de champ visuel, mais aucune aggravation de la mémorisation. D'autres études ont abouti à la même conclusion à propos de l'absence de changements cognitifs [64,65]. Cependant, Statham et al. 1990 décrit trois types de réaction liées au faisceau d'irradiation : des réactions aigues survenant au moment du traitement, des réactions différées qui arrivent quelques semaines à quelques mois après la fin du traitement et des réactions retard qui surviennent plusieurs mois à plusieurs années après. Les réactions aigues et différées s'arrêtent d'elles-mêmes. C'est le cas de Chen et al. 2014 qui rapportent l'apparition d'œdèmes au bout d'un an (qui régressent en plusieurs années) et de migraines accompagnées de nausées et vomissements (pouvant être contrôlés médicalement). Les réactions tardives peuvent être de deux sortes : une perte de volume liée à une atrophie

cérébrale ou une lésion massive mimant une tumeur maligne cliniquement et en imagerie médicale, et pouvant être progressives ou irréversibles [66,68–70].

Le nombre de candidats à pouvoir bénéficier de cette technique est faible car les patients doivent remplir des critères très précis et il faut attendre plusieurs mois avant de pouvoir juger du résultat. L'irradiation par gamma-knife n'empêche pas une éventuelle opération « classique » plus tard.

d. La stimulation du nerf vague.

L'efficacité de la stimulation du nerf vague (VNS) dans le cadre de l'épilepsie a été démontrée chez les chiens [71] et Penry & al. [72] a implanté le premier stimulateur commercial chez le patient.

Le nerf vague est majoritairement composé (pour environ 80%) de fibres nerveuses provenant des tractus gastro intestinaux et pulmonaires, allant jusqu'au cerveau. Ses nombreuses connexions dans le cerveau ainsi que son accessibilité anatomique dans le cou ont fait de ce nerf une cible attractive pour le contrôle de l'épilepsie.

La VNS consiste à délivrer une stimulation électrique intermittente (30 secondes toutes les 5 minutes) sur le trajet cervical du nerf. Les pulses électriques sont générés par un générateur implanté sous la clavicule et délivrés par une électrode enroulée autour du faisceau ascendant gauche du nerf (*Figure 8*).

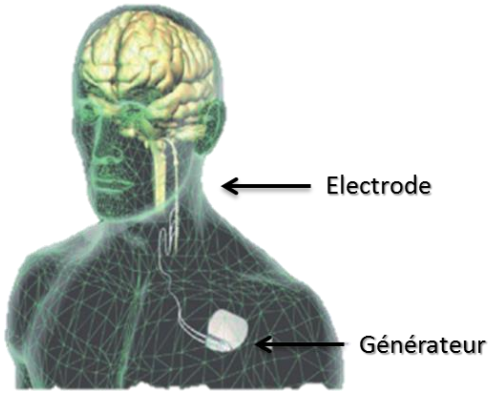


Figure 8: Emplacement de l'électrode et du générateur

Le taux de patients répondeurs (patients chez lesquels la fréquence des crises diminue d'au moins 50%) est de 37% après un an de stimulation et de 44% après 2 ans de stimulation [73].

Cependant il semblerait que certains facteurs puissent influencer l'efficacité de la VNS. Le type de crise reste un sujet controversé. Certains disent que la VNS est surtout efficace sur les crises multifocales [74], d'autres qu'elle est plus efficace sur les MTLE bilatérales ou unilatérales. Il a été montré une amélioration graduelle de l'effet de la VNS sur la fréquence des crises évaluée avant l'implantation chez des patients ayant une MTLE bilatérale [75,76] (4,2% ; 18,2% ; 34,4% et 42,2% & 30% puis 60% respectivement à 3 mois, 6 mois, 12 mois et 18 mois). Les meilleurs résultats de l'étude de Casazza & al. [77] ont été obtenus chez les patients stimulés unilatéralement ayant un focus situé dans le lobe temporal (plus de 50% de diminution du nombre total de crises par mois).

L'étiologie de l'épilepsie porte également à débat : certains ont établi le constat que le taux de répondeurs est plus important chez les patients porteurs d'une malformation du développement cortical (66% des patients sont répondeurs à 1 an, puis à 2 ans 100% des patients le sont) que chez les patients présentant une IRM normale (seulement 38.5% des patients sont répondeurs à 2 ans). La VNS peut être envisagée après l'échec d'une chirurgie intracrânienne. Le taux de réponse est alors le même que celui des patients n'ayant pas eu de chirurgie de résection [74].

La désynchronisation de l'EEG a tout d'abord été proposée comme étant le mécanisme de l'effet antiépileptique de la VNS [78,79]. Il a été confirmé récemment que les patients qui répondaient bien à la VNS avaient un niveau de synchronisation de l'EEG plus bas pendant les périodes interictales, et que les périodes ON stimulation étaient accompagnées d'une baisse de cette synchronisation [80]. Il a été observé le même phénomène sur la connectivité entre les différentes structures impliquées dans le réseau épileptique lors d'enregistrements intra cérébraux [81] : les patients présentant une diminution de la connectivité sont répondeurs à la VNS.

e. La stimulation cérébrale profonde.

Certains patients souffrant d'épilepsie temporale pharmaco résistante ne sont pas de bons candidats à la résection et la stimulation cérébrale profonde (SCP) pourrait être une alternative thérapeutique intéressante pour eux. Plusieurs études ont démontré depuis de nombreuses années maintenant l'efficacité de la SCP dans différents types d'épilepsie [82–90] et notamment dans les MTLE [91–101]. Pour les MTLE, une SCP au niveau de l'hippocampe (HPC) ou du complexe amygdalien, c'est-à-dire à proximité du foyer a été proposée aux patients. Une SCP du ANT, qui serait une des structures par laquelle les MTLE seraient contrôlables, a aussi été évaluée.

VOIR PARTIE V

Afin de pouvoir tester de nouvelles stratégies thérapeutiques, et notamment des cibles et des paradigmes de stimulation innovants, il est primordial d'avoir à disposition des modèles animaux reproduisant fidèlement la pathologie épileptique.

De nombreux modèles d'épilepsie chez divers animaux plus ou moins éloignés anatomiquement de l'Homme sont déjà connus et caractérisés.

III. Les modèles animaux dans l'épilepsie.

Dans le cas de l'épilepsie, la modélisation animale est nécessaire afin de pouvoir comprendre la physiopathologie de la maladie et proposer de nouveaux traitements. En effet, les mécanismes et circuits à l'origine de chacune des formes particulières d'épilepsie impliquent un niveau d'intégration très difficilement abordable in vitro.

Un modèle animal se définit comme une préparation simplifiée permettant d'étudier, dans des conditions de laboratoire, la physiopathologie ainsi que le traitement d'une maladie. Pour permettre une extrapolation optimale des résultats obtenus grâce à un modèle animal, il faut que celui-ci réponde aux 3 critères suivant [102]:

- L'isomorphisme, ou similarité des symptômes ;
- La prédictibilité, ou efficacité pharmacologique identique ;
- L'homologie, ou similitude étiologique.

L'examen de l'EEG et du comportement est indispensable afin de déterminer la forme d'épilepsie humaine à laquelle le modèle se rapporte, en particulier lorsqu'il s'agit d'animaux éloignés comme le rat ou la souris. De nombreux traitements antiépileptiques ont été développés ces dernières années, facilitant ainsi la validation du critère de prédictibilité. Enfin, le critère d'homologie reste le plus compliqué à vérifier, car dans de nombreux cas l'étiologie de l'épilepsie n'est pas connue. La similitude du facteur déclenchant, des circuits nerveux ou bien de l'atteinte histologique permettent de déterminer ce critère de façon satisfaisante.

Plusieurs modèles animaux ont été décrits depuis une cinquantaine d'années, essentiellement chez le rongeur, mais également chez le chat et quelques primates. Parmi tous ces modèles on peut distinguer (*Figure 9*) :

- Les modèles d'épilepsie génétique, qui utilisent des lignées d'animaux ayant une mutation entraînant la survenue de crises, ou des animaux sensibles à certains facteurs entraînant une épilepsie réflexe ;
- Les modèles d'épilepsie induite, qui utilisent des animaux sains chez lesquels la ou les crises sont induites par injection d'une drogue ou par une stimulation électrique.

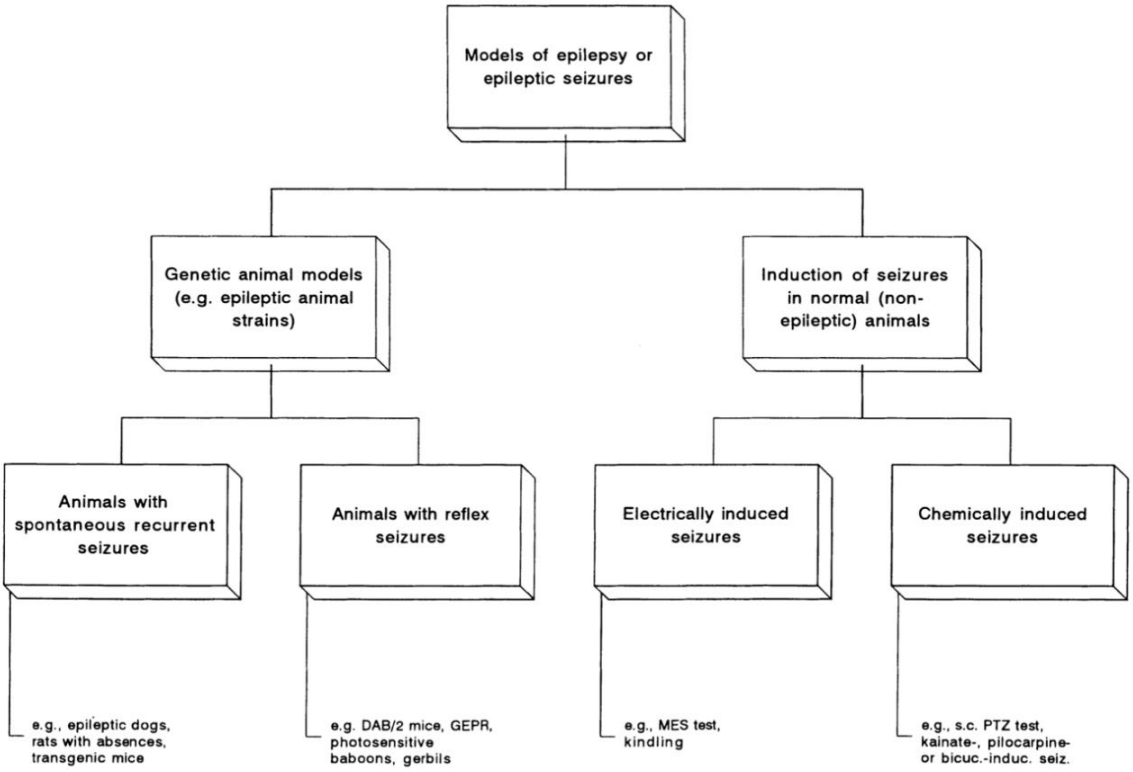


Figure 9: Classification des modèles animaux d'épilepsie et de crises épileptiques [103].

1. Les modèles d'épilepsie génétique.

a. Les modèles de mutation.

Des décharges spontanées de pointes-ondes ont été observées lors d'EEG chez le rat ou la souris provenant de certains laboratoires ou élevages. Chez la souris divers mutations en seraient à l'origine (souris « léthargiques », « tottering »… [104].

Chez le rat, le Wistar GAERS (*genetic absence-epilepsy rats of Strasbourg*) [105] et le *WAG/Rij* [106] sont les plus étudiés. Dans ces deux lignées, 100% des animaux présentent des décharges pointes-ondes bilatérales synchrones. Simultanément à ces décharges les animaux stoppent tout comportement actif. Chez le GAERS ces décharges se manifestent généralement lors d'un état de veille calme. Les premières décharges sont observées à l'âge de 30 jours chez le rat

GAERS. Elles augmentent en nombre, durée et fréquence avec l'âge et persistent jusqu'à la mort de l'animal. La transmission de la mutation est autosomique dominante.

2. Les modèles d'épilepsie induite.

a. Le modèle kindling de l'épilepsie du lobe temporal.

Le kindling est le fait que « la crise va engendrer la crise ». Un évènement ictal initialement confiné à une structure, va avoir tendance, si il n'est pas perturbé (par un traitement antiépileptique par exemple) à augmenter en intensité et à diffuser.

Ce phénomène a été caractérisé chez le rat [107]. Les animaux étaient implantés de façon chronique dans l'amygdale et ont développé des évènements inter ictaux dans un premier temps au moment de la stimulation. D'autres sessions de stimulation ont entraîné la survenue progressive de crises, l'évolution suivant généralement les stades suivants [108]:

1. Immobilité, clonies de la face, yeux fermés, reniflements stéréotypés ;
2. Mouvements de tête, souvent accompagnés de clonies de la face plus sévères ;
3. Clonies unilatérales des membres antérieurs ;
4. L'animal se cabre, clonies bilatérales des membres antérieurs ;
5. L'animal cherche constamment à se cabrer puis tombe en arrière, chute accompagnée d'une généralisation secondaire.

Les comportements observés dans les 2 premières étapes correspondent à ce qui est également observé chez le patient dans le cadre d'épilepsies focales (limbiques ou temporales) ; et les 3 derniers stades font penser à ce qui est observé dans les épilepsies focales généralisant secondairement. Plus le phénomène de kindling est sévère, plus les évènements inter ictaux accompagnés des crises sont fréquents et augmentent en durée et en amplitude. Une fois le stade 5 atteint, l'animal présente des changements permanents dans sa structure cérébrale [109].

Si les stimulations entraînant le kindling sont poursuivies, l'animal développera des crises spontanées, le phénomène de kindling ayant ainsi entraîné une épileptogénèse.

Ces crises spontanées présentent les même symptômes qui celles observées chez l'animal stimulé, et ont été observées chez le rat, le babouin, le chat et le chien [110].

Les deux modèles suivants (kaïnate et pilocarpine) sont des modèles de SE.

Trousseau en 1867 définit le SE comme « une condition convulsive quasi continue ». La dernière définition datant de 2015 [111] propose une vision à 2 dimensions : il s'agit tout d'abord du point à partir duquel un traitement devrait commencer à être administré, et au moment où des conséquences à long terme (perte neuronale, déficits…) peuvent commencer à apparaître.

b. Le modèle kaïnate.

L'acide kaïnique (ou kaïnate KA) est un acide présent naturellement dans certaines algues marines. Il s'agit d'un agoniste des récepteurs kaïnates, qui font partie des récepteurs glutamatergique (excitateurs). Le KA est généralement utilisé comme modèle de l'épilepsie du lobe temporale [112].

L'une des premières études montrant l'effet du KA sur les neurones de l'HPC date de 1978 (Nadler, Perry, & Cotman). Ces expériences menées dans les années 80 se faisaient sur rats anesthésiés auxquels été injectée une très faible dose de KA. C'est pourquoi une faible proportion d'animaux présentait des crises spontanées [114] et ceux qui faisaient des crises spontanées n'en avaient généralement plus au bout de 30 jours après l'injection [115]. Ce n'est que récemment que le KA a été injecté sur rat éveillé afin d'éviter les effets anti épileptiques des anesthésiques [116]. Il a été montré dans différentes études qu'une injection de KA dans l'HPC entraînait le développement de crises temporales spontanées chez 87% des rats 8 semaines après le SE et que tous les rats traités présentaient une épilepsie permanente 10 mois après [117,118].

Ce modèle d'injection intracérébrale de KA est un bon modèle de MTLE car il reproduit les changements histologiques typiques de la maladie chez le rat comme chez le primate [119,120]. Cependant, l'animal doit survivre à la phase de crises aiguë induite par l'injection du KA, avant de présenter une épilepsie chronique, ce qui, en plus d'être associé à un taux de mortalité important, peut prendre du temps et reste difficile à contrôler.

c. Le modèle pilocarpine.

La pilocarpine est un agoniste cholinergique se fixant sur les récepteurs muscariniques. Ce modèle est principalement utilisé chez le rat. La drogue est administrée par voie intrapéritonéale ou bien est directement injectée dans l'HPC. La différence entre ces deux modes d'administration n'est pas très grande, hormis un meilleur taux de survie chez les animaux injectés au niveau du focus [121]. La pilocarpine agit sur les cellules du cortex enthorinal, puis l'activité se propage au gyrus dente (GD) et à l'amygdale [122].

Tout comme pour le KA, l'injection de pilocarpine entraînera la survenue de crises chroniques si l'animal survie à la phase aiguë. Les premières crises spontanées apparaissent généralement 5 à 10 jours après le SE induit par l'injection de la pilocarpine [123]. Ces crises sont similaires à celles observées lors des stades 4 et 5 du modèle kindling, et apparaissent encore pendant plusieurs semaines après le SE.

La pilocarpine entraîne des lésions cérébrales diffuses dans des zones où normalement il ne devrait pas en avoir dans les MTLE.

d. Les modèles d'application locale de métaux ou toxines.

L'apparition de crises spontanées récurrentes a été observée dans certains modèles d'épilepsie focale suite à l'application (souvent corticale) de métal ou de sels de métaux, tels que l'aluminium hydroxyde, le cobalt ou le fer ; tout particulièrement chez le primate [124,125].

Une petite pièce de cobalt insérée dans le cortex va entraîner au bout de cinq jours [126] la survenue de crises focales, mais élément généralisées. Le plus haut taux de fréquence de crise

est atteint à une semaine post insertion de cobalt, puis diminue jusqu'à disparaître dans la deuxième semaine. L'action du cobalt est encore mal déterminée, mais plusieurs hypothèses restent plausibles : l'altération de la communication neuronale au point d'insertion [127], l'altération sélective par le cobalt des neurones inhibiteurs [128], l'action directe du cobalt sur les récepteurs post synaptiques excitateurs [129] ainsi que le fait que le cobalt interfèrerait sur la recapture du glutamate [130]. La disparition des crises suggère que le cerveau est capable de compenser la présence de cobalt après un certain temps, mais ce mécanisme n'est pour le moment toujours pas expliqué de façon certaine.

Ces modèles avec métaux ne sont plus que peu répandus, car incertains et peu fiables dans le temps, et donc difficilement utilisables dans le cadre de tests de drogues anti épileptiques.

Un autre modèle d'épilepsie focale a été obtenu en injectant de la toxine tétanique dans le neocortex ou l'HPC du rat [131]. Un jour après l'injection d'une faible dose de la toxine, des événements inter-ictaux sont apparus et ont duré jusqu'à 9 mois.

Ce modèle reste également difficilement contrôlable et est donc peu utilisé.

e. Le modèle GHB.

Le gamma-hydroxybutyrate (GHB) est un agoniste de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) qui induit des décharges paroxystiques bilatérales régulières quand administré par voie systémique à différents mammifères (rat, chat, singe), et accompagné d'un arrêt du comportement de l'animal pendant environ 1 heure après l'injection. Chez les animaux pré traités à la pénicilline (PNC) ou au pentylènetrazole (PTZ), l'effet peut durer jusqu'à 2 heures [132].

L'avantage de ce composé est la rapidité d'apparition de ses effets [133].

f. Le modèle PTZ.

Le pentylènetrazole (PTZ) est un antagoniste du GABA qui induit des crises dans les minutes qui suivent l'injection systémique chez la souris, le rat, le chat ou le primate [134]. En fonction de la dose injectée, différents types de crises surviennent [132]. Les effets sont temporaires.

A faible dose les animaux ont des arrêts de comportement de quelques secondes accompagnés de décharges bilatérales et synchrones de pointes ondes. Ces décharges présentent des similitudes sur le point symptomatique et pharmacologique avec les épilepsies de type absence chez l'Homme. La répétition des injections à cette dose entraîne la survenue progressive de crises généralisées motrices.

A plus forte dose, le PTZ induit des secousses myocloniques suivies de crises motrices généralisées, qui présentent des similitudes avec les crises motrices généralisées chez l'Homme.

g. Le modèle pénicilline.

Ce modèle a été découvert en 1945 par Walker & Johnson [135] chez le primate et le chat. La pénicilline injectée au niveau du focus va agir comme un antagoniste de l'inhibition (du GABA) des neurones [136]. Il s'agit d'un modèle de crises d'épilepsie, car il n'est pas chronique. Les crises surviennent pendant un certain laps de temps après chaque injection et avec un temps de latence assez court.

La PNC peut être injectée en intra péritonéale, intra musculaire ou directement dans une zone précise du cerveau si le modèle voulu est focale.

Ce modèle est transposable à plusieurs animaux comme le rat, le lapin, le chat, le mouton et le primate. Les effets de la PNC ne sont pas les mêmes en fonction de l'espèce. Le rat présente plutôt des signes moteurs et une épilepsie multifocale [137], le lapin des crises motrices désordonnées contrairement au chat qui fait des crises motrices généralisées [138,139], le mouton ne fait pas de crise il ne présente que des évènements inter ictaux [140] et le singe présente une épilepsie différente en fonction du site d'injection [141].

IV. Epilepsie et notion de réseau.

Le concept de réseau est une notion complexe, proposée afin d'identifier les structures anatomiques mises en jeu dans l'épilepsie, ce qui est particulièrement important pour les traitements chirurgicaux de l'épilepsie.

1. Le concept.

Ce concept n'est pas nouveau. En 2002 Spencer [142] a proposé le concept d'épilepsie : maladie de réseaux, qu'elle définit comme « fonctionnellement et anatomiquement connectés, représentés bilatéralement comme un ou plusieurs ensembles de structures corticales et sous-corticales ainsi que de régions dans lesquelles l'activité d'une partie affecte l'activité de toutes les autres ». En se basant sur des observations cliniques, des enregistrements EEG intra-crâniaux ainsi que des études en neuro imageries elle définit trois réseaux : le réseau médial temporal/limbique, qui est le plus connu (composé de l'hippocampe, l'amygdale, le cortex entorhinal, le neocortex latéral ainsi que de composants extra temporal du thalamus médian et du lobe frontal inférieur) ; ainsi que deux autres réseaux : le médial occipital/latéral temporal et le supérieur pariétal/médial frontal. Ce concept fut repris [143] en montrant l'importance du réseau thalamo-cortical dans les épilepsies généralisées notamment, et en soulignant les interactions entre l'activité du réseau et les processus physiologiques dans le cerveau. Wendling & al. [144] ont décrit, grâce aux enregistrements stéréo-EEG de crises du MTL, l'apparition précoce et synchrone d'une activité rapide de bas voltage au sein des structures impliquées du MTL. Puis de plus hautes fréquences suivent pendant 5 à 10 s, et au fur et à mesure de l'installation de la crise la fréquence du signal diminue et l'amplitude augmente progressivement. L'activité devient alors rythmique et synchrone entre les différentes régions du réseau. C'est pendant cette phase que les symptômes cliniques peuvent être observés. Puis, quelques dizaines de secondes après les changements initiaux de l'EEG, la crise stoppe de façon abrupte. Ce mécanisme d'arrêt brutal des crises du MTL pourrait être potentiellement dû à un recrutement du thalamus et à une augmentation de la synchronisation thalamo-corticale [145]. Cette hyper-synchronie pourrait alors entraîner une hyperpolarisation massive et simultanée au sein du réseau, qui entrainerait in fine la fin de la crise [146].

2. Le démarrage des crises.

La survenue des crises est caractérisée par de brusques changements des rythmes du cerveau. Sept patterns de démarrage de crise ont été observés dans divers épilepsies focales et résistantes aux drogues [147]. Le pattern le plus courant, observé dans toutes les sortes d'épilepsie de l'étude, consiste en des décharges rapides de bas voltage. Ces décharges peuvent être précédées sur l'EEG par des spikes pré ictaux ou des trains de spikes. Les fréquences impliquées vont de 15 à 30 Hz dans les crises du MTL, jusqu'à 100 Hz pour les crises néocorticales. Les démarrages de crise caractérisés par ces décharges impliquent généralement d'autres sites distants de façon quasi synchrone. Dans le cadre d'une MTLE, un second pattern de démarrage de crise signifiant un focus plus « régional » peut également être présent [32] : une présence de décharges rapides sans spiking pré ictal. La corrélation entre les structures du réseau est maximum avant la survenue de ces décharges rapides, puis diminue pendant ces décharges [148], avant d'augmenter à nouveau pendant la crise. Ce pattern de synchronisation/désynchronisation est une propriété caractéristique des régions formant la zone épileptogène.

3. Le maintien et la propagation des crises.

Les changements d'organisation lors des crises montrent une tendance allant dans le sens d'un réseau plus ordonné [149].

La plus forte augmentation de synchronie du réseau est observée lors de la diffusion et de la fin de la crise [150]. Les premiers signes cliniques sont observés quelques secondes après le démarrage de la crise. Ces symptômes peuvent être dus à une activation anormale des réseaux neuronaux physiologiques par les rythmes épileptiques, ou bien au contraire à l'arrêt des mécanismes dirigeant les fonctions normales du cerveau. Cette synchronisation excessive peut aussi être la cause du mécanisme entraînant l'altération de la conscience, en interférant avec les mécanismes de maintien de la conscience [21].

Dans les crises temporales, le thalamus joue un rôle important dans les changements de connectivité : la synchronisation des oscillations thalamo-corticales joue un rôle d'amplificateur et de transmetteur [60,151] pendant la crise, mais n'a pas de rôle majeur au démarrage. Le thalamus est constitué de nombreux noyaux, chacun ayant des connexions thalamo-corticales spécifiques. Il a été montré que le noyau médial du pulvinar est fortement connecté aux structures mésio-temporales [152], de plus il reçoit des afférences sous-corticales et il projette de façon diffuse sur le cortex [153], renforçant ainsi la propagation du signal.

4. L'arrêt des crises.

L'arrêt des crises correspond à une augmentation de la synchronisation [145]. Dans le cadre des épilepsies temporales, la synchronisation thalamo-corticale est significativement plus élevée à la fin de la crise qu'au début et est corrélée négativement avec la durée de la crise. En effet, une augmentation du niveau de synchronisation thalamo-corticale à la fin de la crise correspond à une diminution de sa durée. Certaines crises se terminent par un pattern particulier de pointes-ondes, cela traduit une forte synchronisation thalamo-corticale prolongée avec une participation importante des efférences du thalamus. Dans ce sous-groupe de crises, le thalamus semble avoir un rôle de contrôle sur les autres structures du lobe temporal, en entraînant une hyper synchronisation qui amènera à la fin de crise.

5. En dehors des crises.

Dans le cadre des épilepsies focales, l'état interictal est caractérisé par la présence de biomarqueurs électrophysiologiques de la pathologie. L'anomalie la plus courante est le spike interictal, généralement lié au foyer de la crise (aussi appelé « zone réactive » [154], c'est à dire impliquée dans la genèse des crises et des spikes interictaux), mais qui peut également apparaître dans des régions plus distantes de la zone réactive (« zone réactive secondaire » [154], impliquée uniquement dans la genèse de spikes interictaux). De nombreux patients

présentent une dissociation entre ces deux zones présentant une forte épileptogénicité ou bien une activité interictale prononcée.

Le couplage entre les structures mésio-temporales appartenant aux zones épileptogènes et réactives est augmenté par rapport aux régions épargnées par les décharges épileptiques [154], et la connectivité fonctionnelle est orientée de façon préférentielle depuis les zones impliquées vers les régions épargnées par les décharges.

Cette notion de réseau souligne le lien entre synchronisation anormale et épileptogénicité. Ce lien pertinent est intéressant pour de nouvelles approches thérapeutiques. En effet, une diminution de cette synchronie pourrait entraîner une diminution des crises.

6. Le réseau thalamo-cortical.

a. Le système limbique.

Le système limbique est un système complexe de l'encéphale. Ce système a tout d'abord été décrit par Thomas Willis qui le nommait « the limbus » dès 1664 [155]. Puis en 1878 Paul Broca le surnomma « le grande lobe limbique » et le décrit comme un anneau entourant le hile des deux hémisphères (Broca 1878). Puis James Papez émis le postulat que la base anatomique des émotions se situait dans l'hypothalamus, le ANT, le gyrus cingulaire, l'HPC et leurs connexions [156]. C'est en 1949 que Mac Lean appela cet ensemble de structures et de fibres le « système limbique » [157], et en 1961 Nauta en donna une définition élargie au mésencéphale [158].

Au sein même de ce système, il existe des relations spécifiques entre différentes structures, comme le circuit hippocampo-mamillo-thalamique-cingulaire, aussi appelé circuit de Papez et impliqué dans la MTLE [159].

i. Le circuit de Papez.

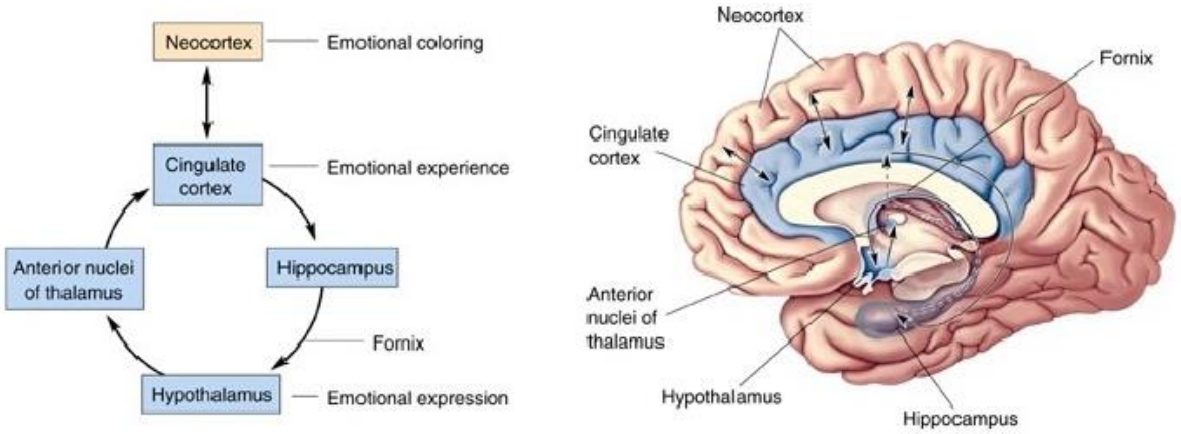


Figure 10: Schématisation du circuit de Papez
Wolters Kluwer

James Papez, un neurologue américain, suggéra l'existence d'un « système de l'émotion », situé dans la paroi médiane du cerveau, reliant les cortex à l'hypothalamus. La *figure 10* montre les structures reconnues comme circuit de Papez, chaque élément étant connecté à un autre par les fibres d'un réseau majeur.

L'hypothalamus contrôle l'expression comportementale des émotions. Ils influent l'un sur l'autre avec le neocortex, ce qui entraîne le fait que expérience et expression des émotions sont étroitement liées. Le cortex cingulaire agit sur l'hypothalamus via l'HPC (voie efférente de l'HPC), alors que l'hypothalamus agit sur le cortex cingulaire via le ANT. Il y a donc une communication à double sens entre le cortex et l'hypothalamus.

Les études neuroanatomiques ont donc démontré que les structures du circuit de Papez sont étroitement liées comme ce dernier le prétendait. Cependant il n'y a que peu d'évidences que chacune d'entre elles soient impliquées dans l'émotion. Une des raisons pour lesquelles Papez pensait que l'HPC était impliqué dans l'émotion était la sensibilité de cette structure au virus de la rage. La présence de corps anormaux dans le cytoplasme des neurones, et en particulier dans l'HPC, est une aide au diagnostic et un signe de l'infection par le virus. La rage étant caractérisée par des réactions émotionnelles très fortes telle qu'une peur ou une agressivité accrues, Papez en a conclu que l'HPC devait sans doute être associé à une expérience

émotionnelle. Rien ne prouve le rôle précis du ANT, mais des études cliniques ont montré que des lésions de cette région entraînaient de forts troubles émotionnels.

ii. L'hippocampe.

Les structures jouant un rôle clé dans la consolidation de la mémoire déclarative sont l'HPC et les aires corticales proches, ainsi que les voies neuronales qui relient ces structures à d'autres parties du cerveau. Trois régions importantes se situent ventralement par rapport à l'hippocampe : le cortex entorhinal, le cortex périrhinal et le cortex parahippocampique (*Figure 11*).

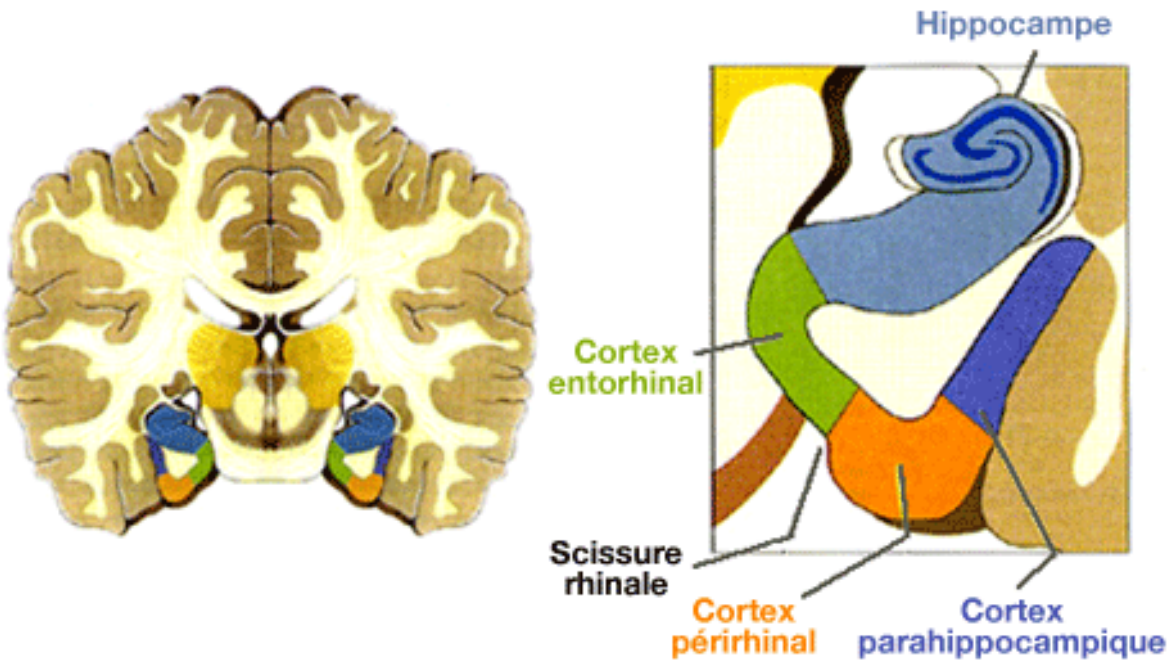


Figure 11: Coupe frontale des structures du lobe temporal médian impliquées dans la formation de la mémoire déclarative [160].

Les informations proviennent des aires corticales associatives qui sont des régions de forte intégration de modalités sensorielles. Elles atteignent tout d'abord le cortex rhinal et parahippocampique, avant de rejoindre l'HPC, puis via le fornix la boucle se termine dans l'hypothalamus (*Figure 12*).

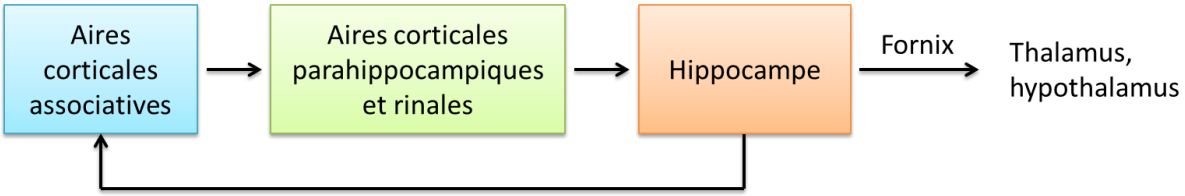


Figure 12: Cheminement des informations au travers du lobe temporal médian.

iii. Le noyau antérieur du thalamus.

Le groupe du ANT est composé des noyaux antérieur dorsal (AD), antérieur ventral (AV) et antérieur médian (AM). L'ensemble de ces noyaux est encapsulé dans des fibres myélinisées qui constituent une protubérance antérieure du système intralaminaire. Cela forme un bulbe proéminant sur la face antérieure du thalamus.

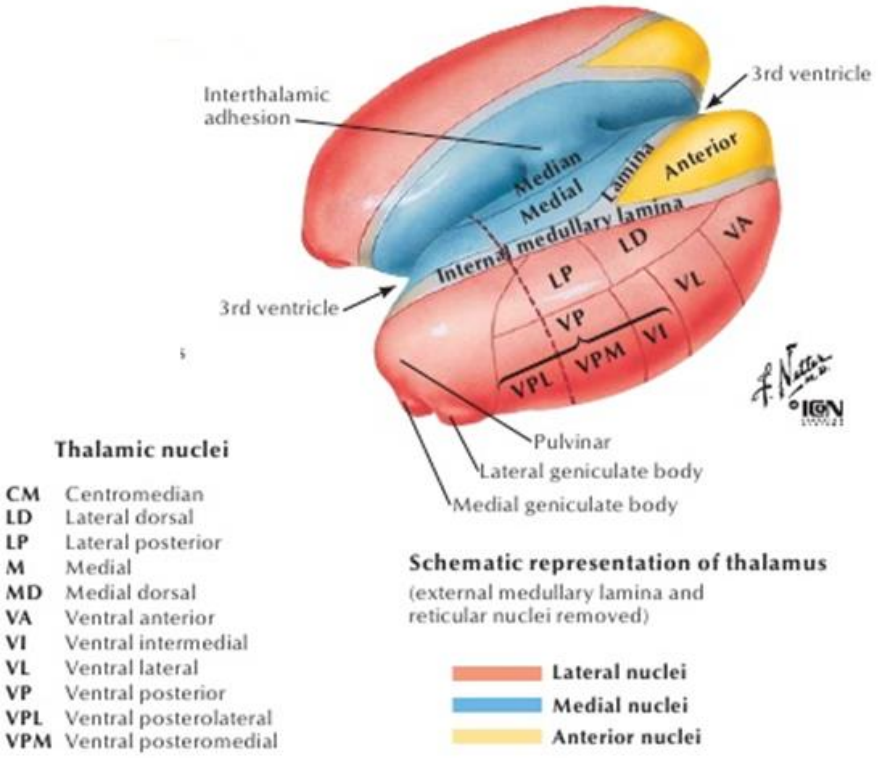


Figure 13: Schéma représentant les différents noyaux du thalamus.

Le ANT est composé de 3 subdivisions ayant un pattern de connectivité différent et faisant ainsi partie des 3 sous-systèmes de mémorisation impliquant l'HPC, les corps mamillaires et le néocortex [161] (*Figure 13 - Tableau 4*).

Sub-noyau	Afférences corticales	Afférences provenant des corps mamillaires	Efférences corticales	Fonctions supposées
Antero-médial	Cortex subiculaire	Noyau médian (partie médiane)	Cortex cingulaire Cortex préfronal	Transmission des signaux de l'hippocampe aux zones préfrontales qui jouent un rôle dans les fonctions cognitives, émotionnelles et exécutives
Antéro-ventral	Cortex rétrosplénial	Noyan médian (partie latérale)	Cortex subiculaire (via le cortex rétrosplénial)	Transmission de l'activité critique théta pour la plasticité dans le circuit hippocampique
Antéro-dorsal	Cortex rétrosplénial	Noyau latéral	Cortex subiculaire	Transmission des signaux nécessaires à la navigation spatiale

Tableau 4: Tableau résumant les différentes afférences et efférences du Noyau Antérieur du Thalamus.

Le noyau antéro-médial possède de nombreuses connexions réciproques avec le cortex cingulaire et relaie les informations du cortex subiculaire, du cortex rétrosplénial et du noyau médian des corps mamillaires au lobe frontal.

Le noyau antéro-ventral a de nombreuses interactions avec les cortex subiculaire et rétrosplénial, qui ensemble avec le noyau mamillaire médian transmettent les rythmes thêta au circuit hippocampique.

Le noyau antéro-dorsal est connecté avec le noyau latéral des corps mamillaires, les cortex subiculaire et rétrosplénial, et transmettent les signaux nécessaires à la navigation.

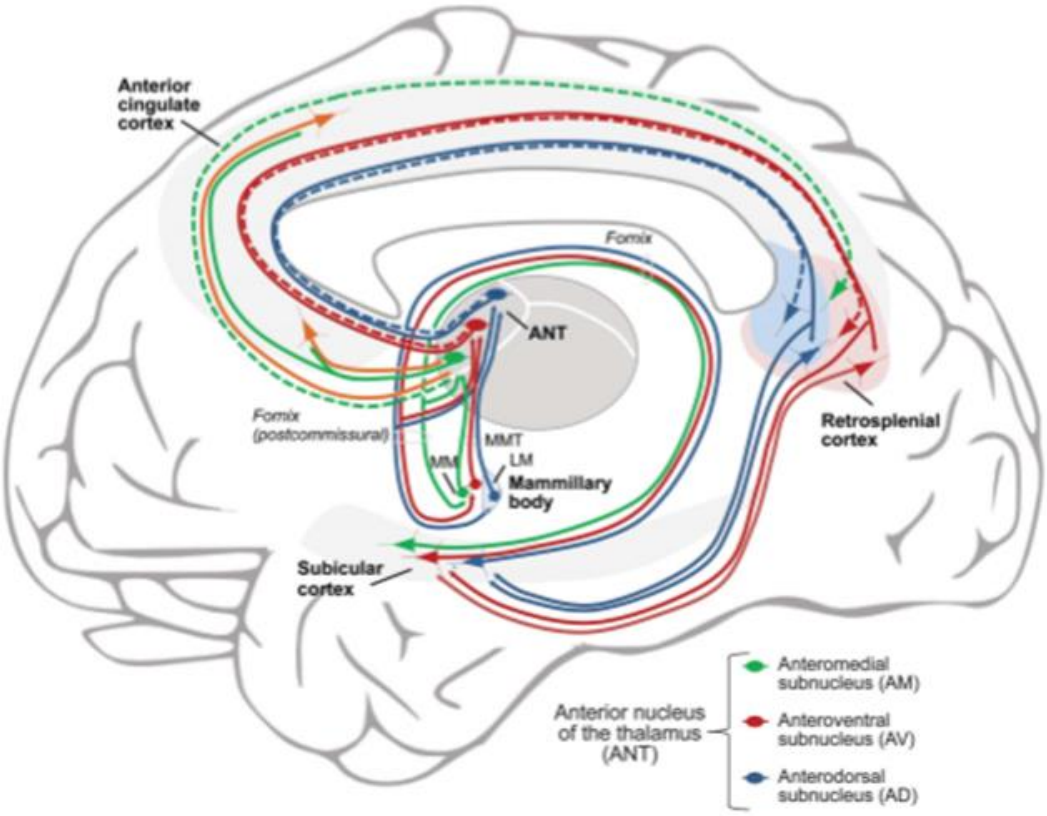


Figure 14: Connexions principales du Noyau Antérieur du Thalamus [162].

Il existe 2 voies différentes reliant le cortex subiculaire au ANT via le fornix : une voie directe, et une voie indirecte (passant par les corps mamillaires et la voie mamillo-thalamique).

Ces 2 voies sont complémentaires.

Ces différents circuits en série incluant le ANT (*Figure 14*) jouent un rôle dans la mémorisation épisodique.

Les noyaux médians et latéraux des corps mamillaires assurent 2 systèmes parallèles allant au ANT, et servent ainsi à différents aspects de la mémoire épisodique. Le noyau latéral spécifiquement transporte des signaux critiques à la navigation dans l'espace et à l'influence sur la mémoire visuelle. Le cortex rétrosplénial est activé pendant la navigation spatiale et les tâches de mémoire épisodique, mais également lors de l'imagination de futures expériences.

b. Le réseau thalamo-cortical dans les MTLEs.

Dans ces crises un couplage fonctionnel entre différentes régions appartenant aux structures mésiales est observé.

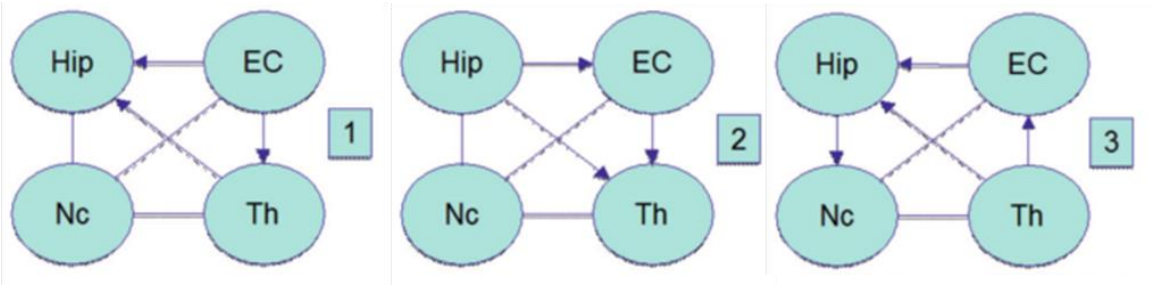


Figure 15: Scénario de couplages thalamo-corticaux et cortico-corticaux dans le cadre d'un recrutement précoce du thalamus [32].
Les trois périodes ictales sont représentées : 1/démarrage de la crise ; 2/corps de la crise ; 3/fin de la crise.
Hip : hippocampe ; EC : cortex entorhinal ; Nc : néocortex temporal ; Th : thalamus)

Une absence de couplage entre les structures mésiales et néocorticales est observée au démarrage des crises (caractéristique de ces crises) (*Figure 15.1*). Lors d'un recrutement précoce du TH (comme c'est illustré en Figure 15), l'activité thalamique est dictée par l'activité corticale. Puis, lors du corps de la crise, la direction des interactions change (*Figure 15.2*), et une synchronisation apparaît entre des structures distantes qui ne font pas partie de la zone épileptogène, qui pourrait également impliquer des interactions néocorticales [163]. C'est dans cette partie de la crise que les symptômes cliniques apparaissent, dus à l'étendue des décharges en dehors de la zone de démarrage de crise. A la fin de la crise (*Figure 15.3*), le thalamus est recruté et les oscillations thalamo-corticales entraînent une hyper synchronisation des réseaux neuronaux, menant à une hyperpolarisation neuronale et ainsi à la fin de la crise [145].

Le TH est donc une structure intéressante à étudier dans le cadre de nouvelles thérapeutiques, car elle entraîne une hyper synchronisation stable au sein du réseau épileptique, ce qui mène à l'arrêt de la crise. Une partie à part entière du TH est intéressante de par sa position stratégique au sein du circuit de Papez (partie IV.6.a). En effet, le noyau antérieur du thalamus possède des connexions établies avec le cortex entorhinal, le néocortex et l'hippocampe et pourrait ainsi être une cible de choix pour le contrôle des MTLEs.

V. Neuromodulation électrique du réseau épileptique dans les MTLEs.

Etant donné l'intrication anatomique entre le lobe temporal et les structures du circuit de Papez, la SCP au niveau de ces structures a très souvent été évaluée chez le patient en impasse thérapeutique (voir partie II.2.e) et cela suite à des évaluations chez le modèle animal.

a. Hippocampe & amygdale (stimulation du focus).

i. Chez l'animal

Tableau 5

L'intervention chirurgicale dans le cadre de MTLE pharmaco-résistantes est efficace pour contrôler ou éliminer les crises chez certains sujets. De ce fait, prendre comme cible de stimulation l'HPC est donc dans la logique des traitements tentés jusqu'à présent [85].

La majorité des études ont été menées à bien chez des rats sur des crises induites par stimulation électrique au niveau de l'HPC ou de l'amygdale (kindling). Cette série d'études fait majoritairement apparaître l'effet protecteur de la SCP. En 1980, Gaito & al. [164] étudièrent l'effet d'une stimulation à 3Hz sur les rats. Après 10 jours de stimulation du focus les convulsions avaient disparu chez environ 50% des animaux, avec le plus fort effet au 4ème jour. Quelques années plus tard Shao & al. arrivèrent à une conclusion identique chez le même modèle animal suite à la stimulation du focus (amygdale) à 60Hz [165]. De même, il a été montré que la stimulation à 4Hz de l'HPC [166] augmentait le seuil de décharge épileptique induit par kindling de l'HPC et donc avait un effet préventif de l'apparition des crises. Une dizaine d'années plus tard une étude sur un modèle de kindling dû à une stimulation électrique de l'amygdale gauche (100 Hz, 1 ms de pulse width pour 0.5 ms, 100 – 300 µA) a été menée sur 45 rats Sprague-Dawley [167]. La stimulation basse fréquence (1 Hz, 0.1 ms, 100 µA) effectuée grâce à la même électrode permit d'inhiber la survenue des crises. Velisek & al. ont testé en 2002 l'effet de la stimulation à basse fréquence de l'amygdale chez le rat kindling immature [168]. Cette fréquence appliquée pendant 15min a supprimé l'activité ictale pendant toute la durée du kindling. La même expérience a été menée chez ce même model de rats matures [169]. Cette stimulation a supprimé les crises sévères mais pas les crises focales (14.3% de réduction). En 2004 Goodman & al. [170], toujours sur ce même modèle, ont testé la stimulation

à 1Hz pendant 30s, juste avant la stimulation kindling à 60Hz. Ils observèrent une forte diminution de la durée des décharges. Mohammad-Zadeh et Sun ont également testé la stimulation basse fréquence respectivement de la voie perforante et de l'amygdale dans un modèle de rat kindling [171,172]. Dans les 2 études une réduction de la sévérité des crises a été observée. En 2007 [173] une étude réalisée sur 12 rats implantés dans l'HPC a montré que la stimulation haute fréquence (SHF) (130 Hz) induisait une augmentation du seuil de décharge de 203% ainsi qu'une diminution de la durée des décharges de 71% comparé aux animaux contrôles (n=5) [173]. Enfin, sur un modèle KA de MTLE chez le rat, l'HPC a été stimulé à divers fréquences (1 ; 2 ; 50 ou 200Hz) [174] pendant 10min pour les plus hautes fréquences, à 2h pour les plus basses, par jour. Aucun changement significatif n'a été observé sur les fréquences des évènements inter ictaux, ou bien sur la fréquence des crises quelle que soit la stimulation. La gravité de l'épilepsie induite par le KA pourrait expliquer l'absence de l'amélioration de l'épilepsie.

Etude (1er auteur)	Modèle animal	Paramètres de stim°	Résumé des résultats
Gaito 1980	Rat Kindling amygdale	3Hz Sur le focus	Suppression des convulsions
Shao 1982	Rat Kindling amygdale	60Hz	Inhibition des convulsions
Ullal 1989	Rat Kindling Hc	1Hz	Augmentation du seuil de décharge
Weiss 1998	Rat Kindling amygdale	1Hz	Atténuation du développement du kindling. Augmentation du seuil de décharge
Bragin 2002	Rat KA	1 ; 2 ; 50 ; 200Hz	Pas de changement significatif quelle que soit la fréquence
Velsek 2002	Rats immatures Kindling amygdale	1Hz	Suppression activité ictale pendans la durée du kindling
Lopez-Meraz 2004	Rat Kindling amygdale	1Hz	Suppression des crises sévères mais pas des crises focales (14.3% de réduction)
Goodman 2004	Rat Kindling amygdale	1Hz	Diminution de la durée des décharges
Wyckhuys 2007	Rat MTLE kindling	130Hz	Augmentation du seuil de décharge
Mohammad-Zadeh 2007	Rat Kindling voie perforante	1Hz	Diminution de la sévérité des crises

Sun 2010	Rat Kindle amygdale	1Hz	Diminution de la sévérité des crises

Tableau 5: Etudes chez le modèle animal des effets de la stimulation de l'hippocampe sur l'épilepsie.

ii. Chez l'Homme

Tableau 6

En 2000, une étude a suivi 10 patients stimulés dans les 2 hippocampes (HPCs) (bilatéralement) pour traiter des MTLE résistantes. Chez les 7 patients qui ont pu compléter l'étude, les crises ont été stoppées après 5 à 6 jours. L'effet le plus rapide a été observé chez les patients implantés dans la partie antérieure du complexe hippocampique. Les 3 autres patients étaient implantés en dehors de l'HPC ou bien ont eu leur stimulation interrompue. Pour ces 3 cas, aucune réponse clinique n'a été observée [175]. A la fin des 3 mois de suivi, les patients ont subi une ablation du lobe temporal afin d'observer les tissus et de conclure sur les dommages que cette stimulation à haute fréquence (130 Hz, 200 – 400 µA) aurait pu causer. Aucune lésion n'a été observée dans les HPCs stimulés.

En 2002, 3 patients souffrant de crises focales avec généralisation secondaire et perte de conscience ou de MTLE ont été stimulés unilatéralement (130Hz) [91]. Après une moyenne de 5 mois de suivi (entre 3 et 6 mois), tous les patients ont présenté une amélioration de plus de 50 % de la fréquence des crises, leur permettant de diminuer leur traitement médicamenteux.

Une étude publiée en 2005 [92] étudia l'efficacité et l'innocuité de la stimulation bilatérale de l'air amygdalo-hippocampale. Chez 6 des 7 patients testés, une réduction de plus de 50 % des évènements inter-ictaux a été observée. Le suivi moyen pendant cette étude était de 14 mois (5,5 – 21 mois). Une patiente a même présenté une réduction de 100 % des crises focales avec perte de conscience pendant 1,5 an. Trois patients ont observé une diminution de la fréquence des crises de plus 50 %, et 2 autres patients ont eu une réduction plus faible (25 %) de la fréquence des crises mais ils ont pu diviser la dose de leur AED par deux.

En 2007 une étude a montré que la stimulation à long terme (18 mois – 7 ans de suivi) chez 9 patients, n'induisait pas d'effet délétère [94]. Tous les patients avaient des crises focales avec perte de conscience, et pour 7 patients parmi les 9 les crises généralisaient dans un second temps. Cinq patients qui ne présentaient pas de SH ont observé une diminution supérieure à 95 % du nombre de crises ; alors que les 4 patients qui présentaient une SH ont observé une

réduction du nombre de crises entre 50 et 70 %. Ici, la SH semble être un facteur déterminant pour l'efficacité du traitement.

Une seconde étude en 2007 a été faite chez 12 patients avec une MTLE [95]. Deux patients ont subi une amygdalohippocampectomie alors que les 10 autres ont été stimulés de 130 à 200Hz au niveau de l'HPC (durant 12 à 52 mois). Un des patients n'a plus fait de crise, un patient a eu une réduction de plus de 90 % de la fréquence des crises, deux patients ont observé une réduction de 30 – 49 % et un « n'a pas répondu ».

En 2011 une étude analysant les changements des paramètres de stimulation a été publiée [96]. Huit patients ont été stimulés à haute fréquence (130 Hz) avec une augmentation par palier de l'intensité de 0 à 2 V, ainsi qu'un changement de conformation de la stimulation (bipolaire vs unipolaire) unilatéralement. Deux patients présentaient une SH. Chez ces 2 patients, une réduction significative du nombre de crises a été observée pour un voltage supérieur à 1 V ou en configuration quadripolaire. Deux des six patients restant ne présentaient déjà plus de crise juste après la chirurgie d'implantation, avant même la mise en place de la stimulation. Deux patients ont observé une réduction du nombre de crises entre 65 et 70 %, et les deux derniers patients n'ont pas observé de réduction significative. La diminution moyenne lors de cette étude effectuée sur 43,5 mois a été de 67 % (0 – 100 %). Il est apparu qu'une zone de stimulation plus grande ou qu'une stimulation de plus forte intensité étaient nécessaires pour observer une diminution du nombre de crises. Les auteurs ont suggéré que la présence d'une SH pouvait être un caractère aggravant de l'épilepsie.

En 2013 [97], 11 patients présentant une MTLE réfractaire ont été suivis pendant en moyenne 8,5 ans. Une réduction du nombre de crises de plus de 90 % a été observée chez 6 d'entre eux, parmi lesquels 3 patients ne présentèrent plus de crise pendant plus de 3 ans. Trois patients ont observé une réduction de 40 à 70 % du nombre de crises, et deux une réduction inférieure à 30 %. La totalité des patients étaient tout d'abord stimulée unilatéralement, puis au bout de 2,5 – 3 ans, bilatéralement. Trois des patients ont montré une amélioration plus importante en stimulation bilatérale, suggérant une efficacité plus importante en bilatéral qu'en unilatéral.

En 2014 neuf patients ont été stimulés à basse et à haute fréquence. La stimulation continue à haute fréquence (130Hz) a été choisie car il a été montré que la stimulation à basse

fréquence (6Hz) en continue entraînait un recrutement du lobe ipsilatérale. Après un suivi moyen de 30,1 mois, les 2 patients présentant une SH unilatérale ont observé une diminution moyenne de 78 % de la fréquence des crises (76 – 80 %), et ceux présentant une sclérose bilatérale ont observé une diminution moyenne de 58 % (0 – 100 %) avec un patient « non répondeur ». Les patients avec une IRM « normale » (c'est-à-dire sans SH) ont observé une réduction moyenne de 59 % (0 – 97 %) avec également un patient « non répondeur » [99]. Au contraire des 2 études précédentes [94,96], ici l'absence de SH n'est pas déterminant pour l'amélioration l'état épileptique.

Etude (1er auteur)	Nbre de patients / durée	Type d'épilepsie	Paramètres de stim°	Résultats
Velasco 2000	10 patients 3-4 mois	TLE réfractaire	130Hz	7/10 : suppression crises 3/10 : problème stim° ou target
Vonck 2002	3 patients 5 mois	Crises focales avec perte de conscience	130Hz	50% réduction nombre de crises chez tous les patients
Van Roost 2005	7 patients 14 mois	TLE réfractaire		6/7 : diminution > 50% évènements inter ictaux 1/7 : suppression crises 3/7 : diminution crises 50% 2/7 : diminution 25%
Boon 2007	10 patients 12-52 mois	TLE réfractaire	130-200Hz	1/10 : suppression crises 1/10 : rien 1/10 : diminution 90% crises 7/10 : 50% réductions
Velasco 2007	9 patients 18 mois-7 ans	Crises focales avec perte conscience, 2 généralisation secondaire	130Hz	5 sans sclérose Hc: diminution>95% 4 avec sclérose Hc: diminution 40-70%
Boëx 2011	8 patients 12-24 mois	TLE réfractaire	130Hz	2/8 : sclérose Hc. Diminution si volt>1V 2/8 : suppression crises dès chirurgie 2/8 : diminution crises 65-70% 2/8 : rien
Vonck 2013	11 patients 8.5 ans	TLE réfractaire	130Hz	6/11 : diminution crises>90% (3 : 100%) 3/11 : diminution crises 40-70% 2/11 : diminution crises<20%
Cukiert 2014	9 patients 30.1 mois	TLE réfractaire	130Hz	2 sclérose unilatérale : 1 diminution 78% & 1 rien 1 sclérose bilatérale : diminution 58%

	6 IRM normaux : 1 rien ; 5 diminution 59%

Tableau 5: Etudes chez l'humain des effets de la stimulation de l'HPC sur l'épilepsie.

b. Noyau antérieur du thalamus et stimulation à distance du foyer.

Tableau 6

i. Chez l'animal

Grâce à son appartenance au circuit de Papez et à ses nombreuses connexions avec le cortex et les structures sous-corticales, le ANT est une structure cible dont la stimulation pourrait arrêter ou influer sur la propagation de la crise ou sur le foyer lui-même.

En 2006, une étude a été menée sur un modèle d'induction de crises via injection de KA chez le rat. Ils ont été stimulés bilatéralement à haute fréquence (100 Hz, 100 µs, 100 à 300 µA) en continue tout d'abord, puis de façon intermittente (suite à la survenue de complications, en particulier d'abcès). Dans les 2 premières semaines suivant l'injection de KA, 60 % des rats ont présenté des crises spontanées, et parmi eux 60 % ont été implantés correctement bilatéralement. Chez certains rats la mise en route de la stimulation entraînait une suppression des évènements inter-ictaux au niveau du foyer hippocampique et un changement du tracé de l'EEG et chez certains autres rats, cela entraînait la survenue d'une crise. Mais dans la plupart des cas il ne se passait rien lors de la stimulation. Une stimulation prolongée a entrainé chez 6 des 8 rats un doublement du taux de crise, et chez les 2 rats restant le taux n'a pas changé. Les rats dont l'implantation n'était pas réussie ont également été stimulés. Le taux de crise de ces rats stimulés dans la mauvaise structure n'a pas varié, montrant ainsi un effet de la stimulation spécifique à la structure stimulée [176].

En 2007 une étude a cherché à comparer les effets de la SHF (130 Hz, 100 µs, 140 – 500 µA, unilatérale ou bilatérale) avec les effets d'une lésion du ANT (unilatérale ou bilatérale) dans un modèle de rat KA. La stimulation unilatérale du ANT a entraîné une baisse significative du nombre de crises, tout comme la lésion unilatérale du ANT. Les animaux implantés bilatéralement n'ont pas eu de crises, même stimulation éteinte. Les observations ont été les

mêmes que pour les animaux lésés bilatéralement, l'EEG présentait des activités ictales sans symptôme moteur [177].

Les effets de différents paramètres de stimulation du ANT ont été testés sur des rats traités avec de la pilocarpine [178]. En appliquant différentes combinaisons de courant et de fréquence, des groupes d'animaux ont reçu une stimulation à haute ou basse fréquence (130 Hz ou 20 Hz) à un courant de 200 µA, 500 µA ou 1000 µA. Ils ont ainsi démontré que le courant délivré est le paramètre le plus important quant à la survenue des crises. En effet, quelle que soit la fréquence de stimulation, les animaux ayant reçu un courant à 500 µA présentaient un temps de latence avant l'apparition des crises et du SE multiplié par 2 (1.9 – 2.2) par rapport aux animaux témoins. La stimulation à 200 µA n'a pas joué de rôle protecteur et celle à 1000 µA semblait avoir un effet pro convulsivant.

Une étude récente a été menée sur le modèle du kindling amygdalien chez le rat [179]. Les 30 rats utilisés ont été placés dans 3 groupes : contrôle, SHF ipsilatérale et SHF controlatérale par rapport au foyer de l'épilepsie (200 Hz, 100 µs). Les animaux ont été stimulés à heure fixe, 15 minutes par jour, pendant 2 semaines. La sévérité des crises ainsi que leur durée étaient significativement diminuées entre le jour 1 et le jour 15 chez les animaux stimulés du côté du foyer épileptique. La stimulation controlatérale n'a quant à elle entraîné aucun effet.

Etude (1er auteur)	Modèle animal	Paramètres de stim°	Résumé des résultats
Mirski 1997	Rat PTZ	8Hz & 100Hz	LFS : pro convulsivant HFS : augmentation du seuil de déclanchement de crise
Hamani 2004	Rat pilocarpine	HFS unilat vs bilat	Unilat : pas d'effet Bilat : augmentation de la latence du développement du SE
Ziai 2005	Rat PTZ	100Hz	Retarde survenue crise
Lado 2006	Rat KA	100Hz	Aggrave les crises et multiplie leur fréquence par 2.5
Takebayashi 2007	Rat KA	130Hz unilat vs bilat	Unilat : diminution fréquence des crises Bilat : suppression des crises
Hamani 2008	Rat pilocarpine	20Hz & 130Hz	LFS & HFS : même effet. La variation du courant a un effet
Stypulkowski 2011	Mouton PNC Absence de crises	160Hz	Inhibition de l'activité spontanée et celle due à la PNC

Zhang 2012	Rat amygdale kindling	200Hz	Diminution incidence crises généralisées et de la sévérité
Covolan 2014	Rat pilocarpine	130Hz Variation du courant	100µA : diminution fréquence des crises 500µA : augmentation fréquence crises
Yang 2015	Singe KA	130Hz	Diminution de la fréquence des crises

Tableau 6: Etudes chez le modèle animal des effets de la stimulation du ANT sur l'épilepsie.

ii. Chez l'Homme

Tableau 7

Une étude menée en 1987 s'intéressait déjà aux effets de la stimulation du noyau antérieur du thalamus (ANT) [180]. Six patients qui présentaient des crises focales avec généralisation secondaire et perte de conscience ont été traités par stimulation du ANT. Chez 4 des 6 patients, une réduction significative de l'activité paroxysmale a été observée dans les 3 minutes suivant l'activation de la stimulation (60-70Hz ; 3.5 à 3.8V). Chez ces mêmes patients, un gain de contrôle de la crise a également été observé.

En 2002, une étude chez 5 patients stimulés bilatéralement a montré une diminution moyenne de 54 % de la fréquence des crises, avec 2 patients ayant une diminution de plus de 75 % [82]. Ces résultats ont été observés en phase ON (100Hz, 10V) comme en phase OFF stimulation, suggérant que les effets pouvaient être dus à la micro-thalamotomie faisant suite à l'implantation de l'électrode.

En 2004, une étude dont le but était de déterminer l'innocuité et la tolérance à la stimulation du ANT a été publiée chez 5 patients atteints de crises focales pharmaco résistantes [181]. La stimulation haute fréquence bilatérale (100 Hz, 1 – 10 V, 90µs) a entraîné chez 4 des 5 patients une amélioration de leur épilepsie. Cette amélioration touchait plus particulièrement les crises focales avec perte de conscience et les crises généralisant dans un second temps. Cependant, un seul patient a observé une diminution significative de la fréquence de ses crises, les quatre autres ont observé une réduction des crises les plus graves. Lors de l'arrêt de la stimulation, une augmentation de la sévérité des crises était observée immédiatement, suggérant ainsi que les effets observés étaient bien dus à la stimulation elle-même et non à la lésion faite par l'implantation de l'électrode.

En 2007 une étude sur des patients souffrant de TLE inopérable traités par stimulation haute fréquence a été publiée [182]. Quatre patients ont été stimulés selon le paradigme 1 min ON / 5 min OFF à 175 Hz, 90µs, 4.1 V. La diminution de la fréquence des crises de 75.6 % (53 – 92 %) était significative. Aucune lésion n'a été observée chez ces patients.

En 2010 l'étude SANTE fait référence [183] (*Electrical Stimulation of the Anterior Nucleus of thalamus for Treatment of refractory Epilepsy*). Cette étude randomisée en double aveugle concernait 109 patients qui ont été placés dans 2 groupes pendant les 3 premiers mois de l'étude : les DBS « ON » (n = 54) et les DBS « OFF » (n = 55). Le groupe stimulé a observé une réduction de la fréquence des crises de 29 % par rapport au groupe contrôle (la diminution moyenne de la fréquence des crises était de 40.4 % pour le groupe ON et de 14.5 % pour le groupe OFF). La seconde partie de l'étude n'était plus en aveugle et tous les patients étaient stimulés bilatéralement. A 2 ans après le début de l'étude, une réduction médiane de la fréquence des crises de 56 % était observée chez les 81 patients toujours inclus dans l'étude. Dans la première année de l'étude, 808 évènements non désirés ont eu lieu, 29.5 % d'entre eux étaient liés à la batterie (douleurs, paresthésies…) et 12.7 % à la présence d'infection au niveau du site d'implantation. Seulement 7 % de ces évènements ont été considérés comme sérieux, et ont requis une hospitalisation. A 5 ans du début de l'étude (n = 74 patients) la réduction moyenne était de 69 %, avec 68 % des patients qui observaient une diminution de la fréquence des crises supérieure à 50 %.

En 2012, un rapport étudia l'effet sur 9 patients de la stimulation bilatérale à long terme (plus d'un an). Le quotient intellectuel (QI) des patients n'a pas changé pendant cette période, cependant il a été observé une amélioration du flux verbal et de la mémoire verbale. Une réduction moyenne de la fréquence des crises de 57.9 % a été observée (35.6 – 90.4 %) [184].

Etude (1er auteur)	**Nbre de patients / durée**	**Type d'épilepsie**	**Paramètres de stim°**	**Résultats**
Upton 1987	6 patients 2 ans	Crises focales	60-70 Hz	4/6 ont un meilleur contrôle de l'épilepsie
Hodaie 2002	5 patients 15 mois	Epilepsie pharmaco résistance	100Hz	Diminution fréquence des crises dès implantation et sous stim°. Effets indissociables

Kerrigan 2004	5 patients 6 à 36 mois	Epilepsie focale pharmaco résistante avec généralisation 2aire	100Hz	4/5 ont une diminution significative de la sévérité des crises et de la fréquence de généralisation. 1/5 ont une diminution de la fréquence des crises
Lee 2006	6 patients	Epilepsie pharmaco résistante	130Hz	Diminution de la fréquence des crises
Osorio 2007	4 patients 36 mois	MTLE	175Hz	Diminution de la fréquence de crises. Imprécision d'implantation
Lim 2007	4 patients 48 mois	Epilepsie généralisée, et focale avec généralisation 2aire	90-110Hz	Diminution de la fréquence des crises avec la stim°, mais également juste après l'implantation. Effets indissociables
Fisher 2010 SANTE	110 patients Randomisée sur 2 ans	Epilepsie focale et focale avec généralisation 2aire	145Hz	A la fin de la phase en aveugle, diminution de 29% du nombre de crises. Après 2 ans, réduction de 56% des crises
Oh 2012	9 patients Au mois 1an	Epilepsie pharmaco résistante	100 à 185Hz	Diminution de la fréquence des crises

Tableau 7: Etudes chez le l'humain des effets de la stimulation du NA sur l'épilepsie.

En résumé, il apparaît que la SCP ayant pour cibles le foyer ou le ANT, induit une amélioration de l'état de certains patients. Ces résultats sont encourageants mais encore trop confus pour que l'on puisse systématiquement proposer ce traitement aux patients. Néanmoins, ils motivent le démarrage d'une étude plus approfondie de cette technique appliquée à la MTLE, afin de pouvoir contrôler au mieux les épilepsies réfractaires à tous traitements.

Contexte Scientifique

Problématique Générale

Dans le cadre de l'étude du contrôle de l'épilepsie du lobe mésio temporal (MTLE), il a été montré que le noyau antérieur du thalamus (ANT) est impliqué dans les crises [185,186] ; son rôle exact n'a cependant pas encore été décrit. Cette implication ainsi que sa position stratégique au sein du circuit limbique de Papez [156] en ont fait une cible de choix pour la stimulation cérébrale profonde (Deep Brain Stimulation, DBS). De nombreuses études ont ainsi été menées depuis une vingtaine d'années chez l'animal comme chez l'Homme, utilisant de nombreux paradigmes de stimulation, et de nombreuses conclusions, parfois contradictoires en ont découlé.

Mais afin de pouvoir stimuler le ANT de manière adéquate pour obtenir un effet sur les crises, il faut comprendre de quelle façon il est impliqué dans la MTLE. Un modèle animal fiable et représentatif de la pathologie de l'Homme est nécessaire pour répondre à ces questions.

De nombreux modèles animaux de MTLE existent déjà chez le rongeur via l'utilisation de drogues pro convulsivantes comme la pilocarpine ou l'acide kaïnique [187,188]. En plus d'utiliser un animal anatomiquement très éloigné de l'Homme, ces modèles ne reproduisent pas fidèlement la maladie. En effet, ces drogues induisent souvent des dommages cérébraux extérieurs au lobe temporal, ainsi que de fortes crises motrices généralisées entraînant parfois la mort de l'animal, ce qui est difficilement envisageable chez un animal « précieux » comme le primate [189]. Le modèle kindling est assez représentatif de la maladie mais est laborieux à mettre en place, et les stimulations répétées utilisées pour induire l'épilepsie entraînent souvent des crises généralisées [190]. Nous avons donc caractérisé un modèle de MTLE, à la demande, chez le primate non humain (NHP) en utilisant la pénicilline (PNC) qui est un antagoniste du GABA (entraîne donc un déséquilibre entre excitation et inhibition en faveur de l'excitation). Les résultats de cette caractérisation sont décrits dans l'article I, présenté ici :

Objective

To describe a new on demand non-human primate model of mesial temporal lobe epilepsy suitable for pre-clinical therapeutical research.

Methods

Five macaques were stereotaxically implanted unilaterally with a deep recording electrode in the hippocampus (HPC) and several cannulas screwed in the skull allowing to reach the hippocampus. Penicillin (PNC) was injected into the right hippocampus (HPC) at the beginning of each new experiment. All animals were monitored by video-electrocorticography during five consecutive hours. Additionally, the drug resistance was tested. In order to evaluate brain injury produced by several PNC injections and to characterize the changes occurring into the HPC, we used histological analysis, including neuronal nuclei (NeuN) and glial fibrillary acid protein (GFAP) immunostaining and electron microscopy.

Results

The typical seizures were observed after each PNS injections. The electro-clinical characteristics were reproducible among non-human primates and experiments. Seizure frequency reached a plateau that was stable for 180 min and that could be potentially useful to test new treatments. Benzodiazepam did not modify the course of the seizures. Hippocampal sclerosis was found similar to that encountered in epileptic patients and NeuN and GFAP staining showed neuronal loss and glial cells proliferation. Electron microscopy analysis of CA1 revealed a decreased number of synapses and a large amount of gliary fibrillary filaments in the injected HPC. Interestingly, we reported that this on demand model of seizure, turned into a chronic model with spontaneous occurrence of seizures after a certain amount of PNC injected.

Significance

The present study suggests that an on-demand model of mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) can be developed by intra-hippocampal injection of PNC. The seizures are reproducible, stable and resistant to diazepam. Brain damages are confined to the HPC injected which is similar to the human MTLE.

- **Caractérisation d'un modèle à la demande d'épilepsie mésio temporale chez le primate non humain (Article I).**

Article I

An on demand macaque model of mesial temporal lobe seizures induced by unilateral intra-hippocampal injection of penicillin

I. Introduction

Mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) is the most common form of focal epilepsy [191] characterized by unpredictable and recurrent seizures often associated with aura, oral and/or gestural automatisms, loss of contact, contralateral dystonic posture and rare secondary generalization [42]. In MTLE, seizures are frequently resistant to anti-epileptic drugs [41] and, in the majority of cases, linked to hippocampal sclerosis (HS) [43]. Neuropathological investigations have described different patterns of neuronal cell loss within the hippocampus (HPC) subfields and adjacent temporal lobe structures [192]. The histopathologic hallmark of HS is always associated with a severe pattern of astrogliosis defined by a dense meshwork of intensely immunostained glial fibrillary acid protein (GFAP) [193]. The resection of mesial temporal structures, either selectively or associated with anterior temporal lobectomy, can lead to seizure freedom in more than 70% of cases [194,195]. However, up to 30% of MTLE are unsuitable for surgery, because of either the bilateral nature of the disease or concerns about major postoperative verbal memory loss after the removal of the amygdalo-hippocampal complex [196]. To design innovative surgical treatments such as deep brain stimulation or focal cooling, and provide insights into the pathophysiology of MTLE, it is necessary to use an animal model as close as possible to humans. The non-human primate (NHP) model seems to be the most

relevant model available fitting this criterion. Indeed, majority of our understanding about epileptogenesis and epilepsy comes from rodent models [188,197] and rodents were very useful for pharmacological studies. However, all these models have limitations that make their use difficult in NHPs, and some exhibit features not typical of human MTLE [198]. Furthermore, the use of proconvulsive drugs can often lead to extremely violent seizures associated with a high mortality rate, which precludes the use of these agents in NHPs [190]. Only a few animal studies concerning epilepsy have been performed in NHPs [199,200], with poor studies describing a NHP MTLE model [201,202]. Among them, only one described MTLE using a penicillin (PNC) injection in the HPC [203] in addition to other proconvulsant drugs without any histological and electrico-clinical description. Moreover, approximatively 50% of the seizures are generalized, making this model irrelevant. Currently, the available NHP models are chronic, and the evaluation of treatment requires the use of a large number of NHPs that are maintained epileptic over a long period. Therefore, with the aim to perform surgical therapeutical experiments that are easily transposable to the patient but respect the 3Rs principle [204], we proposed to describe at the electro-clinical and histopathological levels an on-demand transitory NHP model of MTLE by injecting penicillin (PNC) *in situ*. The PNC is a non-competitive inhibitor of the $GABA_A$ receptors, resulting in local ''inhibition of the inhibition'' responsible for a focal hyper activity [205].

II. Material & Methods

2.1 Animals

Study was performed on 5 Macaca fascicularis (CRP, Port Louis, Mauritius), M1 – M5, weighing from 7-12 kg. The experiments were performed in accordance to the French guidelines on the use of living animals in scientific investigations with the approval of our local Ethical Committee (#04) for care of laboratory animals. All experimenters received proper training

and certification for animal experimentation. Every effort was made to minimize animal's suffering while maximizing the data obtained.

2.2 Surgery

The animals were kept fasting 10 h before surgery. The surgery was performed under general anesthesia with intra muscular injection of ketamine (Imalgene, Merial laboratory, France) 0.4 mg at induction followed by 0.2 mg per hour and xylazine (Rompun, Bayer Healthcare AG ,Germany) 2%, 0.2 mL at induction followed by 0.1 mL per hour). Additional local scalp anesthesia was provided with subcutaneous injection of lidocaine chlorydrate. Prophylactic antibiotics, analgesics and anti-inflammatory drugs were delivered during per operative period.

Surgery was performed with a stereotactic frame under intraoperative tele-radiographic control. The HPC was first localized using bi-commissural landmarks obtained by a ventriculography performed by injecting 2 mL water soluble iodine contrast medium (Bracco Imaging, France). Two cannula-guides were screwed in the skull parallel to a trajectory allowing to reach the part where the dentate gyrus (DG) is the most extended within the HPC to enable further injections of PNC (between -5 and -6 mm posterior to AC and 10 to 11 mm lateral to midline (ML), 28 mm below the dura). To monitor the ictal activity, a four contacts electrode (electrode width: 1.27 mm, and contact length:1.5 mm, 0.5 mm apart, model 3389, Medtronic, USA) was implanted within the HPC close to the injection site with the lowest contact located at -5 mm from AC, at 10 mm from the midline and 30 mm depth from dura (Figure 1). Animals were allowed to recover and food and water were provided ad libitum.

Experimental induction of seizures was performed after 10 days of recovery period (Figure 1A, B)

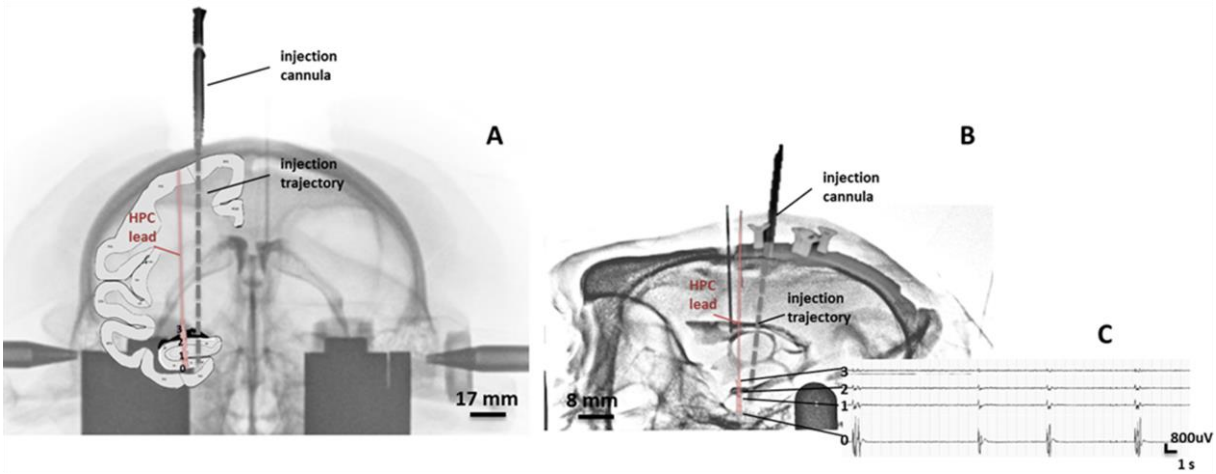


Figure 1: Identification of the ventriculographic landmark on antero posterior (A) and lateral (B) views.
A. The antero posterior view is a merged image of the atlas plate of Macaca fascicularis brain (-5mm/AC), the ventriculography and the final Xray of injection cannulas (screwed on the skull between -5 and -6mm/AC and 10 and 11 mm/midline) and implanted quadrielectrode lead, in red (for details see material & methods)
B.The lateral view is a merged image of the final Xray with the quadrielectrode and the cannulas, and the ventriculography. Note that the three deepest plots of the lead (0-2) are located in the hippocampus, as shown in A and B, and also in C (Electrocorticogram of an interictal activity recorded by the hippocampus lead).
The deepest plot (0) recorded higher amplitudes spikes than the uppers contacts, confirming that it was recording within the epileptogenic zone.

2.3 Induction of MTLE seizures

NHP was positioned on a primate chair (Crist Instruments, USA) allowing free movements of limbs and oral feeding during the course of the experiments. HPC activity was recorded for 10 min prior to seizure induction. PNC salt (Penicillin G sodium 3032, Sigma-Aldrich) was diluted with sterile water for injection (1000 IU / µL). Using sterile technique, a range from 3000 to 15000 IU of PNC was injected at a rate of 2 to 3 µL / min with Hamilton syringe and pump through the cannula, within the right HPC, at a depth of 28 mm from the dura. The dose of PNC injected is adapted according to the NHP sensitivity which can change with the experiment plurality. The injections were performed at least once a week.

A total of 100 experiments were completed (15 for M1, 27 for M2, 25 for M3, 21 for M4, 12 for M5, *Table 1*). Among them, eleven were performed to test the effect of diazepam (Valium, Roche, Neuilly-Sur–Seine, France) on seizures (1 for M1, M3 and M4, 3 for M2, 5 for M5) (*Figure 2D, E*). A dose of 0.5 mg/kg was injected intramuscularly during the well-established SE.

During each experiment, seizures were recorded for 4.5 hours continuously in average, paying attention to containment and comfort of the NHP. At the end of the experiments, the NHPs were observed for 3 additional hours.

Tableau 4: Table summarizing all the experiments on the 5 NHPs.

	Number of PNC injection	Total quantity of PNC injected	Hippocampal sclerosis	Granule cell dispersion	Occurrence of a spontaneous ictal activity		
					yes/no	if yes, which amount of PNC injected?	Day after the 1st PNC injection
Monkey 1	21	192 400 IU	yes	yes	yes	145 400 IU	236
Monkey 2	12	85 250 IU	yes (small)	yes (small)	no	-	-
Monkey 3	25	262 100 IU	yes	yes	yes	143 100 IU	135
Monkey 4	27	165 001 IU	yes	yes	yes	119 376 IU	138
Monkey 5	15	108 471 IU	yes	yes (small)	no	-	-

2.4 Video and Local Field Potential recordings

Video and Local Field Potential (LFP) recordings were performed synchronously using a commercial amplifier and software system synchronized with a video camera (System Plus, Micromed ,Treviso Italy). LFP signals were obtained with an analog acquisition band-pass filter between 0.05 Hz and 90 Hz and digitalized at a sampling rate of 250 Hz.

2.5 Spectral analysis

Time-frequency analysis of 10 seizures recorded in each NHP was performed. They were selected so that their duration was comprised between 6 s and 135 s (average duration: 35.82 ± 13.71 s). LFP signal was chosen as the monopolar derivation covering the HPC. The amplitude (square-root of power) of oscillatory activity between 1 and 90 Hz was obtained using standard time-frequency analysis based on the Morlet wavelet transform. The first and last

spikes of each discharge were used to define its onset and termination, respectively. Time window analysis started 20 s before the seizure onset and finished 10 s after seizure termination. For each frequency, the amplitude was computed on 40 periods length sliding time-window, providing an effective frequency specific time resolution. Time-frequency sampling of the time frequency plane was 49 ms / 1Hz. Time-frequency data were normalized using the standard procedure: for each frequency, the mean of the baseline (periods of at least 10 s without interictal spikes chosen prior to each seizure) was subtracted to the data and then demeaned data were divided by the standard deviation of the baseline. Baseline was defined for every seizure as a period of at least 10 s without interictal spikes chosen just before seizure onset. Finally, the typical time-frequency pattern of recorded seizure was defined as the median value over seizures of the normalized time-frequency charts computed as such. Before median averaging, time-frequency charts were resampled linearly on a time scale to normalize seizure duration to the observed average (48 s).

2.6 Immuno-histological and electron microscopy studies

All NHPs were sacrificed after the end of experiments. They were deeply anesthetized with ketamine and pentobarbital (10 mg/kg and 25 mg/kg intramuscular), fixed on the operating table, and then transcardially perfused with 0.9% saline solution followed by 4% paraformaldehyde in 0.1 M sodium phosphate buffer, pH 7.4. Brains were removed from the skull, post-fixed for 24 h and then placed in sucrose density gradient solutions (from 10% to 30% sucrose in 0.1 M phosphate buffer). Forty-micrometer free-floating sections were cut using a cryotome. The sections were stored at 4°C in a cryoprotective solution. Sections to be evaluated with cresyl violet stain were dried onto subbed slides.

For immunohistochemistry, brain slices were rinsed with PBS and incubated with primary antibodies (GFAP 1/1000, Dako Z0334 and NeuN 1/500, AbCys, VMA377) in a PBS solution containing 3% bovine serum albumin, 0.2% Triton X-100 over two nights at room temperature. Sections then washed five times 15 min in PBS with 0.2% Triton X-100 and incubated in the secondary antibodies: Anti-mouse (Cy3, 1/1000, Jackson Laboratory) and anti-rabbit secondary (A488, 1/1000, Molecular Probes) in PBS with 0.2% Triton X-100 for 2 h at room temperature. Slices were washed in PBS four times and finally incubated with Hoescht solution (Life technologies, 1:2000) for 15 min at room temperature. Sections were then mounted on

glass slides using DAKO fluorescent mounting medium (Dako, France). Images were acquired with a confocal Zeiss LSM 710 (Carl Zeiss, 444 Le Pecq, France) using a Coolsnap ES photometric camera (Roger Scientific, Trenton, NJ) controlled by Metaview software (Universal Imaging, USA).

In addition, some brain sections were fixed with 2.5% glutaraldehyde in 0.1M phosphate buffer pH 7.4 during 2 h at room temperature. Sections were then post fixed with 1% osmium tetroxyde and 0.1 M phosphate buffer pH 7.2 during 1 h at 4°C. After extensive washing with water, sections were further stained with 1% uranile acetate pH 4 in water during 1 h at 4°C before being dehydrated through graded alcohol (30%-60%-90%-100%) and infiltrate with a mix of 1/1 epon/alcohol 100% for 1 hour and several baths of fresh epon (Flukka) during 3 h. Finally, samples were embedded in epoxy resin between two microscopy slides protected with silicone and were let to polymerize during 72 h at 60°C. The CA1 HPC area was dissected and the small sample was fixed on a resin stub. Ultrathin sections of the samples were cut with an ultramicrotome (Leica), sections were post-stained with 5% uranile acetate and 0.4% lead citrate before observation in an electron microscope at 80 kV (JEOL 1200EX). Images were acquired with a digital camera (Veleta, SIS, Olympus) and morphometric analysis was performed with iTEM software (Olympus).

2.7 Statistical analysis

The appearance of the first inter-ictal events, from the beginning of PNC injection, was evaluated for each experiment from all NHPs. The frequency of inter-ictal events was calculated for 10 s, at 3 different periods, far away from a seizure (about 100 s before) and close to a seizure (10s before and after) for 10 seizures for each experiment. For seizure activity, we evaluated, the delay of occurrence of the first seizure from the beginning of PNC injection, and then the number of seizures, the time spent in seizure and the mean duration of seizures. The kinetic of seizures was evaluated (expressed in number of seizures and average duration of seizures) all along the experiment divided in time window size of 20 min. At the end of the experiments, the delay of extinction of seizure activity was evaluated when at least 2-time windows of 20 min did not exhibited anymore seizure. A nonparametric ANOVA (Kruskal Wallis), followed by Dunn's post hoc tests, was used to compare data from each animal. A difference was considered statistically significant for a p-value <0.05.

To study the effect of diazepam, average duration of each seizure (*Figure 2D*) and total time spent in seizures during baseline period were compared to post diazepam injection periods (all values were expressed in mean ± SD). A Dagostino and Pearson omnibus normality test was previously done to verify if the values came from a Gaussian distribution, then an unpaired t test was performed, with a p-value <0.05 considered statistically significant.

The number of synapses and the size of dendritic spines were counted on electron microscopy images on 3 NHPs (M1 to M3), and expressed in mean ± SD. A Dagostino and Pearson omnibus normality test was previously done to verify if the values came from a Gaussian distribution, then an unpaired t test was performed, with a p-value <0.05 considered statistically significant.

Statistical tests were performed using software GraphPad InStat3 (GraphPad Software Inc., California, USA).

III. Results

Electrico-Clinical characteristics of NHP model of MTLE

Following a single intra HPC PNC injection, we observed three distinct electrical patterns; 2 types of interictal events (patterns 1 & 2, *Figure 2A, B*) and seizures (pattern 3; *Figure 2C*).

Pattern 1: Interictal spikes presented higher amplitude than baseline. The typical spike lasted 0.32 ± 0.13 s, had an average amplitude in the range of 60 µV to 250 µV with a mean frequency of 0.37 ± 0.17 Hz (quantified for a sample of n = 50 events).

Pattern 2: Train of interictal poly-spikes lasting less than 5 s, had average amplitude in the range of 60-250 µV (n = 50 events). No clinical symptoms were associated with this pattern.

Pattern 3: Seizures lasted between 6 s and 135 s (35.82 ± 13.71 s, n=620 seizures from all NHPs). The beginning of seizure was marked by repetitive spiking activity, similar to pattern 2, with amplitude in the range of 60 µV to 400 µV, at a frequency of 0.5 to 1 Hz and lasting less than 5 s. This was followed by ictal discharge with a frequency in the range of 10 to 25 Hz. The amplitude increased to a range 60 µV to 350 µV (mean 131.14 ± 84.68 µV) during the seizure. The end of seizure was marked by abrupt return to EEG baseline. A post ictal period of 35.17

± 25.22 s for all NHPs pooled (N = 50 seizures / NHP, p = 0.4440, no significant difference between NHPs) is noted after which the interictal spikes begin to appear again. The clinical picture of a typical seizure demonstrated, in more than 80% of seizures, a loss of awareness of surroundings, repeated swallowing or chewing and a contra lateral head deviation.

In the 5 NHPs, additional experiments (n=11) were performed to test the sensibility to antiepileptic drug (AED). After diazepam injection (0.5 mg/kg) the number of seizures did not significantly vary (4.73 ± 3.37 seizures / 20 min in baseline and 5.67 ± 4.23 seizures / 20 min after the diazepam injection; p = 0.9669, *Figure 2D*) and neither did the average duration of seizure (37.95 ± 17.45 s in baseline and 37.26 ± 19.26 s after the diazepam injection p= 0.9726, *Figure 2E*). The number of interictal events per 20 min epoch remained the same (193.93 ± 61.31 in baseline vs 204.35 ± 36.24 after the diazepam injection p=0.7158).

The time course of the frequency of interictal spikes followed a specific pattern around seizures (*Figure 2F*). Indeed, the average frequency significantly increased 10 s before and decreased 10 s after the seizures compared to baseline (3.31 ± 1.93 vs 6.46 ± 2.54 vs 0.31 ± 063; p < 0.0001, baseline vs before vs after, respectively n = 620 spikes around the seizures).

Time-frequency chart of the rescaled normalized amplitude of HPC activity during seizures (*Figure 2G*) showed significant beta oscillations (12-25 Hz) that started at the seizure onset and remained steady until seizure termination. Low-gamma activity (45 Hz) was strongly present at the beginning, and became broadly distributed in the second part of the seizure (40-50 Hz). Seizure onset was characterized by a brief vertical column of activity between 1 and 70 Hz that corresponds to the first spike.

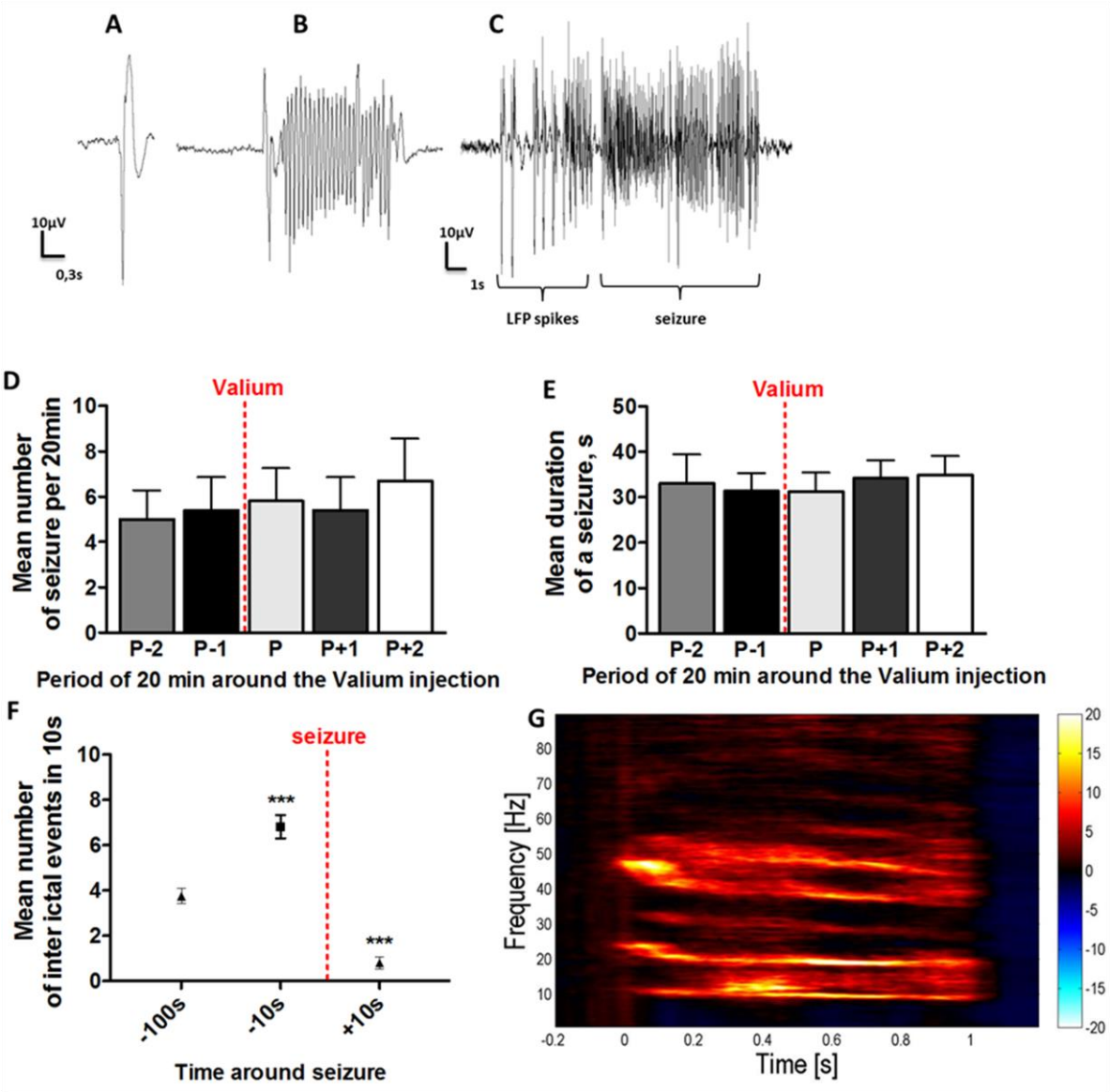


Figure 2: Electrico-Clinical characteristics of the model.

A. Example of an interictal spike or sharp wave B. Example of a polyspike C. Example of a seizure

D. Mean number of seizure around the diazepam injection for 20min periods. No significant differences were seen 40min before (P-2), 20min before (P-1), during the injection itself, 40min after the injection (P+1) and 60min after the injection (P+2). p=0.9669 n=11 experiments.

E. Mean duration of a seizure around the Valium injection for 20min periods. No significant differences were seen 40 (P-2) and 20min (P-1) before the PNC injection, during the injection (P) and 40 (P+1) and 60 (P+2) min after the injection). p=0.9726 (n=11 experiments).

F. Average frequency of the inter ictal events for 10s periods around a seizure. The frequency is statistically significant between the baseline period (-100s) and 10s before the seizure, and with the 10 s period 10s after the seizure. p < 0.0001. n = 620 seizures.

G. Time-frequency chart of the normalized amplitude of the HPC during MTL seizures. Color codes for the median value of 27 seizures in M3, expressed in standard deviation of baseline (z-score). Time frequency analysis of seizures shows predominant beta band activity.

Time course of interictal events and seizures

Typically, interictal events were apparent within 1 to 7 min (3.54 ± 1.66 min) following the beginning of PNC injection (*Figure 3A*). The first seizure appeared 8 to 16 min (11.71 ± 7.81 min, n = 100 experiments, *Figure 3B*) after the beginning of PNC injection. The comparison among all NHPs did not show any significant difference: 1) in the average duration of seizures (*Figure 3C*) which was found at 29.60 ± 6.62 s for all pooled NHPs (p = 0.3249), 2) in the number of seizures per experiment (lasting $4^{1/2}$ h), 44.44 ± 15.40 seizures for all NHPs pooled (p = 0.2698) (*Figure 3D*), and 3) in the total time spent in seizure with 1292.89 ± 294.56 s for all pooled NHPs (p = 0.0572) (*Figure 3E*).

The pattern of seizure evolution was the same in all specimens. The average number of seizures was 2.38 ± 0.45 seizures in the first time window of 20 min and gradually increased to reach a "plateau" during the second and third hour (from the 3rd 20min epoch, with 24.45 ± 5.76 s to the 9th with 28.27 ± 6.38 s; p=0.9286, *Figure 3F*) and then decrease significantly (p < 0.0001). Then the seizures stopped 249.15 ± 62.06 min after the injection (for all PNHs pooled, p = 0.0764, *Figure 3G*).

All NHPs who received more than 119000 IU of PNC, corresponding to 20-30 MTLE inductions, presented spontaneous interictal spikes and seizures that could be due to a kindling effect (*Table 1*). In parallel, the sensitivity to PNC decreased, leading to an increase of the PNC dose injected to obtain a correct time course of ictal events occurrence.

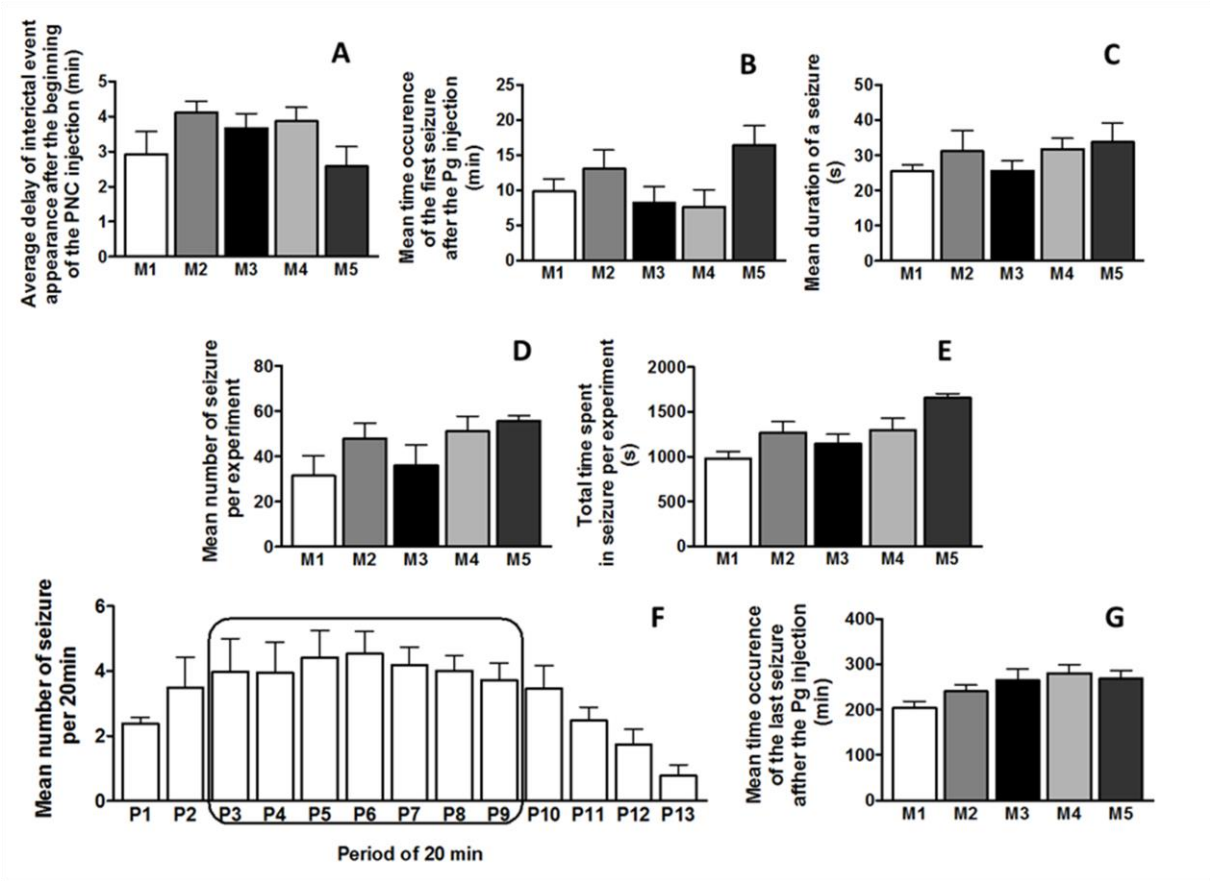


Figure 3: Kinetic of interictal events and seizures n=14 experiments
A. Average delay of the inter ictal event appearance after the beginning of the PNC injection.
B. Mean time occurrence of the first seizure after the beginning of the PNC injection.
C. Mean duration of a seizure per experiment.
D. Mean number of seizure per experiment.
E. Total time spent in seizure per experiment.
F. Mean number of seizure per period of 20 min.
G. Mean time occurrence of the last seizure after the beginning of the PNC injection.

Morphological Changes in the Hippocampus

Unilateral injections of PNC resulted in morphological changes of the hippocampus: the ipsilateral HPC to the infusion was smaller with a dilatation of the lateral ventricular compare to the contralateral one (*Figure 4A, B & C*). Immunohistochemistry against NeuN (*Figure 4D & E*) revealed granule cell layer (GCL) dispersion in the DG region of the injected HPC and a cell loss in the Ammon Horn, especially in CA1. The dispersion of the GCL is significant in the injected HPC (ipsilateral vs contralateral; 99.77 ± 63.06 µm vs 60.00 ± 15.87 µm, $p < 0.0001$, *Figure 4F*).

Moreover, we observed mainly in DG a different labelling of astrocytes with the anti GFAP antibody. Astrocytes have a bigger soma and show long processes. No changes were observed in the contralateral HPC.

Using electronic microscopy, tissues from the injected side were filled with astrocytic processes containing a large amount of gliary fibrillary filaments. Very few synapses were left, but the remaining ones were located on large dendritic spines. Capillaries were surrounded by a basal lamina that was larger and surrounding astrocytic processes were filled with filaments (*Figure 4G*). The decrease of the number of synapses in CA1 is significant (ipsilateral vs contralateral; 0.75 ± 0.47 synapses/μm^2 vs 1.14 ± 0.20 synapses/μm^2, $p < 0.0001$), and the dendritic spines are significantly larger on the ipsilateral HPC than on the contralateral HPC (0.55 ± 0.17µm vs 0.23 ± 0.07µm, $p < 0.0001$).

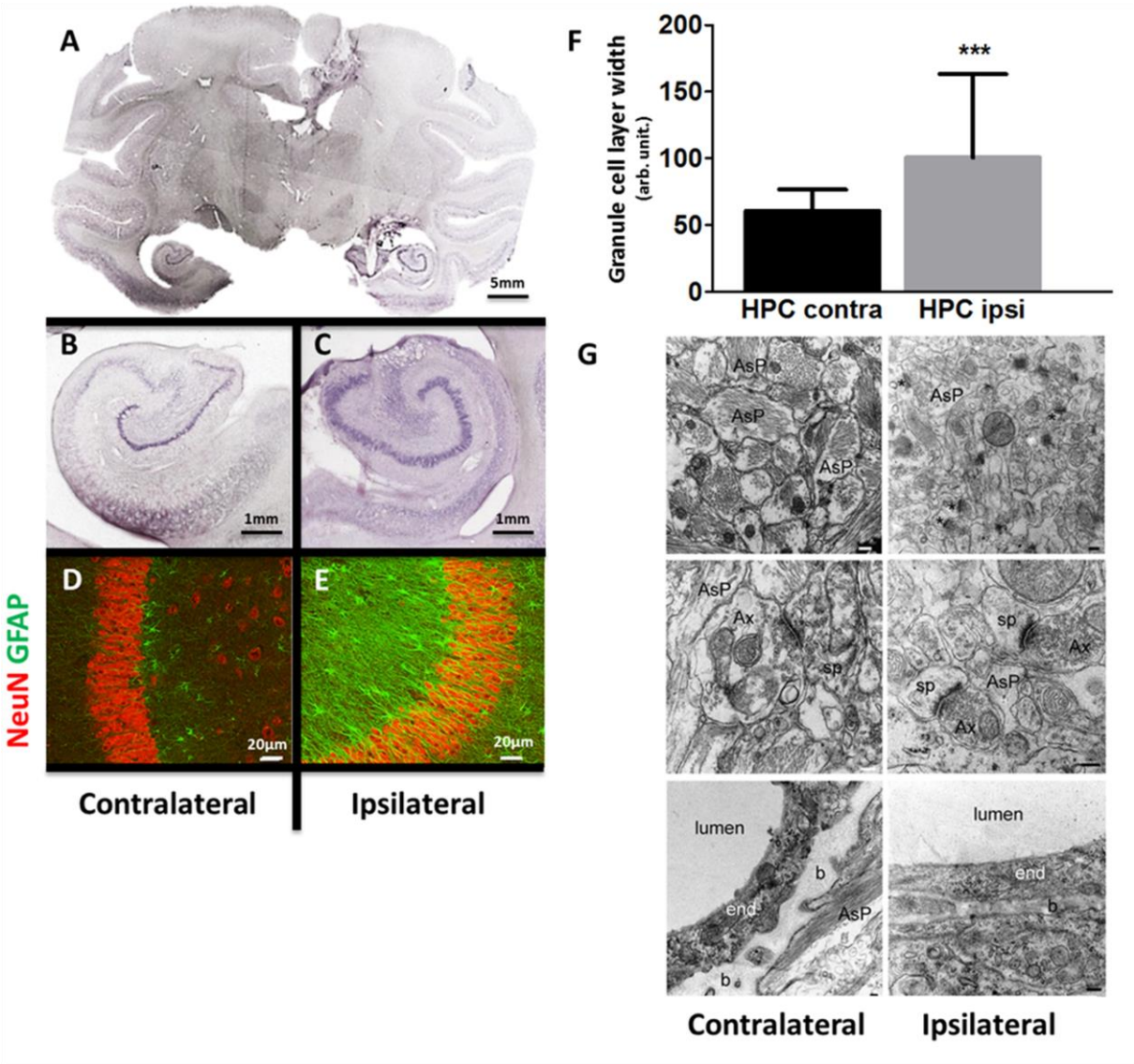


Figure 4: Morphological changes in the HPC
A. Histological cutting at -5mm/AC colored with Cresyl Violet, with a zoom on (B) the HPC of the contralateral hemisphere (healthy) and (C) the HPC on the ipsilateral hemisphere (PNC injected) showing a GCD (M4).
Sections are counterstained with blue Hoechst: (D) contralateral and (E) ipsilateral.
Sections immunostained with antibodies against NeuN and GFAP illustrate the loss of neurons and the GCD in the ipsilateral HPC: (F) ipsilateral and (G) contralateral.
H. Comparison of the granule cell layer width (illustration of the dispersion) between the contralateral and the ipsilateral HPC, of all the NHPs pooled. P < 0.0001
I. Electron microscopy of CA1 of the HPC contralateral and ipsilateral (M4). AsP: astrocytic processes, Ax: axon; b: basal lamina; end: endothelial cell; sp: dendritic spine. Bars : 200 nm.

IV. Discussion

Experimental animal models of MTLE are useful to better understand the functional and morphological alterations of HPC associated with epilepsy and to test new treatments and

surgical therapies. Because MTLE might differ between species and in order to perform the therapeutic evaluations of innovative surgical treatments (e.g., DBS) before transferring them to patients it is crucial to develop such a model in NHPs, which incorporates anatomical pathways that may distinguish the primate (e.g., human) from rodent. We were able to maintain the NHPs for several months and to perform a number of experiments without any significant deterioration of the animals' health or a change in the characteristics of the model. In this study, we describe for the first time the effects of repeated in situ injections of PNC with an electrical, clinical and histological characterization, in NHP.

The injection of PNC into the HPC produced a typical ictal activity. As already described in humans [206], noticeable and significant increases in the number of interictal spike events (pre-ictal discharges) at least 10 s before the seizure occurrence was observed in all five NHPs. This can allow and facilitate seizure detection in a possible closed loop paradigm of stimulation. Seizures induced by focal intra-HPC injection of PNC were systematically associated with clinical signs such as motionless staring, oral automatism, head deviation, lip smacking, and chewing, which are very similar to those exhibited by MTLE patients [207,208]. On the contrary, the sheep model of intrahippocampal injection of PNC did not develop this electro-clinical features; only inter-ictal events were observed, making this model quite different from human MTLE [209]. Likewise, the other NHP MTLE models did not mimic patients seizures [201,202,210]. The PNC model does not cause such strong clinical effects, which allows a better recovery of the animal and improves safety in repeated experiments.

MTLE is the most common cause of drug-resistant seizures. Unlike the bicuculline model [211] in which ictal activity was suppressed by the administration of diazepam, in the present model, the clinical course was not modified by the use of diazepam. However, there is a need to test pharmacological responses to other types of AEDs [212], but this model is the only one in which AED was inefficient.

Significant inter-individual changes were not observed, which contributes to make this model relevant for the study of new surgical treatments. Indeed, the effect of PNC lasted 4.5 hours on average. And during this time, the duration of seizures was stable, even among the 5 NHPs, and the seizures were also stereotyped. Indeed, the stable duration of seizures seems to illustrate the activation of specific epileptogenic networks. In patients, it appears that seizure duration is quite stable over time for an individual [213]. This can also lead to novel approaches

to diagnosis, treatment, and then seizure prediction. If human epilepsy is the expression of specific, abnormally active, intrinsically defined, and connected networks, then one could theoretically alter seizure expression by interfering in any part of the specific network. This model is designed for such tests during the second and third hour after the PNC injection during which a zone of “plateau” of the number a duration of seizures was noted.

Many MTLE models presented a latent period between the injury and clinical epilepsy, lasting from a few hours to several weeks, which made the epileptic control harder. In this model, the absence of latency allows to act directly on the epileptic disorder. After a certain amount of PNC has been injected, the NHPs developed chronic inter-ictal events and then seizures. This kindling phenomenon is associated with reduced responsiveness to stimuli (PNC injection) in comparison to the normal state [110]. This kindling was associated with a hippocampal sclerosis in the injected side, characterized by a cell loss in CA1, a granule cell dispersion and reactive-like astrocytes. Furthermore, a decrease in the number of synapses and an increase in their size were observed. Patients studies with pharmacoresistant temporal lobe epilepsy have identified HS as a major histopathological finding [214]. HS is characterized by segmental pyramidal cell loss as well as interneuron and neuronal loss [215,216]. Neuronal cell loss is invariably associated with reactive astrogliosis [217] and dentate GCD [193], giving rise to the sclerosis. When looking at the cellular level, some changes also occur: mitochondria damages [218] synapses changes, and reorganization [219]. These considerable reorganizations within the HPC may contribute to epileptogenecity, thus this initially model for seizures turned into a model for epilepsy. This supports the hypothesis that a defined neuronal network as conceptualized in human epilepsy was created [142].

Acknowledgements

We wish to acknowledge Lucie Moutet, Emilie Delala and Yasmina Saoudi for PIC-GIN, for their help for histology and microscopy. This work was supported by Medtronic Europe.

Disclosure of Conflicts of Interest

All authors declared no conflicts of interests related to this study.

Ethical Publication Statement

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

Nous avons ensuite utilisé ce modèle de MTLE dans la seconde partie du projet qui s'organise en 2 étapes.

Tout d'abord, nous avons tenté d'identifier de quelle manière le ANT était impliqué dans les crises MTLE. Cette étude passe par une analyse de l'activité du ANT au niveau de la population neuronale (analyse des potentiels de champs locaux, LFP) mais aussi du neurone isolé (enregistrement unitaire des neurones) en corrélation avec les acticité ictales de l'HPC. Ainsi nous avons tenté d 'analyser si le ANT était :

- un simple relais passif de l'activité ictale (si son rôle se cantonnait à de la propagation passive). Dans ce cas on pourrait parler d'un noyau faisant partie d'un circuit épileptique secondaire et intervenant dans l'extension du réseau épileptique [220]. La neuromodulation pourrait influencer la sévérité de la MTLE sans pour autant modifier le temps passé en crise.
- un nœud au sein du circuit épileptique. Il serait alors activement impliqué dans le développement et le maintien de l' état épileptique [221,222]. La neuromodulation pourrait influer sur la fréquence des crises et le temps passé en crise.

Pour ce faire, nous avons évalué les effets de la neuromodulation chimique et électrique du ANT sur l'activité ictale de l'HPC.

Enfin, nous avons essayé d'identifier, au travers de l'analyse de cohérence entre les activités enregistrées simultanément dans le ANT et l'HPC, des biomarqueurs électrophysiologiques prédictifs d'une bonne efficacité de la SCP. Cette démarche pourrait ainsi apporter des pistes afin de proposer une stimulation plus intelligente et mieux adaptée à chaque patient.

Les résultats de cette étude sont décrits dans l'article II, présenté ici :

Abstract

Mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) is the most common focal epilepsy and is often associated with drug resistance. For patients with refractory MTLE with the seizure onset zone co-localized with the eloquent cortex, resective epilepsy surgery is not possible and deep brain stimulation (DBS) is being considered as a viable treatment option. Animal and clinical studies in humans have demonstrated that the anterior nucleus of the thalamus (ANT) electric stimulation is an effective and safe treatment, but the mechanisms by which it modifies the network activity are mostly undefined.

Here, we show in a non-human primate (NHP) on demand model of MTLE by penicillin (PNC) injection in the hippocampus (HPC) that the ANT is actively involved in ictal and inter ictal events through different patterns. Furthermore, HPC and ANT oscillate synchronously during seizures in the beta-band. Therefore, we compared the effects of low (40Hz - as determined as the frequency of correlation of both structures) and high frequency (130Hz - as usually found in literature) ANT stimulation on three NHPs with MTLE. Low frequency stimulation had a strong effect on the number of seizure and the total time spent in seizure, whereas high frequency stimulation had no effect. It turns out that the oscillation coherence between the HPC and the ANT was significantly related to the success of the low frequency stimulation: the more both structures had correlated activity, the more the ANT stimulation was effective.
Our results suggest that the study of the coherence between the ANT and HPC during the seizure leads to an adapted ANT stimulation paradigm that significantly decreases seizure frequency and the time spent in seizure. Thus, the DBS paradigm could be customized for each patient for a better efficiency.

- **L'Etude de la cohérence entre le ANT et l'HPC prédit l'efficacité de la stimulation du ANT pour réduire les crises temporales (Article II).**

ARTICLE II

Coherence between the anterior nucleus of the thalamus and the hippocampus predicts efficiency of anterior nucleus of the thalamus DBS to reduce hippocampal seizure

I. Introduction

Mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) with hippocampal sclerosis (HS) is characterized by recurrent spontaneous focal seizures originating from mesial temporal lobe structures often associated with aura, oral and gestural automatisms, loss of contact, contralateral dystonic posture and rare secondary generalization. MTLE is the most common form of focal epilepsy[191] often associated with drug resistance, while up to 30% of patients are unsuitable for surgery due to the adverse impacts on neurocognitive function (especially for patients showing bilateral lobe involvement[223]). For this reason, it is relevant to develop an innovative therapy such as neuromodulation that may control seizures with limited side effect such as neurocognitive impairment, memory and language or motor deficit associated with tissue removal. MTLE can be considered as a network disease. The network comprises two subtypes of functionally and anatomically connected brain structures: some known as relay structures are network components that propagate the ictal activity, while others represented by key nodes constitute the primary epileptic network that contributes to the development and maintenance of epileptic activity. Consequently, an interruption of the epileptic network by neuromodulating one of the network nodes should alter the seizure onset[142]. In MTLE, the well-known network supporting the seizures includes the hippocampus (HPC), the amygdalae, the entorhinal cortex, the temporal cortex[25], as well as some additional temporal components.

The HPC also forms part of the Papez circuit, which is a strong anatomo-functional environment that can be the support of an epileptogenic network. This circuit outflows successively from the HPC to the subiculum via fornix fibers to the mammillary bodies and via the mammillo thalamic tract to the anterior nucleus of the thalamus (ANT); the ANT then extends primarily to the cingulate gyrus and back to the HPC via the cingulate gyrus and the fimbria. The ANT also projects to a wide region of the neocortex via the cingulate gyrus[156]. Apart from its anatomico-functional relationship to the HPC, the involvement of the ANT as part of the epileptic network in MTLE was suggested by experiments in rats[224] and pigs[225] rendered epileptic after the injection of proconvulsant drugs. The ANT seems to be the principal node of the Papez circuit[221], sometimes defined as the "top of the action hierarchy"[222]. Due to its small size and well-defined boundaries, it is an attractive target for neuromodulation such as deep brain stimulation (DBS).

DBS was developed three decades ago[226] and is the gold standard technique in the armamentarium to treat neurological disorders, because it is reversible and customizable[227]. This therapeutic strategy has already been evaluated in some animal models[176,178,179,185,228–232], showing encouraging effects. The decision to implant the ANT is also based on the initially positive results found in the preliminary studies of Cooper[180,233] , three unblinded pilot trials conducted before[82,181,234] the randomized large multi-centric double-blind SANTE (stimulation of the anterior nucleus of the thalamus) trial[183] as well as long term trials conducted after the SANTE trial [182,235,236], which showed a seizure reduction of approximately 70%. However, despite these promising results in patients, there is a clear need for additional translational research to better understand the MTLE network and optimize the benefit for patients.

To properly evaluate DBS treatment in MTLE, the animal models previously used have limitations[103] because it is necessary to use a model close to human pathology, such as the nonhuman primate (NHP) model. We used a NHP penicillin (PNC) model (developed in our lab), which is reproducible, mimics human ictal semiology, and is pharmacoresistant[237] (under publication). We therefore identified the node features of the ANT by studying its modifications of the unitary and global activities during MTLE seizures and the effects on HPC activity induced by its electrochemical modulation. Based on these findings, we then evaluated the preventive effect of ANT-DBS treatment at two specific frequencies during seizure.

II. Results

1. Explorative study of the ANT involvement (Analysis of Micro recording – Monkey 1(M1) & Monkey 2 (M2)

a. Recording sites

Electrophysiological mapping of the ANT was performed to delineate the stereotactic coordinates in relation with the recording chamber before any PNC injection. A total of 24 tracks through the ANT were performed in two PNHs (Monkey 1 – M1; N=13; M2 N=11 from which we could record 82 neurons for M1 and 74 neurons for M2 and micro LFP (local field potential) for both NHPs, during MTLE status. On the three other NHPs (M3-M5), we also recorded macro LFP in ANT (*Figure 1*).

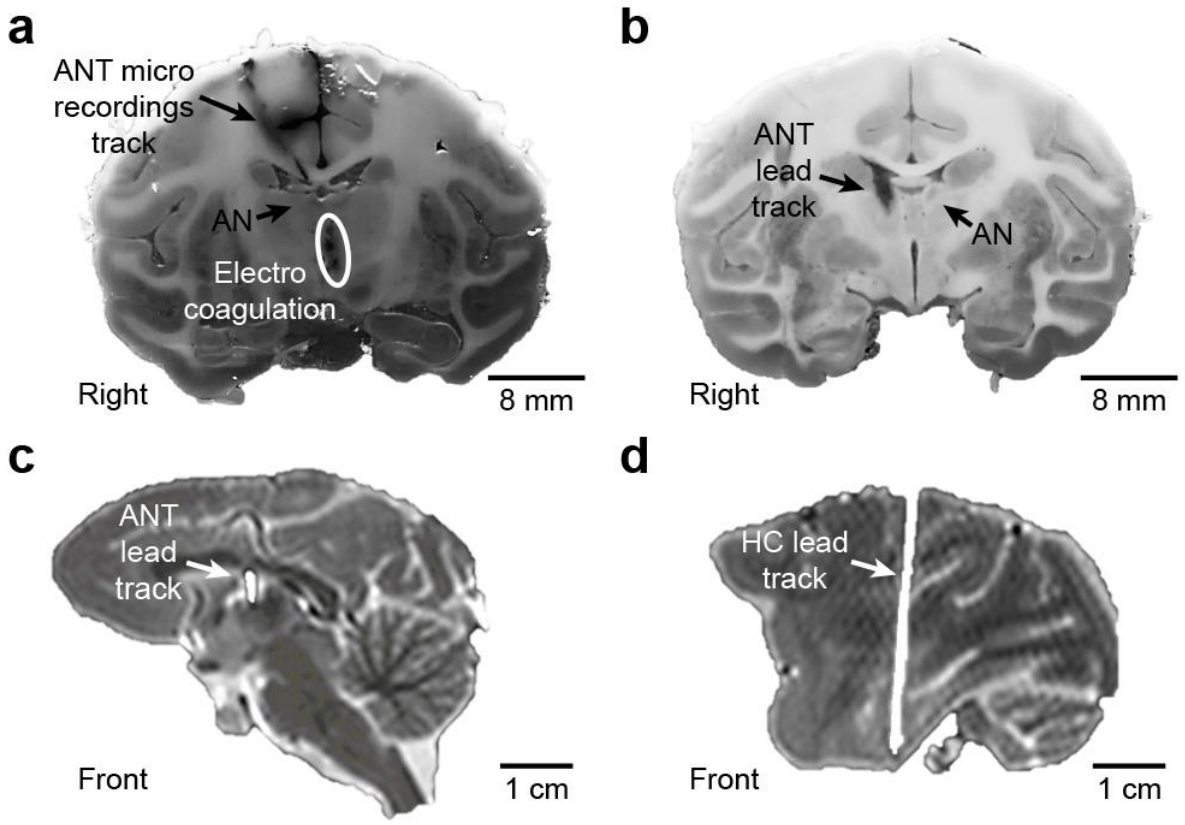


Figure 1: Recording sites
Coronal sections of brains of M2 (a) showing the micro recordings tracks and the electro coagulation mark; and M5 (b) showing the ANT lead track.
Post-operative MRI in the sagittal plan showing a DBS lead place in the ANT (c) in M4 and a depth electrode placed in the HPC (d) in M3.

b. Extra cellular activities of the ANT during MTLE status (M1 & M2)

The single unit analyses allowed us to identify three types of neurons. The ON neurons were characterized by a significant increase in firing rate (FR) during seizure versus interictal period (N = 92, 8.28 ± 6.75 Hz vs 13.80 ± 9.96 Hz, $p = 0.0015$), and by a significant increase of firing time locked with interictal spikes (*Figure 2a, c, e*). The OFF neurons showed a significant decrease in FR during seizure versus interictal period, and a significant decrease of firing time locked with interictal spikes (N = 27, 10.77 ± 8.65 Hz vs 5.51 ± 8.14 Hz, $p < 0.0001$) (*Figure 2b, d, f*). NON-responder neurons were also recorded, showing no significant difference in FR during interictal events and ictal status. We found 18.9 % and 28.1 % of NON-responder neurons, 63.5 % and 54.9 % of ON neurons, 17.6 % and 17.1 % of OFF neurons respectively in M1 and M2 (*Figure 2*). ON neurons were predominantly represented within the ANTs. For both NHPs, ON neurons were spared within the ANT and OFF neurons were mainly observed in the bottom third (*Figure 2h, i*).

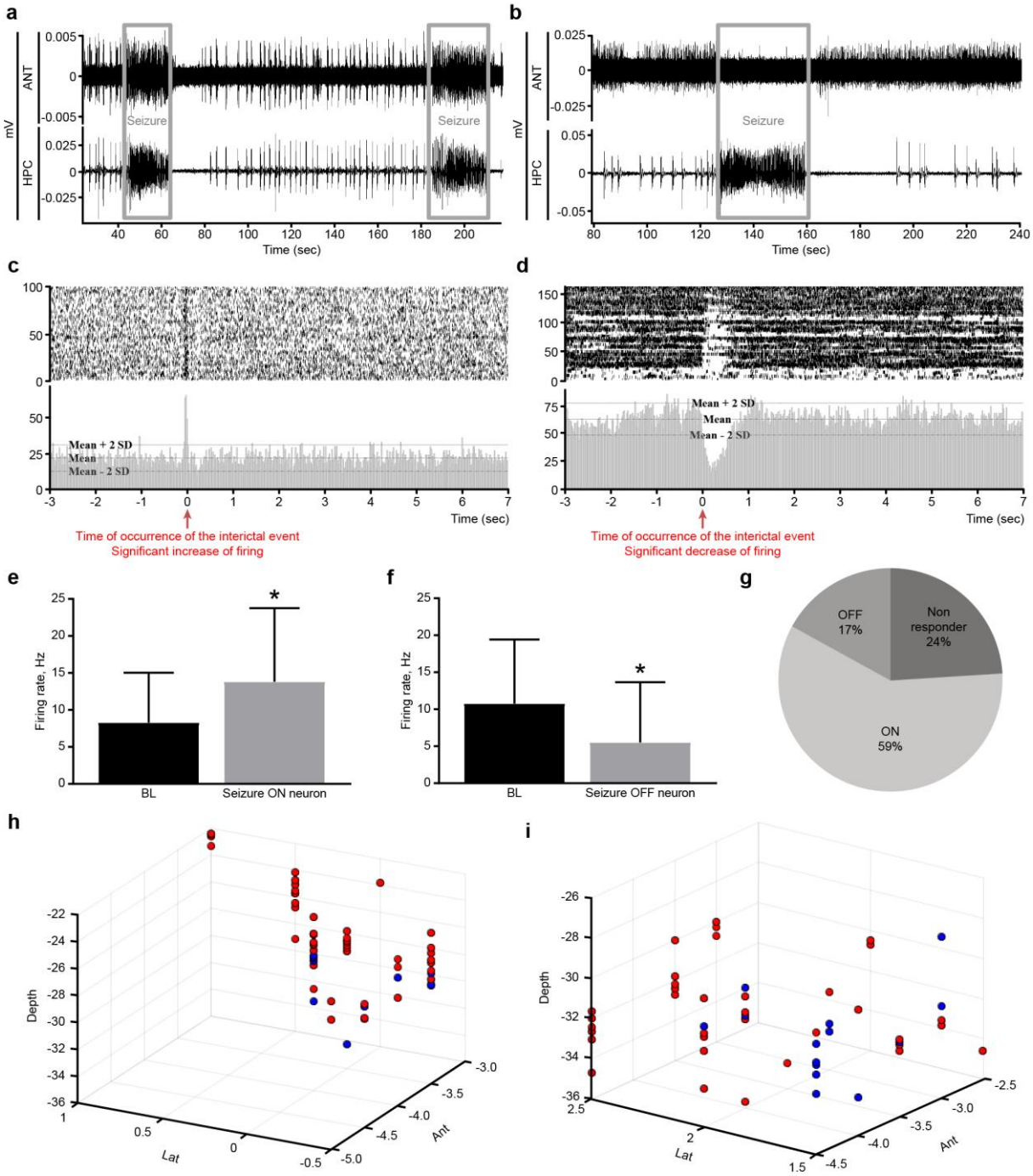


Figure 2: Extra cellular activities of the ANT during MTLE status (M1 & M2).

(a) ANT-MER (upper line) and HPC-LFP (bottom line) showing the increase of ANT activity during seizure.
(b) ANT-MER and HPC-LFP showing the decrease of ANT activity during seizure
(c) Raster (upper line) and PSTH (bottom line) illustrating the significant increase of firing time locked with HPC interictal sdike (> mean + 2SD)
(d) Raster (upper line) and PSTH (bottom line) illustrating the significant decrease of firing time locked with HPC interictal spike (< mean - 2SD)
(e) Firing rate variation during seizure. ON neuron vs BL (n=74)
(f) Firing rate variation during seizure. OFF neuron vs BL (n=23)
(g) Distribution of the three categories of neurons observed in the ANT
(h) & (i): 3D representation of the coordinates of the ANT neurons recorded in the chamber of M1 (H) and M2 (I). Blue: OFF neurons. Red: ON neurons.

c. Chemical neuromodulation of the ANT

Muscimol (GABA agonist) induced a significant decrease of FR (3.76 ± 2.46 Hz vs 1.85 ± 1.38 Hz, p = 0.0398) of ANT recorded neurons, and simultaneously the interictal HPC spikes significantly decreased (5.34 ± 0.60 Hz vs 4.57 ± 0.25 Hz, p = 0.0357). No significant effect was observed on the duration of seizure. Bicuculline injection (GABA antagonist) significantly increased the FR (3.76 ± 2.46 Hz vs 76.54 ± 90.64 Hz, p = 0.0096) of ANT recorded neurons and the number of interictal events (5.34 ± 0.60 vs 6.22 ± 0.25, p = 0.0491) within HPC, whereas the duration of seizure tended to increase (37.19 ± 6.54 s vs 57.69 ± 45.67 s).

At the clinical level, during muscimol exposure, both NHPs presented less severe seizures characterized by the disappearance of chewing for example, whereas bicuculline exposure led to an aggravation of the seizures characterized by strong vocalization time locked with the interictal spikes and intense teeth-grinding, in addition to the usual symptoms (aura, oral and gestural automatisms, loss of contact, contralateral dystonic posture and rare secondary generalization). (*Figure 3a, b, c*)

Under the effect of muscimol, a significant decrease of oscillations occurred within the β band (10 – 30Hz) (*Figure 3e*), whereas the bicuculline induced a generalization of significant oscillations from 5 to 80 Hz (*Figure 3f*).

d. MicroLFP analysis

The time-frequency charts of the rescaled normalized amplitude of HPC activity during seizures (*Figure 3g*) showed significant beta (β) oscillations (12-25 Hz) that started at the seizure onset and remained steady until seizure termination. Low-gamma activity (35-50 Hz) was broadly distributed all along the seizure. Some high frequency oscillations around 75 Hz were also observed during seizures. Simultaneously a significant broad-band oscillatory activity from 5 to 35 Hz occurred along seizure in the ANT (*Figure 3h*).

Coherence between HPC and ANT was strong during the time course of the seizure mainly in the 10-35 Hz band (*Figure 3i*). No significant coherence was observed in high frequencies (80 to 200 Hz).

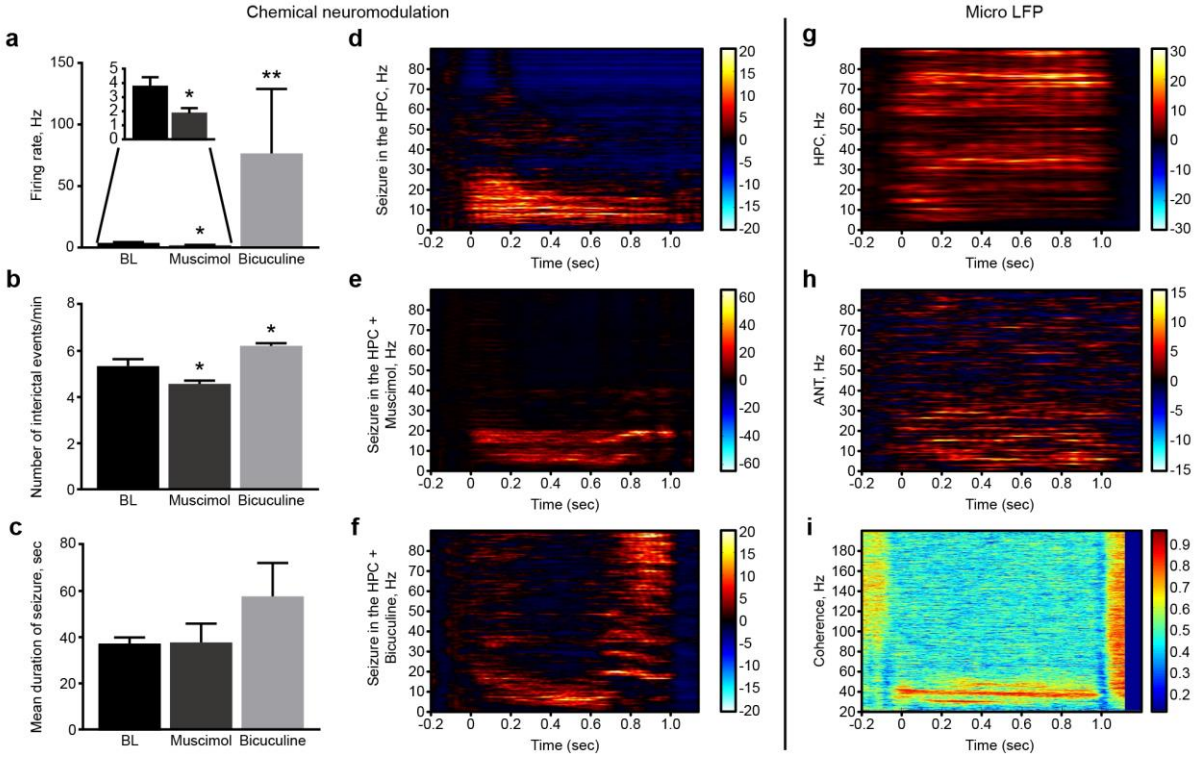


Figure 3: Chemical neuromodulation and microLFP analysis
Comparison between the effect of muscimol and bicuculline injection in the ANT (a) on the average firing rate, (b) on the number of inter ictal events and (c) on the mean duration of seizure. P<0.05
Time-frequency charts of signal amplitude of a seizure recorded in the HPC (d), after a muscimol injection in the ANT (e) and after a bicuculline injection (f).
Time-frequency charts of signal amplitude in the HPC (g) and in the ANT (h); and ANT-HPC coherence (i).
Micro LFP were recorded in M1 and M2.

e. Ultrastructural changes of the ANT following the repetitive inductions of the MTL seizures

In M1 contra-lateral tissue, tissue is occupied by dendrites and axon. There were 5,1± 1,4 synapses / 100µm2 of tissues and 2,5 ± 0,6 % of the tissue was occupied by astrocytic processes containing gliary filaments. In the ipsilateral (injected) side of M4, 74,5 ±6 % of the tissues is occupied by astrocytic processes filled with gliary fibrillary filaments and no synapses are left in the tissue.

In the ipsi-lateral side of M2 the phenotype was less pronounced, there were still 5,1±1,4 synapses /100µm2 but an increase of the proportion of glial fibres is observed since 13,4±2,5

% of the tissue is occupied by reactive astrocytic processes, usually not observed in this tissue (*Figure 4*).

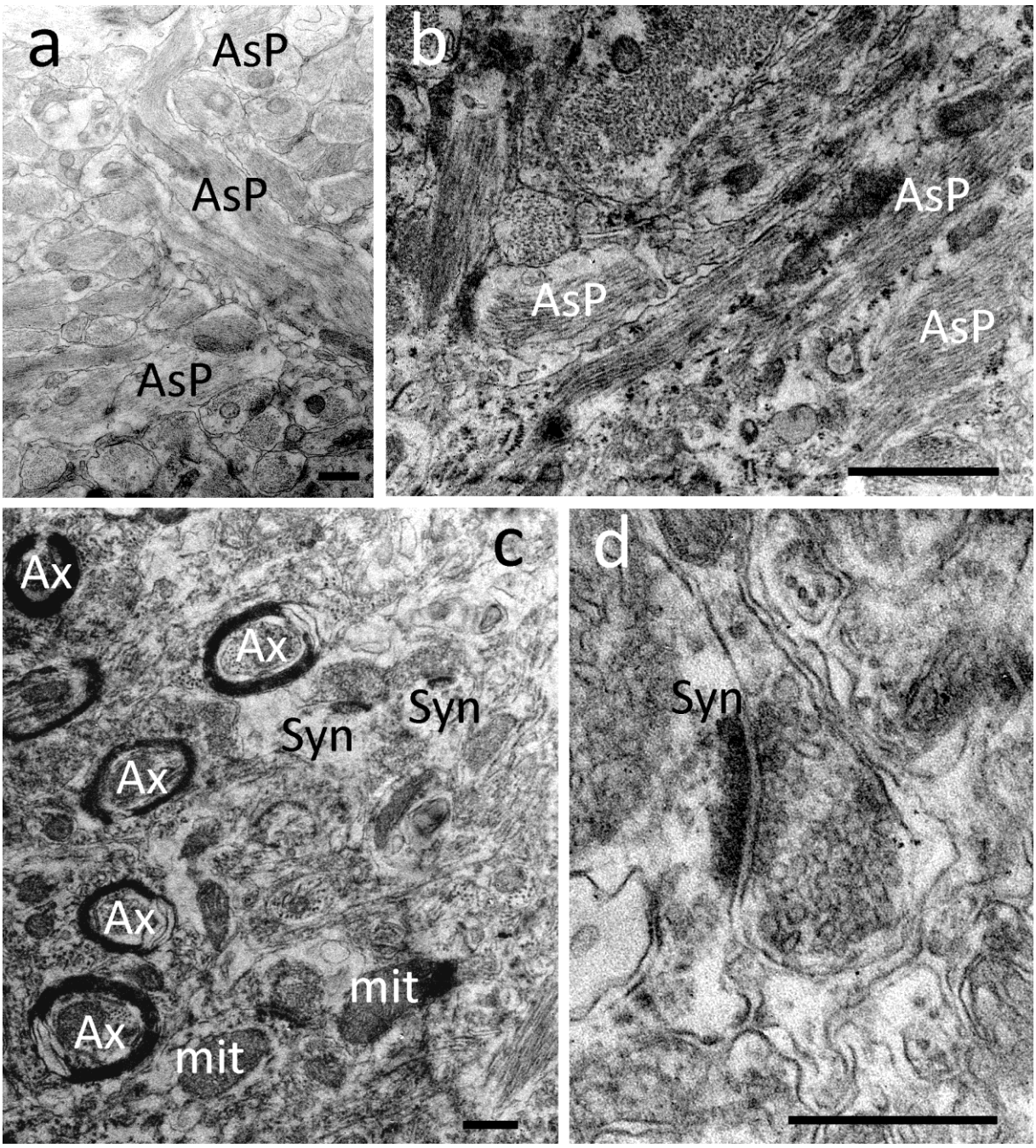


Figure 4: Ultrastructure changes of the ANT
(a) Ipsi lateral tissue invaded by astrocytic processes in which glial fibres could be seen.
(b) Detail of astrocytic processes with glial fibres of ipsi lateral tissue.
(c) Contralateral tissue in which myelinated axons are observed as well as synapses, astrocytes are mainly devoid of glial fibres.
(d) Detail of a synapse observed in contra-lateral tissue.
In the contralateral (control) CA1 area, many synapses were observed in the neuropile, they were located on medium to small dendritic spines and were often surrounded by astrocytic processes in which no filaments were observed. Capillaries were surrounded by a basal lamina of regular size and by astrocytic processes devoid of glial fibres.

AsP : astrocytic processes, Ax : axon; Syn : synapses. Bars: 500 nm

2. Therapeutical effect of ANT DBS

a. ANT DBS effects on HPC spontaneous activity

The effects of different frequencies of ANT stimulation on HPC spontaneous activity (LFPs) were also examined. Figure 4 shows an example of the changes in HPC spontaneous activity in response to 10 s of stimulation across a range of frequencies from 2 to 100 Hz. Among all frequencies tested, from both low to high (*Figure 5a*) and high to low-frequency (*Figure 5b*), 40 Hz was the only frequency showing a clear amplitude reduction of the spontaneous activity.

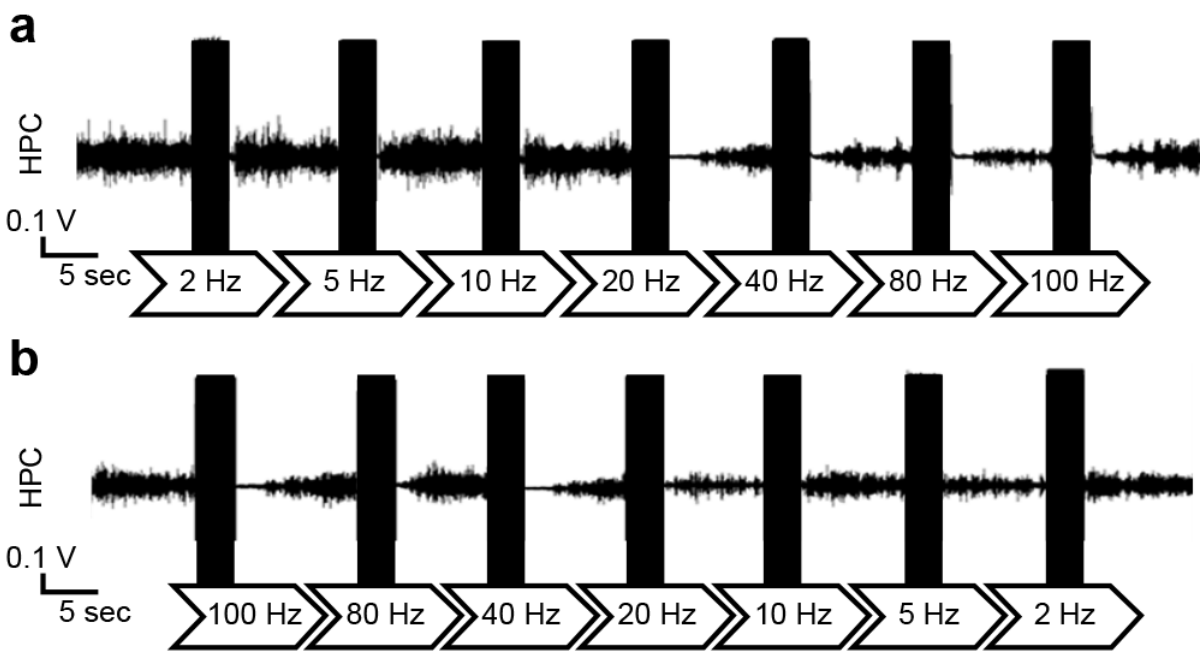


Figure 5: ANT DBS effects on HPC spontaneous activity
Effects of different ANT DBS stimulation frequencies on spontaneous activity recorded in the HPC, out of PNC injection. Response to low/high-frequency (a) and high/low-frequency (b) burst patterns (5-second burst, 1 per minute).

b. ANT DBS efficiency on seizure.

Bipolar stimulation (1-2+) was used during acute stimulation paradigm in all NHPs. We performed a total of 12 sessions at 130 Hz (4 /NHP) and 27 sessions at 40 Hz in the 3 NHPs (7

for M3, 12 for M4 and 8 for M5). Overall, the interictal spikes frequency and the mean duration of seizure did not significantly vary during stimulation (S) and during the post stimulation period (post S) at 130 Hz (*Figure 6a, b*) and 40 Hz stimulations in comparison to baseline (prior to S) for all NHPs (*Figure 6e, f*). Regarding the mean total time spent in seizure, we observed a trend for an increase in post S for all NHPs at 130 Hz, significant when data were pooled (143.2 ± 91.58 s prior to S vs 151.4 ± 64.71 s during S vs 238.3 ± 112.6 s post S, $p = 0.0289$) (*Figure 6c*). At 40 Hz, we observed a significant decrease in time spent in seizure for M3 (57.38 ± 21.01 s prior to S vs 13.55 ± 2.886 s during S vs 36.77 ± 24.94 s, $p < 0.0001$) during S and post S, and only during post S for M4 (116.5 ± 5.641 s prior to S vs 61.96 ± 41.70 s post S, $p = 0.0168$). M5 showed a tendency to a decrease of the time spent in seizure during S (88.74 ± 0.6608 s prior to S vs 81.25 ± 4.168 s) (*Figure 6g*).

In all NHPs, the mean number of seizure did not significantly vary at 130 Hz (*Figure 6d*). At the contrary, a significant decrease occurred during S and post S at 40Hz (5.852 ± 2.797 prior S vs 2.370 ± 1.904 during S vs 2.815 ± 2.167 post S, $p < 0.0001$, all NHPs pooled) (*Figure 6h*).

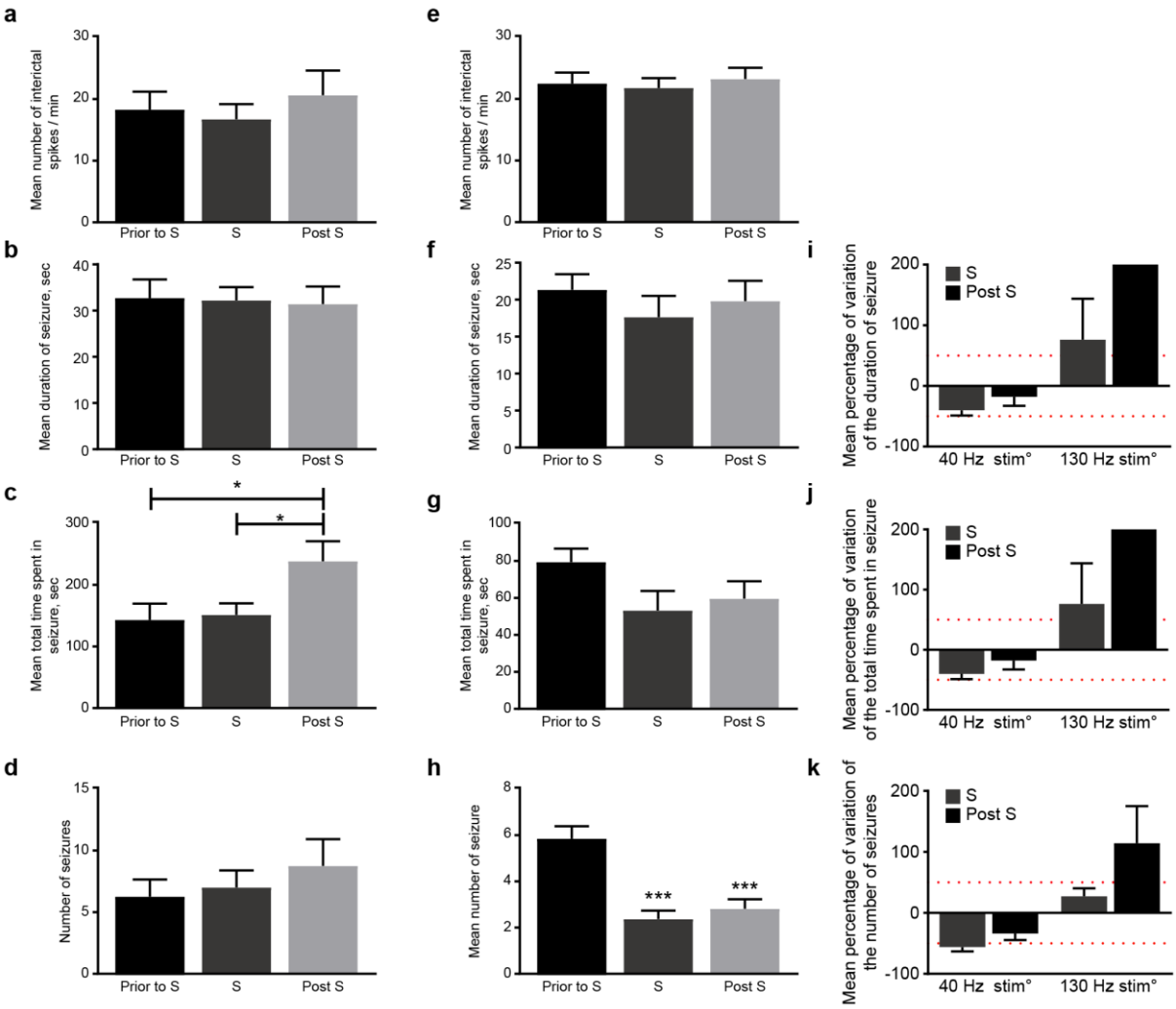


Figure 6: Therapeutical effect of ANT-DBS
130Hz: Graphs illustrating the effects of the 130 Hz/450µs stimulation of the ANT on the number of interictal events /min (a), on the mean duration of a seizure (b), on the mean total time spent in seizure (c) and on the number of seizures (d).
40Hz: Graphs illustrating the effects of the 40 Hz/450µs stimulation of the ANT on the number of interictal events /min (e), on the mean duration of a seizure (f), on the mean total time spent in seizure (g) and on the number of seizures (h).
Values are given for each NHP (M3-M5) – prior to S (black), S (dark lines) and post S (black dots) - and for all NHPs pooled (grey back), 27 sessions of stimulation in total. Values are expressed in mean and SEM.
*** P < 0,05 ** P < 0,02 *** P < 0,001**
Summary: Graphs illustrating the mean percentage of variation induced by the 40 Hz and the 130 Hz ANT stimulation on the duration of a seizure (i), the total time spent in seizure (j) and the number of seizures (k).
Values are given for all NHPs pooled – S (horizontal dark lines) and post S (dots) - 27 sessions of 40Hz stimulation and 12 sessions of 130Hz stimulation. The percentage is calculated according to prior to S values.
Values are expressed in mean and SEM.

c. MacroLFP analysis to predict ANT DBS efficiency

Changes of LFPs recordings obtained with macro contact into the ANT were concomitant with interictal spikesand seizures recorded intothe HPC. As for micro LFPs recorded within the HPC, significant oscillations occurred within a 10 to 50 Hz band (*Figure 7a*). Simultaneously, a

significant oscillation at 30 Hz correlated with the HPC was identified within the ANT (*Figure 7b*).

Coherence analysis between HPC and ANT demonstrated a significant peak at 45 Hz at the onset of the seizure and at 25 Hz during the seizure (*Figure 7c*). Coherence analysis did not show any significant results in the high frequencies (from 80 to 200 Hz).

The correlation of the score of coherence between activities during the seizures within the ANT and HC prior to the stimulation appears to be positively correlated with the percentage of efficacy of 40 Hz stimulation ($R^2 = 0.4150$, $p = 0.05$ if $R^2 > 0.38$) (*Figure 7d*).

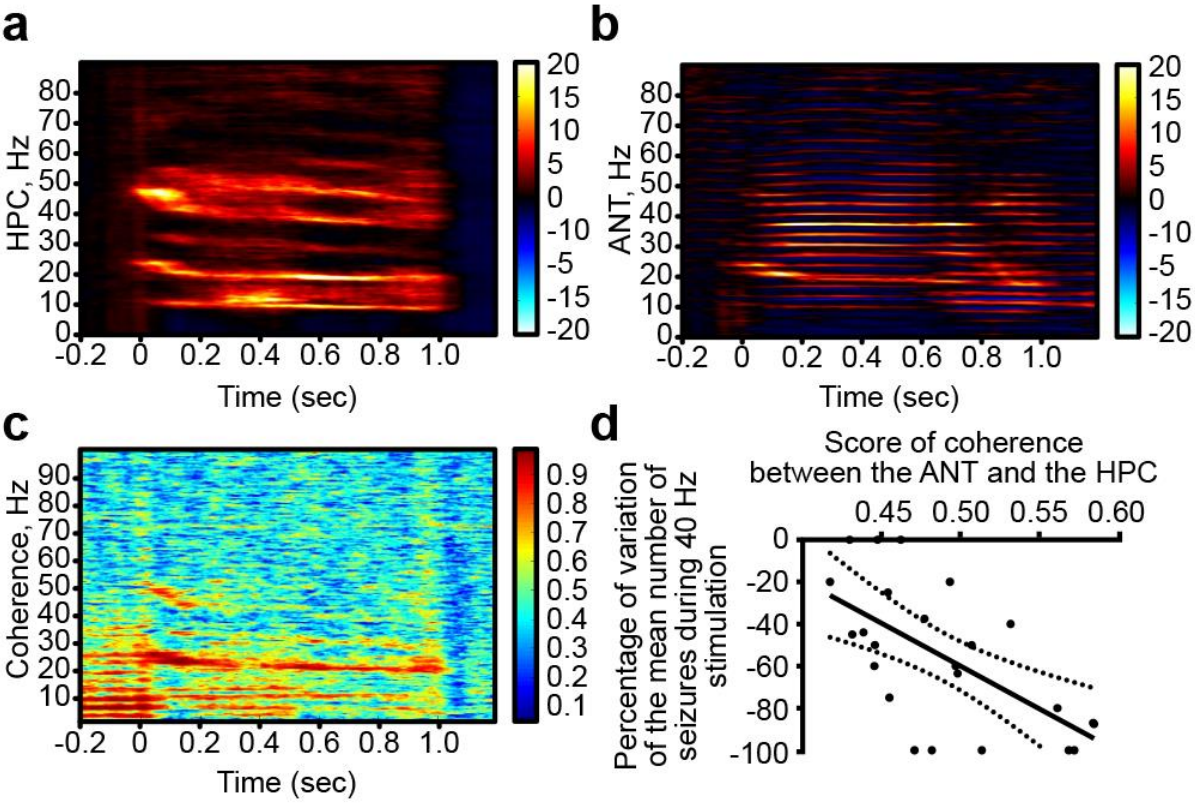


Figure 7: MacroLFP analysis to predict ANT DBS efficiency
Time-frequency charts of signal amplitude in the HPC (a) and in the ANT (b); and ANT-HPC coherence (c). Macro LFP were recorded in M3-M5.
(d) Linear regression between the score of coherence between the AN and the HPC in baseline, prior to stimulation, and the percentage of variation of the number of seizure during the stimulation.
0: weak coherence. 1: strong coherence.
N= 27 experiments
R^2: 0.4150. p= 0.05 signifiant if R^2>0.38.

III. Discussion

Due to its environment and key position in the Papez circuit, the ANT seems to be a principal node within complex and large network. In this study, the involvement of ANT in MTLE is pointed out by using different levels of approach.

Explorative study of the ANT involvement

Firstly, the existence of neuronal response changes during ictal activity demonstrates the implication of the ANT in MTLE. Five sixth of the recorded neurons exhibited an increase of their FR during seizure, one sixth exhibited a decrease and the last neurons did not exhibit any response. This diversity of neuronal responses reflects the involvement of different neuronal types in MTLE. This heterogeneous population of neurons within the ANT underlies its complex involvement in MTLE. Interestingly, these different neuronal populations are anatomically segregated within the ANT. The OFF neurons are mostly found within the inferior part of the ANT whereas others are spottily within the nucleus, suggesting a different involvement according to the region. This distribution within the ANT could mean that different groups of neurons enter and dwell in the different states owing to the local network dynamic properties[238]. Besides, these heterogeneous firing patterns have also been observed in the HPC in a pilocarpine rat study of MTLE[239], illustrating a complex epileptic network property.

Secondly, the involvement of ANT within MTLE has been also demonstrated from LFP analysis. Strong β oscillation coherence between the HPC and the ANT observed during seizures validates the involvement of ANT in MTLE. This coherence provides additional evidence that epileptic activity developed in focal epilepsies may be a result of pathological synchronization in the focus and then spreads to the other epileptic network regions[240]. This strong interaction between the two structures during seizure suggests the participation of the ANT in the maintenance of ictal β band oscillations. Thus, the ANT could play a switch role in terms of the relaying structures by preventing the signal from spreading and the seizure from generalizing.

Thirdly, neurochemical modulation showed the implication of the ANT especially in MTLE propagation. Muscimol injections decreased the MTLE severity, contrary to bicuculline that increased severity. These clinical effects are likely due to changes in the significant oscillations recorded within the HPC during seizures. Indeed, muscimol leads to the disappearance of the 20 to 30 Hz band, whereas bicuculline results in the spreading of significant oscillations between 5 and 90 Hz. This result shows that the chemical modification of the neuronal ANT

activity influences the severity of the MTLE by acting on the HPC. In the same way, previous data[186,225,241,242] in other experimental models suggest that the ANT inhibition by muscimol injection might affect the propagation network via the ANT, thus causing a decrease in epileptic seizure severity. This effect is dependent of the drugs affinity, acting only on certain neurons expressing specific receptors, and in our case, participating in the propagation network. We may therefore conclude that the ANT might be involved in the propagation circuit in addition to its role in the primary ictal activity.

All these results encourage the exploration of the effects of electrical ANT neuromodulation which, by modifying the neuronal activity of the entire ANT, would control the ictal activity.

Therapeutical effect of ANT DBS

Indeed, ANT-DBS[82,180–183,235,236] showed encouraging results consisting of significant decrease in seizure frequency, with 14% of patient having memory and mood complains probably related to the parameters and site of stimulation. However, the rate of seizure-free patients, which is the ultimate goal of patients, was, as expected, low, probably due to the empirical methodology used to define the DBS paradigm. To enhance therapeutic efficacy, a better understanding of the pathophysiology and DBS mechanism is necessary in animal models that are as close as possible to the human disease.

In our study, the effect of low-frequency (40 Hz) ANT DBS on the spontaneous neural activity within the HPC was explored, suggesting that 40 Hz stimulation acts to increase hippocampal inhibitory tone. The background level of this neural 'noise' can be considered as a measure of the overall state of cortical and network excitability. ANT DBS produced a clear, reproducible, and frequency-dependent suppression of HPC excitability, which lasted for several seconds following cessation of stimulation.

The strong coherence in the β band and the effect of the 40 Hz ANT DBS on the HPC noise lead us to test 40 Hz ANT DBS in addition to the commonly used 130 Hz. ANT high frequency stimulation had no effect on MTLE seizures or interictal events and even tended to worsen them. At the contrary, ANT low frequency stimulation at 40 Hz significantly decreased the mean number of seizures and the mean total time spent in seizures during stimulation, with a strong post effect in all NHPs. These effects are unlikely to be due to micro-lesion effects, because all NHPs presented a high rate of seizures when stimulation was OFF.

A key finding of this study was the significant correlation between the strength of the ANT and HPC coherence with the ANT DBS efficiency (*Figure 6d*).

During seizure, a significant oscillatory activity was observed in both structures around 40 Hz, which was confirmed by the coherence analysis. Surprisingly, a linear correlation demonstrated a significant link between the coherence strength between the HPC and the ANT, and the 40 Hz DBS efficiency. This result suggests that the analysis of synchronous oscillations between two structures could predict the therapeutic efficiency of the DBS: the stronger both structures are correlated in a frequency band, the more efficient is the stimulation belonging to this frequency band.

This correlation has already been observed in a NHP model of motor seizures between the motor cortex and the STN [199] in which both structures oscillated in high frequencies generating a significant coherence in high frequency bands (> 60 Hz). In this case, it appeared that unilateral high frequency stimulation of the STN had a therapeutic effect with a decrease of the number of seizures and of the total time spent in seizure. The action mechanisms of DBS remain poorly understood, but it was proven that a kindling-like stimulus pattern (as provided by stimulating the ANT at 40 Hz and part of the β band where both ANT and HPC oscillate) produces a modulation in the GABAergic inhibition[243], thereby reestablishing the balance between excitation and inhibition to a normal situation in the ANT.

These data might clarify the inadequacy of the 130 Hz ANT stimulation and explain the varying effects observed in several studies [176,178,179,182,183,228–230,244]. The significant link between the score of coherence and percentage of variation in the mean number of seizures during the 40 Hz stimulation support the idea that a stimulus pattern applied at the same frequency of the high coherence can be efficient to block the network. We considered the endogenous dynamics of seizures (recorded within a node of the network), which may lead to significantly different efficacy assessments of the same stimulation frequency: the more we observed the β band coherence, the more the stimulation was effective, because it was closer to the target (ANT) oscillation.

IV. Conclusion

This study aimed to better understand the role of the ANT in MTLE in order to propose a suitable paradigm of ANT stimulation. We showed that the ANT was involved in MTLE as an

active part of the network, and thus a modulation of its activity modifies the expression of MTLE. The endogenous dynamics of the seizure in both the ANT and HPC (and especially the study of the coherence between them) leads to an adapted ANT stimulation paradigm that significantly decreases seizure frequency and the time spent in seizure. The paradigm could be adjusted and personalized by a study of the fine frequency of the seizure prior to establish the DBS paradigm.

V. Methods

Animals

This study was performed on five Macaca fascicularis (CRP, Port Louis, Mauritius), 2 males (M4 and M5) and 3 females (M1-M3), weighing from 7-12 kg. The experiments followed the French guidelines on the use of living animals in scientific investigations with the approval of our local Ethical Committee (#04) for care of laboratory animals. All experimenters received proper training and certification for animal experimentation. Every effort was made to minimize animal's suffering while maximizing the data obtained. Before surgery, in order to minimize stress, the NHPs were progressively trained to stay on a primate chair. The NHPs were included in two distinct experimental protocols: M1-M2 were part of the micro recording protocol, and M3-M5 were part of the macro recording and DBS protocol. In those protocols MTLE seizures were induced and recorded under similar conditions.

Surgery

The animals were kept fasting 10 h before surgery. The surgery was performed under general anaesthesia with intra muscular injection of ketamine (Imalgene, Merial laboratory, France) 0.4 mg at induction followed by 0.2 mg per hour and xylasine (Rompun, Bayer Healthcare AG ,Germany) 2%, 0.2 ml at induction followed by 0.1 ml per hour). Additional local scalp anaesthesia was provided with subcutaneous injection of lidocaine chlorydrate. Prophylactic antibiotics, analgesics and anti-inflammatory drugs were delivered during per operative period.

Surgery was performed with a stereotactic frame under intraoperative tele-radiographic control. The HPC was first localized using bi-commissural landmarks obtained by a ventriculography performed by injecting 2 ml water soluble iodine contrast medium (Bracco Imaging, France). Two cannula-guides were screwed in the skull in order to reach the part where the dentate gyrus (DG) is the most extended within the HPC to enable further injections of PNC (ANT = -1 and + 1 mm/ interaural line; LAT = 12mm/ midline (ML); with an antero-posterior angle of 10°).

Surgery for micro recording (M1&M2)

To monitor the ictal activity, a five-contact electrode (semi rigid, diameter of 0.8 mm, contact length of 2 mm, inter-contact isolator length of 1.5 mm, DIXI Medical, France) was implanted within the HPC close to the injection site with the lower contact located at -5 mm from AC, at 10 mm from the ML and 27 mm depth from dura. A 16-mm stainless steel recording chamber (Crist instrument, Hagerstown, USA) was stereotactically cemented to the skull over a trephine hole to allow access to the ANT. The recording chamber was tilted 28.5° laterally in the coronal plane for M1, and 19.1° for M2. The coordinates of the chamber were verified using ventriculoraphic landmarks. In addition, a stainless-steel head holder (Crist instrument, Hagerstown**,** USA) was placed on the back of the skull to maintain monkey's head fixed in a restraining chair (*Figure 8a, b*).

Surgery for macro recording and DBS (M3-M5)

To monitor the activity, a four-contact electrode (lead length 40 mm, electrode length 1.27 mm, and outer diameter of electrode 1.5 mm spaced 0.5 mm apart, 3389, Medtronic, USA) was implanted within the HPC close to the injection site with the lower contact located at -5 mm from AC, at 10 mm from the midline and 30 mm depth from dura. A quadrielectrode lead (length 20 mm, contact length 0.5 mm, outer diameter of electrode 0.74 mm spaced 0.5 mm apart, NuMed, USA) was implanted so that 2 contacts were in the ANT, with an angle of 10° (M3 and M5) and 30° (M4). Then the back of the animal was prepared for a skin incision and a subcutaneous space was created to place the neurostimulator (Activa®PC, Medtronic, Minneapolis, USA). Lead extensions (lead extension 37086, 40 cm, Medtronic, Minneapolis, USA) were tunnelled through the subcutaneous space in the back and neck, and connected to with the implanted electrode and the stimulator to complete the circuit (*Figure 8c, d*). All these

equipments were affixed to the skull with fixing screws and embedded into dental acrylic cap. NHPs were allowed to recover and monitored in the post-operative period. Food and water were provided ad libitum. Experimental induction of seizures was performed after at least 10 days of recovery period.

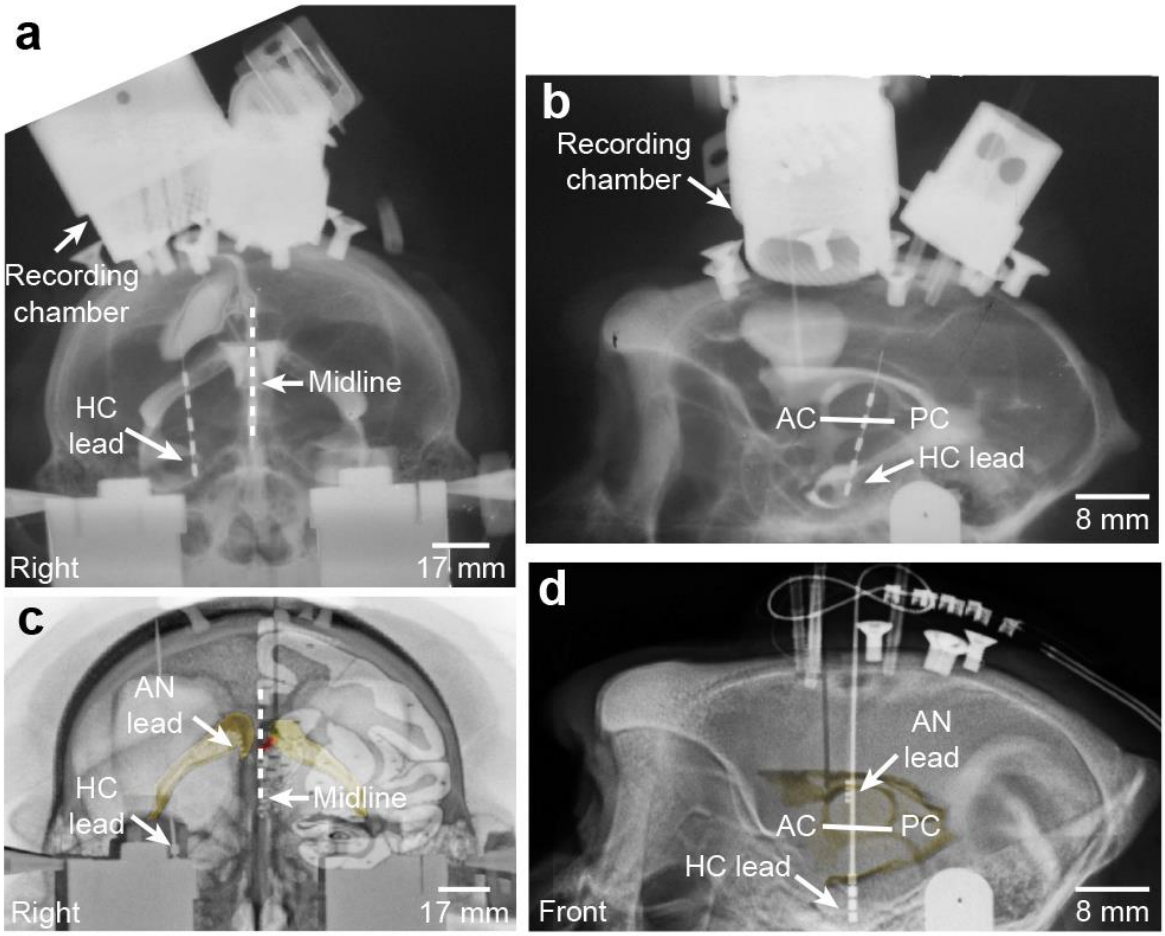


Figure 8:
Identification of ventriculographic landmarks (Midline, anterior and posterior commissure (AC and PC)) on face (a, c) and profile (b, d). The face (a) is merged with the ventriculography and final Xray of definitive implanted 5 contacts lead in the HPC, and the recording chamber in regard of the ANT. The face (c) is merged with the atlas plate of Macaca fascicularis brain (red: ANT), the ventriculography (yellow) and the final Xray of definitive implanted two quadrielectrode leads.

(for details see material & methods)

Induction of seizures

NHP was positioned on a primate chair (Crist Instruments, USA), with the head fixed to a head holder. This allowed free movements of limbs and permitted oral feeding of animals during the course of the experiments. HPC activity was recorded for 10 minutes prior to seizure induction. PNC (3032, Sigma-Aldrich) was diluted with sterile water for injection to achieve a

strength of 1000 IU/µL. Using a sterile technique, a range from 3000 to 15000 IU of PNC (3-15 µL) was injected over periods of 90–300s, using a mechanical pump connected to a Hamilton syringe, at a rate of 2-3µL/min through the cannula, within the right HPC, at a depth of 30 mm from the dura. After the end of injection of PNC, the injecting needle was kept in situ for 5 min before withdrawal. The injections were performed at least once a week.

Data acquisition of the micro recording protocol (Figure 8A)

After 1 to 2 weeks of post-operative recovery period, the NHP was placed on a restraining chair and its head was fixed through the head holder. An epoxylite tungsten microelectrodes (impedance 0.5-1 MΩ, FHC, Frederick Haer Co., Bowdoinham, ME) was advanced into the ANT. The electrical signal was amplified and band-pass filtered at 300-10,000Hz and digitally sampled at 24 kHz to record unit activity. Simultaneously, the local field potentials (LFP), collected from the HPC electrode, were amplified, filtered (DC-300Hz) and sampled at 300 Hz (MCP and AlphaMap, Alpha Omega, Jerusalem, Israel).

On completion of the experiment, the end of the best recording track (-3,5 ANT; 0,5 LAT) was marked with one electrolytic lesion (*Figure 1a*), made with a direct current, during 2 minutes at 2-4 mA (DS8000, WPI, Stevenage, UK) in M2.

In animals undergoing chemical manipulation of the ANT (n = 2), a 30 gauge metal injector needle, filled with either muscimol (1mg/mL in distilled water; Sigma-Aldrich, Poole, UK) or bicuculline methiodide (10mg/mL in 0,9% saline; Sigma-Aldrich, Poole, UK), was coupled to the epoxylite tungsten microelectrode. Lateral separation between the electrode and the injector was 0.2-0.5 mm. Intrathalamic injections (2µL; 1µL/min) were made with a 10 µL Hamilton syringe (Scientific Laboratory Supplies Ltd., Nottingham, UK) mounted on an infusion pump, connected to the needle by a length of plastic tubing. Once we were sure the model started well (the seizure occurrence was more than 5 per 20 min during the first hour after the injection), we recorded ictal activity during 1 h in order to have values to compare with those observed after the chemical neuromodulation. The muscimol was then injected in this site, and unit activity was recorded until the activity returns to its normal pattern for at least 1 h. The muscimol has a short half-life, with the peak of concentration at 10 min after the injection and it rapidly decreases between 40 and 60 min[245]. Then the same locus was injected

with bicuculline in the same conditions, and recorded until the shutdown of the model. The bicuculline is unstable at physiological conditions and as a half-life < 45 min[246]. (*Figure 9a*)

Data acquisition of the macro recording and DBS protocol

LFP recordings were recorded using the Activa® Primary Cell + Sensing (PC+S, "Brain Radio", Medtronic, USA). The electrical signal was amplified and band-pass filtered between 0.5 and 100 Hz and sampled at 200 Hz (*Figure 9b*).

The stimulation parameters were programmed using the N'Vision programmer (Model 8840, Medtronic, Minneapolis, MN). Once we were sure the model started well (the seizure occurrence was more than 5 per 20 minutes during the first hour after the injection), discontinuous ANT stimulation was applied with parameters routinely used in clinical settings (130 Hz, 60 µs of pulse width) or with other parameters (40 Hz, 90 µs of pulse width) with the paradigm 2 min ON/2 min OFF repeated 5 times during 20 min. Then we waited the number of seizure to return to normal (at least one hour) and started a second stimulation session with the same parameters. The experiments were divided into several 20 min parts, for a practical issue (*Figure 9c*). The voltage was different for every animal, depending on previous tests to determine the threshold that induced reactions to the monkey.

For each experiment, we counted the number of seizures online and identified the change of behavior occurring. A first observer counted the number of seizures and interictal events offline, and then a second blind observer counted again. The counting of both observers was then compared, and no differences were noted. It was possible to count the number of seizures during the stimulation despite the artefact.

Clinico-electrical characteristics of MTLE NHP model

Following a single intra HPC PNC injection, we observed three distinct electrical patterns; 2 types of interictal events (patterns A & B) and the seizures (pattern C) (*Figure 9d, e, f*).

Pattern A: Interictal events involved single HPC LFP spiking with higher amplitude than baseline. The typical spike lasted 0.32 ± 0.13 s, had an average amplitude in the range of 60

µV to 250 µV with a mean frequency of 0.37 ± 0.17 Hz (quantified for a sample of n = 50 events).

Pattern B: Train of interictal poly-spikes lasting for less than 5 s, had average amplitude in the range of 60-250 µV (n = 50 events).

Pattern C: Seizures lasted between 6 s and 135 s (35.82 ± 13.71 s, n=620 seizures from all NHPs). The beginning of seizure was marked by LFP spikes, like interictal ones, with amplitude in the range of 60 µV to 400 µV, at a frequency of 0.5 to 1 Hz and lasting less than 5 s. This was followed by ictal discharge with a frequency in the range of 10 to 25 Hz. The amplitude increased to a range of 60 µV to 350 µV (mean 131.14 ± 84.68 µV) during the seizure. The end of seizure was marked by abrupt return of LFP to baseline. The clinical picture of a typical seizure demonstrated in more than 80% of seizures a loss of awareness of surroundings, repeated swallowing or chewing and a head turning contra-laterally.

Post mortem studies. The NHPs were killed by an overdose of pentobarbital (100mg/Kg) and the brains were quickly removed from the skull and frozen in carbonic ice at -78°C. For verification of the recording locations, the brain was cut on a freezing microtome into 40 µm sections mounted onto gelatinized slides. Unitary recording sites were reconstructed based on the electrolytic lesion and of the linear gliosis associated with microelectrode tracks.

Micro recording analysis

Spike sorting processing. Isolation of the single-unit activity from the raw signal was performed using a template-matching algorithm (Spike 2; CED Software) to evaluate the FR. Semiautomatic interictal event isolation was systematically verified and corrected based on the quality of the spike waveforms and by principal components analysis.

Firing analysis. A peristimulus histogram (PSTH) was performed for every neuron to evaluate the change of the ANT FR in correlation with the interictal events in the HPC (*Figure 2c, d*). The change of activity was considered significant if lower or higher than the mean ± 2 x standard deviation (SD).

The baseline (BL - inter-ictal periods, outside the seizures) FR was compared to the FR during seizures (N = 119) using a Wilcoxon matched-pairs signed rank test (*Figure 2e, f*). A difference was considered statistically significant for a p-value <0.05.

To study the effect of the chemical neuromodulation (*Figure 3a, b, c*), the number of interictal events (/min), the average duration of each seizure (in s) and the FR was compared during BL period to post muscimol injection period and to post bicuculline injection period (all values were expressed in mean ± SD, N = 3 experiments). A Dagostino and Pearson omnibus normality test was previously done to verify if the values came from a Gaussian distribution, then a Mann Whitney test was performed, with a p-value <0.05 considered statistically significant.

Spectral analysis for micro and macro recordings

Time-frequency analysis of a collection of seizures recorded in each NHP was performed (49 seizures from 7 experiments for M1, 33 seizures from 5 experiments for M2, 31 seizures from 4 experiments for M3, 46 seizures from 6 experiments for M4 and 27 seizures from 3 experiments for M5). They were selected so that they contained no artifact throughout their duration, which was comprised between 6 s and 135 s (average duration: 35.82 ± 13.71 s). LFP signal was chosen as the bipolar derivation covering the HC. The amplitude (square-root of power) of oscillatory activity between 1 and 200 Hz for M1 and M2, and 1 and 99 Hz for M3-M5 was obtained using standard time-frequency analysis based on the Morlet wavelet transform. The first and last spikes of each discharge were used to define its onset and termination, respectively. Time window of analysis started 20 s before the seizure onset and finished 10 s after seizure termination. For each frequency, the amplitude was computed on 40 periods length sliding time-window. Time-frequency sampling of the time frequency plane was 49 ms / 1Hz. Time-frequency data were normalized using the standard procedure: for each frequency, the mean of the baseline (periods of at least 10 s without interictal spikes chosen prior to each seizure) was subtracted to the data and then demeaned data were divided by the standard deviation of the baseline. Baseline was defined for every seizure as a period of at least 10 s without interictal spikes chosen just before seizure onset. Finally, the typical time-frequency pattern of recorded seizure was defined as the median value over

seizures of the normalized time-frequency charts computed as such. Before median averaging, time-frequency charts were resampled linearly on a time scale to normalize seizure duration to the observed average (48 s) (*Figures 3d-h & 7a&b*). The coherence between the ANT and the HC from the collection of seizures was also computed for each NHP (*Figures 3i & 6c*), using the cohere function from the signal toolbox of Matlab. A score of frequency coherence between the ANT and the HC during seizures occurring before stimulation was calculated using the Matlab algorithm (0: no coherence; 1: full coherence, N = 5 to 10 seizures/experiment). This score is the mean of each obtained coherence through time and frequency. The linear regression (*Figure 7d*) was calculated between the score of coherence (for the experiments with no effect or a decrease of the number of seizure, N = 27 experiments) prior to stimulation, and the percentage of variation of the number of seizure during stimulation. For a p-value = 0.05 and a degree of liberty (N-2), the correlation will be considered significant, if R^2>0.381 according to the table of the correlation coefficient (Pearson and Spearman).

Evaluation of DBS therapeutic effect. In each experiment (N = 27 experiments for 40 Hz stimulation and 12 experiments for 130. Hz stimulation), we quantified the number of interictal events (/min), the mean duration of a seizure (in s), the mean total time spent in seizure (in s) and the mean number of seizure (*Figure 6a-h*). We expressed it in mean ± SD. For each NHP and all, the differences between the 3 periods of interest (prior to stimulation, stimulation, post stimulation) lasting each one 20 min, were compared using a Kruskal-Wallis test and a Dunns' post test (GraphPad Prism version 5 for Mac OS X, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com). A difference was considered statistically significant for a p value < 0.0.5. The variation of all these criteria was also illustrated in mean percentage of variation (*Figure 6i-k*). The variations were expressed for each session of stimulation and post stimulation according to the "prior to stimulation" part.

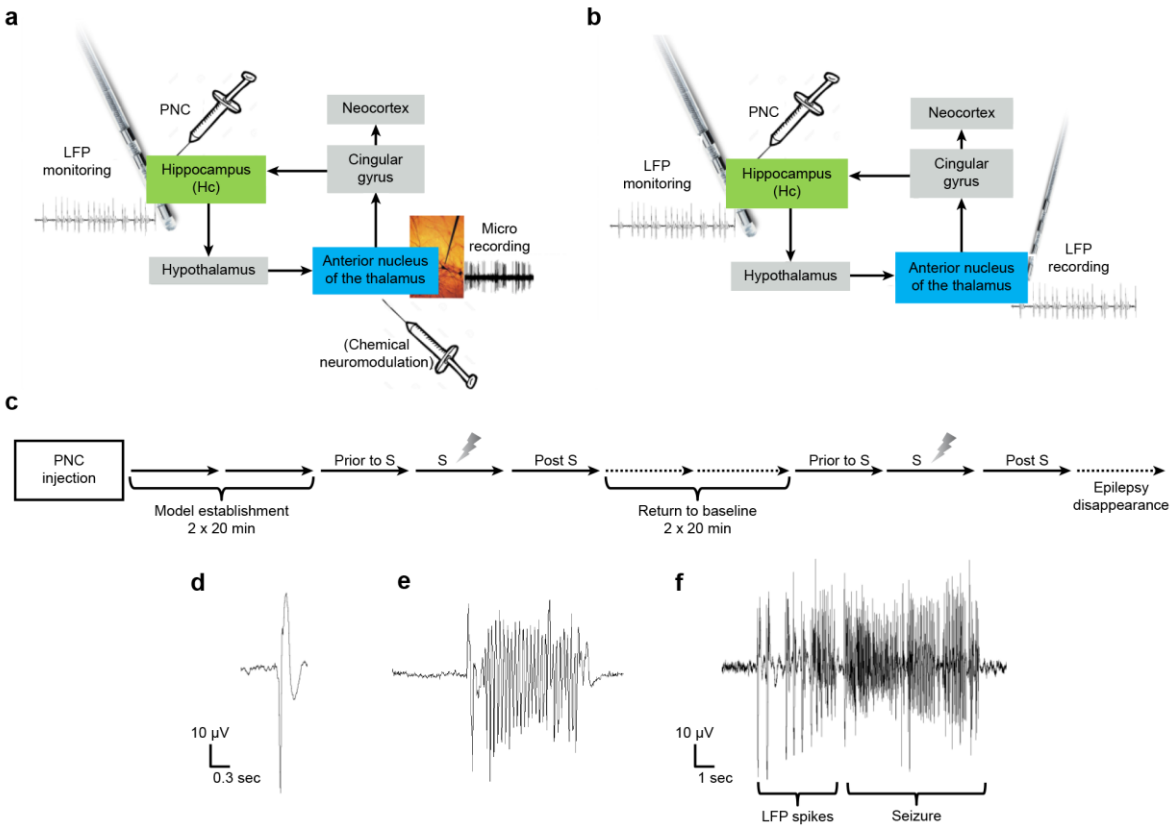


Figure 9: Model induction and design

(a) Physiological design: ictal activity is induced by the injection of the PNC in the HC, recorded and neuromodulated in the AN
(b) Pre-clinical design: ictal activity is induced by the injection of the PNC in the HC, recorded and electrically modulated in the AN
(c) Timing diagram of each experiment. We considered the model well established 40 min after the PNC injection (if the monkey had not at least 6 seizures during these two first parts, the experiment was stopped). We considered the 20min following as the baseline value of the number of seizure (prior to Stimulation). Then we stimulated the AN (S) in bipolar respecting the paradigm: (2min ON / 2min OFF) x5 at 40Hz/5V/450µs or 130Hz/5V/450µs. We waited then the number of seizure to return to baseline, and started once again the same stimulation. We still recorded the NHP on the chair until there was no seizure left. 27 sessions of 40Hz stimulation and 12 sessions of 130Hz stimulation
(d) Example of an interictal event or sharp wave
(e) Example of a polyspike
(f) Example of a seizure

Thanks

We wish to acknowledge the help provided by Lena Woodenleg and Astrid Kibleur.

Declarations of interest

All authors declared no conflicts of interests related to this study. This work was supported by Medtronic Europe.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

I. Principaux résultats

- ✓ Dans un premier temps, nous avons montré qu'une injection de PNC dans l'HPC entrainait l'apparition de crises temporales chez le NHP modélisant ainsi une MTLE ayant des caractéristiques proches de celles observées chez le patient.

  La MTLE induite par l'injection intra-HPC de PNC est transitoire (environ 4h) et reproductible entre les expériences (pas de variabilité intra-individuelle) et entre les animaux (pas de variabilité inter-individuelle). La mise en place de l'état épileptique suit une cinétique assez stéréotypée avec la survenue rapide après l'injection de PNC des premiers évènements inter ictaux suivis de la première crise, et environ 4 heures après l'injection une extinction de l'état épileptique. Il présente une cinétique de crises avec une « zone plateau », au cours de laquelle le nombre de crises ne varie pas. La durée moyenne d'une crise ainsi que le temps total passé en crise ne varient pas non plus significativement, ni entre les expériences, ni entre les animaux. Cette stabilité du modèle permet l'étude, en aigue, de nouvelles drogues ou thérapies. De plus, plusieurs expériences peuvent être répétées sur le même animal qui est donc son propre contrôle, cela permet de multiplier les résultats à partir d'un même animal, et donc de réduire le nombre d'animaux utilisés comme il est dorénavant demandé aux organismes de recherche [204].

Nos résultats mettent en évidence une représentation fidèle de la maladie, tant sur le plan électrique que clinique, ce qui répond au critère de l'isomorphisme, ou similarité des symptômes. En effet, les symptômes lors des crises sont proches de ceux observés chez le patient : mâchonnements, tête qui tourne du côté controlatéral au foyer de l'épilepsie, perte de contact.

De plus, ce modèle présente une pharmaco résistance vis-à-vis du diazépam, même si cela aurait pu être testé vis-à-vis d'autres molécules (ce qui n'a pas été le cas par manque de

temps). La prédictibilité, ou l'efficacité pharmacologique, est un critère qui est donc en partie rempli par ce modèle.

Enfin, l'homologie, ou similitude étiologique, est un critère difficile à obtenir chez le modèle animal. L'induction d'un foyer qui évolue vers une SH constitue le développement d'un état lésionnel qui est semblable à celui observé chez les patients. En effet, l'étude histologique a montré un isomorphisme avec la pathologie humaine. L'HPC injecté à répétition, présente une SH assez typique avec une dispersion des cellules du GD, une perte neuronale au niveau de CA1, un changement structural des astrocytes et la formation d'une gliose. La microscopie électronique fait apparaître des astrocytes qui contiennent de nombreux filaments gliaux, et une diminution du nombre de synapses au niveau de CA1, comparé entre le côté ipsilatéral et le côté controlatéral, ainsi qu'une augmentation de la largeur des épines dendritiques. Ces remaniements histologiques illustrent une réorganisation de l'HPC accompagnant sans doute la mise en place d'un état épileptique chronique. Ainsi, en plus de la possibilité d'étudier de nouveaux traitements en aigue dans les phases stables d'expression de l'état épileptique, ce modèle est aussi intéressant pour l'étude de la mise en place de l'épileptogénicité.

- ✓ Dans un second temps nous avons étudié le comportement des activités neuronales du ANT au cours des MTLE. Simultanément aux activités ictales observées au niveau de l'HPC, des modifications significatives sont aussi observées au niveau du ANT. En effet, l'analyse temps fréquences des LFP fait apparaître des oscillations significatives dans la bande β (entre 25 et 40 Hz) à la fois dans l'HPC et dans le ANT au cours des crises, comme le montre l'analyse de cohérence. De plus, nous avons pu identifier 3 différents profils d'activité neuronale au sein du ANT : les neurones non répondeurs, les neurones ON, significativement activés au moment des activités ictales de l'HPC, et les neurones OFF qui au contraire, ont leur activité significativement diminuée au moment des évènements ictaux. Ces 2 types de neurones sont répartis différemment au sein du ANT : les ON sont répartis de façon homogène dans l'ensemble du noyau et sont majoritaires, et les OFF, moins nombreux, se trouvent plutôt dans la partie antéro médiane (AM) du ANT. La partie AM du ANT possède, en plus de la connexion avec le noyau médian des corps mamillaires (Papez) de nombreuses connexions réciproques avec le cortex cingulaire et préfrontal, et pourrait ainsi favoriser la propagation de l'activité ictale vers le cortex. On pourrait ainsi penser que ces neurones OFF empêcheraient le signal

de se propager vers le cortex et de cette façon préviendraient la généralisation secondaire de la crise. Il a déjà été observé des clusters de cellules GABAergiques [247] au sein du ANT chez le NHP, qui pourraient correspondre à ces neurones OFF enregistrés, qui seraient en fait des interneurones GABAergiques.

De plus, les expériences de neuromodulation chimique ont permis de mettre en évidence que la modulation chimique de certains neurones de ce noyau pouvait aggraver ou diminuer la sévérité des crises sans en modifier la fréquence. Ici, ces effets sur la sévérité seraient assurés par des neurones exprimant des récepteurs GABAergiques de type A. Peu de données mentionnent le taux et le type de neurones exprimant ces récepteurs $GABA_A$ au sein du ANT. Mais ces résultats suggèrent que les neurones du ANT qui expriment ces récepteurs $GABA_A$ seraient impliqués dans la propagation de l'activité ictale plus que dans le contrôle des crises, la durée des crises n'ayant pas significativement varié au cours de ces neuromodulations chimiques.

Le ANT apparaît donc être un noyau complexe composé de différents types de neurones impliqués de façons diverses dans l'expression et la propagation des crises, ce qui va dans le sens d'une implication active du ANT dans la MTLE.

- ✓ Finalement, nous avons évalué dans une 3ième partie de l'étude les effets thérapeutiques de la SCP du ANT à haute et basse fréquence sur les MTLE induites par injection de PNC au niveau de l'HPC.

Au préalable, nous avons réalisé des tests de stimulation de l'HPC allant de 2 à 100 Hz. Ces analyses préliminaires, chez l'animal sain, ont montré que la SCP de l'HPC à 40Hz induisait une diminution du bruit de fond de l'activité de l'HPC, contrairement à d'autres fréquences testées, comme par exemple le 100Hz. Ces données et celles montrant une forte cohérence d'activité des structures pendant les crises dans le beta nous ont amené à tester le 40 Hz comme basse fréquence en plus du 130 Hz (haute fréquence). Il s'est avéré que la stimulation à 40 Hz du ANT a été efficace en diminuant significativement le nombre de crises ainsi que le temps total passé en crise, sans effet secondaire visible, alors que la SCP à 130 Hz avait plutôt un effet aggravateur. L'hétérogénéité du ANT peut expliquer ce résultat.

Certaines études montrent que le ANT est composé de neurones inhibiteurs GABAergiques qui se projettent sur l'HPC, d'interneurones locaux GABAergiques et qu'il reçoit des afférences inhibitrices du noyau réticulé [247], mais que son environnement (ses efférences au sein du circuit de Papez) est excitateur [248]. La stimulation à 40 Hz étant supposée avoir un effet excitateur, pourrait agir sur le contingent des neurones inhibiteurs du ANT et ainsi bloquer le circuit épileptogène et contrecarrer la survenue des crises. Cette hypothèse expliquerait l'effet thérapeutique partiel observé. La stimulation à 130 Hz, quant à elle, pourrait avoir inhibé ces neurones protecteurs (inhibiteurs), et ainsi facilité la survenue des crises via une augmentation de l'activité des neurones excitateurs. Cette explication repose sur l'existence de différentes populations de neurones au sein du ANT. Peu de données dans la littérature décrivent l'organisation neuronale du ANT, mais l'existence de trois régions différentes va dans le sens d'une organisation complexe. De plus, nous mettons en évidence dans cette étude l'existence de trois types de neurones (ce qui illustre cette complexité neuronale du ANT). Cette diversité des neurones pourrait expliquer que certaines fréquences pourraient s'avérer être plus efficaces que d'autres, en fonction de la zone du ANT visée par la stimulation.

L'ensemble de nos résultats tend à démontrer que le ANT a un rôle actif dans la MTLE, et qu'il semble être un nœud principal au sein des circuits épileptiques.

Les résultats de ce travail montrent donc que la technique de la SCP peut être envisagée pour les MTLE. Elle devrait être mise en place après une période d'évaluation des effets de la stimulation à 130 Hz et à 40 Hz afin de déterminer laquelle de ces deux fréquences correspondrait le mieux au patient. Des analyses de l'activité des structures implantées et notamment des analyses de cohérence pourraient s'avérer être de bons indicateurs de la fréquence de stimulation à utiliser.

Ce travail n'est qu'une étape et amène à différentes interrogations :

➲ Est-ce que la stimulation du ANT entraîne des problèmes de mémorisation ?

En effet, il est connu que l'HPC au sein du circuit de Papez assure des fonctions de mémorisation. Et de ce fait, on peut s'attendre à ce que la neurostimulation du ANT entraine des modifications de mémorisation. Nous avons commencé à mettre en place des tests comportementaux visant à évaluer les capacités mnésiques au fur et à mesure des expériences. Mais ces tests ne sont pas assez aboutis pour que nous les présentions ici. Ils seront envisagés dans une prochaine étude.

➲ Est-ce que l'étude de la cohérence des oscillations entre ANT et HPC pourrait permettre une personnalisation optimum de la stimulation ?

Il serait intéressant de mettre en place des analyses de cohérences systématiques chez le patient pour tenter de définir la fréquence de stimulation à utiliser.

➲ Quelle est l'architecture neuronale du ANT ?

Nos travaux font apparaitre la complexité neuronale du ANT, ce qui fait de lui une structure difficile à neuromoduler, mais qui offre de multiples possibilités. Ainsi une étude histologique de ce noyau serait pertinente pour mieux comprendre sa place au sein des circuits épileptiques.

II. Perspectives

Les mécanismes d'action de la stimulation cérébrale profonde sont encore peu connus. Notre étude et les résultats que nous avons obtenus à partir d'un nouveau modèle expérimental de MTLE chez le primate apportent de nouveaux éléments innovants de contrôle des crises par la stimulation du ANT.

Il nous semble donc indispensable de poursuivre les recherches sur les corrélations ANT/HPC et de collectionner des data chez le patient pour confirmer ce qui a pu être observé ici chez les différents NHPs. Mais il est également important d'approfondir nos connaissances sur les connexions mises en jeux via le ANT entre les différentes structures du système limbique dans les crises chez le modèle animal.

Bibliographie

1. Paré, A. *Les Oeuvres d'Ambroise Paré, conseiller et premier chirurgien du Roy*.

2. Tissot, S. A. *Traité des nerfs, et de leurs maladies*. (1800).

3. Scheffer, I. E. *et al.* ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 1–10 (2017). doi:10.1111/epi.13709

4. Haller, J. S. <Title/>. *J. Neurol. Sci.* **231,** 106 (2005).

5. Duncan, J. S., Sander, J. W., Sisodiya, S. M. & Walker, M. C. Adult epilepsy. *Lancet* **367,** 1087–1100 (2006).

6. Heaney, D. C. & Begley, C. E. Economic evaluation of epilepsy treatment: A review of the literature. *Epilepsia* **43,** 10–16 (2002).

7. De La Court, A., Breteler, M. M. B., Meinardi, H., Hauser, W. A. & Hofman, A. Prevalence of epilepsy in the elderly: The Rotterdam study. *Epilepsia* **37,** 141–147 (1996).

8. Hauser, W. A., Annegers, J. F. & Rocca, W. A. Descriptive epidemiology of epilepsy: Contributions of population-based studies from Rochester, Minnesota. *Mayo Clin. Proc.* **71,** 576–586 (1996).

9. Forsgren, L., Beghi, E., Õun, A. & Sillanpää, M. The epidemiology of epilepsy in Europe - A systematic review. *Eur. J. Neurol.* **12,** 245–253 (2005).

10. Prilipko, L., Saxena, S. & Boer, H. Atlas : epilepsy care in the world. *Buch* **129,** 91 (2005).

11. Thurman, D. J. *et al.* Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy. *Epilepsia* **52,** 2–26 (2011).

12. Jette, N. *et al.* ICD coding for epilepsy: Past, present, and future - A report by the International League Against Epilepsy Task Force on ICD codes in epilepsy. *Epilepsia* **56,** 348–355 (2015).

13. Organisation Mondiale de la Santé. *Charge mondiale de l ' épilepsie et nécessité d ' une action coordonnée au niveau des pays pour influer sur ses conséquences sanitaires et sociales et sensibiliser l ' opinion publique*. (2015).

14. Murray C.J.L., Lopez A.D., Mathers C.D., S. C. The Global Burden of Disease 2000 Project : Aims , Methods and Data Sources . *World Heal. Organ.* **2001,** 57 (2001).

15. Pillai, J. & Sperling, M. R. Interictal EEG and the diagnosis of epilepsy. *Epilepsia* **47,** 14–22 (2006).

16. Vezzani, A. *et al.* Infections, inflammation and epilepsy. *Acta Neuropathol.* **131,** 211–234 (2016).

17. Savic, I. Sex differences in human epilepsy. *Exp. Neurol.* **259,** 38–43 (2014).

18. Asadi-Pooya, A. A., Emami, M. & Nikseresht, A. Early-onset versus typical childhood absence epilepsy; Clinical and electrographic characteristics. *Seizure* **21,** 273–275 (2012).

19. Fisher, R. S. *et al.* Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia* 1–12 (2017). doi:10.1111/epi.13671

20. Nadler, J. V. & Spencer, D. D. in *Issues in Clinical Epileptology: A view from the Bench* **813,** 319–336 (2014).

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

22. Ryvlin, P., Kahane, P. & Arzimanoglou, A. in *The Mesial Temporal Lobe Epilepsies* 3–10 (2011).

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

24. Wieser, H.-G. ILAE Commission Report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Epilepsia* **45,** 695–714 (2004).

25. Chabardès, S. *et al.* The temporopolar cortex plays a pivotal role in temporal lobe seizures. *Brain* **128,** 1818–1831 (2005).

26. Spanedda, F., Cendes, F. & Gotman, J. Relations between EEG seizure morphology, interhemispheric spread, and mesial temporal atrophy in bitemporal epilepsy. *Epilepsia* **38,** 1300–1314 (1997).

27. King, D., Spencer, S. S., McCarthy, G. & Spencer, D. D. Surface and depth EEG findings in patients with hippocampal atrophy. [see comments]. *Neurology* **48,** 1363–1367 (1997).

28. Wennberg, R., Arruda, F., Quesney, L. F. & Olivier, A. Preeminence of extrahippocampal structures in the generation of mesial temporal seizures: Evidence from human depth electrode recordings. *Epilepsia* **43,** 716–726 (2002).

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

30. Spencer, S. S. & Spencer, D. D. Entorhinal-Hippocampal Interactions in Medial Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsia* **35,** 721–727 (1994).

31. Bartolomei, F. *et al.* Pre-ictal synchronicity in limbic networks of mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* **61,** 89–104 (2004).

32. Bartolomei, F. & Chauvel, P. Ictal networks in mesial temporal lobe epilepsy. (2005).

33. Ryvlin, P., Kahane, P., Arzimanoglou, A. & Andermann, F. Temporal pole and mesiotemporal epilepsy. *Epileptic Disord.* **suppl. 1,** S1–S60 (2002).

34. Maillard, L. *et al.* Semiologic and electrophysiologic correlations in temporal lobe seizure subtypes. *Epilepsia* **45,** 1590–1599 (2004).

35. Bartolomei, F. *et al.* Seizures of temporal lobe epilepsy: Identification of subtypes by coherence analysis using stereo-electro-encephalography. *Clin. Neurophysiol.* **110,** 1741–1754 (1999).

36. Ryvlin, P. & Kahane, P. The hidden causes of surgery-resistant temporal lobe epilepsy: extratemporal or temporal plus? *Curr. Opin. Neurol.* **18,** 125–127 (2005).

37. Kaminska, A. & Plouin, P. Apport de l'EEG dans le diagnostic et le suivi des épilepsies de l'enfant. *Médecine thérapeutique / Pédiatrie* **9,** 279–292 (2006).

38. Bialer, M. & White, H. S. Key factors in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Nat Rev Drug Discov* **9,** 68–82 (2010).

39. Kwan, P. K. & Brodie, M. J. Early identification of refractory epilepsy. *N. Engl. J. Med.* **342,** 314–319 (2000).

40. Kwan, P., Sills, G. J. & Brodie, M. J. The mechanisms of action of commonly used antiepileptic drugs. *Pharmacol. Ther.* **90,** 21–34 (2001).

41. Kwan, P. *et al.* Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* **51,** 1069–1077 (2010).

42. Blair, R. D. G. Temporal lobe epilepsy semiology. *Epilepsy Res. Treat.* **2012,** 1–10 (2012).

43. Blumcke, I., Cross, J. H. & Spreafico, R. The international consensus classification for hippocampal sclerosis: An important step towards accurate prognosis. *Lancet Neurol.* **12,** 844–846 (2013).

44. Semah, F. *et al.* Is the underlying cause of epilepsy a major prognostic factor for recurrence? *Neurology* **51,** 1256–1262 (1998).

45. Jones, J. E. *et al.* Rates and risk factors for suicide, suicidal ideation, and suicide attempts in chronic epilepsy. *Epilepsy Behav.* **4,** S31–S38 (2003).

46. Jacoby, A., Snape, D., Lane, S. & Baker, G. A. Self-reported anxiety and sleep problems in people with epilepsy and their association with quality of life. *Epilepsy Behav.* **43,** 149–158 (2015).

47. Leidy, N. K., Elixhauser, a, Vickrey, B., Means, E. & Willian, M. K. Seizure frequency and the health-related quality of life of adults with epilepsy. *Neurology* **53,** 162–6 (1999).

48. Bak, S. & Friis, M. L. [Mortality in epilepsy. A review]. *Ugeskr Laeger* **162,** 3578–3581 (2000).

49. Chen, Z., Liew, D. & Kwan, P. Real-world cost-effectiveness of pharmacogenetic screening for epilepsy treatment. *Neurology* **86,** 1086–1094 (2016).

50. Jacoby, A. *et al.* Uptake and costs of care for epilepsy: Findings from a U.K. Regional study. *Epilepsia* **39,** 776–786 (1998).

51. Kurthen, M., Grunwald, T. & Huppertz, H. Diagnostic préopératoire et traitement chirurgical des épilepsies. **8,** 836–843 (2008).

52. Wieser, H. G. *et al.* Proposal for a new classification of outcome with respect to epileptic seizures following epilepsy surgery. *Epilepsia* **42,** 282–286 (2001).

53. Berkovic, S. F. *et al.* Preoperative MRI predicts outcome of temporal lobectomy: an actuarial analysis. *Neurology* **45,** 1358–1363 (1995).

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

55. Wieser, H. G., Ortega, M., Friedman, A. & Yonekawa, Y. Long-term seizure outcomes following amygdalohippocampectomy. *J Neurosurg* **98,** 751–763 (2003).

56. Mathon, B. *et al.* Surgical treatment for mesial temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis. *Rev. Neurol. (Paris).* **171,** 315–325 (2015).

57. Hemb, M. *et al.* An 18-year follow-up of seizure outcome after surgery for temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **84,** 800–5 (2013).

58. Savitr Sastri, B. V. *et al.* Clinico-pathological factors influencing surgical outcome in drug resistant epilepsy secondary to mesial temporal sclerosis. *J. Neurol. Sci.* **340,** 183–190 (2014).

59. Hennessy, M. J. Failed surgery for epilepsy: A study of persistence and recurrence of seizures following temporal resection. *Brain* **123,** 2445–2466 (2000).

60. Guye, M. *et al.* The role of corticothalamic coupling in human temporal lobe epilepsy. *Brain* **129,** 1917–1928 (2006).

61. Bartolomei, F. *et al.* Long-term efficacy of gamma knife radiosurgery in mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology* **70,** 1658–1663 (2008).

62. Regis, J. *et al.* Gamma knife surgery in mesial temporal lobe epilepsy: a prospective multicenter study. *Epilepsia* **45,** 504–515 (2004).

63. Barbaro, N. M. *et al.* A multicenter, prospective pilot study of gamma knife radiosurgery for mesial temporal lobe epilepsy: Seizure response, adverse events, and verbal memory. *Ann. Neurol.* **65,** 167–175 (2009).

64. Srikijvilaikul, T., Foldvary-schaefer, N., Lineweaver, T., Ph, D. & Suh, J. H. Failure of gamma knife radiosurgery for mesial temporal lobe epilepsy: report of five cases. *Neurosurgery* **54,** 1395–1404 (2004).

65. Mcdonald, C. R., Norman, M. A., Tecoma, E., Alksne, J. & Iragui, V. Neuropsychological change following gamma knife surgery in patients with left temporal lobe epilepsy : a review of three cases. **5,** 949–957 (2004).

66. Statham, P. *et al.* Cerebral radiation necrosis complicating stereotactic radiosurgery for arteriovenous malformation. 476–479 (1990).

67. Chen, N. *et al.* Delayed complications after Gamma Knife surgery for intractable epilepsy. *J. Clin. Neurosci.* 5–8 (2014). doi:10.1016/j.jocn.2013.11.044

68. Jagannathan, J., Petit, J. H., Balsara, K., Hudes, R. & Chin, L. S. Long-Term Survival After Gamma Knife Radiosurgery for primary and metastatic brain tumors. *Am. J. Clin. Oncol.* **27,** 441–444 (2004).

69. Foroughi, M., Kemeny, A. A., Lehecka, M., Wons, J. & Kajdi, L. Operative intervention for delayed symptomatic radionecrotic masses developing following stereotactic radiosurgery for cerebral arteriovenous malformations — case analysis and literature review. 803–815 (2010). doi:10.1007/s00701-009-0581-1

70. Oyoshi, T., Hirahara, K., Uetsuhara, K., Yatsushiro, K. & Arita, K. Delayed Radiation Necrosis 7 Years After Gamma Knife Surgery for Arteriovenous Malformation. *Neurol. Med. Chir. (Tokyo).* **50,** 62–66 (2009).

71. Zabara, J. Inhibition of Experimental Seizures in Canines by Repetitive Vagal Stimulation. *Epilepsia* **33,** 1005–1012 (1992).

72. Penry, J. K. & Dean, J. C. Prevention of Intractable Partial Seizures by Intermittent Vagal

Stimulation in Humans: Preliminary Results. *Epilepsia* **31,** S40–S43 (1990).

73. Uthman, B. M. *et al.* Effectiveness of vagus nerve stimulation in epilepsy patients: a 12-year observation. *Neurology* **63,** 1124–1126 (2004).

74. Landré, E. La stimulation du nerf vague dans le traitement des épilepsies partielles pharmaco-résistantes. *Rev. Neurol. (Paris).* **160,** 280–287 (2004).

75. Alsaadi, T. M., Laxer, K. D., Barbaro, N. M., Marks, W. J. & Garcia, P. A. Vagus nerve stimulation for the treatment of bilateral independent temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* **42,** 954–956 (2001).

76. Kuba, R., Brázdil, M., Novák, Z., Chrastina, J. & Rektor, I. Effect of vagal nerve stimulation on patients with bitemporal epilepsy. *Eur. J. Neurol.* **10,** 91–94 (2003).

77. Casazza, M., Avanzini, G., Ferroli, P., Villani, F. & Broggi, G. Vagal nerve stimulation: Relationship between outcome and electroclinical seizure pattern. *Seizure* **15,** 198–207 (2006).

78. Nemeroff, C. B. *et al.* VNS Therapy in Treatment-Resistant Depression: Clinical Evidence and Putative Neurobiological Mechanisms. *Neuropsychopharmacology* **31,** 1345–1355 (2006).

79. Jaseja, H. EEG-desynchronization as the major mechanism of anti-epileptic action of vagal nerve stimulation in patients with intractable seizures: Clinical neurophysiological evidence. *Med. Hypotheses* **74,** 855–856 (2010).

80. Bodin, C. *et al.* Responders to vagus nerve stimulation (VNS) in refractory epilepsy have reduced interictal cortical synchronicity on scalp EEG. *Epilepsy Res.* **113,** 98–103 (2015).

81. Bartolomei, F. *et al.* How does vagal nerve stimulation (VNS) change EEG brain functional connectivity? *Epilepsy Res.* **126,** 141–146 (2016).

82. Hodaie, M., Wennberg, R. A., Dostrovsky, J. O. & Lozano, A. M. Chronic anterior thalamus stimulation for intractable epilepsy. *Epilepsia* **43,** 603–608 (2002).

83. Lee, K. J., Shon, Y. M. & Cho, C. B. Long-term outcome of anterior thalamic nucleus stimulation for intractable epilepsy. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* **90,** 379–385 (2012).

84. Kahane, P. & Depaulis, A. Deep brain stimulation in epilepsy: what is next? *Curr. Opin. Neurol.* **23,** 177–182 (2010).

85. Jobst, B. C., Darcey, T. M., Thadani, V. M. & Roberts, D. W. Brain stimulation for the treatment of epilepsy. *Epilepsia* **51,** 88–92 (2010).

86. Valentín, A. *et al.* Centromedian thalamic nuclei deep brain stimulation in refractory status epilepticus. *Brain Stimul.* **5,** 594–598 (2012).

87. Fisher, R. S. *Deep brain stimulation for epilepsy*. *Handbook of Clinical Neurology* **116,** (Elsevier B.V., 2013).

88. Fisher, R. S. & Velasco, A. L. Electrical brain stimulation for epilepsy. *Nat. Publ. Gr.* **10,** 261–27059 (2014).

89. Schulze-Bonhage, A. Brain stimulation as a neuromodulatory epilepsy therapy. *Seizure* **548,** 239–247 (2016).

90. Morace, R. *et al.* Deep brain stimulation for intractabile epilepsy. *J. Neurosurg. Sci.* **60,** 189–198 (2016).

91. Vonck, K., Boon, P., Achten, E., De Reuck, J. & Caemaert, J. Long-term amygdalohippocampal stimulation for refractory temporal lobe epilepsy. *Ann. Neurol.* **52,** 556–565 (2002).

92. Van Roost, D. *et al.* Long-term Deep Brain Stimulation for Refractory Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsia* **113,** 1051–1062 (2005).

93. Zumsteg, D., Lozano, A. M. & Wennberg, R. A. Mesial temporal inhibition in a patient with deep brain stimulation of the anterior thalamus for epilepsy. *Epilepsia* **47,** 1958–1962 (2006).

94. Velasco, A. L. *et al.* Electrical stimulation of the hippocampal epileptic foci for seizure control: A double-blind, long-term follow-up study. *Epilepsia* **48,** 1895–1903 (2007).

95. Boon, P. *et al.* Deep brain stimulation in patients with refractory temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* **48,** 1551–1560 (2007).

96. Boëx, C. *et al.* Chronic deep brain stimulation in mesial temporal lobe epilepsy. *Seizure* **20,** 485–490 (2011).

97. Vonck, K. *et al.* A decade of experience with Deep Brain Stimulation for patients with refractory medial temporal tobe epilepsy. *Int. J. Neural Syst.* **23,** 1250034 (2013).

98. Koubeissi, M. Z., Kahriman, E., Syed, T. U., Miller, J. & Durand, D. M. Low-frequency electrical stimulation of a fiber tract in temporal lobe epilepsy. *Ann. Neurol.* **74,** 223–231 (2013).

99. Cukiert, A., Cukiert, C. M., Burattini, J. A. & Lima, A. M. Seizure outcome after hippocampal deep brain stimulation in a prospective cohort of patients with refractory temporal lobe epilepsy. *Seizure* **23,** 6–9 (2014).

100. Han, C. *et al.* Electrical stimulation of hippocampus for the treatment of refractory temporal lobe epilepsy. *Brain Res. Bull.* **109,** 13–21 (2014).

101. Klinger, N. V. & Mittal, S. Clinical efficacy of deep brain stimulation for the treatment of medically refractory epilepsy. *Clin. Neurol. Neurosurg.* **140,** 11–25 (2016).

102. Pallud, J., Devergnas, A., Chabardes, S. & Depaulis, A. Des modèles animaux pour développer la chirurgie des épilepsies focales? *Neurochirurgie* **54,** 128–134 (2008).

103. Loscher, W. Animal models of drug-resistant epilepsy. *Novartis Found Symp* **243,** 149-166-185 (2002).

104. Noebels, J. L. Targeting Epilepsy Genes. *Cell* **16,** 241–244 (1996).

105. Danober, L., Deransart, C., Depaulis, A., Vergnes, M. & Marescaux, C. Pathophysiological Mechanisms of Genetic Absence Epilepsy in the Rat. **55,** (1998).

106. van Luijtelaar, E. L. J. M. & Coenen, A. M. L. Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neurosci. Lett.* **70,** 393–397 (1986).

107. Goddard, G. V, McIntyre, D. C. & Leech, C. K. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Exp. Neurol.* **25,** 295–330 (1969).

108. Racine, R. J. Modification of seizure activity by electrical stimulation: I. after-discharge threshold. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **32,** 269–279 (1972).

109. Sato, M., Racine, R. J. & McIntyre, D. C. Kindling: basic mechanisms and clinical validity. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **76,** 459–472 (1990).

110. McNamara, J. O. Kindling: an animal model of complex partial epilepsy. *Ann. Neurol.* **16 Suppl,** S72–S76 (1984).

111. Trinka, E. *et al.* A definition and classification of status epilepticus - Report of the ILAE Task Force on Classification of Status Epilepticus. *Epilepsia* **56,** 1515–1523 (2015).

112. Lévesque, M. & Avoli, M. The kainic acid model of temporal lobe epilepsy. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **37,** 2887–2899 (2013).

113. Nadler, J. V., Perry, B. W. & Cotman, C. W. Intraventricular kainic acid preferentially destroys hippocampal pyramidal cells. *Nature* **271,** 676–677 (1978).

114. Dudek, F. E., Clark, S., Williams, P. A. & Grabenstatter, H. L. Kainate-Induced Status Epilepticus: A Chronic Model of Accuired Epilepsy. *Model. Seizures Epilepsy* 415–432 (2006). doi:10.1016/B978-012088554-1/50036-0

115. Cavalheiro, E. A., Riche, D. A. & Le Gal La Salle, G. Long-term effects of intrahippocampal kainic acid injection in rats: A method for inducing spontaneous recurrent seizures. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **53,** 581–589 (1982).

116. Bragin, A., Wilson, C. L., Almajano, J., Mody, I. & Engel, J. High-frequency oscillations after status epilepticus: Epileptogenesis and seizure genesis. *Epilepsia* **45,** 1017–1023 (2004).

117. Bragin, A., Azizyan, A., Almajano, J., Wilson, C. L. & Engel, J. Analysis of chronic seizure onsets after intrahippocampal kainic acid injection in freely moving rats. *Epilepsia* **46,** 1592–1598 (2005).

118. Raedt, R. *et al.* Seizures in the intrahippocampal kainic acid epilepsy model: Characterization using long-term video-EEG monitoring in the rat. *Acta Neurol. Scand.* **119,** 293–303 (2009).

119. Tremblay, E., Ottersen, O. P., Rovira, C. & Ben-Ari, Y. Intra-amygdaloid injections of kainic acid: Regional metabolic changes and their relation to the pathological alterations. *Neuroscience* **8,** 299–315 (1983).

120. Cepeda, C., Tanaka, T., Riche, D. & Naquet, R. Limbic status epilepticus: behaviour and sleep alterations after intra-amygdaloid kainic acid microinjections in Papio papio baboons. 603–613 (1982).

121. De Furtado, M. A., Braga, G. K., Oliveira, J. A. C., Del Vecchio, F. & Garcia-Cairasco, N. Behavioral, morphologic, and electroencephalographic evaluation of seizures induced by intrahippocampal microinjection of pilocarpine. *Epilepsia* **43,** 37–39 (2002).

122. Curia, G., Longo, D., Biagini, G., Jones, R. S. G. & Avoli, M. The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci. Methods* **172,** 143–157 (2008).

123. Turski, L., Ikonomidou, C., Turski, W. A., Bortolotto, Z. A. & Cavalheiro, E. A. Review: Cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced by pilocarpine: A novel experimental model of intractable epilepsy. *Synapse* **3,** 154–171 (1989).

124. Moseley, J. I., Ojemann, G. A. & Ward, A. A. Unit activity in experimental epileptic foci during focal cortical hypothermia. *Exp. Neurol.* **37,** 164–178 (1972).

125. Löscher, W. & Schmidt, D. Which animal models should be used in the search for new

antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Res.* **2,** 145–181 (1988).

126. Colasanti, B., Hartman, E. & Craig, C. Electrocorticogram and Behavioral Correlates During the Development of Chronic Cobalt Experimental Epilepsy in the Rat. 361–373 (1974).

127. Sugaya, E. *et al.* Damage of hippocampal neurons caused by cobalt focus in the cerebral cortex of rats. 196–199 (1988).

128. Esclapez, M. & Trottier, S. Changes in GABA-immunoreactive cell density during motor focal epilepsy induced by cobalt in the rat. *Exp. Brain Res.* **76,** 369–385 (1989).

129. Gerber, U. & Gähwiler, B. H. Cobalt blocks postsynaptic responses induced by neurotransmitters in the hippocampus in vitro. *Neurosci. Lett.* **134,** 53–56 (1991).

130. Atlante, A. *et al.* Glutamate neurotoxicity, oxidative stress and mitochondria. *FEBS Lett.* **497,** 1–5 (2001).

131. Empson, R. M., Amitai, Y., Jefferys, J. G. R. & Gutnick, M. J. Injection of tetanus toxin into the neocortex elicits persistent epileptiform activity but only transient impairment of GABA release. *Neuroscience* **57,** 235–239 (1993).

132. Hu, R. Q., Banerjee, P. K. & Snead, O. C. Regulation of gamma-aminobutyric acid (GABA) release in cerebral cortex in the gamma-hydroxybutyric acid (GHB) model of absence seizures in rat. *Neuropharmacology* **39,** 427–39 (2000).

133. Cortez, M. A., Kostopoulos, G. K. & Snead, O. C. Acute and chronic pharmacological models of generalized absence seizures. *J. Neurosci. Methods* **260,** 175–184 (2016).

134. Fisher, R. S. Animal models of the epilepsies. *Brain Res. Rev.* **14,** 245–278 (1989).

135. Walker, A. E., Johnson, H. & Kollros, J. Penicillin Convulsions; The Convulsive Effects of Penicillin applied to the Cerebral Cortex of Monkey and Man. *Surgery, Gynecol. Obs.* **81,** 692–701 (1945).

136. Curtis, D. R. & Tebecis, A. K. Bicuculline and thalamic inhibition. *Exp. Brain Res.* **16,** 210–218 (1972).

137. Fariello, R. G., Portera, A. & Scheffner, D. Parenteral Penicillin in Rats: An Experimental Model of Multifocal Epilepsy. *Epilepsia* **17,** 217–222 (1976).

138. de Feo, M. R., Cherubini, E., Mecarelli, O., Di Corato, A. & Ricci, G. Penicillin epilepsy in the rabbit. *Exp. Neurol.* **75,** 1–10 (1982).

139. Dichter, M., Herman, C. & Selzer, M. Penicillin epilepsy in osolated islands of hippocampus. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **34,** 631–638 (1973).

140. Opdam, H. I. H. *et al.* A sheep model for the study of focal epilepsy with concurrent intracranial EEG and functional MRI. *Epilepsia* **43,** 779–87 (2002).

141. Prabhu, S. *et al.* Characteristics of a primate model of focal motor cortical seizures suitable for preclinical testing of therapies like DBS. *World J. Neurosci.* 47–57 (2014).

142. Spencer, S. Neural Networks in human epilepsy: evidence of and implications for treatment. *Epilepsia* **43,** 219–227 (2002).

143. Halász, P. & Rásonyi, G. The Network or System-oriented Approach in Understanding Human Epilepsy (Comments on the article of S. Spencer: 'Neural Networks in Human Epilepsy: Evidence of and Implications for Treatment'). *Monogr. Soc. Res. Child Dev.* **79,** 125–33 (2014).

144. Wendling, F., Chauvel, P., Biraben, A. & Bartolomei, F. From Intracerebral EEG Signals to Brain Connectivity: Identification of Epileptogenic Networks in Partial Epilepsy. *Front. Syst. Neurosci.* **4,** 1–13 (2010).

145. Evangelista, E. *et al.* Does the thalamo-cortical synchrony play a role in seizure termination? *Front. Neurol.* **6,** (2015).

146. Timofeev, I. & Steriade, M. Neocortical seizures: Initiation, development and cessation. *Neuroscience* **123,** 299–336 (2004).

147. Perucca, P., Dubeau, F. & Gotman, J. Intracranial electroencephalographic seizure-onset patterns: Effect of underlying pathology. *Brain* **137,** 183–196 (2014).

148. Bartolomei, F. *et al.* Defining epileptogenic networks : Contribution of SEEG and signal analysis. *Epilepsia* 1–17 (2017). doi:10.1111/epi.13791

149. Kramer, M. A., Kolaczyk, E. D. & Kirsch, H. E. Emergent network topology at seizure onset in humans. *Epilepsy Res.* **79,** 173–186 (2008).

150. Ponten, S. C., Bartolomei, F. & Stam, C. J. Small-world networks and epilepsy: Graph theoretical analysis of intracerebrally recorded mesial temporal lobe seizures. *Clin. Neurophysiol.* **118,** 918–927 (2007).

151. Bertram, E. H., Mangan, P. S., Zhang, D., Scott, C. A. & Williamson, J. M. The midline thalamus: Alterations and a potential role in limbic epilepsy. *Epilepsia* **42,** 967–978 (2001).

152. Rosenberg, D. S. *et al.* Involvement of medial pulvinar thalamic nucleus in human temporal lobe seizures. *Epilepsia* **47,** 98–107 (2006).

153. Jones, E. G. Synchrony in the interconnected circuitry of the thalamus and cerebral cortex. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1157,** 10–23 (2009).

154. Bettus, G. *et al.* Interictal functional connectivity of human epileptic networks assessed by intracerebral EEG and BOLD signal fluctuations. *PLoS One* **6,** (2011).

155. Macalpine, I. Notes and Events. *Hist. Med.* 431–432 (1961). doi:10.1525/ahu.1976.1.3.9

156. Papez, J. W. A proposed mechanism of emotion. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* **7,** 103–112 (1937).

157. Hospital, M. G. Psychosomatic Disease and the 'Visceral Brain'. **XI,**

158. Livingston, K. *K. Livingston*.

159. Saillet, S. *et al.* Manipulating the epileptic brain using stimulation: A review of experimental and clinical studies. *Epileptic Disord.* **11,** 100–112 (2009).

160. Bear, M. F., Connors, B. W. & Paradiso, M. A. *NEUROSCIENCES à la découverte du cerveau*. (2010).

161. Child, N. D. & Benarroch, E. E. Anterior nucleus of the thalamus: functional organization and clinical implications. *Neurology* **81,** 1869–76 (2013).

162. Benarroch, E. E. Anterior nucleus of the thalamus - Functional organization and clinical implications. *Neurology* **80,** 1148–1155 (2013).

163. Bartolomei, F., Wendling, F., Vignal, J. P., Chauvel, P. & Liégeois-Chauvel, C. Neural networks underlying epileptic humming. *Epilepsia* **43,** 1001–1012 (2002).

164. Gaito, J., Nobrega, J. N., Gaito, S. T., Gait, J. & Al, E. T. Interference Effect of 3 Hz Brain Stimulation on Kindling Behavior Induced by 60 Hz Stimulation. 73–84 (1980).

165. Shao, J. & Valenstein, E. S. Long-term inhibition of kindled seizures by brain stimulation. *Exp. Neurol.* **76,** 376–391 (1982).

166. Ullal, G. R., Ninchoji, T. & Uemura, K. Low frequency stimulation induces an increase in after-discharge thresholds in hippocampal and amygdaloid kindling. *Epilepsy Res.* **3,** 232–235 (1989).

167. Weiss, S. R., Eidsath, a, Li, X. L., Heynen, T. & Post, R. M. Quenching revisited: low level direct current inhibits amygdala-kindled seizures. *Exp. Neurol.* **154,** 185–192 (1998).

168. Velíšek, L., Velíšková, J. & Stanton, P. K. Low-frequency stimulation of the kindling focus delays basolateral amygdala kindling in immature rats. *Neurosci. Lett.* **326,** 61–63 (2002).

169. López-Meraz, M. L., Neri-Bazán, L. & Rocha, L. Low frequency stimulation modifies receptor binding in rat brain. *Epilepsy Res.* **59,** 95–105 (2004).

170. Goodman, J. H., Berger, R. E. & Tcheng, T. K. Preemptive Low-frequency Stimulation Decreases the Incidence of Amygdala-kindled Seizures. **46,** 1–7 (2004).

171. Mohammad-Zadeh, M. *et al.* Effect of low frequency stimulation of perforant path on kindling rate and synaptic transmission in the dentate gyrus during kindling acquisition in rats. *Epilepsy Res.* **75,** 154–161 (2007).

172. Sun, H. L. *et al.* Mode-dependent effect of low-frequency stimulation targeting the hippocampal CA3 subfield on amygdala-kindled seizures in rats. *Epilepsy Res.* **90,** 83–90 (2010).

173. Wyckhuys, T. *et al.* High frequency deep brain stimulation in the hippocampus modifies seizure characteristics in kindled rats. *Epilepsia* **48,** 1543–1550 (2007).

174. Bragin, A., Wilson, C. L. & Engel, J. Rate of interictal events and spontaneous seizures in epileptic rats after electrical stimulation of hippocampus and its afferents. *Epilepsia* **43,** 81–85 (2002).

175. Velasco, A. L. *et al.* Subacute and chronic electrical stimulation of the hippocampus on intractable temporal lobe seizures: Preliminary report. *Arch. Med. Res.* **31,** 316–328 (2000).

176. Lado, F. A. Chronic bilateral stimulation of the anterior thalamus of kainate-treated rats increases seizure frequency. *Epilepsia* **47,** 27–32 (2006).

177. Takebayashi, S., Hashizume, K., Tanaka, T. & Hodozuka, A. Anti-convulsant effect of electrical stimulation and lesioning of the anterior thalamic nucleus on kainic acid-induced focal limbic seizure in rats. *Epilepsy Res.* **74,** 163–170 (2007).

178. Hamani, C. *et al.* Deep brain stimulation of the anterior nucleus of the thalamus: Effects of electrical stimulation on pilocarpine-induced seizures and status epilepticus. *Epilepsy Res.* **78,** 117–123 (2008).

179. Zhang, Q. *et al.* Anticonvulsant effect of unilateral anterior thalamic high frequency electrical stimulation on amygdala-kindled seizures in rat. *Brain Res. Bull.* **87,** 221–226 (2012).

180. Upton, A. R. M. *et al.* Evoked Metabolic Responses in the Limbic- Striate System Produced by Stimulation of Anterior Thalamic Nucleus in Man. *Methods* **10,** 217–226 (1987).

181. Kerrigan, J. F. *et al.* Electrical Stimulation of the Anterior Nucleus of the Thalamus for the Treatment of Intractable Epilepsy. *Epilepsia* **45,** 346–354 (2004).

182. Osorio, I., Overman, J., Giftakis, J. & Wilkinson, S. B. High frequency thalamic stimulation for inoperable mesial temporal epilepsy. *Epilepsia* **48,** 1561–1571 (2007).

183. Fisher, R. *et al.* Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for treatment of refractory epilepsy. *Epilepsia* **51,** 899–908 (2010).

184. Oh, Y. S. *et al.* Cognitive improvement after long-term electrical stimulation of bilateral anterior thalamic nucleus in refractory epilepsy patients. *Seizure* **21,** 183–187 (2012).

185. Yang, A.-C. *et al.* Potential Protective Effects of Chronic Anterior Thalamic Nucleus Stimulation on Hippocampal Neurons in Epileptic Monkeys. *Brain Stimul.* **8,** 1049–1057 (2015).

186. Mirski, M. A., McKeon, A. C. & Ferrendelli, J. A. Anterior thalamus and substantia nigra: two distinct structures mediating experimental generalized seizures. *Brain Res.* **397,** 377–380 (1986).

187. Turski, W. A. *et al.* Seizures produced by pilocarpine in mice: A behavioral, electroencephalographic and morphological analysis. *Brain Res.* **321,** 237–253 (1984).

188. Ben-Ari, Y. & Cossart, R. Kainate, a double agent that generates seizures: Two decades of progress. *Trends Neurosci.* **23,** 580–587 (2000).

189. McKhann, G. M., Wenzel, H. J., Robbins, C. A., Sosunov, A. A. & Schwartzkroin, P. A. Mouse strain differences in kainic acid sensitivity, seizure behavior, mortality, and hippocampal pathology. *Neuroscience* **122,** 551–561 (2003).

190. Löscher, W. Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* **50,** 105–123 (2002).

191. Téllez-Zenteno, J. F. & Hernández-Ronquillo, L. A review of the epidemiology of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res. Treat.* **2012,** 630853 (2012).

192. De Lanerolle, N. C. *et al.* A retrospective analysis of hippocampal pathology in human temporal lobe epilepsy: Evidence for distinctive patient subcategories. *Epilepsia* **44,** 677–687 (2003).

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

194. Blume, W. T. & Wiebe, S. ‘ “Periodic” ’ Seizures. **38,** 1355–1358 (1997).

195. Engel, J. *et al.* 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 Neur. *Epilepsia* **44,** 741–751 (2003).

196. Kwan, P. & Brodie, M. J. Epilepsy after the first drug fails: Substitution or add-on? *Seizure* **9,** 464–468 (2000).

197. Morimoto, K., Fahnestock, M. & Racine, R. J. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: Rewiring the brain. *Prog. Neurobiol.* **73,** 1–60 (2004).

198. Sloviter, R. S. The neurobiology of temporal lobe epilepsy: Too much information, not enough knowledge. *Comptes Rendus - Biol.* **328,** 143–153 (2005).

199. Devergnas, A. *et al.* The subcortical hidden side of focal motor seizures: Evidence from micro-recordings and local field potentials. *Brain* **135,** 2263–2276 (2012).

200. Prabhu, S. *et al.* Effect of subthalamic nucleus stimulation on penicillin induced focal motor seizures in primate. *Brain Stimul.* **8,** 177–184 (2015).

201. Chen, N. *et al.* A Macaque Model of Mesial Temporal Lobe Epilepsy Induced by Unilateral Intrahippocampal Injection of Kainic Acid. *PLoS One* **8,** (2013).

202. Ribak, C. E. *et al.* Alumina gel injections into the temporal lobe of rhesus monkeys cause complex partial seizures and morphological changes found in human temporal lobe epilepsy. *J.Comp.Neurol.* **401,** 266–290 (1998).

203. Mayanagi, Y. & Walker, A. E. DC potentials of temporal lobe seizures in the monkey. *J. Neurol.* **209,** 199–215 (1975).

204. Tannenbaum, J. & Bennett, B. T. Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. *J Am Assoc Lab Anim Sci* **54,** 120–132 (2015).

205. Sugimoto, M. *et al.* The b -lactam antibiotics , penicillin-G and cefoselis have different mechanisms and sites of action at GABA A receptors. 427–432 (2002).

206. Weiss, S. A. *et al.* Ictal onset patterns of local field potentials, high frequency oscillations, and unit activity in human mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* **57,** 111–121 (2016).

207. Theodore, W., Porter, R. J. & Penry, J. K. Complex partial seizures: Clinical characteristics and differential diagnosos. *Neurology* **33,** 1115–1121 (1983).

208. Kramer, U. *et al.* Clinical characteristics of complex partial seizures: A temporal versus a frontal lobe onset. *Seizure* **6,** 57–61 (1997).

209. Stypulkowski, P. H., Giftakis, J. E. & Billstrom, T. M. Development of a large animal model for investigation of deep brain stimulation for epilepsy. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* **89,** 111–122 (2011).

210. Hong, Z. *et al.* A novel kindling model of temporal lobe epilepsy in rhesus monkeys induced by Coriaria lactone. *Epilepsy Behav.* **29,** 457–465 (2013).

211. Terndrup, T. E., Paskanik, A. M., Fordyce, W. E. & Kanter, R. K. Development of a piglet model of status epilepticus: Preliminary results. *Ann. Emerg. Med.* **22,** 164–170 (1993).

212. De Deyn, P. P., D'Hooge, R., Marescau, B. & Pei, Y. Q. Chemical models of epilepsy with some reference to their applicability in the development of anticonvulsants. *Epilepsy Res.* **12,** 87–110 (1992).

213. Lee, S.-Y., Lee, S.-K., Yun, C.-H., Kim, K.-K. & Chung, C. K. Clinico-electrical Characteristics of Lateral Temporal Lobe Epilepsy; Anterior and Posterior Lateral Temporal Lobe Epilepsy. *J. Clin.*

Neurol. **2,** 118–25 (2006).

214. Thom, M., Zhou, J., Martinian, L. & Sisodiya, S. Quantitative post-mortem study of the hippocampus in chronic epilepsy: Seizures do not inevitably cause neuronal loss. *Brain* **128,** 1344–1357 (2005).

215. De Lanerolle, N. C., Kim, J. H., Robbins, R. J. & Spencer, D. D. Hippocampal interneuron loss and plasticity in human temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* **495,** 387–395 (1989).

216. Blümcke, I., Thom, M. & Wiestler, O. D. Ammon's horn sclerosis: a maldevelopmental disorder associated with temporal lobe epilepsy. *Brain Pathol.* **12,** 199–211 (2002).

217. Devinsky, O., Vezzani, A., Najjar, S., De Lanerolle, N. C. & Rogawski, M. A. Glia and epilepsy: Excitability and inflammation. *Trends Neurosci.* **36,** 174–184 (2013).

218. Waldbaum, S. Mitochondrial Oxidative Stress in Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsy Res* **88,** 23–45 (2010).

219. Kumar, S. S. & Buckmaster, P. S. Hyperexcitability Interneurons and Loss of GABAergic Synapses in Entorhinal Cortex in a Model of Temporal Lobe Epilepsy. **26,** 4613–4623 (2006).

220. Parmeggiani, P. L., Azzaroni, A. & Lenzi, P. On the functional significance of the circuit of papez. *Brain Res.* **30,** 357–374 (1971).

221. Cooper, I. S. & Upton, A. R. M. Therapeutic implications of modulation of metabolism and functional activity of cerebral cortex by chronic stimulation of cerebellum and thalamus. *Biol. Psychiatry* **20,** 811–813 (1985).

222. Gallistel, C. R. The organization of action: A new synthesis. 609–650 (2013).

223. Didato, G. *et al.* Bitemporal epilepsy: A specific anatomo-electro-clinical phenotype in the temporal lobe epilepsy spectrum. *Seizure* **31,** 112–119 (2015).

224. Yang, A. chao *et al.* The ability of anterior thalamic signals to predict seizures in temporal lobe epilepsy in kainate-treated rats. *Epilepsia* **57,** 1369–1376 (2016).

225. Mirski, M. A. & Ferrendelli, J. A. Anterior thalamic mediation of generalized pentylenetetrazol seizures. *Brain Res.* **399,** 212–223 (1986).

226. Vercueil, L. *et al.* Deep brain stimulation in the treatment of severe dystonia. *J. Neurol.* **248,** 695–700 (2001).

227. Sobayo, T. & Mogul, D. J. Should stimulation parameters be individualized to stop seizures: Evidence in support of this approach. *Epilepsia* **57,** 131–140 (2016).

228. Mirski, M. A., Rossell, L. A., Terry, J. B. & Fisher, R. S. Anticonvulsant effect of anterior thalamic high frequency electrical stimulation in the rat. *Epilepsy Res.* **28,** 89–100 (1997).

229. Hamani, C. *et al.* Bilateral Anterior Thalamic Nucleus Lesions and High-frequency Stimulation Are Protective against Pilocarpine-induced Seizures and Status Epilepticus. *Neurosurgery* **54,** 191–197 (2004).

230. Ziai, W. C. *et al.* Target-specific Catecholamine Elevation Induced by Anticonvulsant Thalamic Deep Brain Stimulation. **46,** 878–888 (2005).

231. Takebayashi, S., Hashizume, K., Tanaka, T. & Hodozuka, A. The effect of electrical stimulation

and lesioning of the anterior thalamic nucleus on kainic acid-induced focal cortical seizure status in rats. *Epilepsia* **48,** 348–358 (2007).

232. Covolan, L. *et al.* Effects of anterior thalamic nucleus deep brain stimulation in chronic epileptic rats. *PLoS One* **9,** e97618 (2014).

233. Cooper, I. S., Upton, A. R. M. & Amin, I. Reversibility of chronic neurologic deficits. Some effects of electrical stimulation of the thalamus and internal capsule in man. *Appl Neurophysiol* **43,** 244–258 (1980).

234. Care, T. & Unit, C. AES Proceedings. **48,** 1–410 (2007).

235. Lee, K. J., Jang, K. S. & Shon, Y. M. Chronic deep brain stimulation of subthalamic and anterior thalamic nuclei for controlling refractory partial epilepsy. *Acta Neurochir. Suppl.* 87–91 (2006).

236. Lim, S.-N. *et al.* Electrical stimulation of the anterior nucleus of the thalamus for intractable epilepsy: a long-term follow-up study. *Epilepsia* **48,** 342–347 (2007).

237. Sherdil, A. *et al.* An on demand macaque model of mesial temporal lobe seizures induced by unilateral intra-hippocampal injection of penecillin.

238. Truccolo, W. *et al.* Single-neuron dynamics in human focal epilepsy. *Nat. Neurosci.* **14,** 635–641 (2011).

239. Bower, M. R. & Buckmaster, P. S. Changes in granule cell firing rates precede locally recorded spontaneous seizures by minutes in an animal model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurophysiol.* **99,** 2431–2442 (2008).

240. Elshoff, L. *et al.* Dynamic Imaging of Coherent Sources Reveals Different Network Connectivity Underlying the Generation and Perpetuation of Epileptic Seizures. *PLoS One* **8,** 1–11 (2013).

241. Bittencourt, S. *et al.* Microinjection of GABAergic agents into the anterior nucleus of the thalamus modulates pilocarpine-induced seizures and status epilepticus. *Seizure* **19,** 242–246 (2010).

242. Kuramoto, S. *et al.* Injection of muscimol, a GABAa agonist into the anterior thalamic nucleus, suppresses hippocampal neurogenesis in amygdala-kindled rats. *Neurol. Res.* **31,** 407–413 (2009).

243. Ghafouri, S. *et al.* Effects of Low Frequency Stimulation on Spontaneous Inhibitory and Excitatory Post-Synaptic Currents in Hippocampal CA1 Pyramidal Cells of Kindled Rats. **18,** 547–555 (2017).

244. Takebayashi, S., Hashizume, K., Tanaka, T. & Hodozuka, A. Anti-convulsant effect of electrical stimulation and lesioning of the anterior thalamic nucleus on kainic acid-induced focal limbic seizure in rats. *Epilepsy Res.* **74,** 163–170 (2007).

245. Ferrero, P., Guidotti, A. & Costa, A. Increase in the Bmax of y-aminobutyric acid-A recognition sites in brain regions of mice receiving diazepam. *PNAS* **81,** 2247–2251 (1984).

246. Sigma. *(+)-Bicuculline ProductInformation*.

247. Smith, Y., Séguéla, P. & Parent, A. Distribution of gaba-immunoreactive neurons in the thalamus of the squirrel monkey (Saimiri sciureus). *Neuroscience* **22,** 579–591 (1987).

248. Rotge, J. Y. *et al.* The associative and limbic thalamus in the pathophysiology of obsessive-

compulsive disorder: an experimental study in the monkey. *Transl. Psychiatry* **2,** e161 (2012).