



Contrôle des activités synchrones oscillatoires pathologiques par le récepteur dopaminergique D3 et le transporteur de la dopamine.

Fanny Cavarec

► To cite this version:

Fanny Cavarec. Contrôle des activités synchrones oscillatoires pathologiques par le récepteur dopaminergique D3 et le transporteur de la dopamine.. Médecine humaine et pathologie. Université Grenoble Alpes, 2016. Français. NNT : 2016GREAV067 . tel-01685541

HAL Id: tel-01685541

<https://theses.hal.science/tel-01685541>

Submitted on 16 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.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTE UNIVERSITE GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Neurosciences Neurobiologie**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Fanny CAVAREC

Thèse dirigée par Antoine DEPAULIS et
codirigée par Colin DERANSART

préparée au sein du Grenoble Institut des Neurosciences
INSERM U 1216-UGA-CEA-CHU
Equipe : Synchronization and Modulation of Neural Networks in
Epilepsy (Dir.: A. Depaulis)
dans l'École Doctorale Chimie et sciences du vivant

Contrôle des activités synchrones oscillatoires pathologiques par le récepteur dopaminergique D3 et le transporteur de la dopamine.

Thèse soutenue publiquement le **30 mai 2016**,
devant le jury composé de :

Mr Alain BUISSON (Président du jury, examinateur).

PhD, Pr. à l'Université Grenoble Alpes, Institut des
Neurosciences

Mr Stéphane AUVIN (Rapporteur)

MD PhD, PU-PH, CHU Hôpital Robert Debré, Paris

Mr Pierre-Olivier FERNAGUT (Rapporteur)

PhD, CR1 CNRS, Institut des Maladies

Neurodégénératives, Bordeaux,

Mr David BLUM (Examinateur)

PhD, DR2 INSERM, Jean-Pierre Aubert Research Centre



TABLE DES MATIERES

Remerciements	3
Abréviations.....	5
Liste des figures et tableaux	6
Résumé en français.....	7
Résumé en anglais	8
Avant Propos	9
Introduction	12
<i>I. Le système dopaminergique.....</i>	<i>12</i>
1) La dopamine.....	12
1-1 Anatomie du système dopaminergique	14
1-2 Le système dopaminergique au sein des ganglions de la base	16
1-3 Ontogenèse du système dopaminergique.....	18
2) Les récepteurs dopaminergiques D ₃	19
2-1 Généralités sur les récepteurs dopaminergiques	19
2-2 Distribution anatomique des RD ₃	22
2-3 Implication des RD ₃ dans le bâillement	23
2-4 Modulation de l'activation locomotrice par les RD ₃	25
2-5 Influence des RD ₃ sur les taux de dopamine	26
3) Contrôle des taux de dopamine synaptique	28
3-1 Le transporteur de la dopamine (DAT).....	28
3-1.1 Recapture de la DA par le DAT	29
3-1.2 Localisation anatomique et cellulaire du DAT	30
3-1.3 La DA synaptique et extra-synaptique.....	31
3-2 Différents modes de libération de la DA : la balance tonique/phasique	32
<i>II. L'épilepsie-absence</i>	<i>33</i>
1) Historique clinique et définition.....	34
1-1 Aspects cliniques : symptômes ictaux et enregistrement EEG	35
1-2 Focalité des absences	35
1-3 Données pharmacologiques et approches thérapeutiques de l'EA.....	37
2) Modélisation animale de l'épilepsie-absence : pourquoi le rat GAERS ?	39
2-1 Les modèles d'épilepsie-absence	39
2-2 Le rat GAERS.....	41
2-2.1 Caractéristiques EEG, comportementales et pharmacologiques.....	42
2-2.2 Epileptogenèse du GAERS.....	43
<i>III. Dopamine et Epilepsie.....</i>	<i>44</i>
1) Lien entre dopamine et épilepsie dans les modèles animaux	44
1-1 Dans les modèles de crises induites.....	44
1-1.1 Lésions chimiques du système dopaminergique et épilepsie	45
1-1.2 Activation des neurones dopaminergiques en réponse à une crise d'épilepsie.....	45
1-1.3 Implication des récepteurs dopaminergiques dans les crises d'épilepsie	46
1-2 Dans les modèles d'épilepsie absence génétique chez le rat.....	47
1-2.1 Chez les WAG/Rij.....	47
1-2.2 Chez les GAERS	48

2) Données cliniques en faveur de l'implication de la neurotransmission dopaminergique dans le contrôle des crises d'épilepsie.....	51
2-1 Etudes par imagerie chez l'homme	51
2-2 Effets dopaminergiques des antiépileptiques	53
OBJECTIFS DE L'ETUDE	57
I. La surexpression des récepteurs dopaminergiques D_3 précède-t-elle l'apparition des crises ?	58
II. Des déficits du système de recapture membranaire de la dopamine participent-t-ils au phénotype épileptique ?	59
III. Quelle est la participation du système dopaminergique dans l'ontogenèse de l'épilepsie-absence et celles des récepteurs D_3 dans l'expression des crises (chez l'adulte)?	60
Résultats	62
I. Manuscrit	63
II. Résultats complémentaires	110
1) Effets D_2 du quinpirole : augmentation du nombre de redressements chez les rats GAERS... ..	110
2) Dissociation des effets D_2/D_3 du quinpirole : adaptation de dose chez le rat jeune.....	112
3) Déficits de capture de dopamine chez les rats GAERS : Diminution de l'activité du DAT et augmentation de sa réactivité.....	115
4) Diminution de l'expression des récepteurs D_3 chez les GAERS adultes par utilisation de lentivirus exprimant des shRNA anti- D_3	120
Discussion générale	127
I. Régulations du système dopaminergique et ictogenèse	128
L'effet des RD_3 sur les crises passerait par une modification des taux de dopamine libérée – Mécanismes pré et post-synaptiques-	128
La libération de dopamine met fin à la crise.....	130
L'augmentation d'activité du DAT chez les GAERS contribue au maintien des crises.....	131
II. Régulations du système dopaminergique et épileptogenèse	135
Modification d'expression et d'activité des RD_3 avant l'apparition de la première crise	135
Epileptogenèse et taux de dopamine	137
III. La balance tonique/phasique de la libération de la dopamine clé de la compréhension du système dopaminergique dans les crises d'épilepsie.....	139
Effets bénéfiques d'un traitement rétablissant la balance tonique/phasique.....	139
IV. Dopamine et épilepsie : une question de comorbidité ?	142
Les comorbidités de l'épilepsie liées au système dopaminergique.....	142
Autres pathologies associées à un déséquilibre de la balance tonique/phasique.....	143
Conclusion générale	146
Annexes.....	148
Article Florence Fauvelle	149
Références	170

REMERCIEMENTS

Le manuscrit qui suit est l'aboutissement de mes années d'études en tant que doctorante à l'Institut des Neurosciences de Grenoble. Je remercie les financeurs : le Ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche pour ma bourse d'allocataire de recherche et Neurinox pour les subventions.

Tout d'abord je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse : Alain Buisson et David Blum pour en être les examinateurs, ainsi que Pierre-Olivier Fernagut et Stéphane Auvin d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce manuscrit.

Je remercie également Frédéric Saudou directeur de l'Institut des Neurosciences de Grenoble pour m'avoir accueillie dans sa structure. Je remercie Antoine Depaulis et Colin Deransart pour m'avoir donné l'opportunité de faire cette thèse.

Antoine si je ne devais retenir qu'un mot pour te définir ça serait « bienveillant ». Au cours de ces années tu as toujours été à nos côtés à Colin et moi, veillant sur nous comme sur l'avancée de nos travaux. Tu as mis généreusement au service ton talent d'écriture, et ton souci du détail sans compter ton temps. Qu'il s'agisse d'un poster, d'un résumé, d'une conférence, ou de questions plus personnelles, je savais que je pouvais compter sur toi. Merci à toi.

Colin en tant que directeur de thèse (et maître incontesté de l'EEG !) tu as su te rendre disponible et faire preuve de patience pour m'encadrer, me former... me supporter durant ces années, et auprès de toi j'ai beaucoup appris, tant sur le plan scientifique qu'humain. Une thèse c'est un travail d'équipe, de binôme et grâce à toi j'ai tant grandi, je n'oublierai jamais ces années. Les congrès, les réunions, les repas en dehors du labo, je retiens tous ces bons moments et ton sourire, qui m'ont donné la force de continuer à avancer. Tout au long de ma thèse tu as été un exemple, et la force que tu as déployé pour traverser chaque épreuve est une source d'inspiration pour moi. Merci de m'avoir soutenue jusqu'au bout, merci.

J'en profite pour remercier Mireille Albrieux de m'avoir mis en contact avec Colin. Merci également à l'ensemble des personnes qui ont participé de près ou de loin à l'aboutissement de ce projet. Je pense notamment à Jean-Christophe Deloulme, Christophe Bosc, Bruno Giros et Stéphanie Degois, Claire Baup pour leur précieuse aide technique et conceptuelle. Un grand merci Catherine Ghezzi, Alexis Broisat et Jakub Toczec avec qui j'ai pu collaborer et partager de bonnes rigolades.

Merci à Philipp Krauss le rappeur allemand, toujours prêt à faire l'idiot mais infatigable en radioactivité. Compagnon de congrès, de soirées, toujours prêt à boire une bière. Merci également aux étudiants Céline Beaumont et Pierrick Bordigat qui ont participé activement à ce projet et ont sans aucun doute contribué à faire avancer le « schmilblick » plus vite.

Un petit clin d'œil également à celle qui a géré l'aspect administratif de tout ça, Nathalie Labeye. Je souhaite remercier aussi David Blum et Sébastien Carnicella pour avoir fait partie de mon comité de suivi de thèse et avoir guidé mes réflexions et mon travail.

Bien sûr ces remerciements n'en seraient pas si j'omettais de citer les personnes qui m'ont permis de m'intégrer et ont grandement contribué à enrichir ma vie sociale tant au laboratoire qu'en dehors. Merci donc à Isabelle Guillemain pour toutes ces discussions scientifiquement très enrichissantes mais aussi pour ton soutien moral. Un grand merci à ma chère Sophie Hamelin, dont j'ai partagé le bureau avec grand plaisir toutes ces années.

Merci également aux personnes du labo qui ont apporté un regard plus extérieur au projet et bien souvent m'ont donné des conseils avisés. Merci donc aux autres membres de l'équipe : Célia Lentini, Julia Simon, Christophe Heinrich, Philippe Kahane, Laurent Verceuil, Lorella Minotti, Anne-Sophie Job, Cécile Sabourdy notamment pour tous vos conseils au cours des ~~interminables~~ réunions ;).

Un grand merci aux anciens Séverine Platel, Anne-Marie Laharie, Hélène et Tanguy Chabrol. Et aux membres de l'ex-équipe 10, Sabrina Boulet et Carole Carcenac avec qui j'ai toujours plaisir à rire, à discuter et (rarement) à faire du sport ;).

Guillaume Jarre, Arthur Bellier et Florian Studer, j'ai partagé avec vous plus qu'une simple camaraderie, on a tellement ri, tellement coïncé, il y aurait tellement d'histoires à raconter. Quand je voyais vos tronches j'étais plus au labo mais dans la cours de récréation. Pendant ces années j'ai donc pu compter sur votre aide, apprécier votre bonne humeur et nos discussions (peut être pas toujours très scientifiques mais tout aussi intéressantes), et les « pétages de câble », qui caractérisent tout thésard à partir de la deuxième année...courage à vous trois !

Je remercie aussi Marta Rolland, ma meilleure amie, avec qui j'ai partagé les pauses les plus agréables, dans la salle au fond du couloir, à parler de tout et de rien, de nous et d'eux. A faire des plans, à partir en courant, à rire aux larmes... C'est que le début.

Merci également autres étudiants et aux compagnons de route, Benjamin Ducarouge, Guillaume Drui, Romain Chassefeyre, Marc Dolmeyer autant pour les échanges au milieu du couloir que pour les bières bues ensemble.

Enfin, je tiens à remercier tous les autres membres du GIN que j'aurai pu oublier dans ces quelques lignes et qui m'ont accompagné tout au long de ces années, passées finalement bien vite!

Et bien sûr, je remercie mes amis qui m'ont donné tant de bonheur. Ceux qui ont été là au quotidien à mes côtés dans les hauts comme dans les bas, ma colloc Marine Laporte, Mathieu Favier et sa famille. Marta, Jessica et Ludvine avec chacune de vous j'ai découvert qu'une rencontre peut changer une vie, peut changer ce qu'il y a en nous. Vous m'avez soutenue, encouragée à être moi-même sans aucun jugement, toujours à mes côtés, si vous n'existiez pas je vous inventerai.

Merci à mon compagnon, Pierre, avec qui je me sens chez moi, mon point de repère, le voyage ne fait que commencer.

Le dernier paragraphe je le garde pour remercier ma famille pour m'avoir aidée, soutenue, supportée, motivée... vous avez su être là quand il fallait et bien plus encore ! Je suis consciente de la chance incroyable que j'ai d'avoir une famille aussi formidable et aimante. Merci !

Quel bonheur d'avoir tant de personnes à remercier.

« Pour ceux qui m'ont tenu la main et ceux qui l'ont lâchée, pour ceux qui firent ma joie et ceux qui l'ont gâchée, pour mes soleils et mes lunes, du rien au tout et puis du tout au rien, juste que nous sommes rien du tout, en fait on sait rien, c'est tout. » AKH

ABREVIATIONS

BDNF	Brain-Derived Neurotrophic Factor
Cx	Cortex
DA	Dopamine
DAT	Transporteur de la Dopamine
DaTSCAN	Ioflupane
DO	Densité optique
DPO	Décharge de pointe-ondes
EEG	Electroencéphalographie
GAERS	Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg
ICjM	Ilot majeur de Calleja
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
NAcc	Noyau accumbens
NAcsh	Cœur du noyau accumbens
NEC	Non Epileptique Control
PIPAT	[N-propyl-N-(3'-iodo-2'-propenyl)amino]tetral
RD ₃	Récepteur D3
S1BF	Cortex somato-sensoriel (barrel field)
SNpc	Substance noire pars compacta
Str	Striatum (VM : ventro-médian, VL : ventro-latéral, DL : dorso-latéral, DM : dorso-médian)
TDM	Tomodensitométrie
TEMP	Tomographie d'émission monophotonique
TH	tyrosine hydroxylase
TO	Tubercules olfactifs
TVDM	Thalamus ventral dorsomédian
VTa	Aire tegmentale ventrale
WH	Wistar-Hannover

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : Représentation schématique des neurones dopaminergiques et leurs principales projections.	14
Figure 2 : Organisation du système limbique, afférences du noyau accumbens.	18
Figure 3: Effets de l'injection d'agoniste D3 sur les bâillements et les redressements en fonction de la dose.	24
Figure 4 : Schéma d'une synapse dopaminergique représentant les différents modes d'action de la dopamine sur ses récepteurs.	31
Figure 5 : Schéma illustrant la variation du taux de dopamine lors de sa libération selon les deux modalités : tonique ou phasique.	32
Figure 6 : Schémas des principaux mécanismes d'action des médicaments antiépileptiques.	38
Figure 7 : Schémas représentant les origines du modèle GAERS.	41
Figure 8 : Enregistrement électroencéphalographique (EEG) chez le rat GAERS.	42
Figure 9 : Schéma des hypothèses explorées dans cette thèse.	60
Figure 10 : Effets de l'injection de quinpirole sur l'activité de redressement chez des rats GAERS, NEC et Wistar à P14 et P21.	111
Figure 11 : Effets de l'injection de différentes doses de quinpirole sur l'activité de bâillements et de redressements chez des rats Wistar à P14 et P21.	113
Figure 12 : Méthode d'obtention des synaptosomes.	116
Figure 13 : Capture et libération de 3H-DA par des synaptosomes obtenus au niveau du striatum ou du cortex somatosensoriel de rat GAERS, Wistar et NEC.	118
Figure 14 : Chronogramme du déroulement de l'expérience d'injection des lentivirus contenant le shRNA anti-D ₃ .	120
Figure 15 : Effets de l'injection du lentivirus contenant le vecteur vide ou la séquence codant pour le shRNA anti-D ₃ sur l'évolution du nombre de crises.	124
Figure 16 : Influence des RD ₃ sur l'ictogénèse.	134
Figure 17 : Schémas représentant les effets de l'aripiprazole sur la balance tonique/phasique chez le GAERS.	141
Figure 18 : Schéma représentant nos résultats sur l'expression relative au cours du temps des différents acteurs de la neurotransmission dopaminergique chez les GAERS comparé à une valeur normale représentant la valeur trouvée chez les rats non épileptiques (Wistar et NEC).	148
Tableau 1 : Localisation et fonctions des différentes aires dopaminergiques.	15
Tableau 2: Les différents types de récepteurs dopaminergiques. Voies de transduction, localisation synaptique et leur distribution anatomique.	20
Tableau 3: Rôles des récepteurs D ₃ révélés par les effets des agonistes et antagonistes.	23
Tableau 4 : Affinité de différents agonistes et antagonistes des récepteurs D ₃ .	25
Tableau 5 : Lignées génétiques d'épilepsie-absence chez le rongeur.	40
Tableau 6: Effets dopaminergiques des médicaments antiépileptiques.	56
Tableau 7 : Composition des différents aliquots pour la capture de dopamine tritiée par les synaptosomes.	117

RESUME EN FRANÇAIS

Les rats GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg) et NEC (Non-Epileptic-Control rats) dérivent de la lignée de rats Wistar-Hannover (WH). Chez les GAERS les premières crises d'épilepsies apparaissent vers l'âge de 25 jours puis leur nombre et leur durée augmentent pour se maintenir à l'âge adulte à raison d'une crise de 20 secondes en moyenne par minute lorsque l'animal est en veille calme. Ce développement spontané des crises d'épilepsies permet d'étudier la période silencieuse avant les premières crises ainsi que la survenue de ces premières crises (l'épileptogénèse). De nombreuses études pharmacologiques et électrophysiologiques dans des modèles animaux d'épilepsie révèlent un rôle critique de la transmission dopaminergique dans la susceptibilité aux crises. Les GAERS adultes présentent une surexpression de l'ARNm des récepteurs dopaminergiques D3 comparé aux rats NEC. L'expression ainsi que la fonction du récepteur D3 et celles du transporteur de la dopamine (DAT) sont liées. Le but de ce travail a été de déterminer l'implication du RD3 et du DAT dans le développement de l'épilepsie en mesurant leur expression et fonction chez les GAERS avant l'apparition des premières crises. L'expression et la fonction du RD3 ont été mesurées par autoradiographie au [125I]-PIPAT et induction de bâillement par injection de quinpirole respectivement, dans les 3 lignées de rats (GAERS, NEC and WH) chez des rats adultes, à P14 et P21. L'expression du DAT a été analysée par imagerie SPECT à [123I]-Ioflupane chez les adultes et par autoradiographie au [3H]-GBR12935 chez les adultes, P14 et P21. Par ailleurs l'activité du DAT a été mesurée par capture de dopamine tritiée sur des synaptosomes de striatum, cortex et hippocampe de rats adultes des 3 lignées. La participation du RD3 dans les crises a été évaluée par EEG vidéo après l'injection d'agoniste D3 (quinpirole et PD128907) ou d'antagoniste (SB277011 et SR21502). Les expériences de radiographie ont révélé une surexpression des RD3 chez les GAERS dans les structures connues pour participer à l'initiation des crises (cortex somatosensoriel), à leur contrôle (noyaux accumbens) ainsi que dans d'autres structures (thalamus antérieur, tubercules olfactifs et ilots de Calleja), à P14 et P21 comparé aux autres lignées. Ni le SPECT ni l'autoradiographie n'a relevé de modification d'expression du DAT chez les rats adultes, cependant à P14 et P21 le DAT est surexprimé au niveau du striatum. Ces résultats sont accompagnés d'une augmentation de la fonctionnalité du DAT aux 3 âges chez les GAERS comparés aux autres lignées. Les agonistes D3 induisent une augmentation des décharges de pointes-ondes sans que les antagonistes aient un effet. De plus l'injection chronique d'aripiprazole (un neuroleptique connu pour sa capacité à stabiliser la libération de dopamine) chez les rats GAERS dès la naissance entraîne une diminution des crises associée à une diminution d'expression des RD3. L'utilisation de lentivirus contenant une séquence shRNA anti-RD3 chez les GAERS adultes entraîne aussi une diminution du nombre de crises d'épilepsie. Nos résultats suggèrent ainsi que l'augmentation du nombre de RD3 chez le GAERS est concomitante à une augmentation de la sensibilité du système dopaminergique, et cela avant l'apparition des premières crises épileptiques. Cette augmentation au cours de la maturation pourrait participer à l'aggravation progressive des crises d'épilepsie qui est la base de l'épileptogénèse et expliquer le déséquilibre de la tonicité dopaminergique que nous avons démontré chez l'adulte.

Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS) and Non-Epileptic-Control rats (NEC) derive from an original Wistar-Hannover rat strain (WH). The onset age of spike-and-waves discharges in GAERS is about 25 days post-natal (P25). In adult GAERS with fully developed epilepsy, dopamine plays a modulatory role in seizure expression. Adult GAERS display an over-expression of dopaminergic D3-receptors (D3R) mRNA as compared to NEC. Expression and function of D3R and dopamine transporter (DAT) are closely related. The aim of this work was to investigate the putative involvement of D3R and DAT during epileptogenesis by measuring their expression and functionality in GAERS before the onset of epilepsy (P25). D3R expression and functionality was investigated by [125I]-PIPAT autoradiography and quinpirole-induced yawning, respectively, in the three strains of rats (GAERS, NEC and WH) in adults, P14 and P21. DAT expression was investigated in GAERS and NEC by [123I]-Ioflupane SPECT imaging in adults and [3H]-GBR12935 autoradiography in adults, P14 and P21 rats. Furthermore, DAT activity was assessed by 3H-dopamine reuptake in synaptosomal living fractions of striatum, cortex and hippocampus of adult rats in the three strains. The involvement of the D3R was further investigated by video-EEG recording following systemic injections of either D3R agonist (quinpirole and PD128907) or antagonists (SB277011 and SR21502). Autoradiography showed an over-expression of D3R in GAERS in structures known to be involved in seizure initiation (somato-sensory cortex), seizure control (nucleus accumbens,) as well as in other structures (anterior thalamus, olfactory tubercles and islands of Calleja) at P14 and P21, as compared to age-matched NEC and WH. As in adults, this over-expression was associated with a higher number of quinpirole-induced yawns in GAERS at P14 and P21. Neither SPECT imaging nor autoradiographic data revealed any modification in DAT expression between the three strains in adults, however at P14 and P21 DAT is overexpressed in the striatum of GAERS rats. However, we found a consistent increase in 3H-dopamine reuptake in adult GAERS as compared to NEC and WH in the functional assay supporting an increase in dopamine translocation velocity. Administrations of D3R agonists increased spike-and-wave discharges, whereas antagonists had no effect. Furthermore, the chronic injection of aripiprazole (an atypical neuroleptic known to stabilize dopamine release) to GAERS pups reduced the number of seizures in adults along with a decreased expression of D3R. Preliminary data using lentiviral infection with shRNA anti-D3R also support reduced seizure number in adult GAERS rats. Our results suggest that an over-expression of functional D3R already exists before the onset of seizures in GAERS and that, despite a lack of changes in DAT expression, functional changes in this transporter occur in adults. They further support that a profound modification in basal ganglia function together with changes in D3R could be a conditional factor for epileptogenesis. The dopaminergic system appears persistently altered in spontaneous epileptic rats, which could contribute to the development of the chronic epileptic state and may represent a potential new target for antiepileptic therapies and/or improvement of quality of life of epileptic patients.

De très nombreuses études cliniques ont permis de mettre en évidence la place centrale de la neurotransmission dopaminergique (DA) dans les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent l'apparition des crises d'épilepsie (Bouilleret et coll., 2005; 2008; Ciumas et coll., 2008a). Schématiquement, les substances pharmacologiques qui stimulent la neurotransmission DA semblent inhiber l'apparition des crises, alors que les antagonistes ont, à l'inverse, un effet pro-épileptique, chez l'homme (M. S. Starr, 1996). Malheureusement, les investigations cliniques ne permettent pas de déterminer si ces perturbations de la neurotransmission DA ne représentent que des conséquences de l'état épileptique, ou si elles participent de manière causale au processus d'épileptogénèse.

Des travaux précédemment menés au sein de l'équipe chez le rat GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg), ont montré que des injections systémiques ou locales, au sein du noyau accumbens (NAcc), d'antagonistes ou d'agonistes D_1 et D_2 augmentent et diminuent, respectivement, la survenue des décharges de pointe-ondes (DPO) (Deransart et coll., 2000). Par ailleurs, une augmentation des ARNm des récepteurs D_3 (RD_3) a été observée en particulier au niveau du cœur du noyau accumbens (NAcc) chez les GAERS adultes par rapport à des animaux contrôles (non épileptiques) (Deransart et coll., 2001a). De par le rôle des RD_3 dans l'inhibition de la synthèse et de la libération de dopamine, l'hypothèse d'un déséquilibre fonctionnel de la balance entre libération tonique et phasique de dopamine devait ainsi être examinée.

Dans ce contexte, le but de mon travail a été de déterminer l'implication des modifications du système dopaminergique, et plus particulièrement des RD_3 et du DAT, au cours de l'épileptogénèse chez le rat GAERS, avec comme hypothèse de travail un déséquilibre fonctionnel de la balance entre libération tonique et phasique de dopamine.

Dans une première partie de mon travail, j'ai pu confirmer par une analyse autoradiographique que les RD_3 étaient surexprimés dès l'âge de 14 jours postnatal (P14) au sein du NAcc chez les GAERS, alors qu'aucune modification électroencéphalographique (EEG) évocatrice de l'apparition des DPO n'est enregistrée à cet âge. La surexpression des RD_3 observée à P14 (comme à P21 et chez les GAERS adultes) suggère donc qu'elle n'est pas une conséquence de la répétition des crises mais plus vraisemblablement un prérequis à leur apparition. Tout comme chez les animaux adultes, j'ai pu confirmer que la surexpression des

RD₃ chez les animaux âgés de 14 et 21 jours se traduit au niveau comportemental par une diminution des bâillements spontanés et une augmentation des bâillements induits par le quinpirole. Concernant les effets de la manipulation de la pharmacologie des RD₃ sur les DPO chez le GAERS adulte, mes travaux m'ont également permis de montrer que différents agonistes des RD₃ exercent un effet proépileptique. Ainsi, la surexpression des RD₃ pourrait contribuer à (i) baisser le tonus dopaminergique et le seuil épileptogène dès le plus jeune âge (P14, P21), participant ainsi à une susceptibilité accrue aux crises chez les rats et (ii) entraver, chez l'adulte, les sur-fluctuations phasiques de DA liées à la survenue des crises.

Dans une seconde partie de ce travail, nous avons émis l'hypothèse que la surexpression des RD₃ chez le GAERS pourrait être associée à des anomalies d'expression ou de fonction du DAT. L'expression du DAT, mesurée par des techniques de tomographie d'émission monophotonique (TEMP) n'a pas montré de modification d'expression de ce transporteur chez le GAERS adulte. De même, chez l'adulte, aucune modification d'expression n'a pu être mise en évidence par des techniques d'autoradiographie. La mesure de la capacité de recapture de la dopamine tritiée par des synaptosomes (terminaisons synaptiques isolée) issus de tissus striatal m'a cependant permis de mettre en évidence une augmentation de la fonctionnalité du DAT chez les GAERS dès 14 jours et les adultes (augmentation de vélocité de translocation sans modification de l'affinité). Ces données suggèrent que les augmentations de fonctionnalité du DAT pourraient correspondre à des augmentations du nombre de transporteurs exprimés au niveau membranaire.

Ces modifications pourraient participer au déséquilibre de la balance dopaminergique en faveur d'une libération tonique diminuée et d'une libération phasique accrue. Nous avons donc émis l'hypothèse que ce déséquilibre fonctionnel pourrait progressivement participer à l'aggravation des crises d'épilepsie dans notre modèle. Afin d'examiner cette hypothèse nous avons cherché à corriger ce déséquilibre par des injections systémiques chroniques d'un stabilisateur de la libération de la dopamine, l'aripiprazole, dès la naissance des animaux épileptiques, au cours de l'épileptogénèse. Nos résultats montrent qu'un tel traitement retarde l'apparition des crises, ainsi qu'une diminution du nombre et de la durée des crises, par comparaison à des animaux traités avec le véhicule. En outre, une analyse autoradiographique de ces animaux confirme une diminution d'expression du RD₃ affectant de manière spécifique le NAcc.

L'ensemble de mes résultats indique ainsi que l'augmentation du nombre de RD₃ et l'augmentation de l'expression et de la fonctionnalité du DAT chez le GAERS sont concomitantes à une augmentation de la sensibilité du système dopaminergique, et cela avant même l'apparition des premières crises épileptiques.

Parallèlement j'ai pu collaborer à des travaux visant à caractériser les modifications métaboliques au cours de l'épileptogénèse du rat GAERS, par des approches par résonance magnétique nucléaire à rotation à l'angle magique haute résolution (RMN-HRMAS) avec Florence Fauvelle (IRMage, Grenoble). Mes travaux sont également à mettre en perspective avec des études cliniques actuellement en cours dans notre équipe et qui visent à montrer l'existence de modification de la réactivité dopaminergique chez des patients épileptiques (Etude BYE BYE DOPA, PI : C. Deransart & L. Vercueil). L'ensemble de mes travaux pourraient ainsi contribuer à réexaminer l'hypothèse de mécanismes dopaminergiques associés à certains traitements antiépileptiques afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique de cette pathologie très invalidante.

INTRODUCTION

Pour justifier les hypothèses de travail à l'origine de ce projet je commencerai mon introduction par quelques rappels sur le système dopaminergique, et plus particulièrement sur les RD₃ et le DAT. Après avoir défini brièvement l'épilepsie-absence qui m'a plus particulièrement intéressée dans le cadre de ce travail doctoral, j'expliquerai par la suite les liens qui existent entre le système dopaminergique et la physiopathologie de l'épilepsie-absence. Cette revue de la littérature m'amènera à exposer les objectifs de mon étude et commencer la présentation de mes résultats d'une part sous la forme du manuscrit « *Early reduced dopaminergic tone mediated by D3 receptor and dopamine transporter in absence epileptogenesis* » et d'autre part par la présentation des résultats supplémentaires qui seront publiés par la suite. Je discuterai enfin l'ensemble de ces résultats au vu de la littérature actuelle, en faisant ressortir le concept émergent de mon travail qui est l'existence d'une dynamique de mise en place du système dopaminergique différente chez les animaux épileptiques, conduisant à un déséquilibre de la tonicité des circuits de contrôle des crises d'épilepsie-absence.

I. LE SYSTEME DOPAMINERGIQUE

1) LA DOPAMINE

La dopamine (DA) joue un rôle neuromodulateur essentiel au sein des ganglions de la base (GB). Longtemps considérée comme un simple précurseur métabolique de la voie de synthèse de la noradrénaline (K Bhagvat, 1939), elle est identifiée 20 ans plus tard par (Montagu, 1957) comme un neurotransmetteur à part entière. En 1959, Arvid Carlsson démontre qu'elle joue un rôle central dans l'apparition des troubles moteurs de la maladie de Parkinson (Carlsson, 1959; Ehringer and Hornykiewicz, 1960). Plus tard, son rôle dans le fonctionnement du système nerveux central (SNC) a été largement décrit, notamment dans les processus d'apprentissage, de récompense et de motivation, mais également dans de nombreuses autres pathologies telles que l'addiction ou la schizophrénie (Flagel et coll., 2011; Howes and Kapur, 2009; Volkow et coll., 2011). Dans l'épilepsie, de façon générale, les agonistes dopaminergiques suppriment les crises d'épilepsie alors que les antagonistes (comme les neuroleptiques) les aggravent (M. S. Starr, 1996). L'apomorphine (agoniste non-sélectif D1/D2) présente des effets antiépileptiques et différentes observations cliniques

suggèrent un rôle capital de la DA dans la genèse et/ou la propagation des crises (M. S. Starr, 1996). Ces données seront plus particulièrement développées dans le chapitre III (Dopamine et épilepsie).

La voie principale de synthèse de la DA s'effectue à partir de la L-Tyrosine, un acide aminé essentiel, qui, capté au niveau du milieu extracellulaire, est transformé par la Tyrosine Hydroxylase (TH) en (L)-3,4 dihydroxyphénylalanine (L-DOPA). La TH est l'enzyme limitante de la voie de biosynthèse de la DA. Une étape de décarboxylation, réalisée par la dopa-décarboxylase (DDC), convertit ensuite la L-DOPA en DA. Au sein des neurones dopaminergiques, la DA est stockée dans le réticulum endoplasmique lisse ou transportée dans des vésicules jusqu'aux boutons synaptiques par l'intermédiaire du transporteur vésiculaire spécifique des monoamines (VMAT2). Dans les neurones noradrénergiques, la DA est convertie par la dopamine-beta-hydroxylase (DBH) en NA.

Au niveau de la synapse, la dopamine une fois libérée peut être "restockée" dans les vésicules synaptiques en attente d'une nouvelle dépolarisation dans les terminaisons pré-synaptiques, ou bien catabolisée en acide dihydroxyphénylacétique (DOPAC) par les monoamines-oxydases (MAO) neuronales ou astrocytaires. Ainsi près de 90% de la DA cérébrale est métabolisée en DOPAC (Westerink and Spaan, 1982), puis libérée dans l'espace extracellulaire. Ce DOPAC extracellulaire et le 3-MT issu de la dégradation de la DA par la COM-T sont à leur tour dégradés en acide homovanillique (HVA) respectivement par les enzymes COM-T et MAO. Il existe deux types de MAO : la MAO-A et la MAO-B. Chez le rat, la DA est majoritairement désaminée par la MAO-A, alors que chez l'homme c'est la MAO-B qui remplit cette fonction (Glover et coll., 1977).

1-1 ANATOMIE DU SYSTEME DOPAMINERGIQUE

Les différentes populations de neurones dopaminergiques et noradrénergiques ont été topographiées, regroupées et désignées sous la lettre A suivie d'un chiffre. Au total, 16 groupes ont été identifiés, les aires A1-A7 correspondant aux neurones noradrénergiques du tronc cérébral, alors que les aires A8-A17 désignent les groupes de neurones dopaminergiques (Figure 1). Au niveau du mésencéphale, trois sous-groupes cellulaires composent les neurones dopaminergiques : A9 est l'aire située au niveau de la substance noire compacte (SNc) et de la substance noire réticulée (SNr) ; A10 est l'aire plus médiale, qui correspond à l'aire tegmentale ventrale (ATV) ; A8 est une extension postérieure d'A9 et A10, qui se situe au niveau de l'aire rétro-rubrale. Sur la base de ces premiers travaux de caractérisation neuro-anatomique au niveau du mésencéphale, trois principales projections dopaminergiques ont été décrites, nigro-striée, mésolimbique et mésocorticale.

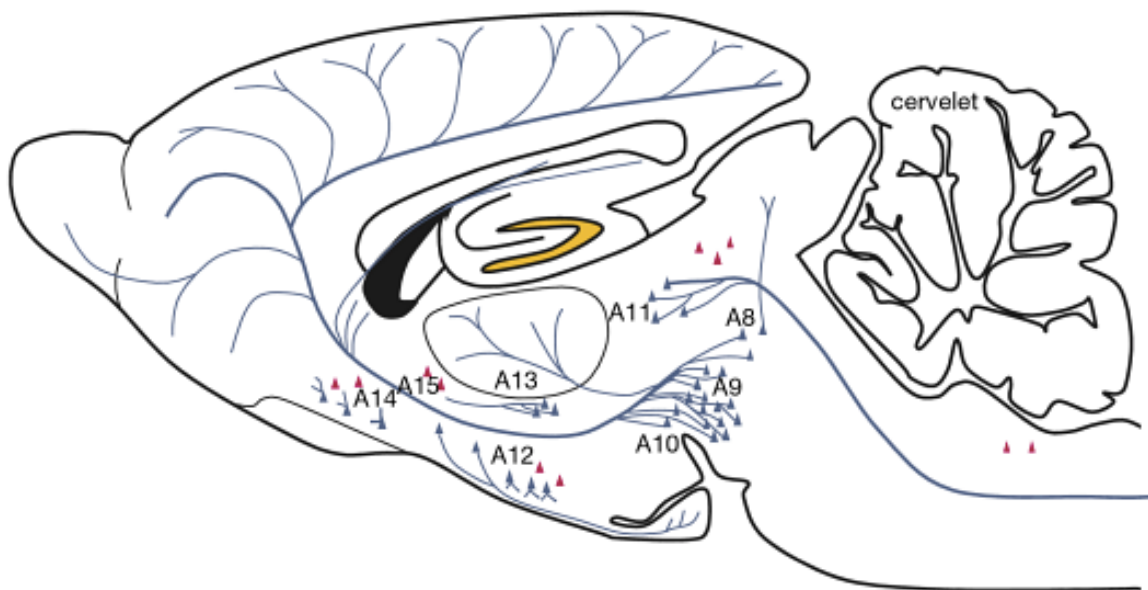


Figure 1 : Représentation schématique des neurones dopaminergiques et leurs principales projections. Les triangles gris pleins représentent la localisation des neurones dopaminergiques et les triangles rouges les neurones à L-Dopa. Les lignes grises représentent leurs voies de projections. A8-A15 : aires de localisation des neurones dopaminergiques (d'après (Berridge et coll., 1997)).

Les aires A11 à A15 composent le système diencephalique et correspondent respectivement au système diencephalo-spinal (A11), incerto-hypothalamique (A13), périventriculaire-pré-optique (A14), tubéro-infundibulaire et tubéro-hypophysaire (A12), ainsi qu'aux neurones des aires préoptiques dorsales et ventro-latérales de l'hypothalamus (A15). Il existe également d'autres neurones dopaminergiques comme les neurones périglomérulaires du bulbe olfactif (A16) et ceux de la rétine (A17).

Chacune de ces aires dessert des fonctions bien précises (Tableau 1). Ce travail doctoral se concentre essentiellement sur l'implication des projections dopaminergiques provenant du mésencéphale, qui seront donc décrites plus précisément par la suite.

Localisation	Aires dopaminergiques	Système dopaminergique	Fonction centrale
Mésencéphale	A9	Nigro-strié	Motricité
	A10	Méso-cortical	Attention, mémoire
	A10	Méso-limbique	Emotions, motivation, récompense
Diencephale	A11	Diencephalospinal	Sensori-moteur
	A12-A13	Tubéro-infundibulaire	Sécrétion de prolactine et GH
	A14	Périventriculaire-préoptique	Thermorégulation
	A13-A14	Incerto-hypothalamique	Faim/soif/régulation PA, bâillement
	A15	Hypothalamique-rétrochiasmatique	Sécrétion de prolactine et GH
Bulbe olfactif	A16	Cellules périglomérulaires du bulbe olfactif	Olfaction
Rétine	A17	Cellules amacrines rétinienne	Vision

Tableau 1 : Localisation et fonctions des différentes aires dopaminergiques.

Les voies dopaminergiques ascendantes issues de l'aire A9 projettent majoritairement vers le noyau caudé-putamen (CPu, équivalent du striatum dorsal chez le rat), formant la voie nigro-striée (Gerfen, 2000; Heimer et coll., 1997). Mais les projections de l'aire A9 ne se limitent pas au striatum dorsal, elles concernent également le globus pallidus interne (GPi) et externe (GPe), le noyau sous-thalamique (NST), la SNr et ,dans une moindre mesure, des structures limbiques, comme le striatum ventral, l'amygdale, ou le cortex préfrontal (Fallon et coll., 1978).

Les projections dopaminergiques issues de l'ATV sont divisées en deux voies principales : mésolimbique et mésocorticale. La voie DA mésolimbique est essentiellement constituée des projections de l'A10 vers le striatum ventral (Gerfen, 2000; Heimer et coll.,

1997), les îlots de Calleja, l'amygdale, le septum, l'hippocampe et les cortex cingulaire et enthorinal. Il faut cependant noter qu'une partie de ces projections innervent également le striatum dorsal. Enfin, la voie DA mésocorticale se compose des projections de l'ATV qui innervent les cortex associatif, sensoriel et limbique, ainsi que le cortex préfrontal (médian, dorsolatéral, orbitofrontal et piriforme).

1-2 LE SYSTEME DOPAMINERGIQUE AU SEIN DES GANGLIONS DE LA BASE

Le dysfonctionnement des GB est historiquement associé à des pathologies neurologiques aux conséquences motrices telles que la maladie de Parkinson, la chorée de Huntington ou l'hémiballisme (Albin et coll., 1989). Au cours de ces dernières décennies, le rôle des GB dans des pathologies non motrices a été exploré, comme dans la schizophrénie, l'addiction, les facettes non motrices de la maladie de Parkinson ou l'épilepsie. Concernant l'épilepsie des dysfonctionnements des GB ont été explorés en particulier dans les modèles animaux de la maladie, mais aussi plus récemment en clinique (voir paragraphe III.2 page 44).

D'un point de vue anatomique, les GB sont un ensemble de noyaux sous-corticaux, comprenant chez le rat le striatum, le noyau accumbens, le noyau sous-thalamique (NST), le globus pallidus, le noyau entopédunculaire (EP) (équivalents respectivement chez le primate des segments externe (GPe) et interne (GPi)), la SNc et la SNr. L'organisation fonctionnelle des GB a été proposée tout d'abord par Alexander et Crutcher en 1990, sous la forme d'un réseau multisynaptique complexe mettant en relation le cortex cérébral, les circuits des GB et le système thalamo-cortical. Les GB comportent deux structures d'entrée, le striatum et le NST, par lesquelles les informations extérieures sont transmises à l'ensemble des circuits des GB.

La transmission des informations corticales par les GB a été décrite chez le primate via trois voies nerveuses : (1) une voie striatale directe qui connecte le striatum à la SNr et au GPi, (2) une voie striatale indirecte connectant le striatum au GPe au NST puis à la SNr et au GPi, et (3) une voie subthalamique hyperdirecte connectant le NST à la SNr et au GPi (Nambu, 2011). Cette organisation anatomo-fonctionnelle et les connexions avec les structures corticales impliquées dans diverses fonctions, allant du contrôle de la motricité jusqu'aux aspects émotionnels et cognitifs, permet au GB de jouer un rôle primordial dans l'intégration et le traitement des informations provenant du cortex cérébral.

Le striatum est classiquement divisé en deux parties, la partie dorsale qui est une entité chez le rongeur mais est subdivisée en noyau caudé et putamen chez l'homme, et la partie ventrale aussi appelée noyau accumbens (NAcc). Le striatum ventral est tout particulièrement impliqué dans la régulation des comportements motivés comme les processus naturels liés à l'obtention d'une récompense ou les processus pathologiques de l'addiction (Baldo and Kelley, 2007; Ikemoto and Panksepp, 1996; Koob, 1992; Koob and Bloom, 1988).

Le striatum ventral possède cependant d'autres rôles en dehors des mécanismes de la récompense (Zink et coll., 2003). Il répond à une large variété de stimuli "pertinents" en termes de comportement motivé (« incentive saliency ») incluant des signaux de récompense (Berns et coll., 2001; Delgado et coll., 2000; Knutson et coll., 2000; Mirenowicz and Schultz, 1994) mais également des signaux sans connotation de récompense. Ceux-ci peuvent traduire la survenue brutale d'un nouveau signal dans l'environnement et conduisent à une mise en alerte de l'organisme (Horvitz, 2000; Horvitz et coll., 1997; Strecker and Jacobs, 1985; Strecker et coll., 1983; Zink et coll., 2003).

Le NAcc traite les informations en provenance du cortex cérébral, ainsi que des noyaux thalamiques intralaminaire, ventroantérieur, ventromédial, ventrolatéral, de la ligne médiane, de l'hippocampe et de l'amygdale (Kita and Kitai, 1990; McDonald, 1991). Il met en relation le système limbique et les ganglions de la base (GB). Le NAcc peut être divisé en deux structures : le cœur (NAccC, la partie dorsale) et la coquille (ou shell, NAccSh, la partie ventrale). Ces structures ont des morphologies et des fonctions différentes. Les diverses voies de projections entraînent une dissociation des réponses comportementales observées au cours des manipulations expérimentales du cœur ou de la coquille du NAcc (Figure 2). Les voies de sortie du NAcc sont différentes si elles proviennent du cœur ou de la coquille et l'organisation des efférences issues de chaque compartiment traduit les fonctions dissociées de chacun d'eux (Bassareo and Di Chiara, 1999; Usuda et coll., 1998).

Le cœur du noyau accumbens émet préférentiellement des projections vers le système moteur extrapyramidal et présente des projections proches de celles du reste du striatum (noyau caudé et putamen). Ses neurones se projettent sur le pallidum dorso-latéral, qui en retour se projette sur le système moteur thalamique d'où partent les projections vers le cortex (Berendse et coll., 1992; Deutch et coll., 1992; Heimer et coll., 1991; Zahm and Brog, 1992).

En revanche, la coquille du noyau accumbens est rattachée au système limbique du fait de projections vers des structures de sortie limbiques comme le pallidum ventral, l'aire

tegmentale ventrale, la substance noire médiale, l'aire hypothalamique latérale et l'amygdale (Brog et coll., 1993; Heimer et coll., 1991; Kirouac and Ganguly, 1995; Zahm and Brog, 1992).

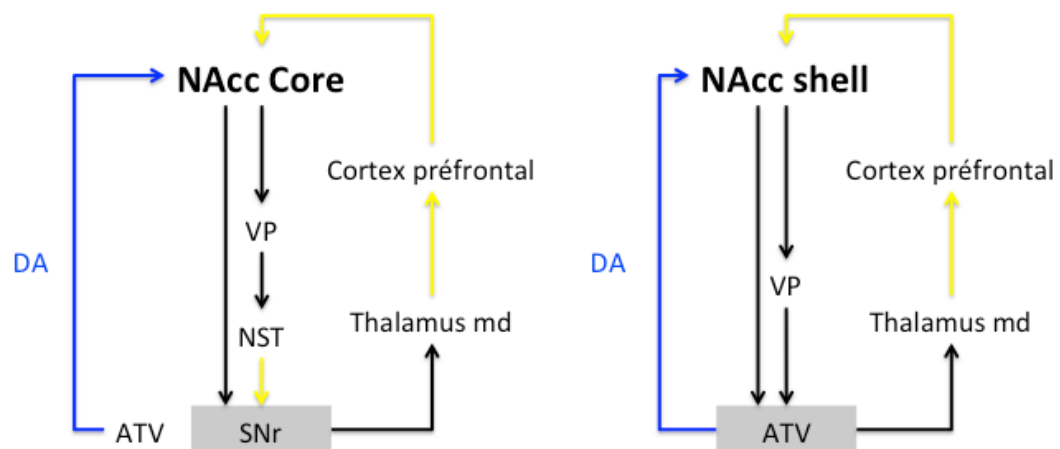


Figure 2 : Organisation du système limbique, afférences du noyau accumbens. Les flèches jaunes représentent les synapses excitatrices, noires inhibitrices et bleues les synapses dopaminergiques

En conclusion si le NAccSh semble assurer majoritairement des fonctions cognitives liées à la motivation et au système de la récompense, le NAccC contrôle principalement la composante corticale (volontaire) du comportement.

1-3 ONTOGENESE DU SYSTEME DOPAMINERGIQUE

Le développement au cours de la vie embryonnaire du système dopaminergique est essentiellement connu chez le rongeur (Prakash and Wurst, 2006). Il suit la même évolution chez le rat et la souris avec néanmoins quelques jours de décalage, la souris présentant un développement plus précoce d'un ou deux jours. Les cellules précurseurs dopaminergiques sont produites au niveau de la zone sous-ventriculaire et migrent vers les zones embryonnaires qui deviendront le mésencéphale. Les premières cellules dopaminergiques apparaissent aux environs du dixième jour de vie embryonnaire (E10) et commencent à exprimer la TH à E11,5 (Nieoullon and Coquerel, 2003). La neurogenèse des cellules dopaminergiques est particulièrement importante lors des premiers jours et présente un pic de prolifération à E12,5. Par ailleurs, la neurogenèse du système dopaminergique au niveau du mésencéphale présente une organisation topographique selon l'axe médiodorsal et l'axe antéro-postérieur. Ainsi, les premières cellules apparaissent au niveau de la SNc et de la VTA latérale (E10-E13 avec un

pic à E11) tandis que la neurogenèse au niveau de la VTA médiane et postérieure est plus tardive (E11-14 avec un pic à E12).

Dès l'expression de TH par les cellules dopaminergiques, celles-ci commencent à émettre des neurites (axones et dendrites). Les fibres vont dans un premier temps migrer vers les zones dorsales, puis s'orientent vers les zones antérieures vers E13 et forment le faisceau médian du télencéphale (Kolk et coll., 2009; Nakamura et coll., 2000). Les premières fibres sont observées vers E15 au niveau du striatum et du NAcc (Voorn, 1988), et vers E18,5 au niveau des zones frontales (Kalsbeek et coll., 1988; Kolk et coll., 2009). De plus, il est apparu chez l'embryon qu'une même cellule dopaminergique peut projeter de manière collatérale à la fois au niveau du striatum et au niveau du NAcc.

Cependant, ces voies apparaissent majoritairement ségréguées au moment de la naissance (E21-P0), suggérant une élimination des synapses et des axones supplémentaires (Hu et coll., 2004).

Ces dernières années, de plus en plus de travaux se sont penchés sur les mécanismes à la base du développement des différentes voies dopaminergiques. Bien qu'encore mal défini, il apparaît que celui-ci est sous le contrôle d'un certain nombre de facteurs de guidage (pour revue voir (Smidt and Burbach, 2007)). Ces facteurs sont des molécules diffusibles qui sont libérées par les cellules des zones de projections et qui vont interagir avec des récepteurs spécifiques exprimés au niveau des fibres dopaminergiques afin d'avoir un effet chémoattracteur ou chémorépulseur sur ces dernières. A l'inverse du développement embryonnaire, la maturation postnatale du système dopaminergique reste à ce jour moins explorée.

2) LES RECEPTEURS DOPAMINERGIQUES D₃

2-1 GENERALITES SUR LES RECEPTEURS DOPAMINERGIQUES

L'action de la DA dépend de son interaction avec différents types de récepteurs. Les récepteurs dopaminergiques appartiennent à la famille des récepteurs métabotropiques à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G. Les outils de génétique et de clonage ont permis l'identification de cinq types de récepteurs à la dopamine : D₁, D₂, D₃, D₄ et D₅ (Bates et coll., 1990; Bunzow et coll., 1988; Monsma et coll., 1990; Sokoloff et coll., 1990;

Sunahara et coll., 1991; Tiberi et coll., 1991; Van Tol et coll., 1991). Le séquençage des gènes a montré une forte homologie entre les domaines transmembranaires de certains récepteurs qui ont été alors regroupés en deux familles : les récepteurs *D1-like* (D1 et D5) et les récepteurs *D2-like* (D₂, D₃ et D₄) (Missale et coll., 1998; Sunahara et coll., 1991). Les RD peuvent être classés en deux familles, selon la taille de leur extrémité C-terminale et de la 3ème boucle cytoplasmique et en fonction de leur influence excitatrice ou inhibitrice sur l'activité de l'adénylate cyclase (AC) (Beaulieu and Gainetdinov, 2011; Missale et coll., 1998) (Tableau 2).

Famille	D1-like		D2-like		
Transduction	Gs Stimulation de l'adénylate cyclase		Gi Inhibition de l'adénylate cyclase		
Localisation synaptique	Post-synaptiques		Post-synaptiques Pré-synaptiques Corps cellulaires dopaminergiques		
Localisation cérébrale	D1	D5	D2	D3	D4
NAcc	+++		+++	+++	
Tubercules olfactifs	+++		+++	+++	
Ilots de Calleja				+++	
Cortex			+	transitoire	+
VTA			+		+
SNC			+		+
PFC	+++				
Thalamus	+		+		
Hypothalamus	+	+	+		+
Striatum			+++		
Striatum dorsal	+++				
Hypocampe		+			+
Hypophyse					+
Amygdale					+

Tableau 2: Les différents types de récepteurs dopaminergiques. Voies de transduction, localisation synaptique et leur distribution anatomique.

Les récepteurs *D1-like* présentent une longue partie C-terminale et une troisième boucle intracellulaire, plus petite, à l'inverse des récepteurs *D2-like*. Ils sont couplés positivement à des protéines G de type Gs qui ont un effet activateur sur l'activité de l'AC, et donc un effet stimulant sur la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) qui conduit à l'activation de la protéine kinase A (PKA) (Jensen et coll., 1996; Kebabian et coll., 1979). La protéine kinase A (PKA), peut phosphoryler à son tour un ensemble d'effecteurs

notamment la DARPP-32. Cette dernière joue un rôle central dans l'intégration et la transduction du signal dopaminergique (Valjent et coll., 2005). Les récepteurs "D₂-like" possèdent à l'inverse une extrémité C-terminale courte et une 3^{ème} boucle cytoplasmique longue. Ils sont couplés aux protéines de type Gi, qui régulent négativement l'activité de l'AC et donc la production d'AMPc (Huff, 1996; Kebabian et coll., 1979).

Les RD sont exprimés dans un nombre important de régions du SNC. Cependant, des les profils d'expression de ces récepteurs varient au sein des différentes aires cérébrales. De plus, il existe une certaine variabilité du profil d'expression entre les espèces (rongeur / primate non-humain / Homme).

Le récepteur D₁ est le récepteur dopaminergique le plus exprimé et le plus répandu dans le système nerveux central (Bates et coll., 1990) (Tableau 2). En particulier au niveau du striatum dorsal, du noyau accumbens, des tubercules olfactifs et dans le cortex préfrontal. Il est également retrouvé à des niveaux plus modestes au niveau du thalamus et de l'hypothalamus. Le récepteur D₅ est exprimé de manière beaucoup moins importante et principalement au niveau du thalamus, de l'hippocampe et du cortex. Il est très faiblement exprimé au niveau striatal.

Le RD₂ est principalement retrouvé dans le striatum, le NAcc et les tubercules olfactifs. Il est également présent à des niveaux importants dans le cortex, l'amygdale, la formation hippocampique et l'hypothalamus. Le récepteur D₂ est également exprimé par les cellules dopaminergiques de la SNc et de l'ATV où il jouerait le rôle d'autorécepteur. L'action de la dopamine sur l'isoforme D_{2S} semble notamment moduler l'activité du DAT et de la TH (Gantz et coll., 2015; Usiello et coll., 2000).

Comme évoqué dans l'avant-propos, la surexpression de l'ARNm des RD₃ observée au niveau du NAcc chez le GAERS adulte (Deransart et coll., 2001a) a été l'une des données à l'origine de ce travail doctoral. Ainsi, les connaissances concernant ce récepteur sont plus amplement détaillées ici.

2-2 DISTRIBUTION ANATOMIQUE DES RD₃

Les RD₃ ont été découverts plus récemment que les RD₁ et RD₂ (Giros et coll., 1991; Sokoloff et coll., 1990) avec une expression protéique plus restreinte qui concerne majoritairement des structures limbiques, et plus limitée dans les aires motrices et corticales. Les ARNm de ce récepteur ont une expression limitée aux zones limbiques telles que le NAcc, les tubercules olfactifs et les îlots de Calleja, mais n'est pas retrouvé au niveau du striatum dorsal ou des zones corticales (Landwehrmeyer et coll., 1993). Les plus fortes densités de RD₃ sont retrouvées au niveau des terminaisons des projections dopaminergiques issues du striatum et du NAcc (en particulier au niveau de la coquille), au niveau des tubercules olfactifs et des îlots de Calleja. L'expression des RD₃ est également assez importante dans le striatum dorsomédian, le noyau mammillaire, le noyau paracentral du thalamus, et certains noyaux hypothalamiques et la SNc (Diaz et coll., 2000; Sokoloff et coll., 1990) (Figure 4). Enfin, on retrouve des quantités relativement faibles de RD₃ au sein de l'hippocampe, de l'amygdale, des cortex cingulaire et moteur (Diaz et coll., 2000; Le Moine and Bloch, 1996; Levant, 1998a; Missale et coll., 1998; Sokoloff et coll., 1990). Au niveau du striatum dorsolatéral (DLS), leur expression est faible, mais détectable (Le Moine and Bloch, 1996; Salles et coll., 2013; Sokoloff et coll., 2006b).

Au niveau du mésencéphale, les RD₃ sont principalement localisés au niveau de la SNc, et sur les corps cellulaires dopaminergiques (autorécepteurs), mais ils sont également exprimés par des cellules non-dopaminergiques. Dans le striatum dorsal et le NAcc, les RD₃ sont retrouvés aux niveaux pré et post-synaptique. Ils sont principalement exprimés par les neurones moyens épineux (Ariano and Sibley, 1994; Diaz et coll., 2000; Griffon et coll., 1995; Lévesque et coll., 1995; Stanwood et coll., 2000).

Les récepteurs D₃ ont été mis cause dans l'étude des processus motivationnels, et sont à ce titre très étudiés dans l'addiction et l'apathie, mais leur rôle physiologique comprend aussi des effets sur la thermorégulation, le bâillement et la locomotion (Tableau 3). Dans ce travail de thèse, les bâillements et l'activité locomotrice ont été utilisés comme témoins de l'activité des récepteurs D₃. Le rôle des RD₃ dans ces activités sera plus particulièrement développé dans la suite de ce paragraphe.

	Agoniste D ₃	Antagoniste D ₃	Auteurs (année)
Bâillement	+	Pas d'effet	Collins 2007
Activité locomotrice	-	Pas d'effet	Boulay 1999
Libération de DA	-	Pas d'effet	Koeltzow 1998
Thermorégulation	-	+	Boulay 1999

Tableau 3: Rôles des récepteurs D₃ révélés par les effets des agonistes et antagonistes.

2-3 IMPLICATION DES RD₃ DANS LE BAILLEMENT

Depuis leur clonage par Sokoloff en 1990 les récepteurs D₃ ont suscité un grand intérêt de la part de la communauté scientifique. Du fait de leur forte homologie de séquence avec les récepteurs D₂, ainsi que leur profil d'expression plus restreint et plus "limbique" que les autres récepteurs dopaminergiques, leur ciblage pharmacologique pour le développement potentiel de nouveaux antipsychotiques et antiparkinsoniens a été fortement étudié. Malgré cela, il reste difficile d'identifier des composantes comportementales liées exclusivement à la mise en jeu de ces récepteurs (Levant, 1998b). Cela est en partie dû au manque de composés pharmacologiques sélectifs pour les RD₂ par comparaison au RD₃. Par exemple, si les agonistes D₂/D₃ induisent des changements dans la température corporelle, l'activité locomotrice et d'autres mesures comportementales (Millan et coll., 1995; Pugsley et coll., 1995), le rôle spécifique des RD₃ dans ces régulations n'a pas pu être mis en évidence chez les animaux déficients pour ces récepteurs (Boulay et coll., 1999; Xu et coll., 1999).

Le tronc cérébral associé au diencephale (hypothalamus) est le siège du réflexe du bâillement. Le déroulement du bâillement fait intervenir de nombreux neurotransmetteurs parmi lesquels la dopamine joue un rôle central. Issue notamment des aires A13-A14 (Tableau 1) la dopamine, en agissant par l'intermédiaire des RD₃, active la production d'ocytocine par le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (Uvnäs-Moberg et coll., 1995). L'ocytocine active alors la sécrétion d'acétylcholine qui déclenche le bâillement par action sur les récepteurs muscariniques des muscles du larynx, du visage et de la mâchoire impliqués dans son déroulement (pandiculation)(Sanna et coll., 2012). Les multiples projections du noyau paraventriculaire sur le locus coeruleus et la formation réticulée du tronc cérébral conditionnent l'effet du bâillement sur la vigilance. Alors que le bâillement disparaît dans les

syndromes extrapyramidaux (maladie de Parkinson), des salves de bâillements répétés peuvent révéler de multiples pathologies cérébrales neurologiques ou neuropsychologiques (hypertension intracrânienne, encéphalites...). Les causes de bâillements iatrogènes (notamment les antidépresseurs sérotoninergiques) sont fréquentes. D'autres molécules comme le monoxyde d'azote, le glutamate, le GABA, la sérotonine, l'ACTH, MSH, les hormones sexuelles, l'hypocrétine et d'autres neuropeptides peuvent influencer la production de bâillement. Le fait que le bâillement soit un comportement instinctif en fait un indicateur d'intérêt dans les tests pharmacologiques.

La capacité des agonistes dopaminergiques à produire des bâillements de façon biphasique avec une courbe dose-réponse en U inversé a longtemps été étudiée chez le rat (Holmgren and Urbá-Holmgren, 1980; Mogilnicka and Klimek, 1977; Yamada and Furukawa, 1980) (Figure 3). Pour de faibles concentrations d'agoniste, seuls les RD_3 vont être activés et produire une augmentation du nombre de bâillements associée à une diminution du nombre de redressements. Lorsque les doses d'agoniste administré dépassent la spécificité de l'agoniste, les RD_2 sont alors activés et provoquent en réaction une diminution des bâillements associés à une augmentation des redressements (S.-M. Li et coll., 2010).

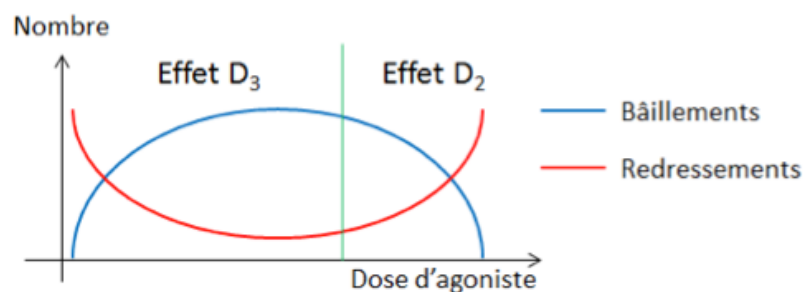


Figure 3: Effets de l'injection d'agoniste D_3 sur les bâillements et les redressements en fonction de la dose. Pour les faibles doses, l'effet D_3 entraîne une augmentation des bâillements et une inhibition des redressements. A plus forte dose, les RD_2 sont activés et inhibent les bâillements, en augmentant les redressements.

L'utilisation d'agonistes plus spécifiques des RD_3 comme le PD-128,907 utilisé dans le cadre de ce travail ou le 7-OH-DPAT [(±)-7-hydroxy-2-dipropylaminotetralin HBr], ainsi que d'antagonistes comme le U99194, ou le SB-277011A (également utilisés au cours de ce travail) ont permis d'explorer de façon plus précise le rôle du RD_3 dans l'induction de bâillements (Lévesque et coll., 1995; Pugsley et coll., 1995; Reavill et coll., 2000). Dès 1997, Levant fit l'hypothèse que l'induction de bâillements par les agonistes D_2/D_3 serait liée à une activation des RD_3 alors que leur inhibition à plus forte dose serait un effet des RD_2 (Levant,

1998b). Cette hypothèse a par la suite été confirmée par Collins en 2005 dont l'étude a permis de conclure que les mécanismes dopaminergiques qui permettent l'induction du bâillement par les agonistes dopaminergiques sont spécifiques des RD₃ et différents de ceux utilisés par les agonistes cholinergiques ou sérotoninergique (Collins, 2005).

Les bâillements chez le rat peuvent donc être utilisés comme un indicateur *in vivo* de la fonctionnalité et de l'activité des RD₃ et nous avons utilisé cette propriété pour préciser les conséquences fonctionnelles d'une modification d'expression de ces récepteurs chez le GAERS.

	Molécule	Affinité (pK _i)	Ki _{D2} /Ki _{D3}	Auteurs (année)
Agonistes D ₃	Quinpirole	7,3-7,8	113	Sokoloff (1990)
	PD-128,907	7,6-7,7	-	Pugsley (1995)
	7-OH-DPAT	7,1-8,4	-	Burris (1995)
	Bromocriptine	7,1 – 8.2	-	Millan (1995)
	Raclopride	7,9	-	Millan (1995)
	Pramipexole	8,4-8,7	-	Mierau (1995)
Antagonistes D ₃	SB-277011-A	8	80-100	Reaville (2000)
	SR 21502	-	120	Non publié
	Nafadotride	9,5	-	Sautel (1995)

Tableau 4 : Affinité de différents agonistes et antagonistes des récepteurs D₃, dont certains (en gras) utilisés dans notre étude.

2-4 MODULATION DE L'ACTIVATION LOCOMOTRICE PAR LES RD₃

Le rôle exact des RD₃ dans la régulation de l'activité locomotrice reste également à élucider. Globalement, à l'inverse des RD₂, la stimulation des RD₃ semble avoir un effet inhibiteur sur l'activité locomotrice (Levant, 1998a). La grande majorité des agonistes non sélectifs, comme le 7-OH-DPAT ou le PD-128907, a un effet biphasique sur l'activité locomotrice avec une influence inhibitrice pour des concentrations faibles, et un effet stimulant pour des fortes concentrations (Figure 4). Ce dernier effet a été attribué à l'activation des RD₂ post-synaptiques dans le striatum (Khroyan et coll., 1995; 1997). Les premières études ont suggéré que cet effet inhibiteur des RD₃ sur l'activité locomotrice serait sous-tendu soit par une diminution de la libération de DA, via l'activation d'autorécepteurs D₃ pré-synaptiques, soit par une activation des RD₃ post-synaptiques (Gilbert and Cooper, 1995;

Gobert et coll., 1995; Pugsley et coll., 1995; Svensson et coll., 1994a; 1994b). Les travaux réalisés chez des souris KO-D₃ ont remis en question ces premières hypothèses. En effet, l'inhibition locomotrice induite par ces agonistes est retrouvée chez les souris KO-D₃, suggérant que les effets hypolocomoteurs attribués aux RD₃ pour de faibles concentrations pourraient être aussi le reflet d'une stimulation des RD₂ pré-synaptiques (autorécepteurs), par manque de sélectivité des agonistes D₃ utilisés (Boulay et coll., 1999; Millan et coll., 1995; Reavill et coll., 2000; Xu et coll., 1999). Plusieurs études ont montré que la stimulation des RD₃ diminue l'activité locomotrice des animaux uniquement dans un environnement nouveau, sans que cette absence de différence puisse être expliquée par un effet plancher (Boulay et coll., 1999; Fernandes et coll., 2012; Xu et coll., 1999). L'administration systémique d'antagonistes hautement sélectifs pour les RD₃, comme le S-33083, le SR-21502 ou le SB-277011-A, n'a pas d'effet sur la locomotion spontanée ni sur la libération de DA mesurée par microdialyse (Reavill et coll., 2000; Song et coll., 2011; Xi et coll., 2004).

Une étude récente utilisant des shRNA dirigés contre les RD₂ ou les RD₃ pour bloquer l'expression de ces récepteurs de manière sélective au niveau du NAcc, montre que les RD₂ et les RD₃ exprimés dans cette structure vont agir ensemble pour réguler l'activité locomotrice, qui est détectable uniquement dans un environnement nouveau. A l'inverse, seuls les rats KO-D₃ ont une réponse diminuée par rapport à des animaux contrôles dans un test d'activité locomotrice en réponse à la lumière (Fernandes et coll., 2012).

L'ensemble de ces travaux suggère donc que les agonistes des RD3 ont des effets inhibiteurs sur l'activité locomotrice alors les antagonistes sont sans effets.

2-5 INFLUENCE DES RD₃ SUR LES TAUX DE DOPAMINE

L'expression des RD₃ au niveau pré-synaptique suggère leur implication dans la modulation de l'activité dopaminergique avec une influence inhibitrice sur la libération de DA, tout en interagissant avec les RD₂ (L. Tang et coll., 1994; W. Tang et coll., 2009). Ainsi, les souris KO-D₃ présentent des taux extracellulaires de DA exacerbés par rapport à des animaux contrôles et l'administration de plusieurs agonistes des RD₃ (comme le 7-OH-DPAT) chez ces mêmes animaux diminue la libération de DA mesurée par microdialyse ou par voltamétrie. Compte tenu de la spécificité relative des agonistes D₃, ceci pourrait être lié à une action sur les récepteurs D₂ (Gainetdinov et coll., 1996; Gilbert et coll., 1995; Patel et

coll., 1995). Des travaux récents ont également montré que les modifications des contenus extracellulaires en DA chez des souris KO-D₃, en réponse à différents agonistes ou antagonistes des RD₃, étaient comparables à celles mesurées chez des souris contrôles, remettant en cause la spécificité de ces drogues. Ainsi, les effets observés en utilisant ces agents non sélectifs, attribués au départ à la composante D₃, pourraient finalement être en partie causés par les RD₂ qui auraient donc un rôle d'autorécepteur (Xu et coll., 1999).

La libération synaptique de DA ou l'apport d'un agoniste sélectif D₂ conduit à une activation conjointe des récepteurs post-synaptiques et des autorécepteurs. Cependant, il a été montré que ces deux types de récepteurs n'ont pas la même sensibilité pharmacologique (Skirboll et coll., 1979). Ainsi, les autorécepteurs sont généralement activés par de plus faibles concentrations d'agonistes que les récepteurs postsynaptiques, ce qui conduit à un effet biphasique de ces agents lorsqu'on augmente les doses (Elsworth and Roth, 1997; Skirboll et coll., 1979). De nombreuses études pharmacologiques (Gainetdinov et coll., 1996; Zapata and Shippenberg, 2002) et génétiques chez des souris transgéniques dont les gènes codant pour les RD₃ ont été invalidés (Joseph et coll., 2002), suggèrent que les autorécepteurs D₃ contribueraient à la régulation pré-synaptique du tonus DA et ainsi participeraient, avec les autorécepteurs de type D₂, à la régulation du patron de décharge neuronale, à la synthèse de DA, et à la libération phasique de DA (De Mei et coll., 2009).

L'utilisation d'agents plus sélectifs pour les RD₃, comme l'antagoniste SB-277011-A que nous avons utilisé dans le cadre de notre travail (affinité 80 à 100 fois supérieure pour RD₃ vs RD₂) (Reavill et coll., 2000) a permis de montrer par des mesures électrophysiologiques et biochimiques que les RD₃ n'ont pas d'influence directe sur la régulation de la libération tonique de DA, mais exercent plutôt un contrôle phasique sur l'activité des neurones dopaminergiques (Koeltzow et coll., 1998; Reavill et coll., 2000; Sokoloff et coll., 2006b). Les RD₃ semblent donc jouer un rôle important dans la régulation de la libération de DA, en interaction avec les RD₂, alors que leur implication dans la modulation de la synthèse de DA reste à éclaircir (Gainetdinov et coll., 1996; Sotnikova et coll., 2001; Zapata and Shippenberg, 2005; Zapata et coll., 2007). Les études se sont principalement concentrées sur les effets aigus de la stimulation des RD₃, qui entraîne une augmentation d'activité du DAT (Zapata and Shippenberg, 2005; Zapata et coll., 2007). A contrario, une étude utilisant le traitement sub-chronique d'injection de pramipexole (agoniste préférentiellement RD₃) chez la souris a montré une diminution d'activité du DAT (Joyce et coll., 2004), suggérant une adaptation du système dopaminergique. En 2015, Castro-

Hernández et ses collaborateurs ont mis en évidence qu'un traitement chronique au pramipexole diminue l'affinité du DAT pour la dopamine par ses interactions avec les RD₃ et d'autres protéines partenaires (Castro-Hernández and Afonso-Oramas, 2015). Cette régulation de la recapture de DA par les RD₃ pourrait impliquer une action directe de ces récepteurs à la fois sur la fonction mais également sur l'expression membranaire du DAT (Joyce et coll., 2004; Zapata et coll., 2007). Par ailleurs, l'invalidation du DAT chez des souris transgéniques induit une augmentation de l'expression des RD₃ (Fauchey et coll., 2000). De plus, les souris invalidées pour le gène du RD₃ présentent une surexpression du DAT au niveau de la substance noire (Le Foll et coll., 2005).

L'ensemble de ces travaux suggère un lien étroit entre l'activation des RD₃ et l'augmentation de l'expression et de la fonctionnalité du DAT. L'existence de ce lien fonctionnel étroit entre RD₃ et DAT peut influencer l'homéostasie dopaminergique. Dans le cadre de ma thèse, j'ai donc complété mon étude des RD₃ en examinant les modifications du DAT qui pouvaient être associées.

3) CONTROLE DES TAUX DE DOPAMINE SYNAPTIQUE

3-1 LE TRANSPORTEUR DE LA DOPAMINE (DAT)

Le transporteur membranaire de la dopamine (DAT) est une protéine de transport de la dopamine qui limite le niveau et la durée de l'activation des récepteurs de la dopamine. Des polymorphismes du DAT ont été liés à des épilepsies idiopathiques chez l'Homme, et en particulier dans l'épilepsie absence (Sander et coll., 2000) suggérant que le gène du DAT pourrait être un facteur de susceptibilité pour l'épilepsie. De plus, une diminution de 35-40% du DAT a été montré dans le coeur du noyau accumbens, et le noyau caudé dans une souche australienne de rats GAERS, comparé à des rats contrôles non épileptiques (Jones et coll., 2010). Une modification de l'expression du DAT pourrait ainsi être associée à l'épileptogénèse chez le GAERS. Pour expliquer les liens qui existent entre le DAT et l'épilepsie, je commencerai par décrire le rôle du DAT dans les différents modes de libération de la dopamine puis j'aborderai le concept de libération tonique et phasique de la dopamine qui fait partie de mes hypothèses de travail dans le contrôle des crises d'épilepsie-absence.

3-1.1 RECAPTURE DE LA DA PAR LE DAT

Dans 80% des cas, la DA est recaptée par les terminaisons dopaminergiques qui l'ont libérée *via* le DAT. Les 20% restants sont recaptés par les cellules gliales qui expriment également le DAT (Westerink and Spaan, 1982) ou dégradés directement dans la fente synaptique en 3-méthoxytyramine (3-MT) grâce à l'enzyme catéchol-O-méthyl transférase (COM-T) présente sur la membrane des neurones post-synaptiques. La délétion du gène codant pour le DAT chez les souris DAT-KO (Giros et coll., 1996) conduit à une hyperdopaminergie similaire à celle produite par des psychostimulants comme la cocaïne qui bloque la recapture de DA par ce transporteur (Garris et coll., 1994; Suaud-Chagny et coll., 1995). Le DAT joue donc un rôle essentiel dans la régulation de la durée d'action de la DA dans la fente synaptique et de sa diffusion extra-synaptique (Jaber et coll., 1997).

Le DAT effectue un symport de la dopamine à travers la membrane plasmique en couplant le mouvement favorable énergétiquement d'ions sodium à l'intérieur de la cellule. Le fonctionnement du DAT requiert la liaison et le co-transport de deux ions Na^+ et un Cl^- avec chaque molécule de dopamine. La force motrice permettant la recapture de la dopamine est donc le gradient généré par les pompes membranaires Na^+/K^+ ATPase (Torres et coll., 2003). Ce couplage entre le potentiel de membrane et le gradient de sodium fait que des changements dans la polarité membranaire peuvent fortement influencer les taux de transport de la dopamine. Une des méthodes utilisée pour mesurer l'activité du DAT consiste à lyser du tissu frais de striatum de rat afin d'obtenir des synaptosomes (terminaisons synaptiques isolées) et de les incubier avec de la dopamine tritiée. En faisant varier les concentrations de dopamine tritiée et de dopamine froide, on peut obtenir des informations sur l'activité du DAT comme sa vitesse maximum de recapture (V_{max}) et sa constante d'affinité pour la dopamine (K_m).

Ces expériences ont permis de montrer que le DAT contribue au relargage de la dopamine lors de la dépolarisation du neurone (Wheeler et coll., 1993). Son rôle peut aussi se trouver inversé lors de la prise d'amphétamine qui, en plus de bloquer l'entrée de la dopamine dans la cellule par le DAT comme la cocaïne, va provoquer un relargage massif de dopamine en inversant le fonctionnement du transporteur vésiculaire des monoamines (VMAT2) et du DAT.

3-1.2 LOCALISATION ANATOMIQUE ET CELLULAIRE DU DAT

L'utilisation de ligands radioactifs comme le DaTSCAN (ou Ioflupane [^{123}I]), un neurotraceur radiomarqué, permet de visualiser et d'étudier *in vivo* l'expression du DAT en TEMP (tomographie par émission de positon). En clinique, il permet la détection d'une perte de terminaisons neuronales dopaminergiques fonctionnelles dans le striatum, majoritairement chez les patients présentant un syndrome parkinsonien. Cette méthode a aussi permis de montrer que le DAT est retrouvé dans toutes les parties du cerveau où s'installe la circuiterie dopaminergique dont les voies nigrostriatales, méso-corticales et méso-limbiques en complétant ainsi les données obtenues par autoradiographie *ex vivo* (Ciliax et coll., 1999). Les études par autoradiographie chez le rat (avec notamment le ligand GBR12935 que j'ai utilisé au cours de mon travail) ont permis de préciser que le DAT est abondant dans les dendrites et les corps cellulaires des neurones de la VTA et de la SNc. Dans la SNc plus précisément le DAT est exprimé au niveau des membranes plasmiques axonales et dendritiques (pré et post-synaptique) (Nirenberg et coll., 1996). A l'intérieur des corps cellulaires de la SNc, le DAT est majoritairement exprimé au niveau du réticulum endoplasmique lisse, du complexe de Golgi et des corps multivésiculés, qui sont les sites de sa synthèse, sa modification, son transport et sa dégradation (Hersch et coll., 1997).

Dans le striatum et le NAcc, les marquages du DAT par autoradiographie sont denses et hétérogènes, au niveau de la membrane plasmique des terminaisons axonales. Des expériences de co-marquages immunohistochimiques montrent une collocalisation du DAT avec deux autres marqueurs des terminaisons nigrostriée, la TH et les RD_2 .

Cependant, le DAT n'est pas (ou peu) retrouvé au niveau des zones synaptiques actives, mais plutôt dans les zones périphériques de la synapse (Figure 4). Cela suggère que la recapture de la dopamine striatale a lieu en dehors de la synapse, une fois que la dopamine a diffusé en dehors de la fente synaptique

3-1.3 LA DA SYNAPTIQUE ET EXTRA-SYNAPTIQUE

Des études récentes ont permis de montrer que le DAT n'est pas uniquement exprimé au niveau post-synaptique, mais également retrouvé au niveau extra-synaptique, sur les axones des neurones dopaminergiques, dans le striatum et sur les corps cellulaires et les dendrites, dans le mésencéphale (Ciliax et coll., 1999; Hersch et coll., 1997; Nirenberg et coll., 1996). De plus, les récepteurs dopaminergiques sont exprimés de manière prédominante en extra-synaptique (Hersch et coll., 1995; Khan et coll., 1998; Sesack et coll., 1994). Ainsi, au-delà de la transmission dopaminergique "classique" synaptique, la communication intercellulaire dopaminergique nécessite la mise en jeu d'un autre type de transmission, la transmission volumique, qui correspond à la diffusion de la DA vers les sites récepteurs extra-synaptiques (Zoli and Agnati, 1996).

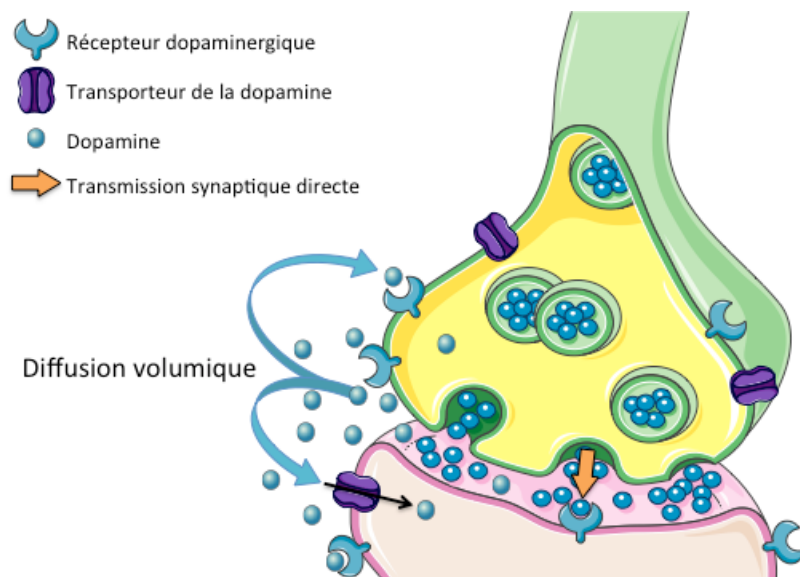


Figure 4 : Schéma d'une synapse dopaminergique représentant les différents modes d'action de la dopamine sur ses récepteurs.

Le DAT est un élément important de régulation de l'activité de la neurotransmission DA, et en particulier de l'équilibre entre transmission synaptique et diffusion volumique (Figure 4). Les premiers travaux menés au niveau du striatum ont permis de suggérer que, dans cette structure, la régulation de la concentration synaptique de DA serait fortement gouvernée par le DAT (Floresco et coll., 2003; Giros et coll., 1996), alors que dans la SNc, l'importance de la recapture serait moindre, suggérant une diffusion volumique prédominante dans cette région cérébrale (Cragg and Hawkey, 1997; Cragg et coll., 2001; Rice, 2000). Cependant, des études plus récentes à l'échelle de la synapse ont montré que le DAT n'aurait finalement pas un rôle aussi déterminant dans la régulation de la concentration de DA synaptique, y compris

au niveau du striatum où la DA serait majoritairement sous le contrôle de la diffusion (Cragg and Rice, 2004).

Ces données ont amené certains auteurs à redéfinir la transmission dopaminergique nigro-striée, avec la diffusion comme élément central dans la régulation de la DA synaptique. Le DAT serait un élément régulateur de la concentration extracellulaire nette de DA, en modulant la sphère (distance) de diffusion et la durée des courants de diffusion (Rice and Cragg, 2008), c'est à dire un modulateur de la diffusion volumique.

3-2 DIFFERENTS MODES DE LIBERATION DE LA DA : LA BALANCE TONIQUE/PHASIQUE

Les neurones dopaminergiques présentent deux modes d'activité électrique distincts (Grace and Bunney, 1984a; 1984b) : une activité tonique composée de décharges de potentiels d'action uniques (en anglais « *single spike firing* ») et une activité phasique composée de décharges de trains de potentiels d'action en bouffées (en anglais « *burst firing* »). L'activité électrique tonique entretient la libération basale de dopamine au niveau striatal (Keefe et coll., 1993). Il a été mis en évidence dans plusieurs autres structures que l'activité phasique représentée par les bouffées de potentiels d'action dépend de la stimulation exercée par la transmission glutamatergique (Floresco et coll., 2003). Le rôle de la DA est plus spécifiquement lié à son mode de libération, tonique ou phasique. Lors d'une libération tonique, la DA est libérée au niveau des terminaisons nerveuses en faible quantité et de manière continue (Figure 5).

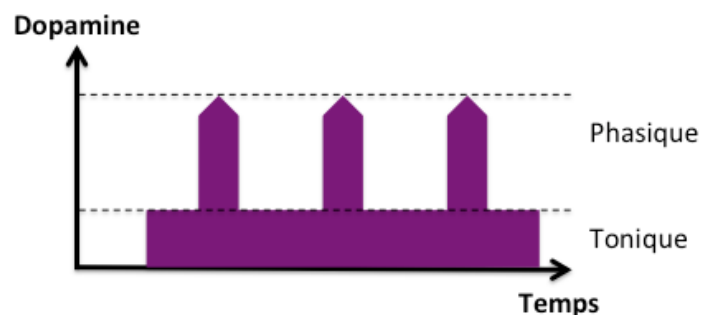


Figure 5 : Schéma illustrant la variation du taux de dopamine lors de sa libération selon les deux modalités : tonique ou phasique.

Ce mode de libération est considéré comme responsable d'une augmentation de la sélectivité de l'information véhiculée. Par opposition, lors de la libération phasique, la

dopamine est libérée en grande quantité pendant un intervalle de temps bref, au niveau de la fente synaptique, au contact des neurones GABAergiques dans le striatum. Cette libération est contemporaine des potentiels d'action des neurones DA. La dopamine, par cette possibilité de libération phasique, semble également agir comme un neuromodulateur « renforceur » au cours d'un processus d'apprentissage procédural, processus à l'origine de la formation des automatismes (Bar-Gad et coll., 2003; Contreras-Vidal and Schultz, 1999).

Cette balance est particulièrement étudiée dans l'addiction où l'abus de toutes sortes de drogues entraîne de façon directe ou indirecte une augmentation de la neurotransmission DA. Cependant, lorsque l'on précise plus finement les mécanismes de cette augmentation on observe que l'alcool par exemple va augmenter la transmission dopaminergique en induisant une augmentation du nombre de décharges des cellules DA alors que les psychostimulants augmentent la transmission DA en inhibant la recapture de la dopamine à la synapse. L'alcool influence ainsi la composante phasique de la libération de dopamine. A contrario, l'usage répété de psychostimulants va entraîner une accumulation chronique de dopamine dans l'espace extracellulaire du NAcc qui sera trop faible pour stimuler les récepteurs post-synaptiques, mais suffisante pour activer les autorécepteurs, entraînant ainsi une diminution de la libération de dopamine (Wanat et coll., 2009). Cette régulation du taux de dopamine extrasynaptique est donc une réponse tonique à la prise de drogue (Grace, 2000). Des défaillances dans la balance tonique/phasique de la libération de dopamine ont été mises en jeu dans d'autres pathologies. Dans les troubles de l'attention, Badgaiyan a décrit très récemment une augmentation de la composante phasique de la dopamine associée à une diminution de la composante tonique (Badgaiyan et coll., 2015). Des modifications allant dans le même sens sont retrouvées dans la schizophrénie (Howe et coll., 2015; Oshibuchi et coll., 2009).

De très nombreuses études cliniques ont permis de mettre en évidence la place centrale de la neurotransmission dopaminergique dans les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent l'apparition des crises d'épilepsie. Nous avons fait l'hypothèse que des perturbations de cette balance tonique/phasique influencent le développement de l'épilepsie-absence.

II. L'EPILEPSIE-ABSENCE

1) HISTORIQUE CLINIQUE ET DEFINITION

Les crises épileptiques de type absence ont été identifiées depuis plusieurs siècles, la première description étant attribuée à Poupart en 1705 (Hirsch and Panayiotopoulos, 2005). Au 19ème, la classification des épilepsies comprend ainsi le petit mal, le grand mal et le vertige épileptique. Ainsi, l'épilepsie-absence est déjà individualisée comme « petit mal ». En 1935, Gibbs, Lennox et Davis utilisent l'EEG mis au point par Berger en 1929, pour montrer que les absences sont associées sur l'EEG à des décharges de pointe-ondes (DPO) à 3 Hertz (Hirsch and Panayiotopoulos, 2005). En 1970, Gastaut distingue l'épilepsie-absence typique, caractérisée par un trouble du contact isolé, et les absences atypiques, au cours desquelles d'autres symptômes peuvent apparaître. Les absences ont été officiellement reconnues comme un type de crise à part entière en 1981 par la ligue internationale contre l'épilepsie (ILAE 1981). Ces crises sans convulsion motrice, ont été appelées « petits accès » épileptiques ou « petit mal » par opposition aux « grandes » crises désignant les crises tonico-cloniques (Hirsch and Panayiotopoulos, 2005).

L'épilepsie-absence typique de l'enfant a été ensuite individualisée en tant que syndrome épileptique en 1989 (ILAE, 1989). La dernière classification internationale de 2014 dénombre 3 types de crises différentes dans l'épilepsie-absence: les absences typiques, les absences atypiques et les absences avec symptômes associés (myoclonies des paupières et myoclonies plus diffuses).

L'âge de début des crises d'absence est un élément essentiel du diagnostic. Il se situe en général entre 4 et 10 ans (Panayiotopoulos, 2005), plus rarement avant l'âge de 3 ans. Quand l'épilepsie-absence survient après 8-10 ans, on parle d'épilepsie-absence de l'adolescent et le pronostic est alors moins bon. L'épilepsie-absence survient le plus souvent chez des enfants sans antécédent personnel, sans difficulté scolaire préalable. Par contre, il existe fréquemment des antécédents familiaux d'épilepsie idiopathique ou de crise fébrile (Panayiotopoulos, 2005).

1-1 ASPECTS CLINIQUES : SYMPTOMES ICTAUX ET ENREGISTREMENT EEG

Dès les premières secondes de la décharge de pointe-ondes, on observe un arrêt de l'activité en cours qui persiste pendant toute la durée de la crise. Cet arrêt est associé à une rupture de contact et parfois à des clonies des paupières relativement discrètes. La rupture du contact peut dans certains cas être partielle, ou une activité automatique motrice peut persister, sans signification diagnostique ou pronostique (Hirsch and Panayiotopoulos, 2005). La durée des crises est courte, de 4 à 20 secondes, mais elles peuvent se répéter 10 à 100 fois par jour. Leur grande fréquence pluriquotidienne est un argument en faveur du diagnostic d'épilepsie-absence typique de l'enfant. Plusieurs facteurs favorisant les crises ont été décrits, au premier rang desquels, l'hyperpnée. L'hyperpnée déclenche très facilement des absences et est utilisée systématiquement lors de l'EEG au moment du diagnostic, pour enregistrer des crises et préciser le diagnostic, puis pendant le suivi de l'enfant pour s'assurer de l'efficacité complète du traitement. Les crises surviennent plus souvent lorsque l'attention se relâche, typiquement en période de fatigue (fin de journée, réveil). D'autres facteurs déclenchant moins systématiques comme les émotions négatives (chagrin, peur, colère), ou des facteurs métaboliques (hypoglycémie) ont également été rapportés (Suls et coll., 2009).

La définition actuelle de l'épilepsie-absence inclut des données EEG, pour distinguer les absences typiques, concomitantes de DPO régulières à 3 Hz et les absences atypiques, plus lentes (2,5 Hz), irrégulières, parfois asymétriques, sur une activité de fond mal organisée. Dans l'épilepsie-absence typique de l'enfant, l'EEG intercritique est en effet normal. Il peut cependant exister des bouffées de pointes-ondes généralisées, trop courtes pour être associées à des manifestations cliniques visibles (Q. Li et coll., 2009).

1-2 FOCALITE DES ABSENCES

Plusieurs travaux chez l'homme et chez l'animal ont montré que les pointes-ondes sont générées par la boucle thalamo-corticale, et l'intégrité de ce réseau est nécessaire pour l'apparition d'une crise complète, bilatérale et synchrone (Danobar et coll., 1998; Huguenard and McCormick, 2007; Jasper and Droogleever-Fortuyn, 1947; Meeren et coll., 2005; Pinault and O'Brien, 2005). Cependant, la contribution relative et les interactions des différents éléments de ce circuit restent partiellement incomprises. Historiquement, deux théories sur l'origine des pointe-ondes se sont opposées: la théorie cortico-réticulaire (Gloor, 1968) et

celle du focus cortical (F. A. Gibbs and E. L. Gibbs, 1952; Meeren et coll., 2002; Polack et coll., 2007).

La théorie cortico-réticulaire (issue d'études dans un modèle l'épilepsie absence induite par injection de pénicilline chez le chat), (Gloor, 1968) postule qu'un cortex généralement hyperexcitable transforme des fuseaux du sommeil normal (« spindles », générés en intra-thalamique par le noyaux réticulaire) en pointes-ondes pathologiques. En effet, les noyaux relais du thalamus comprennent des neurones "*pace-maker*" ou générateurs de rythme que le cortex hyperexcitable transformerait en oscillations pathologiques (Huguenard, 1998).

Des données récentes, obtenues à la fois dans les modèles génétiques d'absence et chez des patients, convergent vers une ancienne hypothèse suggérant que les DPO associées aux crises d'absence sont initialement déclenchées dans un foyer cortical, frontal ou pariétal selon les espèces, puis rapidement généralisées à l'ensemble des boucles cortico-thalamo-corticales. Cette théorie corticale de l'origine des pointe-ondes avait été proposée à la suite de données cliniques montrant que chez des patients souffrant d'épilepsie-absence, l'injection de PTZ dans la carotide (qui alimente le cortex) induit des pointes-ondes généralisées, alors que des injections identiques dans l'artère vertébrale, qui alimente le diencéphale et le tronc cérébral, n'induisent pas de réponse (BENNETT, 1953). Chez des patients atteints d'épilepsie-absence l'EEG à haute résolution a montré une implication du lobe frontal dans la genèse des DPO (BOSNYAKOVA et coll., 2007). De même la magnétoencéphalographie a mis en évidence une origine frontale centrale des décharges (Le Van Quyen and Bragin, 2007) et une association entre les cortex frontaux droit et gauche au moment de l'apparition des DPO, suivies d'une activation frontale latérale et pariétale mésiale au cours de la décharge (Westmijse et coll., 2009). Ces données sont corroborées par l'analyse de l'état pré-critique, par spectroscopie proche de l'infrarouge qui met en évidence une augmentation de l'oxygénation frontale dans les 10 secondes qui précèdent les crises (Labarbe et coll., 2008). De nombreuses études en IRM fonctionnelle indiquent, soit une diminution du métabolisme en frontal et en temporopariétal concomitante aux décharges (Hamandi et coll., 2008; Laufs et coll., 2006; Szaflarski et coll., 2010), soit une activation frontale orbitale/mésiale et pariétale, débutant plusieurs secondes avant le début des crises (BAI et coll., 2010; MOELLER et coll., 2010). Toutes ces données vont dans le sens d'une activation frontale précédant l'activation thalamique, avec une topographie spécifique pour chaque patient.

Des pointes-ondes sont enregistrées dans différents modèles génétiques chez la souris et le rat (voir ci-dessous). Ces modèles ont permis d'identifier les structures impliquées dans la génération et le maintien des pointes-ondes (le cortex et le thalamus ventro-basal). En particulier, le groupe de van Luijckelaar ainsi que notre équipe ont démontré que la zone d'initiation des crises se situait dans le cortex somatosensoriel, chez les WAG/Rij et les GAERS (David et coll., 2008a; Meeren et coll., 2002; Polack et coll., 2007). Plus précisément, chez le GAERS, le foyer est localisé dans le cortex somatosensoriel primaire et présente des décharges épileptiques qui précèdent systématiquement celles du cortex moteur et des noyaux thalamiques correspondants (David et coll., 2008a; Depaulis et coll., 2015; Polack et coll., 2007; 2009; Pouyatos et coll., 2013). L'inactivation pharmacologique ou par irradiation synchrotron de ce foyer cortical réduit la survenue des DPO généralisées (corticales et thalamiques), alors que le blocage d'autres aires corticales ou des noyaux thalamo-corticaux ne modifie pas la capacité endogène du foyer cortical à générer des décharges épileptiques (Chipaux et coll., 2011).

Les données cliniques et fondamentales les plus récentes ont permis de réexaminer les données de la littérature et de mettre en évidence que les circuits et plus précisément les neurones corticaux des couches profondes du cortex somatosensoriel constituent le point de départ de la crise, alors que les neurones thalamo-corticaux permettent le maintien des processus rythmiques de la boucle thalamo-corticale.

1-3 DONNEES PHARMACOLOGIQUES ET APPROCHES THERAPEUTIQUES DE L'EA

Le choix d'une thérapeutique en épilepsie dépend d'une évaluation diagnostique précise du type de crises ou du syndrome épileptique en cause. En effet, chaque forme d'épilepsie répond de façon différente au traitement pharmacologique (Panayiotopoulos, 2005). Dans les épilepsie-absences certains antiépileptiques sont efficaces (Valproate, triméthadione, lévétiracétam, lamotrigine, éthosuximide) alors que d'autres aggravent ces crises (carbamazépine, phénytoïne, vigabatrin, tiagabine, gabapentin, prégabaline).

Les antiépileptiques ciblent majoritairement les neurotransmissions GABAergiques et les canaux sodiques et calcium (Figure 6). Seul le lévétiracétam (Gillard et coll., 2006) présente un mécanisme d'action tout à fait original en agissant sur les protéines SV2 impliquées dans l'exocytose (Figure 6).

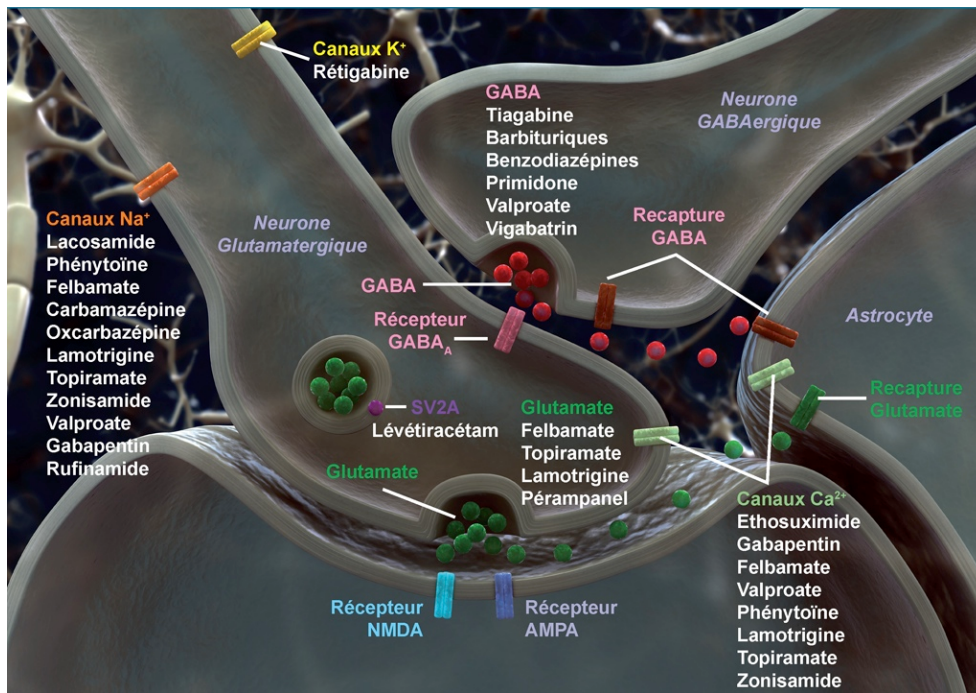


Figure 6 : Schémas des principaux mécanismes d'action des médicaments antiépileptiques.

Selon Depaulis et Vercueil, 2014 (Focus sur l'épilepsie: mécanismes d'action des antiépileptiques.

Laboratoires GlaxoSmithKline. 2014).

Le valproate de sodium (Dépakine) est un antiépileptique à large spectre, prescrit pour traiter les crises d'épilepsie généralisée d'emblée, ou secondairement généralisée. Sa bonne tolérance fait de lui un des principaux médicaments de première intention dans le cas de l'épilepsie absence. Même si plusieurs mécanismes d'action ont été décrits, c'est principalement un inhibiteur d'une enzyme responsable de la dégradation du GABA, la semi-aldéhyde-succinyl-déshydrogénase. De plus, il semble activer l'enzyme de synthèse du GABA, la L-Glutamic-acid-decarboxylase, et module des canaux calciques à bas seuil (Aires et coll., 2008).

L'éthosuximide (Zarontin) est un antiépileptique prescrit uniquement dans les épilepsies de type absence (Brodie and Dichter, 1997). Son effet antiépileptique s'exerce par la réduction des courants calciques de type T qui existent dans les neurones relais thalamo-corticaux, bloquant ainsi leur décharge synchrone (Coulter et coll., 1989) ainsi qu'en réduisant légèrement les courants sodiques persistants (Niespodziany et coll., 2004).

La lamotrigine est un antiépileptique dit de seconde génération (Perucca et coll., 2007). Son mécanisme d'action principal implique le blocage des canaux Na⁺ voltage-dépendants (Cheung et coll., 1992). Ce mécanisme original en fait une molécule de choix lorsque les autres anti-absences, ne sont pas efficaces.

Si ces molécules permettent de stabiliser les crises dans plus de 70% des cas, améliorant ainsi la qualité de vie des patients épileptiques, ces traitements restent malgré tout symptomatiques et forcent les patients à une prise chronique. Une compréhension des mécanismes entraînant le développement de l'épilepsie est donc indispensable à l'amélioration de la prise en charge de cette maladie. Pour cela les études dans des modèles qu'ils soient cellulaires ou mathématiques ne peuvent se passer d'études chez l'animal qui permettent d'appréhender l'épilepsie au niveau du cerveau entier et dans sa dimension de dynamique développementale. Mon travail s'est ainsi appuyé sur un modèle génétique d'épilepsie-absence chez le rat : le GAERS.

2) MODELISATION ANIMALE DE L'EPILEPSIE-ABSENCE : POURQUOI LE RAT GAERS ?

2-1 LES MODELES D'EPILEPSIE-ABSENCE

Les mécanismes physiopathologiques des épilepsies ne peuvent être étudiés de façon approfondie chez l'homme pour des raisons à la fois techniques, économiques et éthiques. La modélisation animale a donc pour but de reproduire les caractéristiques physiopathologiques principales des maladies afin de comprendre les mécanismes et de tester l'efficacité de nouveaux traitements, constituant ainsi une approche pertinente de l'étude des pathologies. D'une façon générale, le modèle animal se définit comme une préparation simplifiée, chez l'animal dans son intégrité, pour permettre l'étude, dans des conditions de laboratoire, de la physiopathologie et du traitement d'une maladie (DEPAULIS et coll., 2016). Le choix d'un modèle répond à plusieurs critères dont l'importance varie en fonction des questions posées: (1) l'isomorphisme se traduit par la similitude des symptômes entre le modèle et la traduction clinique de la pathologie; (2) la prédictivité est caractérisée par la similitude des profils pharmacologiques entre le modèle et la pathologie; enfin (3) l'homologie est définie par la similitude étiologique des mécanismes physiopathologiques (Dantzer, 1986).

Une enquête réalisée par des membres de l'équipe auprès de 85 neurologues européens montre que les critères recherchés pour le choix d'un modèle d'épilepsie-absence sont en premier lieu : (1) un même aspect EEG des crises, (2) une réactivité pharmacologique similaire et (3) l'implication de structures sous-corticales proches de la pathologie humaine (Guillemain et coll., 2012).

Dans le cas de l'épilepsie-absence on peut distinguer deux grands types de modèle: ceux qui utilisent des animaux sains chez lesquels des crises sont induites par l'injection d'un composé (gamma-hydroxybutyrate, PTZ, bétacarboline, etc...), et ceux où des crises récurrentes et spontanées sont observées après transgénèse ou à la suite d'une mutation spontanée. L'intérêt des modèles génétiques est qu'ils présentent la possibilité d'étudier le développement de cette maladie. Il existe plusieurs modèles génétiques d'EA chez le rongeur (Tableau 5). Plusieurs lignées de souris présentent la survenue de DPO spontanées lors d'un enregistrement EEG et pour la plupart d'entre elle, il semble que ces activités soient la conséquence d'une mutation spontanée, en général d'un gène codant pour une sous-unité de canal calcique. Chez le rat, deux modèles d'épilepsie-absence ont été obtenus par sélection génétique: les WAG/Rij et les GAERS.

Espèce	Mutant	Symptômes	Mutation	Gènes
Souris	Tottering	Pointes-ondes et symptômes moteurs	Monogénique	Cacna1a
Souris	Lethargic	Pointes-ondes et symptômes moteurs	Monogénique	Cacnb4
Souris	Ducky	Pointes-ondes et symptômes moteurs	Monogénique	Cacna2d2
Souris	Stargazer	Pointes-ondes et symptômes moteurs	Monogénique	Cacng2
Souris	C3H/HeJ	Pointes-ondes et symptômes moteurs	Monogénique	Gria4
Souris	BS/Orl	Pointes- ondes	Polygénique	?
Souris	A/J	Pointes-ondes	?	?
Souris	C57BLKS/J	Pointes-ondes	?	?
Souris	CBA/J	Pointes-ondes	?	?
Souris	DBA/1J	Pointes-ondes	?	?
Souris	DBA/2J	Pointes-ondes	?	?
Souris	NOR/LtJ	Pointes-ondes	?	?
Souris	SM/J	Pointes-ondes	?	?
Souris	Snap25 (S187A/S187A)	Pointes-ondes et symptômes moteurs	Monogénique	Snap25
Rat	WAG/Rij	Pointes- ondes	Polygénique	?
Rat	GAERS	Pointes- ondes	Polygénique	Cacna1h, ...

Tableau 5 : Lignées génétiques d'épilepsie-absence chez le rongeur, d'après Noebbels 2005 et Frankel 2009.

2-2 LE RAT GAERS

Cette lignée a été obtenue à partir d'une colonie de rats Wistar dont 30% des individus présentaient spontanément des DPO bilatérales et synchrones sur l'EEG, associées à un arrêt du comportement (Danover et coll., 1998; Depaulis et coll., 2015; Marescaux et coll., 1984) (Figure 7). Depuis plus de 70 générations, tous les individus de la lignée GAERS expriment un seul type de crises stéréotypées non convulsives. La sélection des rats GAERS s'est accompagnée d'une sélection de rats ne présentant aucune DPO, les rats NEC (*non-epileptic control*) issus de la même colonie initiale de Wistar (Marescaux et coll., 1992). Ainsi les rats GAERS peuvent être comparés à deux lignées, les rats Wistar dont ils sont issus et les rats NEC. Les rats Wistar présentent une faible susceptibilité aux crises d'épilepsie-absence comme la plupart des lignées de rats. Chez eux, seules quelques crises sporadiques de quelques secondes peuvent apparaître.

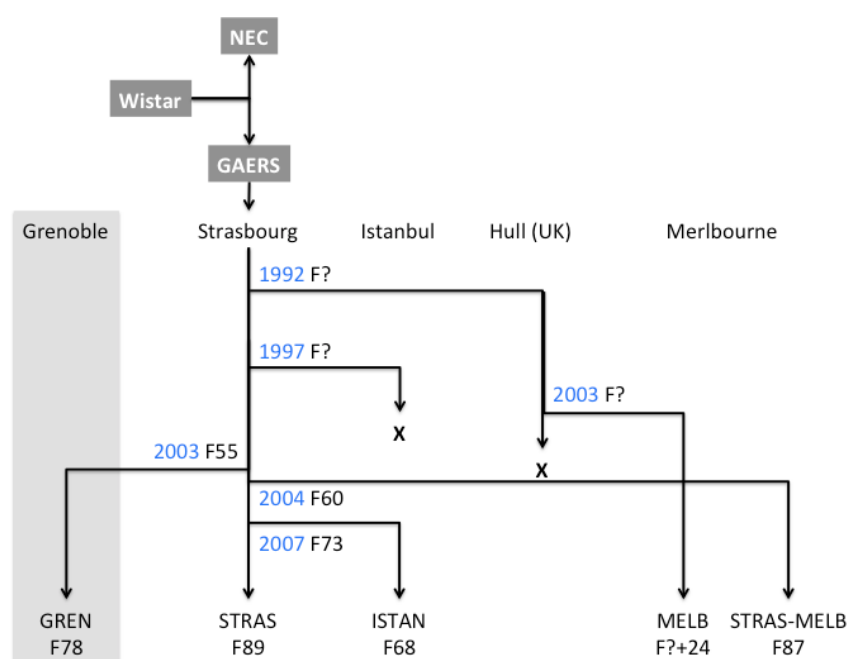


Figure 7 : Schémas représentant les origines du modèle GAERS, adapté de Powell 2014.

L'existence de la lignée NEC a permis la découverte d'une mutation fonctionnelle du gène *Cacna1h* codant pour les canaux calciques T à bas seuil d'activation $CaV_{3.2}$ chez le GAERS (Powell et coll., 2009). Cette étude met en évidence un gain de fonction de ce canal, due à une mutation semi-dominante mais qui expliquerait moins de 30% du phénotype épileptique. Il est possible que cette mutation ait une part plus importante dans l'expression de

l'épilepsie par les interactions de *Cacnalh* et d'autres variants du génome (Frankel, 2009). Cette variante de l'allèle induit un retour de l'état d'inactivation du canal plus rapide et un plus grand transfert de charge durant les bouffées de potentiels d'action à haute fréquence, ce qui va dans le sens d'un rôle du $\text{CaV}_{3.2}$ dans la décharge à haute fréquence du thalamus. Les gènes *Cacnalh* et *Cacnalg* sont les seuls gènes pour lesquels des variants de séquence ont été retrouvés chez l'homme, confirmant l'homologie entre le modèle GAERS et la pathologie humaine (Y. Chen et coll., 2003; Heron et coll., 2007; Liang et coll., 2007; Singh et coll., 2007; Vitko et coll., 2005).

2-2.1 CARACTERISTIQUES EEG, COMPORTEMENTALES ET PHARMACOLOGIQUES

Les GAERS présentent spontanément des crises épileptiques (Figure 8) associant un arrêt de l'activité en cours, des clonies des vibrisses et une hypotonie de la musculature de la nuque qui entraîne une chute lente de la tête. L'activité motrice interrompue reprend dès que la décharge cesse, sans phase postcritique (Depaulis et coll., 2015). Pendant les crises, les GAERS ne réagissent pas à des stimuli d'intensité standard. En revanche, une stimulation sonore intense peut interrompre les décharges comme chez l'humain (Vergnes et coll., 2001).

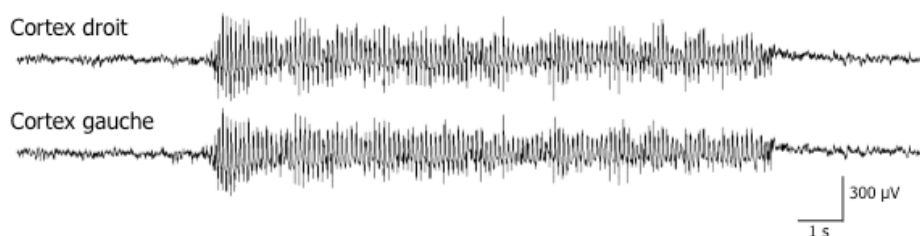


Figure 8 : Enregistrement électroencéphalographique (EEG) chez le rat GAERS, les électrodes corticales enregistrent des crises présentant une fréquence moyenne de 7Hz. Les crises durent en moyenne de 20 à 30 secondes et se produisent une fois par minutes lorsque l'animal est dans un état de veille calme.

Les facteurs favorisant l'apparition des crises sont identiques aux facteurs retrouvés chez l'homme : les crises sont plus fréquentes au cours de l'état de veille calme et moins nombreuses lors des phases d'éveil actif, de sommeil lent et de sommeil paradoxal (Danover et coll., 1998).

Certains antiépileptiques sont efficaces sur les absences du GAERS (valproate, éthosuccimide, triméthadone, lévétiracétam, lamotrigine) alors que d'autres sont sans effet ou même aggravants (carbamazépine, phénytoïne, vigabatrin, tiagabine, gabapentin, prégabalin) (Depaulis et coll., 2015; Micheletti et coll., 1985). Le GAERS, comme le WAG/Rij est sans doute l'un des modèles d'épilepsie où la prédictivité est la plus grande.

Le modèle GAERS se prête particulièrement bien aux études électrophysiologiques *in vivo* que ce soit chez l'animal éveillé ou immobilisé par curare et neuroleptanalgésié (David et coll., 2008a; Depaulis et coll., 2015; Deransart et coll., 2003; Paz et coll., 2007b; Polack et coll., 2007). En particulier, certaines études montrent que les neurones de la SNr et du NST diminuent leur activité en fin de crises, en accord avec l'hypothèse selon laquelle la SNr est impliquée dans la suppression des crises (Deransart et coll., 2003; Paz et coll., 2007b). Le décalage temporel observé entre la survenue et la fin des DPO dans la SNr, par rapport aux DPO corticales, suggère que cette structure soit plus impliquée dans la propagation et la modulation des crises que dans leur initiation (David et coll., 2008b; Deransart et coll., 2003; Polack et coll., 2007).

2-2.2 EPILEPTOGENESE DU GAERS

Comme chez l'homme, les DPO n'apparaissent pas immédiatement après la naissance chez le GAERS. Les données initiales sur l'ontogenèse des crises suggéraient que celles-ci n'apparaissent qu'à partir de 30 jours post-natal (P30) chez environ 30% des animaux et qu'à partir de P40, ces crises présentaient un aspect "mature" sur l'EEG (profil du graphoélément pointe-onde clairement distinguable). Le nombre d'animaux présentant des crises augmente alors graduellement avec l'âge pour atteindre 100% des animaux à l'âge de 3 mois (Danober et coll., 1998). Au cours de notre travail, nous avons observé que le grapho-élément "pointe-onde" apparaissait dès P25 chez tous les GAERS. Une étude menée par Guillaume Jarre dans l'équipe a en effet mis en évidence une apparition progressive des activités épileptiformes au niveau du cortex somatosensoriel à partir de P15, essentiellement oscillatoire au début puis présentant un pourcentage de pointe-ondes de plus en plus important (Jarre *et coll.*, soumis à publication). Contrairement à la pathologie humaine où les crises s'arrêtent généralement spontanément à l'adolescence, les DPO du GAERS restent présentes jusqu'à la mort de l'animal.

Ainsi, en plus de présenter une grande prédictivité pour les médicaments anti-absence, ainsi qu'un fort isomorphisme, l'ensemble des observations sur le GAERS en font un modèle robuste de l'épilepsie-absence (Depaulis et coll., 2015). Il permet d'effectuer de nombreux types d'études (*in vivo*, *ex vivo*...) et d'explorer la mise en place et le maintien de cette pathologie. Il permet aussi d'en décrypter les circuits générateurs ainsi que les mécanismes de contrôle des crises, mais aussi, plus récemment, les processus maturationnels qui participent au développement de l'épilepsie absence. Il est donc particulièrement adapté pour étudier l'influence du système dopaminergique au cours de la mise en place de l'épilepsie.

III. DOPAMINE ET EPILEPSIE

1) LIEN ENTRE DOPAMINE ET EPILEPSIE DANS LES MODELES ANIMAUX

1-1 DANS LES MODELES DE CRISES INDUITES

La plupart des données sur les liens entre DA et épilepsie (M. S. Starr, 1996) concernent essentiellement des données obtenues à partir de modèles de crises induites par différents agents convulsivants (pilocarpine, kaïnate) ou par stimulations électriques, mais pas d'épilepsie chronique. Il s'agit de données récoltées à partir de modèles de crises concernant des structures telles que l'amygdale ou l'hippocampe en tant que structure de genèse des crises. La pharmacologie dopaminergique dans ces modèles est donc très différente de celle que l'on retrouve dans les modèles d'épilepsie-absence. Ces données apportent néanmoins une vision intéressante dans les effets de la neurotransmission DA sur les crises.

Pour étudier l'implication du système dopaminergique dans les crises, plusieurs équipes ont décidé de supprimer cette neurotransmission, soit en utilisant des lésions chimiques, soit des manipulations génétiques visant à supprimer la synthèse de dopamine et en regardant par la suite l'effet sur les crises d'épilepsie.

1-1.1 LÉSIONS CHIMIQUES DU SYSTÈME DOPAMINERGIQUE ET ÉPILEPSIE

Les premières études de déplétion des voies dopaminergiques avec de la réserpine ou de la 6-OHDA présentent des résultats difficilement interprétables car la neurotransmission noradrénergique dans ces études était également fortement réduite. Quand la neurotransmission noradrénergique est protégée, les lésions des voies dopaminergiques ont peu d'effets sur la susceptibilité aux crises. **L'utilisation de neurotoxines plus spécifiques n'ont malheureusement pas permis de mettre en évidence un effet clair du système dopaminergique** (Bonuccelli et coll., 1994; Fariello et coll., 1987; Van Ness et coll., 1989).

1-1.2 ACTIVATION DES NEURONES DOPAMINERGIQUES EN RÉPONSE À UNE CRISE D'ÉPILEPSIE

Les crises induites par différents agents convulsivants (qu'ils provoquent une crise aiguë ou un *status epilepticus*) n'induisent pas d'activation immédiate des proto-oncogènes c-fos au sein des neurones dopaminergiques (Szot et coll., 1997; L. E. White and Price, 1993). Cette absence de réponse suggère que ces neurones ne seraient pas mis en jeu lors d'une crise. À l'inverse, une augmentation du marquage par 2-Deoxy-D-glucose (2-DG) est observée dans la SN/VTA après une induction de crise (Ben-Ari et coll., 1981; Gale, 1988; Handforth and Ackermann, 1995; L. E. White and Price, 1993). Une explication possible est que le 2-DG, reflète une activité métabolique générale, qu'elle soit inhibitrice ou excitatrice, alors que le c-fos ne révèle que les activités excitatrices. La SNc/VTA reçoit de fortes innervations GABAergiques et l'action du GABA sur les récepteurs post-synaptiques pourrait entraîner l'augmentation du 2-DG dans la SNc/VTA. Même si les neurones dopaminergiques ne montrent pas d'augmentation d'activité durant une crise, des études montrent que leur activité est modifiée. En particulier, (Bonhaus et coll., 1986) a montré une augmentation dans la fréquence de décharge des neurones dopaminergiques durant les crises de kindling. De même, les crises induites par une injection de PTZ entraînent une augmentation transitoire de la TH et de l'ARNm du DAT dans la SNpc/VT (Szot et coll., 1997). De plus le kindling diminue la densité des récepteurs D₂ dans le noyau accumbens (Csernansky et coll., 1988a; 1988b), avec une augmentation concomitante de l'ARNm des D₂ (Gelbard and Applegate, 1994).

Les crises d'épilepsies semblent donc activer le fonctionnement des neurones dopaminergiques.

1-1.3 IMPLICATION DES RECEPTEURS DOPAMINERGIQUES DANS LES CRISES D'EPILEPSIE

En plus des données montrant l'activation des neurones dopaminergiques lors des crises d'épilepsies, de nombreuses études ont montré que l'activation pharmacologique du système dopaminergique modifie la susceptibilité aux crises d'épilepsie. L'apomorphine est un agoniste non sélectif des récepteurs D_1/D_2 et présente un effet anticonvulsivant (Loscher and Czuczwar, 1986; Maynert et coll., 1975; Ogren and Pakh, 1993; Stull et coll., 1973; L. Turski et coll., 1988), même si cette réponse varie selon le modèle utilisé. Les antagonistes D_1/D_2 comme l'halopéridol, la chlorpromazine, ou le thioridazine, produisent un profond effet proconvulsivant dans de nombreuses espèces avec une variété d'agents convulsivants (Burke et coll., 1990; Kilian and Frey, 1973; Kleinrok et coll., 1978; Ogren and Pakh, 1993; Sato, 1980; L. Turski et coll., 1988).

Ces agonistes et antagonistes mixtes agissant sur plusieurs sous-types de récepteurs, afin de déterminer plus précisément lesquels étaient impliqués dans les effets sur les crises, des agents plus spécifiques de chaque sous-type de récepteurs dopaminergiques ont été utilisés.

Il existe de nombreux agonistes spécifiques des récepteurs D_1 comme le SKF 38393 , le plus utilisé, qui entraîne soit un effet proconvulsivant soit aucune réponse dans différents modèles d'épilepsie (Loscher and Czuczwar, 1986). Les autres agonistes D_1 ont été testés sur le modèle de convulsions induites par la pilocarpine et montrent un fort effet proconvulsivant (Burke et coll., 1990; M. S. Starr and B. S. Starr, 1993). L'effet proconvulsivant des agonistes D_1 est sélectivement bloqué par l'antagonistes D_1 SCH 23390 (Al-Tajir et coll., 1990a; 1990b; Barone et coll., 1990; Burke et coll., 1990) . L'administration d'antagonistes D_1 seul a un effet anticonvulsivant contre les crises induites par la pilocarpine (Al-Tajir et coll., 1990b; Barone et coll., 1990; L. Turski et coll., 1988).

L'administration localisée d'agonistes D_1 comme le SKF 38393 ou le CY 208-243 dans le striatum, le noyau accumbens, ou l'hippocampe n'ont pas d'effet sur les crises induites par la pilocarpine (Al-Tajir and M. S. Starr, 1990; Alam and M. S. Starr, 1993; 1992; L. Turski et coll., 1988) , mais l'administration de ces agents dans la SNr induit un effet proconvulsivant important (Al-Tajir et coll., 1990b; Barone et coll., 1992; W. A. Turski et coll., 1990). L'administration de l'antagoniste SCH 23390 dans le striatum, l'hippocampe, le noyau accumbens, ou la SN produit à l'inverse un effet anticonvulsivant (Al-Tajir et coll., 1990b; Al-Tajir and M. S. Starr, 1990; Alam and M. S. Starr, 1992; Barone et coll., 1992).

Au contraire du récepteur D_1 , les agonistes du récepteur D_2 comme le lisuride et le quinpirole possèdent un fort effet anticonvulsivant qui est bloqué par les antagonistes D_2 (Al-Tajir et coll., 1990a; Al-Tajir and M. S. Starr, 1991; Burke et coll., 1990; Farjo and McQUEEN, 1979; Loscher and Czuczwar, 1986). Il est important de noter ici que le quinpirole est utilisé dans ces études à des doses importantes induisant un effet plutôt D_2 que D_3 (Effet en courbe en U inversé, Figure 3). D'autre part les antagonistes D_2 n'ont pas d'effets par eux-mêmes sur la susceptibilité aux crises (Barone et coll., 1992; Burke et coll., 1990; Loscher and Czuczwar, 1986; Ogren and Pakh, 1993; Satoh et coll., 1987). Lors d'injections locales de quinpirole dans la SN aucun effet n'est observé sur l'induction de crises par la pilocarpine (Al-Tajir and M. S. Starr, 1991; W. A. Turski et coll., 1990), mais lors de son injection dans le striatum antérieur, le NAcc ou les tubercules olfactifs, il présente un effet anticonvulsivant (Al-Tajir and M. S. Starr, 1991; Alam and M. S. Starr, 1993; L. Turski et coll., 1988).

L'étude des modèles de crises induites a permis de mettre en évidence que le système DA, s'il n'est pas indispensable à la survenue des crises d'épilepsie, est malgré tout impliqué dans leur contrôle. Son activation pharmacologique modifie la susceptibilité des crises et en retour les crises d'épilepsie vont influencer le fonctionnement des neurones dopaminergiques. Les données communes à tous les modèles étudiés font ressortir un fonctionnement général du système dopaminergique impliquant un effet pro-convulsivant des récepteurs D_1 et un effet anticonvulsivant des récepteurs D_2 .

1-2 DANS LES MODELES D'EPILEPSIE ABSENCE GENETIQUE CHEZ LE RAT

1-2.1 CHEZ LES WAG/RIJ

Parmi les modèles d'épilepsie génétique, le rat WAG/Rij a été particulièrement étudié. Il présente des décharges de pointe-ondes spontanée à partir de 3 mois qui se stabilisent dans leur durée et leur fréquence aux alentours de 5 mois (Coenen and van Luijtelaar, 2003). Chez ces animaux, une diminution du taux de dopamine et de ses métabolites a été observée au niveau des systèmes méso-cortico-limbique et nigro-strié à 6 mois (Van Luijtelaar and Drinkenburg, 2002). Cette diminution est associée à l'expression de symptômes dépressifs.

En particulier, un déficit en dopamine est observé dans le NAcc, accompagné d'une diminution d'expression des RD_1 et d'une surexpression des RD_2 (Birioukova et coll., 2005). Les WAG-Rij présentent également une élévation de l'activation du cFos dans des structures dopaminergiques comme le NAcc, le striatum ou le cortex frontal (Sarkisova et coll., 2003). **Dans ce modèle l'utilisation du fluanisone, un antipsychotique, en injection systémique augmente le nombre de crises (Inoue et coll., 1998). Et l'injection d'antagonistes dopaminergiques en systémique ou dans la queue du noyau caudé entraîne une augmentation de la fréquence des crises (Sarkisova et coll., 2008).**

1-2.2 CHEZ LES GAERS

Le concept d'un rôle des GB dans le contrôle des crises d'épilepsie fut introduit dans les années 80 par Gale et Iadarola qui furent les premiers à corréler une augmentation de GABA dans la SNr avec des effets antiépileptiques (Gale and Iadarola, 1980). Ce concept de "contrôle nigral" a été repris et développé par Depaulis et Deransart par la suite, en particulier dans le cas de l'épilepsie absence (Depaulis et coll., 2012; Deransart and DEPAULIS, 2002). La SNr constitue la principale sortie du système des ganglions de la base et le lien anatomo-fonctionnel qui lie ces structures au circuit thalamocortical (Buzsaki et coll., 1990), a permis de soulever l'hypothèse que l'ensemble des structures des GB contribuerait à la modulation des activités oscillatoires pathologiques observées dans l'épilepsie-absences (Deransart and DEPAULIS, 2002). Par la suite, de nombreux travaux ont montré que, dans différents modèles de crises généralisées convulsives (Iadarola and Gale, 1982), non convulsives (Depaulis et coll., 1990; Deransart et coll., 1998a) ou focales (Deransart and Depaulis, 2004), l'injection bilatérale dans la SNr d'un agoniste GABAergique ou d'un antagoniste NMDA avait des effets antiépileptiques (Depaulis et coll., 1994; Deransart et coll., 1996; Paz et coll., 2007a). Chez les GAERS, des enregistrements de l'activité des neurones de la SNr chez le rat libre de se mouvoir indiquent qu'au décours de chaque DPO l'activité de ces neurones est fortement augmentée. Cette activité se présente sous la forme de décharges en bouffées de potentiels d'action contemporaines de chaque pointe-onde au niveau cortical. A l'inverse, peu avant l'arrêt des crises, cette activité décroît et se désynchronise, suggérant l'existence au sein des neurones de la SNr de mécanismes endogènes qui participent activement à l'arrêt des crises (Deransart et coll., 2003).

L'ensemble des résultats obtenus par des études électrophysiologiques ou par injections intracérébrales suggère que l'inhibition directe ou indirecte de la SNr pourrait induire une suppression de différents types de crises d'épilepsie par le biais de certaines de ses projections, notamment vers les couches intermédiaires et profondes du colliculus supérieur (Depaulis et coll., 1990; Garant and Gale, 1987; Nail-Boucherie et coll., 2002; Shehab et coll., 1995) ou vers le thalamus (Paz et coll., 2007a).

Plus précisément, dans différents modèles dont le GAERS, des études pharmacologiques par injections locales dans le striatum d'agonistes NMDA (Cavalheiro and L. Turski, 1986; L. Turski et coll., 1988), d'agonistes dopaminergiques (Deransart et coll., 2000) ou d'antagonistes GABAergiques (L. Turski et coll., 1988; 1989) ont montré que la voie striato-nigrale, ou voie directe, pouvait intervenir dans la modulation des crises du fait d'une inhibition de la SNr.

Les afférences glutamatergiques de la SNr en provenance du NST semblent aussi jouer un rôle critique dans le contrôle des crises par la SNr (Slaght et coll., 2002). En effet, des injections bilatérales d'agonistes GABAergiques dans le NST suppriment les crises dans différents modèles d'épilepsies généralisées convulsives ou non convulsives (Deransart et coll., 1996; 1998b; Dybdal and Gale, 2000; Veliskova et coll., 1996). Les effets antiépileptiques peuvent donc être corrélés à une intervention de la voie directe avec une augmentation des niveaux de GABA provenant du striatum, mais aussi à une participation de la voie indirecte et/ou supra-directe entraînant une diminution des niveaux de glutamate provenant du NST (Deransart and DEPAULIS, 2002).

Chez le GAERS, l'injection systémique d'antagonistes ou d'agonistes D_1/D_2 engendre respectivement une augmentation et une diminution de la fréquence des DPO (Warter et coll., 1988). En 2000, Deransart et ses collaborateurs ont montré que des injections d'agonistes et d'antagonistes mixtes D_1/D_2 ou spécifiques des D_1 ou des D_2 au sein du cœur du NAcc provoquent respectivement une réduction et une aggravation des DPO (Deransart et coll., 2000). Quand ces mêmes substances sont injectées dans la partie dorsale du striatum, les crises sont également supprimées, mais cet effet est associé à l'induction de modifications du comportement moteur et de l'EEG, suggérant que les effets modulateurs de ces drogues sur les absences sont spécifiques du NAcc.

Ces données venaient ainsi renforcer l'hypothèse d'une prééminence de la partie ventrale des structures des GGB dans le contrôle des crises (Deransart et coll., 2000; 1999). Par ailleurs, compte tenu de la distribution différentielle des récepteurs D1 et D2 sur les neurones striataux-nigraux et striato-pallidaux, respectivement, les effets synergiques supprimeurs de l'injection au sein du NAcc de faibles doses d'un agoniste D1 et d'un agonistes D2 suggéraient que les voies directe et indirecte pouvaient ainsi être mises simultanément à contribution pour induire une inhibition de la SNpr et activer ainsi le "contrôle nigral" des crises.

A partir de ces données, l'hypothèse d'un dysfonctionnement des acteurs de la neurotransmission DA dans des modèles chroniques d'épilepsie a été formulée en cherchant à identifier par hybridation *in situ* d'éventuelles modification des différents transcrits dopaminergiques (récepteurs D1 à D5, TH, DAT, VMAT2). Ainsi, les GAERS adultes présentent une surexpression de près de 20% des transcrits RD₃ au niveau du cœur du NAcc, qui n'est pas observée pour les autres transcrits. Cette surexpression transcriptionnelle n'étant pas retrouvée chez des rats de 21 jours, il fut suggéré qu'elle corresponde à une réponse adaptative à la répétition des crises. A l'inverse, l'expression des autres transcrits des différents acteurs de la neurotransmission DA (tyrosine hydroxylase, transporteur de la DA ou DAT et autres sous-types de récepteurs DA) n'est pas modifiée dans ce modèle, suggérant ainsi une dérégulation spécifique des RD₃ (Deransart et coll., 2001b).

Une analyse autoradiographique a permis de vérifier que la surexpression des ARNm codant pour les RD₃ décrite précédemment dans notre modèle s'accompagne de modifications au niveau protéique. Une surexpression des RD₃ au sein du NAcc chez des animaux adultes a ainsi été confirmée. Au niveau comportemental, l'injection de différents agonistes des RD₃ augmentent le nombre des DPO chez les rats GAERS adultes alors que les antagonistes sont sans effet (Deransart et coll., 1998b). Comme expliqué précédemment, le bâillement peut être utilisé chez le rongeur comme expression comportementale pour dissocier l'activation sélective des RD₃, par rapport à celle des RD₂, suite à l'administration d'agonistes non sélectifs comme le quinpirole (Collins et coll., 2007). Chez les GAERS, la surexpression des RD₃ observée se traduit d'un point de vue fonctionnel par une augmentation des bâillements induits par le quinpirole (Collins and Eguibar, 2010).

Les modifications d'expression et de fonction des RD₃ ont permis de suggérer que les GAERS pourraient aboutir *in fine* à un phénotype "hypodopaminergique". Colin Deransart a

ainsi réalisé une première expérience de dosage tissulaire de la DA par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Les taux de monoamines mesurés en post-mortem, que ce soit la DA ou ces métabolites (DOPAC et HVA), ne sont pas modifiés chez les GAERS. Par la suite, pour affiner cette analyse neurochimique et accéder à une information dynamique sur la libération de DA, une expérience de microdialyse intracérébrale au sein du NAcc a été effectuée (Voir manuscrit page 63 Figure 5). En effet, les modifications d'activité et d'expression du RD₃, associées à une augmentation de l'activité du DAT pourraient diminuer le niveau basal de DA extracellulaire et augmenter la libération évoquée de DA. Les résultats montrent que les animaux épileptiques ont des taux de base de DA extracellulaires plus faibles que des rats contrôles, et d'autre part que les quantités de DA libérées après stimulation du système DA sont à l'inverse exacerbées chez le rat GAERS. En conclusion les rats GAERS semblent avoir un tonus dopaminergique plus faible associé à une hyperréactivité du système dopaminergique lors de stimulations (voir également manuscrit page 63 Figure 5).

L'ensemble des données qui ont été récoltées dans les modèles animaux et plus particulièrement chez les rats GAERS a conduit à généraliser l'hypothèse dopaminergique du contrôle des crises chez les patients épileptiques qui a été ensuite examinée par plusieurs autres auteurs.

2) DONNEES CLINIQUES EN FAVEUR DE L'IMPLICATION DE LA NEUROTRANSMISSION DOPAMINERGIQUE DANS LE CONTROLE DES CRISES D'EPILEPSIE

Le renouveau récent de l'intérêt pour la dopamine dans les études cliniques doit beaucoup aux résultats obtenus chez l'animal mais aussi au développement des techniques de l'imagerie médicale. Cependant, les effets des drogues DA sur les crises dans les épilepsies généralisées idiopathiques ont fait l'objet de peu d'études cliniques. Des études anciennes avaient montré que les amphétamines et les agonistes dopaminergiques pouvaient avoir des effets antiépileptiques chez certains patients, en accord avec l'observation courante d'une aggravation des crises en réponse à l'administration de neuroleptiques (Mervaala et coll., 1990; Quesney et coll., 1981; 1980). Par ailleurs diverses études on rapporté des effets DA de plusieurs traitements antiépileptiques.

2-1 ETUDES PAR IMAGERIE CHEZ L'HOMME

Une approche par tomographie par émission de positons (TEP) a surtout été utilisée, utilisant des marqueurs de la transmission dopaminergique (Fluoro-Dopa, SCH23390, DAT). Des déficits de la neurotransmission DA ont été mis en évidence dans deux syndromes d'épilepsie généralisée idiopathiques caractérisés par des absences et associés à des décharges de pointe-ondes. Le syndrome épileptique du chromosome 20 en anneau est caractérisé par des pertes de contact de longue durée qui sont associées sur l'EEG à des pointe-ondes et ondes lentes rythmiques bilatérales (Canevini et coll., 1998) qui suggéraient une défaillance des mécanismes d'arrêt des crises. Chez ces patients, sur la base des travaux réalisés par notre équipe chez l'animal, une TEP Fluoro-Dopa a permis de montrer une diminution de la capture du traceur au niveau du NAcc et du putamen (Biraben et coll., 2004). Ces premières données suggéraient qu'un déficit DA diminuait la capacité du cerveau de contrôler les crises par le biais des GB et pouvait ainsi être à l'origine des crises de longue durée observées chez ces patients (Biraben et coll., 2004). Par la suite, une diminution de la capture de Fluoro-Dopa a aussi été constatée dans des épilepsies résistantes quelles soient focales ou généralisées (Bouilleret et coll., 2008; 2005).

De même, chez les patients atteints d'une épilepsie idiopathique généralisée, une TEP utilisant un ligand pour le DAT a montré une diminution de la liaison du traceur au niveau mésencéphalique et de la SN, avec des valeurs normales au niveau du NAcc et du putamen (Ciumas et coll., 2008b; Odano et coll., 2012). Le taux de DAT présent chez des patients atteint d'épilepsie à crises tonico-cloniques est diminué (Ciumas et coll., 2010). Le DAT est un marqueur pré-synaptique localisé au niveau des membranes somatodendritiques et des terminaisons axonales des neurones dopaminergiques (Steriade, 2006). De plus, les taux de dopamine extracellulaire dans la SN sont régulés par les récepteurs DA pré-synaptiques et la diminution de la liaison au niveau mésencéphalique pourrait impliquer un déficit de recapture de la dopamine et une augmentation de l'auto-inhibition dopaminergique au niveau des cibles striatales et du cortex frontal (Skirboll et coll., 1979).

Des altérations dans l'expression des récepteurs DA ont été également mises en évidence dans différents syndromes épileptiques. Dans l'épilepsie nocturne autosomale dominante du lobe frontal une diminution des récepteurs D₁ est constatée (Fedi 2008). En 2010, Landvogt et ses collaborateurs ont utilisé du ¹⁸F-Fallypride (un ligand D₂/D₃) pour mesurer par TEP la disponibilité de ces récepteurs chez des patients atteints d'épilepsie myoclonique juvénile (Landvogt et coll., 2010). Cette étude montre une diminution des récepteurs D₂/D₃ au niveau du putamen. Chez des patients atteints d'épilepsie du lobe

temporal cette méthode a permis de mettre en évidence une diminution des récepteurs D_2/D_3 dans la zone proche du focus épileptique (Werhahn et coll., 2006). L'analyse des résultats de cette étude corrèle une diminution d'expression des récepteurs D_2/D_3 avec une épilepsie durant depuis plus longtemps. **Il y aurait donc une réciprocité : l'épilepsie entraîne des défaillances dopaminergiques qui elles mêmes entretiennent les crises.**

Dans la maladie d'Unverricht-Lundborg, une maladie neurodégénérative associée à des myoclonies et des crises d'épilepsie tonico-cloniques, on retrouve une augmentation de liaison du ^{11}C -raclopride (un antagoniste des RD_2) dans le striatum et le thalamus suggérant une diminution de la dopamine synaptique et/ou une augmentation des RD_2 . Dans ce même syndrome, l'intensité du signal T2 est augmenté dans les GB lors d'un IRM. Dans certains cas d'épilepsie myoclonique progressive les symptômes moteurs résistent aux antiépileptiques mais son sensibles à un traitement dopaminergique à la levodopa (Leino, 1981).

L'ensemble de ces études a conduit les cliniciens à s'interroger sur la pertinence de traitements ciblant le système dopaminergique dans l'épilepsie. En 2014, Schmitt et ses collaborateurs montrent une diminution de plus de 50% des crises après 6 mois de stimulation électrique chronique bilatérale du NAcc chez des patients atteints d'épilepsie chez lesquels il était impossible de déterminer la zone épileptogène lors de l'exploration avec des électrodes intracérébrales (Schmitt et coll., 2014).

Ces données cliniques confirment l'implication des GB dans le contrôle des décharges épileptiques (Vercueil and Hirsch, 2002) et suggèrent l'existence d'une hypodopaminergie chez les patients épileptiques.

2-2 EFFETS DOPAMINERGIQUES DES ANTIEPILEPTIQUES

Comme nous l'avons vu précédemment les molécules DA agissent sur les crises d'épilepsie, et il est aussi probable que les crises d'épilepsie soient en retour responsables de modifications de ce système (Voir paragraphe III.1-1.3 « Implication des récepteurs dopaminergiques dans les crises d'épilepsie», page 40). Dans ce contexte, la prise en charge des patients atteints d'épilepsie pourrait bénéficier de thérapeutiques agissant sur ce système. Plusieurs études montrent en effet que certains antiépileptiques présentent des effets dopaminergiques.

Parmi les médicaments anti-absence, le valproate augmente les concentrations extracellulaires de dopamine dans les études chez l'animal (Baf et coll., 1994; Horton et coll., 1977; Ichikawa and Meltzer, 1999; Vriend and Alexiuk, 1996). Il peut également moduler *in vitro* la concentration de l'ARNm et de la protéine de la TH ou des ARNm du DAT, contrôlant ainsi les concentrations de dopamine (D'Souza et coll., 2009; Wang et coll., 2012). Des travaux récents indiquent également que le valproate présente des effets neuroprotecteurs vis à vis des neurones dopaminergiques et permet de traiter les syndromes de dérégulation dopaminergique chez des patients atteints de la maladie de Parkinson (Carriere et coll., 2014; Sriram et coll., 2013). Il est à noter que les effets neuroprotecteurs du valproate pourraient passer (du moins *in vitro*) par une stimulation de facteurs neurotrophiques par les astrocytes (P. S. Chen et coll., 2006).

Seul antiépileptique à présenter un effet négatif sur le système DA, l'éthosuximide a été très tôt étudié. Dès 1981, Jadhav et ses collaborateurs mettent en évidence qu'un prétraitement à l'éthosuximide inhibe des comportements contrôlés par le système DA (réponse d'évitement conditionnée ou stéréotypies induites par la méthamphétamine) (Jadhav et coll., 1981). Ils font alors l'hypothèse que l'éthosuximide exercerait un effet inhibiteur sur le système DA. Cette hypothèse sera confirmée lors de mesures par HPLC qui indiquent qu'un traitement chronique à l'éthosuximide entraîne chez le rat une diminution de la dopamine au niveau de l'hippocampe (Ponnusamy and Pradhan, 2006). Du fait de sa faible utilisation clinique il n'existe pas de données sur l'effet de la triméthadione sur le système DA.

La diminution du taux de dopamine observée chez des rats ayant subi un état de mal induit par la pilocarpine est "normalisé" par un traitement au lévétiracetam (Helmstaedter et coll., 2012) suggérant que l'effet antiépileptique du lévétiracetam passerait en partie par une restauration des taux de catécholamines. En clinique, le lévétiracetam a aussi montré son efficacité pour traiter des symptômes dopaminergiques en améliorant les dyskinésies chez une patiente souffrant de dyskinésies tardives suite à un traitement prolongé par des neuroleptiques (Zivković et coll., 2008). Cette molécule, malgré son efficacité contre les crises d'épilepsie, présente des effets secondaires psychiatriques chez certains patients qui se manifestent par une augmentation de l'irritabilité et de l'agressivité. L'étude des polymorphismes chez les patients présentant ces effets secondaires montre la présence de variants génétiques pour les récepteurs D2 ainsi que pour des enzymes impliquées dans le métabolisme de la dopamine (COMT, et dopamine beta-oxydase) (Helmstaedter et coll., 2012). L'ensemble de ces mutations entrainerait une diminution de l'activité dopaminergique

et les prédisposerait à présenter ces effets secondaires. Allant dans le même sens, des études cliniques sur l'intérêt de l'utilisation du lévétiracétam sur les dyskinésies induites par le traitement à la lévodopa chez des patients parkinsoniens ont montré que selon la dose utilisée le lévétiracétam n'avait aucun effet (Stathis et coll., 2011; Wolz et coll., 2010), ou entraînait une aggravation de ces symptômes conduisant les sujets à arrêter l'étude prématurément (Lyons and Pahwa, 2006; Wong et coll., 2011). Ces études montrent l'importance de l'influence de cette molécule sur le système DA, et soulèvent aussi l'intérêt d'étudier les symptômes associés à l'épilepsie à la lumière de ce système (myoclonies dans les crises).

La lamotrigine est un antiépileptique ayant des propriétés d'antagoniste des récepteurs NMDA, cette fonction l'a placé comme molécule potentiellement bénéfique pour traiter la maladie de parkinson (par l'inhibition de la libération de glutamate dans les ganglions de la base). Généralement les antagonistes des récepteurs NMDA n'induisent pas de dyskinésies. Cependant l'administration de lamotrigine va entraîner chez des patients parkinsoniens sous traitement, une apparition de troubles du mouvement indiquant un potentiel effet dopaminergique de cette molécule (Sabolek and Runge, 2010; Shinotoh et coll., 1997). Des expériences de capture de dopamine tritiée par des synaptosomes ont montré que la lamotrigine entraîne une diminution de la capture de dopamine, et qu'elle a donc un effet direct sur les synapses dopaminergiques (Southam et coll., 1998). Une étude chez la souris montre que l'effet de la lamotrigine sur l'apparition de dyskinésies passerait par une interaction avec les récepteurs D₂ (Kaur and M. Starr, 1996).

L'injection de carbamazépine et de phénytoïne augmente les taux de dopamine dans l'hippocampe (Ahmad et coll., 2005) et des mesures par microdialyse chez le rat ont confirmé que la carbamazépine augmente les niveaux extracellulaires de dopamine dans l'hippocampe et le striatum (Okada et coll., 1997) mais aussi dans le cortex frontal chez le rat en développement (López-Pérez and Morales-Villagrán, 2015). Le topiramate agit en synergie avec le raclopride pour augmenter les taux de dopamine dans le cortex préfrontal médian chez le rat (Eltayb et coll., 2005). De plus de nombreuses études s'intéressent à la capacité de cette molécule à contrôler le système méso-cortico-limbique (Higgs and Cooper, 2000; Skradski and H. S. White, 2000) et à ainsi diminuer l'addiction à la cocaïne ou à l'alcool (Cruz et coll., 2008; Johnson et coll., 2003; 2013; Lynch et coll., 2011). Un autre exemple mettant en évidence l'importance de l'effet des antiépileptiques sur le système dopaminergique est celui du zonisamide. En 2001 au Japon, un patient souffrant à la fois d'épilepsie idiopathique et de la maladie de parkinson a vu ses deux conditions s'améliorer après la prescription de

zonisamide (Murata et coll., 2001). Ce cas particulier a déclenché des recherches sur la possibilité d'utiliser cet antiépileptique dans le traitement de la maladie de parkinson (Bermejo et coll., 2010; Murata et coll., 2001; 2007). Depuis, l'étude de cette molécule a montré qu'elle présente une capacité à augmenter le taux de dopamine extracellulaire dans le striatum (Yamamura et coll., 2009), mais aussi de nombreux autres effets impliquant le système dopaminergique (Tableau 6).

	Antiépileptique	Effet sur le système dopaminergique	Auteurs (année)
Anti-absences	Valproate	+	Horton 1997
	Ethosuximide	-	Ponnusamy 2006
	Triméthadione	?	-
	Lévétiracétam	+	Helmstaedter 2012
	Lamotrigine	+/-	Southam 1998
Autres	Carbamazépine	+	Okada 1997a
	Topiramate	+	Eltayb 2005
	Zonisamide	+	Yamamura 2009
	Phénitoïne	+	Ahmad 2005

Tableau 6: Effets dopaminergiques des médicaments antiépileptiques.

Globalement la plupart des antiépileptiques potentialisent la neurotransmission dopaminergique, un effet qui semble participer à l'efficacité thérapeutique de ces molécules. Le passage de la prescription de certaines molécules pour le traitement de la maladie de parkinson vers le traitement de l'épilepsie (et inversement) est témoin d'un intérêt croissant de la communauté scientifique à agir sur cette nouvelle cible pour contrôler les crises et améliorer la prise en charge des patients épileptiques.

OBJECTIFS DE L'ETUDE

La caractérisation des circuits de contrôle des crises d'épilepsie et de leurs modalités de mise en jeu représente un enjeu majeur dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent la survenue et l'arrêt soudain des crises d'épilepsie. De nombreuses études ont eu pour objectif d'identifier les circuits responsables de la genèse et de la propagation de différents types de crises. Néanmoins, ces 20 dernières années, un intérêt croissant s'est développé pour la recherche de neuromodulateurs, comme la dopamine, impliqués dans le contrôle des crises.

The new imaging findings “seem to confirm that alterations in dopamine metabolism seem to be more widespread in epilepsy than previously thought”.

“While the body of human PET evidence is increasing two things will be crucial in future research... The first will be to find out whether the observed changes in dopamine metabolism are causative or just a proxy effect of recurrent activation of excitatory connections in certain brain areas like the basal ganglia. Secondly, we will need to go from bedside back to bench, and reproduce findings in animal models to generate hypothesis about the mechanism involved. Any results gained from these animal experiments might then help to generate hypothesis driven drug trials in patients with epilepsy...”

“Should dopaminergic drugs be tried in patients with epilepsy at this time? It is far too early to say but the outlook seems promising”.

Konrad J. Werhahn, cité par Kurt Samson, Dopamine system defects implicated in two forms of epilepsy, *Neurology Today*, 2008 8 (19) 32-35.

L'objectif de ce travail a été d'évaluer dans quelle mesure le système dopaminergique, et plus précisément les récepteurs D₃ et le DAT, pouvaient être impliqués dans le contrôle des crises d'épilepsie-absence et le développement d'une épilepsie généralisée idiopathique. Pour cela, nous avons choisi de travailler sur le modèle du rat GAERS, qui présente, comme expliqué précédemment, toutes les qualités pour l'étude du développement d'une épilepsie idiopathique, et qui nous permet en particulier de tenter de répondre aux trois questions suivantes:

- La surexpression des récepteurs dopaminergiques D₃ précède-t-elle l'apparition des crises ?
- Des déficits du système de recapture membranaire de la dopamine participent-ils au phénotype épileptique ?
- Quelle est la participation du système dopaminergique dans l'ontogenèse de l'épilepsie-absence et celles des récepteurs D₃ dans l'expression des crises (chez l'adulte)?

I. LA SUREXPRESSION DES RECEPTEURS DOPAMINERGIQUES D_3 PRECEDE-T-ELLE L'APPARITION DES CRISES ?

Des marquages par hybridation *in situ* ont permis de montrer que parmi les différents transcrits acteurs de la neurotransmission DA (tyrosine hydroxylase, transporteurs et récepteurs), seuls les ARNm des récepteurs D_3 (RD_3) sont surexprimés chez le GAERS adultes (Deransart et coll., 2001). Lors de cette étude, aucune différence dans le niveau d'expression des transcrits RD_3 entre GAERS et NEC n'avait été retrouvée chez des animaux âgés de 3 semaines (avant l'apparition des premières DPO), suggérant que la surexpression observée chez les adultes pouvait être une conséquence de la répétition des crises. Plus récemment, j'ai participé à l'analyse de mesures par autoradiographie de l'expression des récepteurs D_3 chez les GAERS (comparativement aux NEC et aux Wistar), chez les animaux adultes (P90) mais également chez des animaux âgés de 21 jours (Witkowski, Master de Neurosciences, 2008). Ces analyses ont confirmé une surexpression des RD_3 chez les rats GAERS à P21 comme à l'âge adulte.

Chez les rats GAERS, des décharges corticales immatures apparaissent sous la forme d'oscillations à 5 Hz au niveau du cortex somatosensoriel à partir de l'âge de 15 jours. Compte tenu du fait que les premières pointe-ondes n'apparaissent pas avant 25 jours chez le GAERS (Jarre et al, en soumission), nous avons voulu confirmer l'existence de la surexpression de ces récepteurs à un âge encore plus précoce, chez des rats de deux semaines (P14) chez lesquels aucun grapho-élément évocateur de décharge épileptique n'est encore enregistré à l'EEG.

Parallèlement, nous avons cherché à objectiver sur le plan fonctionnel chez des rats à P14 et P21 ces éventuelles modifications d'expression des RD_3 en analysant l'expression des bâillements spontanés et induits, ainsi que les effets locomoteurs induits par l'injection systémique d'un agoniste préférentiellement D_3 (Tableau 4).

Pour comprendre comment cette surexpression des récepteurs D_3 influe sur l'ictogénèse nous avons analysé la quantité et la durée des crises d'épilepsies chez des rats GAERS sous l'influence de l'injections systémique de différents agonistes (quinpirole et PD128907) et antagonistes D_3 (SB-277011-A et SR 21502).

II. DES DEFICITS DU SYSTEME DE RECAPTURE MEMBRANAIRE DE LA DOPAMINE PARTICIPENT-T-ILS AU PHENOTYPE EPILEPTIQUE ?

Compte tenu de l'effet des agonistes et antagonistes dopaminergiques sur la survenue des crises d'épilepsie mais aussi du fait que l'activation des RD_3 augmente la capacité de recapture du DAT (Lévesque et coll., 1995), nous avons fait l'hypothèse que des modifications de la recapture de la dopamine, pourraient participer à la susceptibilité des animaux à présenter des crises d'épilepsie. Nous avons donc exploré l'expression et l'activité du transporteur de la dopamine pendant la mise en place des crises d'épilepsie (épileptogénèse) au cours de la maturation cérébrale du GAERS et chez l'animal adulte.

Chez l'animal adulte, nous avons dans un premier temps approché la caractérisation du niveau d'expression du DAT par imagerie fonctionnelle en tomographie par émission de positon en collaboration avec l'équipe du Pr Catherine Ghezzi (Radiopharmaceutiques Biocliniques Inserm U1039-UJF-CHU, Grenoble). La résolution spatiale de cette approche se révélant insuffisante pour réaliser un suivi longitudinal de l'expression fonctionnelle du DAT chez les rats à P14 et P21, nous avons utilisé une technique d'autoradiographie classique en utilisant du 3H -GBR-12935 (Dawson et coll., 1986).

Dans un second temps, ayant mis en évidence des modifications d'expression du transporteur chez les GAERS, j'ai poursuivi cette caractérisation par une approche fonctionnelle en étudiant les taux de recapture de dopamine tritiée par des synaptosomes obtenus à partir du striatum, du cortex et de l'hippocampe (Wheeler et coll., 1993). Mes premiers résultats présentés lors du congrès de la Fédération Européenne des Neurosciences (FENS, Juillet, 2012, Barcelone, Espagne) m'ont encouragé à poursuivre cette approche fonctionnelle en collaboration avec le Dr Stéphanie de Gois de l'équipe du Pr Bruno Giros (IR2 CNRS CNRS UMR7224/INSERM U952 Laboratoire de Physiopathologie des Maladies du SNC Université Pierre et Marie Curie) dont l'expertise nous a permis d'ajouter aux mesures basales de recapture de dopamine tritiée que j'avais effectuée, des mesures de compétition avec des concentrations croissantes de dopamine froide, permettant d'évaluer la cinétique d'activité du transporteur la dopamine.

III. QUELLE EST LA PARTICIPATION DU SYSTEME DOPAMINERGIQUE DANS L'ONTOGENESE DE L'EPILEPSIE-ABSENCE ET CELLES DES RECEPTEURS D₃ DANS L'EXPRESSION DES CRISES (CHEZ L'ADULTE)?

A la vue des données de la littérature ainsi que de mes résultats précédents, l'hypothèse d'un déséquilibre dans la libération de la dopamine, et plus particulièrement la balance tonique/phasique, chez le GAERS devait être étudiée. Pour tenter de déterminer si les modifications du système dopaminergique caractérisées chez le GAERS sont dissociables ou non du phénotype épileptique de ces animaux, nous avons émis l'hypothèse qu'une stabilisation chronique du déséquilibre dopaminergique que nous avons caractérisé chez ces animaux dès le plus jeune âge, devrait avoir un effet antiépileptique. Pour cela nous avons examiné les effets d'injections aiguës chez l'adulte puis ceux d'injections chroniques, dès la naissance, d'un stabilisateur de la neurotransmission dopaminergique (Aripiprazole) sur l'épileptogénèse chez des rats GAERS (Hamamura and Harada, 2007). En effet, compte tenu de la fonction d'agoniste partiel des RD₃ par l'aripiprazole, nous avons émis l'hypothèse qu'un traitement chronique avec cette molécule devrait avoir un effet dépresseur sur l'expression de ces récepteurs (Tadori et coll., 2008). Ceci a été examiné par autoradiographie des récepteurs D3 chez les animaux traités chroniquement, à l'issue du suivi EEG.

Par ailleurs, au cours d'une approche préliminaire, afin d'examiner une possible contribution directe des récepteurs D3 dans l'épileptogénèse chez le GAERS, nous avons étudié les effets d'injections d'un lentivirus codant pour des shRNA anti-RD3 sur l'évolution des crises chez des GAERS adultes (Fernandes et coll., 2012).

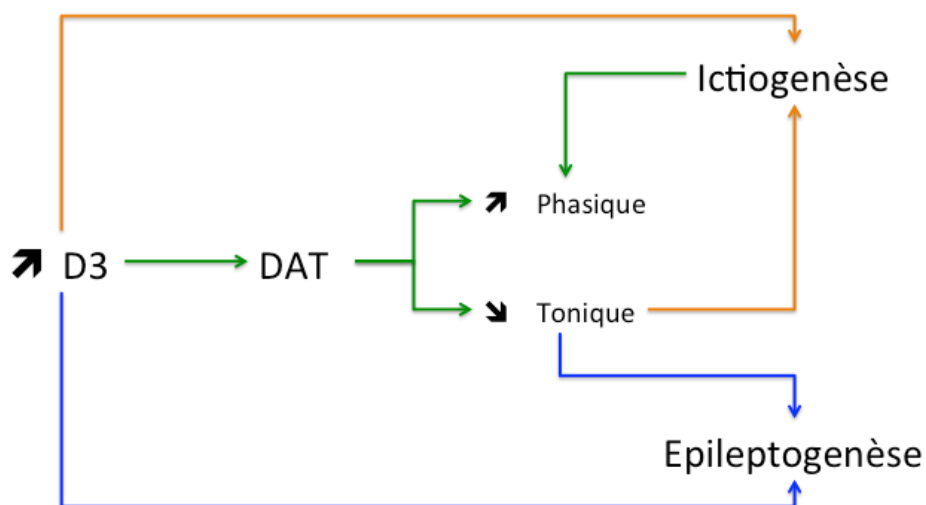


Figure 9 : Schéma des hypothèses explorées dans cette thèse. Les flèches vertes représentent les données de la littérature. En orange figure les hypothèses de l'implication du système dopaminergique dans l'ictogénèse et en bleue celle dans l'épileptogénèse.

Par la suite sont exposés les résultats de ce travail dont la majorité se trouve regroupée dans un manuscrit actuellement soumis à *The Journal of neuroscience*. Les résultats qui ne s'intégraient pas dans cette publication sont présentés à la suite.

En annexe se trouve également une publication écrite en collaboration avec le Dr Florence Fauvelle sur une étude des modifications métaboliques au cours de l'épileptogenèse du rat GAERS, utilisant des approches par résonance magnétique nucléaire à rotation à l'angle magique haute résolution (RMN-HRMAS).

RESULTATS

II. RESULTATS COMPLEMENTAIRES

1) EFFETS D₂ DU QUINPIROLE : AUGMENTATION DU NOMBRE DE REDRESSEMENTS CHEZ LES RATS GAERS

1-1 INTRODUCTION

Chez le rat adulte, les injections de quinpirole (50 μ g/kg) se traduisent par des augmentations du nombre de bâillements sans modification notable de l'activité motrice. A cette dose et chez l'adulte, les effets sur le bâillement sont réputés être spécifiques de la mise en jeu des RD₃ (Collins et coll., 2007), et permettent d'évaluer la réactivité de ce récepteur. Cependant si la dose est trop importante des effets D₂ peuvent apparaître entraînant des redressements (voir paragraphe I.2-3 « Implication des RD₃ dans le bâillement page 17). Les rats GAERS présentent une surexpression des récepteurs D₃ précédant l'arrivée des premières crises d'épilepsies. Notre hypothèse a été que cette surexpression est liée à une augmentation de l'activité des D₃ participant ainsi au développement des crises d'épilepsies par la suite. Nous avons donc cherché à évaluer les effets spécifiques d'une activation des récepteurs D₃ par quantification du nombre de bâillements et de redressements induits par une injection sous-cutanée de 50 μ g/kg de quinpirole chez des rats GAERS, Wistar et NEC de 14 et 21 jours.

1-2 MATERIEL ET METHODES

Cette expérience a été menée sur des rats GAERS (n=10), NEC (n=10) et Wistar (n=8) les mêmes animaux ont été testés à 14 puis à 21 jours. Lors des séances d'enregistrement les animaux sont observés par 2 ou 3, la totalité des expériences étant enregistrée par vidéo (système d'acquisition vidéo Micromed) sur un créneau horaire entre 9h et 12h. Chaque raton est déposé dans un bécier d'1L avec une couche de litière de sa cage d'origine, sans accès ni à la nourriture ni à l'eau. Les béciers sont placés sur des couvertures chauffantes pour aider au maintien de l'homéothermie (ratons non sevrés). Les animaux sont observés pendant 60 min avant et 60 min après injection sous-cutanée de 50 μ g/kg de quinpirole dilué en NaCl 0,9% à raison de 0,5mL pour 20g. Le nombre de redressements (définis par une absence de contact pattes-avant/sol ainsi qu'une posture verticale, sans activité de toilettage) est comptabilisé sur les vidéos par période de 60 min. Les comparaisons entre lignées sont réalisées par analyse non paramétrique de la variance à un facteur (test de Kruskal-Wallis),

suivie de comparaisons 2 à 2 avec une correction de Bonferroni (test de Dunn) (GraphPad Prism pour Macintosh, version 4.0b).

1-3 RESULTATS

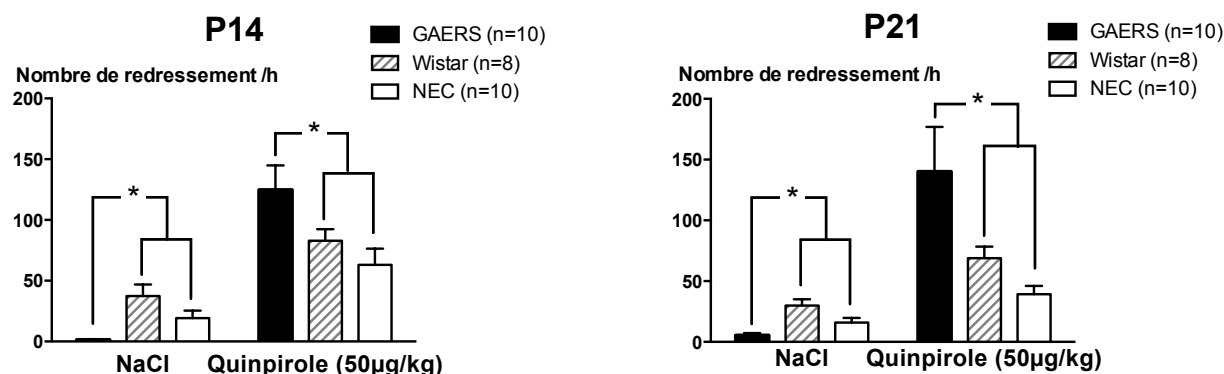


Figure 10 : Effets de l'injection de quinpirole sur l'activité de redressement chez des rats GAERS, NEC et Wistar à P14 et P21.

A P14 comme à P21, on observe à la suite d'une injection sous-cutanée de NaCl 0,9% un nombre de redressements plus important chez les rats Wistar et NEC par rapport aux GAERS (Figure 10, histogrammes de gauche). Ceci suggère que les GAERS présentent une hypoactivité basale. A P14 comme à P21 on observe, après une injection de 50µg/kg de quinpirole une augmentation du nombre de redressements plus importante chez les rats GAERS par rapport aux Wistar et NEC (Figure 10, histogrammes de droite).

1-4 DISCUSSION

Les rats GAERS présentent une augmentation de la réactivité du système dopaminergique lors de l'injection d'un agoniste D_2/D_3 . L'hypoactivité basale observée chez les GAERS lors de l'injection de NaCl 0,9% ne peut pas être expliquée par le temps passé en crise car à ces âges les rats GAERS ne présentent pas encore de décharges de pointes ondes bien définies, mais seulement des oscillations corticales (pointes-ondes immatures). Cependant, cette hypoactivité pourrait être un marqueur de la modification du système dopaminergique existant avant l'apparition des crises d'épilepsie.

Lors de l'injection de 50µg/kg de quinpirole, les rats GAERS présentent une hyperactivité comparable aux rats des autres lignées. Cette augmentation pourrait résulter d'une plus grande réactivité du système dopaminergique des GAERS. Il est possible que, comme les RD_3 , les RD_2 soient également plus sensibles chez les rats épileptiques. Il est à

noter à ce sujet que les niveaux d'expression des ARNm des récepteurs D2 sont légèrement plus élevés chez le GAERS même si cette différence n'est pas significative (Deransart et coll., 2001a). Elle pourrait traduire une augmentation d'expression des récepteurs D2 au niveau de la protéine. Cette hypothèse n'a cependant pas été explorée à ce jour.

Cette expérience nous indique que la dose de quinpirole utilisée pour induire des bâillements chez l'adulte induit des effets D₂ importants chez le jeune. Cette dose doit être adaptée chez le jeune pour induire des effets D₃ uniquement.

2) DISSOCIATION DES EFFETS D₂/D₃ DU QUINPIROLE : ADAPTATION DE DOSE CHEZ LE RAT JEUNE.

2-1 INTRODUCTION

Chez le rat jeune, lors de nos premières injections de quinpirole nous avons observé une très forte augmentation de l'activité motrice avec la dose utilisée chez l'adulte (50 µg/kg), compromettant ainsi toute possibilité d'observation et de quantification des bâillements induits. Cette augmentation de l'activité motrice se traduit notamment par une augmentation du nombre de redressements, marqueur d'un effet spécifique sur les RD₂ du quinpirole ce qui suggère que la dose est trop élevée pour un effet spécifique sur les RD₃ (Collins, 2005). Afin de s'affranchir des effets du quinpirole sur l'activité motrice (redressements liés à une activation des RD₂) et de ne conserver que les effets sur les bâillements (marqueur spécifique de l'activation des RD₃), nous avons évalué la capacité du quinpirole à produire chez des rats Wistar des bâillements ainsi que des redressements. Le but de cette expérience était de déterminer la dose optimale de quinpirole à utiliser à chaque âge (P14 et P21) pour produire un maximum de bâillements et un minimum de redressements. Cette expérience préliminaire nous a permis par la suite d'évaluer les effets d'une activation spécifique des RD₃ chez les rats GAERS à différents âges (voir manuscrit page 63 Figure 1).

2-2 MATERIEL ET METHODES

Cette expérience utilise les mêmes approches que celles décrites dans l'expérience précédente. Cependant, en raison de difficultés de reproduction des rats GAERS et NEC, seuls des rats de la souche Wistar ont été utilisés. Par la suite les doses qui ont été

sélectionnées à l'issue de cette expérience ont permis de confirmer qu'elles ne produisaient pas de redressements chez les rats des autres souches. Ici les rats Wistar sont soumis à des injections de quinpirole de 0, 6,25, 12,5, 25 ou 50 $\mu\text{g/kg}$ selon un carré latin. 16 rats Wistar ont été testés à 14 jours et 16 autres à 21 jours, avec un maximum de 3 injections par rat. Les comparaisons entre l'effet des différentes doses sont réalisées par analyse non paramétriques de la variance à un facteur (test de Kruskal-Wallis), suivie de comparaisons 2 à 2 avec une correction de Bonferroni (test de Dunn) (GraphPad Prism pour Macintosh, version 4.0b).

2-3 RESULTATS

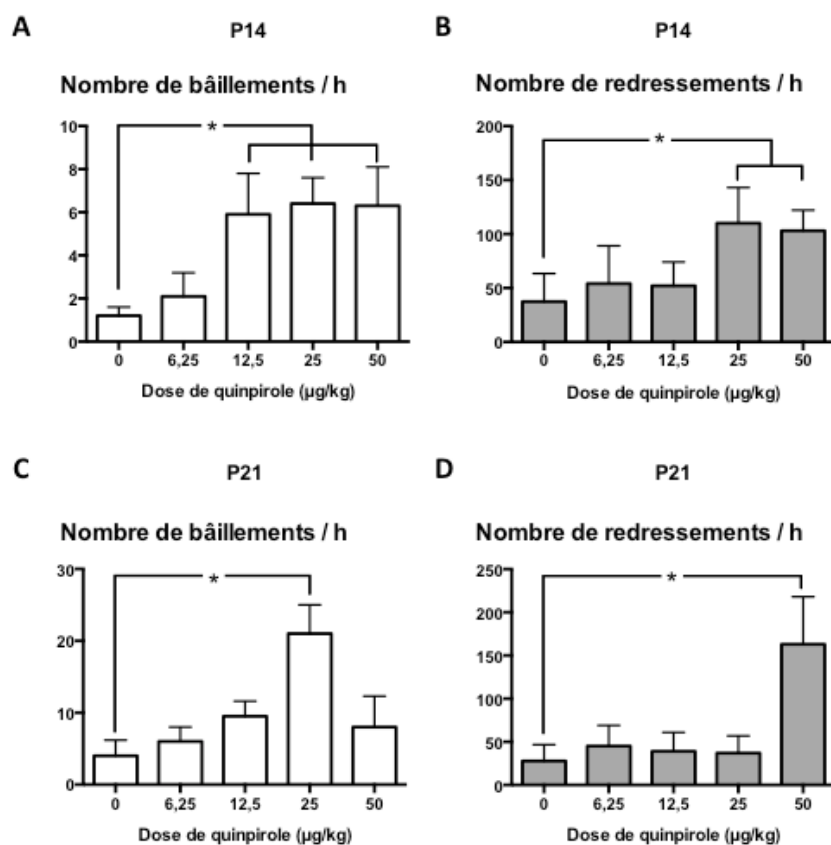


Figure 11 : Effets de l'injection de différentes doses de quinpirole sur l'activité de bâillements (A-C) et de redressements (B-D) chez des rats Wistar à P14 (A-B) et P21 (C-D).

A P14 on observe une augmentation des bâillements à partir d'une dose de 12,5 $\mu\text{g/kg}$, et qui est conservée à 25 et 50 $\mu\text{g/kg}$ (Figure 11A). En parallèle, les redressements sont multipliés par 2 aux doses de 25 et 50 $\mu\text{g/kg}$ comparé aux doses de 6,25 et 12,5 $\mu\text{g/kg}$ (Figure 11B). La dose optimale à P14 est donc 12,5 $\mu\text{g/kg}$ car à cette dose on observe une augmentation des bâillements sans augmentation du nombre de redressements.

A P21, le nombre de bâillements atteint son maximum pour une dose de $25\mu\text{g/kg}$, ce nombre chute lorsque la dose est portée à $50\mu\text{g/kg}$ (Figure 11C). Les redressements quant à eux augmentent de façon importante à la dose de $50\mu\text{g/kg}$, alors que pour des doses inférieures leur nombre n'est pas différent de celui observé lors de l'injection de solution de NaCl 0,9% (Figure 11D). La dose optimale à P21 est donc $25\mu\text{g/kg}$ car à cette dose on observe une augmentation des bâillements sans augmentation du nombre de redressements.

2-4 DISCUSSION

A P21 nos résultats sont superposables à l'effet dose en courbe en U inversée décrit par Collins en 2005, avec un effet D_3 maximum à $25\mu\text{g/kg}$ (augmentation des bâillements sans augmentation des redressements), suivi à la dose supérieure ($50\mu\text{g/kg}$) par un fort effet D_2 inhibant les bâillements et entraînant de nombreux redressements. A P14, cet effet dose n'est pas aussi clair, cela pouvant être masqué par une augmentation du nombre de bâillements induits par le quinpirole globalement plus faible, comparés aux bâillements spontanés. Cependant la dose de $12,5\mu\text{g/kg}$ à P14 n'entraîne pas d'augmentation du nombre de redressements par rapport à l'injection de solution saline alors qu'elle entraîne une augmentation du nombre de bâillements.

Le but de cette expérience était de déterminer la dose optimale pour l'utilisation du quinpirole en tant qu'agoniste des récepteurs D_3 . Nous avons donc choisi par la suite d'utiliser la dose de $12,5\mu\text{g/kg}$ pour tester l'activité des RD3 chez les rats âgés de 14 jours et la dose de $25\mu\text{g/kg}$ pour ceux âgés de 21 jours (voir manuscrit).

3) DEFICITS DE CAPTURE DE DOPAMINE CHEZ LES RATS GAERS : DIMINUTION DE L'ACTIVITE DU DAT ET AUGMENTATION DE SA REACTIVITE

3-1 INTRODUCTION

Les expériences de microdialyse intracérébrale chez le GAERS adulte avaient mis en évidence un taux plus faible de DA, ainsi qu'une plus grande réactivité du système dopaminergique lors de la stimulation avec du KCl ou des amphétamines. Notre hypothèse était que ces différences provenaient d'un dysfonctionnement du DAT chez ces animaux. De plus l'activité du DAT est fortement liée à celle des RD_3 (Zapata 2002, 2007), nous avons donc fait l'hypothèse que la surexpression de ces récepteurs observés chez les GAERS pouvait influencer l'activité du DAT. Afin d'évaluer l'activité du transporteur de la dopamine j'ai donc mis en place une expérience de mesure de la capture de dopamine tritiée par des synaptosomes. Les synaptosomes sont des extrémités de neurone isolé, comprenant les éléments pré- et post-synaptiques encore fonctionnels, obtenus par lyse et centrifugation de tissus frais. Au niveau du striatum et du cortex somatosensoriel ces expériences nous ont permis d'évaluer l'activité du transporteur de la dopamine. Nous avons donc mesuré son activité basale puis évalué son fonctionnement en présence de quinpirole (agoniste D_3) pour mettre en évidence l'influence de l'activation des RD_3 sur la capture de DA. Dans un troisième temps, nous avons mesuré le relargage de DA par les synaptosomes en présence d'amphétamines dont l'action inverse l'activité du DAT (Voir paragraphe I.3.1-1 « Recapture de la DA par le DAT » page 22).

3-2 MATERIEL ET METHODES

3-2.1 OBTENTION DES TISSUS

Nous avons prélevé les cerveaux de rats GAERS (n=6), Wistar (n=6) et NEC (n=6) afin de purifier les synaptosomes. Dans cette expérience, le DAT présent à la surface des synaptosomes doit pouvoir recapter la dopamine du milieu extérieur. Nous avons donc décapité les animaux afin d'éviter toute interaction avec des produits anesthésiques. Le prélèvement des cerveaux est fait sur glace et le plus rapidement possible pour préserver les tissus. La dissection des 2 striatums et des 2 cortex somatosensoriels de chaque cerveau se fait elle aussi à 4°C. Les tissus prélevés sont conservés au froid (4°C).

3-2.2 PREPARATION DES SYNAPTOSOMES

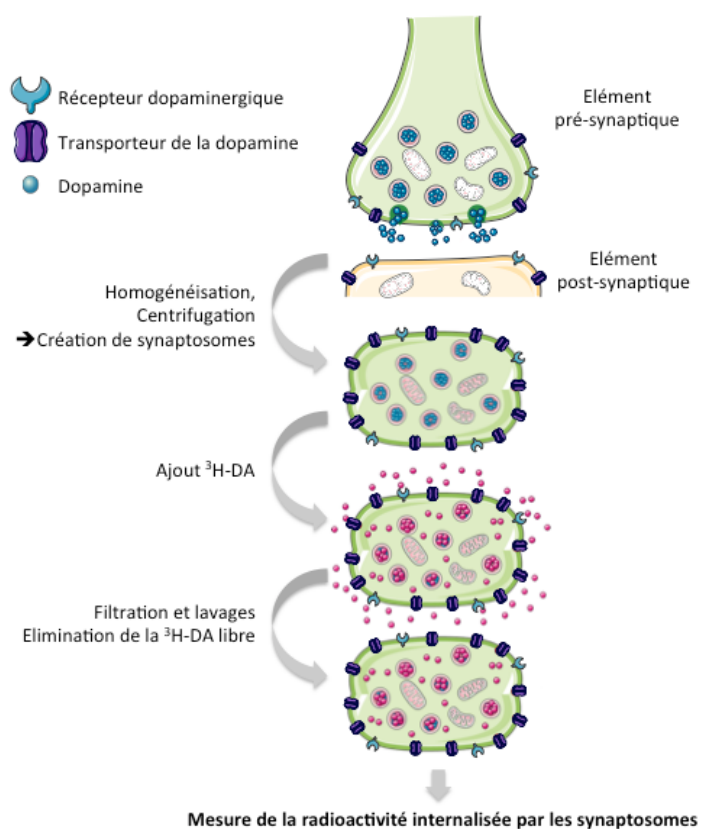


Figure 12 : Méthode d'obtention des synaptosomes

Après homogénéisation avec un teflon-glass tissue homogenizer, les échantillons sont centrifugés à 4°C, une première fois à 2000g pendant 10 min, puis le surnageant est centrifugé à 800g pendant 10 minutes, et le surnageant qui en résulte est ensuite lui aussi centrifugé à 20000g pendant 20minutes (Figure 12).

3-2.3 CAPTURE DE ^3H -DA

Le surnageant obtenu pour chaque échantillon est ensuite séparé en 4 aliquots qui sont incubés chacun avec 10nM de ^3H -DA 15 minutes à 37°C. Un de ces échantillons est incubé avec 10 μM de GBR12909 (inhibiteur de la capture de DA par le DAT) afin de mesurer la radioactivité non spécifique contenue dans les échantillons. Les 2 autres reçoivent soit 1nM de quinpirole ou 1nM d'amphétamine pour déterminer la capture de dopamine.

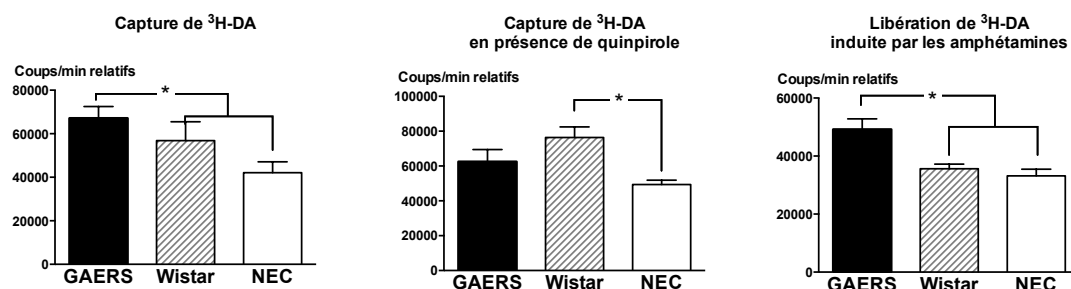
Incubation	Capture spécifique	Capture non spécifique	Capture en présence de quinpirole	Libération en présence d'amphétamine
^3H -DA	10nM	10nM	10nM	10nM
GBR12909		10 μM		
Quinpirole			1nM	
Amphétamines				1nM

Tableau 7 : Composition des différents aliquots pour la capture de dopamine tritiée par les synaptosomes.

A la suite de l'incubation les échantillons sont lavés et filtrés. La radioactivité contenue dans chaque échantillon est ensuite mesurée par un lecteur à scintillation liquide. Les résultats obtenus en capture non spécifique sont ensuite soustraits à chaque mesure. La libération de DA en présence d'amphétamine est évaluée par soustraction de la mesure de radioactivité spécifique à celle en présence d'amphétamine. L'ensemble de ces résultats est analysés par structure et par condition en utilisant un test de Kruskal-Wallis avec une correction de Dunn's.

3-3 RESULTATS

A : Au niveau striatal



B : Au niveau du cortex-somatosensoriel

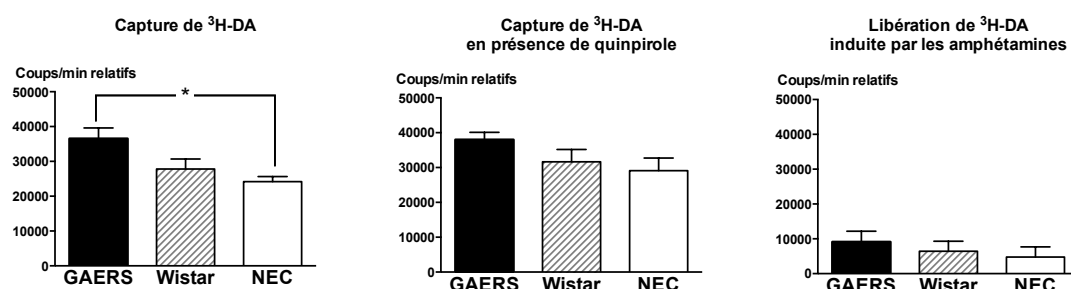


Figure 13 : Capture et libération de 3H-DA par des synaptosomes obtenus au niveau du striatum (panel A) ou du cortex somatosensoriel (panel B) de rat GAERS (n=6), Wistar (n=6) et NEC (n=6).

La capture de dopamine tritiée par les synaptosomes nous permet de connaître la capacité maximale du DAT à internaliser la dopamine. En condition basale les synaptosomes obtenus à partir des striatum de rat GAERS captent plus de dopamine que ceux obtenus chez des NEC (+37%) ou des Wistar (+15%) (Figure 13). Dans le cortex les synaptosomes des GAERS captent en moyenne 33% plus de dopamine que ceux des NEC.

Pour lier l'activité du DAT à celle des RD3 nous avons mesuré la capture de dopamine tritiée en présence de quinpirole dans le cortex et le striatum de rats GAERS, NEC et Wistar. Lors de l'activation des RD3 une augmentation de la capture de dopamine chez les Wistar comparé aux NEC (+35%) est observée dans le striatum uniquement. Si on compare les données obtenues en absence et en présence de quinpirole, seuls les GAERS présentent une diminution de la capture de dopamine tritiée en présence de quinpirole dans le striatum.

Lors de l'application d'amphétamines nous mesurons la libération de dopamine par les synaptosomes et donc la réactivité des systèmes de libération de dopamine à la synapse. Nous observons une augmentation de la libération de dopamine au niveau striatal chez les GAERS

comparé aux NEC (+35%) et aux Wistar (+27%). Au niveau cortical la libération de dopamine n'est pas différente entre les 3 souches en présence d'amphétamine.

3-4 DISCUSSION

L'augmentation de capture de dopamine au niveau striatal et cortical chez les GAERS indique une augmentation d'activité du DAT chez ces animaux. Ce déficit pourrait participer à l'hypodopaminergie observée en microdialyse intracérébrale (voir manuscrit page 63 Figure 5).

Même si nos résultats ne permettent pas de mettre en évidence un déficit important du DAT lors de l'activation des RD_3 , ils soulignent un fonctionnement inversé de ces systèmes chez les GAERS comparé aux autres souches. Pour mettre en évidence ces dysfonctionnements ces expériences pourraient être refaites chez des rats GAERS après injection de lentivirus anti- RD_3 dans le striatum.

En présence d'amphétamine la réactivité des synaptosomes des rats GAERS est plus importante que celle des autres souches. Ce résultat peut être lié à la plus grande capture de dopamine basale par le DAT, mais aussi à une plus grande réactivité des systèmes de libération de la dopamine à la synapse.

L'ensemble des résultats de cette expérience nous indique que les rats GAERS présentent une hypodopaminergie striatale due à une augmentation de l'activité du DAT. Cette hypodopaminergie s'accompagne d'une hyperréactivité pour la libération de dopamine. Tout cela va dans le sens d'une augmentation de la dopamine phasique (avec une libération plus intense lors de stimulation) et une diminution de la dopamine tonique (avec une capture plus forte par le DAT). Ce déséquilibre tonique/phasique pourrait être lié à l'activité des RD_3 , puisque le lien D_3 /DAT semble être corrompu chez les GAERS.

Ces résultats constituent une première approche pour évaluer l'activité du transporteur de la dopamine en mesurant son transport total. Ils ont permis d'initier une collaboration avec l'équipe de Bruno Giros afin d'évaluer les paramètres cinétiques du DAT plus précisément (voir manuscrit page 63 Figure 4).

4) DIMINUTION DE L'EXPRESSION DES RECEPTEURS D_3 CHEZ LES GAERS ADULTES PAR UTILISATION DE LENTIVIRUS EXPRIMANT DES SHRNA ANTI- D_3

4-1 INTRODUCTION

Le traitement chronique des rats GAERS à l'aripiprazole (voir manuscrit page 63 Figure 8) a entraîné une diminution des crises associée à une diminution de l'expression des RD_3 au niveau du cœur du NAcc. Nous avons donc fait l'hypothèse que la surexpression des RD_3 était en partie responsable de la survenue des crises dans ce modèle. Afin de déterminer si leur surexpression était responsable du développement de l'épilepsie des GAERS nous avons choisi d'injecter à ces animaux des lentivirus contenant un shRNA ciblant l'ARN codant pour les récepteurs D_3 afin d'en diminuer l'expression. Cette approche est la seule qui permette d'explorer spécifiquement une participation des RD_3 puisque - comme nous l'avons mentionné dans l'introduction - la pharmacologie de ces récepteurs est très intimement liée à celle des RD_2 . Nous avons donc pratiqué des injections intracérébrales ciblant spécifiquement le cœur du NAcc, site de surexpression du RD_3 chez les animaux épileptiques. Nous avons ensuite mesuré l'effet de ces injections sur les crises d'épilepsie.

4-2 MATERIEL ET METHODES

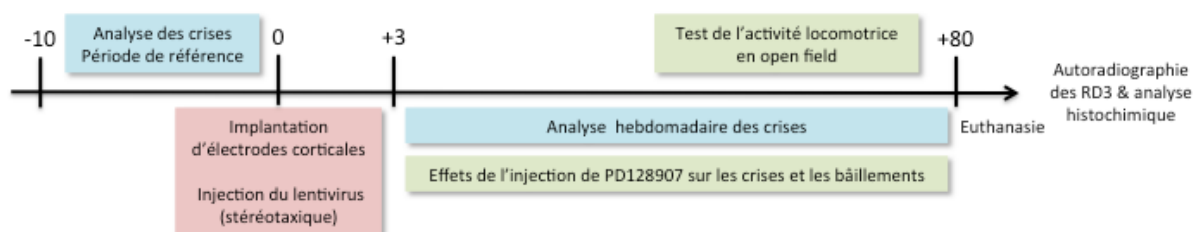


Figure 14 : Chronogramme du déroulement de l'expérience d'injection des lentivirus contenant le shRNA anti- D_3 .

4-2.1 ANIMAUX

Nous avons utilisé 16 mâles GAERS adultes (entre P60 et P80) dont le poids était compris entre 200 et 250g. Ces animaux appartenaient à la génération 79 de croisement issue de la reproduction maintenue à Grenoble. Ils ont par la suite été répartis en 2 groupes de 8 animaux chacun, un groupe recevant le lentivirus contenant la séquence shRNA pour diminuer l'expression des RD_3 , et un groupe où le lentivirus contenait un vecteur vide qui constitue le groupe contrôle.

4-2.2 CHIRURGIE

Les animaux sont anesthésiés par injection intramusculaire de Rompun (Xylazine 2%) à raison de 10 mg/kg (soit 0,05 ml/100g), suivie d'une injection intrapéritonéale d'Imalgène (Kétamine) à raison de 100 mg/kg (soit 0,1 ml/100g). Par la suite ils sont placés dans un cadre stéréotaxique, thermorégulés par une couverture chauffante (37°C) et leurs yeux protégés par application locale d'Ocrygel. Après incision de la peau du crâne, les rats sont implantés à la fois avec des électrodes monopolaires corticales fronto-pariétales pour le recueil des activités EEG, et de deux canule-guides d'injections pour les injections intracérébrales du lentivirus.

Les électrodes sont constituées de micro-vis d'horlogerie (diamètre 1 mm) vissées dans l'épaisseur du crâne et reliées à un connecteur femelle, l'ensemble étant solidarisé avec de la colle cyanolite et du ciment dentaire (Palladur). L'implantation bilatérale des canule-guides (L.: 12mm, d.e.: 0,4 mm, d.i.: 0,3mm) nécessaires aux injections se fait dans des conditions stéréotaxiques. Les coordonnées d'implantation sont les suivantes : AP : +1,3 mm ; ML : +/- 1,5 mm ; DV : -5,2 mm avec pour référence le bregma (Paxinos & Watson, 2006). Des mandrins (L.: 12 mm, d.e: 0.28 mm) sont ensuite insérés à l'intérieur des canule-guides afin d'éviter tout risque d'obturation. Après la chirurgie, les animaux équipés de ces dispositifs sont laissés au repos pendant un minimum de 7 jours. Pendant cette période, les rats sont manipulés plusieurs fois par jour afin d'être habitués aux conditions d'expérimentation.

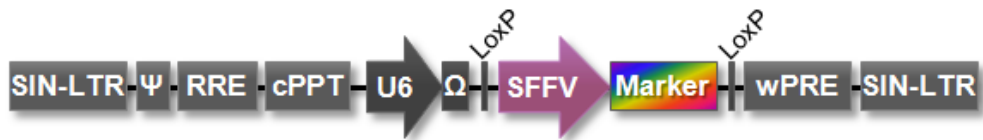
4-2.3 LENTIVIRUS

Le jour de l'opération, le groupe contrôle reçoit un lentivirus contenant un vecteur vide. L'autre groupe de rat reçoit un mélange de 2 lentivirus contenant chacun une séquence qui code pour un shRNA visant le récepteur dopaminergique D3. L'utilisation combinée de ces 2 constructions est nécessaire pour une efficacité maximale sur l'expression du récepteur D3 (Fernandes et coll., 2012).

D3R-F: 5'- TGCCGGAATTCATGGCACCTCTGAGCCAGATAAGCA-3'

D3R-R: 5'- AAGGAAAAAAGCGGCCGCTCAGCAGGACAGGATCTT- GAG-3'

Cette séquence a au préalable été insérée dans un plasmide de type LeGO-G :



La particularité de ce lentivirus est qu'il exprime de façon endogène la GFP, permettant de localiser par immunofluorescence les cellules infectées. Les lentivirus et les vecteurs vides sont injectés de manière bilatérale chez l'animal sous anesthésie gazeuse à l'isoflurane dans un volume de 2 μ l à une vitesse de 0,25 μ l/min. L'acquisition des données électroencéphalographiques se fait avec le logiciel Cohérence (Deltamed, Paris). Les rats sont placés dans des cages individuelles de plexiglass permettant une observation continue de leur comportement au cours des sessions d'enregistrement.

4-2.4 ENREGISTREMENT EEG

Avant et après injection du lentivirus les animaux sont enregistrés sur des périodes de 20 min. Les tracés EEG sont analysés et permettent de connaître le nombre, la durée moyenne et la durée cumulée des crises pour chaque période de 20 minutes.

De même l'effet de l'injection de l'agoniste D₃ PD128907 (0.1 mg/kg, en sous-cutané) sur les crises et les bâillements est évalué selon un protocole similaire à celui décrit dans les expériences précédentes (Figure 14). Ces expériences sont réalisées entre 110 et 120 jours après l'injection du lentivirus. Les animaux sont enregistrés pendant 60 min après injection soit de NaCl (véhicule) soit de PD128907 et les crises quantifiées (nombre, durée cumulée et durée moyenne) ainsi que le nombre de bâillements au cours de la même session.

4-2.5 MESURE DE L'ACTIVITE LOCOMOTRICE (TEST DE L'OPEN FIELD)

Afin de confirmer les conséquences de l'injection du lentivirus sur le comportement locomoteur des animaux, nous avons également effectué une mesure d'activité dans un nouvel environnement entre 90 et 100 jours après injection du lentivirus (test de l'*open field*). Ce test a été réalisé en amont du test sur les effets induits par le PD128907 afin d'éviter toute interaction de l'injection sur les comportements locomoteur. En effet, l'exploration d'un environnement nouveau est réduite lors d'une diminution du nombre de récepteurs D₃ dans le striatum et une telle mesure permettait ainsi de vérifier l'efficacité de l'expression fonctionnelle du lentivirus (Fernandes et coll., 2012). L'*open field* consiste à placer les animaux dans un espace de 40 x 40 x 39 cm et à enregistrer par vidéo leur activité

locomotrice pendant une période de 20 min. Le vidéotracking permet ensuite d'analyser cette activité en mesurant la distance parcourue par les animaux durant cette période (Viewpoint S.A., Champagne au Mont d'Or, France).

4-2.6 HISTOLOGIE

Les conditions de prélèvement des tissus différant entre une analyse autoradiographique des récepteurs D3 (tissus frais après perfusion de NaCl) et une analyse de l'expression du gène rapporteur (GFP, tissus perfusés à la PFA), et compte tenu d'un nombre réduit d'animaux, nous avons opté pour une analyse autoradiographique de l'expression des récepteur D3. Ainsi, à l'issue des derniers EEG, les animaux sont euthanasiés par une surdose de pentobarbital (60 mg/kg) et les cerveaux ont été prélevés et congelés dans de l'isopentane (-40°C). Des coupes de 14µm d'épaisseur sont ensuite réalisées au cryostat et montées sur des lames Superfrost (Fisher Scientific, Hampton, NH). Elles servent par la suite à confirmer la localisation des canules d'injection ainsi qu'à effectuer une autoradiographie des récepteurs D₃, selon la méthode décrite dans le manuscrit.

4-2.7 STATISTIQUES

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel GraphPad Prism pour Macintosh, version 6. Le niveau de significativité choisi pour l'ensemble des analyses statistique est fixé à $p < 0,05$. Pour l'analyse de la quantification des crises spontanées au cours du temps une ANOVA à 2 facteurs (temps et traitement) suivie d'un test de Sidak a été effectué. La mesure de l'influence de l'injection de PD128907 sur les crises ainsi que sur les bâillements dans les deux groupes d'animaux a été effectuée avec un test de Friedman suivi d'une correction de Dunns. Nous avons analysé les résultats collectés lors du test d'*open-field* avec un test de Mann-Whitney.

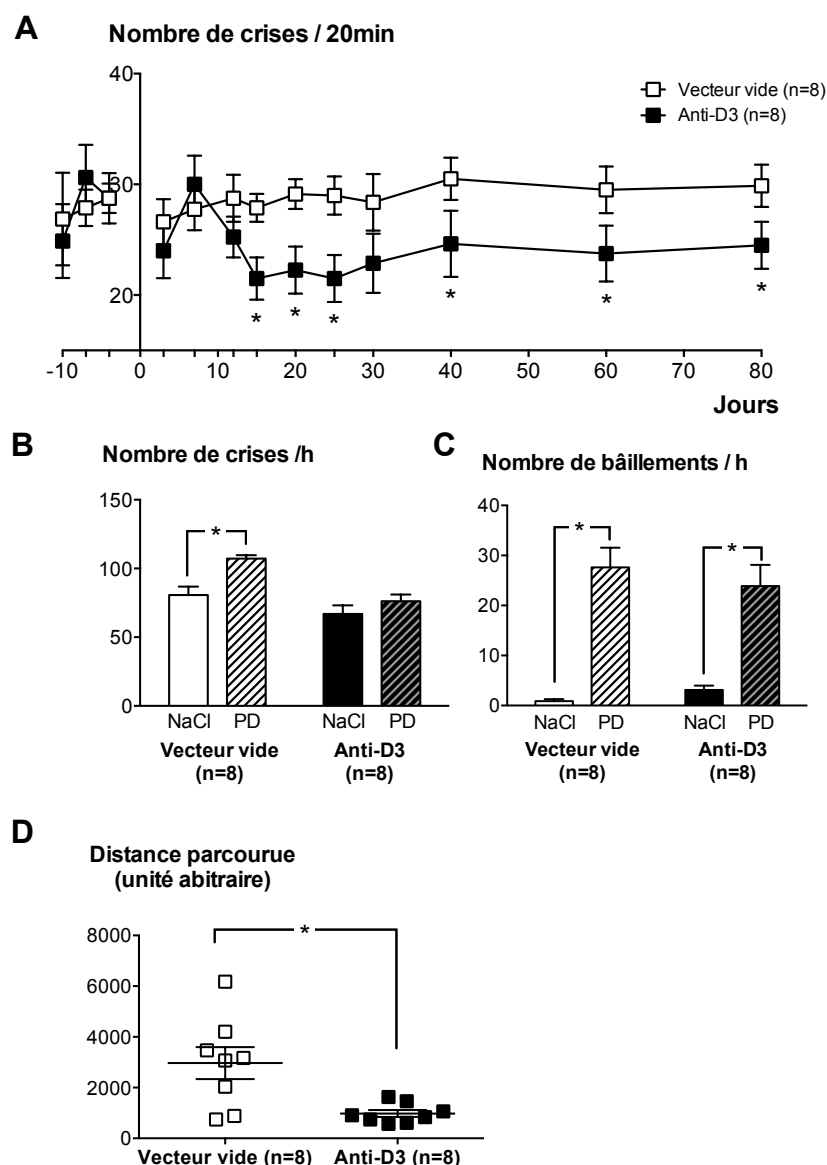


Figure 15 : Effets de l'injection du lentivirus contenant le vecteur vide (carrés blancs) ou la séquence codant pour le shRNA anti- D_3 (carrés noirs). (A) Evolution du nombre de crises d'épilepsie par périodes de 20 minutes en fonction des jours passés, le jour 0 correspondant au jour de l'injection du lentivirus (effectifs : $n=X$ par groupes). (B) : Effet de l'injection de PD128907 (0.1 mg/kg, en sous-cutané) sur le nombre cumulé de crises par heure et sur (C) le nombre cumulé de bâillements par heure. (D) : Distance parcourue en openfield dans un environnement nouveau.

Suite à ces injections, nous observons une diminution du nombre de crises chez les animaux ayant reçu le lentivirus contenant le shRNA anti- D_3 par comparaison à ceux ayant reçu un vecteur vide (Figure 15, A). Cette diminution des crises est significative 15 jours

après l'injection et se maintient jusqu'à l'euthanasie des animaux (80 jours) (Fernandes et coll., 2012). Les GAERS ayant reçu le lentivirus contenant le shRNA anti-D₃ présentent une diminution de crise de 18% comparés à ceux ayant reçu le vecteur vide. Chez les animaux ayant reçu le lentivirus contenant le shRNA anti-D₃, l'absence de différence entre le nombre de crises chez ceux qui ont été injectés en NaCl et ceux injectés en PD128907 suggère que la diminution chronique des crises s'accompagne d'une disparition de la sensibilité des animaux à l'injection de l'agoniste D₃. Lors de la même expérience nous avons comptabilisé les bâillements induits par l'injection d'agoniste D₃ chez les animaux traités par le lentivirus et les animaux contrôles. L'action du PD128907 provoque une augmentation du nombre de bâillements qui est identique dans les deux groupes (environ 10 fois le nombre de bâillements après NaCl). Avant euthanasie, nous avons testé les animaux en *open field* pour vérifier l'efficacité du shRNA au niveau comportemental. Les animaux traités avec le lentivirus contenant le shRNA anti-D₃ présentent une distance parcourue dans l'*open field* qui est diminuée de près de 2/3 par rapport à ceux ayant reçu le vecteur vide. Pour valider l'effet du shRNA sur l'expression des récepteurs D₃ nous avons procédé à une autoradiographie de ces récepteurs. Cependant la qualité des autoradiographies obtenues a empêché toute quantification.

4-4 DISCUSSION

L'injection d'un lentivirus contenant un shRNA anti-D₃ dans le cœur du NAcc chez des rats GAERS provoque une diminution stable dans le temps des crises d'épilepsie-absence. Cette diminution est associée à une diminution de leur locomotion dans l'*open field*, deux situations qui confirment les résultats obtenus précédemment (Fernandes et coll., 2012). Chez les mêmes animaux, l'aggravation des crises par l'injection d'un agoniste D₃ n'est plus observée, confirmant ainsi une réduction de l'expression de ces récepteurs.

La capacité de l'agoniste à augmenter les bâillements n'est pas affectée par l'injection du lentivirus ce qui est en accord avec le fait que les neurones dopaminergiques qui contrôlent le comportement de bâillement sont situés dans l'hypothalamus (voir I. 2-3 & Tableau 1) et non dans le NAcc (Walu, 2013). L'injection systémique de PD128907 va donc pouvoir exercer son effet normalement sur ces neurones, confirmant l'existence de 2 voies dopaminergiques distinctes pour le contrôle des crises et le contrôle des bâillements (Collins, 2005; S.-M. Li et coll., 2010).

Cette expérience suggère un effet aggravant de la surexpression des RD₃, dans le cœur du NAcc, dans le contrôle des crises d'épilepsie chez le GAERS adulte, confirmant ainsi nos données pharmacologiques.

Le contrôle des crises par les RD3 dans le développement de l'épilepsie est actuellement exploré chez les rats GAERS jeunes. Ces résultats seront associés à ceux obtenus ici chez l'adulte et feront l'objet d'une publication à part.

Comme nous l'avons détaillé au cours de l'introduction, plusieurs travaux ont permis de mettre en évidence le rôle modulateur de la DA sur la survenue de crises dans de nombreuses formes d'épilepsie. Cependant, les mécanismes physiopathologiques mis en jeu dans le cadre de cette neuromodulation et l'influence précise de la neurotransmission DA sur l'ictogénèse et l'épileptogénèse, restaient à élucider (M. S. Starr, 1996). Nous avons donc formulé dans le cadre de ce travail une hypothèse stipulant que le développement d'une épilepsie idiopathique, et ici plus précisément de l'épilepsie-absence, pourrait être associé à une dérégulation du contrôle exercé par la composante dopaminergique. L'ensemble des résultats que j'ai obtenus pendant ma thèse m'ont amené à envisager l'influence du système dopaminergique sur l'épilepsie à 2 niveaux : tout d'abord au niveau de la crise survenant chez un animal adulte épileptique (ictogénèse), mais aussi au niveau du développement de ces crises, lors de l'épileptogénèse. Partant des observations obtenues dans la phase chronique de l'épilepsie ce travail cherche à comprendre l'ontogénèse des modifications du système dopaminergique.

I. REGULATIONS DU SYSTEME DOPAMINERGIQUE ET ICTOGENESE

L'EFFET DES RD_3 SUR LES CRISES PASSERAIT PAR UNE MODIFICATION DES TAUX DE DOPAMINE LIBEREE –MECANISMES PRE ET POST-SYNAPTQUES-

En utilisant des injections aiguës, par voie systémique, de 2 agonistes des RD_3 (PD128907 et quinpirole), nous avons montré que l'activation des RD_3 provoque une augmentation des DPO chez les GAERS adultes. Des injections similaires n'induisent pas de crise chez les rats non épileptiques contrôles (Deransart et coll., 2007), mais augmentent les activités épileptiformes chez des rats Wistar qui sont connus pour présenter de façon occasionnelle des DPO spontanées (Dejean et coll., 2007; MAGILL et coll., 2005; Marescaux et coll., 1992; Riekkinen et coll., 1993). De manière comparable, des ondes de haut voltage et basse fréquence peuvent être induites chez des lapins après administration de ces agents pharmacologiques (Popoli et coll., 1996). Cet effet aggravant sur les crises semble être spécifiquement lié aux RD_3 puisque l'activation des RD_1 et RD_2 n'entraîne pas d'aggravation des DPO chez le GAERS mais une aggravation (Deransart et coll., 2000; Warter et coll., 1988).

A l'inverse, nous avons pu observer que l'injection systémique d'antagonistes RD_3 (SB277011-A et SR21502) n'a pas d'effet sur la survenue des DPO alors que nous avons fait

l'hypothèse d'une éventuelle suppression des crises. Ces antagonistes sont connus pour ne pas avoir d'effet *per se* sur la quantité de dopamine extracellulaire mesurée par microdialyse ou par voltamétrie, alors que les agonistes des RD₃ ont eux un effet inhibiteur sur la libération de DA (Gainetdinov et coll., 1996; Gilbert and Cooper, 1995; Patel et coll., 1995). Ces données suggèrent que l'influence des RD₃ sur les crises d'absence ne serait pas post-synaptique, mais passerait essentiellement par un effet présynaptique inhibiteur sur la libération de dopamine (rétrocontrôle) qui, en diminuant les concentrations de dopamine, influencerait l'ictogénèse. Si l'effet des D3 était post-synaptique, il pourrait conduire à une diminution de l'excitabilité neuronale des neurones de projection du noyau accumbens, et induire des effets antiépileptiques, à l'image de ceux résultants d'une activation des récepteurs D2 injectés en intra-accumbens chez le GAERS (Deransart et coll., 2000).

Ce qui nous conduit à penser que ces effets sont bien spécifiques des D3 et non des D2 est le fait que des agonistes D₂ auraient plutôt des effets antiépileptiques et les antagonistes D₂ plutôt des effets proépileptiques comme suggéré par de nombreuses études (M. S. Starr, 1996). En particulier dans l'étude de Bozzi et al, ces auteurs ont montré que les souris KO D₂ sont beaucoup plus susceptibles de présenter une aggravation de leurs crises suite à une injection de kaïnate par rapport à des animaux contrôle (Bozzi and Borrelli, 2013). Par ailleurs cette étude présente l'originalité d'une approche pharmacogénomique, seule alternative pour fiablement discriminer les effets sur les récepteurs D₂ et D₃.

Nous avons utilisé une approche de pharmacogénomique pour diminuer l'expression des RD₃ au sein du NAcc chez le GAERS. Pour cela, nous avons injecté localement un lentivirus contenant une séquence de shRNA ciblant le gène codant pour le récepteur D₃. En accord avec notre hypothèse un tel traitement provoque une diminution des DPO chez les GAERS adultes. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature qui indiquent que l'inactivation par recombinaison homologue de l'expression des RD₃ (KO-D₃) chez la souris induit une élévation des taux de base de DA (Koeltzow et coll., 1998). De plus, on observe chez ces animaux une latence plus longue d'apparition des crises cloniques induites par la picrotoxine et une augmentation de la sensibilité aux effets des anticonvulsivants (Micale et coll., 2009). Ces données suggèrent que l'expression des RD₃, *via* son influence sur les contenus en DA extracellulaire, module la susceptibilité d'apparition des crises épileptiques. Par ailleurs, il a été montré que l'activation des RD₃ entraîne *in vitro* une augmentation de l'activité du DAT (Zapata et coll., 2007) et qu'un traitement subchronique avec un agoniste D₃ augmente la vitesse de capture de dopamine par le DAT (V_{MAX}) (Joyce et

coll., 2004). Il est donc probable que la surexpression des RD₃ entraîne chez les GAERS une augmentation d'activité du DAT.

LA LIBERATION DE DOPAMINE MET FIN A LA CRISE

Au laboratoire, des enregistrements électrophysiologiques de l'activité des neurones dopaminergiques de la SNc couplés à l'enregistrement EEG des crises chez le GAERS ont permis de suivre le déroulement temporel des variations de l'activité de ces neurones au cours des DPO (Deransart, résultats personnels). Ces travaux préliminaires indiquent que l'activité de ces neurones diminue au cours de la crise. Ainsi la diminution du tonus dopaminergique favoriserait le déroulement de la crise en cours. Au contraire, ces neurones déchargeraient de façon phasique, de manière rapide et massive, quelques centaines de millisecondes avant la fin de la crise. Associé à ce taux de décharge plus soutenu avant la fin de la crise, une libération phasique accrue de DA dans le striatum et plus particulièrement au sein du NAcc participerait ainsi à l'arrêt de la crise épileptique. Des augmentations de l'activité neuronale dopaminergique ont également été rapportées au déroulement de crises induites par stimulation électrique dans le modèle de l'embrasement de l'amygdale chez le rat (Loscher and Czuczwar, 1986).

La résolution temporelle des approches par microdialyse intracérébrale couplée à la détection des catécholamines par HPLC ne permet pas de suivre l'évolution des fluctuations de dopamine au cours des absences. Cependant, cette approche a permis de révéler des taux basaux de dopamine plus faibles chez les rats GAERS par rapport au NEC. De plus, de très fortes augmentations de libération de dopamine induites par injection de faibles doses d'amphétamine ou de perfusion de KCL sont observées chez les GAERS par rapport aux NEC. Ces données confirment des observations similaires effectuées chez des rats Krushinsky-Molodkina, sensibles aux crises audiogènes (Dorofeeva et coll., 2015), et des souris Snap25(S187A/S187A) (Watanabe et coll., 2015) indiquant une hyperréactivité dopaminergique chez ces animaux, associée à des crises.

Parallèlement, nos résultats de libération de dopamine tritiée sur synaptosomes indiquent une augmentation d'activité du DAT (augmentation du V_{max}) en absence de toute modification d'affinité. Cette augmentation d'activité n'apparaît pas liée à des modifications intrinsèques du transporteur (turn-over ou reconnaissance du site de liaison au transporteur)

mais plus vraisemblablement à une augmentation du nombre de transporteurs exprimés au niveau de la membrane plasmique. Ceci est en accord avec l'augmentation des taux de dopamine libérés par l'amphétamine que nous avons observée sur les synaptosomes de GAERS adultes par rapport aux NEC. Ainsi les animaux épileptiques adultes ne présenteraient pas de surexpression du DAT (données de nos approches autoradiographiques) mais une répartition spécifique accrue au niveau membranaire.

Ainsi, les données des approches par enregistrements électrophysiologiques, par microdialyse intracérébrale et par étude de la libération de dopamine tritiée sur synaptosomes indiquent toutes une hyperactivité fonctionnelle du DAT et une propension à tamponner les fluctuations intempestives des taux de dopamines associées à la forte récurrence des crises d'épilepsie-absence chez les GAERS.

L'AUGMENTATION D'ACTIVITE DU DAT CHEZ LES GAERS CONTRIBUE AU MAINTIEN DES CRISES

Pour évaluer l'expression du DAT, j'ai développé une collaboration avec l'équipe de Catherine Guezzi (Radiopharmaceutiques Biocliniques Inserm U1039-UJF-CHU, Grenoble) pour réaliser des acquisitions en SPECT, avec l'objectif initial de réaliser un suivi longitudinal du DAT à différents âges chez le GAERS en comparaison à des animaux contrôles. L'utilisation de DaTSCAN (ou Ioflupane [123I]), qui est un neurotraceur radiomarqué permettant de visualiser et d'étudier *in vivo* la fonction dopaminergique pré-synaptique en TEMP chez des animaux adultes, n'a pas permis de montrer de différence d'expression du DAT entre les différentes lignées de rats adultes étudiées. Cette technique nous a cependant permis d'effectuer des mesures globales d'expression du DAT prenant en compte son expression en 3 dimensions dans le cerveau et permettant des calculs de volume d'expression. Cependant, la résolution de cette technique étant limitée, nous n'avons pas pu différencier finement les structures qui expriment ce transporteur. Afin d'affiner ces résultats, les cerveaux ont été prélevés après chaque acquisition, puis coupés pour réaliser une autoradiographie du DAT *post mortem*. Cette technique a confirmé qu'aucune différence d'expression du DAT n'est observée chez les GAERS adultes par comparaison aux contrôles du même âge.

Nos résultats sont en désaccord avec ceux obtenus par Jones et collaborateurs en 2010 qui observent une diminution de 40-50% de l'expression du DAT dans le noyau caudé et le NAcc chez les GAERS adultes (Jones et coll., 2010). Cependant ces résultats ont été obtenus selon une approche autoradiographique différente avec des incubations en ligand marqué non pas par immersion de l'ensemble des lames mais lame par lame (communication personnelle) et à partir d'une autre colonie de rat GAERS dont les caractéristiques sont en partie différentes de celle de notre colonie (Powell et coll., 2014). Enfin, la forte amplitude de variation d'expression qu'ils rapportent devrait avoir des conséquences fonctionnelles et comportementales visibles chez les GAERS (troubles moteurs par exemple).

Malgré l'absence de variation dans les niveaux d'expression à l'âge adulte, nous avons recherché des modifications de l'activité du DAT en raison des liens fonctionnels avec les RD_3 . Nous avons en particulier cherché à déterminer si des modifications de l'activité du DAT pouvaient expliquer une hyperréactivité du système DA chez les GAERS. Pour cela, nous avons examiné la capacité de recapture de la DA tritiée par des synaptosomes obtenus à partir de 3 structures (hippocampe, cortex somatosensoriel et striatum). Chez les rats GAERS, une augmentation de la recapture de DA tritiée de l'ordre de 53% est observée uniquement au niveau striatal par rapport aux NEC, attestant d'une sensibilité dopaminergique modifiée. Dans les structures contrôles (cortex et hippocampe) son activité n'est pas modifiée. Par ailleurs pour tester sa réactivité, nous avons soumis ces synaptosomes à un traitement aux amphétamines, et chez les GAERS un relargage plus important (+70% par rapport aux Wistar ; +100% par rapport aux NEC) de dopamine est observé. Ces données vont dans le même sens que celles obtenues en microdialyse par Colin Deransart (voir manuscrit page 63 Figure 5) et suggèrent une augmentation de l'activité basale du DAT associée à une hyperréactivité lors de la stimulation par les amphétamines.

Par la suite ma collaboration avec Stéphanie De Gois de l'équipe de Bruno Giros ((IR2 CNRS UMR7224/INSERM U952 Laboratoire de Physiopathologie des Maladies du SNC Université Pierre et Marie Curie Paris, France) m'a permis de montrer que cette augmentation de la recapture est due à une augmentation de 20% de la V_{max} du DAT, qui témoigne de la rapidité d'entrée de la DA plus importante, sans que l'affinité du DAT pour la DA ne soit modifiée.

Dans les 3 lignées étudiées, nous observons donc un gradient dans la réactivité du DAT, qui va dans le sens d'une susceptibilité aux crises proportionnelle à la sensibilité du DAT. Les Wistar qui ont un phénotype intermédiaire au niveau du DAT peuvent présenter des activités de pointe-ondes (Dejean et coll., 2007; MAGILL et coll., 2005; Marescaux et coll., 1992; Riekkinen et coll., 1993). Les NEC en revanche présentent un DAT peu sensible à la stimulation par les amphétamines et moins actif en conditions basales, et ne présentent jamais d'activité de type pointe-ondes.

Ces changements d'activité du DAT peuvent entraîner une augmentation de la recapture de la DA induisant ainsi une diminution du tonus dopaminergique et facilitant l'apparition des crises (Figure 16). Les GAERS présentent donc :

- **une diminution de la libération tonique de dopamine telle qu'en témoigne la diminution des taux de base de dopamine extracellulaire par rapport aux animaux contrôles épileptiques,**

- **une augmentation de la réactivité du système dopaminergique (suite à l'injection d'amphétamine ou de KCl) telle qu'identifiée par microdialyse intracérébrale**

- **une augmentation de libération phasique de dopamine telle qu'indiqué par l'augmentation de la fréquence de décharge des potentiels d'action des neurones dopaminergiques de la SNc enregistrée simultanément et systématiquement à la fin de chacune des DPO et compte tenu de la fréquence élevée des crises (1 crise/min) (C. Deransart, résultats personnels).**

Ce déséquilibre de la balance dopaminergique en terme d'un déficit de la libération tonique et d'un excès de libération phasique pourrait donc conditionner l'ictogénèse. De plus l'hypodopaminergie résultant de l'augmentation d'activité du DAT peut expliquer la diminution d'activité locomotrice observée chez les GAERS comparé aux NEC et Wistar (Marques-Carneiro et coll., 2014).

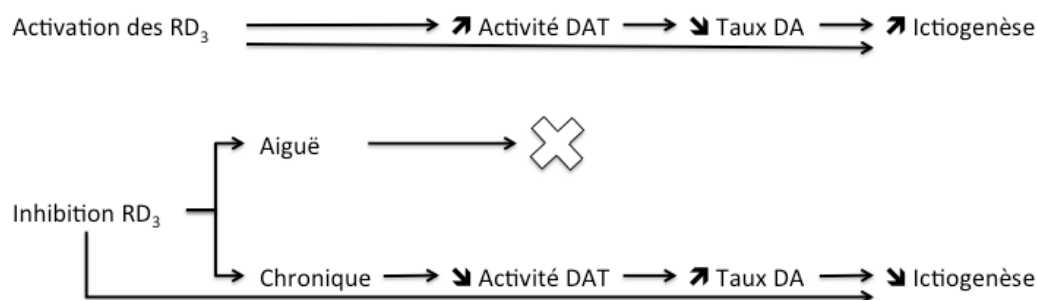


Figure 16 : Influence des RD₃ sur l'ictogénèse. L'action des RD₃ sur la génération des crises pourrait être directe ou - comme le suggèrent nos résultats - indirecte par le contrôle de l'activité du DAT, car l'inhibition des D₃ n'a pas d'effet sur les crises à court terme. Seules des manipulations chroniques visant à bloquer l'expression des RD₃ semblent avoir des effets antiépileptiques.

Pour étudier les conséquences d'une perte en dopamine sur l'induction de crises, l'équipe de Weinshenker a utilisé une souris génétiquement modifiée pour ne plus produire de dopamine (Zhou and Palmiter, 1995). La perte de dopamine n'affecte pas le développement durant l'embryogénèse mais à partir de 3-4 semaines de vie les souris deviennent hypoactives et hypophagiques et ne peuvent survivre sans intervention pharmacologique (Zhou and Palmiter, 1995). La perte chronique de dopamine chez ces souris entraîne une hypersensibilité de leurs récepteurs dopaminergiques (Kim et coll., 2000; Szczypka et coll., 1999). Aujourd'hui l'avis de la communauté scientifique est que la sensibilité dopaminergique observée chez ces souris est due à des changements dans les voies descendantes car la plupart des études montrent un taux inchangé des récepteurs D₁ et D₂ ainsi que du DAT, au niveau protéique comme au niveau ARNm (Kim et coll., 2000; Zhou and Palmiter, 1995). Dans cette étude Weinshenker et ses collaborateurs ne montrent pas d'effet de la perte de dopamine sur l'induction de crises par le PTZ ou le kaïnate. Ainsi, ces résultats montrent que la dopamine si elle n'est pas indispensable à l'apparition des crises.

Des défaillances, ou à fortiori l'absence, du système DA n'empêchent pas les crises de survenir, ce qui indique que ce système n'est pas impliqué dans la génération des crises. Cependant, des études sur l'activation des neurones dopaminergiques prouvent son implication dans la modulation des crises d'épilepsie.

Des déficits du système dopaminergique participent à l'ictogénèse ainsi qu'au contrôle des crises. Cette influence du système dopaminergique semble impliquer plus précisément le DAT et l'équilibre tonique/phasique de la libération de dopamine, sous le contrôle des RD₃.

II. REGULATIONS DU SYSTEME DOPAMINERGIQUE ET EPILEPTOGENESE

Les résultats précédents nous indiquent que les modifications du système dopaminergique influencent l'apparition de la crise. Pour comprendre comment le système dopaminergique se met en place en parallèle des crises et comment il va influencer leur apparition, nous avons étudié les paramètres de la neurotransmission dopaminergique que nous avons observés comme modifiés chez l'adulte, mais à des âges précoces, avant l'apparition de la première crise d'épilepsie-absence.

MODIFICATION D'EXPRESSION ET D'ACTIVITE DES RD₃ AVANT L'APPARITION DE LA PREMIERE CRISE

Nos résultats montrent que l'épileptogénèse chez les GAERS est associée à une augmentation des RD₃ dès P14, c'est à dire avant la survenue des premières activités oscillatoires à 5 Hz (P15) et celle des premières DPO à P25. On peut donc exclure que la surexpression des RD₃ soit une conséquence de la répétition des DPO dans ce modèle. De plus, compte tenu du rôle de ces récepteurs sur la plasticité corticale (Gurevich et coll., 1999), il est possible qu'ils puissent intervenir dans l'épileptogénèse chez les GAERS. Aux différents âges explorés, cette augmentation des RD₃ a été confirmée d'un point de vue fonctionnel par l'augmentation des bâillements induits par le quinpirole – en tant que marqueur comportemental de l'activité des RD₃. De plus, chez l'adulte, cette augmentation est confirmée par l'augmentation du nombre de crises suite à l'injection des différents agonistes utilisés dans notre étude (quinpirole et PD128907).

Nous avons pu confirmer par autoradiographie une surexpression des RD₃ à un âge précoce, chez des rats GAERS de deux semaines (P14), chez lesquels aucune pointe-onde n'est enregistré à l'EEG (Jarre et al, soumis et observations personnelles). Cette surexpression est observée au niveau du striatum et du NAcc, et se maintient à l'âge adulte. Parmi toutes les autres structures analysées (cortex somatosensoriel, cortex moteur, tubercules olfactifs), seuls

les îlots de Calleja sont également concernés par cette surexpression des RD₃ à l'âge adulte. Néanmoins, nous avons pu rapporter dans les trois lignées de rats une augmentation d'expression des RD₃ dans le cortex somatosensoriel à P14, qui disparaît à l'âge adulte (voir manuscrit page 63 Figure 1). La surexpression des RD₃ au niveau de la couche 4 du cortex somatosensoriel à P14 pourrait influencer la maturation corticale de cette région, qui a été décrite comme une région d'initiation des DPO (David et coll., 2008a; Polack et coll., 2007) et lieu d'apparition des premières décharges chez le raton (Jarre et al, soumis). En effet, les RD₃ participent à la migration et à la différenciation cellulaire (Gurevich et coll., 1999; Gurevich and Joyce, 2000), et leur surexpression dans cette région pourrait ainsi être le témoin d'une maturation du réseau thalamo-cortical et de connexions cortico-corticales différentes chez les rats GAERS par rapport aux animaux non épileptiques. Une anomalie fonctionnelle et structurale de cette région corticale, pourrait en effet être à l'origine du développement des DPO. Cette hypothèse est actuellement en cours d'investigation dans notre équipe.

Les rats GAERS, qui expriment un taux plus important de RD₃, répondent par un nombre de bâillements plus important que les rats des autres lignées à P14. Ainsi, nos résultats confirment que les RD₃ surnuméraires sont fonctionnels avant P30 (Stanwood et coll., 1997) et valident ainsi notre protocole qui a permis d'explorer de façon pharmacologique et longitudinale l'expression et la fonction des RD₃. Ce travail de paramétrage a permis pour la première fois d'étudier l'induction des bâillements par le quinpirole à différents âges. En particulier, nous avons déterminé la dose optimale qui permet de potentialiser les seuls bâillements en fonction de l'âge, sans interférence avec les redressements (effet RD₂). Nous avons ainsi pu observer en parallèle que les redressements spontanés sont plus faibles chez les GAERS par rapport aux rats non épileptiques, suggérant ainsi que les modifications du système dopaminergique ne sont pas sans répercussion sur les capacités motrices de ces animaux, dès leur plus jeune âge.

Nous avons vérifié que les modifications d'expression des RD₃ chez les rats GAERS ont des conséquences fonctionnelles, en évaluant les bâillements spontanés ou induits par l'injection systémique d'un agoniste D₂/D₃ (quinpirole), et en mesurant les effets locomoteurs induits par une injection similaire. En effet, il a été montré que l'injection de quinpirole provoque des bâillements chez le rat avec une courbe dose-réponse en U inversé (voir figure 3 page 18) (Collins, 2005). Aux faibles doses utilisées dans notre étude, l'apparition de bâillements induits par le quinpirole serait spécifique de la composante D₃. A

l'inverse, l'inhibition des bâillements observée à plus forte dose serait due à une activation des RD₂ (Collins, 2005; Levant, 1998b). De manière comparable, les agonistes D₂/D₃ ont également des effets biphasiques sur la locomotion, avec une diminution de l'activité locomotrice à faibles doses, et une augmentation pour des fortes doses qui est associée à l'activation des récepteurs D₂ (Figure 3) (S.-M. Li et coll., 2010). Dans notre travail, dès P14, mais aussi à P21 et à l'âge adulte, les rats GAERS présentent un taux de bâillements spontanés plus faibles que les rats non épileptiques. Cependant, lors de l'injection de quinpirole, ils produisent un nombre de bâillement supérieur à ceux des lignées contrôles. Ceci confirme une augmentation de la sensibilité du système dopaminergique et plus particulièrement des RD₃ chez les rats GAERS. Le faible taux de bâillement spontanés observé chez les GAERS serait peut-être la conséquence de la diminution du taux basal de dopamine chez ces animaux.

En conclusion, l'ensemble de nos résultats indique un effet pro-épileptogénique de la surexpression des RD₃. Cette surexpression précoce suggère qu'elle n'est pas une conséquence des crises, mais qu'au contraire elle contribue à leur développement. Pour déterminer un possible lien entre surexpression des RD₃ au sein du NAcc et la mise en place de l'épileptogénèse nous avons envisager de mettre en oeuvre une approche visant à contrecarrer la surexpression des RD₃ au niveau du NAcc par administration locale de lentivirus contenant un shRNA anti-D₃ chez des rats GAERS dès la naissance. Nous faisons l'hypothèse que, comme chez l'adulte, la diminution des RD₃ dans le noyau accumbens entrainerait une diminution des crises sur le long terme. Cette expérience est actuellement encore en cours pour obtenir des effectifs suffisants pour une analyse des données.

EPILEPTOGENESE ET TAUX DE DOPAMINE

L'injection d'agonistes dopaminergiques provoque une diminution du nombre de crises d'épilepsie, à l'inverse des antagonistes qui les aggravent, que ce soit en clinique ou dans les modèles animaux (Deransart and DEPAULIS, 2002; Vercueil and Hirsch, 2002). Ce constat suggère une influence positive de la DA exogène sur les crises, et pose la question de l'influence du transport de la dopamine endogène sur le développement de l'épilepsie. Nous avons mis en évidence que l'expression et l'activité du DAT sont augmentées au cours de l'épileptogénèse. Notre hypothèse était que des modifications d'expression et/ou fonctionnelles du transporteur pourraient participer à la mise en place des DPO chez les rats GAERS.

La résolution du SPECT est trop faible pour délimiter précisément le noyau accumbens chez des rats jeunes. Cette structure étant celle qui est mise en jeu dans la plupart des résultats obtenus chez l'adulte indiquant une implication du système dopaminergique chez les GAERS, nous avons utilisé des autoradiographies au GBR chez les jeunes (P14 et P21). Cette approche a permis de mettre en évidence chez le GAERS une très légère surexpression transitoire du DAT à P14 dans le striatum et le cœur du NAcc, et également à P21 au niveau du striatum seulement (moins de 5%). Les autres structures analysées (tubercules olfactifs, cortex somatosensoriel) ne présentent pas de modifications d'expression du DAT. Ces observations vont dans le même sens que celles suggérant qu'une augmentation de l'expression du DAT est associée à une augmentation de la susceptibilité aux crises induites par le kaïnate (Tripathi et coll., 2014). De même dans le modèle des souris Snap25(S187A/S187A) qui sont des animaux modifiés pour présenter une substitution d'acide aminé dans la séquence codant pour la protéine synaptosomales de 25kDa (SNAP-25) impliquée dans le relargage des neurotransmetteurs, on retrouve une diminution des taux de dopamine associée à des crises d'épilepsie-absence (Watanabe et coll., 2015).

Tout cela suggère qu'une diminution des taux de dopamine libre peut conditionner l'apparition d'un phénotype épileptique. Ces données sont en accord avec l'augmentation d'activité du DAT chez les GAERS jeunes qui sont à mettre en lien avec la diminution de l'activité motrice spontanée observée chez les GAERS à P14 et P21. En effet, les GAERS présentent moins de redressements par heure à P14 et P21 par comparaison aux autres lignées.

Une augmentation concomitante de l'expression et de l'activité du DAT chez les GAERS est donc observée avant la survenue des DPO. Ces résultats indiquant des changements dans la transmission dopaminergique avant l'apparition des premières crises est difficilement vérifiable en clinique. Cependant des comorbidités liées au système dopaminergique (comme l'hyperactivité connue pour être associée à une diminution de l'activité dopaminergique) peuvent apparaître avant le début de l'épilepsie (Kanner, 2011). Cela indique que chez l'humain des modifications du système dopaminergiques pourraient précéder l'apparition des premières crises d'épilepsie et donc participer à leur mise en place.

Chez les GAERS il existe une hypodopaminergie qui semble se développer en amont des crises et qui permet que ces crises soient générées sans entrave. Dans un cerveau normal la DA participe à l'inhibition des activités hypersynchrones pathologiques. Chez les Wistar de

telles activités existent mais restent rare et limitées grâce à un système dopaminergique fonctionnel.

Nos résultats montrent ainsi que la tonicité du système dopaminergique est altérée de façon persistante chez les GAERS, et pourrait constituer un facteur étiopathogénique dans le développement de l'épilepsie.

III. LA BALANCE TONIQUE/PHASIQUE DE LA LIBERATION DE LA DOPAMINE CLE DE LA COMPREHENSION DU SYSTEME DOPAMINERGIQUE DANS LES CRISES D'EPILEPSIE

L'ensemble des résultats obtenus lors de la phase chronique comme durant le développement de l'épilepsie pointe du doigt un déséquilibre de la balance tonique/phasique de la dopamine. Pour comprendre comment ce déséquilibre influence l'apparition des crises, nous avons essayé de le rétablir avant l'apparition des premières crises d'épilepsie.

EFFETS BENEFIQUES D'UN TRAITEMENT RETABLISSANT LA BALANCE TONIQUE/PHASIQUE

Dans un premier temps, nous avons analysé l'effet d'un traitement aigu d'aripiprazole, injecté par voie systémique. L'aripiprazole est un neuroleptique qui a pour propriété de stabiliser la balance tonique/phasique de la dopamine (Di Paola Giovambattista De Sarro et coll., 2012). Nos résultats EEG indiquent une aggravation des différents paramètres des crises entre 20 et 40 min après l'injection aiguë des différentes doses d'aripiprazole chez l'adulte. Cette augmentation du nombre de crises pourrait être due à la diminution de la libération phasique de DA induite par l'aripiprazole. En effet l'aripiprazole à court terme semble préférentiellement agir sur la composante phasique de la libération de dopamine (Etievant et coll., 2009). Or, l'activité dopaminergique phasique semble avoir un effet protecteur sur l'apparition d'une crise (ictogénèse). Ces résultats sont concordants avec ceux observés en cliniques ou quelques cas d'apparition de crises d'épilepsie ont été observé chez des patients recevant un traitement à l'aripiprazole (Thabet et coll., 2013). Cependant, une étude clinique sur une cohorte de patients schizophrènes, déments ou souffrants de désordres émotionnels traités par aripiprazole a montré une diminution du risque de crises (Bloechliger et coll., 2015). Par la suite, nous avons testé l'effet de ce même agent pharmacologique dans le cadre

d'un traitement chronique. En effet, il a été montré que l'administration chronique d'aripiprazole a pour effet de stabiliser la neurotransmission DA, en provoquant à la fois une augmentation de la DA tonique, et une diminution de sa composante phasique (Hamamura and Harada, 2007; Tadori et coll., 2008).

Sur la base des données neurochimiques que nous avons accumulées chez le GAERS, nous avons fait l'hypothèse que l'administration chronique d'aripiprazole pourrait permettre de corriger la dérégulation de la balance DA tonique/phasique, et ainsi influencer de manière directe l'épileptogenèse (Figure 17). Effectivement, le traitement, dès la naissance, des animaux épileptiques a permis non seulement de retarder l'apparition des crises, mais également de diminuer leur nombre et leur durée. Chez ces mêmes animaux, la mesure du niveau d'expression des RD₃ par autoradiographie nous a permis de montrer que cette amélioration est associée à une diminution d'expression des RD₃ chez le GAERS, spécifiquement dans le NAcc. L'ensemble de ces données suggère donc un rôle central de la modification d'expression des RD₃ au sein de cette structure cérébrale dans l'apparition des crises épileptiques. Après 33 jours d'injections quotidiennes d'aripiprazole les rats présentent une amélioration de leur état. Le traitement chronique à l'aripiprazole va agir sur le nombre de crises mais aussi sur leur durée moyenne, impliquant que les modifications qu'il entraîne vont conditionner aussi bien l'arrivée d'une crise que son interruption. L'effet observé n'est pas du à un effet à court terme de l'aripiprazole puisque les injections sont réalisées à la suite des enregistrements EEG, séparant ainsi l'enregistrement de l'injection précédente de 24h.

Il semble donc que les circuits neuronaux contrôlant les crises, mis au contact dès la naissance avec l'aripiprazole subissent des modifications suffisantes pour influencer à moyen terme la genèse et l'arrêt des crises. En 2013, au moment où nous menions ces expériences Russo E et ses collaborateurs ont montré qu'un traitement subchronique à l'aripiprazole diminuait les crises d'épilepsie-absence chez les rats WAG/Rij, tout en améliorant les comorbidités associées comme le comportement de type dépressif ou anxieux (Di Paola Giovambattista De Sarro et coll., 2012). Dans des modèles de crises induites par injection de pentylènetétrazole, Shafaroodi et ses collaborateurs montrent aussi une augmentation du délai d'apparition des crises. Chez la souris un traitement subchronique à l'aripiprazole a aussi un effet supprimeur sur les crises induites par électrochocs (Moezi et coll., 2015). Le rétablissement des taux de dopamine par l'aripiprazole contribuerait ainsi à son effet antiépileptique.

Les rats GAERS adultes présentent une diminution du niveau basal de dopamine extracellulaire dans le NAcc, associé à une augmentation de la réactivité du système DA lors de l'injection d'amphétamine ou de KCl. L'augmentation précoce de l'expression et de l'activité des RD_3 et du DAT semble être à l'origine d'une diminution du tonus dopaminergique dont les effets peuvent faciliter la mise en place de l'épileptogenèse. Cela pourrait faciliter la transformation progressive des activités rythmiques oscillatoires à 5 Hz en DPO, ainsi que leur aggravation, participant ainsi au développement du phénotype épileptique chez les GAERS.

Chez des rats pilocarpine, les travaux de Igor Y. Yakushev, en 2010 suggèrent que les récepteurs RD_2 - D_3 dans le striatum sont activés lors de la généralisation des crises limbiques et qu'ils exercent un effet inhibiteur sur la propagation des crises (Yakushev et coll., 2010). Ces auteurs suggèrent qu'une augmentation du tonus dopaminergique pourrait être induite directement ou indirectement par les crises elles-mêmes ou par un effet excitateur du glutamate sur la libération de dopamine via les neurones du circuit corticostriatal (qui expriment le glutamate comme neurotransmetteur principal) (Al-Tajir and M. S. Starr, 1993).

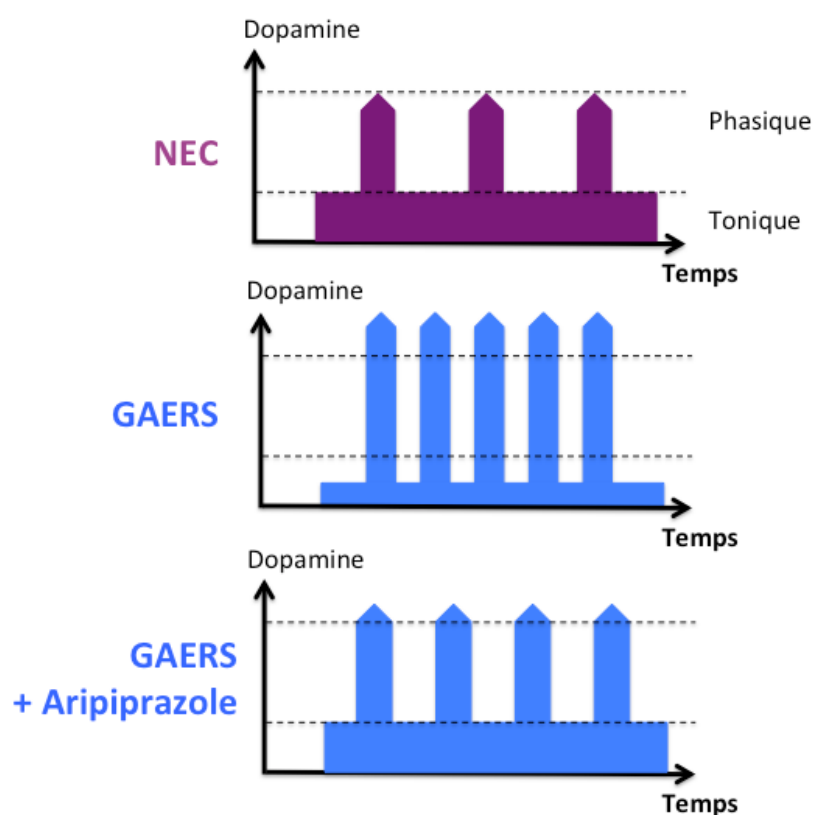


Figure 17 : Schémas représentant les effets de l'aripiprazole sur la balance tonique/phasique chez le GAERS.

La prise chronique d'aripiprazole, en stabilisant la balance dopaminergique tonique/phasique chez le GAERS lors de la maturation retarde l'apparition des crises et en diminue la gravité. **La balance dopaminergique tonique/phasique est un facteur clé de la mise en place des crises d'épilepsie.**

IV. DOPAMINE ET EPILEPSIE : UNE QUESTION DE COMORBIDITE ?

LES COMORBIDITES DE L'EPILEPSIE LIEES AU SYSTEME DOPAMINERGIQUE

Plusieurs données de la littérature montrent une aggravation des crises d'épilepsie lors du blocage de la transmission DA. La plupart des antagonistes utilisés comme neuroleptiques abaissent le seuil des crises et augmentent le risque de survenue des crises d'épilepsie (Alldredge and Lowenstein, 1999; Arana, 2000; Hedges et coll., 2003). Ainsi, la chlorpromazine, un antipsychotique de première génération, est associée à un grand risque d'induction de crise en clinique. Par contre, l'halopéridol, le fluphénazine, le pimozide et le trifluopérazine sont associés à un faible risque de crise. Parmi les antipsychotiques de seconde génération, la clozapine et l'olanzapine sont ceux qui sont le plus fréquemment associés à des crises d'épilepsie, alors que la rispéridone présente un risque moindre (Hedges et coll., 2003).

Chez l'animal, un traitement chronique avec la clozapine facilite des crises épileptiques (kindling) (Stevens et coll., 1996). De plus, les traitements avec des antipsychotiques durant les sevrages à l'éthanol peuvent augmenter les crises audiogènes, alors que la rispéridone, la quétiapine, et la ziprasidone diminuent ces crises (Celikyurt et coll., 2011). Les traitements avec de la clozapine ou de l'olanzapine ne modifient ni leur incidence ni leur latence de survenue (Kayir and Uzbay, 2008; Unsalan et coll., 2008).

Chez les WAG-Rij une diminution du tonus dopaminergique est associé à un phénotype de dépression (Sarkisova et coll., 2008; 2003). L'administration d'un antagoniste D_2/D_3 (Raclopride) va aggraver les symptômes dépressifs chez ces rats, à l'inverse l'injection de parlodel un agoniste D_2/D_3 diminue ces symptômes (Sarkisova et coll., 2008). La dépression associée à l'épilepsie dans ce modèle est dopamine-dépendante. D'autres auteurs suggèrent que ces modifications entraîneraient des désordres de type psychotiques et dépressifs chez les GAERS (Bouilleret et coll., 2008; Jones et coll., 2010; 2008).

De nombreux patients atteints d'épilepsie souffrent aussi de comorbidités associées (Kanner, 2011; Marcangelo and Ovsiew, 2007). Par exemple les patients qui souffrent d'épilepsie sont plus souvent victimes de dépression que la population générale, suggérant que les crises augmentent le risque de dépression, et inversement, les patients souffrants de dépression, ou issus de familles avec un historique de dépression, ont plus de risque de développer une épilepsie (Hesdorffer et coll., 2006). Plus la durée de l'épilepsie d'un patient augmente et plus le risque de comorbidité de type dépression augmente (Gonçalves and Cendes, 2011). Une hypothèse est que les troubles de l'humeur et l'épilepsie sont deux manifestations différentes d'un même substrat moléculaire. Un support commun de ces 2 pathologies est le système dopaminergique (Kanner et coll., 2012). Dans les 2 cas on observe une diminution du taux de dopamine striatale (Rocha et coll., 2014).

Certains auteurs ont testé des co-traitements associant des antiépileptiques classiques à des agonistes dopaminergiques pour des patients présentant des comorbidités associées à leur épilepsie (hyperactivité ou troubles bipolaires) et observent une amélioration des symptômes des comorbidités ainsi qu'une disparition des crises (H. Emory et coll., 2015).

AUTRES PATHOLOGIES ASSOCIEES A UN DESEQUILIBRE DE LA BALANCE TONIQUE/PHASIQUE

Dans d'autres pathologies non motrices comme la schizophrénie ou les déficits de l'attention, le transporteur de la dopamine voit son activité modifiée. Dans les deux pathologies, le transporteur de la dopamine est plus actif que dans la population normale. Selon nos résultats, la modification d'activité du transporteur de la dopamine chez les épileptiques est identique à celle observée dans les études traitant de la schizophrénie.

De très nombreux recoupements anatomo-fonctionnels entre trouble du déficit de l'attention avec ou sans hyperactivité (TDAH) et l'épilepsie ont été rapportés (Hamoda et coll., 2009; Hesdorffer et coll., 2006; Kaufmann et coll., 2009; Suffin and W. H. Emory, 1995). Les TDAH sont un facteur de risque pour l'épilepsie, et inversement (Dunn et coll., 2009). D'après Hesdorffer et al. (2004), plus de 28–39% des patients épileptiques présentent une hyperactivité et une impulsivité plus importante que des patients contrôles, et plus de 30% des enfants souffrants de TDAH présentent des activités subcliniques épileptiformes lors d'un enregistrement EEG (Dunn et coll., 2009; Hamoda et coll., 2009). Plus de 80% des enfants

souffrants de TDAH associé à ces activités subcliniques épileptiformes à l'EEG (excès dans les fréquences tétha sur le lobe frontal et hypercohérence interhémisphérique, qui ne répondent pas de manière efficace par le traitement de première intention le méthylphénidate (ritaline)), vont en revanche être améliorés par la prescription de traitements antiépileptiques (Suffin and W. H. Emory, 1995).

Le méthylphénidate (MPH) est un stimulant du SNC dérivé des pipéridines et proche, d'un point de vue pharmacologique, des amphétamines. Il est utilisé en pharmacie pour la fabrication de psychostimulants. Sa principale indication est le TDAH, et secondairement pour traiter la narcolepsie ou l'hypersomnie. Son action passe par une activité inhibitrice de la recapture des catécholamines, et particulièrement de la DA dont il augmente la concentration ainsi que celle de la noradrénaline dans la fente synaptique

Gross et ses collaborateurs ont montré que les patients épileptiques présentent une amélioration de leur qualité de vie avec un traitement au MPH (Gross-Tsur, 1999). Depuis, plusieurs études ont confirmé à la fois une diminution des crises et une amélioration de la qualité de vie des patients qui sont traités avec cette substance pour des troubles de l'attention en plus de leur épilepsie (Radziuk et coll., 2015). L'efficacité du MPH est particulièrement remarquable dans les épilepsies « difficiles à traiter » (Pearson et coll., 2013).

En plus de l'interconnexion mutuelle des symptômes cliniques, des altérations similaires dans la dégradation du tryptophane, et du métabolisme des vitamines B6 dans ces 2 pathologies indiquent un fond d'altérations biochimiques commun pointant vers des anomalies développementales des systèmes cathécolaminergiques (Dolina et coll., 2012; 2014). Le système dopaminergique semble être ainsi un dénominateur commun dans ces 2 pathologies. L'étude du développement du système dopaminergique pourrait expliquer la mise en place de ces 2 maladies. Afin d'étudier les modifications métaboliques chez les GAERS j'ai participé à une étude en RMN HRMASS mesurant de nombreux métabolites présents dans différentes parties du cerveau au cours du développement. Cette étude met en évidence un profil métabolique des GAERS différent de celui des rats Wistar et NEC (manuscrit N°2). Cette étude nous a permis d'établir que les 3 souches étudiées présentaient des profils métaboliques distincts, ces molécules pourraient influencer l'activité des neurones dopaminergiques et participer à la mise en place du phénotype épileptique.

Des défaillances dans la balance tonique/phasique de la libération de dopamine ont été mises en jeu dans d'autres pathologies. Dans les troubles de l'attention, Badgaiyan décrit en

2015 une augmentation de la composante phasique de la dopamine associée à une diminution de la composante tonique (Badgaiyan et coll., 2015). Des modifications allant dans le même sens sont retrouvées dans la schizophrénie (Howe et coll., 2015; Oshibuchi et coll., 2009). Dans cette pathologie, mais aussi dans la maladie de Parkinson ou encore dans certaines dépressions, une balance tonique/phasique anormale est décrite dans le NAcc mais aussi dans le cortex préfrontal (GOTO et coll., 2007; Sokoloff et coll., 2006a; 2012). De même cette balance est dérégulée au niveau de la moëlle épinière dans le syndrome des jambes sans repos (Clemens, 2004). Nos résultats indiquent que de la même façon un défaut de cette balance pourrait être impliquée dans l'épileptogenèse et plus tard dans le maintien de la susceptibilité aux crises.

Dans l'ensemble de ces pathologies le même déséquilibre de la balance tonique/phasique est observé, avec une augmentation de la composante phasique et une diminution de la dopamine tonique. Seule la localisation de cette dérégulation diffère, elle a lieu au niveau du cortex pré-frontal dans la schizophrénie, au niveau de la moelle épinière dans le syndrome des jambes sans repos, dans le NAcc pour la schizophrénie, les TDAH et l'épilepsie absence. Une prise en charge ciblée de ces dérégulations est une cible thérapeutique à envisager.

CONCLUSION GENERALE

Les modifications du système dopaminergique apparaissent avant la première crise d'épilepsie chez le GAERS, et se maintiennent au cours de sa vie. Si elles ne sont pas directement un déclencheur de crise, elles participent tout de même à l'installation de celles-ci ainsi qu'à leur chronicité. L'ensemble de ces modifications peut également participer aux comorbidités associées à l'épilepsie.

Nos données sont en accord avec les études cliniques qui indiquent une réduction de l'activité dopaminergique chez les patients épileptiques dans différents syndromes (Biraben et coll., 2004; Landvogt et coll., 2010; Werhahn et coll., 2006). Dans les épilepsies mesio-temporales on retrouve une augmentation d'expression du DAT (Rocha et coll., 2011) et une réduction de marquage à la L-Dopa dans les épilepsies à chromosome 20 en anneau (Biraben et coll., 2004; Del Sole A et coll., 2010). Cela suggère que nos conclusions pourraient être étendues à d'autres syndromes d'épilepsie et que la transmission dopaminergique serait altérée chez la plupart des patients épileptiques. L'étude clinique en cours "Bye bye dopa" réalisée dans notre équipe devrait permettre de répondre à cette question.

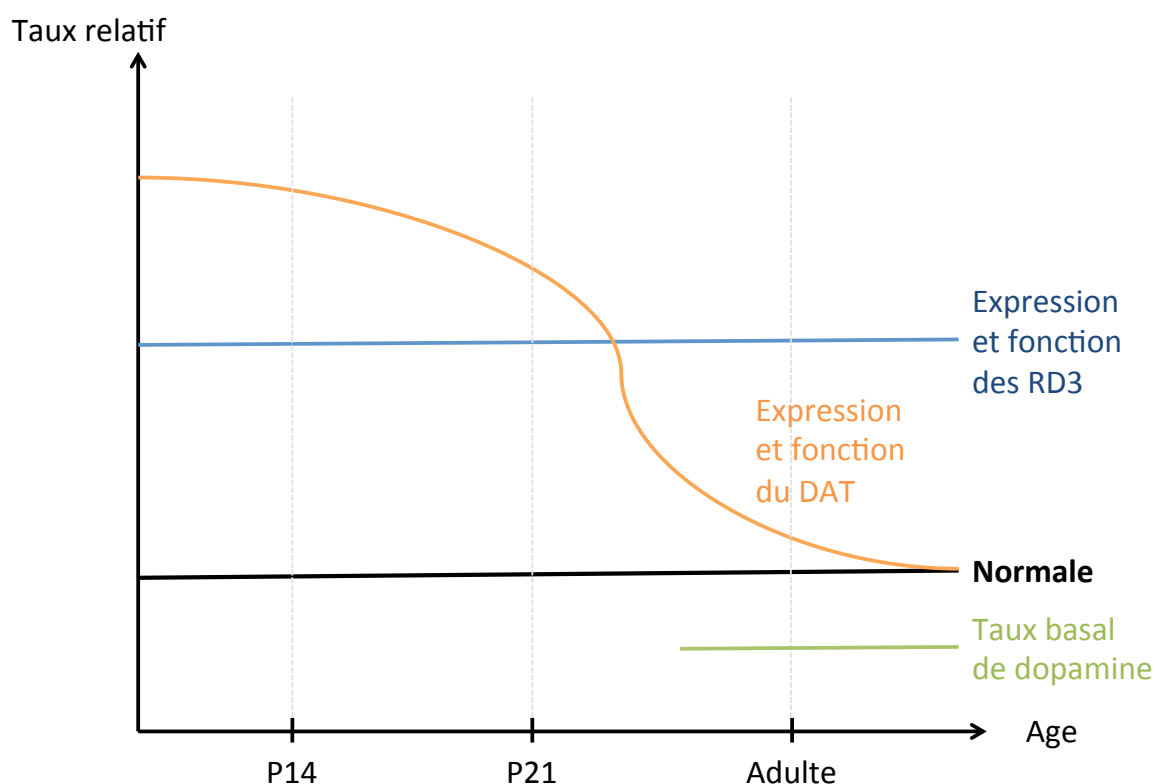


Figure 18 : Schéma représentant nos résultats sur l'expression relative au cours du temps des différents acteurs de la neurotransmission dopaminergique chez les GAERS comparé à une

valeur normale représentant la valeur trouvée chez les rats non épileptiques (Wistar et NEC).

L'ensemble de mes résultats ainsi que ceux de la littérature récente amènent à repenser l'influence du système dopaminergique sur les crises d'épilepsie d'un point de vue dynamique, prenant en compte les aspects toniques et phasiques de sa régulation. Ils ouvrent aussi la voie à l'étude de l'influence de ce système dans la mise en place des crises d'épilepsie (Figure 18).

D'un point de vue thérapeutique, ces données ouvrent des possibilités nouvelles pour des co-thérapies associant les antiépileptiques classiques avec des molécules à tropisme dopaminergique. Ces stratégies thérapeutiques pourraient contribuer à améliorer la qualité de vie des patients en agissant à la fois sur les crises et sur les comorbidités associées à l'épilepsie.

REFERENCES

- Ahmad, S., Fowler, L.J., Whitton, P.S., 2005. Lamotrigine, carbamazepine and phenytoin differentially alter extracellular levels of 5-hydroxytryptamine, dopamine and amino acids. *Epilepsy Research* 63, 141–149. doi:10.1016/j.eplesyres.2005.02.002
- Aires, C., Luis, P., Ruiter, J., Ijlst, L., 2008. Valproic acid metabolism and its effects on mitochondrial fatty acid oxidation: a review. *Journal of inherited ...*
- Al-Tajir, G., Chandler, C.J., Starr, B.S., Starr, M.S., 1990a. Opposite effects of stimulation of D 1 and D 2 dopamine receptors on the expression of motor seizures in mouse and rat. *Neuropharmacology*.
- Al-Tajir, G., Starr, M.S., 1993. Disordered dopamine neurotransmission in the striatum of rats undergoing pilocarpine-induced generalized seizures, as revealed by microdialysis. *Journal of Neural Transmission-Parkinson's Disease ...*
- Al-Tajir, G., Starr, M.S., 1991. D-2 agonists protect rodents against pilocarpine-induced convulsions by stimulating D-2 receptors in the striatum, but not in the substantia nigra. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 39, 109–113.
- Al-Tajir, G., Starr, M.S., 1990. Anticonvulsant action of SCH 23390 in the stratum of the rat. *Eur. J. Pharmacol.*
- Al-Tajir, G., Starr, M.S., Starr, B.S., 1990b. Proconvulsant effect of SKF 38393 mediated by nigral D 1 receptors. *Eur. J. Pharmacol.*
- Alam, A.M., Starr, M.S., 1993. Dopaminergic modulation of pilocarpine-induced motor seizures in the rat: the role of hippocampal D 2 receptors. *Neuroscience*.
- Alam, A.M., Starr, M.S., 1992. Dopaminergic modulation of pilocarpine-induced motor seizures in the rat: the role of hippocampal dopamine D 1 receptors. *Eur. J. Pharmacol.*
- Albin, R.L., Young, A.B., Penney, J.B., 1989. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends in Neurosciences* 12, 366–375.
- Alldredge, B.K., Lowenstein, D.H., 1999. Status epilepticus: new concepts. *Current Opinion in Neurology*.
- Arana, G.W., 2000. An overview of side effects caused by typical antipsychotics. *J Clin Psychiatry* 61 Suppl 8, 5–11– discussion 12–3.
- Ariano, M.A., Sibley, D.R., 1994. Dopamine receptor distribution in the rat CNS: elucidation using anti-peptide antisera directed against D 1A and D 3 subtypes. *Brain Research*.
- Badgaiyan, R.D., Sinha, S., Sajjad, M., Wack, D.S., 2015. Attenuated Tonic and Enhanced Phasic Release of Dopamine in Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *PLoS ONE* 10, e0137326. doi:10.1371/journal.pone.0137326
- Baf, M., Subhash, M.N., Lakshmana, K.M., 1994. Sodium valproate induced alterations in monoamine levels in different regions of the rat brain. *Neurochemistry ...*
- Bai, Z., LU, G., Zhang, Z., WANG, Z., ZHONG, Y., 2010. Application of diffusion tensor imaging to idiopathic generalized epilepsy [J]. *Journal of Medical ...*
- Baldo, B.A., Kelley, A.E., 2007. Discrete neurochemical coding of distinguishable motivational processes: insights from nucleus accumbens control of feeding. *Psychopharmacology (Berl.)* 191, 439–459. doi:10.1007/s00213-007-0741-z
- Bar-Gad, I., Morris, G., Bergman, H., 2003. Information processing, dimensionality reduction and reinforcement learning in the basal ganglia. *Prog. Neurobiol.*
- Barone, P., Palma, V., de Bartolomeis, A., 1992. Dopaminergic regulation of epileptic activity. *Neurochemistry ...*
- Barone, P., Parashos, S.A., Palma, V., Marin, C., 1990. Dopamine D 1 receptor modulation of pilocarpine-induced convulsions. *Neuroscience*.
- Bassareo, V., Di Chiara, G., 1999. Differential responsiveness of dopamine transmission to food-stimuli in nucleus accumbens shell/core compartments. *NSC* 89, 637–641.
- Bates, M.D., Gingrich, J.A., Bunzow, J.R., Falardeau, P., Dearth, A., Senogles, S.E., Civelli, O., Caron, M.G., 1990. Molecular characterization of dopamine receptors. *Am. J. Hypertens.* 3, 29S–33S.
- Beaulieu, J.M., Gainetdinov, R.R., 2011. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. *Pharmacological Reviews* 63, 182–217. doi:10.1124/pr.110.002642
- Ben-Ari, Y., Tremblay, E., Riche, D., Ghilini, G., Naquet, R., 1981. ... administration of kainic acid, bicuculline or pentetrazole: metabolic mapping using the deoxyglucose method with special reference to the pathology of epilepsy. *Neuroscience*.
- Bennett, F.E., 1953. Intracarotid and intravertebral metrazol in petit mal epilepsy. *Neurology* 3, 668–673.
- Berendse, H.W., Groenewegen, H.J., Lohman, A.H., 1992. Compartmental distribution of ventral striatal neurons projecting to the mesencephalon in the rat. *Journal of Neuroscience* 12, 2079–2103.
- Bermejo, P.E., Ruiz-Huete, C., Anciones, B., 2010. Zonisamide in managing impulse control disorders in Parkinson's disease. *J. Neurol.* 257, 1682–1685. doi:10.1007/s00415-010-5603-7
- Berns, G.S., McClure, S.M., Pagnoni, G., Montague, P.R., 2001. Predictability modulates human brain response

- to reward. *The Journal of Neuroscience* 21, 2793–2798.
- Berridge, C.W., Stratford, T.L., Foote, S.L., Kelley, A.E., 1997. Distribution of dopamine beta-hydroxylase-like immunoreactive fibers within the shell subregion of the nucleus accumbens. *Synapse* 27, 230–241. doi:10.1002/(SICI)1098-2396(199711)27:3<230::AID-SYN8>3.0.CO;2-E
- Biraben, A., Semah, F., Ribeiro, M.-J., Douaud, G., Remy, P., Depaulis, A., 2004. PET evidence for a role of the basal ganglia in patients with ring chromosome 20 epilepsy. *Neurology* 63, 73–77.
- Birioukova, L.M., Midzyanovskaya, I.S., Lensu, S., TUOMISTO, L., van Luijtelaa, G., 2005. Distribution of D1-like and D2-like dopamine receptors in the brain of genetic epileptic WAG/Rij rats. *Epilepsy Research* 63, 89–96. doi:10.1016/j.eplepsyres.2004.12.001
- Bloechliger, M., Rüegg, S., Jick, S.S., Meier, C.R., Bodmer, M., 2015. Antipsychotic drug use and the risk of seizures: follow-up study with a nested case-control analysis. *CNS Drugs* 29, 591–603. doi:10.1007/s40263-015-0262-y
- Bonhaus, D.W., Walters, J.R., McNamara, J.O., 1986. Activation of substantia nigra neurons: role in the propagation of seizures in kindled rats. *Journal of Neuroscience* 6, 3024–3030.
- Bonuccelli, U., Garant, D.S., Maggio, R., Fariello, R., 1994. Motor expression of kainic acid seizures is attenuated by dopamine depletion in mice. *Brain Research* 657, 269–274.
- BOSNYAKOVA, D., GABOVA, A., Zharikova, A., Gnezditski, V., KUZNETSOVA, G., van Luijtelaa, G., 2007. Some peculiarities of time-frequency dynamics of spike-wave discharges in humans and rats. *CLINICAL NEUROPHYSIOLOGY* 118, 1736–1743. doi:10.1016/j.clinph.2007.04.013
- Bouilleret, V., Semah, F., Biraben, A., Taussig, D., Chassoux, F., Syrota, A., Ribeiro, M.-J., 2005. Involvement of the basal ganglia in refractory epilepsy: an 18F-fluoro-L-DOPA PET study using 2 methods of analysis. *J. Nucl. Med.* 46, 540–547.
- Bouilleret, V., Semah, F., Chassoux, F., Mantzaridez, M., Biraben, A., Trebossen, R., Ribeiro, M.-J., 2008. Basal ganglia involvement in temporal lobe epilepsy: a functional and morphologic study. *Neurology* 70, 177–184. doi:10.1212/01.wnl.0000297514.47695.48
- Boulay, D., Depoortere, R., Perrault, G., Borrelli, E., Sanger, D.J., 1999. Dopamine D2 receptor knock-out mice are insensitive to the hypolocomotor and hypothermic effects of dopamine D2/D3 receptor agonists. *Neuropharmacology* 38, 1389–1396.
- Bozzi, Y., Borrelli, E., 2013. The role of dopamine signaling in epileptogenesis. *Frontiers in cellular neuroscience* 7. doi:10.1007/s12031-012-9927-x
- Brodie, M.J., Dichter, M.A., 1997. Established antiepileptic drugs. *Seizure*.
- Brog, J.S., Salyapongse, A., Deutch, A.Y., Zahm, D.S., 1993. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the “accumbens” part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *J. Comp. Neurol.* 338, 255–278. doi:10.1002/cne.903380209
- Bunzow, J.R., Van Tol, H.H., Grandy, D.K., Albert, P., Salon, J., Christie, M., Machida, C.A., Neve, K.A., Civelli, O., 1988. Cloning and expression of a rat D2 dopamine receptor cDNA. *Nature* 336, 783–787. doi:10.1038/336783a0
- Burke, K., Chandler, C.J., Starr, B.S., Starr, M.S., 1990. Seizure promotion and protection by D-1 and D-2 dopaminergic drugs in the mouse. ... *Biochemistry and Behavior*.
- Buzsaki, G., Smith, A., Berger, S., Fisher, L.J., Gage, F.H., 1990. Petit mal epilepsy and parkinsonian tremor: hypothesis of a common pacemaker. *NSC* 36, 1–14.
- Canevini, M.P., Sgro, V., Zuffardi, O., Canger, R., Carozzo, R., Rossi, E., Ledbetter, D., Minicucci, F., Vignoli, A., Piazzini, A., Guidolin, L., Saltarelli, A., dalla Bernardina, B., 1998. Chromosome 20 ring: a chromosomal disorder associated with a particular electroclinical pattern. *Epilepsia* 39, 942–951.
- Carlsson, A., 1959. The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacological Reviews* 11, 490–493.
- Carriere, C.H., Kang, N.H., Niles, L.P., 2014. Neuroprotection by valproic acid in an intrastriatal rotenone model of Parkinson's disease. *Neuroscience* 267, 114–121. doi:10.1016/j.neuroscience.2014.02.028
- Castro-Hernández, J., Afonso-Oramas, D., 2015. Prolonged treatment with pramipexole promotes physical interaction of striatal dopamine D3 autoreceptors with dopamine transporters to reduce dopamine uptake. *Neurobiology of ...*
- Cavalheiro, E.A., Turski, L., 1986. Intrastriatal N-methyl-D-aspartate prevents amygdala kindled seizures in rats. *Brain Research* 377, 173–176.
- Celikyurt, I.K., Kayir, H., Ulak, G., Erden, F.B., 2011. Effects of risperidone, quetiapine and ziprasidone on ethanol withdrawal syndrome in rats. *Progress in Neuro- ...*
- Chen, P.S., Peng, G.S., Li, G., Yang, S., Wu, X., Wang, C.C., 2006. Valproate protects dopaminergic neurons in midbrain neuron/glia cultures by stimulating the release of neurotrophic factors from astrocytes. *Molecular ...*
- Chen, Y., Lu, J., Pan, H., Zhang, Y., Wu, H., Xu, K., Liu, X., Jiang, Y., Bao, X., Yao, Z., Ding, K., Lo, W.H.Y., Qiang, B., Chan, P., Shen, Y., Wu, X., 2003. Association between genetic variation of CACNA1H and

- childhood absence epilepsy. *Ann Neurol.* 54, 239–243. doi:10.1002/ana.10607
- Cheung, H., Kamp, D., Harris, E., 1992. An in vitro investigation of the action of lamotrigine, a novel potential antiepileptic drug: II. Neurochemical studies on the mechanism of action. *Epilepsy Res.*
- Chipaux, M., Charpier, S., Polack, P.O., 2011. Chloride-mediated inhibition of the ictogenic neurones initiating genetically-determined absence seizures. *Neuroscience* 192, 642–651. doi:10.1016/j.neuroscience.2011.06.037
- Ciliax, B.J., Drash, G.W., Staley, J.K., Haber, S., Mobley, C.J., Miller, G.W., Mufson, E.J., Mash, D.C., Levey, A.I., 1999. Immunocytochemical localization of the dopamine transporter in human brain. *J. Comp. Neurol.* 409, 38–56.
- Ciomas, C., Wahlin, T.-B.R., Espino, C., Savic, I., 2010. The dopamine system in idiopathic generalized epilepsies: Identification of syndrome-related changes. *NeuroImage* 51, 606–615. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.02.051
- Ciomas, C., Wahlin, T.-B.R., Jucaite, A., Lindstrom, P., Halldin, C., Savic, I., 2008a. Reduced dopamine transporter binding in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Neurology* 71, 788–794. doi:10.1212/01.wnl.0000316120.70504.d5
- Ciomas, C., Wahlin, T.-B.R., Jucaite, A., Lindstrom, P., Halldin, C., Savic, I., 2008b. Reduced dopamine transporter binding in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Neurology* 71, 788–794. doi:10.1212/01.wnl.0000316120.70504.d5
- Clemens, S., 2004. Conversion of the Modulatory Actions of Dopamine on Spinal Reflexes from Depression to Facilitation in D3 Receptor Knock-Out Mice. *The Journal of Neuroscience* 24, 11337–11345. doi:10.1523/JNEUROSCI.3698-04.2004
- Coenen, A., van Luijckelaar, E., 2003. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behavior genetics.*
- Collins, G.T., 2005. Dopamine Agonist-Induced Yawning in Rats: A Dopamine D3 Receptor-Mediated Behavior. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 314, 310–319. doi:10.1124/jpet.105.085472
- Collins, G.T., Eguibar, J.R., 2010. Neuropharmacology of yawning. *Front Neurol Neurosci* 28, 90–106. doi:10.1159/000307085
- Collins, G.T., Newman, A.H., Grundt, P., Rice, K.C., Husbands, S.M., Chauvignac, C., Chen, J., Wang, S., Woods, J.H., 2007. Yawning and hypothermia in rats: effects of dopamine D3 and D2 agonists and antagonists. *Psychopharmacology (Berl.)* 193, 159–170. doi:10.1007/s00213-007-0766-3
- Contreras-Vidal, J.L., Schultz, W., 1999. A predictive reinforcement model of dopamine neurons for learning approach behavior. *Journal of computational neuroscience.*
- Coulter, D.A., Huguenard, J.R., Prince, D.A., 1989. Specific petit mal anticonvulsants reduce calcium currents in thalamic neurons. *Neuroscience Letters.*
- Cragg, S.J., Hawkey, C.R., 1997. Comparison of serotonin and dopamine release in substantia nigra and ventral tegmental area: region and species differences. *Journal of ...*
- Cragg, S.J., Nicholson, C., Kume-Kick, J., Tao, L., Rice, M.E., 2001. Dopamine-mediated volume transmission in midbrain is regulated by distinct extracellular geometry and uptake. *Journal of Neurophysiology* 85, 1761–1771.
- Cragg, S.J., Rice, M.E., 2004. DAncing past the DAT at a DA synapse. *Trends in Neurosciences* 27, 270–277. doi:10.1016/j.tins.2004.03.011
- Cruz, M., Marinho, V., Fontenelle, L.F., Engelhardt, E., Laks, J., 2008. Topiramate may modulate alcohol abuse but not other compulsive behaviors in frontotemporal dementia: case report. *Cogn Behav Neurol* 21, 104–106. doi:10.1097/WNN.0b013e31816bdf73
- Csernansky, J.G., Kerr, S., Pruthi, R., Prosser, E.S., 1988a. Mesolimbic dopamine receptor increases two weeks following hippocampal kindling. *Brain Research* 449, 357–360.
- Csernansky, J.G., Mellentin, J., Beauclair, L., Lombrozo, L., 1988b. Mesolimbic dopaminergic supersensitivity following electrical kindling of the amygdala. *Biological Psychiatry* 23, 285–294.
- D'Souza, A., Onem, E., Patel, P., La Gamma, E.F., 2009. Valproic acid regulates catecholaminergic pathways by concentration-dependent threshold effects on TH mRNA synthesis and degradation. *Brain Research.*
- Danober, L., Deransart, C., Depaulis, A., Vergnes, M., Marescaux, C., 1998. Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog. Neurobiol.* 55, 27–57.
- Dantzer, R., 1986. The pig as a model for behavioral research. *Lab. Anim. Sci.* 36, 362–365.
- David, O., Guillemain, I., Saillet, S., Reyt, S., Deransart, C., Segebarth, C., DEPAULIS, A., 2008a. Identifying Neural Drivers with Functional MRI: An Electrophysiological Validation. *Plos Biol* 6, e315. doi:10.1371/journal.pbio.0060315.sd002
- David, O., Guillemain, I., Saillet, S., Reyt, S., Deransart, C., Segebarth, C., DEPAULIS, A., 2008b. Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological validation. *Plos Biol* 6, 2683–2697. doi:10.1371/journal.pbio.0060315
- Dawson, T.M., Gehlert, D.R., Wamsley, J.K., 1986. Quantitative autoradiographic localization of the dopamine

- transport complex in the rat brain: use of a highly selective radioligand:[3 H] GBR 12935. *Eur. J. Pharmacol.*
- De Mei, C., Ramos, M., Iitaka, C., Borrelli, E., 2009. Getting specialized: presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors. *Current Opinion in Pharmacology* 9, 53–58. doi:10.1016/j.coph.2008.12.002
- Dejean, C., Gross, C.E., Bioulac, B., Boraud, T., 2007. Synchronous high-voltage spindles in the cortex-basal ganglia network of awake and unrestrained rats. *Eur. J. Neurosci.* 25, 772–784. doi:10.1111/j.1460-9568.2007.05305.x
- Del Sole A, Chiesa, V, G, L., A, V., L, G., M, L., MP, C., 2010. Exploring dopaminergic activity in ring chromosome 20 syndrome: a SPECT study. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 54, 564–569.
- Delgado, M.R., Nystrom, L.E., Fissell, C., Noll, D.C., Fiez, J.A., 2000. Tracking the hemodynamic responses to reward and punishment in the striatum. *Journal of Neurophysiology* 84, 3072–3077.
- Depaulis, A., David, O., Charpier, S., 2016. The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg as a model to decipher the neuronal and network mechanisms of generalized idiopathic epilepsies. *Journal of Neuroscience Methods* 260, 159–174. doi:10.1016/j.jneumeth.2015.05.022
- Depaulis, A., David, O., Charpier, S., 2015. The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg as a model to decipher the neuronal and network mechanisms of generalized idiopathic epilepsies. *Journal of Neuroscience Methods*.
- Depaulis, A., Keay, K.A., Bandler, R., 1994. Quiescence and hyporeactivity evoked by activation of cell bodies in the ventrolateral midbrain periaqueductal gray of the rat. *Exp Brain Res* 99, 75–83.
- Depaulis, A., Marescaux, C., Liu, Z., Vergnes, M., 1990. The GABAergic nigro-collicular pathway is not involved in the inhibitory control of audiogenic seizures in the rat. *Neuroscience Letters* 111, 269–274.
- Depaulis, A., Vergnes, M., Marescaux, C., 2012. Endogenous control of epilepsy: the nigral inhibitory system. *Prog. Neurobiol.* 42, 33–52.
- Deransart, C., DEPAULIS, A., 2002. The control of seizures by the basal ganglia? A review of experimental data. *Epileptic Disord* 4 Suppl 3, S61–72.
- Deransart, C., Depaulis, A., 2004. Le concept de contrôle nigral des épilepsies s'applique-t-il aux épilepsies partielles pharmacorésistantes? *Epilepsies*.
- Deransart, C., Hellwig, B., Heupel-Reuter, M., Léger, J.-F., Heck, D., Lücking, C.H., 2003. Single-unit analysis of substantia nigra pars reticulata neurons in freely behaving rats with genetic absence epilepsy. *Epilepsia* 44, 1513–1520.
- Deransart, C., Landwehrmeyer, G.B., Feuerstein, T.J., Lücking, C.H., 2001a. Up-regulation of D3 dopaminergic receptor mRNA in the core of the nucleus accumbens accompanies the development of seizures in a genetic model of absence-epilepsy in the rat. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 94, 166–177.
- Deransart, C., Lê-Pham, B.T., Hirsch, E., Marescaux, C., Depaulis, A., 2001b. Inhibition of the substantia nigra suppresses absences and clonic seizures in audiogenic rats, but not tonic seizures: evidence for seizure specificity of the nigral control. *NSC* 105, 203–211.
- Deransart, C., Marescaux, C., Depaulis, A., 1996. Involvement of nigral glutamatergic inputs in the control of seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience* 71, 721–728.
- Deransart, C., RIBAN, V., Lê, B., Marescaux, C., Depaulis, A., 2000. Dopamine in the striatum modulates seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience* 100, 335–344.
- Deransart, C., RIBAN, V., Lê, B.T., Hechler, V., Marescaux, C., Depaulis, A., 1999. Evidence for the involvement of the pallidum in the modulation of seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience Letters* 265, 131–134.
- Deransart, C., Vercueil, L., Marescaux, C., Depaulis, A., 1998a. The role of basal ganglia in the control of generalized absence seizures. *Epilepsy Research* 32, 213–223.
- Deransart, C., Vercueil, L., Marescaux, C., Depaulis, A., 1998b. The role of basal ganglia in the control of generalized absence seizures. *Epilepsy Research* 32, 213–223.
- Deutch, A.Y., Lee, M.C., Iadarola, M.J., 1992. Regionally specific effects of atypical antipsychotic drugs on striatal Fos expression: The nucleus accumbens shell as a locus of antipsychotic action. *Molecular and Cellular Neuroscience* 3, 332–341.
- Di Paola Giovambattista De Sarro, E.R.R.C.A.D.L.G.E.D., Citraro, R., Davoli, A., Gallelli, L., Di Paola, E.D., De Sarro, G., 2012. Ameliorating effects of aripiprazole on cognitive functions and depressive-like behavior in a genetic rat model of absence epilepsy and mild-depression comorbidity. *Neuropharmacology* 64, 371–379. doi:10.1016/j.neuropharm.2012.06.039
- Diaz, J., Pilon, C., Le Foll, B., Gros, C., Triller, A., Schwartz, J.C., Sokoloff, P., 2000. Dopamine D3 receptors expressed by all mesencephalic dopamine neurons. *The Journal of Neuroscience* 20, 8677–8684.
- Dolina, S., Margalit, D., Malitsky, S., Pressman, E., Rabinkov, A., 2012. Epilepsy as a pyridoxine-dependent condition: quantified urinary biomarkers for status evaluation and monitoring antiepileptic treatment. *Medical Hypotheses* 79, 157–164. doi:10.1016/j.mehy.2012.04.022
- Dolina, S., Margalit, D., Malitsky, S., Rabinkov, A., 2014. Attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) as a

- pyridoxine-dependent condition: urinary diagnostic biomarkers. *Medical Hypotheses* 82, 111–116. doi:10.1016/j.mehy.2013.11.018
- Dorofeeva, N.A., Glazova, M.V., Khudik, K.A., Nikitina, L.S., Kirillova, D., Chernigovskaya, E.V., 2015. [COMPARATIVE STUDY OF NIGROSTRIATAL SYSTEMS IN WISTAR RATS AND RATS PRONE TO SEIZURES]. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.* 51, 204–213.
- Dunn, D.W., Austin, J.K., Perkins, S.M., 2009. Prevalence of psychopathology in childhood epilepsy: categorical and dimensional measures. *Dev Med Child Neurol* 51, 364–372. doi:10.1111/j.1469-8749.2008.03172.x
- Dybdal, D., Gale, K., 2000. Postural and anticonvulsant effects of inhibition of the rat subthalamic nucleus. *Journal of Neuroscience* 20, 6728–6733.
- Ehringer, H., Hornykiewicz, O., 1960. [Distribution of noradrenaline and dopamine (3-hydroxytyramine) in the human brain and their behavior in diseases of the extrapyramidal system]. *Klin. Wochenschr.* 38, 1236–1239.
- Elsworth, J.D., Roth, R.H., 1997. Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Experimental Neurology* 144, 4–9. doi:10.1006/exnr.1996.6379
- Eltayb, A., Wadenberg, M.-L.G., Schilström, B., Svensson, T.H., 2005. Topiramate augments the antipsychotic-like effect and cortical dopamine output of raclopride. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 372, 195–202. doi:10.1007/s00210-005-0014-5
- Emory, H., Wells, C., Mizrahi, N., 2015. Quantitative EEG and Current Source Density Analysis of Combined Antiepileptic Drugs and Dopaminergic Agents in Genetic Epilepsy: Two Case Studies. *Clin EEG Neurosci* 46, 256–262. doi:10.1177/1550059414532253
- Etievant, A., Bétry, C., Arnt, J., Haddjeri, N., 2009. Bifeprunox and aripiprazole suppress in vivo VTA dopaminergic neuronal activity via D2 and not D3 dopamine autoreceptor activation. *Neuroscience Letters* 460, 82–86. doi:10.1016/j.neulet.2009.05.035
- Fallon, J.H., Koziell, D.A., Moore, R.Y., 1978. Catecholamine innervation of the basal forebrain. II. Amygdala, suprarhinal cortex and entorhinal cortex. *J. Comp. Neurol.* 180, 509–532. doi:10.1002/cne.901800308
- Fariello, R.G., DeMattei, M., Castorina, M., Ferraro, T.N., Golden, G.T., 1987. MPTP and convulsive responses in rodents. *Brain Research* 426, 373–376.
- Farjo, I.B., McQUEEN, J.K., 1979. DOPAMINE AGONISTS AND COBALT-INDUCED EPILEPSY IN THE RAT. *Br. J. Pharmacol.*
- Fauchey, V., Jaber, M., Caron, M.G., Bloch, B., Le Moine, C., 2000. Differential regulation of the dopamine D1, D2 and D3 receptor gene expression and changes in the phenotype of the striatal neurons in mice lacking the dopamine transporter. *Eur. J. Neurosci.* 12, 19–26.
- Fernandes, A.R., Easton, A.C., De Souza Silva, M.A., Schumann, G., Müller, C.P., Desrivères, S., 2012. Lentiviral-mediated gene delivery reveals distinct roles of nucleus accumbens dopamine D2 and D3 receptors in novelty- and light-induced locomotor activity. *European Journal of Neuroscience* 35, 1344–1353. doi:10.1111/j.1460-9568.2012.08028.x
- Flagel, S.B., Clark, J.J., Robinson, T.E., Mayo, L., Czuj, A., 2011. A selective role for dopamine in stimulus-reward learning. *Nature*.
- Flores, G., Barbeau, D., Quirion, R., Srivastava, L.K., 1996. Decreased binding of dopamine D3 receptors in limbic subregions after neonatal bilateral lesion of rat hippocampus. *Journal of Neuroscience* 16, 2020–2026.
- Floresco, S.B., West, A.R., Ash, B., Moore, H., Grace, A.A., 2003. Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nat Neurosci* 6, 968–973. doi:10.1038/nn1103
- Frankel, W.N., 2009. Genetics of complex neurological disease: challenges and opportunities for modeling epilepsy in mice and rats. *Trends in Genetics*.
- Gainetdinov, R.R., Sotnikova, T.D., Grekhova, T.V., Rayevsky, K.S., 1996. In vivo evidence for preferential role of dopamine D3 receptor in the presynaptic regulation of dopamine release but not synthesis. *Eur. J. Pharmacol.* 308, 261–269.
- Gale, K., 1988. Progression and generalization of seizure discharge: anatomical and neurochemical substrates. *Epilepsia*.
- Gale, K., Iadarola, M.J., 1980. GABAergic denervation of rat substantia nigra: functional and pharmacological properties. *Brain research*.
- Gantz, S.C., Robinson, B.G., Buck, D.C., Bunzow, J.R., 2015. Distinct regulation of dopamine D2S and D2L autoreceptor signaling by calcium. *eLife*.
- Garant, D.S., Gale, K., 1987. Substantia nigra-mediated anticonvulsant actions: role of nigral output pathways. *Experimental Neurology* 97, 143–159.
- Garris, P.A., Ciolkowski, E.L., Pastore, P., Wightman, R.M., 1994. Efflux of dopamine from the synaptic cleft in the nucleus accumbens of the rat brain. *Journal of Neuroscience* 14, 6084–6093.

- Gelbard, H.A., Applegate, C.D., 1994. Persistent increases in dopamine D2 receptor mRNA expression in basal ganglia following kindling. *Epilepsy Research* 17, 23–29.
- Gerfen, C.R., 2000. Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways. *Trends in Neurosciences* 23, S64–70.
- Gibbs, F.A., Gibbs, E.L., 1952. Thalamic and hypothalamic epilepsy. *Atlas of electroencephalography*.
- Gilbert, D.B., Cooper, S.J., 1995. 7-OH-DPAT injected into the accumbens reduces locomotion and sucrose ingestion: D 3 autoreceptor-mediated effects? *Pharmacol. Biochem. Behav.*
- Gilbert, D.B., Millar, J., Cooper, S.J., 1995. The putative dopamine D3 agonist, 7-OH-DPAT, reduces dopamine release in the nucleus accumbens and electrical self-stimulation to the ventral tegmentum. *Brain Research* 681, 1–7.
- Gillard, M., Chatelain, P., Fuks, B., 2006. Binding characteristics of levetiracetam to synaptic vesicle protein 2A (SV2A) in human brain and in CHO cells expressing the human recombinant protein. *Eur. J. Pharmacol.*
- Giros, B., Jaber, M., Jones, S.R., Wightman, R.M., Caron, M.G., 1996. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* 379, 606–612. doi:10.1038/379606a0
- Giros, B., Martres, M.P., Pilon, C., Sokoloff, P., Schwartz, J.C., 1991. Shorter variants of the D3 dopamine receptor produced through various patterns of alternative splicing. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 176, 1584–1592.
- Gloor, P., 1968. Generalized cortico-reticular epilepsies. Some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia* 9, 249–263.
- Glover, V., Sandler, M., Owen, F., Riley, G.J., 1977. Dopamine is a monoamine oxidase B substrate in man. *Nature* 265, 80–81.
- Gobert, A., Rivet, J.M., Audinot, V., Cistarelli, L., Spedding, M., Vian, J., Peglion, J.L., Millan, M.J., 1995. Functional correlates of dopamine D3 receptor activation in the rat in vivo and their modulation by the selective antagonist, (+)-S 14297: II. Both D2 and “silent” D3 autoreceptors control synthesis and release in mesolimbic, mesocortical and nigrostriatal pathways. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 275, 899–913.
- Gonçalves, E.B., Cendes, F., 2011. Depression in patients with refractory temporal lobe epilepsy. *Arq Neuropsiquiatr* 69, 775–777.
- Goto, Y., Otani, S., Grace, A., 2007. The Yin and Yang of dopamine release: a new perspective. *Neuropharmacology* 53, 583–587. doi:10.1016/j.neuropharm.2007.07.007
- Grace, A.A., 2000. The tonic/phasic model of dopamine system regulation and its implications for understanding alcohol and psychostimulant craving. *Addiction* 95 Suppl 2, S119–28.
- Grace, A.A., Bunney, B.S., 1984a. The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: burst firing. *The Journal of Neuroscience*.
- Grace, A.A., Bunney, B.S., 1984b. The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: single spike firing. *The Journal of Neuroscience*.
- Griffon, N., Diaz, J., Lévesque, D., Sautel, F., 1995. Localization, Regulation, and Role of the Dopamine D3 Receptor Are Distinct from Those of the D2 Receptor. *Clinical ...*
- Gross-Tsur, V., 1999. Carbamazepine and methylphenidate. *Journal of the American Academy of Child & ...*
- Guillemain, I., Kahane, P., DEPAULIS, A., 2012. Animal models to study aetiopathology of epilepsy: what are the features to model? *Epileptic Disord* 14, 217–225. doi:10.1684/epd.2012.0528
- Gurevich, E.V., Himes, J.W., Joyce, J.N., 1999. Developmental Regulation of Expression of the D3 Dopamine Receptor in Rat Nucleus Accumbens and Islands of Calleja. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 289, 587–598.
- Gurevich, E.V., Joyce, J.N., 2000. Dopamine D3 receptor is selectively and transiently expressed in the developing whisker barrel cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 420, 35–51.
- Hamamura, T., Harada, T., 2007. Unique pharmacological profile of aripiprazole as the phasic component buster. *Psychopharmacology (Berl.)* 191, 741–743. doi:10.1007/s00213-006-0654-2
- Hamandi, K., Laufs, H., Nöth, U., Carmichael, D.W., Duncan, J.S., Lemieux, L., 2008. BOLD and perfusion changes during epileptic generalised spike wave activity. *NeuroImage* 39, 608–618. doi:10.1016/j.neuroimage.2007.07.009
- Hamoda, H.M., Guild, D.J., Gumlak, S., Travers, B.H., Gonzalez-Heydrich, J., 2009. Association between attention-deficit/hyperactivity disorder and epilepsy in pediatric populations. *Expert Rev Neurother* 9, 1747–1754. doi:10.1586/ern.09.128
- Handforth, A., Ackermann, R.F., 1995. Mapping of limbic seizure progressions utilizing the electrogenic status epilepticus model and the 14 C-2-deoxyglucose method. *Brain Research Reviews*.
- Hedges, D., Jeppson, K., Whitehead, P., 2003. Antipsychotic medication and seizures: a review. *Drugs Today (Barc)*.
- Heimer, L., Alheid, G.F., de Olmos, J.S., Groenewegen, H.J., Haber, S.N., Harlan, R.E., Zahm, D.S., 1997. The

- accumbens: beyond the core-shell dichotomy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 9, 354–381. doi:10.1176/jnp.9.3.354
- Heimer, L., Zahm, D.S., Churchill, L., Kalivas, P.W., Wohltmann, C., 1991. Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *NSC* 41, 89–125.
- Helmstaedter, C., Mihov, Y., Toliat, M.R., Thiele, H., Nuernberg, P., Schoch, S., Surges, R., Elger, C.E., Kunz, W.S., Hurlmann, R., 2012. Genetic variation in dopaminergic activity is associated with the risk for psychiatric side effects of levetiracetam. *Epilepsia* no–no. doi:10.1111/j.1528-1167.2012.03603.x
- Heron, S.E., Khosravani, H., Varela, D., Bladen, C., Williams, T.C., Newman, M.R., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., Mulley, J.C., Zamponi, G.W., 2007. Extended spectrum of idiopathic generalized epilepsies associated with CACNA1H functional variants. *Ann Neurol* 62, 560–568. doi:10.1002/ana.21169
- Hersch, S.M., Ciliax, B.J., Gutekunst, C.A., Rees, H.D., Heilman, C.J., Yung, K.K., Bolam, J.P., Ince, E., Yi, H., Levey, A.I., 1995. Electron microscopic analysis of D1 and D2 dopamine receptor proteins in the dorsal striatum and their synaptic relationships with motor corticostriatal afferents. *Journal of Neuroscience* 15, 5222–5237.
- Hersch, S.M., Yi, H., Heilman, C.J., Edwards, R.H., Levey, A.I., 1997. Subcellular localization and molecular topology of the dopamine transporter in the striatum and substantia nigra. *J. Comp. Neurol.* 388, 211–227.
- Hesdorffer, D.C., Hauser, W.A., Olafsson, E., Ludvigsson, P., Kjartansson, O., 2006. Depression and suicide attempt as risk factors for incident unprovoked seizures. *Ann Neurol* 59, 35–41. doi:10.1002/ana.20685
- Higgs, S., Cooper, S.J., 2000. The effect of the dopamine D2 receptor antagonist raclopride on the pattern of licking microstructure induced by midazolam in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*
- Hirsch, E., Panayiotopoulos, C.P., 2005. Childhood absence epilepsy and related syndromes. *Epileptic syndromes in infancy.*
- Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., 1980. Interaction of cholinergic and dopaminergic influences on yawning behavior. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 40, 633–642.
- Horton, R.W., Anlezark, G.M., Sawaya, M., 1977. Monoamine and GABA metabolism and the anticonvulsant action of di-n-propylacetate and ethanamine-O-sulphate. *European journal of ...*
- Horvitz, J.C., 2000. Mesolimbocortical and nigrostriatal dopamine responses to salient non-reward events. *NSC* 96, 651–656.
- Horvitz, J.C., Stewart, T., Jacobs, B.L., 1997. Burst activity of ventral tegmental dopamine neurons is elicited by sensory stimuli in the awake cat. *Brain Research.*
- Howe, W.M., Tierney, P.L., Young, D.A., Oomen, C., Kozak, R., 2015. MAM (E17) rodent developmental model of neuropsychiatric disease: disruptions in learning and dysregulation of nucleus accumbens dopamine release, but spared executive function. *Psychopharmacology (Berl.)* 232, 4113–4127. doi:10.1007/s00213-015-3955-5
- Howes, O.D., Kapur, S., 2009. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III—the final common pathway. *Schizophrenia bulletin.*
- Hu, Z., Cooper, M., Crockett, D.P., Zhou, R., 2004. Differentiation of the midbrain dopaminergic pathways during mouse development. *J. Comp. Neurol.* 476, 301–311. doi:10.1002/cne.20230
- Huff, R.M., 1996. Signal transduction pathways modulated by the D2 subfamily of dopamine receptors. *Cell. Signal.* 8, 453–459.
- Huguenard, J.R., 1998. Neuronal circuitry of thalamocortical epilepsy and mechanisms of antiabsence drug action. *Adv Neurol.*
- Huguenard, J.R., McCormick, D.A., 2007. Thalamic synchrony and dynamic regulation of global forebrain oscillations. *Trends in Neurosciences* 30, 350–356. doi:10.1016/j.tins.2007.05.007
- Iadarola, M.J., Gale, K., 1982. Substantia nigra: site of anticonvulsant activity mediated by gamma-aminobutyric acid. *Science.*
- Ichikawa, J., Meltzer, H.Y., 1999. Valproate and carbamazepine increase prefrontal dopamine release by 5-HT 1A receptor activation. *Eur. J. Pharmacol.*
- Ikemoto, S., Panksepp, J., 1996. Dissociations between appetitive and consummatory responses by pharmacological manipulations of reward-relevant brain regions. *Behavioral Neuroscience* 110, 331–345.
- Inoue, T., Hirai, H., Onteniente, B., Suzuki, F., 1998. Correlated long-term increase of brain-derived neurotrophic factor and Trk B proteins in enlarged granule cells of mouse hippocampus after kainic acid injection. *Neuroscience* 86, 723–728.
- Jaber, M., Jones, S., Giros, B., Caron, M.G., 1997. The dopamine transporter: a crucial component regulating dopamine transmission. *Mov. Disord.* 12, 629–633. doi:10.1002/mds.870120502
- Jadhav, J.H., Balsara, J.J., Jeurkar, A.J., Chandorkar, A.G., 1981. Effect of ethosuximide on dopaminergically mediated behaviours. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 25, 274–278.
- Jasper, H.H., Droogleever-Fortuyn, J., 1947. Experimental studies on the functional anatomy of petit mal epilepsy. *Res. Publ. Ass. nerv. ment. dis.*
- Jensen, A.A., Pedersen, U.B., Din, N., 1996. The dopamine D1 receptor family: structural and functional aspects.

- Biochemical Society
- Johnson, B.A., Ait-Daoud, N., Bowden, C.L., 2003. Topiramate for the treatment of alcohol dependence: initiating abstinence. *Lancet*.
- Johnson, B.A., Ait-Daoud, N., Wang, X.-Q., Penberthy, J.K., Javors, M.A., Seneviratne, C., Liu, L., 2013. Topiramate for the treatment of cocaine addiction: a randomized clinical trial. *JAMA Psychiatry* 70, 1338–1346. doi:10.1001/jamapsychiatry.2013.2295
- Jones, N.C., Martin, S., Megatia, I., Hakami, T., Salzberg, M.R., Pinault, D., Morris, M.J., O'Brien, T.J., van den Buuse, M., 2010. A genetic epilepsy rat model displays endophenotypes of psychosis. *Neurobiology of Disease* 39, 116–125. doi:10.1016/j.nbd.2010.02.001
- Jones, N.C., Salzberg, M.R., Kumar, G., Couper, A., Morris, M.J., O'Brien, T.J., 2008. Elevated anxiety and depressive-like behavior in a rat model of genetic generalized epilepsy suggesting common causation. *Experimental Neurology* 209, 254–260. doi:10.1016/j.expneurol.2007.09.026
- Joseph, J.D., Wang, Y.-M., Miles, P.R., Budygin, E.A., Picetti, R., Gainetdinov, R.R., Caron, M.G., Wightman, R.M., 2002. Dopamine autoreceptor regulation of release and uptake in mouse brain slices in the absence of D(3) receptors. *NSC* 112, 39–49.
- Joyce, J.N., 2001. Dopamine D 3 receptor as a therapeutic target for antipsychotic and antiparkinsonian drugs. *Pharmacology & therapeutics*.
- Joyce, J.N., Woolsey, C., Ryoo, H., Borwege, S., Hagner, D., 2004. Low dose pramipexole is neuroprotective in the MPTP mouse model of Parkinson's disease, and downregulates the dopamine transporter via the D3 receptor. *BMC Biol.* 2, 22. doi:10.1186/1741-7007-2-22
- K Bhagvat, H.B.D.R., 1939. Amine oxidase. *Biochemical Journal* 33, 1338.
- Kalsbeek, A., Voorn, P., Buijs, R.M., Pool, C.W., Uylings, H.B., 1988. Development of the dopaminergic innervation in the prefrontal cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 269, 58–72. doi:10.1002/cne.902690105
- Kanner, A.M., 2011. Depression and epilepsy: A bidirectional relation? *Epilepsia* 52, 21–27. doi:10.1111/j.1528-1167.2010.02907.x
- Kanner, A.M., Schachter, S.C., Barry, J.J., Hersdorffer, D.C., Mula, M., Trimble, M., Hermann, B., Ettinger, A.E., Dunn, D., Caplan, R., Ryvlin, P., Gilliam, F., 2012. Depression and epilepsy: Epidemiologic and neurobiologic perspectives that may explain their high comorbid occurrence. *Epilepsy and Behavior* 24, 156–168. doi:10.1016/j.yebeh.2012.01.007
- Kaufmann, R., Goldberg-Stern, H., Shuper, A., 2009. Attention-deficit disorders and epilepsy in childhood: incidence, causative relations and treatment possibilities. *J. Child Neurol.* 24, 727–733. doi:10.1177/0883073808330165
- Kaur, S., Starr, M., 1996. Motor effects of lamotrigine in naive and dopamine-depleted mice. *Eur. J. Pharmacol.* 304, 1–6.
- Kayir, H., Uzbay, T., 2008. Effects of clozapine on ethanol withdrawal syndrome in rats. *Alcohol Alcohol.* 43, 619–625. doi:10.1093/alcalc/agn052
- Kebabian, P.R., Kebabian, J.W., Carpenter, D.O., 1979. Regulation of cyclic AMP in heart and gill of *Aplysia* by the putative neurotransmitters dopamine and serotonin. *Life Sciences* 24, 1757–1764.
- Keefe, K.A., Sved, A.F., Zigmond, M.J., Abercrombie, E.D., 1993. Stress-induced dopamine release in the neostriatum: evaluation of the role of action potentials in nigrostriatal dopamine neurons or local initiation by endogenous excitatory amino acids. *Journal of Neurochemistry* 61, 1943–1952.
- Khan, Z.U., Gutiérrez, A., Martín, R., Peñafiel, A., Rivera, A., La Calle, De, A., 1998. Differential regional and cellular distribution of dopamine D2-like receptors: an immunocytochemical study of subtype-specific antibodies in rat and human brain. *J. Comp. Neurol.* 402, 353–371.
- Khroyan, T.V., Baker, D.A., Neisewander, J.L., 1995. Dose-dependent effects of the D3-preferring agonist 7-OH-DPAT on motor behaviors and place conditioning. *Psychopharmacology (Berl.)* 122, 351–357.
- Khroyan, T.V., Fuchs, R.A., Baker, D.A., Neisewander, J.L., 1997. Effects of D3-preferring agonists 7-OH-PIPAT and PD-128,907 on motor behaviors and place conditioning. *Behavioural Pharmacology* 8, 65–74.
- Kilian, M., Frey, H.H., 1973. Central monoamines and convulsive thresholds in mice and rats. *Neuropharmacology* 12, 681–692.
- Kim, D.S., Szczypka, M.S., Palmiter, R.D., 2000. Dopamine-deficient mice are hypersensitive to dopamine receptor agonists. *Journal of Neuroscience* 20, 4405–4413.
- Kirouac, G.J., Ganguly, P.K., 1995. Topographical organization in the nucleus accumbens of afferents from the basolateral amygdala and efferents to the lateral hypothalamus. *NSC* 67, 625–630.
- Kita, H., Kitai, S.T., 1990. Amygdaloid projections to the frontal cortex and the striatum in the rat. *J. Comp. Neurol.* 298, 40–49. doi:10.1002/cne.902980104
- Kleinrok, Z., Czuczwar, S., Wójcik, A., Przeglasiński, E., 1978. Brain dopamine and seizure susceptibility in mice. *Pol J Pharmacol Pharm* 30, 513–519.
- Knutson, B., Westdorp, A., Kaiser, E., Hommer, D., 2000. FMRI visualization of brain activity during a monetary incentive delay task. *NeuroImage* 12, 20–27. doi:10.1006/nimg.2000.0593

- Koeltzow, T.E., Xu, M., Cooper, D.C., Hu, X.-T., Tonegawa, S., Wolf, M.E., White, F.J., 1998. Alterations in dopamine release but not dopamine autoreceptor function in dopamine D3 receptor mutant mice. *Journal of Neuroscience* 18, 2231–2238.
- Kolk, S.M., Gunput, R.-A.F., Tran, T.S., van den Heuvel, D.M.A., Prasad, A.A., Hellemons, A.J.C.G.M., Adolfs, Y., Ginty, D.D., Kolodkin, A.L., Burbach, J.P.H., Smidt, M.P., Pasterkamp, R.J., 2009. Semaphorin 3F is a bifunctional guidance cue for dopaminergic axons and controls their fasciculation, channeling, rostral growth, and intracortical targeting. *The Journal of Neuroscience* 29, 12542–12557. doi:10.1523/JNEUROSCI.2521-09.2009
- Koob, G.F., 1992. Neural mechanisms of drug reinforcement. *Annals of the New York Academy of Sciences* 654, 171–191.
- Koob, G.F., Bloom, F.E., 1988. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science* 242, 715–723.
- Labarbe, N.R., Zaaïmi, B., Berquin, P., Nehlig, A., 2008. NIRS-measured oxy- and deoxyhemoglobin changes associated with EEG spike-and-wave discharges in children.
- Landvogt, C., Buchholz, H.-G., Bernedo, V., Schreckenberger, M., Werhahn, K.J., 2010. Alteration of dopamine D2/D3 receptor binding in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 51, 1699–1706. doi:10.1111/j.1528-1167.2010.02569.x
- Landwehrmeyer, B., Mengod, G., Palacios, J.M., 1993. Dopamine D3 receptor mRNA and binding sites in human brain. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 18, 187–192.
- Laufs, H., Holt, J.L., Elfont, R., Krams, M., Paul, J.S., Krakow, K., 2006. Where the BOLD signal goes when alpha EEG leaves. *NeuroImage*.
- Le Foll, B., Diaz, J., Sokoloff, P., 2005. Neuroadaptations to hyperdopaminergia in dopamine D3 receptor-deficient mice. *Life Sciences* 76, 1281–1296. doi:10.1016/j.lfs.2004.09.018
- Le Moine, C., Bloch, B., 1996. Expression of the D3 dopamine receptor in peptidergic neurons of the nucleus accumbens: comparison with the D1 and D2 dopamine receptors. *NSC* 73, 131–143.
- Le Van Quyen, M., Bragin, A., 2007. Analysis of dynamic brain oscillations: methodological advances. *Trends in Neurosciences* 30, 365–373. doi:10.1016/j.tins.2007.05.006
- Leino, E., 1981. Open trial with levodopa-carbidopa combination to patients with long-standing progressive myoclonus epilepsy. *Acta Neurol. Scand.*
- Levant, B., 1998a. Differential distribution of D3 dopamine receptors in the brains of several mammalian species. *Brain Research* 800, 269–274.
- Levant, B., 1998b. The D3 dopamine receptor: neurobiology and potential clinical relevance. *Pharmacological Reviews* 49, 231–252. doi:10.1124/jpet.110.174425
- Lévesque, D., Martres, M.P., Diaz, J., Griffon, N., Lammers, C.H., Sokoloff, P., Schwartz, J.C., 1995. A paradoxical regulation of the dopamine D3 receptor expression suggests the involvement of an anterograde factor from dopamine neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92, 1719–1723.
- Li, Q., Luo, C., Yang, T., Yao, Z., He, L., Liu, L., Xu, H., Gong, Q., 2009. EEG-fMRI study on the interictal and ictal generalized spike-wave discharges in patients with childhood absence epilepsy. *Epilepsy Research*.
- Li, S.-M., Collins, G.T., Paul, N.M., Grundt, P., Newman, A.H., Xu, M., Grandy, D.K., Woods, J.H., Katz, J.L., 2010. Yawning and locomotor behavior induced by dopamine receptor agonists in mice and rats. *Behavioural Pharmacology* 21, 171–181. doi:10.1097/FBP.0b013e32833a5c68
- Liang, J., Zhang, Y., Chen, Y., Wang, J., Pan, H., Wu, H., Xu, K., Liu, X., Jiang, Y., Shen, Y., Wu, X., 2007. Common polymorphisms in the CACNA1H gene associated with childhood absence epilepsy in Chinese Han population. *Ann. Hum. Genet.* 71, 325–335. doi:10.1111/j.1469-1809.2006.00332.x
- Loscher, W., Czuczwar, S.J., 1986. Studies on the involvement of dopamine D-1 and D-2 receptors in the anticonvulsant effect of dopamine agonists in various rodent models of epilepsy. *Eur. J. Pharmacol.* 128, 55–65.
- López-Pérez, S.J., Morales-Villagrán, A., 2015. Effect of perinatal asphyxia and carbamazepine treatment on cortical dopamine and DOPAC levels. *Journal of biomedical*
- Lynch, W.J., Bond, C., Breslin, F.J., Johnson, B.A., 2011. Severity of drinking as a predictor of efficacy of the combination of ondansetron and topiramate in rat models of ethanol consumption and relapse. *Psychopharmacology (Berl.)* 217, 3–12. doi:10.1007/s00213-011-2253-0
- Lyons, K.E., Pahwa, R., 2006. Efficacy and tolerability of levetiracetam in Parkinson disease patients with levodopa-induced dyskinesia. *Clin Neuropharmacol.*
- Magill, P., Sharott, A., Harnack, D., Kupsch, A., Meissner, W., Brown, P., 2005. Coherent spike-wave oscillations in the cortex and subthalamic nucleus of the freely moving rat. *Neuroscience* 132, 659–664. doi:10.1016/j.neuroscience.2005.01.006
- Marcello, M.J., Ovsiew, F., 2007. Psychiatric aspects of epilepsy. *Psychiatric Clinics of North America*.
- Marescaux, C., Micheletti, G., Vergnes, M., Depaulis, A., 1984. A Model of Chronic Spontaneous Petit Mal-like Seizures in the Rat: Comparison with Pentylentetrazol-Induced Seizures.
- Marescaux, C., Vergnes, M., Depaulis, A., 1992. Neurotransmission in rats' spontaneous generalized

- nonconvulsive epilepsy. *Epilepsy Res. Suppl.* 8, 335–343.
- Marques-Carneiro, J.E., Faure, J.-B., Cosquer, B., Koning, E., Ferrandon, A., de Vasconcelos, A.P., Cassel, J.-C., Nehlig, A., 2014. Anxiety and locomotion in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS): inclusion of Wistar rats as a second control. *Epilepsia* n/a–n/a. doi:10.1111/epi.12738
- Maynert, E.W., Marczyński, T.J., Browning, R.A., 1975. The role of the neurotransmitters in the epilepsies. *Adv Neurol* 13, 79–147.
- McDonald, A.J., 1991. Organization of amygdaloid projections to the prefrontal cortex and associated striatum in the rat. *NSC* 44, 1–14.
- Meeren, H., van Luijckelaar, G., Lopes da Silva, F., Coenen, A., 2005. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Archives of Neurology* 62, 371–376. doi:10.1001/archneur.62.3.371
- Meeren, H.K.M., Pijn, J.P.M., Van Luijckelaar, E.L.J.M., Coenen, A.M.L., Lopes da Silva, F.H., 2002. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *The Journal of Neuroscience* 22, 1480–1495.
- Mervaa, E., Andermann, F., Quesney, L.F., Krelina, M., 1990. Common dopaminergic mechanism for epileptic photosensitivity in progressive myoclonus epilepsies. *Neurology* 40, 53–56.
- Micale, V., Cristino, L., Tamburella, A., Petrosino, S., Leggio, G.M., Drago, F., Di Marzo, V., 2009. Altered responses of dopamine D3 receptor null mice to excitotoxic or anxiogenic stimuli: Possible involvement of the endocannabinoid and endovanilloid systems. *Neurobiology of Disease* 36, 70–80. doi:10.1016/j.nbd.2009.06.015
- Micheletti, G., Vergnes, M., Marescaux, C., Reis, J., Depaulis, A., Rumbach, L., Warter, J.M., 1985. Antiepileptic drug evaluation in a new animal model: spontaneous petit mal epilepsy in the rat. *Arzneimittelforschung* 35, 483–485.
- Millan, M.J.M., Peglion, J.L.J., Vian, J.J., Rivet, J.M.J., Brocco, M.M., Gobert, A.A., Newman-Tancredi, A.A., Dacquet, C.C., Bervoets, K.K., Girardon, S.S., 1995. Functional correlates of dopamine D3 receptor activation in the rat in vivo and their modulation by the selective antagonist, (+)-S 14297: 1. Activation of postsynaptic D3 receptors mediates hypothermia, whereas blockade of D2 receptors elicits prolactin secretion and catalepsy. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 275, 885–898.
- Mireniewicz, J., Schultz, W., 1994. Importance of unpredictability for reward responses in primate dopamine neurons. *Journal of Neurophysiology*.
- Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., Caron, M.G., 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological reviews* 78, 189–225.
- MOELLER, F., MUHLE, H., Wiegand, G., WOLFF, S., STEPHANI, U., 2010. EEG-fMRI study of generalized spike and wave discharges without transitory cognitive impairment. *Epilepsy and Behavior*.
- Moezi, L., Hosseini, M., Oveisi, S., Niknahad, H., Shafaroodi, H., 2015. The Effects of Sub-Chronic Treatment with Aripiprazole on Pentylentetrazole- and Electroshock-Induced Seizures in Mice: The Role of Nitric Oxide. *Pharmacology* 95, 264–270. doi:10.1159/000381550
- Mogilnicka, E., Klimek, V., 1977. Drugs affecting dopamine neurons and yawning behavior. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 7, 303–305.
- Monsma, F.J., Mahan, L.C., McVittie, L.D., Gerfen, C.R., Sibley, D.R., 1990. Molecular cloning and expression of a D1 dopamine receptor linked to adenylyl cyclase activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87, 6723–6727.
- Montagu, K.A., 1957. Catechol compounds in rat tissues and in brains of different animals. *Nature* 180, 244–245.
- Murata, M., Hasegawa, K., Kanazawa, I., Japan Zonisamide on PD Study Group, 2007. Zonisamide improves motor function in Parkinson disease: a randomized, double-blind study. *Neurology* 68, 45–50. doi:10.1212/01.wnl.0000250236.75053.16
- Murata, M., Horiuchi, E., Kanazawa, I., 2001. Zonisamide has beneficial effects on Parkinson's disease patients. *Neuroscience Research* 41, 397–399.
- Nail-Boucherie, K., Lê-Pham, B.T., Marescaux, C., Depaulis, A., 2002. Suppression of Absence Seizures by Electrical and Pharmacological Activation of the Caudal Superior Colliculus in a Genetic Model of Absence Epilepsy in the Rat. *Experimental Neurology* 177, 503–514. doi:10.1006/exnr.2002.7997
- Nakamura, S., Ito, Y., Shirasaki, R., Murakami, F., 2000. Local directional cues control growth polarity of dopaminergic axons along the rostrocaudal axis. *The Journal of Neuroscience* 20, 4112–4119.
- Nambu, A., 2011. Somatotopic organization of the primate Basal Ganglia. *Front Neuroanat* 5, 26. doi:10.3389/fnana.2011.00026
- Nieoullon, A., Coquerel, A., 2003. Dopamine: a key regulator to adapt action, emotion, motivation and cognition. *Current Opinion in Neurology* 16 Suppl 2, S3–9.
- Niespodziany, I., Klitgaard, H., Margineanu, D.G., 2004. Is the persistent sodium current a specific target of anti-absence drugs? *Neuroreport*.
- Nirenberg, M.J., Vaughan, R.A., Uhl, G.R., Kuhar, M.J., Pickel, V.M., 1996. The dopamine transporter is

- localized to dendritic and axonal plasma membranes of nigrostriatal dopaminergic neurons. *Journal of Neuroscience* 16, 436–447.
- Odano, I., Varrone, A., Savic, I., Ciumas, C., Karlsson, P., Jucaite, A., Halldin, C., Farde, L., 2012. Quantitative PET analyses of regional [¹¹C]PE2I binding to the dopamine transporter — Application to juvenile myoclonic epilepsy. *NeuroImage* 59, 3582–3593. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.10.067
- Ogren, S.O., Pakh, B., 1993. Effects of dopamine D1 and D2 receptor agonists and antagonists on seizures induced by chemoconvulsants in mice. *Pharmacol. Toxicol.* 72, 213–220.
- Okada, M., Hirano, T., Mizuno, K., Chiba, T., Kawata, Y., Kiryu, K., Wada, K., Tasaki, H., Kaneko, S., 1997. Biphasic effects of carbamazepine on the dopaminergic system in rat striatum and hippocampus. *Epilepsy Research* 28, 143–153.
- Oshibuchi, H., Inada, K., Sugawara, H., 2009. Aripiprazole and haloperidol suppress excessive dopamine release in the amygdala in response to conditioned fear stress, but show contrasting effects on basal *European journal of ...*
- Panayiotopoulos, C.P., 2005. Idiopathic generalized epilepsies: a review and modern approach. *Epilepsia* 46 Suppl 9, 1–6. doi:10.1111/j.1528-1167.2005.00330.x
- Patel, J., Trout, S.J., Palij, P., Whelpton, R., Kruk, Z.L., 1995. Biphasic inhibition of stimulated endogenous dopamine release by 7-OH-DPAT in slices of rat nucleus accumbens. *Br. J. Pharmacol.* 115, 421–426.
- Paz, J.T., Chavez, M., Saillet, S., Deniau, J.-M., Charpier, S., 2007a. Activity of ventral medial thalamic neurons during absence seizures and modulation of cortical paroxysms by the nigrothalamic pathway. *The Journal of Neuroscience* 27, 929–941. doi:10.1523/JNEUROSCI.4677-06.2007
- Paz, J.T., Chavez, M., Saillet, S., Deniau, J.M., Charpier, S., 2007b. Activity of Ventral Medial Thalamic Neurons during Absence Seizures and Modulation of Cortical Paroxysms by the Nigrothalamic Pathway. *Journal of Neuroscience* 27, 929–941. doi:10.1523/JNEUROSCI.4677-06.2007
- Pearson, D.A., Santos, C.W., Aman, M.G., 2013. Effects of extended release methylphenidate treatment on ratings of attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and associated behavior in children with autism *Journal of child and ...*
- Perucca, E., French, J., Bialer, M., 2007. Development of new antiepileptic drugs: challenges, incentives, and recent advances. *The Lancet Neurology*.
- Pinault, D., O'Brien, T.J., 2005. Cellular and network mechanisms of genetically-determined absence seizures. *Thalamus & related systems*.
- Polack, P.O., Guillemain, I., Hu, E., Deransart, C., Depaulis, A., Charpier, S., 2007. Deep Layer Somatosensory Cortical Neurons Initiate Spike-and-Wave Discharges in a Genetic Model of Absence Seizures. *Journal of Neuroscience* 27, 6590–6599. doi:10.1523/JNEUROSCI.0753-07.2007
- Polack, P.O., Mahon, S., Chavez, M., Charpier, S., 2009. Inactivation of the Somatosensory Cortex Prevents Paroxysmal Oscillations in Cortical and Related Thalamic Neurons in a Genetic Model of Absence Epilepsy. *Cerebral Cortex* 19, 2078–2091. doi:10.1093/cercor/bhn237
- Ponnusamy, R., Pradhan, N., 2006. The effects of chronic administration of ethosuximide on learning and memory: a behavioral and biochemical study on nonepileptic rats. *Behavioural Pharmacology* 17, 573–580. doi:10.1097/01.fbp.0000236268.79923.18
- Popoli, P., Pezzola, A., Reggio, R., de Carolis, A.S., 1996. Evidence for the occurrence of depressant EEG effects after stimulation of dopamine D 3 receptors: A computerized study in rabbits. *Life Sciences* 59, 1755–1761.
- Pouyatos, B., Serduc, R., Chipaux, M., Chabrol, T., Bräuer-Krisch, E., Nemoz, C., Mathieu, H., David, O., Renaud, L., Prezado, Y., Laissue, J.A., Estève, F., Charpier, S., DEPAULIS, A., 2013. Synchrotron X-ray interlaced microbeams suppress paroxysmal oscillations in neuronal networks initiating generalized epilepsy. *Neurobiology of Disease* 51, 152–160. doi:10.1016/j.nbd.2012.11.005
- Powell, K.L., Cain, S.M., Ng, C., Sirdesai, S., David, L.S., Kyi, M., Garcia, E., Tyson, J.R., Reid, C.A., Bahlo, M., Foote, S.J., Snutch, T.P., O'Brien, T.J., 2009. A Cav3.2 T-Type Calcium Channel Point Mutation Has Splice-Variant-Specific Effects on Function and Segregates with Seizure Expression in a Polygenic Rat Model of Absence Epilepsy. *Journal of Neuroscience* 29, 371–380. doi:10.1523/JNEUROSCI.5295-08.2009
- Powell, K.L., Tang, H., Ng, C., Guillemain, I., Dieuset, G., Dezsi, G., Carcak, N., Onat, F., Martin, B., O'Brien, T.J., DEPAULIS, A., Jones, N.C., 2014. Seizure expression, behavior, and brain morphology differences in colonies of Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg. *Epilepsia* 55, 1959–1968. doi:10.1111/epi.12840
- Prakash, N., Wurst, W., 2006. Development of dopaminergic neurons in the mammalian brain. *Cell. Mol. Life Sci.* 63, 187–206. doi:10.1007/s00018-005-5387-6
- Pugsley, T.A., Davis, M.D., Akunne, H.C., MacKenzie, R.G., Shih, Y.H., Damsma, G., Wikström, H., Whetzel, S.Z., Georgic, L.M., Cooke, L.W., 1995. Neurochemical and functional characterization of the preferentially selective dopamine D3 agonist PD 128907. *Journal of Pharmacology and Experimental*

- Therapeutics 275, 1355–1366.
- Quesney, L.F., Andermann, F., Gloor, P., 1981. Dopaminergic mechanism in generalized photosensitive epilepsy. *Neurology* 31, 1542–1544.
- Quesney, L.F., Andermann, F., Lal, S., Prelevic, S., 1980. Transient abolition of generalized photosensitive epileptic discharge in humans by apomorphine, a dopamine-receptor agonist. *Neurology* 30, 1169–1174.
- Radziuk, A.L., Kieling, R.R., Santos, K., Rotert, R., Bastos, F., 2015. Methylphenidate improves the quality of life of children and adolescents with ADHD and difficult-to-treat epilepsies. *Epilepsy and Behavior*.
- Reavill, C., Taylor, S.G., Wood, M.D., Ashmeade, T., Austin, N.E., Avenell, K.Y., Boyfield, I., Branch, C.L., Cilia, J., Coldwell, M.C., Hadley, M.S., Hunter, A.J., Jeffrey, P., Jewitt, F., Johnson, C.N., Jones, D.N.C., Medhurst, A.D., Middlemiss, D.N., Nash, D.J., Riley, G.J., Routledge, C., Stemp, G., Thewlis, K.M., Trail, B., Vong, A.K.K., Hagan, J.J., 2000. Pharmacological Actions of a Novel, High-Affinity, and Selective Human Dopamine D3 Receptor Antagonist, SB-277011-A 1–12.
- Rice, M.E., 2000. Distinct regional differences in dopamine-mediated volume transmission. *Prog. Brain Res.* 125, 277–290. doi:10.1016/S0079-6123(00)25017-6
- Rice, M.E., Cragg, S.J., 2008. Dopamine spillover after quantal release: rethinking dopamine transmission in the nigrostriatal pathway. *Brain Research Reviews*.
- Riekkinen, P., Riekkinen, M., Sirviö, J., 1993. Effects of nicotine on neocortical electrical activity in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 267, 776–784.
- Rocha, L., Alonso-Vanegas, M., Orozco-Suárez, S., Alcántara-González, D., Cruzblanca, H., Castro, E., 2014. Do certain signal transduction mechanisms explain the comorbidity of epilepsy and mood disorders? *Epilepsy Behav* 38, 25–31. doi:10.1016/j.yebeh.2014.01.001
- Rocha, L., Alonso-Vanegas, M., Villeda-Hernández, J., Mújica, M., Cisneros-Franco, J.M., López-Gómez, M., Zavala-Tecuapetla, C., Frías-Soria, C.L., Segovia-Vila, J., Borsodi, A., 2011. Dopamine abnormalities in the neocortex of patients with temporal lobe epilepsy. *Neurobiology of Disease* 45, 499–507. doi:10.1016/j.nbd.2011.09.006
- Sabolek, M., Runge, U., 2010. Lamotrigine induced dyskinesia in Parkinson's disease. *Eur. J. Neurol.* 17, e37. doi:10.1111/j.1468-1331.2010.02981.x
- Salles, M.-J., Hervé, D., Rivet, J.-M., Longueville, S., Millan, M.J., Girault, J.-A., Mannoury la Cour, C., 2013. Transient and rapid activation of Akt/GSK-3 β and mTORC1 signaling by D3 dopamine receptor stimulation in dorsal striatum and nucleus accumbens. *Journal of Neurochemistry* 125, 532–544. doi:10.1111/jnc.12206
- Sander, T., Schulz, H., Saar, K., Gennaro, E., Riggio, M.C., Bianchi, A., Zara, F., Luna, D., Bulteau, C., Kaminska, A., Ville, D., Cieuta, C., Picard, F., Prud'homme, J.F., Bate, L., Sundquist, A., Gardiner, R.M., Janssen, G.A., de Haan, G.J., Kasteleijn-Nolst-Trenité, D.G., Bader, A., Lindhout, D., Riess, O., Wienker, T.F., Janz, D., Reis, A., 2000. Genome search for susceptibility loci of common idiopathic generalised epilepsies. *Hum. Mol. Genet.* 9, 1465–1472.
- Sanna, F., Argiolas, A., Melis, M.R., 2012. Oxytocin-induced yawning: sites of action in the brain and interaction with mesolimbic/mesocortical and incertohypothalamic dopaminergic neurons in male rats. *Hormones and Behavior* 62, 505–514. doi:10.1016/j.yhbeh.2012.08.010
- Sarkisova, K.Y., Kulikov, M.A., Midzyanovskaya, I.S., Folomkina, A.A., 2008. Dopamine-dependent nature of depression-like behavior in WAG/Rij rats with genetic absence epilepsy. *Neurosci. Behav. Physiol.* 38, 119–128. doi:10.1007/s11055-008-0017-z
- Sarkisova, K.Y., Midzyanovskaia, I.S., Kulikov, M.A., 2003. Depressive-like behavioral alterations and c-fos expression in the dopaminergic brain regions in WAG/Rij rats with genetic absence epilepsy. *Behavioural Brain Research* 144, 211–226.
- Sato, M., 1980. Progress in Neurophysiological Studies on Epilepsy with Kindling Preparation. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*.
- Satoh, H., Nakanishi, H., Shirakawa, K., Kohjimoto, Y., Kuwaki, T., Ono, T., Shibayama, F., 1987. Comparative study of tiapride and neuroleptics with anti-dopamine activity on convulsive seizure in mice. *Jpn. J. Pharmacol.* 43, 27–32.
- Schmitt, F.C., Voges, J., Heinze, H.-J., Zaehle, T., Holtkamp, M., Kowski, A.B., 2014. Safety and feasibility of nucleus accumbens stimulation in five patients with epilepsy. *J. Neurol.* 261, 1477–1484. doi:10.1007/s00415-014-7364-1
- Sesack, S.R., Aoki, C., Pickel, V.M., 1994. Ultrastructural localization of D2 receptor-like immunoreactivity in midbrain dopamine neurons and their striatal targets. *Journal of Neuroscience* 14, 88–106.
- Shehab, S., Simkins, M., Dean, P., Redgrave, P., 1995. The dorsal midbrain anticonvulsant zone—I. Effects of locally administered excitatory amino acids or bicuculline on maximal electroshock seizures. *NSC* 65, 671–679.
- Shinotoh, H., Vingerhoets, F., Lee, C.S., Uitti, R.J., 1997. Lamotrigine trial in idiopathic parkinsonism A double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Neurology*.

- Singh, B., Monteil, A., Bidaud, I., Sugimoto, Y., Suzuki, T., Hamano, S.-I., Oguni, H., Osawa, M., Alonso, M.E., Delgado-Escueta, A.V., Inoue, Y., Yasui-Furukori, N., Kaneko, S., Lory, P., Yamakawa, K., 2007. Mutational analysis of CACNA1G in idiopathic generalized epilepsy. *Mutation in brief* #962. Online. *Hum. Mutat.* 28, 524–525. doi:10.1002/humu.9491
- Skirboll, L.R., Grace, A.A., Bunney, B.S., 1979. Dopamine auto- and postsynaptic receptors: electrophysiological evidence for differential sensitivity to dopamine agonists. *Science* 206, 80–82.
- Skradski, S., White, H.S., 2000. Topiramate blocks kainate-evoked cobalt influx into cultured neurons. *Epilepsia* 41 Suppl 1, S45–7.
- Slaght, S.J., Leresche, N., Deniau, J.-M., Crunelli, V., Charpier, S., 2002. Activity of thalamic reticular neurons during spontaneous genetically determined spike and wave discharges. *The Journal of Neuroscience* 22, 2323–2334.
- Smidt, M.P., Burbach, J.P.H., 2007. How to make a mesodiencephalic dopaminergic neuron. *Nat Rev Neurosci* 8, 21–32. doi:10.1038/nrn2039
- Sokoloff, P., Diaz, J., Foll, B.L., Guillin, O., Leriche, L., Bezard, E., Gross, C., 2006a. The Dopamine D3 Receptor: A Therapeutic Target for the Treatment of Neuropsychiatric Disorders. ... -Drug Targets (... 1–19.
- Sokoloff, P., Diaz, J., Le Foll, B., Guillin, O., Leriche, L., Bezard, E., Gross, C., 2006b. The dopamine D3 receptor: a therapeutic target for the treatment of neuropsychiatric disorders. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 5, 25–43.
- Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M.P., Bouthenet, M.L., Schwartz, J.C., 1990. Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 347, 146–151. doi:10.1038/347146a0
- Sokoloff, P., Leriche, L., Diaz, J., Louvel, J., Pumain, R., 2012. Direct and indirect interactions of the dopamine D3 receptor with glutamate pathways: implications for the treatment of schizophrenia. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 386, 107–124. doi:10.1007/s00210-012-0797-0
- Song, R., Yang, R.-F., Wu, N., Su, R.-B., Li, J., Peng, X.-Q., Li, X., Gaál, J., Xi, Z.-X., Gardner, E.L., 2011. YQA14: a novel dopamine D3 receptor antagonist that inhibits cocaine self-administration in rats and mice, but not in D3 receptor-knockout mice. *Addiction Biology* 17, 259–273. doi:10.1111/j.1369-1600.2011.00317.x
- Sotnikova, T.D., Gainetdinov, R.R., Grekhova, T.V., Rayevsky, K.S., 2001. Effects of intrastriatal infusion of D2 and D3 dopamine receptor preferring antagonists on dopamine release in rat dorsal striatum (in vivo microdialysis study). *Pharmacological Research* 43, 283–290. doi:10.1006/phrs.2000.0773
- Southam, E., Kirkby, D., Higgins, G.A., Hagan, R.M., 1998. Lamotrigine inhibits monoamine uptake in vitro and modulates 5-hydroxytryptamine uptake in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 358, 19–24.
- Sriram, A., Ward, H.E., Hassan, A., Iyer, S., Foote, K.D., Rodriguez, R.L., McFarland, N.R., Okun, M.S., 2013. Valproate as a treatment for dopamine dysregulation syndrome (DDS) in Parkinson's disease. *J. Neurol.* 260, 521–527. doi:10.1007/s00415-012-6669-1
- Stanwood, G.D., Artymyshyn, R.P., Kung, M.P., Kung, H.F., Lucki, I., McGonigle, P., 2000. Quantitative autoradiographic mapping of rat brain dopamine D3 binding with [(125)I]7-OH-PIPAT: evidence for the presence of D3 receptors on dopaminergic and nondopaminergic cell bodies and terminals. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 295, 1223–1231.
- Stanwood, G.D., McElligot, S., Lu, L., McGonigle, P., 1997. Ontogeny of dopamine D3 receptors in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience Letters* 223, 13–16.
- Starr, M.S., 1996. The role of dopamine in epilepsy. *Synapse* 22, 159–194. doi:10.1002/(SICI)1098-2396(199602)22:2<159::AID-SYN8>3.0.CO;2-C
- Starr, M.S., Starr, B.S., 1993. Seizure promotion by D 1 agonists does not correlate with other dopaminergic properties. *Journal of Neural Transmission-Parkinson's Disease*
- Stathis, P., Konitsiotis, S., Tagaris, G., 2011. Levetiracetam for the management of levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *Movement*
- Steriade, M., 2006. Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neuroscience* 137, 1087–1106. doi:10.1016/j.neuroscience.2005.10.029
- Stevens, J.R., Denney, D., Szot, P., 1996. Kindling with clozapine: behavioral and molecular consequences. *Epilepsy Research* 26, 295–304.
- Strecker, R.E., Jacobs, B.L., 1985. Substantia nigra dopaminergic unit activity in behaving cats: effect of arousal on spontaneous discharge and sensory evoked activity. *Brain Research*.
- Strecker, R.E., Steinfels, G.F., Jacobs, B.L., 1983. Dopaminergic unit activity in freely moving cats: lack of relationship to feeding, satiety, and glucose injections. *Brain Research*.
- Stull, R.E., Jobe, P.C., Geiger, P.F., 1973. Effects of dopamine receptor stimulation and blockade on Ro 4–1284-induced enhancement of electroshock seizure. *Journal of Pharmacology*
- Suaud-Chagny, M.F., Dugast, C., Chergui, K., Msghina, M., Gonon, F., 1995. Uptake of dopamine released by

- impulse flow in the rat mesolimbic and striatal systems in vivo. *Journal of Neurochemistry* 65, 2603–2611.
- Suffin, S.C., Emory, W.H., 1995. Neurometric subgroups in attentional and affective disorders and their association with pharmacotherapeutic outcome. *Clin Electroencephalogr* 26, 76–83.
- Suls, A., Mullen, S.A., Weber, Y.G., Verhaert, K., Ceulemans, B., Guerrini, R., Wuttke, T.V., Salvo-Vargas, A., Deprez, L., Claes, L.R.F., Jordanova, A., Berkovic, S.F., Lerche, H., De Jonghe, P., Scheffer, I.E., 2009. Early-onset absence epilepsy caused by mutations in the glucose transporter GLUT1. *Ann Neurol* 66, 415–419. doi:10.1002/ana.21724
- Sunahara, R.K., Guan, H.C., O'Dowd, B.F., Seeman, P., Laurier, L.G., Ng, G., George, S.R., Torchia, J., Van Tol, H.H., Niznik, H.B., 1991. Cloning of the gene for a human dopamine D5 receptor with higher affinity for dopamine than D1. *Nature* 350, 614–619. doi:10.1038/350614a0
- Svensson, K., CARLSSON, A., Huff, R.M., Kling-Petersen, T., Waters, N., 1994a. Behavioral and neurochemical data suggest functional differences between dopamine D2 and D3 receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 263, 235–243.
- Svensson, K., CARLSSON, A., Waters, N., 1994b. Locomotor inhibition by the D3 ligand R-(+)-7-OH-DPAT is independent of changes in dopamine release. *J. Neural Transm. Gen. Sect.* 95, 71–74.
- Szaflarski, J.P., DiFrancesco, M., Hirschauer, T., Banks, C., Privitera, M.D., Gotman, J., Holland, S.K., 2010. Cortical and subcortical contributions to absence seizure onset examined with EEG/fMRI. *Epilepsy and Behavior* 1–10. doi:10.1016/j.yebeh.2010.05.009
- Szczypka, M.S., Rainey, M.A., Kim, D.S., Alaynick, W.A., Marck, B.T., Matsumoto, A.M., Palmiter, R.D., 1999. Feeding behavior in dopamine-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96, 12138–12143.
- Szot, P., White, S.S., Veith, R.C., 1997. Effect of pentylentetrazol on the expression of tyrosine hydroxylase mRNA and norepinephrine and dopamine transporter mRNA. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 44, 46–54.
- Tadori, Y., Forbes, R.A., McQuade, R.D., Kikuchi, T., 2008. Characterization of aripiprazole partial agonist activity at human dopamine D3 receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 1–7. doi:10.1016/j.ejphar.2008.09.008
- Tang, L., Todd, R.D., Heller, A., O'Malley, K.L., 1994. Pharmacological and functional characterization of D2, D3 and D4 dopamine receptors in fibroblast and dopaminergic cell lines. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 268, 495–502.
- Tang, W., Ehrlich, I., Wolff, S.B.E., Michalski, A.M., Wolfl, S., Hasan, M.T., Luthi, A., Sprengel, R., 2009. Faithful Expression of Multiple Proteins via 2A-Peptide Self-Processing: A Versatile and Reliable Method for Manipulating Brain Circuits. *Journal of Neuroscience* 29, 8621–8629. doi:10.1523/JNEUROSCI.0359-09.2009
- Thabet, F.I., Sweis, R.T., Joseph, S.A., 2013. Aripiprazole-induced seizure in a 3-year-old child: a case report and literature review. *Clin Neuropharmacol* 36, 29–30. doi:10.1097/WNF.0b013e3182767efb
- Tiberi, M., Jarvie, K.R., Silvia, C., Falardeau, P., Gingrich, J.A., Godinot, N., Bertrand, L., Yang-Feng, T.L., Freneau, R.T., Caron, M.G., 1991. Cloning, molecular characterization, and chromosomal assignment of a gene encoding a second D1 dopamine receptor subtype: differential expression pattern in rat brain compared with the D1A receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88, 7491–7495.
- Torres, G.E., Carneiro, A., Seamans, K., Fiorentini, C., Sweeney, A., Yao, W.-D., Caron, M.G., 2003. Oligomerization and trafficking of the human dopamine transporter. Mutational analysis identifies critical domains important for the functional expression of the transporter. *Journal of Biological Chemistry* 278, 2731–2739. doi:10.1074/jbc.M201926200
- Tripathi, P.P., Di Giovannantonio, L.G., Sanguinetti, E., Acampora, D., Allegra, M., Caleo, M., Wurst, W., Simeone, A., Bozzi, Y., 2014. Increased dopaminergic innervation in the brain of conditional mutant mice overexpressing Otx2: Effects on locomotor behavior and seizure susceptibility. *NSC* 261, 173–183. doi:10.1016/j.neuroscience.2013.12.045
- Turski, L., Cavalheiro, E.A., Bortolotto, Z.A., Ikonomidou-Turski, C., Kleinrok, Z., Turski, W.A., 1988. Dopamine-sensitive anticonvulsant site in the rat striatum. *Journal of Neuroscience* 8, 4027–4037.
- Turski, L., Ikonomidou, C., Turski, W.A., Bortolotto, Z.A., Cavalheiro, E.A., 1989. Review: cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy. *Synapse* 3, 154–171. doi:10.1002/syn.890030207
- Turski, W.A., Cavalheiro, E.A., Ikonomidou, C., 1990. Dopamine control of seizure propagation: Intranigral dopamine D1 agonist SKF-38393 enhances susceptibility of seizures. *Synapse*.
- Unsalan, N., Saglam, E., Kayir, H., Uzbay, T., 2008. Effects of olanzapine on ethanol withdrawal syndrome in rats. *European journal of ...*
- Usiello, A., Baik, J.H., Rougé-Pont, F., Picetti, R., Dierich, A., LeMeur, M., Piazza, P.V., Borrelli, E., 2000. Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. *Nature* 408, 199–203. doi:10.1038/35041572
- Usuda, I., Tanaka, K., Chiba, T., 1998. Efferent projections of the nucleus accumbens in the rat with special reference to subdivision of the nucleus: biotinylated dextran amine study. *Brain Research* 797, 73–93.
- Uvnäs-Moberg, K., Alster, P., Hillegaart, V., Ahlenius, S., 1995. Suggestive evidence for a DA D3 receptor-

- mediated increase in the release of oxytocin in the male rat. *Neuroreport* 6, 1338–1340.
- Valjent, E., Pascoli, V., Svenningsson, P., Paul, S., Enslen, H., Corvol, J.-C., Stipanovich, A., Caboche, J., Lombroso, P.J., Nairn, A.C., Greengard, P., Hervé, D., Girault, J.-A., 2005. Regulation of a protein phosphatase cascade allows convergent dopamine and glutamate signals to activate ERK in the striatum. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 491–496. doi:10.1073/pnas.0408305102
- Van Luijtelaar, E.L., Drinkenburg, W.H., 2002. Rat models of genetic absence epilepsy: what do EEG spike-wave discharges tell us about drug effects. *Methods Find Exp*
- Van Ness, P.C., Olsen, R.W., Verity, M.A., 1989. MPTP is proconvulsant acutely but has no long-term effect in rodent models of seizure and epilepsy. *Brain Research* 504, 289–292.
- Van Tol, H.H., Bunzow, J.R., Guan, H.C., Sunahara, R.K., Seeman, P., Niznik, H.B., Civelli, O., 1991. Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 350, 610–614. doi:10.1038/350610a0
- Veliskova, J., Velisek, L., Moshé, S.L., 1996. Age-specific effects of baclofen on pentylenetetrazol-induced seizures in developing rats. *Epilepsia* 37, 718–722.
- Vercueil, L., Hirsch, E., 2002. Seizures and the basal ganglia: a review of the clinical data. *Epileptic disorders: international epilepsy*
- Vergnes, M., Boehrer, A., He, X., Grenay, H., Dontenwill, M., Cook, J., Marescaux, C., 2001. Differential sensitivity to inverse agonists of GABA(A)/benzodiazepine receptors in rats with genetic absence-epilepsy. *Epilepsy Research* 47, 43–53.
- Vitko, I., Chen, Y., Arias, J.M., Shen, Y., Wu, X.R., 2005. Functional characterization and neuronal modeling of the effects of childhood absence epilepsy variants of CACNA1H, a T-type calcium channel. *The Journal of*
- Volkow, N.D., Wang, G.J., Fowler, J.S., 2011. Addiction: beyond dopamine reward circuitry, in: Presented at the Proceedings of the
- Voorn, P., 1988. The Dopaminergic Innervation of the Striatum in the Rat.
- Vriend, J.P., Alexiuk, N.A., 1996. Effects of valproate on amino acid and monoamine concentrations in striatum of audiogenic seizure-prone Balb/c mice. *Mol. Chem. Neuropathol.* 27, 307–324.
- Walu, 2013. Yawning, the default-mode network and the cerebrospinal fluid pathways 1–9.
- Wanat, M.J., Willuhn, I., Clark, J.J., 2009. Phasic dopamine release in appetitive behaviors and drug abuse. *Current drug abuse*
- Wang, C.C., Chen, P.S., Hsu, C.W., Wu, S.J., Lin, C.T., 2012. Valproic acid mediates the synaptic excitatory/inhibitory balance through astrocytes—a preliminary study. *Progress in Neuro-*
- Warter, J.M., Vergnes, M., Depaulis, A., Tranchant, C., Rumbach, L., Micheletti, G., Marescaux, C., 1988. Effects of drugs affecting dopaminergic neurotransmission in rats with spontaneous petit mal-like seizures. *Neuropharmacology* 27, 269–274.
- Watanabe, S., Yamamori, S., Otsuka, S., Saito, M., Suzuki, E., Kataoka, M., Miyaoka, H., Takahashi, M., 2015. Epileptogenesis and epileptic maturation in phosphorylation site-specific SNAP-25 mutant mice. *Epilepsy Research* 115, 30–44. doi:10.1016/j.eplepsyres.2015.05.004
- Werhahn, K.J., Landvogt, C., Klimpe, S., Buchholz, H.-G., Yakushev, I., Siessmeier, T., Muller-Forell, W., Piel, M., Rosch, F., Glaser, M., Schreckenberger, M., Bartenstein, P., 2006. Decreased Dopamine D2/D3-Receptor Binding in Temporal Lobe Epilepsy: An [18F]Fallypride PET Study. *Epilepsia* 47, 1392–1396. doi:10.1111/j.1528-1167.2006.00561.x
- Westerink, B.H., Spaan, S.J., 1982. Simultaneous determination of the formation rate of dopamine and its metabolite 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in various rat brain areas. *Brain Research* 252, 239–245.
- Westmijse, I., Ossenblok, P., Gunning, B., van Luijtelaar, G., 2009. Onset and propagation of spike and slow wave discharges in human absence epilepsy: A MEG study. *Epilepsia* 50, 2538–2548. doi:10.1111/j.1528-1167.2009.02162.x
- Wheeler, D.D., Edwards, A.M., Chapman, B.M., Ondo, J.G., 1993. A model of the sodium dependence of dopamine uptake in rat striatal synaptosomes. *Neurochem. Res.* 18, 927–936.
- White, L.E., Price, J.L., 1993. The functional anatomy of limbic status epilepticus in the rat. I. Patterns of 14C-2-deoxyglucose uptake and Fos immunocytochemistry. *The Journal of Neuroscience*.
- Wolz, M., Löhle, M., Strecker, K., Schwanebeck, U., 2010. Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Neural*
- Wong, K.K., Alty, J.E., Goy, A.G., Raghav, S., 2011. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of levetiracetam for dyskinesia in Parkinson's disease. *Movement*
- Xi, Z.-X., Gilbert, J., Campos, A.C., Kline, N., Ashby, C.R., Jr., Hagan, J.J., Heidbreder, C.A., Gardner, E.L., 2004. Blockade of mesolimbic dopamine D3 receptors inhibits stress-induced reinstatement of cocaine-seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* 176, 57–65. doi:10.1007/s00213-004-1858-y
- Xu, M., Koeltzow, T.E., Cooper, D.C., Tonegawa, S., White, F.J., 1999. Dopamine D3 receptor mutant and

- wild-type mice exhibit identical responses to putative D3 receptor-selective agonists and antagonists. *Synapse* 31, 210–215. doi:10.1002/(SICI)1098-2396(19990301)31:3<210::AID-SYN6>3.0.CO;2-0
- Yakushev, I.Y., Dupont, E., Buchholz, H.-G., Tillmanns, J., Debus, F., Cumming, P., Heimann, A., Fellgiebel, A., Luhmann, H.J., Landvogt, C., Werhahn, K.J., Schreckenberger, M., Potschka, H., Bartenstein, P., 2010. In vivo imaging of dopamine receptors in a model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 51, 415–422. doi:10.1111/j.1528-1167.2009.02272.x
- Yamada, K., Furukawa, T., 1980. Direct evidence for involvement of dopaminergic inhibition and cholinergic activation in yawning. *Psychopharmacology (Berl.)*.
- Yamamura, S., Ohoyama, K., Nagase, H., Okada, M., 2009. Zonisamide enhances delta receptor-associated neurotransmitter release in striato-pallidal pathway. *Neuropharmacology* 57, 322–331. doi:10.1016/j.neuropharm.2009.05.005
- Zahm, D.S., Brog, J.S., 1992. On the significance of subterritories in the “accumbens” part of the rat ventral striatum. *NSC* 50, 751–767.
- Zapata, A., Shippenberg, T.S., 2005. Lack of functional D2 receptors prevents the effects of the D3-preferring agonist (+)-PD 128907 on dialysate dopamine levels. *Neuropharmacology* 48, 43–50. doi:10.1016/j.neuropharm.2004.09.003
- Zapata, A., Shippenberg, T.S., 2002. D3 receptor ligands modulate extracellular dopamine clearance in the nucleus accumbens. *Journal of Neurochemistry* 81, 1035–1042. doi:10.1046/j.1471-4159.2002.00893.x
- Zapata, A.A., Kivell, B.B., Han, Y.Y., Javitch, J.A.J., Bolan, E.A.E., Kuraguntla, D.D., Jalgam, V.V., Oz, M.M., Jayanthi, L.D.L., Samuvel, D.J.D., Ramamoorthy, S.S., Shippenberg, T.S.T., 2007. Regulation of dopamine transporter function and cell surface expression by D3 dopamine receptors. *Journal of Biological Chemistry* 282, 35842–35854. doi:10.1074/jbc.M611758200
- Zhou, Q.Y., Palmiter, R.D., 1995. Dopamine-deficient mice are severely hypoactive, adipsic, and aphagic. *Cell* 83, 1197–1209.
- Zink, C.F., Pagnoni, G., Martin, M.E., Dhamala, M., Berns, G.S., 2003. Human striatal response to salient nonrewarding stimuli. *The Journal of Neuroscience* 23, 8092–8097.
- Zivković, S.A., Costa, G., Bond, G., Abu-Elmagd, K.M., 2008. Treatment of tardive dyskinesia with levetiracetam in a transplant patient. *Acta Neurol. Scand.* 117, 351–353. doi:10.1111/j.1600-0404.2007.00950.x
- Zoli, M., Agnati, L.F., 1996. Wiring and volume transmission in the central nervous system: the concept of closed and open synapses. *Prog. Neurobiol.*