



HAL
open science

Contributions à l'étude du rôle des niveaux de vigilance et des états métaboliques cérébraux dans la survenue de crises d'épilepsie absence chez le rat GAERS

Réda El Mahzoum

► **To cite this version:**

Réda El Mahzoum. Contributions à l'étude du rôle des niveaux de vigilance et des états métaboliques cérébraux dans la survenue de crises d'épilepsie absence chez le rat GAERS. Neurosciences. Sorbonne Université, 2024. Français. NNT : 2024SORUS396 . tel-04889369

HAL Id: tel-04889369

<https://theses.hal.science/tel-04889369v1>

Submitted on 15 Jan 2025

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 de doctorat de Sorbonne Université

Ecole doctorale Cerveau – Cognition – Comportement

Programme : Interfaces Pour le Vivant

CONTRIBUTIONS A L'ETUDE DU ROLE DES NIVEAUX DE VIGILANCE ET DES ETATS METABOLIQUES CEREBRAUX DANS LA SURVENUE DE CRISES D'EPILEPSIE ABSENCE CHEZ LE RAT GAERS

Présentée par

Réda El Mahzoum

Pour l'obtention du grade de Docteur en Neurosciences

Co-dirigée par Ivan Cohen¹ et François Ramaz² et

Co-encadrée par Agnès Bonnot¹

1 : Laboratoire Neurosciences Paris Seine – Equipe *Réseaux Synaptiques et Neuroénergétiques*

2 : Laboratoire Nouveaux concepts pour l'imagerie et la détection – Equipe *Imagerie acousto-optique en milieux diffusants*

Devant un jury composé de :

Mme. Le Docteur Marianne Renner (présidente du jury)

Mme. Le Docteur Nadège Roche-Labarbe (rapporteuse)

M. Le Docteur Laurent Bourdieu (rapporteur)

Mme. Le Docteur Astrid Nehlig (invitée)

M. Le Docteur Jérôme Gateau (invité)

M. Le Docteur Ivan Cohen

M. Le Docteur François Ramaz

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Marianne Renner pour avoir accepté d'être présidente de mon jury, Nadège Roche-Labarbe et Laurent Bourdieu pour leur rôle de rapporteurs et Astrid Nehlig et Jérôme Gateau pour leur participation au jury. Je vous remercie pour votre temps lors de la lecture et de l'évaluation de mon travail ainsi que pour vos précieux retours et conseils pour la suite. C'était un plaisir et un honneur de vous rencontrer et d'avoir l'opportunité de cet échange scientifique avec vous autour de mon travail.

Je remercie également Hircac Gurden et Isabelle Ferezou d'avoir fait partie de mon comité de thèse. Vos conseils m'ont aidé à progresser tout au long de ces trois ans et demi de thèse.

Je remercie l'école Doctoral *Cerveau, Cognition et Comportement* d'avoir mis en place le programme doctoral *Interfaces pour le Vivant* qui a accepté de me donner ma chance pour ce projet de recherche.

Je remercie Ivan Cohen et François Ramaz d'avoir accepté d'être mes directeurs de thèse. Merci pour votre expertise, votre confiance, votre patience et merci pour tout ce que vous m'avez appris. Je me souviens de notre rencontre lors de mon stage de Master 2. On peut dire qu'on en a parcouru du chemin ! Quel plaisir et quelle fierté de voir aujourd'hui les fruits de ces années de travail. Tout cela aurait été impossible sans vous, et pour cela vous avez ma gratitude. Merci pour votre soutien, pour votre science et pour votre humanité.

Je tiens à remercier Agnès Bonnot d'avoir co-encadré ma thèse. Ton soutien indéfectible a été plus que précieux. Merci d'avoir été là pendant les moments difficiles comme pendant les moments de joies. Je te remercie de m'avoir aidé à réaliser un de mes rêves qui était de faire de l'enseignement. Merci aussi pour ton expertise et ta rigueur scientifique. J'ai beaucoup appris en t'observant et en t'écoutant. Merci pour toutes ces discussions qui m'ont permises de toujours pousser plus loin mes réflexions et interrogations. Ce sont notamment ces discussions qui m'ont aidées à cultiver ma curiosité scientifique, qui est fondamentale pour travailler dans la recherche. Merci pour ton coaching précieux lors des préparations des présentations orales et pour ton aide lors de la rédaction de mon manuscrit de thèse. J'ai été très heureux d'aller à la conquête de l'Amérique avec toi et Hieu pour la SFN. Quand je pense que les gens ne s'attendent pas à voir naître Vulgamed...

Les prochaines lignes sont adressées à mon collègue de manip, mon camarade, mon ami : Hieu ! Merci à toi pour tous ces moments de rires, ces discussions scientifiques et merci à toi de m'avoir autant parlé du Vietnam ! Tu m'as fait voyager par la pensée pendant nos (longues) journées de chirurgie. Je suis persuadé que tu iras très loin, peu importe la voie que tu choisis d'emprunter. Tu as toutes les qualités pour ! Des connaissances théoriques aux compétences pratiques, tu es, pour moi, un scientifique complet ! Merci pour tous ces souvenirs que je garderai précieusement ! J'espère un jour pouvoir venir te voir au Vietnam. En attendant : Chúc các bạn thành công, sức khỏe và hạnh phúc trên thế giới !

Je remercie aussi tous les membres de l'équipe Réseaux Synaptiques et Neuroénergétiques pour leur accueil chaleureux. Merci à Bertrand Lambomez de m'avoir fait bénéficier de ton expérience et de tes conseils tout au long de ma thèse. C'était un honneur de travailler dans ton équipe. Merci aussi à Bruno Cauli et Ludovic Tricoire pour votre aide et pour toutes ces discussions pendant ces trois ans et demi de

thèse. Merci à Esther Belzic pour sa bonne humeur perpétuelle ! Merci à Sandrine Picaud pour toute l'aide qu'elle m'a apportée. Merci à Régine Hepp, Bernadette Hanneesse et Laurent Belkadi pour leur gentillesse au quotidien. Merci à Camille Lupiet pour son enthousiasme communicatif. Merci à Weixuan pour sa générosité.

Je remercie Jean-Luc Gennisson et l'équipe Développements Méthodologiques et Instrumentation d'avoir participé au financement de ma thèse et de m'avoir accordé leur confiance lors de notre collaboration. Jean-Luc, tu as l'essence du vrai leader, celui qui fédère et nous pousse à nous dépasser. Merci pour ton expertise et ton soutien. Je remercie mon ami Lenin Chinchilla avec qui j'ai passé de nombreuses journées de manipes. C'était un plaisir de passer tout ce temps avec toi ! Merci pour ton humour, ta bonne humeur et ta générosité. J'espère que ton retour en Colombie se passe au mieux. Je te souhaite tout plein de bonheur et de réussite là-bas ! Je remercie aussi Anthony Novell et Alexandra Winkeler pour leur aide et pour les moments que nous avons passé ensemble. Un grand merci à tous les doctorants et post-doctorants de biomaps avec qui j'ai pu échanger. Merci pour votre accueil chaleureux. Je vous souhaite toute la réussite possible pour la suite !

Je tiens aussi à te remercier Amaury François pour tout ce que tu m'as appris. Merci pour tous ces bons moments passés ensemble. Merci pour tes conseils, ton écoute, ta gentillesse. Si je suis arrivé là, c'est aussi grâce à tes enseignements. Tu es un scientifique brillant et un homme plein de valeurs pour lesquelles j'ai beaucoup d'estime. J'espère que nos chemins se recroiseront.

Je remercie également tous mes amis de Montpellier de m'avoir soutenu pendant toutes mes études. Merci Sabri, Achraf, Julien, Nina et Anouk. Merci aussi aux copains de l'impro pour tous ces moments d'évasion !

Merci à ma famille de toujours avoir été là pour moi. Mes frères : Fouad, Amin et Akram. Merci à mes parents de m'avoir soutenu. Merci pour toutes les valeurs que vous m'avez transmises. Cette réussite, c'est la vôtre. J'espère vous rendre fiers au quotidien. J'espère avoir votre cœur et votre détermination.

Enfin, merci à toi ma partenaire de vie, Lea (sans accent), pour ton soutien pendant toutes ces années de thèse. J'espère te rendre fière malgré mon pète au casque. Je n'aurais pas pu rêver de mieux comme soutien, donc je te le redis : merci. Et désolé d'avoir piqué toutes tes recettes de cuisine (oh mince, c'est écrit trop petit pour que les gens puissent lire... quel dommage que je ne puisse pas corriger ça...).

A la mémoire de Adil El Mahzoum

TABLE DES MATIERES

Table des matières _____	5
Lexique _____	8
Liste des abbréviations _____	11
Chapitre 1 – Introduction _____	13
I/ L'épilepsie _____	13
I.1) Les rythmes neuronaux physiologiques	13
I.1.a) Du neurone au réseau neuronal _____	13
I.1.b) Exemples de réseaux : Les réseaux thalamocorticaux _____	16
I.1.c) Les enregistrements EEG pour étudier les réseaux neuronaux _____	16
I.2) Les rythmes neuronaux pathologiques	19
I.2.a) Du neurone au réseau neuronal : exemple de la boucle thalamo-corticale _____	19
I.2.b) L'EEG pour détecter les crises d'épilepsie _____	20
I.2.c) La classification des épilepsies en 3 niveaux _____	22
I.3) Les absences épileptiques _____	23
I.3.a) Les absences typiques	23
I.3.b) L'épilepsie absence de l'enfant : diagnostic, traitement.....	25
I.3.c) Facteurs génétiques.....	26
I.4) Pathophysiologie de l'épilepsie absence : réseaux neuronaux impliqués dans les crises _____	27
I.4.1) Les modèles félins pharmacologiques _____	27
I.4.1.1) Des fuseaux de sommeil aux décharges pointe-ondes : l'hypothèse cortico-réticulaire _____	27
I.4.1.2) Limites des modèles pharmacologiques _____	29
I.4.2) Les modèles génétiques : GAERS et Wag-Rij _____	30
I.4.2.1) Les facteurs génétiques _____	30
I.4.2.2) Les rôles du cortex et du thalamus : l'hypothèse d'un foyer cortical _____	32
I.4.2.3) L'implication d'autres structures sous-corticales _____	38
I.4.2.4) Limitations des études électrophysiologiques chez les rats épileptiques _____	43
II/ L'imagerie fonctionnelle pour étudier l'épilepsie absence _____	43
II.1) Substrats métaboliques des neurones	43
II.2) Couplage neurovasculaire	45
II.2.1) Hyperhémie fonctionnelle _____	45

II.2.2) Utilisation du couplage neurovasculaire pour l'imagerie fonctionnelle _____	48
II.2.2.1) La détection du signal BOLD par IRMf _____	48
II.2.2.2) La détection du CBV par imagerie ultrasonore fonctionnelle (fUS) _____	50
II.2.2.3) Limites de l'imagerie fonctionnelle lorsqu'elle est employée seule _____	51
II.2.3) Etudes imagerie fonctionnelle-EEG pour décrire la physiologie _____	52
II.2.3.1) L'IRMf-EEG _____	52
II.2.3.2) LE fUS-EEG _____	55
II.3) Imagerie fonctionnelle couplée à l'EEG pour étudier l'épilepsie absence	56
II.3.1) Chez l'homme _____	56
II.3.2) Chez le rat épileptique _____	59
II.3.2.1) Par l'emploi de techniques conventionnelles _____	59
II.3.2.2) Exploration des variations de CBV pendant et entre les crises avec le fUS-EEG _____	64
II.3.3) Rôle des activités astrocytaires dans la mise en place des crises d'absence. _____	66
III/ Niveau d'activité comportementale et épilepsie _____	69
III.1) L'occurrence des crises en fonction du niveau d'activité comportementale	69
III.1.1) Le cycle éveil/sommeil et les variations métaboliques _____	69
III.1.1.1) Le cycle éveil/sommeil _____	69
III.1.1.2) Les oscillations lentes _____	73
III.1.1.3) Variations métaboliques entre les états d'éveil et de sommeil _____	74
III.1.2) Occurrence des crises d'absence et cycle éveil/sommeil _____	75
IV) Vers une nouvelle approche : L'acousto-optique _____	78
IV.1) Limites des approches actuelles de mesure de l'oxygénation sanguine cérébrale	78
IV.2) L'imagerie NIRS : principe et limite.....	79
IV.3) L'acousto-optique : vers une oxymétrie localisée et en profondeur	83
IV.3.1) Principes physiques et détection du signal acousto-optique _____	83
IV.3.2) Formation d'une image acousto-optique _____	88
IV.3.3) Etat de l'art de l'imagerie acousto-optique _____	89
Chapitre 2 – Occurrence des crises d'absence en lien avec les états d'activité et de repos chez le rat GAERS _____	93
Chapitre 3 – Acousto-optique : principales avancées pour une oxymétrie cérébrale in vivo _____	111
I. Premières tentatives <i>in vivo</i> _____	111
II. Optimisation du signal acousto-optique _____	114
Chapitre 4 – Discussion générale et perspectives _____	126

I.	Objectifs de la thèse _____	126
II.	Suivi des activités/repos et détection des crises chez l'animal _____	127
1)	L'épilepsie et les mécanismes régulateurs de l'endormissement.....	127
2)	L'épilepsie et les mécanismes promoteurs de l'éveil	128
3)	Privation de sommeil et épileptogénèse	130
4)	Effet de la privation de sommeil sur les comorbidités de l'épilepsie absence	131
III.	Développer l'acousto-optique in vivo _____	132
IV.	Implication dans des projets en cours _____	135
	Conclusion _____	138
	References _____	139
	Résumé _____	159
	Summary _____	159

LEXIQUE

Activité paroxystique : éléments du signal EEG qui se distinguent du signal basal et qui indiquent un état pathologique comme une crise d'épilepsie.

Barrière Hémato-Encéphalique : protection qui isole le tissu cérébral de la circulation sanguine.

Comorbidité : se définit par la présence de plusieurs maladies chez une même personne.

Décharge pointe-onde : oscillation pathologique détectable par électroencéphalographie. Elles apparaissent à une fréquence de 3-4 Hz chez l'Homme et de 7-8 Hz chez le rat. Elles sont concomitantes d'arrêt comportementaux appelés crise d'épilepsie absence.

Diagnostic clinique : Démarche par laquelle un médecin détermine l'affection dont souffre un patient.

Electroencéphalographie (EEG) : technique non invasive d'enregistrement de l'activité électrique du cerveau. Les électrodes sont disposées à la surface du scalp et détectent les activités neuronales synchronisées.

Electrocorticographie (ECoG) : technique invasive d'enregistrement de l'activité électrique du cerveau par l'emploi d'électrodes subdurales placées directement à la surface du cortex cérébral.

Encéphale : Système nerveux situé dans le crâne. Comprend le cerveau (télencéphale et diencephale), le cervelet et le tronc cérébral. Le télencéphale se compose des deux hémisphères cérébraux et englobe le télencéphale qui comprend le thalamus, l'hypothalamus et l'épithalamus. Le cervelet se situe sous le cerveau et derrière le tronc cérébral. Le tronc cérébral fait le lien entre la moelle épinière et le cerveau et le cervelet.

Epilepsie Absence de l'Enfant (EAE) : crises associées à des activités cérébrales bilatérales hypersynchrones et paroxystiques pendant lesquelles l'enfant perd connaissance. Elles sont détectables par l'apparition de décharges pointes-ondes à une fréquence de 3-4 Hz sur l'électroencéphalogramme.

Excitotoxicité : destruction neuronale par hyperactivation glutamatergique. Le glutamate présent en excès provoque une entrée trop importante de calcium dans le neurone post-synaptique, ce qui active des seconds messagers et des enzymes qui dégradent le cytosquelette, les membranes et l'ADN. Ce mécanisme peut se produire après une lésion cérébrale ou un accident vasculaire cérébral. La mort des neurones peut engendrer une libération massive de glutamate dans le milieu extracellulaire. Ce glutamate va provoquer la mort cellulaire des neurones voisins par excitotoxicité.

Functionnal Ultrasound Imaging (fUS – Imagerie Ultrasonore fonctionnelle) : technique d'imagerie fonctionnelle, basée sur l'imagerie doppler ultrarapide, qui permet de mesurer le volume sanguin cérébral chez le rat mobile. La résolution spatiale de la technique est proportionnelle à la fréquence des ultrasons utilisés. Pour des ultrasons à 15MHz, les voxels ont une taille de 100 μ m².

Fuseau de sommeil : ondes dont la fréquence est comprise entre 12 et 14 Hz. Elles sont prépondérantes pendant le stade 2 du sommeil lent.

GABA (acide γ -aminobutyrique): neurotransmetteur inhibiteur principal du système nerveux central. Il est exciteur lors du développement embryonnaire.

Glutamate : acide aminé, neurotransmetteur exciteur principal du système nerveux central chez les mammifères.

Homéostasie : Processus de régulation par lequel l'organisme maintient les différentes constantes du milieu intérieur (ensemble des liquides de l'organisme) dans une gamme physiologique.

Ictal : trouve son origine du latin *ictus* qui veut dire crise.

Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) : technique qui permet d'imager le corps de façon précise par l'utilisation de champs magnétiques. La résolution spatiale de cette approche est proportionnelle à l'intensité du champ magnétique utilisé.

Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle (IRMf) : modalité de l'IRM qui permet d'enregistrer, par l'intermédiaire de modifications hémodynamiques, l'activité cérébrale.

Local Field Potential (LFP ou Potentiel de Champ Local) : potentiel électrique extracellulaire à basse fréquence (1-100Hz) enregistré autour des neurones. Il se détecte à l'aide d'électrodes implantées dans le cortex. Il reflète la synchronisation de populations de neurones situées à moins de 3mm de l'électrode. Le LFP est extrait du signal ECoG ou électrophysiologique intracérébral par l'application de filtre passe-bas.

Réseau du mode par défaut : Structures corticales et sous-corticales actives lorsque l'individu est au repos, sans être focalisé sur une tâche.

Multiunit activity (MUA ou activité multi-unitaire en français) : potentiels d'actions détectés dans une population de neurones à l'aide d'électrodes implantées dans le cortex. Ils sont extraits du signal électroencéphalographique à l'aide de filtres passe haut (400-10kHz).

Near Infrared Spectroscopy (NIRS – Spectroscopie dans le proche infrarouge) : technique d'imagerie optique de l'oxygénation sanguine cérébrale. Cette approche repose sur le fait que le sang oxygéné et le sang désoxygéné ont des propriétés optiques différentes. En neuroimagerie chez le petit animal, cette approche donne une idée globale des variations d'oxygénation cérébrale.

Neurotransmetteur : messenger chimique libéré dans la fente synaptique par les neurones présynaptiques et qui agit sur les cellules post-synaptiques (neurones, cellule musculaire, glie) par le biais de son action sur des récepteurs ionotropiques/canaux. Il est régénéré au niveau des terminaisons axonales et est stocké dans des vésicules avant d'être libéré. Il exerce un effet exciteur (glutamate, acétylcholine à la jonction neuromusculaire) ou inhibiteurs (GABA ou glycine) sur l'activité neuronale.

Neuromodulateur : messenger chimique qui réalise la modulation du signal neuronal par le biais de son action sur des récepteurs métabotropiques/récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Son action peut être excitatrice ou inhibitrice selon la cascade intracellulaire mise en jeu. On peut citer les monoamines (dopamine, sérotonine, noradrénaline, histamine), mais aussi la mélatonine, l'orexine, l'adénosine, l'acétylcholine, etc.

Phase clonique : intervient lors d'une crise d'épilepsie et se manifeste par des convulsions et des secousses provoquées par des contractions et des relaxations musculaires.

Phase tonique : intervient lors d'une crise d'épilepsie et se caractérise par des contractions musculaires généralisées qui mènent à un raidissement.

Potentiel Post Synaptique (PPS) : modification du potentiel membranaire enregistrée au niveau du dendrite du neurone post-synaptique. Il peut être excitateur (PPSE) ou inhibiteur (PPSI). La sommation des PPSE et des PPSI se fait au niveau du corps cellulaire et peut résulter ou non en la production de potentiels d'action axonaux.

Rythme circadien : Rythme biologique d'une durée de 24 heures. Le rythme veille/sommeil est un exemple de rythme circadien.

Sémiologie : éléments relevés par le médecin lors de l'examen clinique qui servent à dresser un tableau clinique et à poser un diagnostic.

Synapse : région de contact entre deux neurones ou entre un neurone et un autre type cellulaire (ex : muscle squelettique).

Synapse chimique : synapse qui utilise des neurotransmetteurs pour transmettre l'information.

Synapse électrique : synapse qui utilise des jonctions communicantes pour transmettre directement le signal par le biais d'un courant ionique sans sécrétion de neurotransmetteur.

Synapse tripartite : association fonctionnelle entre les membranes pré et post synaptique et celle d'un prolongement astrocytaire. Les astrocytes participent à la recapture du glutamate ce qui prévient l'excitotoxicité, et au recyclage des neurotransmetteurs.

Syndrome : ensemble de symptômes qui constituent une entité et caractérise un état pathologique.

Système nerveux central (SNC) : Le SNC comprend l'encéphale (ensemble du cerveau, du tronc cérébral et du cervelet) et la moelle épinière. L'encéphale est protégé par la boîte crânienne. La moelle épinière, est protégée par la colonne vertébrale.

Système nerveux périphérique : ensemble des nerfs et des ganglions. Les nerfs (branches sensorielles et motrices) permettent de lier le système nerveux central aux muscles squelettiques, aux viscères et ganglions.

Transmission autosomique : transmission d'un gène qui est porté par un chromosome non sexuel.

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

- ATP** : Adenosine TriPhosphate
- BOLD** : Blood Oxygen Level Dependent
- BHE** : Barrière HématoEncéphalique
- CBF** : Cerebral Blood Flow
- CBV** : Cerebral Blood Volum
- CMRO2** : Cerebral Metabolic Rate of Oxygen
- DPO** : Décharge Pointe-Onde
- EEG** : ElectroEncéphaloGramme
- EMG** : ElectroMyoGramme
- EOG** : ElectroOcculoGramme
- ETX** : Ethosuximide
- fUS** : functional UltraSound
- GABA** : Gamma-AminoButyric Acid
- GAERS** : Genetic Absence Epileptic Rat of Strasbourg
- ILAE** : Internationnal Ligue Against Epilepsy
- IN** : InterNeurone
- IRMf** : Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle
- LCR** : Liquide CéphaloRachidien
- LFP** : Local Field Potential
- NIRS** : Near-InfraRed Spectroscopy
- MSN** : Medium Spiny Neuron
- MUA** : Multi-Unit Activity
- PA** : Potentiel d'action
- PPSE** : Potentiel Post-Synaptique Excitateur
- PPSI** : Potentiel Post-Synaptique Inhibiteur
- REM** : Rapid Eye Movement
- TEP** : Tomographie par Emission de Positron

CHAPITRE 1 – INTRODUCTION

L'existence de liens réciproques étroits entre le métabolisme cérébral local et les performances cognitives amène aujourd'hui à utiliser le niveau de métabolisme comme un potentiel critère de diagnostic précoce de maladies neurodégénératives (Naia et al., 2023) ou encore à conseiller l'exercice physique comme « booster » des fonctions cérébrales (Matura et al., 2017). Ainsi, pour de nombreux domaines des neurosciences, le suivi précis du métabolisme cérébral est un défi majeur qui, pour être relevé, doit exploiter les développements technologiques issus des avancées les plus récentes en biologie et en physique. Mes travaux de thèse portent sur le développement de ces technologies et sur leur application dans un modèle d'épilepsie absence afin de mieux comprendre le lien entre métabolisme, comportement et apparition des crises.

I/ L'épilepsie

Dans cette partie, nous décrirons le fonctionnement cérébral général et les techniques fondamentales en électrophysiologie qui permettent de l'étudier. Nous verrons ensuite comment la fonction cérébrale est modifiée dans un cadre pathologique : l'épilepsie. Pour cela, nous répondrons aux questions suivantes : qu'est-ce qu'une crise d'épilepsie ? Comment naissent et sont détectées les crises d'épilepsie ? Comment sont classées les crises ?

I.1) Les rythmes neuronaux physiologiques

I.1.a) Du neurone au réseau neuronal

Le nombre de neurones dans le cerveau humain est estimé à 80 milliards. Les premières observations faites par Santiago Ramon y Cajal en utilisant la coloration argentique de Camillo Golgi, datent de la fin du XIX^{ème} siècle. Il est apparu que malgré leur grande diversité morphologique, les neurones présentent une organisation caractéristique en 3 compartiments distincts : l'arborisation dendritique, le corps cellulaire (ou soma) et l'axone. D'un point de vue fonctionnel, les dendrites et le soma réceptionnent les nombreux messages afférents synaptiques excitateurs et inhibiteurs donnant lieu à des signaux électriques locaux de quelques mV d'amplitude et de quelques dizaines de ms de durée, nommés potentiels synaptiques excitateurs (PPSE) ou inhibiteurs (PPSI) qui s'atténuent avec la distance. Le corps cellulaire réalise l'intégration ou sommation des signaux dendritiques parvenus au soma. Enfin, si la sommation de ces signaux électriques de faible amplitude permet d'atteindre le seuil d'excitabilité de

la cellule postsynaptique, des potentiels d'action (PA) qui sont des signaux électriques de grande amplitude (~ 100mV) et de courte durée (~1 msec) sont générés au niveau du segment initial de l'axone et propagés sans atténuation le long de l'axone jusqu'aux arborisations axonales terminales pour causer la libération vésiculaire des neurotransmetteurs. C'est cette propagation sans atténuation des PA le long de l'axone qui est couramment nommée « influx nerveux ».

La transmission de l'influx nerveux d'un neurone à un autre ou d'un neurone à la cible musculaire, glandulaire ou viscérale, se fait par le biais des « synapses », parfois électriques mais surtout chimiques. Le terme synapse est attribué au britannique Charles Sherrington, qui, à la fin du XIXème siècle, s'est appuyé sur les informations neuroanatomiques fournies par Santiago Ramon y Cajal et sur ses propres résultats physiologiques utilisant le curare chez la grenouille, pour déduire qu'il devait exister une zone de contact entre le neurone et sa cible musculaire au niveau de laquelle le curare était susceptible d'agir et qu'il existerait donc une « connexion spéciale », qu'il nomma « synapse » (Shepherd and Erulkar, 1997).

Maintenant on sait que de contact, il n'y en a point et qu'on peut définir classiquement une synapse comme une zone d'apposition entre la membrane de la terminaison axonale présynaptique et la membrane de la spécialisation dendritique (synapse axo-dendritique) ou du soma (synapse axo-somatique) postsynaptique, séparées par une fente synaptique (20-40 nm) dans laquelle sont libérés les neurotransmetteurs. C'est à du Bois-Reymond et Thomas Eliott que l'on doit les premières preuves, dès le début du XXème siècle, de la libération d'un médiateur chimique à la synapse et donc la théorie de la transmission synaptique chimique.

Ce sont des pensées contemporaines à celles de C.S. Sherrington, notamment du philosophe britannique Alexander Bain et du psychologue américain William James, qui ont amené à appréhender le fonctionnement du système nerveux en termes d'interaction de réseaux de neurones. Sa conception réunissait l'esprit et le corps contrairement à la vision dualiste de Descartes pour qui l'esprit (*res cogitans*) pouvait exister sans le corps (*res extensa*) car la substance mentale se distingue de la substance matérielle (Bishop, n.d.). Ainsi, des neurones connectés chimiquement par le biais de synapses se regroupent pour former un réseau neuronal fonctionnel et y participent par leurs caractéristiques propres (propriétés intrinsèques) et leurs interactions récurrentes excitatrices et inhibitrices (propriétés de réseau) en formant des unités fonctionnelles autonomes. Ces réseaux neuronaux plus ou moins extensifs dialoguent et participent, par leurs afférences et projections efférentes, à la création d'un tissu neuronal complexe et plastique, capable de réaliser et réguler des fonctions physiologiques diverses qui vont du simple réflexe spinal myotatique, aux fonctions cognitives les plus complexes telles que l'exploration spatiale ou les cycles

veille/sommeil (Liu et al., 2015). Ces fonctions engagent des régions du cerveau définies permettant une division anatomo-fonctionnelle en lobes et en aires cérébrales, aussi appelées aires de Brodmann (**figure 1**). Parmi ces réseaux neuronaux, on compte ceux qui impliquent le thalamus et le cortex sur lesquels je vais m’attarder. Alors même que l’on tente de les surpasser par l’intelligence artificielle, il est particulièrement crucial d’élucider les réalités d’organisation fonctionnelle de ces réseaux neuronaux biologiques.

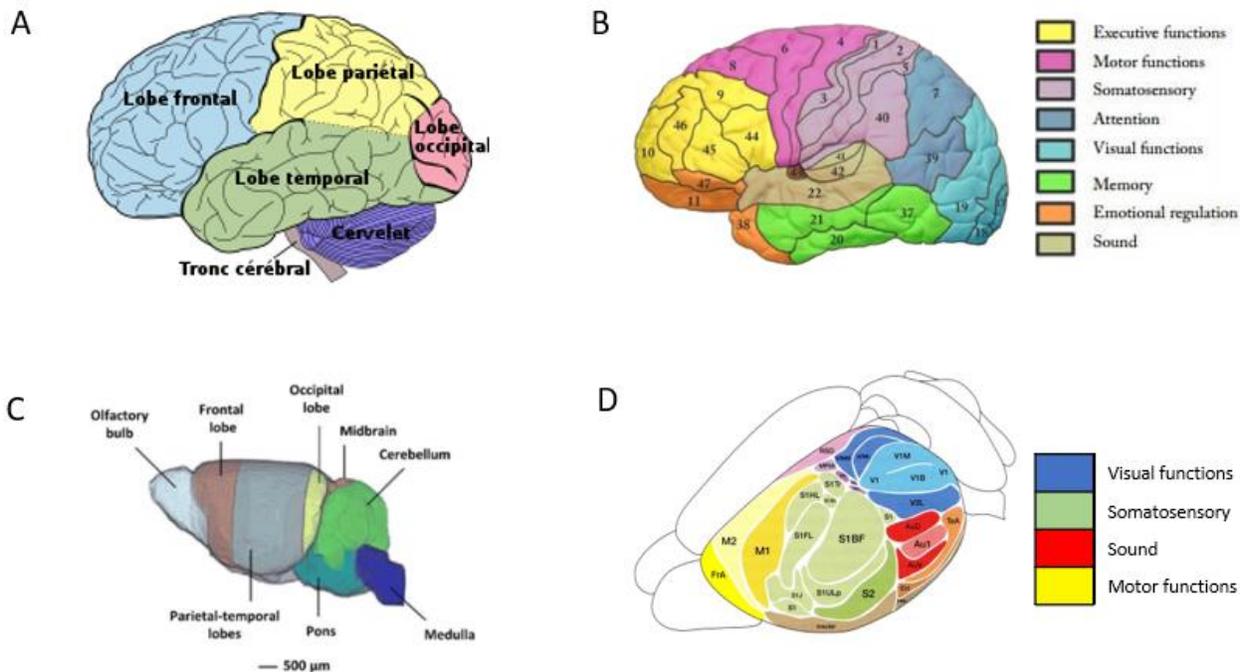


Figure 1 : Organisation comparative du cortex chez l’Homme (A et B) et le rongeur (C et D). A, C. Organisation des lobes corticaux. B, D. Répartition des 52 aires de Brodmann. On note la large zone antéro-postérieure dédiée au cortex somatosensoriel chez le rongeur. Adapté de Dorr et al., 2007; Kirkcaldie, 2012

Dans le cerveau, l’activité de ces réseaux est soutenue par les cellules gliales. Il existe 4 types de cellules gliales, qui ont chacun des rôles distincts. La microglie assure la veille immunitaire et la protection du tissu cérébral face aux pathogènes. Les oligodendrocytes forment la gaine de myéline autour des axones des neurones, ce qui améliore et accélère la conduction de l’influx nerveux. Les épendymocytes produisent le liquide céphalorachidien dans lequel baigne le tissu cérébral et délimitent la paroi des ventricules qui contiennent ce liquide. Enfin, les astrocytes participent au maintien de l’homéostasie, c’est-à-dire le maintien relativement constant de différents paramètres de l’organisme (composition ionique des milieux, osmolarité, disponibilité des substrats énergétiques, température, etc) du système nerveux central. Avec les neurones, ils forment la « synapse tripartite » en captant notamment le glutamate libéré

en excès par le neurone pré-synaptique, afin de réguler la transmission synaptique et prévenir les neurones de l'excito-toxicité (Lalo et al., 2021). Les extensions des astrocytes sous la forme de pieds astrocytaires recouvrent les vaisseaux et participent à former la barrière hémato-encéphalique (BHE) (Wang and Bordey, 2008). La BHE isole le cerveau de la circulation sanguine, ce qui le protège des virus, bactéries et toxines. C'est aussi par les pieds astrocytaires que les astrocytes captent les substrats énergétiques présents dans la circulation sanguine et les mettent à disposition des neurones.

I.1.b) Exemples de réseaux : Les réseaux thalamocorticaux

Le thalamus est un noyau gris central localisé dans le diencephale, près du 3^{ème} ventricule. Il est particulièrement décrit dans sa fonction de relai, de tri et d'intégration de la majorité des informations sensorielles en route vers le cortex (à l'exception des informations olfactives) par le biais de différents noyaux dédiés. Il a une fonction importante, en interaction avec le striatum, dans le contrôle moteur, mais contribue également aux émotions, à la formation du langage, à la mémorisation et à l'attention.

Ces fonctions sont assurées par deux types de noyaux thalamiques : les noyaux de premier ordre et les noyaux de grand ordre. Les noyaux de premier ordre reçoivent les informations en provenance des voies sensorielles ascendantes et de structures sous-corticales. Ainsi, des expériences d'immunomarquages et/ou d'enregistrement ont montré, à titre d'exemple, que le noyau géniculé latéral reçoit les informations visuelles (Conley and Fitzpatrick, 1989; Hamos et al., 1987; Lesica and Stanley, 2004), tandis que le noyau postérieur ventral reçoit les informations somatosensorielles (Li and Ebner, 2007; Temereanca and Simons, 2004) et le noyau géniculé médian, les informations auditives (Kimura et al., 2005)

Les neurones des noyaux de grand ordre établissent des connexions réciproques et non-réciproques organisées de façon topographiques avec plusieurs régions corticales. Ainsi, le noyau médiodorsal est interconnecté avec les cortex préfrontaux, cingulaire antérieur, temporaux, pariétaux et insulaires (Giguere and Goldman-Rakic, 1988) .

I.1.c) Les enregistrements EEG pour étudier les réseaux neuronaux

Les enregistrements électroencéphalographiques (EEG) ont été largement employés afin d'étudier l'activité des réseaux neuronaux. Chez l'Homme, cette technique mise au point par le physiologiste allemand Hans Berger en 1929, consiste à placer des macro-électrodes à la surface du scalp et à enregistrer le potentiel électrique généré par les activités des populations neuronales sous-jacentes. De cette manière, Hans Berger a décrit la présence d'ondes cérébrales sur l'électroencéphalogramme de ses sujets.

Pour comprendre comment sont générées ces ondes, il faut mettre en relation l'organisation cellulaire en 6 couches du cortex cérébral avec la nature de l'activité neuronale. La couche la plus superficielle est la couche 1 dite couche moléculaire. Cette couche contient principalement des prolongements dendritiques des neurones de couches plus internes. La couche 2 est la couche granulaire externe. Elle contient des neurones granulaires qui reçoivent les afférences d'autres aires du cortex. La couche 3 est la couche pyramidale externe. Elle contient des neurones pyramidaux qui émettent des connexions vers d'autres aires corticales. C'est la principale source d'efférences cortico-corticales. La couche 4 est la couche granulaire interne, composée de neurones étoilés et pyramidaux. C'est l'endroit où les informations qui proviennent d'autres structures cérébrales entrent dans le cortex. Le thalamus envoie des projections en majorité vers cette couche. La couche 5 est la couche pyramidale interne. Elle contient des neurones pyramidaux de gros diamètre, disposés parallèlement les uns aux autres et orientés perpendiculairement à la surface du cortex, qui portent l'activité de sortie du réseau cortical vers d'autres structures comme les ganglions de la base et aussi vers d'autres couches intra corticales. Enfin, la couche 6 est dite couche polymorphe et contient des neurones qui envoient des projections axonales vers le thalamus. En plus d'être organisé en couches horizontales, le cortex est agencé en micro-colonnes et hyper-colonnes verticales de neurones qui constituent des unités fonctionnelles de traitement de l'information.

L'activité neuronale qui, comme explicité précédemment (cf. partie I.1.a), comprend les potentiels d'action et les potentiels synaptiques, génère des lignes de courant. La sommation de ces lignes de courant forme un champ de potentiel électrique détecté par les électrodes de l'EEG (**figure 2A**).

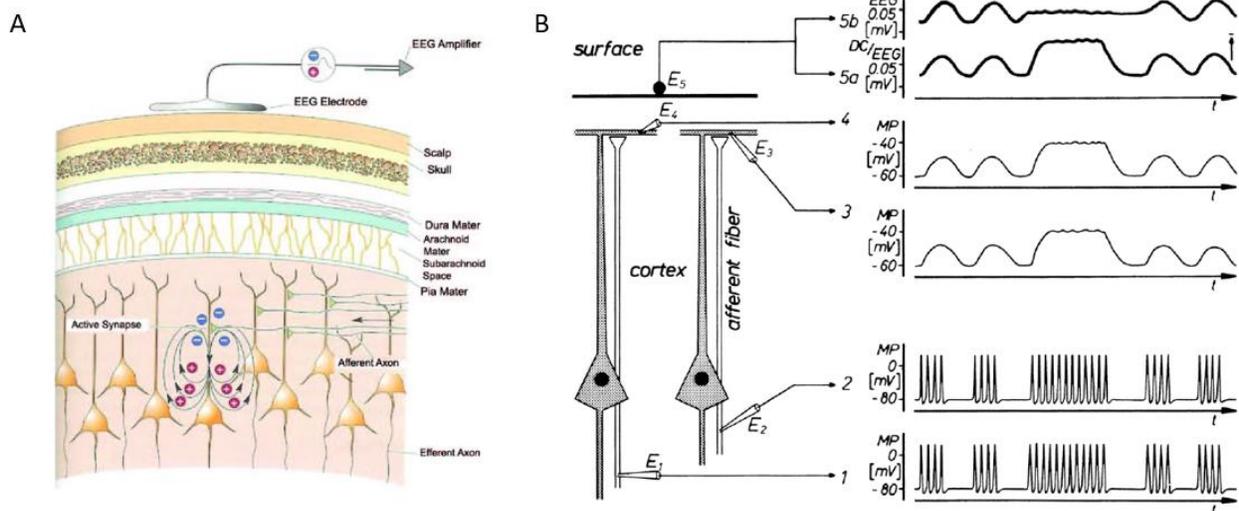


Figure 2 : Du potentiel d'action à la production d'ondes. **A.** Schéma des neurones pyramidaux du cortex. On note que l'activité coordonnée de ces neurones forme des lignes de courant qui s'additionnent. La détection de ces lignes de courant se fait par l'emploi d'une électrode disposée à la surface du scalp. **B.** Génération d'onde à partir de l'activité unitaire. Les enregistrements extracellulaires E1 et E2 correspondent à des activités unitaires excitatrices. Les enregistrements extracellulaires E3 et E4 correspondent aux potentiels post-synaptiques excitateurs présents dans les dendrites des neurones pyramidaux et détectés sous la forme de potentiels de champs locaux. L'enregistrement E5 correspond à l'enregistrement EEG de surface. On note que les ondes détectées en surface font suite à la synchronisation et la sommation de l'activité des neurones corticaux.

Ainsi, l'électroencéphalographie rend compte du niveau de synchronisation de l'activité neuronale. Il s'avère que plus l'activité neuronale est synchronisée, plus le signal enregistré apparaît sous forme d'ondes d'amplitude importante (**figure 2B**). Ces ondes trouvent leur source dans les fluctuations spontanées du potentiel de membrane de neurones thalamocorticaux (propriétés intrinsèques) ou suite à des interactions entre neurones excitateurs et inhibiteurs (propriétés de réseau). Une des premières observations faite grâce à l'EEG est qu'il existe une corrélation entre l'état d'activité d'un individu et la nature des ondes enregistrées. Dès les débuts de l'utilisation de l'EEG, il avait été constaté, chez un modèle de lapin, que la profondeur de l'anesthésie avait une influence sur la fréquence et sur l'amplitude des ondes enregistrées (Adrian and Matthews, 1934). Depuis, les différents états cérébraux ou états d'éveil ont été précisément décrits et classés selon 5 états principaux comme présenté dans la **figure 3**. On peut y voir que plus le sujet testé est calme, plus les oscillations enregistrées sont de basse fréquence. La fréquence des ondes s'étend sur la gamme de 0,5 Hz et jusqu'à plus de 35 Hz. C'est en 1929 que Hans Berger a décrit les ondes alpha et beta chez un sujet (Berger, 1929). Lorsque celui-ci est éveillé et calme, les ondes alpha sont enregistrées, elles furent qualifiées d'*ondes de repos* par Frédéric Bremer. Les ondes de repos disparaissent lors de stimulations sensorielles pour laisser place aux ondes beta, qui ont une fréquence plus élevée et sont de moins grande amplitude. Celles-ci furent qualifiées d'*ondes d'activité* par F. Bremer. Plus tard, Jasper et Andrew ont étudiés les ondes gamma. Ces ondes, présentes lors de la résolution de problèmes complexes, ont une fréquence comprise entre 35 et 50 Hz. Les ondes de basses fréquences furent décrites par William Grey Walter en 1937. L'auteur distingue les ondes delta, présentes chez un sujet sain endormi ou dans certains cas pathologiques (tumeur ou épilepsie), des ondes thêta qui constituent un rythme intermédiaire entre les ondes delta et alpha. Toutes ces descriptions n'ont toutefois pas permis de tisser un lien de causalité entre la présence des ondes et l'état cérébral de l'individu.

I.2) Les rythmes neuronaux pathologiques

I.2.a) Du neurone au réseau neuronal : exemple de la boucle thalamo-corticale

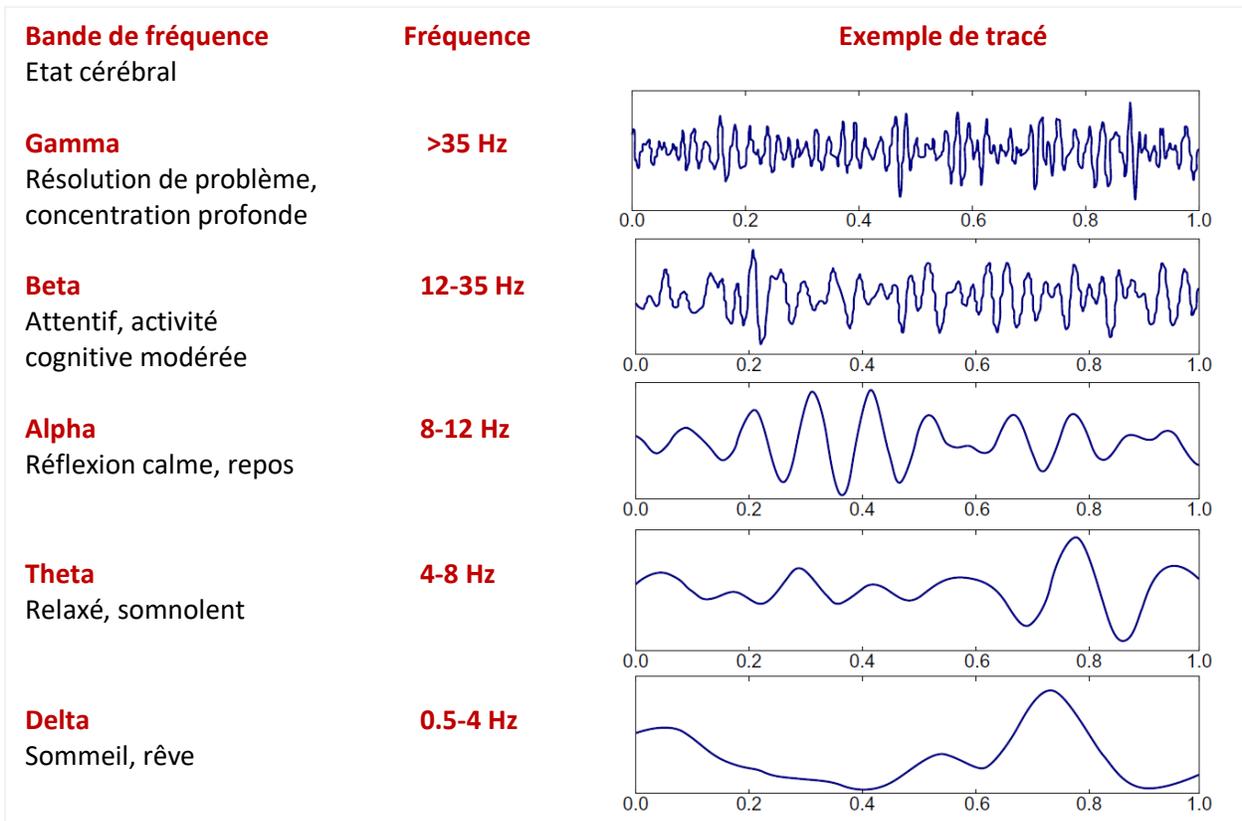


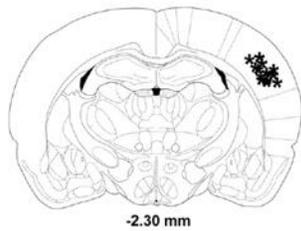
Figure 3 : 5 principaux états cérébraux. Adaptée de Abhang et al., 2016

Du fait de leur organisation en réseaux, l'activité d'une population de neurones peut avoir un effet important sur l'activité globale du cerveau. Il existe des cas où une activité accrue et prolongée de populations de neurones du thalamus et du cortex génère des oscillations pathologiques. C'est le cas présenté dans la **figure 4** où l'on peut voir, chez un modèle de rat épileptique, des enregistrements électrophysiologiques de l'activité de décharge de potentiels d'action de populations de neurones (multi-unit activity ; MUA 400-10KHz) et des potentiels de champ locaux (Local Field Potentials ; LFP 1-100 Hz) obtenus par des enregistrements en profondeur dans le cortex somatosensoriel et le noyau ventro-postéromédian du thalamus qui ciblent une population de neurones relativement localisée. Il apparaît que durant les oscillations pathologiques détectées dans l'EEG de surface, l'amplitude des signaux MUA et LFP enregistrés augmente dans ces structures. Cependant, les hautes fréquences étant plus filtrées par les tissus traversés (couches corticales, liquide céphalorachidien, méninges, crâne, muscle et peau), les

signaux de type LFP participeraient davantage au signal macroscopique enregistré via l'EEG de surface que les MUA (Musall et al., 2014).

A. EEG de surface

B. Cortex somatosensoriel



C. VPM

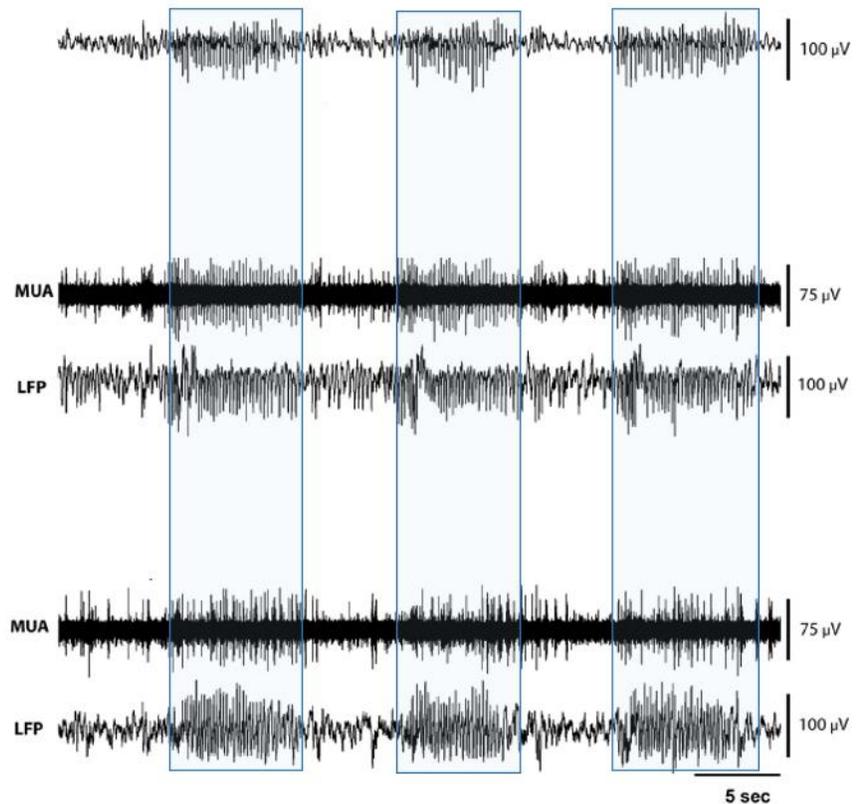
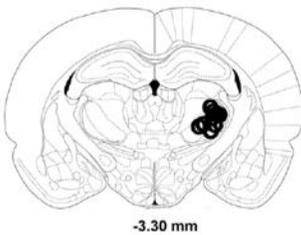


Figure 4 : Enregistrements électrophysiologiques simultanés dans le cerveau de rat épileptique. A. EEG de surface pour détecter les oscillations pathologiques mises en évidence par les rectangles bleus. **B.** Gauche : site d'enregistrement dans le cortex somatosensoriel. Droite : enregistrements de l'activité multi-unitaire (MUA) et du potentiel de champ local (LFP). **C.** Gauche : Site d'enregistrement dans le noyau ventro-postéromédian (VPM) du thalamus. Droite : enregistrements de MUA et de LFP. On note la présence d'oscillations pathologiques dans l'EEG de surface parallèlement à l'augmentation des signaux MUA et LFP corrélés aux oscillations pathologiques. Adapté de Mishra et al., 2011. (Mishra et al., 2011a)

1.2.b) L'EEG pour détecter les crises d'épilepsie

La ligue internationale contre l'épilepsie (*International League Against Epilepsy* - ILAE) a défini la crise d'épilepsie comme un événement transitoire pendant lequel des troubles d'origine neurologique sont causés par une activité neuronale paroxystique, excessivement élevée et/ou synchrone (Fisher et al., 2017). Ces crises peuvent avoir des étiologies variées (structurelle, génétique, infectieuse, métabolique, immune ou inconnue) et sont détectable par enregistrement EEG. Ces activités neuronales pathologiques

affectent des régions corticales plus ou moins étendues ce qui influence directement la sémiologie et l'EEG ictal. Les crises peuvent être déclenchées par des stimuli lumineux, sonores ou suite à un stress ou une privation de sommeil trop importante (Kasteleijn-Nolst Trenité, 2012; Lang et al., 2018; Martins da Silva and Leal, 2017) et engendrent des dysfonctions cérébrales qui peuvent se manifester par des troubles moteurs (phases toniques et/ou cloniques i.e. une contraction musculaire de tout le corps suivie ou pas de secousses musculaires), sensitifs (hallucinations), psychiques, accompagnés ou non d'une perte de connaissance. Lors des crises, l'EEG d'un patient présente des activités paroxystiques qui sont constituées d'éléments précis et recensés qui permettent le diagnostic de l'épilepsie. La **figure 5** montre ces éléments.

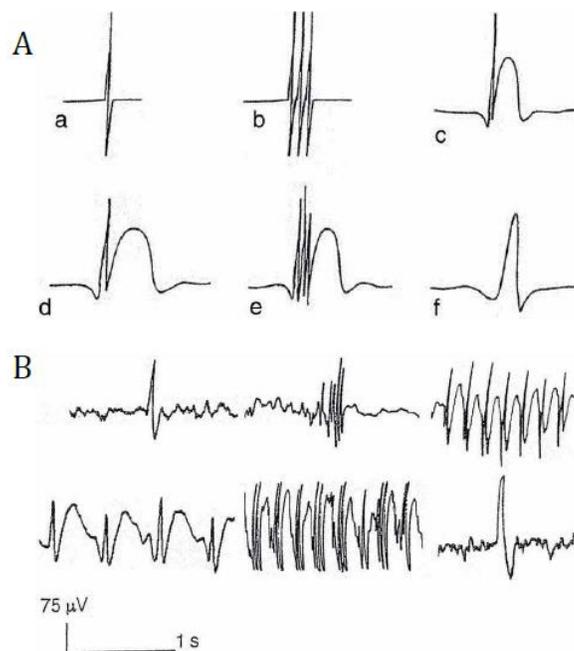


Figure 5: Activités paroxystiques élémentaires. A. Représentations schématiques. a) pointe. b) polypointe. c) pointe-onde à 3 Hz. d) pointe-onde lente à 2 Hz. e) polypointe-onde. f) pointe lente. B. Exemples d'enregistrements des différentes activités paroxystiques élémentaires schématisées en A. D'après Thomas and Arzimanoglou, 2000.

Les pointes et les ondes sont les patterns élémentaires qui constituent les activités épileptiformes dont les spécificités varient selon le type d'épilepsie. Les pointes sont associées à des potentiels d'actions synchronisés de neurones corticaux et les ondes sont associées à des potentiels post-synaptiques inhibiteurs et des hyperpolarisations. L'association de ces deux motifs est nommée décharge pointe-onde (DPO). L'ensemble des types d'épilepsie présente des étiologies et sémiologies variées mais avec comme critère commun la récurrence des crises et leur caractère imprédictible.

I.2.c) La classification des épilepsies en 3 niveaux

La grande hétérogénéité des épilepsies rend nécessaire une classification claire pour faciliter les diagnostics. Ces classifications établies et tenues à jour par l'ILAE d'après les dernières avancées en Neurosciences, reposent sur le diagnostic sémiologique et sur les enregistrements EEG. Les épilepsies sont classées en fonction d'un diagnostic en 3 étapes : le type de crise, le type d'épilepsie et le syndrome épileptique (**figure 6**).

Lors d'une première étape, la détermination du type de crises qui se manifestent permet une classification en crise focale, crise généralisées et crise de point de départ inconnu, sur la base de la région cérébrale qu'elles affectent en premier.

Lors d'une deuxième étape, la récurrence des crises d'un certain type permet de parler de type d'épilepsie : focales, généralisées, focales et généralisées combinées ou d'origine inconnue. Les épilepsies focales ont un point de départ unifocal ou multifocal et peuvent évoluer vers des crises bilatérales tonico-cloniques. Les épilepsies généralisées peuvent présenter plusieurs types de crises : absence, crise myoclonique, atonique, tonique et tonico-clonique. La classification en épilepsies focales et généralisées combinées est issue d'un diagnostic clinique (troubles fonctionnels observés ou décrits par le patient) qui peut être conforté par la présence dans l'EEG interictal de pointes-ondes généralisées à l'ensemble du cortex.

La troisième étape permet le diagnostic du syndrome épileptique qui est défini selon des critères cliniques (comme le type de crise), paracliniques (âge d'apparition, causes possibles), l'EEG et l'imagerie cérébrale. Ces trois niveaux de classification sont complétés par l'étude des comorbidités et de l'étiologie des crises. Il existerait *in fine* une cinquantaine de maladies épileptiques ou syndromes épileptiques.

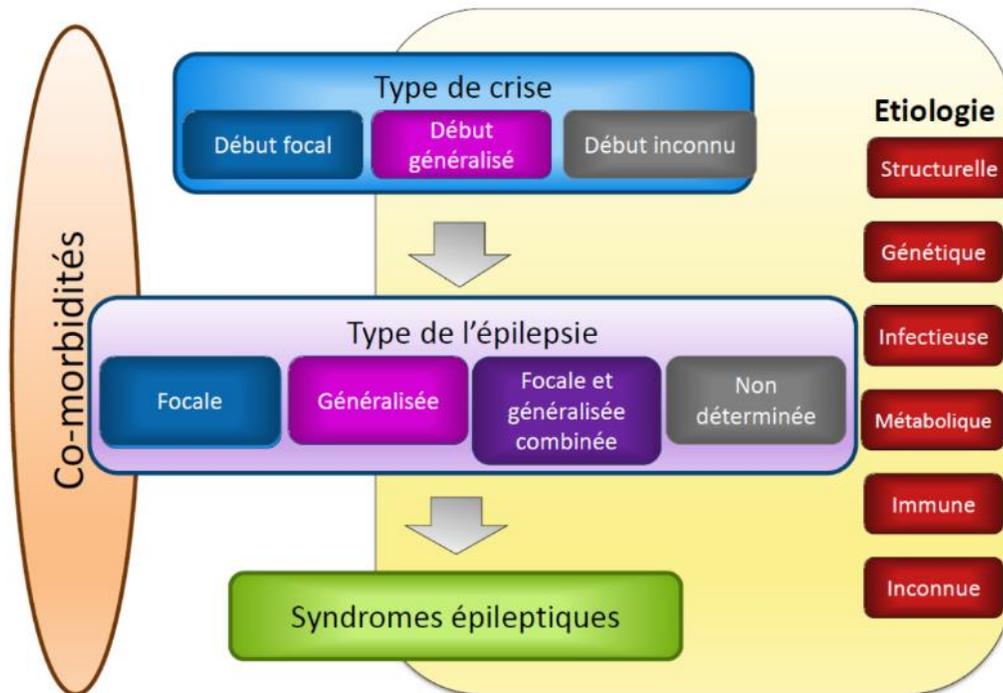


Figure 6 : Classification des épilepsies en 3 étapes. On note qu'à chaque étape sont prises en compte les étiologies et comorbidités des patients. Adaptée de Scheffer et al., 2017

1.3) Les absences épileptiques

1.3.a) Les absences typiques

Le terme d'absence, introduit en 1705 par Roupart, décrit des pertes de conscience transitoires et soudaines, corrélées à l'apparition de décharges pointes ondes à une fréquence de 3-4 Hz sur l'enregistrement EEG chez l'enfant (**figure 7**).

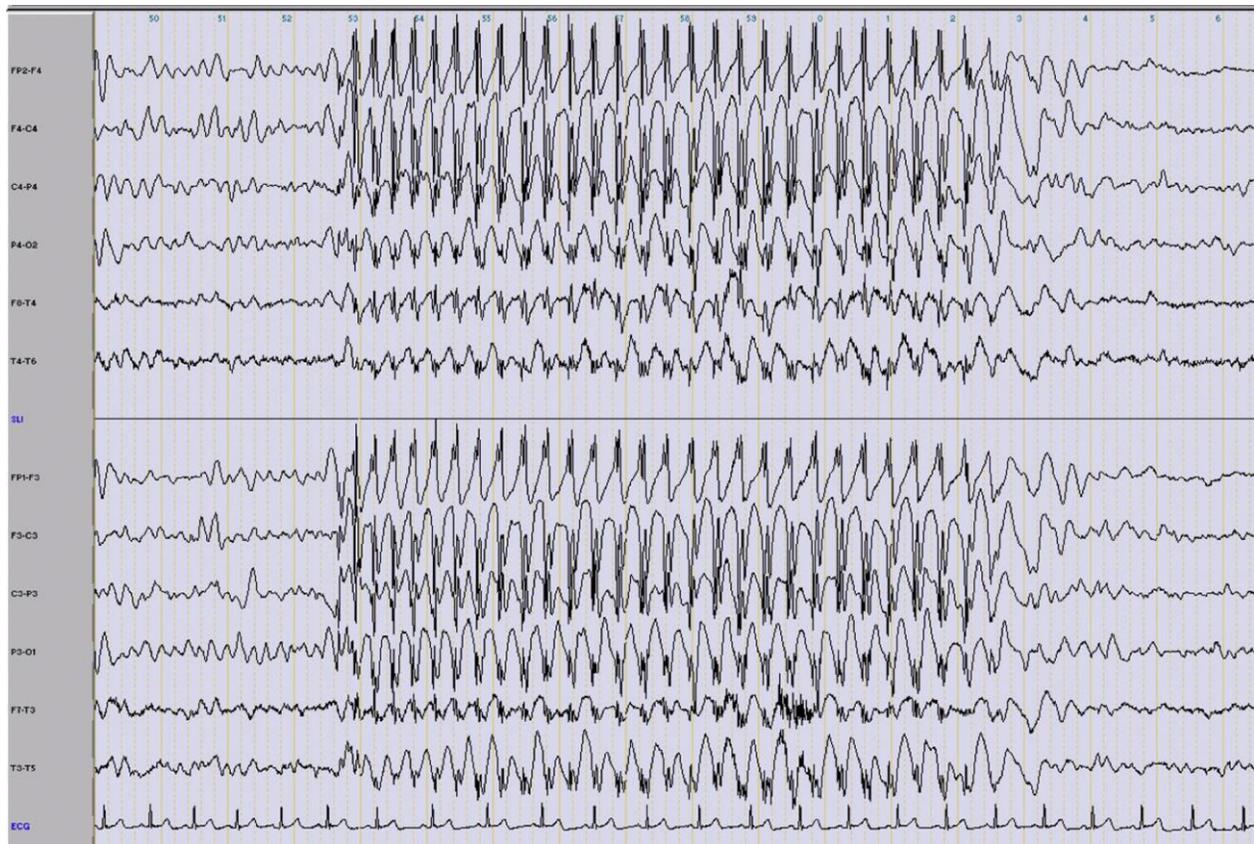


Figure 7 : Enregistrement EEG d'une crise absence typique chez l'enfant. On note l'apparition et la disparition soudaine des décharges pointes ondes à 3 Hz sur l'ensemble des canaux d'enregistrement. Adapté de Garzon et al., 2016

Les absences épileptiques, anciennement appelée « petit mal », et qualifiées de « bénignes » constituent 12% des cas d'épilepsie chez l'enfant et l'adolescent (Berg et al., 1999), avec une prévalence plus élevée chez les filles que chez les garçons (Waalder et al., 2000). En général, on observe une rémission totale des crises après la puberté. Cette évolution fréquente vers la guérison de l'épilepsie fait qu'on les qualifie aujourd'hui d' « auto-limitées » et non de « bénignes » car des troubles cognitifs et psychosociaux délétères peuvent perdurer à l'âge adulte, conséquences neurologiques de la récurrence des crises et des traitements antiépileptiques (Garzon et al., 2016). Ces crises sont de type généralisé du fait que les décharges pointes-ondes (DPO) soient détectables sur la totalité du cortex. Les crises d'absence sont présentes dans 6 syndromes d'épilepsie : l'épilepsie absence de l'enfant, l'épilepsie absence juvénile, l'épilepsie avec myoclonies palpébrales (syndrome de Jeavons), l'épilepsie myoclonique juvénile, l'épilepsie avec absences myocloniques, l'épilepsie avec absences fantômes (Ferner and Panayiotopoulos, 1993; Jain, 2020). Ces syndromes ont des points communs (présence de DPO concomitantes aux arrêts du

comportement) et des différences (âge du diagnostic, taux de rémission, etc). Lors de mes travaux, je me suis concentré sur un modèle animal de l'épilepsie absence.

I.3.b) L'épilepsie absence de l'enfant : diagnostic, traitement

L'épilepsie absence de l'enfant touche principalement les enfants âgés de 4 à 10 ans (Adie, 1924), avec un taux de rémission qui peut varier de 30% à 80% selon l'étude et le traitement employé (Grosso et al., 2005; Wirrell, 2003; Wirrell et al., 1996). En clinique, l'hyperventilation pendant 3 minutes combinée à un enregistrement EEG sont employés pour le diagnostic des crises d'absence typiques. Au cours de ces 3 minutes, si une crise d'absence est détectée, alors le patient testé est diagnostiqué épileptique. Lors de ces examens, il est possible de demander au patient de compter entre chaque respiration afin de détecter une éventuelle baisse de l'attention ou de la concentration. En général, les patients épilepsie absence ne sont pas sensibles aux variations d'intensité lumineuse (Jain, 2020).

Il existe plusieurs traitements pour l'épilepsie absence de l'enfant. Les trois traitements principaux sont l'éthosuximide (ETX), l'acide valproïque et la lamotrigine. Des essais cliniques randomisés en double aveugle ont montré que l'ETX était le traitement le plus efficace, suivi de l'acide valproïque puis de la lamotrigine (Brigo and Igwe, 2017; Glauser et al., 2010). Ces résultats ont été confortés par une autre étude qui montre un taux de rémission plus élevé chez des patients traités avec de l'ETX comparés à d'autres patients traités au valproate de sodium (Berg et al., 2014). L'action de l'ETX a été directement enregistrée sur des neurones thalamiques de rats et de cochon d'inde. Certaines études montrent que l'ETX inhibe des canaux calciques à bas seuil ou de type T (Coulter et al., 1989; Huguenard and Prince, 1992; Lacinová et al., 2000) ou que l'ETX peut agir sur des cellules musculaires en modulant des courants calciques (Toreva et al., 1991; Velkova et al., 1995). D'autres études montrent *a contrario* une absence d'effet de l'ETX sur les courants calciques (Leresche et al., 1998). Toutefois, un consensus existe sur le fait que l'application de l'ETX réduit la probabilité des neurones thalamiques de générer des bouffées de PA qui participent à la formation des fuseaux de sommeil et des DPO (Huguenard and Prince, 1992; Tsakiridou et al., 1995).

I.3.c) Facteurs génétiques

L'étude des facteurs génétiques est un outil important pour identifier les facteurs de risque familiaux de développer l'épilepsie absence et pour espérer comprendre le mécanisme de genèse des crises. Ainsi, chez des familles présentant des absences, on a identifié des mutations sur des sous-unités de récepteurs du GABA ou sur de sous-unités de canaux calciques voltage-dépendants (CCVD) à bas seuil d'activation (Chen et al., 2003; Myers et al., 2021). Si l'hétérogénéité des profils génétiques des patients complique l'interprétation de ces études, il existe cependant un lien fonctionnel logique dans le fait que des mutations localisées sur les récepteurs GABAergiques ou les canaux calciques de type T puissent toutes deux résulter en la genèse de DPO. Les récepteurs GABAergiques ionotropiques sont les récepteurs GABA_A qui sont activés par la fixation du GABA et qui, en ouvrant une conductance chlore, créent généralement, en dehors de la phase développementale, des hyperpolarisations du potentiel de membrane. La majorité des récepteurs GABA_A sont des hétéropentamères de sous-unités $\gamma 2\beta 2\alpha 1\beta 2\alpha 1$ disposés dans le sens inverse des aiguilles d'une montre autour du pore central. Il existe au total 19 isoformes identifiées (Ghit et al., 2021). Lorsque les mutations identifiées chez les patients ont été testées sur des modèles cellulaires *in vitro* (cellules HEK, ovocytes de xénope), leur effet délétère sur l'expression et la fonction des récepteurs GABA_A a été mise en évidence. En particulier, les mutations dans les gènes GABRA1 codant pour la sous-unité $\alpha 1$ et GABRG2 codant pour la sous-unité $\gamma 2$, trouvées chez des patients, s'accompagnent d'une diminution de l'expression, de la maturation et de l'adressage à la membrane des récepteurs GABA_A (Kang and Macdonald, 2004), d'une diminution de l'amplitude des courants chlore après application de GABA (Tanaka et al., 2008) ainsi que d'une abolition de la potentialisation de ces récepteurs après application d'un anxiolytique de la famille des benzodiazépines, le diazepam (Wallace et al., 2001). Une autre étude a montré qu'une mutation sporadique (ou *de novo*) dans le gène GABRA1, mise en évidence chez un enfant atteint d'épilepsie absence, s'accompagne d'une suppression totale des courants GABA_A suite à l'absence d'adressage du récepteur à la membrane. Les auteurs ont parlé « d'inhibition inhibée » (Maljevic et al., 2006).

Dans le cas d'une baisse d'inhibition, les neurones thalamocorticaux plus dépolarisés, sont plus susceptibles d'activer leurs canaux calciques à bas seuil responsables des courants de type T qui vont favoriser la formation d'oscillations et donner lieu à des bouffées de PA et potentiellement à l'apparition de DPO sur l'EEG de surface (Celli et al., 2017; Huguenard and Prince, 1992; Olsen and Avoli, 1997).

Chez l'homme, trois gènes, CACNA1G, CACNA1H et CACNA1I, situés respectivement sur les chromosomes 17, 16 et 22, codent pour les trois isoformes du canal de type T Cav3.1, Cav3.2 et Cav3.3.

Ces canaux sont formés exclusivement de la sous-unité Cav3 qui contient le pore calcique : il n’y a pas de sous-unités additionnelles comme pour les canaux de type L à haut seuil d’activation. Ces canaux sont aussi caractérisés par leur cinétique d’inactivation rapide (Weiss and Zamponi, 2019). Des mutations faux sens et gain de fonction dans le gène CACNA1H qui code pour les canaux Cav3.2 ont été trouvées chez des modèles de rat épilepsie absence qui semblent favoriser l’apparition des crises, bien qu’elles ne soient ni nécessaires, ni suffisantes au développement de la pathologie (Casillas-Espinosa et al., 2023). D’autres mutations de Cav3.2 étudiées chez ces rats s’accompagnent d’une augmentation des courants calciques enregistrés provoquée par une augmentation de l’adressage à la membrane de canaux calciques de type T (Proft et al., 2017). Chez l’Homme, il existe des mutations gain de fonction qui accélèrent le passage des canaux Cav3.2 d’un état inactif à un état actif, ce qui augmenterait la disponibilité des canaux lors de dépolarisations successives (Heron et al., 2007).

I.4) Pathophysiologie de l’épilepsie absence : réseaux neuronaux impliqués dans les crises

Afin d’élucider la nature et le fonctionnement des réseaux neuronaux impliqués dans les crises d’absence, les enregistrements électrophysiologiques ont été largement employés, que ce soit chez l’Homme ou chez des modèles animaux pharmacologiques, génétiques ou des modèles *in vitro*. Les modèles animaux peuvent être des modèles aigus, semi-chroniques ou chroniques (Coppola and Moshé, 2012). Ici, nous verrons comment l’emploi de modèles *in vivo* et *in vitro* a permis d’avancer dans la description des réseaux neuronaux impliqués dans l’apparition des crises.

I.4.1) Les modèles félins pharmacologiques

I.4.1.1) Des fuseaux de sommeil aux décharges pointe-ondes : l’hypothèse cortico-réticulaire

Les modèles pharmacologiques félins d’épilepsie absence peuvent être générés suite à l’injection périphérique de fortes doses de pénicilline (Gloor, 1979a) (Avoli, 1995; Gloor, 1969). Environ une heure après l’injection de la pénicilline, il est possible d’enregistrer des décharges pointes ondes par EEG (**figure 8**). Ces décharges sont détectables jusqu’à 5 heures après injection intra-musculaire et sont corrélées à une absence de réponse à des stimuli extérieurs (Taylor-Courval and Gloor, 1984). La pénicilline, toxine sécrétée par les champignons *Penicilium notatum*, agit comme un antagoniste aux récepteurs GABA_A, ce qui dépolarise légèrement les neurones par levée d’inhibition, et abaisse leur seuil de production de potentiels d’action (Ayala et al., 1970; Curtis et al., 1972; Davidoff, 1972; Rossokhin et al., 2014; Tsuda et al., 1994). L’effet de l’injection de pénicilline est réversible spontanément ou par injection d’une enzyme,

la pénicillinase, naturellement produite par certains microbes et qui détruit la pénicilline (Gutnick and Prince, 1971).

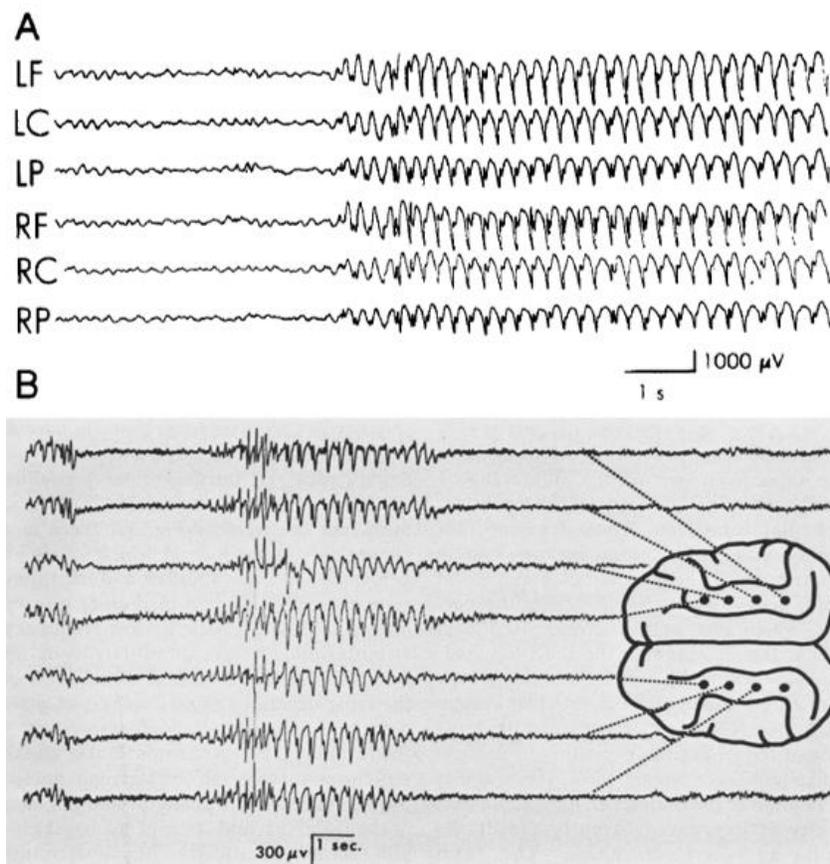


Figure 8 : Décharges pointes ondes généralisées (A) spontanées chez un garçon de 9 ans pendant une crise, et (B) provoquée par injection de pénicilline chez un chat. Notez que l'apparition des décharges pointes ondes dans le cortex se fait de façon bilatérale et s'accompagne d'un arrêt comportemental. L : Gauche ; R : Droite ; F : Frontal ; C : Central ; P : Pariétal. D'après Gloor, 1979; Gloor and Fariello, 1988

Le noyau réticulé du thalamus générerait puis transmettrait durant le sommeil lent (cf partie III) dans la boucle thalamo-corticale des ondes de 12 à 14 hertz nommées *fuseau de sommeil*, dont le patron ressemble aux bouffées de pointes-ondes mais avec une amplitude moindre et une durée se limitant au maximum à quelques secondes. Les travaux sur les modèles pharmacologiques félins ont permis de proposer et d'explorer l'hypothèse cortico-réticulaire selon laquelle les afférences thalamo-corticales, normalement impliquées dans la genèse des fuseaux de sommeil, peuvent favoriser la production de décharges pointes ondes lorsque le cortex est dans un état de légère hyperexcitabilité (Gloor, 1979; Gloor et al., 1979). Cette légère hyperexcitabilité engendrerait une plus forte activité des neurones corticaux, parmi lesquels des neurones inhibiteurs intracorticaux, ce qui mènerait à l'alternance entre des périodes de forte activation et des périodes de forte inhibition. L'alternance entre ces périodes serait un mécanisme

central dans la production de décharges pointes ondes, avec une activation corticale pendant les pointes et une inhibition corticale pendant les ondes (**figure 9A**).

Plus précisément, la production de bouffées de potentiels d'action par les neurones pyramidaux serait suivie de l'activation des interneurons inhibiteurs intracorticaux qui, en exerçant un rétrocontrôle négatif, inhiberaient l'activité des neurones pyramidaux (Avoli and Gloor, 1982; Gloor et al., 1979). Ces interneurons qui divergent vers un nombre important de neurones pyramidaux, favorisent la reprise synchronisée de l'activité corticale dans une vaste population neuronale par rebond post-inhibiteur (**figure 9B**). Cette hypothèse est étayée par des travaux qui montrent que le fait de rétablir une excitabilité corticale basale suffit à ce que des fuseaux de sommeil remplacent les DPO (Gloor et al., 1979).

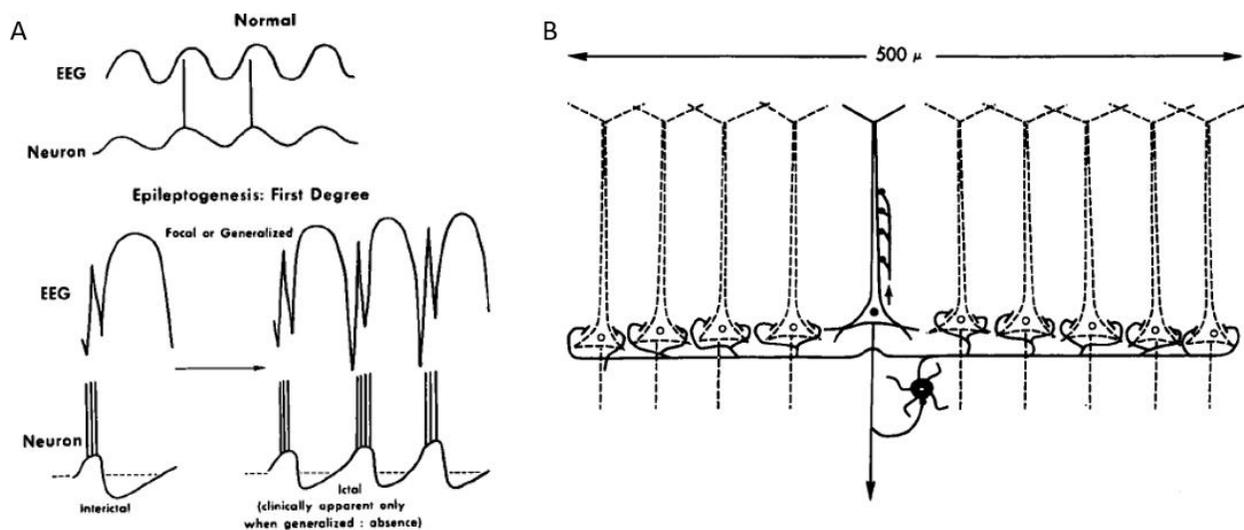


Figure 9 : Correspondance entre l'alternance d'activation et d'inhibition des neurones pyramidaux et l'apparition des décharges pointes-ondes. A. Les deux traces du haut schématisent la relation entre l'EEG ictal de surface et l'activité d'un neurone cortical. Dans les deux traces du bas, on note la synchronisation entre les bouffées de potentiel d'action du neurone et les pointes de l'EEG ainsi qu'entre l'hyperpolarisation du neurone et les ondes dans l'EEG. (B) Schéma anatomique du réseau cortical. La forte divergence des interneurons inhibiteurs sur la population pyramidale est représentée par un seul neurone inhibiteur (soma noir). Cette divergence de l'inhibition favoriserait la synchronisation de l'activité des neurones pyramidaux, ce qui mènerait à la production de décharges pointes-ondes. Adapté de Gloor, 1979.

1.4.1.2) Limites des modèles pharmacologiques

Comme vu ci-dessus, les modèles pharmacologiques ont permis d'importantes avancées dans la compréhension des mécanismes de pathogénèse de l'épilepsie absence. Il est ainsi apparu que le thalamus

et le cortex joueraient des rôles centraux dans la production des décharges pointes ondes. L'activité de ces réseaux pourrait spontanément basculer entre un mode de décharge correspondant aux fuseaux de sommeil physiologiques et un mode de décharge composé de pointes ondes pathologiques. Cette hypothèse laisse envisager que les crises d'absence puissent ne pas apparaître de façon aléatoire et puissent être anticipées en fonction du niveau d'activité du sujet étudié. Toutefois, le caractère aigu des modèles pharmacologiques rend impossible les études longitudinales, nécessaires lorsque l'on veut tester des traitements ou explorer les comorbidités associées à l'épilepsie. Pour cela, les modèles génétiques sont plus appropriés. Nous verrons dans la partie suivante comment les modèles génétiques ont permis d'explorer de façon plus précise les contributions du thalamus et du cortex à la production de DPO. Nous aborderons les liens entre le niveau d'activité comportementale et l'occurrence des crises. Enfin, nous discuterons des comorbidités liées aux crises d'absence.

1.4.2) Les modèles génétiques : GAERS et Wag-Rij

Il existe deux lignées de rat épilepsie absence chez lesquelles les enregistrements EEG ont révélé la présence de décharges pointes ondes entre 7 et 11 Hz. La première est le rat GAERS (*Genetic Absence Epilepsy Rat of Strasbourg*) et la seconde est le rat WAG/Rij (*Wistar Albino Glaxo strain bred in Rijswijk*). Ces lignées ont été dérivées à partir de rats wistar qui produisaient de façon occasionnelle des décharges pointes ondes (Vergnes et al., 1982). Chez ces deux modèles, l'utilisation de l'éthosuximide (ETX) suffit à supprimer les crises (Blumenfeld et al., 2008; Dezsi et al., 2013). Parmi les similitudes observées entre ces lignées et les humains épileptiques, on remarque une latence dans la mise en place des crises. Chez l'Homme, les crises apparaissent entre 4 et 10 ans et tendent à disparaître à la puberté ou évoluent en des formes d'épilepsie plus sévères. Chez les modèles génétiques, les crises se développent autour de 6-8 semaines chez les rats GAERS et autour de 8-12 semaines chez les WAG/Rij. Toutefois, il faut noter que chez les rats épileptiques, aucune rémission n'est observée et que les crises augmentent en fréquence avec l'âge (Coenen and Van Luijtelaar, 1987).

1.4.2.1) Les facteurs génétiques

Les mécanismes épileptogènes des rats GAERS et des rats WAG/Rij reposent sur des fonds polygéniques complexes (Peeters et al., 1990; Rudolf et al., 2004). L'étude des mutations présentes chez ces modèles a permis des avancées dans la compréhension des mécanismes sous-jacents aux crises d'absence. Comme vu précédemment au sujet des facteurs génétiques (cf 1.3.c), les mutations décrites chez ces deux modèles affectent majoritairement le gène CACNA1H qui code pour le canal calcique voltage dépendant de type T $Ca_v3.2$, largement exprimé dans le thalamus (Broicher et al., 2008; Powell et al., 2009; Talley et al., 2000). Ces mutations gain de fonction augmentent la conductance calcique des neurones qui

expriment le canal $Ca_v3.2$ suite à l'augmentation de l'adressage membranaire de ces canaux (Proft et al., 2017; Tsakiridou et al., 1995). Toutefois, il existe des différences entre ces deux modèles, tels que le temps passé en crise qui est supérieur chez les GAERS par rapport aux WAG/Rij (Akman et al., 2010). Ces différences pourraient être la conséquence de variants distincts qui ont été identifiés chez ces deux lignées (Gauguier et al., 2004). Par exemple, chez le rat GAERS, une mutation sur la paire de base 4751 de l'exon 24 du gène *CACNA1H* a été décrite qui est absente chez le rat WAG/Rij. Cette mutation donne lieu à une permutation de l'acide aminé arginine en proline en position 1584 (R1584P) (Powell et al., 2009). De façon générale, les variants concernés induiraient une variabilité de la durée et de la fréquence des crises sans définir l'entièreté du phénotype épileptique.

Contrairement à l'humain chez qui les filles sont plus susceptibles de présenter la maladie que les garçons, chez les rats GAERS et WAG/Rij, les décharges pointes ondes ont la même probabilité d'être enregistrées chez les mâles et les femelles, ce qui indique une hérédité autosomale de l'épilepsie. Malgré cette transmission autosomale, il existe une influence du cycle hormonal sur l'occurrence des crises, les neurostéroïdes contribuant à réguler l'excitabilité neuronale en agissant comme des modulateurs allostériques de récepteurs $GABA_A$ et NMDA (Bowlby, 1993; McEwen, n.d.; Taubøll et al., 2015; Wu et al., 1991). Chez les rates WAG-Rij, des auteurs ont montré que les phases de pro-oestrus sont corrélées à une augmentation du nombre de décharges pointes ondes (van Luijtelaaar et al., 2001). Cette phase correspond au pic de progestérone dans le cycle de l'animal, ce qui suggère une influence de ce stéroïde sur l'apparition des crises. Ces résultats sont confortés par d'autres études qui montrent que l'injection d'allopregnolone, un métabolite endogène de la progestérone, suffit à augmenter le nombre de crises enregistrées (Budziszewska et al., 1999).

En somme, il existerait chez ces modèles de rats épileptiques, des facteurs génétiques importants dans l'apparition des crises d'absence, qui moduleraient seulement à la marge certains paramètres tels que le nombre de crises, leur durées et l'âge de leur mise en place. Finalement, que les crises soient dues au fond génétique ou qu'elles soient déclenchées de façon pharmacologique (cf I.4.a), les conséquences sémiologiques sont semblables, comme l'expression anormale et déformée d'activités synchrones physiologiques telles que les fuseaux de sommeil. Il apparaît donc important de diversifier les modèles d'études afin d'explorer de façon aussi exhaustive que possible les mécanismes moléculaires (gènes, protéines), cellulaires (structures, types neuronaux) et intégratifs (activité de réseau) qui pourraient être révélateurs d'une variabilité physiopathologique de la genèse des crises d'absence.

1.4.2.2) Les rôles du cortex et du thalamus : l'hypothèse d'un foyer cortical

L'étude des réseaux neuronaux responsables des crises d'absence est une question centrale pour comprendre cette épilepsie. Ce point a été exploré en détail chez les rats épileptiques, notamment grâce aux enregistrements électrophysiologiques *in vivo* et *in vitro*.

Les enregistrements électrophysiologiques *in vivo* ont montré le caractère généralisé des décharges pointes ondes. Dans l'étude présentée dans la **figure 7** (Meeren et al., 2002), les auteurs ont détecté des crises d'absence chez les rats WAG/Rij en implantant des électrodes intracorticales réparties sur tout l'axe antéro-postérieur du cerveau (**figure 10A**). Ils ont montré que les décharges pointes-ondes apparaissent de façon bilatérale et synchrone et envahissent une large partie du cortex (**figure 10B**). On constate que l'amplitude des oscillations atteint son maximum dans les régions antérieures du cortex et diminue progressivement dans les régions postérieures. L'étude décrit aussi des oscillations plus fortes dans les parties latérales du cortex, comparées aux parties médiales.

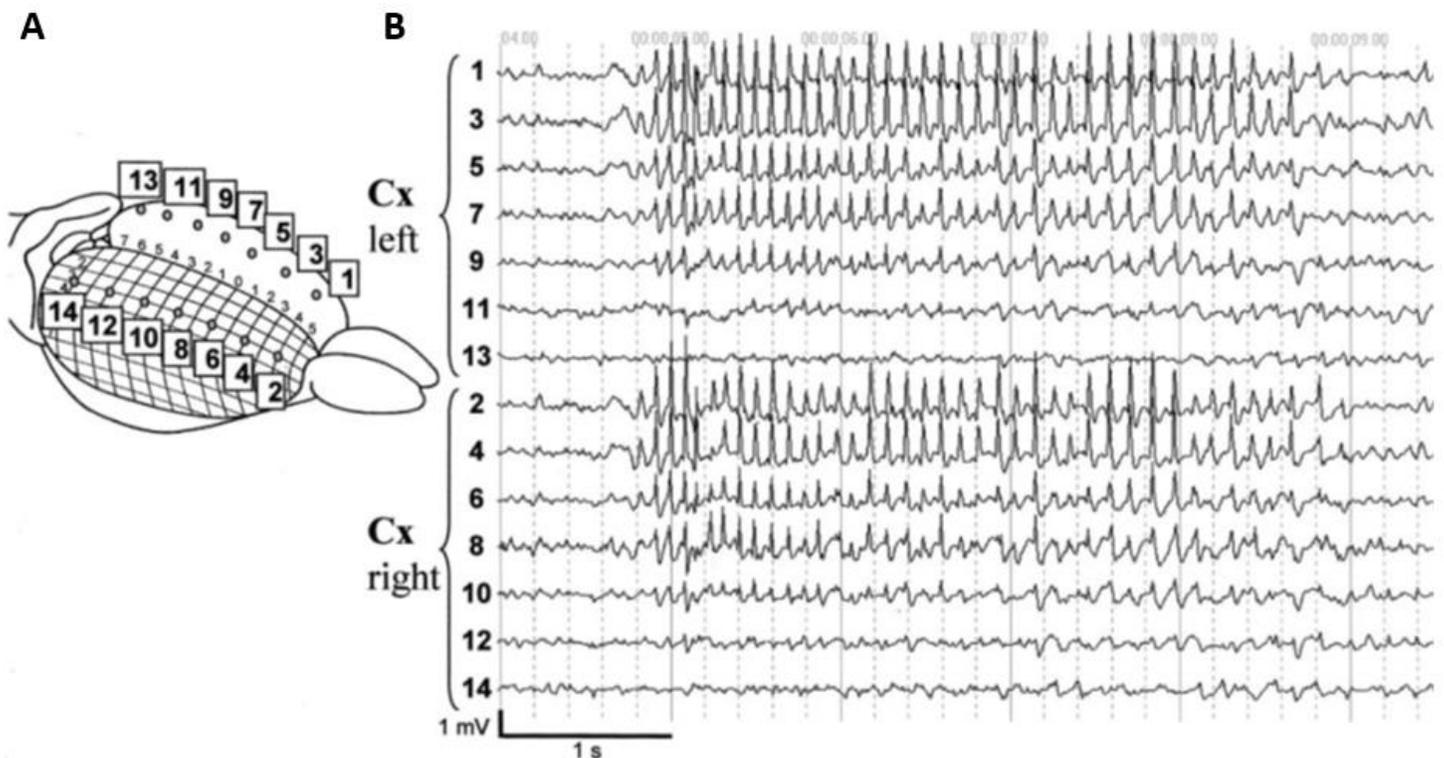


Figure 10 : Exemple d'une crise enregistrée dans des régions corticales réparties sur l'axe antéro-postérieur et de façon bilatérale chez le rat WAG/Rij. **A.** Position des sites d'enregistrements. **B.** Enregistrements EEG correspondants. On note que les décharges pointes ondes apparaissent de façon bilatérale et sont détectables par la majorité des canaux d'enregistrement. Les décharges pointes ondes sont plus marquées dans la partie antérieure du cerveau et sont quasiment absentes dans la partie postérieure. Adaptée de Meeren et al., 2002.

Ces oscillations plus marquées à certains endroits rendent plausible l'existence d'un foyer cortical qui initierait les crises d'absences. D'autant plus que les auteurs démontrent un délai d'apparition des décharges pointes ondes entre le cortex et le thalamus, le premier précédant le deuxième. Ces résultats sont cohérents avec l'expression augmentée de gènes qui codent pour des canaux sodiques voltage-dépendants (Nav1.1 et Nav1.6) et qui participent aux courants sodiques voltage dépendant persistants (qui s'activent pour de légères dépolarisations proches de la valeur du potentiel membranaire de repos) capables de générer des bouffées de potentiels d'action dans les neurones du cortex somatosensoriel. Ces augmentations d'expressions géniques se font au même âge que l'apparition des crises chez le rat WAG/Rij (Klein et al., 2004).

Afin d'étudier plus précisément cette question de l'existence d'un foyer cortical, d'autres auteurs ont réalisé des enregistrements EEG cette fois sur des rats GAERS (Zheng et al., 2012). Ces enregistrements ont révélé des oscillations encore plus précoces dans le cortex somatosensoriel secondaire, primaire et le cortex insulaire (**figure 11A**).

D'autres travaux chez le rat GAERS ont pu établir un lien causal entre l'activité de ces neurones du cortex somatosensoriel et la production de décharges pointes ondes (**figure 11B** ; van Raay et al., 2012). En effet, l'injection du NeuroPeptide Y (NPY), un inhibiteur endogène de l'activité neuronale, effectuée dans les cortex somatosensoriels primaires ou secondaires était suivi d'une diminution du temps passé en crise, du nombre de crises et de la durée des crises. Ces données permettent d'attribuer un rôle initiateur aux cortex somatosensoriels primaires et secondaires dans la production de décharges pointe-ondes sans réelle distinction parce que l'injection du NPY dans le cortex somatosensoriel secondaire, touchait également le cortex somatosensoriel primaire. Cette importance du cortex somatosensoriel est confortée par d'autres travaux qui montrent que l'injection d'anti-épileptiques tels que l'éthosuximide (Manning et al., 2004), ou d'inhibiteurs de canaux sodiques comme la phénytoïne (Gurbanova et al., 2006), la lidocaïne (Sitnikova and van Luijtelaar, 2004) ou la tétrodotoxine (Polack and Charpier, 2009a), dans le cortex somatosensoriel péri-oral sont suffisantes pour bloquer l'apparition de décharges pointes ondes.

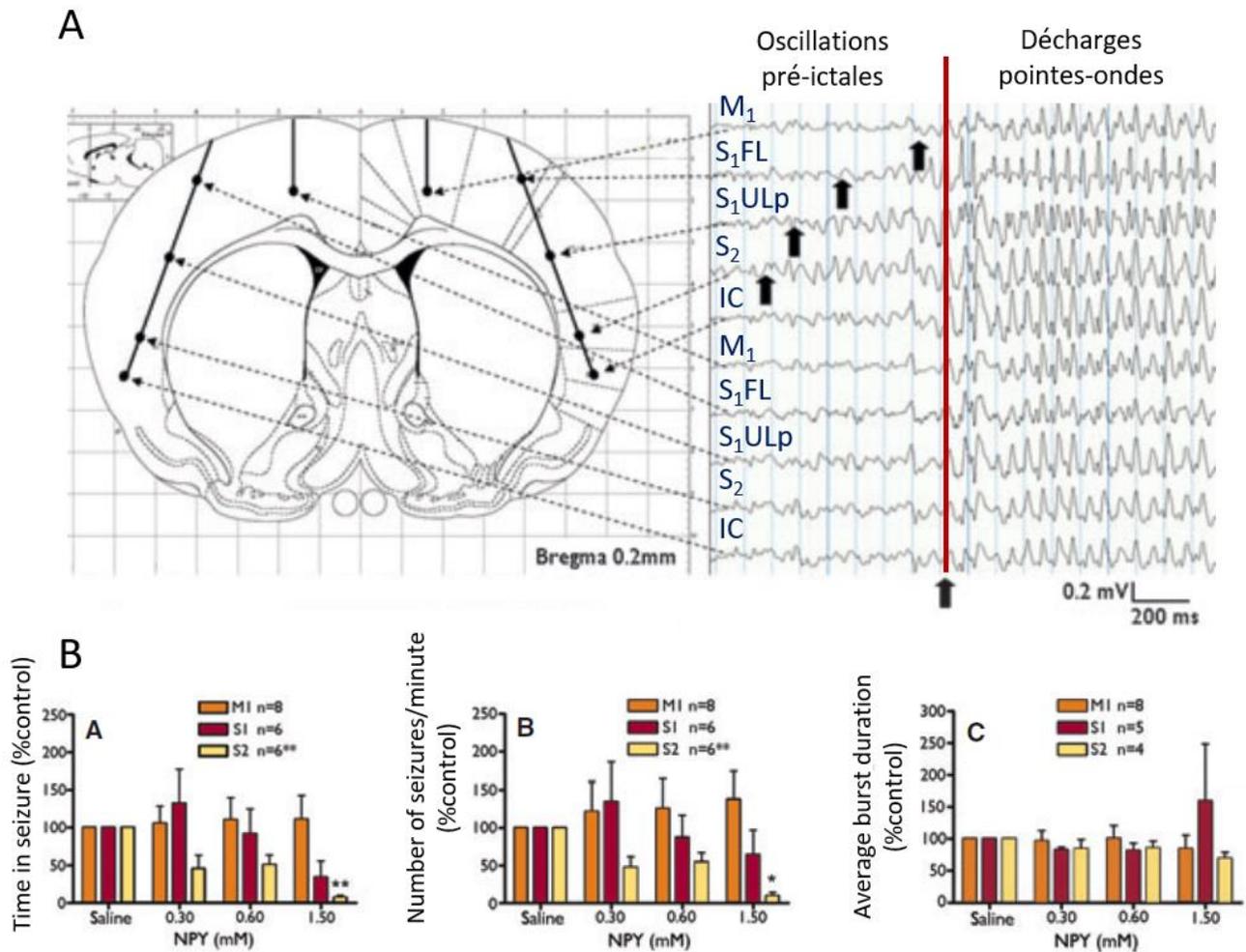


Figure 11 : Enregistrement EEG chez le GAERS pour déterminer le site d'initiation des décharges pointes ondes. S2 : cortex somatosensoriel secondaire ; S1ULp : cortex somatosensoriel primaire lèvre supérieure ; S1FL : cortex somatosensoriel primaire membres antérieurs ; M1 : cortex moteur primaire ; IC : cortex insulaire. **A.** Les décharges pointes ondes sont d'abord détectées dans les cortex somatosensoriels primaires et secondaires. Les décharges pointes-ondes apparaissent d'abord de façon unilatérale avant de se généraliser (adaptée de Zheng et al., 2012). **B.** Evolution du temps passé en crise, du nombre de crise et de la durée moyenne des crises suite à l'injection de doses croissantes de NPY dans le cortex moteur primaire (M1), le cortex somatosensoriel primaire (S1) et le cortex somatosensoriel secondaire (S2). Adaptée de van Raay et al., 2012

Après avoir identifié le foyer cortical responsable de l'apparition des crises chez les rats épileptiques, il convenait d'étudier les mécanismes cellulaires à l'origine de ces activités pathologiques. A cette fin, des enregistrements extracellulaires (électrocorticogramme ; EcoG) pour détecter les DPOs et des enregistrements intracellulaires de neurones pyramidaux du cortex somatosensoriel secondaire ont été combinés (Polack et al., 2007). Cette approche a révélé que les neurones pyramidaux des couches profondes (couches 5/6) déchargent de façon rythmique en dehors et pendant les crises électrographiques

(figure 12A) mais que leur activité est modulée différemment pendant ces deux phases. En effet, en interictal la décharge rythmique de bouffées de PAs se produit avec une fréquence d'environ 15 Hz sur fond de potentiel membranaire aux alentours de -58mV et des fluctuations infraliminaires du potentiel de membrane de quelques mV d'amplitude (figure 12B - interictal). En revanche, pendant la crise, la décharge rythmique de bouffées de PAs se produit avec une fréquence plus lente d'environ 6Hz sur fond de potentiel membranaire plus hyperpolarisé et d'oscillations plus amples du potentiel de membrane de l'ordre de la dizaine de mV. Ces bouffées de décharge précèdent d'environ 20 ms les DPO détectées par l'EcoG (figures 12B– ictal et 12C). Il se pourrait que chez une population spécifique de neurones pyramidaux des couches profondes, un câblage synaptique excitateur accru combiné à des propriétés intrinsèques de membrane particulières telles qu'une diminution de la conductance I_h (courants cationiques entrants dépolarisants activés par l'hyperpolarisation) qui, tout en retardant la décharge, faciliterait la sommation des PPSEs (Williams and Stuart, 2000), puisse être à l'origine de propriétés de décharge rythmique spontanée de type pacemaker et donc de la genèse des DPOs. Cette idée est confortée par le fait que les neurones des couches profondes déchargent en premier lors de la production des décharges pointes-ondes (figure 12C).

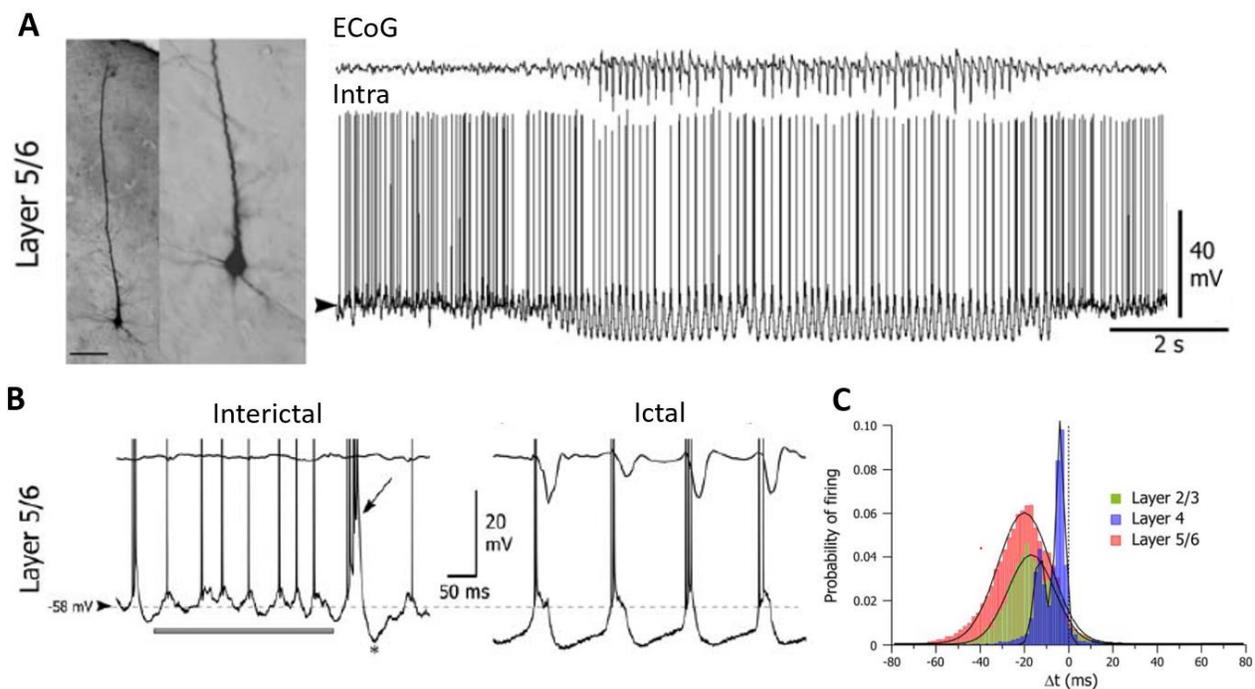


Figure 12 : **Activité des neurones des couches profondes (5/6) du cortex somatosensoriel chez le rat GAERS.** **A.** gauche : Photographie d'un neurone pyramidal enregistré, après marquage à la neurobotine. Droite : enregistrement électrocortigramme (ECoG) de surface et intracellulaire (intra) lors d'une crise d'absence du neurone photographié. **B.** Enregistrement intracellulaire d'un neurone pyramidal des couches 5/6 en dehors d'une crise (interictal) et pendant une crise (ictal). La flèche désigne une bouffée de potentiels d'actions qui se produit de façon spontanée. On note l'hyperpolarisation qui suit cette

bouffée de potentiels d'actions et qui est équivalente de celle observée dans ce neurone pendant la crise. Par ailleurs, lors des crises, le neurone enregistré semble décharger environ 20ms avant la phase de pointe détectée en ECoG. **C.** Distribution de la temporalité des potentiels d'action des neurones des différentes couches corticales par rapport à l'apparition des pointes. Le t=0 correspond aux pointes. Adaptée de Polack et al., 2007.

Afin de valider l'implication des neurones des couches profondes du cortex somatosensoriel dans la production des décharges pointes-ondes, il est nécessaire de voir comment varie leur activité suite à l'injection de traitement anti-épileptique tel que l'éthosuximide (ETX). Ce point a été exploré dans une autre étude chez le rat GAERS, à l'aide d'électrocorticogramme (EcoG) et d'enregistrements intracellulaires, suite à l'injection systémique de doses thérapeutiques d'ETX. Ces injections d'ETX ont suffi à abolir la production de décharges pointes ondes sur l'EcoG (**figure 13A**) et à rétablir une décharge de PA tonique et un niveau d'excitabilité neuronale similaire à ceux de rats non-épileptiques c'est-à-dire avec un potentiel de repos plus physiologique autour de 60mV (**figure 13B et 13C**). Bien que ces résultats ne suffisent pas à établir un lien de cause à effet entre le pattern d'hyperactivité/hyperexcitabilité de ces neurones et la production de décharges pointes-ondes, la concomitance de ces événements, autant dans leur apparition que dans leur suppression, les lient de façon étroite. Dans ce modèle de genèse des DPO, on attribue au cortex somatosensoriel le rôle de générateur de rythme via un « hotspot » de cellules hyperexcitables capables de générer des DPO lorsque la circuiterie cortico-thalamo-corticale est dans un état approprié avec un niveau d'excitabilité basale élevée. On n'associe alors au thalamus qu'un rôle de résonnateur, qui participe au maintien et à la propagation des décharges pointes-ondes.

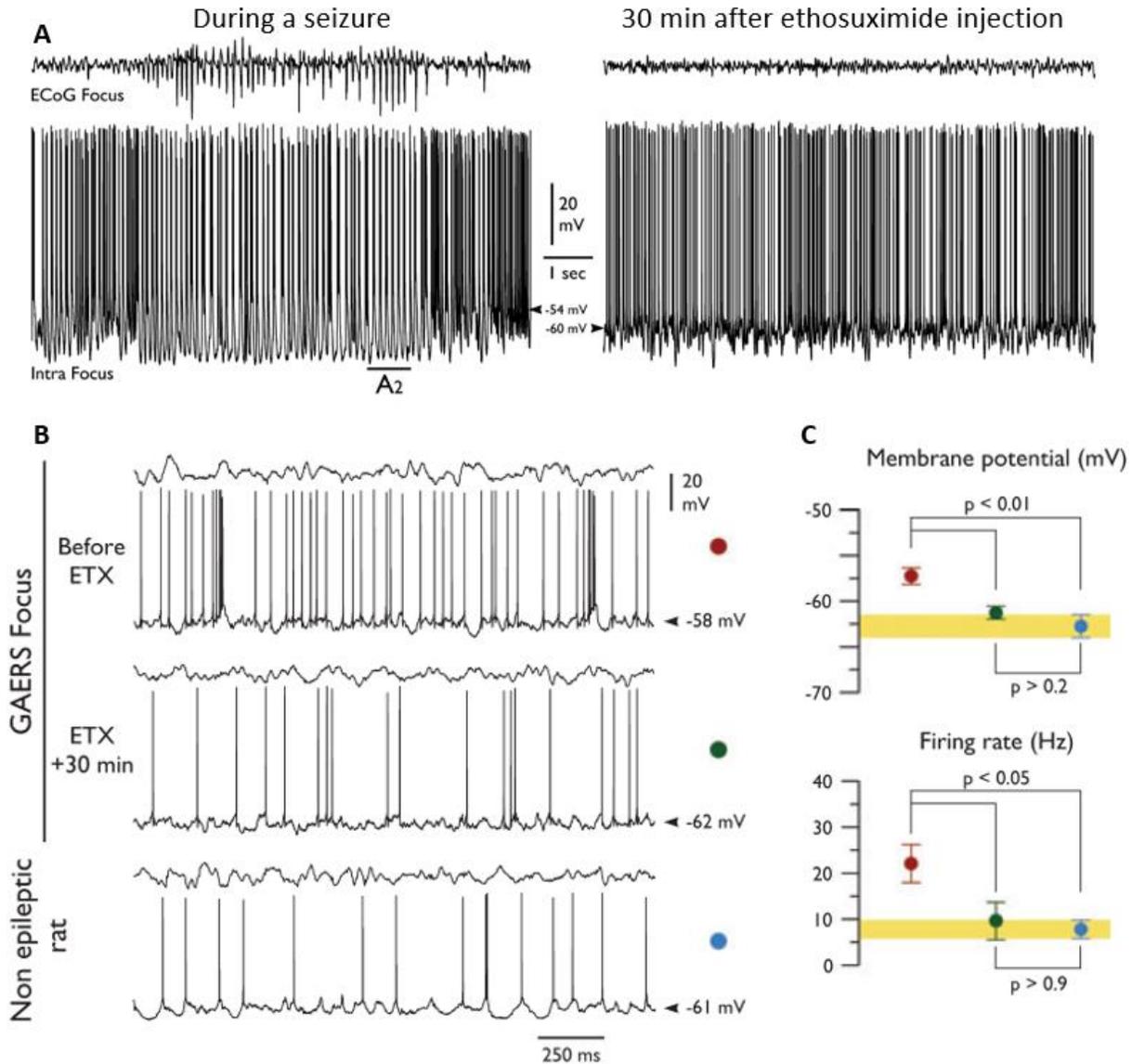


Figure 13 : L'action de l'éthosuximide (ETX) sur les neurones des couches profondes du cortex somatosensoriel secondaire de rats GAERS. **A.** Enregistrement ECoG et intracellulaire pendant une crise (gauche) et après injection d'ETX (droite). **B.** Enregistrement ECoG (haut) et intracellulaire (bas) correspondant. **C.** Potentiel de membrane et taux de décharge moyens en dehors des crises pour les différentes conditions (GAERS avant et après injection d'ETX et rat non-épileptique). On note qu'après injection d'ETX, les neurones corticaux des rats GAERS passent d'un état hyperactif et hyperexcitable à un état normal, similaire aux neurones corticaux de rats non-épileptiques. Adaptée de Polack and Charpier, 2009.

Toutefois, cette vision centrée autour du foyer cortical et du rôle secondaire du thalamus est à nuancer. La relation entre le cortex et le thalamus dans la production des décharges pointe-ondes pourrait être plus subtile. Une étude a divisé les crises en différentes étapes : l'état pré-ictal (1,25 s avant la

première décharge pointe onde), l'initiation (500 premières ms), la crise, la terminaison (1,5 s avant la dernière décharge pointe onde) et l'état post-ictal. A l'aide d'enregistrements EEG multi-sites sur des animaux éveillés, ils ont établi les participations de différents noyaux thalamiques dans l'apparition des crises. De manière générale, ils ont constaté que l'activité du cortex était bien modifiée avant celle des noyaux thalamiques étudiés. Une exception subsiste puisqu'ils ont observé un couplage bidirectionnel entre la couche 5 du cortex somatosensoriel et le noyau postérieur thalamique (Po) lors de l'état pré-ictal (Lüttjohann and van Luijtelaaar, 2012). En outre, des stimulations électriques à basse fréquence de noyaux thalamiques suffisent à générer à nouveau des décharges pointes ondes, lorsque des stimulations à haute fréquence les ont abolies (Lüttjohann and van Luijtelaaar, 2013). Il est établi que les informations sensorielles sont traitées par le cortex après avoir été filtrées par le thalamus (Pierret et al., 2000). Des auteurs ont montré que le blocage pharmacologique du nerf trijumeau, dont les informations sont filtrées dans le noyau ventro-postéro-médian (VPM) du thalamus et traitées par le cortex somatosensoriel primaire, suffit à diminuer de façon drastique le nombre de décharges pointes ondes et leur durée (Abbasova et al., 2010). D'autres travaux dans lesquels les auteurs ont enregistré l'activité multi-unitaire de neurones de différents noyaux thalamiques et couches corticales chez le rat GAERS ont montré que les neurones du noyau réticulé thalamique (nRT) déchargent avec un « verrouillage de phase » (*phase locked*) par rapport aux pointes, et que ces décharges précèdent celles enregistrées dans le cortex (Seidenbecher et al., 1998). Des observations similaires ont été faites chez le rat WAG-Rij (Inoue et al., 1993). En outre, des lésions unilatérales du nRT, qui a une activité pacemaker (Buzsaki et al., 1988), suffisent à supprimer les décharges pointes ondes du cortex ipsilatéral chez des rats GAERS (Avanzini et al., 1993). Ensemble, ces résultats illustrent la complexité des interactions entre le cortex et le thalamus.

1.4.2.3) L'implication d'autres structures sous-corticales

Jusqu'ici, nous avons vu que le cortex et le thalamus ont des rôles centraux dans l'apparition des crises d'absence. Cependant, d'autres structures sous-corticales en étroite connexion avec le réseau thalamocortical voient également leur activité modifiée pendant les DPOs. C'est le cas notamment du striatum (Assous and Tepper, 2019). Le striatum fait partie des ganglions de la base, avec le globus pallidus (GP), le noyau sous-thalamique (STN) et la substance noire (SN). Il est composé à 95% de neurones épineux moyens (MSN) GABAergiques (dont les neurones striato-corticaux) et de 5% d'interneurones inhibiteurs locaux GABAergiques et cholinergiques (Silberberg and Bolam, 2015). Les MSN et les interneurones locaux reçoivent des projections corticales glutamatergiques convergentes organisées de façon topographique (**figure 14A**) (Cavada and Goldman-Rakic, 1991; Jiang and North, 1991; Kita, 1996; Mahon et al., 2000;

Sharott et al., 2012; Weber and Yin, 1984; Wilson and Kawaguchi, 1996). Les MSN participent au traitement des informations sensorielles pour amorcer une réponse contextuelle comme le début d'un mouvement. Pour démarrer une activité motrice ou maintenir l'immobilité, le striatum active respectivement la voie directe ou la voie indirecte (**figure 14B**). En outre, le striatum reçoit des afférences dopaminergiques de la substance noire mais aussi de l'aire tegmentale ventrale mésencéphalique. Ces afférences modulent l'activité des MSN et des interneurons inhibiteurs, qui expriment de façon sélective les récepteurs dopaminergiques D1 ou D2, et qui, dans quelques cas, co-expriment les récepteurs D1 et D2 (Valjent et al., 2009). Cette modulation dopaminergique peut activer les récepteurs D1 et inhiber les récepteurs D2, ce qui diminue l'activité des neurones striataux et provoque une levée d'inhibition des voies thalamo-corticales. Cela a pour conséquence de faciliter le mouvement.

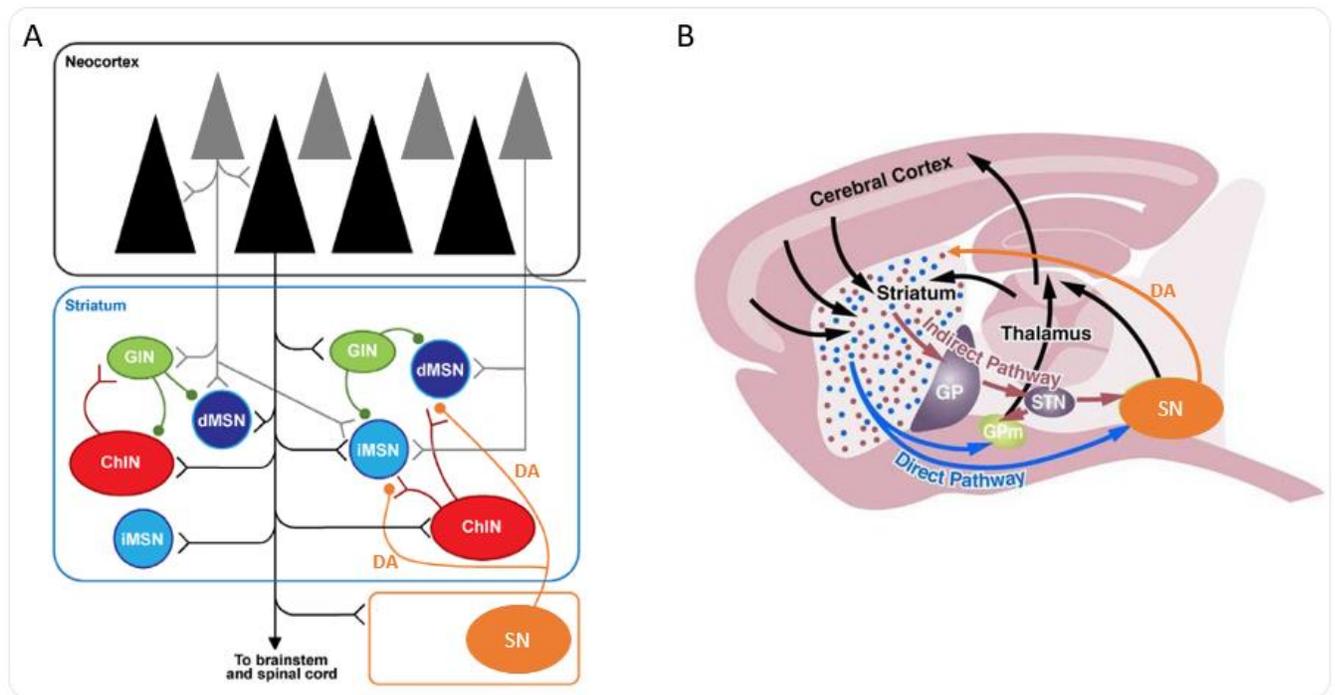


Figure 14 : Organisation hodologique striatale. **A.** Schéma de la micro-circuiterie striatale. ChIN : interneurons cholinergiques ; GIN : Interneurons GABAergiques ; dMSNB et IMSN : interneurons épineux moyens de la voie directe ou indirecte ; SN : substance noire ; DA : projection dopaminergique. **B.** Schéma des voies directes et indirectes. GP : Globus Pallidus ; STN : noyau sous-thalamique ; SN : substance noire ; DA : projection dopaminergique. Adaptée de (Gómez-Ocádiz and Silberberg, 2023; Kreitzer and Malenka, 2008)

La relation entre l'occurrence des crises et l'activité du striatum est bidirectionnelle. Chez des rats épileptiques, la signalisation dopaminergique est altérée puisque l'expression de récepteurs dopaminergiques D1 et D2 dans les ganglions de la base est plus faible que chez des rats non-épileptiques (Birioukova et al., 2005; Tsyba et al., 2023). Dans le cadre de l'épilepsie, l'hypothèse dopaminergique serait celle d'un taux élevé de dopamine chez des sujets épileptiques qui pourrait expliquer cette régulation à la baisse des récepteurs D1 et D2. L'activation pharmacologique de la voie directe (D1) suffit à supprimer les décharges pointes-ondes alors que l'inhibition de la voie directe ou l'activation de la voie indirecte (D2) les aggrave (Deransart et al., 2000, 1998). L'inhibition de la substance noire, qui régule par la libération de dopamine l'activité du striatum, permet aussi de supprimer les DPO (Depaulis et al., 1988).

De plus, chez des rats GAERS, le suivi par EEG des DPO couplé à des enregistrements intracellulaires ou extracellulaires de l'activité des neurones cortico-striataux mais aussi des MSN et des interneurons striataux locaux (Slaght et al., 2004), a permis de faire 3 observations importantes.

- Les neurones cortico-striataux déchargent avant la composante pointe des DPO (**figure 15A**)
- L'activité des MSN est modulée pendant les DPO (hyperpolarisation pendant les DPO et dépolarisation après les DPO) (**figure 15B**).
- Les interneurons locaux déchargent de façon soutenue pendant les DPO (**figure 15C**).

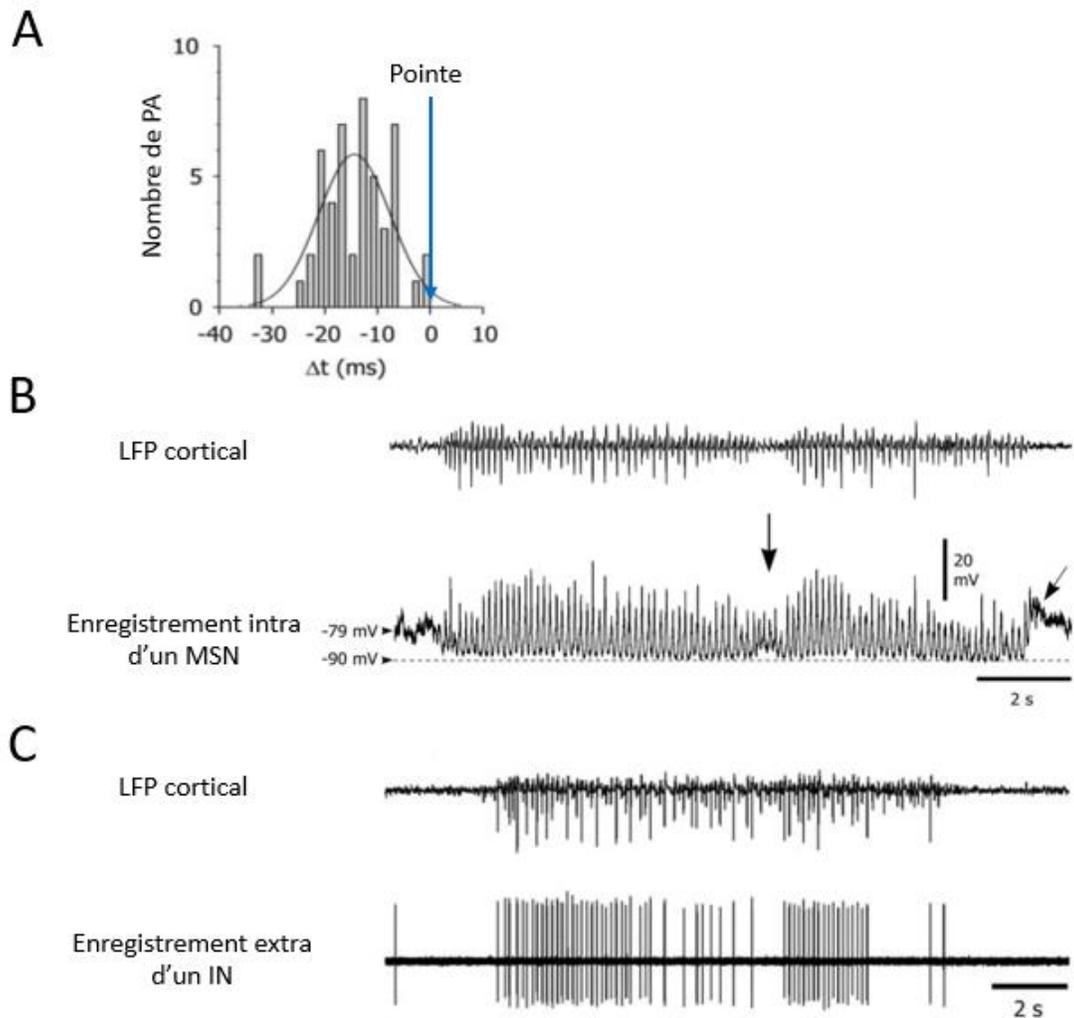


Figure 15 : Activité de neurones du striatum pendant une crise d'absence. **A.** Le pic de la décharge du neurone cortico-striatal se situe à 19 ms avant la composante pointe des DPO (flèche bleue). **B.** Activité d'un MSN pendant une crise d'absence. On note que l'hyperpolarisation du potentiel de repos pendant les DPOs s'accompagne de dépolarisations rythmiques qui restent infraliminaire. Flèche verticale : une interruption momentanée des décharges pointes ondes est accompagnée d'une atténuation de l'hyperpolarisation du neurone striatal. Flèche oblique : la fin de la période de crise est suivie d'une forte dépolarisation du neurone striatal. **C.** Activité d'un interneurone GABAergique (IN) du striatum pendant une crise d'absence. On note que pendant la crise corticale, l'IN présente une activité tonique et irrégulière. Adaptée de Slaght et al., 2004

Ainsi, le cortex, en activant les deux populations striatales inhibitrices (MSN et interneurons locaux) provoquerait une diminution globale de l'activité du striatum par le biais du shunt (afférences inhibitrices proximales diminuant le poids des excitations) réalisé par la petite population d'interneurones locale sur les MSN (**figure 16A**).

La conséquence de ce bas niveau d'activité des MSN est une cessation du mouvement en raison de la non mise en jeu de la voie directe D1. Or, comme expliqué plus haut et dans la **figure 16B**, une diminution de la mise en jeu de la voie D1 est un facteur qui favorise l'immobilité et les crises.

En conclusion, le striatum et les autres ganglions de la base semblent entrer en jeu de façon importante dans la modulation de l'occurrence des crises. Poursuivre l'étude de ces structures est incontournable pour élucider les mécanismes épileptogènes.

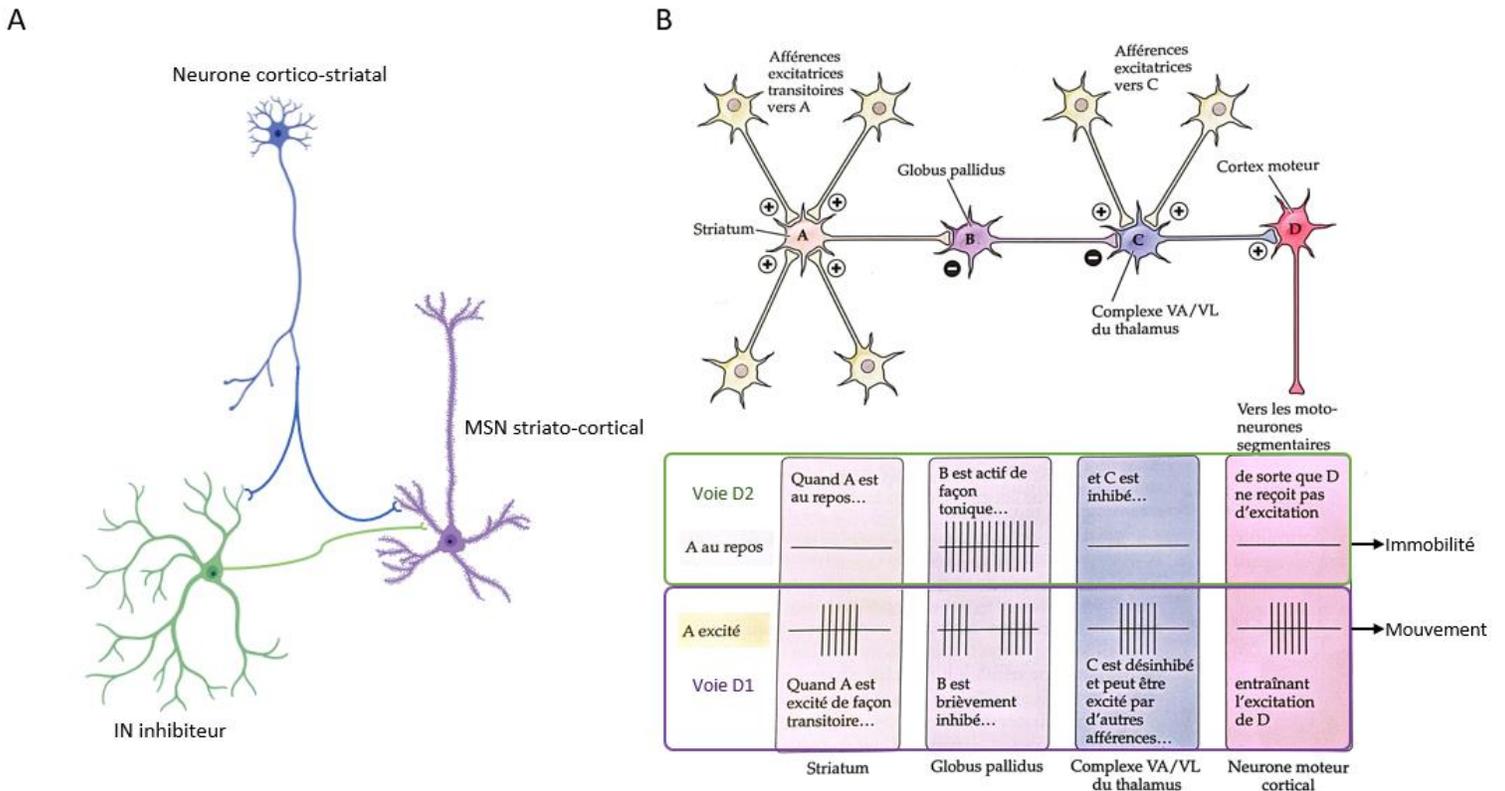


Figure 16 : Mécanisme commun de l'activité striatale pendant les crises et l'immobilité. **A.** Schéma de la connectivité entre les neurones cortico-striataux et les deux population striatales qui illustre le shunt exercé sur les MSN striato-corticaux par les interneurons (IN) inhibiteurs locaux. **B.** Schéma illustrant la voie directe D2 initiée par les MSN D2 (neurone A). L'absence de décharge des MSN D2 induit l'immobilité (et les crises, non illustré). La décharge des MSN D2 induit le mouvement. Adapté de (Purves et al., 2015)

1.4.2.4) Limitations des études électrophysiologiques chez les rats épileptiques

Pour conclure, nous pouvons dire que les enregistrements électrophysiologiques ont permis d'importantes avancées dans la compréhension des mécanismes qui participent au développement des crises. Il est désormais possible de décrire plusieurs structures et populations neuronales qui ont un rôle central dans la production de décharges pointes ondes. Toutefois, les approches décrites jusqu'ici ne permettent pas d'enregistrer l'activité cérébrale de façon exhaustive. Les informations que l'on peut tirer des enregistrements électrophysiologiques dépendent du nombre d'électrodes utilisées et de leur position dans le cerveau. Ces données ne nous donnent qu'une vision partielle voire biaisée des événements conduisant aux crises, selon la théorie (foyer cortical ou foyer thalamique) que l'on pense être juste. Jusqu'ici, la communauté scientifique a eu tendance à focaliser de façon cyclique sur une théorie puis sur l'autre, si bien que dans la revue de Massimo Avoli de 2012 (Avoli, 2012), l'auteur prédit que la prochaine théorie ascendante sera celle centrée sur le thalamus.

II/ L'imagerie fonctionnelle pour étudier l'épilepsie absence

En complément des approches électrophysiologiques qui apportent une information sur l'activité neuronale locale voire unitaire et surtout extrêmement précise temporellement, les approches d'imagerie fonctionnelle cérébrale (IRMf, TEP, NIRS, fUS) permettent un suivi certes indirect de l'activité neuronale (niveau d'oxygène, flux sanguin etc) mais beaucoup plus global et même exhaustif pour la zone imagée. Par conséquent, ces approches d'imagerie fonctionnelle constituent des outils particulièrement adaptés pour explorer la dynamique spatiotemporelle de signaux liés à l'activité des réseaux neuronaux. Dans cette partie, nous aborderons les principes sur lesquels elle repose. Quelles sont ses applications dans des cas physiologiques ? Comment ces approches ont-elles amélioré la compréhension des mécanismes qui participent à l'apparition des crises d'absence ? Quelles sont les limites de ces approches et quels nouveaux développements technologique permettraient de dépasser ces limites ?

II.1) Substrats métaboliques des neurones

Les fonctions cognitives reposent sur la mise en jeu de réseaux neuronaux cérébraux adaptés aux tâches réalisées. L'activité des neurones de ces réseaux nécessite l'apport de glucose (Bélanger et al., 2011). Ce glucose sert à produire l'ATP nécessaire au maintien du potentiel membranaire de repos, et son utilisation augmente lors de la production de potentiel d'action et de la libération de neurotransmetteurs. Le glucose est le seul substrat énergétique stocké dans le cerveau, sous la forme de glycogène. Ce

glycogène cérébral sert de source d'énergie en cas de jeûne de durée modérée et participe à certains processus de consolidation de la mémoire (Duran et al., 2013; Gibbs et al., 2006; Kanungo et al., 2018; Suzuki et al., 2011). Lors de jeûnes prolongés, le glycogène musculaire et hépatique peut être employé pour les besoins du fonctionnement cérébral (Owen et al., 1967). En outre, dans certaines situations, le cerveau peut utiliser d'autres substrats énergétiques, tels que les corps cétoniques pendant le développement et les périodes de jeûne prolongées et le lactate lors d'efforts importants (Cahill et al., 1966; Nehlig, 2004; Nehlig and Pereira De Vasconcelos, 1993; Owen et al., 1967; Smith et al., 2003) .

L'apport en nutriments des neurones est médié par l'unité neuro-glio-vasculaire (**figure 17**). Cette unité repose sur l'étroite collaboration entre les neurones, les astrocytes et les cellules qui forment et modulent les réseaux vasculaires, à savoir les cellules murales (cellules musculaires lisses et péricytes) plus périphériques et les cellules endothéliales qui constituent la paroi des vaisseaux sanguins. Les cellules murales jouent un rôle dans les mécanismes de vasodilatation et de vasoconstriction et les cellules endothéliales jointives forment avec les pieds astrocytaires la barrière hématoencéphalique (BHE).

L'unité neuro-glio-vasculaire participe donc au maintien de l'homéostasie cérébrale, et protège de cerveau de toxines et autres atteintes. L'astrocyte capte le glucose présent dans les capillaires contigus, le converti en pyruvate puis en lactate et transfère ce lactate au neurone en aval qui s'en servira comme substrat pour la production d'ATP (**figure 17**).

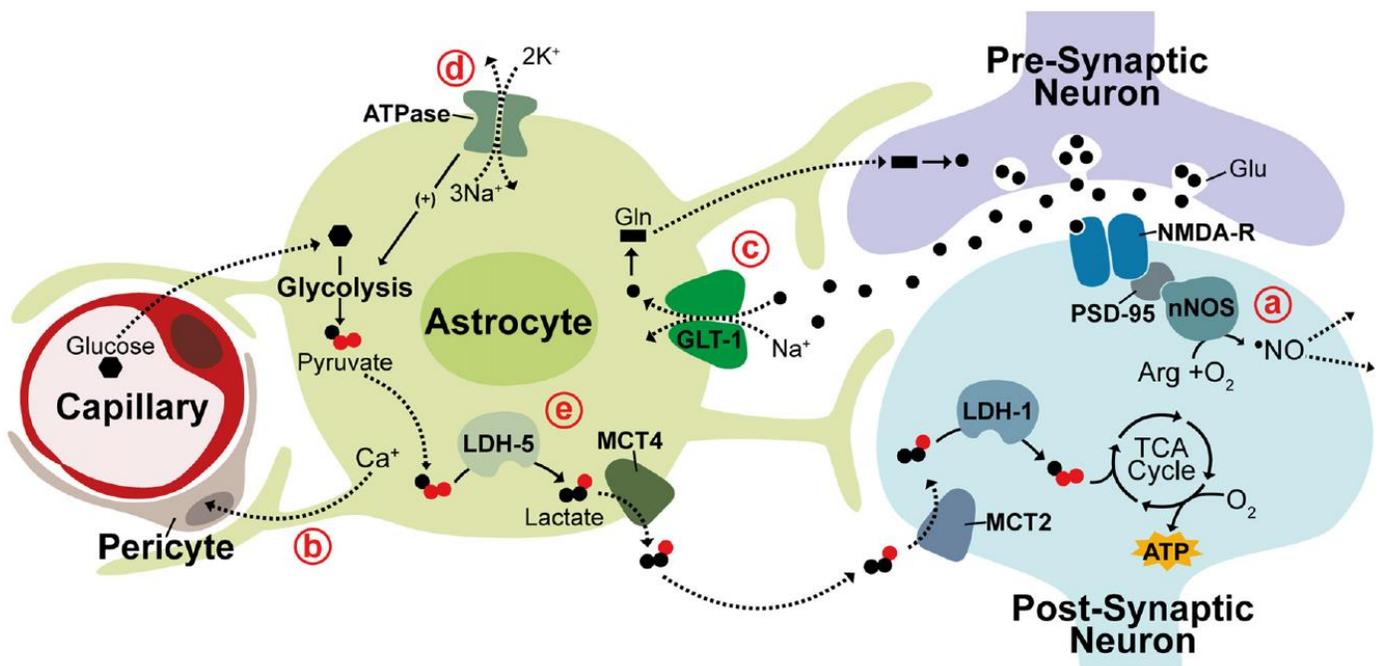


Figure 17 : Schéma des mécanismes de couplage neurovasculaire et neurométabolique. (a) L'activation de récepteurs NMDA par la libération présynaptique de glutamate augmente la synthèse d'oxide nitrique (NO) par l'oxide nitrique synthase (nNOS). Le NO diffuse librement à travers les membranes pour agir sur

les artérioles et provoquer des vasodilatations localisées. (b) Suite à l'activité neuronale, l'astrocyte libère du calcium qui diminue la contraction des péricytes. (c) Le cycle glutamine-glutamate : le glutamate (Glu) présent dans la fente synaptique est recapté par l'astrocyte, converti en glutamine (Gln) puis transféré au neurone pré-synaptique pour reformer les stocks de neurotransmetteurs. (d,e) Le glucose présent dans le capillaire sanguin est capté par l'astrocyte, converti en pyruvate puis en lactate et transféré au neurone post-synaptique pour servir de source d'énergie. LDH : Lactate déshydrogénase, GLT : Transporteur de glutamate, MCT : Transporteur de lactate, ATP : Adénosine triphosphate. Les lignes pleines désignent les activités enzymatiques et les pointillés désignent les mouvements de solutés. Adapté de Watts et al., 2018.

Les activités neuronales et astrocytaires produisent des messagers comme l'oxyde nitrique (NO) ou le calcium qui ont un effet vasodilatateur. Ils font partie des mécanismes qui permettent d'augmenter l'afflux sanguin de façon localisée pour subvenir à des besoins métaboliques neuronaux et astrocytaires accrus. Il s'agit du concept de couplage neurovasculaire sur lequel repose l'imagerie fonctionnelle. Dans la prochaine partie, nous expliquerons comment ce couplage a été mis en évidence et comment il est exploité dans des études d'imagerie fonctionnelle.

II.2) Couplage neurovasculaire

II.2.1) Hyperhémie fonctionnelle

Le couplage neurovasculaire donne lieu à l'hyperhémie fonctionnelle. Autrement dit, lorsqu'une partie du cerveau s'active, l'afflux sanguin vers cette région augmente. C'est en 1890 que ce phénomène a été décrit pour la première fois (Roy and Sherrington, 1890). Dans cette étude, les auteurs ont montré chez le chien qu'une stimulation sensorielle provoquait une augmentation réversible du volume cérébral et de la pression artérielle cérébrale (**figure 18**). Les autres résultats obtenus dans cette étude ont mené à la conclusion que le cerveau sécrète des substances vasoactives, c'est-à-dire capables d'agir sur le diamètre des vaisseaux.

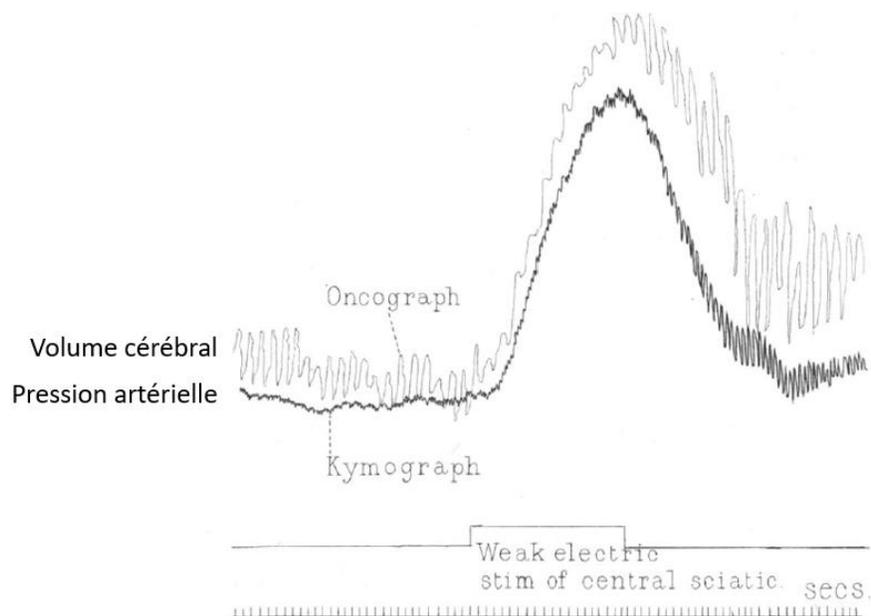


Figure 18 : Description du couplage neurovasculaire suite à une stimulation périphérique. Le volume sanguin cérébral et la pression artérielle augmentent suite à une stimulation électrique du nerf sciatique. Ces paramètres reviennent à leurs valeurs de base après l'arrêt de la stimulation. Adaptée de Roy and Sherrington, 1890.

Ces travaux précurseurs ont été suivis de ceux de Angelo Mosso qui, en 1884, fût le premier à exploiter le couplage neurovasculaire et les modifications de flux sanguin cérébral pour suivre de façon indirecte la fonction cérébrale lors d'une tâche cognitive (Sandrone et al., 2014). Il développa la pléthysmographie, qui permet de suivre les variations de volume sanguin. Il démontra que lors d'une activité cognitive, chez un sujet avec un volet crânien, en position allongée ou assise et immobile, le volume sanguin cérébral varie de façon indépendante du volume sanguin des bras et des jambes (**figure**

19B.a). Il proposa l'idée que les variations de perfusion sanguine cérébrale affectaient des régions du cerveau spécifiques d'une tâche cognitive ou d'une stimulation sensorielle donnée (Raichle, 1998).

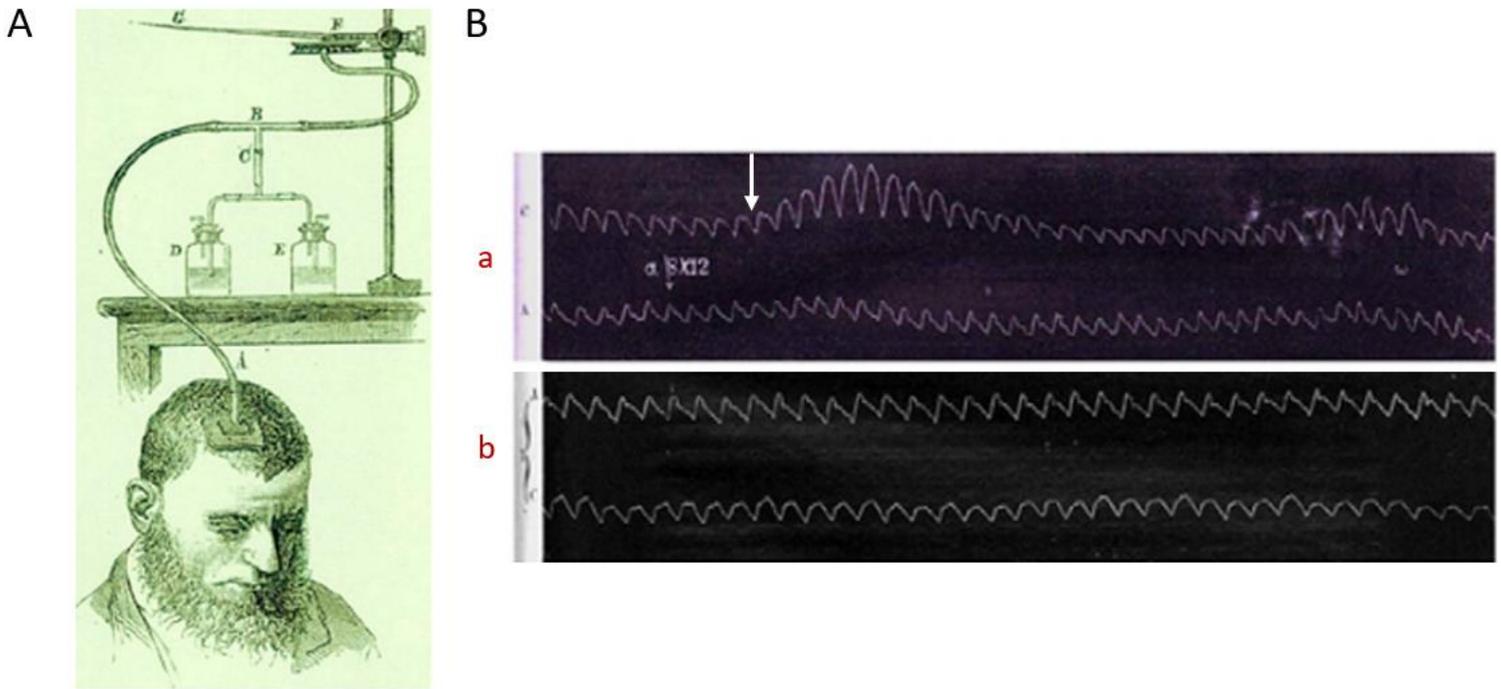


Figure 19 : Augmentation de la pulsativité cérébrale lors d'une tâche cognitive. **A.** Montage expérimental de Mosso qui permet de suivre l'évolution du volume sanguin cérébral. **B.** (a) Volumes sanguins lorsque l'on demande au sujet d'effectuer une opération mathématique (flèche blanche). La trace du haut correspond à l'enregistrement fait dans le cerveau et la trace du bas à l'enregistrement contrôle fait dans l'avant-bras. On note que lors de la tâche cognitive, seule la pulsation cérébrale augmente. (b) Volumes sanguins du cerveau (trace du haut) et de l'avant-bras (trace du bas) au repos. Adaptée de Zago et al., 2009.

Une centaine d'années plus tard, de nombreuses techniques ont vu le jour pour enregistrer les variations de perfusion sanguine dans le cerveau. Parmi ces techniques, on compte l'Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle (IRMf), la Tomographie par Emission de Positron (TEP ou PET en anglais), la Tomographie par Emission MonoPhotonique (TEMP ou SPECT en anglais), la spectroscopie dans le proche infrarouge (NIRS – Near InfraRed Spectroscopy), la vélocimétrie laser, l'imagerie ultrasonore fonctionnelle (fUS – functional UltraSound imaging), etc. Ces techniques, qui nécessitent pour leur mise en œuvre des approches plus ou moins invasives, ont des caractéristiques spécifiques en termes de résolution spatiale (capacité à séparer deux signaux proches spatialement), de résolution temporelle (capacité à séparer deux signaux proches dans le temps) et de sensibilité (capacité à détecter un signal de faible intensité) (**figure 20**). Chacune de ces techniques permet de suivre un ou plusieurs paramètres parmi la liste suivante : le taux de consommation métabolique d'oxygène (CMRO₂ – Cerebral Metabolic

Rate of Oxygen), la pression partielle en oxygène (pO_2) et en dioxyde de carbone (pCO_2), la concentration en hémoglobine oxygénée (HbO), en hémoglobine désoxygénée ou réduite (HbR), en hémoglobine totale (HbT), le flux sanguin cérébral (Cerebral Blood Flow ; CBF) et le volume sanguin cérébral (Cerebral Blood Volume ; CBV). Ensemble, ces paramètres composent la réponse hémodynamique qui survient suite à une activité neuronale.

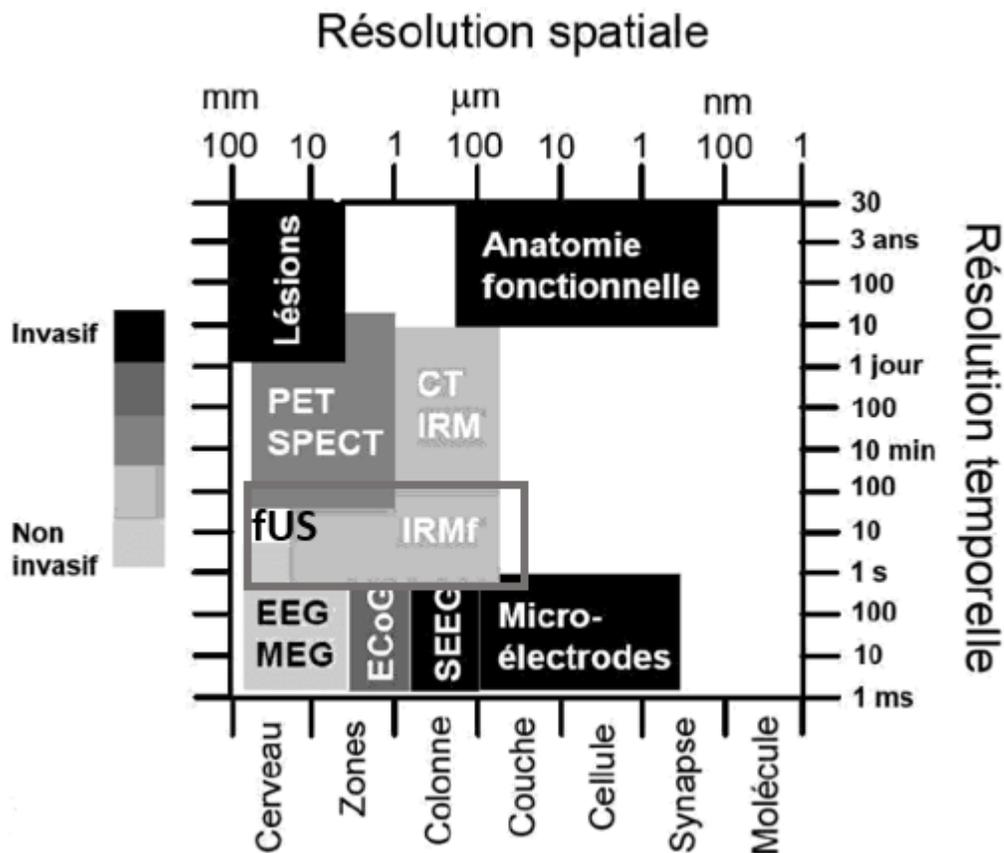


Figure 20 : Comparaison des différentes techniques d'imagerie cérébrale. Les critères de comparaisons sont la résolution spatiale, la résolution temporelle, la taille des champs imagés et le caractère invasif ou non de la technique. Adapté de Medani, 2016.

II.2.2) Utilisation du couplage neurovasculaire pour l'imagerie fonctionnelle

II.2.2.1) La détection du signal BOLD par IRMf

L'IRMf est probablement la technique la plus employée, que ce soit dans la recherche ou en clinique. Cette technique repose sur le fait que l'hémoglobine oxygénée (HbO) et l'hémoglobine désoxygénée ou réduite (HbR) ont des propriétés magnétiques différentes. L'HbR est la molécule

paramagnétique, c'est-à-dire que c'est elle qui va acquérir une aimantation sous l'effet d'un champ magnétique extérieur. HbO est diamagnétique, ce qui veut dire qu'elle génère un champ magnétique opposé à celui auquel elle est exposée. Suite à une activité neuronale, on observe dans un premier temps une diminution locale de l'oxygénation sanguine. Celle-ci est rapidement surcompensée par une augmentation du flux sanguin. On enregistre alors une augmentation du signal BOLD (Blood Oxygen Level Dependant) qui traduit une augmentation du ratio HbO/HbR (Buxton et al., 1998).

La **figure 21** présente un exemple d'étude employant l'IRMf pour localiser et quantifier les activités cérébrales lors de stimulations auditives (Binder et al., 1997). On fait écouter une liste de mots à des sujets et on cartographie les régions cérébrales dont l'activité est parallèlement augmentée. Les auteurs ont ainsi pu observer que le traitement des informations auditives langagières est principalement latéralisé dans l'hémisphère gauche. Ils ont pu également identifier précisément les régions corticales qui participent à la compréhension du langage, et ainsi approfondir les connaissances auparavant établies grâce aux expériences de lésion.

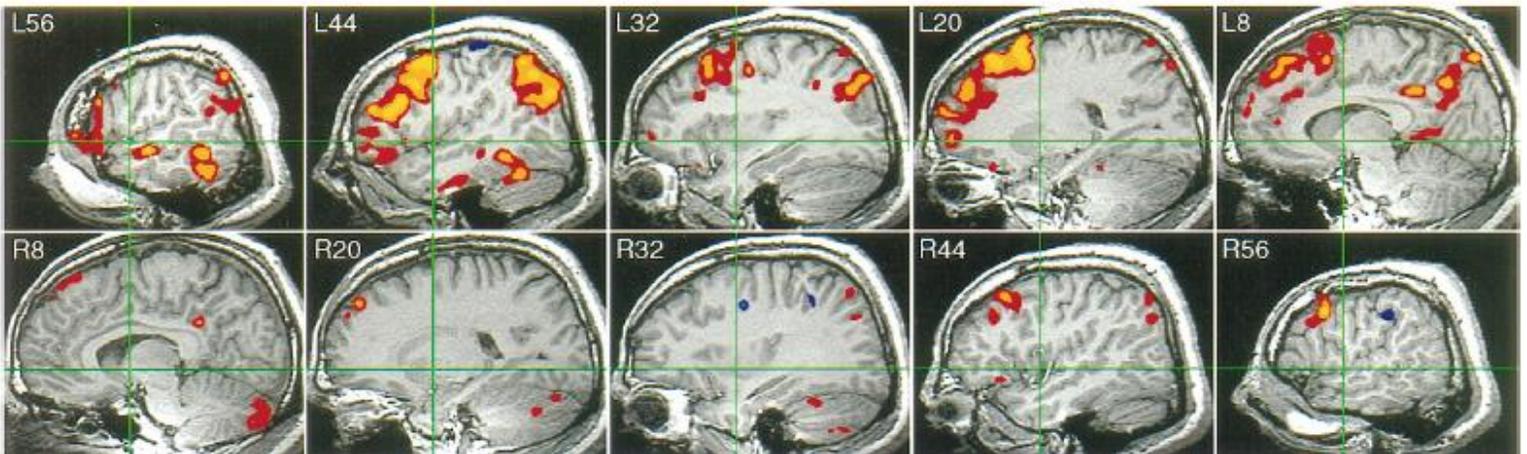


Figure 21 : Enregistrement IRMf lors d'une stimulation auditive. L'objectif de cette étude était de cartographier les régions cérébrales actives suite à une stimulation auditive. Les sujets écoutaient des séries de mots pendant les enregistrements d'IRMf. La figure présente un enregistrement d'un sujet âgé de 26 ans. On peut voir que dans l'hémisphère gauche, les régions activées (en rouge et orange) sont le sulcus temporal supérieur et le gyrus temporal médian (L56), le gyrus temporal inférieur (L56-L44), le gyrus angulaire (L56-32), le gyrus frontal inférieur (L56-44), le gyrus frontal (L44-32-20-8) et le cortex cingulaire (L8). Dans l'hémisphère droit, le cervelet postérieur (R8) et quelques régions du cortex préfrontal et du gyrus angulaire. Les quelques zones colorées en bleu correspondent à des zones dont l'activité diminue. Adaptée de Binder et al., 1997.

II.2.2.2) La détection du CBV par imagerie ultrasonore fonctionnelle (fUS)

L'imagerie ultrasonore ou échographie est une technique largement utilisée en clinique. Elle nécessite l'usage d'ultrasons que l'on envoie à travers un tissu ou un organe à l'aide d'une sonde ultrasonore constituée de transducteurs piézoélectriques qui convertissent un courant électrique en impulsion mécanique et inversement (Wells, 2006). Les particules présentes dans le milieu imagé génèrent un écho qui est capté par la sonde ultrasonore. Les propriétés de ces échos (intensité de l'écho, proximité de la particule échogène avec la sonde) permettent de générer une image ultrasonore en B-mode, utilisée pour explorer l'anatomie d'un organe.

Cette approche permet aussi d'enregistrer le flux sanguin. On se base pour cela sur le principe de l'effet Doppler. L'effet Doppler est le décalage de fréquence d'une onde mécanique (sonore) ou électromagnétique lorsque la distance qui sépare l'émetteur du récepteur varie au cours du temps. L'exemple le plus commun pour illustrer cet effet est celui de la sirène du véhicule d'urgence qui nous dépasse et qui s'éloigne de nous. A mesure que le véhicule se rapproche, le son de la sirène devient plus aigu car la fréquence de l'onde sonore perçue augmente. Une fois que le véhicule nous dépasse et s'éloigne, le son de la sirène devient plus grave car la fréquence de l'onde sonore perçue diminue. Sur la base de ce principe, et en connaissant la fréquence de l'onde ultrasonore utilisée et la valeur du décalage de fréquence des ondes émises par les particules échogènes (ici, les particules sanguines), il est possible de déduire le mouvement (vitesse et direction) des particules sanguines du tissu imagé.

Classiquement, des ondes ultrasonores focalisées en un point sont utilisées. L'inconvénient étant que pour produire l'image d'un plan, il faut superposer plusieurs images avec des points de focalisation de l'onde ultrasonore différents, ce qui réduit la cadence à laquelle les images sont produites. Il est alors impossible de s'affranchir d'artefacts comme les battements cardiaques ou d'imager des phénomènes rapides comme les variations hémodynamiques. En effet, d'après le théorème de Nyquist-Shannon : « *La représentation discrète d'un signal exige des échantillons régulièrement espacés à une fréquence d'échantillonnage supérieure au double de la fréquence maximale présente dans ce signal* ». On peut contourner cet obstacle en utilisant des ondes ultrasonores planaires avec des angles d'inclinaisons variables (Bercoff et al., 2011; Montaldo et al., 2009). C'est ce qui est décrit dans la **figure 21A**. La **figure 21B** montre qu'avec cette approche, il est possible de détecter des variations de volume sanguin cérébral (CBV) en temps réel et simultanément sur toute la profondeur du cerveau de rat.

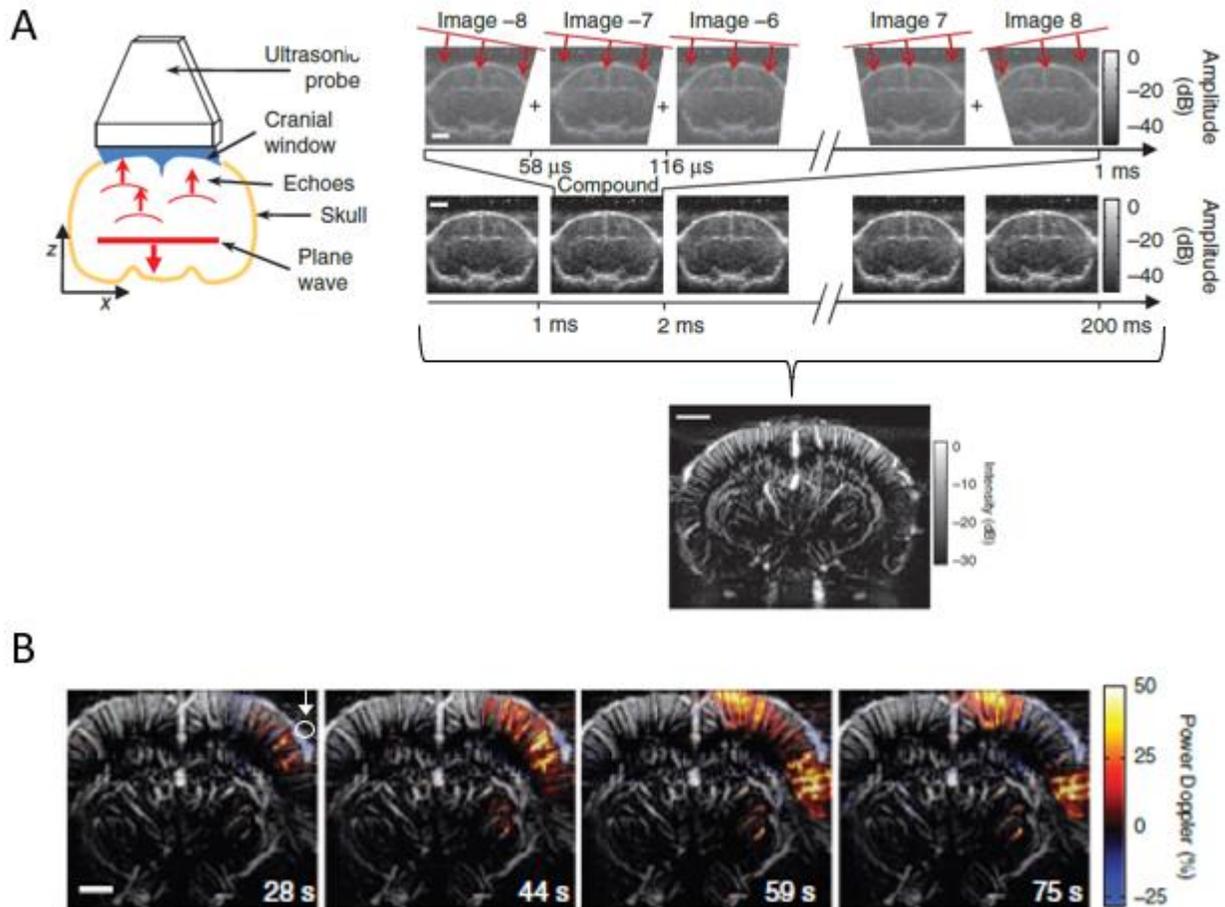


Figure 21 : Exploration du couplage neurovasculaire avec le fUS chez le rat. A. Formation d'une image ultrasonore. Gauche : On envoie des ondes planes à travers le tissu cérébral et on détecte l'écho des particules sanguines. Droite : On obtient des images hautement résolues ($100\mu\text{m}^2$) par la moyenne d'images composées enregistrées sur 200ms. **B.** Augmentation du volume sanguin cérébral (CBV) suite à l'application d'un agent dépolarisant. Image de gauche : On applique du 4AP qui dépolarise les neurones dans la zone entourée et désignée par la flèche blanche. L'augmentation de volume sanguin est mise en évidence par les couleurs chaudes. De gauche à droite : les augmentations de CBV forment une vague qui part du point d'application du 4AP et envahit le cortex et le thalamus. Adaptée de Macé et al., 2011

II.2.2.3) Limites de l'imagerie fonctionnelle lorsqu'elle est employée seule

Bien que l'IRMf ait permis des avancées majeures dans le domaine des neurosciences, l'interprétation des variations de signal BOLD reste complexe. En effet, le signal BOLD dépend d'une combinaison de paramètres tels que CBF, CBV, et de CMRO_2 (Hyder et al., 2001; Ogawa et al., 1998, 1993). Or, ces paramètres peuvent évoluer de façon non coordonnée. Il existe alors 2 manières pour le signal BOLD d'augmenter. La première manière est le cas classique d'une augmentation de l'activité neuronale qui mène à une augmentation du rapport HbO/HbR, comme précédemment décrit. La seconde peut être une diminution de l'activité neuronale sans variation du CBF (pas d'afflux sanguin nécessaire), qui mène à

une diminution du CMRO₂ et à une augmentation de la pO₂ sanguine en raison d'un métabolisme faible chez ces cellules peu demandeuses d'O₂ et d'énergie. Par ailleurs, il existe 2 scénarios qui mènent à une diminution du signal BOLD. Le premier est une diminution de l'activité neuronale qui mène à une diminution du flux sanguin cérébral et de ce fait, de la pO₂. Le second est une augmentation de l'activité neuronale, sans augmentation significative du flux sanguin cérébral (par exemple en cas d'anomalie du couplage neurovasculaire), ce qui mène à une diminution de la pO₂ en raison de la demande énergétique accrue des tissus (Blumenfeld, 2007; Schridde et al., 2008).

Un autre point à relever est que la réponse hémodynamique qui fait suite à une activité neuronale varie au cours du développement. Notamment, le délai de la réponse peut être plus long dans les phases précoces du développement (Richter and Richter, 2003). Les auteurs suggèrent que, suite à une activité neuronale, le délai de dilatation des vaisseaux sanguins est plus important s'ils sont de gros diamètre du fait en particulier que ceux-ci récupèrent du sang de régions éloignées (Lee et al., 1995). Ainsi, la fraction de gros vaisseaux recrutés suite à une activité neuronale diminuerait avec l'âge et le délai de la réponse hémodynamique à une activité neuronale serait, par conséquent, raccourci. Il convient alors de considérer cet aspect du délai de la réponse hémodynamique comme un potentiel biais lors de l'emploi de l'IRMf.

Il est donc nécessaire de combiner l'IRMf, et de manière générale l'imagerie fonctionnelle, avec d'autres approches complémentaires pour extrapoler, au plus près de la réalité pathophysiologique, la dynamique des réseaux neuronaux. C'est dans cet optique que l'emploi de l'imagerie fonctionnelle combinée aux enregistrements EEG s'est développée.

II.2.3) Etudes imagerie fonctionnelle-EEG pour décrire la physiologie

II.2.3.1) L'IRMf-EEG

L'électroencéphalographie a émergé au début du 20^{ème} siècle avec le galvanomètre du psychiatre allemand Hans Berger en 1924 en tant que technique pour enregistrer des réponses neurophysiologiques. C'est aussi une technique de neuroimagerie généralement non invasive qui implique le placement de macroélectrodes sur le scalp pour enregistrer, suite à son amplification, les potentiels électriques du cerveau. Chaque électrode capture les signaux électriques synchrones des populations neuronales corticales voisines. Les potentiels électriques sont la conséquence directe de l'existence de dipôles électriques créés par les potentiels postsynaptiques générés au niveau des dendrites apicales des cellules pyramidales du cortex. Les potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE) résultent d'entrées de charges positives dans le milieu intracellulaire, se traduisant par une déplétion localisée de charges positives dans le milieu extracellulaire. Les pôles du dipôle électrique peuvent être considérés comme la source et le puit

des courants ioniques créés par l'excès et le défaut d'espèces ioniques formant des gradients entre le soma des dendrites apicales. Ces ions peuvent se déplacer librement dans le liquide céphalo-rachidien et les tissus cérébraux, provoquant ainsi des courants ioniques dans un milieu résistif, ce qui se traduit par des potentiels électriques (Lopez-Gordo et al., 2014). L'EEG possède une résolution temporelle inégalable de l'ordre de la milliseconde. La résolution spatiale de l'EEG et donc la cartographie qu'on peut dériver du signal électrique issu des populations neuronales corticales, est dépendante du nombre d'électrodes placées sur le scalp qui va difficilement au-delà de 256 électrodes dans les enregistrements EEG à haute densité actuels. De même, l'estimation de la région cérébrale d'où provient le signal est gênée par la mauvaise conduction du signal à travers le liquide céphalorachidien et l'os du crâne (Van Den Broek et al., 1998), ce qui nécessite des approximations complexes pour une cartographie corticale et laisse les structures profondes inaccessibles.

A l'inverse, l'IRMf possède une résolution temporelle limitée par la nécessité de moyennner les essais, mais possède une résolution spatiale de l'ordre du millimètre, dépendante de la puissance de l'aimant et permet d'enregistrer le signal BOLD de tout le volume cérébral.

En résumé, l'IRMf et l'EEG sont deux techniques complémentaires pour explorer l'activité cérébrale (**figure 22A**). L'EEG possède une résolution temporelle de l'ordre de la milliseconde. Sa résolution spatiale est limitée par une mauvaise conduction du signal à travers le liquide céphalorachidien et l'os du crâne (Van Den Broek et al., 1998), ce qui rend impossible la cartographie précises des activités neuronales des structures profondes. L'IRMf possède une résolution spatiale de l'ordre du millimètre et permet d'enregistrer tout le volume cérébral, ce qui compense la faiblesse de l'EEG.

La **figure 22B** présente un exemple d'étude où les auteurs ont combiné l'IRMf avec l'EEG (Portas et al., 2000). Ici, les auteurs ont voulu cartographier les activations cérébrales suite à une stimulation auditive en fonction de l'état d'éveil ou de sommeil des sujets. Pour cela, l'EEG servait à détecter l'éveil ou le sommeil et l'IRMf servait à détecter les augmentations de signal BOLD, qui rendent compte de façon indirecte de l'activité neuronale. Les résultats révèlent que pour une stimulation auditive neutre comme un bip sonore, les régions cérébrales activées pendant l'éveil et le sommeil sont similaires. Ces activations concernent le cortex auditif, le thalamus et le noyau caudé. Les auteurs concluent qu'une stimulation auditive neutre est traitée de la même manière, quel que soit l'état cérébral du sujet.

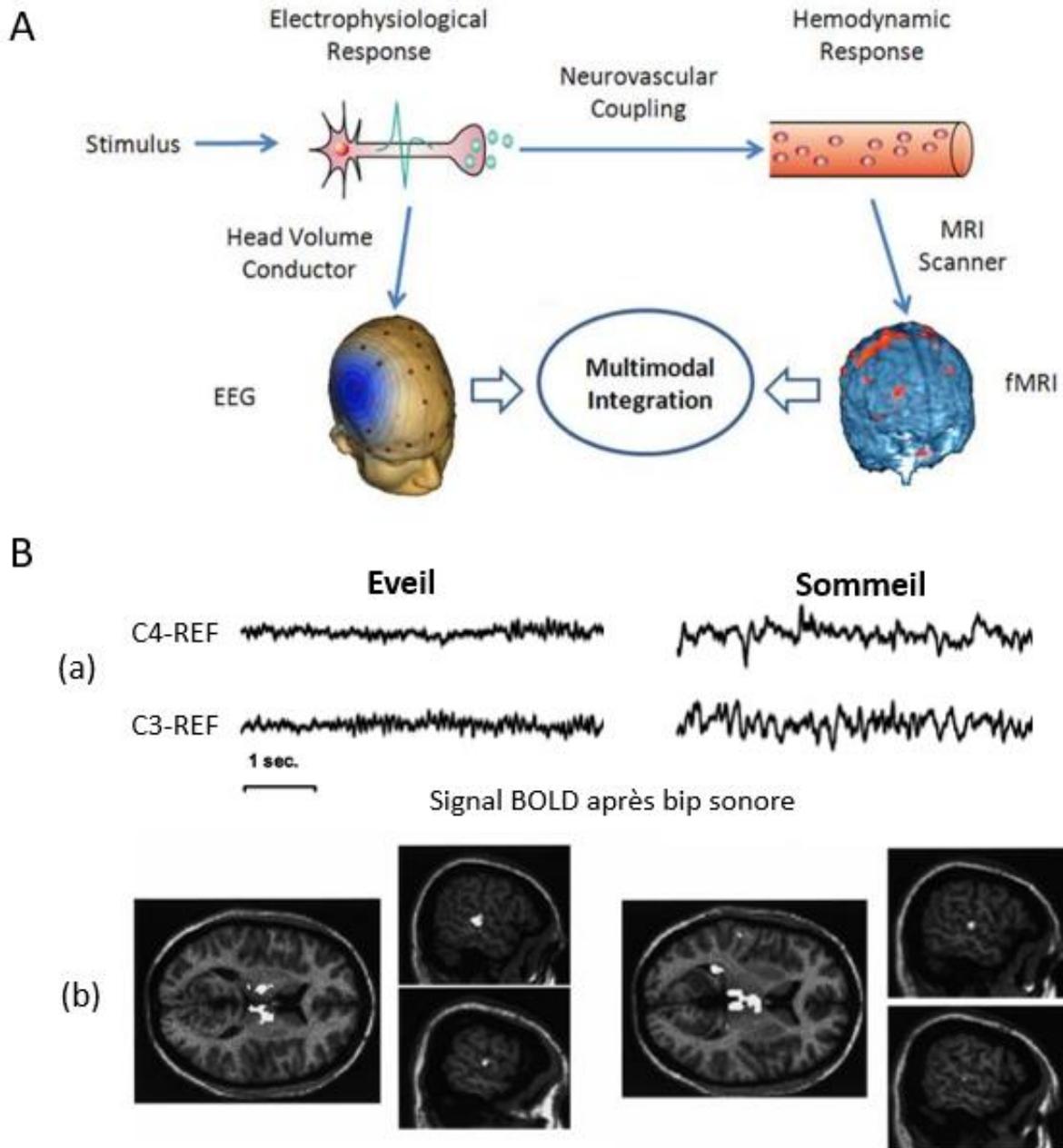


Figure 22 : Enregistrement IRMf-EEG chez l'Homme pendant une stimulation auditive, lors de l'éveil et du sommeil. A. Principe de l'imagerie multimodale IRMf-EEG. **B.** Enregistrement IRM-EEG. (a) EEG pendant l'éveil et le sommeil. (b) IRMf pendant l'éveil et le sommeil, suite à la stimulation auditive. Adaptée de Bin He and Zhongming Liu, 2008; Portas et al., 2000.

II.2.3.2) LE fUS-EEG

De récents développements technologiques et chirurgicaux ont rendu possible le couplage de l'imagerie ultrasonore fonctionnelle (fUS) avec les enregistrements EEG, chez le rongeur mobile (**figure 23A** ; Sieu et al., 2015). Cette approche permet de mettre en lien les variations de CBV avec les signaux EEG qui rendent compte de l'état cérébral (éveil/sommeil) de l'animal. Le fait que l'animal soit libre de ses mouvements permet de se rapprocher des conditions physiologiques, de façon à ce que les contraintes et/ou paramètres qui pourraient influencer le comportement de l'animal sont limités au maximum. Un exemple de résultat est présenté en **figure 23B** (Bergel et al., 2018). On peut y voir que les différents états cérébraux (que nous définirons dans la partie III.1.1.i) sont associés à des activités hémodynamiques spécifiques. On pourrait s'attendre à ce que les périodes d'éveil s'accompagnent d'augmentations du CBV plus importantes que pendant le sommeil, or ce n'est pas toujours le cas. L'étude révèle que pendant le sommeil paradoxal (aussi appelé sommeil REM pour *Rapid Eye Movement*), le CBV, qui renseigne de façon indirecte sur l'activité neuronale, augmente massivement dans le cortex, l'hippocampe dorsal et le thalamus. Ainsi, le fUS-EEG permet, du fait de sa sensibilité et de sa haute résolution spatio-temporelle, de décrire avec précision des phénomènes physiologiques, pré-requis essentiel en amont de l'analyse des fluctuations pathologiques de ces mêmes activités.

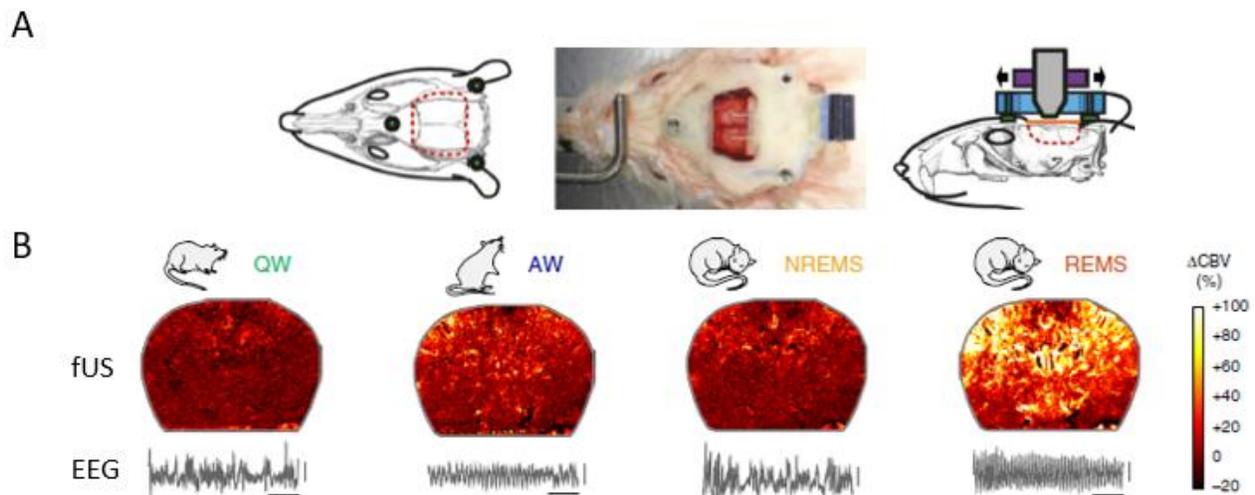


Figure 23: Les signaux hémodynamiques cérébraux sont spécifiques d'un niveau d'activité comportemental. **A.** Procédure chirurgicale pour le placement de la sonde ultrasonore. Une partie de l'os crânien est remplacée par une prothèse perméante aux ultrasons. La sonde est fixée à la tête de l'animal et peut se déplacer d'avant en arrière pour enregistrer différents plans. **B.** Variations du CBV lors de l'éveil calme (QW – quiet wake), éveil actif (AW – active wake), sommeil lent (NREMS – non-REM sleep), sommeil paradoxal (REMS – rapid eye movement sleep). Adapté de Bergel et al., 2018; Sieu et al., 2015.

Dans la prochaine partie, nous verrons comment l'approche combinée de l'imagerie fonctionnelle et de l'EEG a permis une cartographie des structures neuronales qui participent à la production des décharges pointes-ondes. Nous verrons aussi l'aspect dynamique des activités qu'elles génèrent et dans quelle mesure ces activités sont modifiées avant même l'apparition des crises d'absence.

II.3) Imagerie fonctionnelle couplée à l'EEG pour étudier l'épilepsie absence

II.3.1) Chez l'homme

Avant l'emploi de l'IRMf-EEG, les études qui portaient sur l'épilepsie étaient limitées par la faible résolution spatiale de l'EEG. Il était impossible d'établir des corrélations entre l'activité neuronale et l'apparition des crises. Or, cette question est cruciale pour comprendre les mécanismes responsables de l'apparition des crises.

La **figure 24** présente un enregistrement de 2 crises d'absences enregistrées chez un même patient (Moeller et al., 2010). La première observation est que le signal BOLD augmente dans le cortex préfrontal et le thalamus pendant les crises et qu'il diminue dans le noyau caudé du striatum, et dans les régions du réseau du mode par défaut. Le réseau du mode par défaut est constitué des régions cérébrales actives lorsque l'individu est au repos, immobile, sans réaliser de tâche cognitive (Raichle and Mintun, 2006). Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus chez les modèles de rats épileptiques qui montraient une augmentation de l'activité de la boucle thalamo-corticale (activation) et une diminution globale de l'activité multi-unitaire du striatum pendant les crises (désactivation) (cf § I.4.B) ainsi qu'avec d'autres études IRMf-EEG réalisées chez des patients (Berman et al., 2010; Guo et al., 2016; Li et al., 2009).

La seconde observation est qu'il existe une variabilité inter-individus dans les structures cérébrales qui connaissent une variation du signal BOLD. Ainsi, sur 17 patients testés, 5 patients présentaient une diminution du signal BOLD dans le noyau caudé. L'activité la plus représentée et conservée entre les différents patients est celle du thalamus, présente chez tous les patients et enregistrée dans 94% des crises. Ces données sur la variabilité inter-individus pourraient expliquer les disparités que l'on observe entre les différentes études, où certaines rapportent, à l'inverse, une diminution de l'activité du cortex préfrontal (Moeller et al., 2008) ou une activation du striatum (Masterton et al., 2013). En revanche, les auteurs n'ont en général pas observé une grande variabilité dans l'activation spatio-temporelle du signal BOLD entre les crises d'un même patient, mais plutôt quelques disparités dans les modifications des signaux hémodynamiques lors de la production de DPO entre patients (Aghakhani, 2004; Archer, 2003; Bode, 1992; Gotman et al., 2005; Nehlig, 2004; Nehlig et al., 1996). Il faut noter que les patients recrutés dans ces études avaient des profils variés, en termes d'âges (certains patients ont plus de 30 ans), de

traitements suivis et de comorbidités associées aux crises d'absence (certains patients présentaient des déficiences mentales).

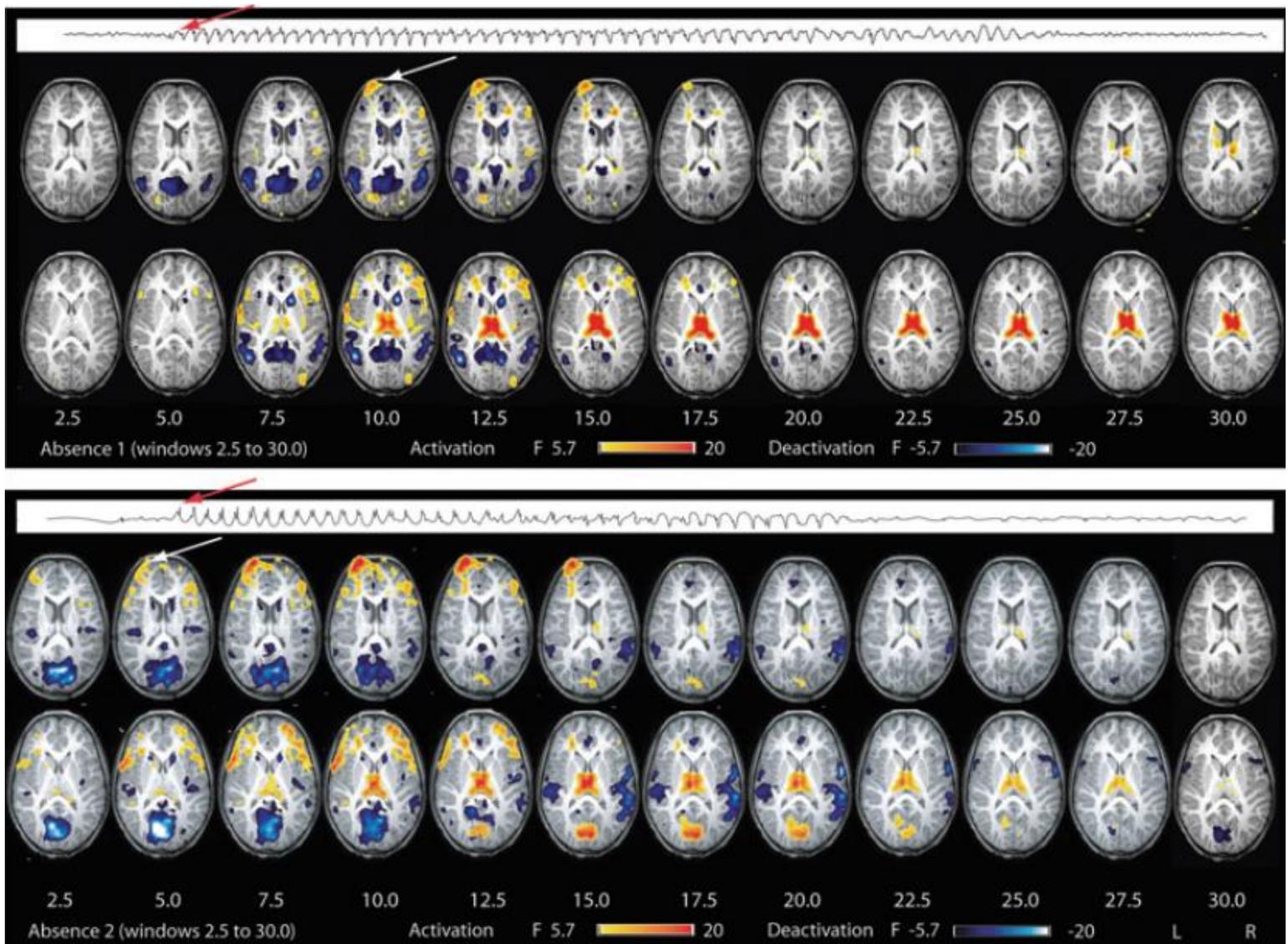


Figure 24 : Enregistrement IRMf-EEG de deux crises d'absence chez un même patient. Le début des crises est marqué par les flèches rouges sur le tracé EEG et par les flèches blanches sur les images d'IRMf. On note qu'il y a un délai de 5 secondes entre le début de la crise en EEG et celui observé en IRMf en raison de la cinétique du couplage neurovasculaire et de la fréquence d'image/seconde de l'IRMf. Les deux crises débutent par des activations du cortex préfrontal. Dans la première crise, cette activation est détectable en IRMf 10 secondes après le début des DPO. Pour la seconde crise, on observe un décalage de 5 secondes. Adaptée de Moeller et al., 2013, 2010.

L'apport de l'imagerie fonctionnelle combinée aux enregistrements EEG a non seulement permis une cartographie des activités cérébrales corrélées aux crises d'absences, mais a apporté des informations sur la dynamique de ces activités. Cette question est essentielle pour aborder la prédiction des crises qui

nécessite d'apporter une description des activités cérébrales qui interviennent de façon précoce ou qui précèdent les crises. En effet, si l'on considère qu'une crise débute lorsque les décharges pointes ondes sont détectées par l'EEG, cela n'exclue pas le fait que des modifications de l'activité neuronale surviennent avant leur synchronisation.

Des travaux qui joignent l'imagerie fonctionnelle aux enregistrements EEG montrent que des modifications hémodynamiques surviennent 5 à 15 secondes avant l'apparition des DPO. C'est le cas des études présentées dans la **figure 25** (Bai et al., 2010; De Simone et al., 2002, 1998; Roche-Labarbe et al., 2008). Les auteurs y ont combiné les enregistrements EEG aux enregistrements d'ultrasonographie Doppler transcrânienne (**figure 25A**), aux enregistrements NIRS (Near Infrared Spectroscopy – spectroscopie dans le proche infrarouge) (**figure 25B**) et aux enregistrements IRMf (**figure 25C**). L'ultrasonographie Doppler transcrânienne permet une mesure du CBF (Aaslid et al., 1982) tandis que le NIRS permet une mesure optique de la saturation sanguine globale du cerveau. Ces deux techniques possèdent une haute résolution temporelle (de l'ordre de la centaine de millisecondes) et une faible résolution spatiale se limitant à apporter des informations moyennes globales de l'hémodynamique cérébrale. On trouve chez ces patients épileptiques, des augmentations du CBF détectables 4 à 6 secondes avant le début des crises (**figure 25A**). Par ailleurs, des augmentations du taux d'hémoglobine oxygénée et des diminutions du taux d'hémoglobine désoxygénée étaient détectées 10 secondes avant l'apparition des crises (**figure 25B**). Le volume total d'hémoglobine pouvait augmenter ou diminuer selon le patient. Quant au signal BOLD, il commencerait à augmenter dans le cortex orbito-frontal 14 secondes avant le début des décharges pointes-ondes, cette activation envahissant peu à peu une large partie du cortex préfrontal (**figure 25C**).

Ensemble, ces données tendent à montrer que les crises n'apparaissent pas de façon aléatoire mais reposeraient sur des mécanismes neuronaux, métaboliques et hémodynamiques qui se mettraient en place quelques secondes avant la synchronisation de l'activité neuronale. Mieux connaître ces mécanismes est un préalable nécessaire à la prédiction des crises. Pour explorer cette piste, il est possible d'employer des modèles de rats épileptiques. Dans la prochaine partie, nous nous demanderons si les observations faites chez l'Homme ont été confirmées chez les rats épileptiques.

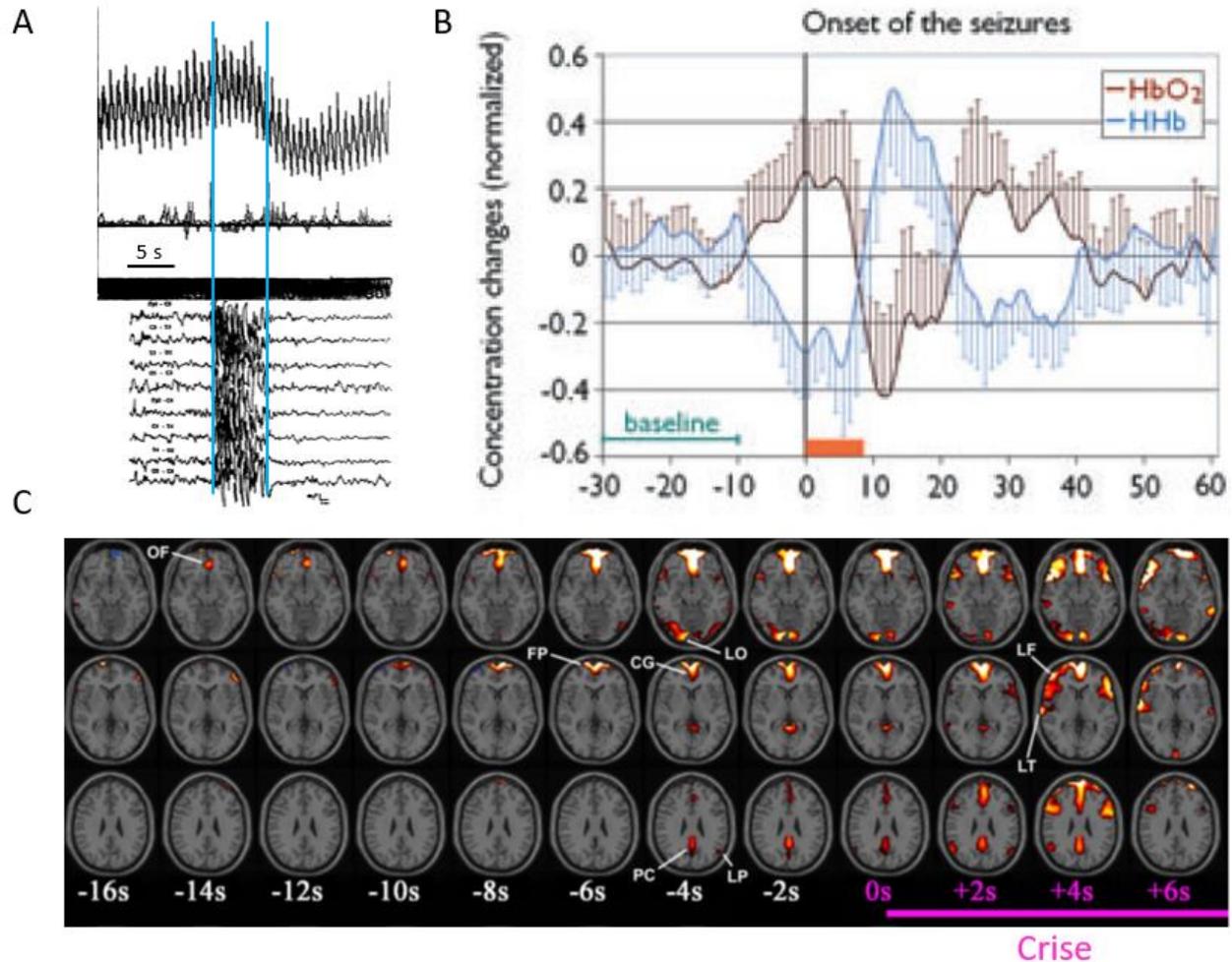


Figure 25 : Variations hémodynamiques qui précèdent les crises d'absences. A. Enregistrement d'ultrasonographie doppler transcrânienne chez un patient épileptique. La trace du haut montre l'enregistrement du CBF. Les traces du bas montrent l'enregistrement de l'EEG correspondant. On note une augmentation du CBF 5 secondes avant l'apparition des décharges pointes ondes. B. Moyenne des enregistrements NIRS de la saturation sanguine en oxygène dans les cerveaux de 6 patients. La courbe rouge montre l'évolution de la concentration en hémoglobine oxygénée (HbO₂). La courbe bleue montre l'évolution de l'hémoglobine désoxygénée (HHb). Le rectangle orange désigne la durée d'une crise. La période nommée « baseline » sert à la normalisation du signal. On note l'augmentation de la concentration d'HbO₂ et la diminution de la concentration en HHb qui débute 10 secondes avant le début de la crise. C. Moyenne des enregistrements IRMf-EEG chez 8 patients épileptiques. On remarque l'augmentation du signal BOLD qui débute 14 secondes avant le début de la crise. Cette augmentation commence dans le cortex orbito-frontal (OF), fronto-polaire (FP), cingulaire (CG), pariétal latéral, précuneus (PC) et occipital latéral (LO). Adaptée de Bai et al., 2010; De Simone et al., 1998; Roche-Labarbe et al., 2008

II.3.2) Chez le rat épileptique

II.3.2.1) Par l'emploi de techniques conventionnelles

Le premier point à confirmer est que les structures impliquées dans l'apparition des DPO sont les mêmes chez les rats épileptiques et chez l'Homme. Le **figure 26** montre les structures cérébrales qui voient

leur activité modifiée lors des crises chez le rat WAG/Rij (**figures 26A et 26B**) et chez le rat GAERS (**figure 26C**) (David et al., 2008; Tenney et al., 2004). Pour cela, les auteurs ont réalisé des enregistrements IRMf-EEG sur des rats anesthésiés. Les résultats présentés dans l'article David et al., 2008 ont été traités pour s'affranchir des variations de CBF et CMRO₂ et ne conserver que les variations de CBV. Ces études révèlent une augmentation du signal BOLD et du CBV dans le thalamus et le cortex somatosensoriel primaire en tonneaux chez les deux modèles d'épilepsie. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par IRMf-EEG chez l'Homme et par enregistrements électrophysiologiques chez le rat qui montrent une implication des réseaux thalamo-corticaux (Depaulis et al., 2016; Depaulis and Van Luijtelaar, 2006; Nersesyan et al., 2004).

Le second point est la diminution du signal hémodynamique observée dans le striatum, qui reproduit ce que l'on observait chez l'Homme (cf **figure 24**) et qui est cohérent avec les études électrophysiologiques de l'activité des neurones du striatum (Slaght et al., 2004b).

Dans la **figure 26C**, on peut voir que le CBV augmente dans le cervelet. Ces résultats concordent aussi avec ceux obtenus par des enregistrements électrophysiologiques chez le rat (Kandel and Buzsáki, 1993). Le rôle dans la genèse des crises de cette structure encore peu étudiée dans le cadre de l'épilepsie absence reste méconnu. Il est possible que les activités rythmiques décrites dans le cervelet participent au maintien des décharges pointes-ondes. En effet, certaines activités sont en phase avec la composante pointe et d'autres en phase avec la composante onde des DPO. Cela suggère une activité rythmique présente dans le cervelet lors des DPO qui différerait selon la sous-classe de neurones cérébelleux enregistrée.

Enfin concernant le reflet temporel de la durée des crises dans le signal BOLD, on peut noter dans la **figure 26B** que les crises sont associées des augmentations de signal BOLD qui durent plus de 30 secondes, alors que la durée d'une crise est d'environ 10 secondes. Les variations de signal BOLD n'offriraient donc qu'un suivi approximatif de la dynamique temporelle du couplage neurovasculaire pendant les crises.

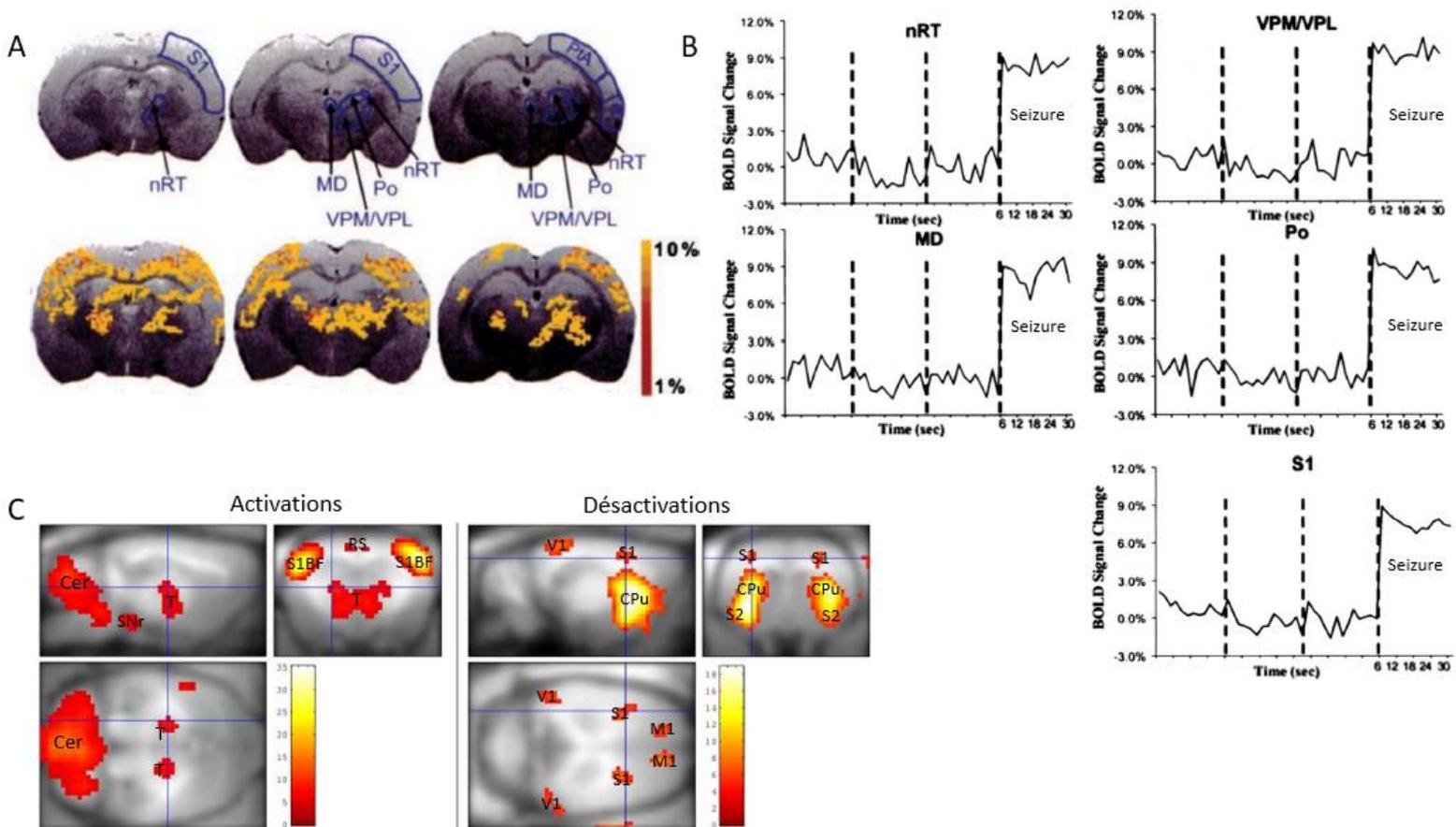


Figure 26 : Enregistrements fMRI-EEG des variations des signaux hémodynamiques dans les cerveaux de WAG/Rij et de GAERS lors de crises d'absence. **A.** Cartographie des activités cérébrales pendant les crises d'absence sur 3 plans d'images consécutifs chez le rat WAG/Rij. La rangée du haut montre les régions d'intérêt. nRT = noyau réticulé thalamique ; S1 = cortex somatosensoriel primaire ; Po = noyau postérieur du thalamus ; MD = noyau thalamique médiodorsal ; VPM/VPL = noyau thalamique ventraux postéromédian/ postérolatéral. La rangée du bas montre les localisations des variations du signal BOLD. **B.** Quantification des variations du signal BOLD dans les régions d'intérêts. On note que lors des crises, les signaux BOLD de chacune des régions d'intérêt augmente d'environ 10% par rapport au niveau basal. **C.** Enregistrement IIRMF-EEG chez un rat GAERS. Le signal a été traité pour ne montrer que le CBV. On constate des augmentations du CBF dans le cervelet (Cer), le thalamus (T), la substance noire *pars reticulata* (SNr), le cortex somatosensoriel primaire en tonneaux (S1BF), le cortex rétrosplénial (RS) et des diminutions du CBF dans le cortex visuel primaire (V1), les cortex somatosensoriels primaires et secondaires (S1 et S2), le striatum (CPu) et le cortex moteur primaire (M1). Adaptée de (David et al., 2008b; Tenney et al., 2004)

Pour élucider la dynamique du couplage neurovasculaire avant et pendant les crises, il est nécessaire d'employer d'autres approches, mieux résolues temporellement et qui enregistrent de façon isolée les différents paramètres hémodynamiques cités précédemment tel que récapitulé dans la **figure 27** (Mishra et al., 2011a; Roche-Labarbe et al., 2010a). Dans la **figure 27A**, les auteurs combinent les enregistrements EEG pour détecter les crises, les activités multi-unitaires et les variations de LFP à des enregistrements d'IRMf et de vélocimétrie laser qui permet de mesurer de façon localisée le CBF. Ces enregistrements se concentrent sur le cortex somatosensoriel primaire en tonneaux (S1BF), le noyau ventro-postéro-médian du thalamus (VPM) et le striatum (CPu). Les auteurs décrivent une augmentation du signal BOLD, du CBV, du CBF, de l'amplitude du signal LFP et de l'activité multi-unitaire dans le S1BF et le thalamus. Ces résultats sont compatibles avec la théorie classique du fonctionnement du couplage neurovasculaire et avec les données présentées précédemment.

Dans le striatum, les auteurs décrivent une diminution du signal BOLD, du CBV, du CBF, une forte augmentation de l'amplitude du LFP et une très faible augmentation de l'activité multi-unitaire. Il est plausible que ces apparentes disparités observées entre des signaux hémodynamiques qui diminuent et des signaux électrophysiologiques qui augmentent soient dus à une activité des interneurons inhibiteurs du striatum qui court-circuitent de façon synchrone l'activité des neurones striato-corticaux (cf § 1.4.2.3) accroissant les signaux LFP enregistrés localement. Sans la mesure conjointe de ces différents paramètres, et en n'ayant que l'évolution des signaux LFP et des signaux BOLD comme dans la plupart des études IRMf-EEG, il aurait été complexe de proposer une explication à ces résultats.

La **figure 27B** apporte l'information de la saturation sanguine en oxygène dans le cerveau. C'est le paramètre qui manquait à l'étude présentée dans la **figure 27A** pour avoir un suivi exhaustif des paramètres hémodynamiques. Dans cette étude, les auteurs ont réalisé des enregistrement NIRS-EEG chez des rats GAERS et ont montré une diminution du rapport hémoglobine oxygénée/hémoglobine désoxygénée qui démarre 15 secondes avant le début des crises. Cela s'accompagne d'une diminution de la quantité totale d'hémoglobine. Ces résultats sont cohérents avec ceux observés chez l'Homme. Il existe bien des signaux précurseurs des crises d'absence chez les modèles de rat épileptiques. Il est crucial de décrire ces activités neuronales et hémodynamiques si l'on veut prédire l'occurrence des crises et espérer la moduler.

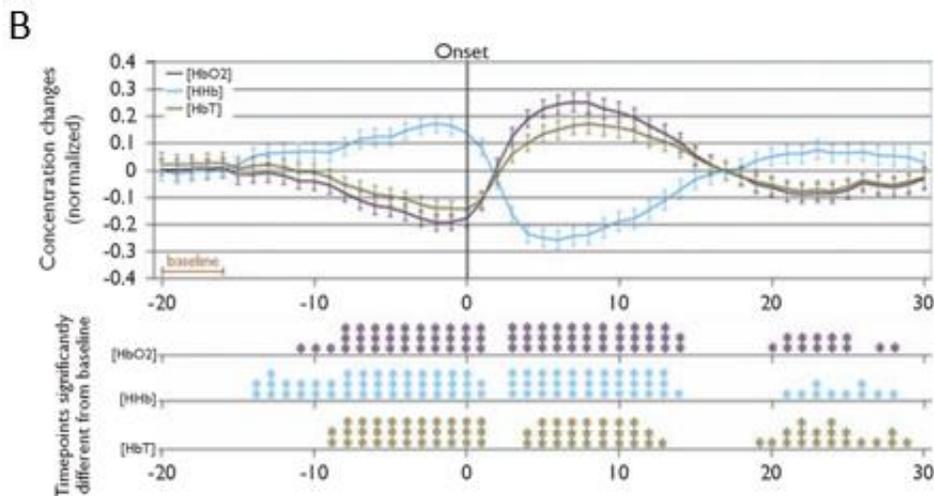
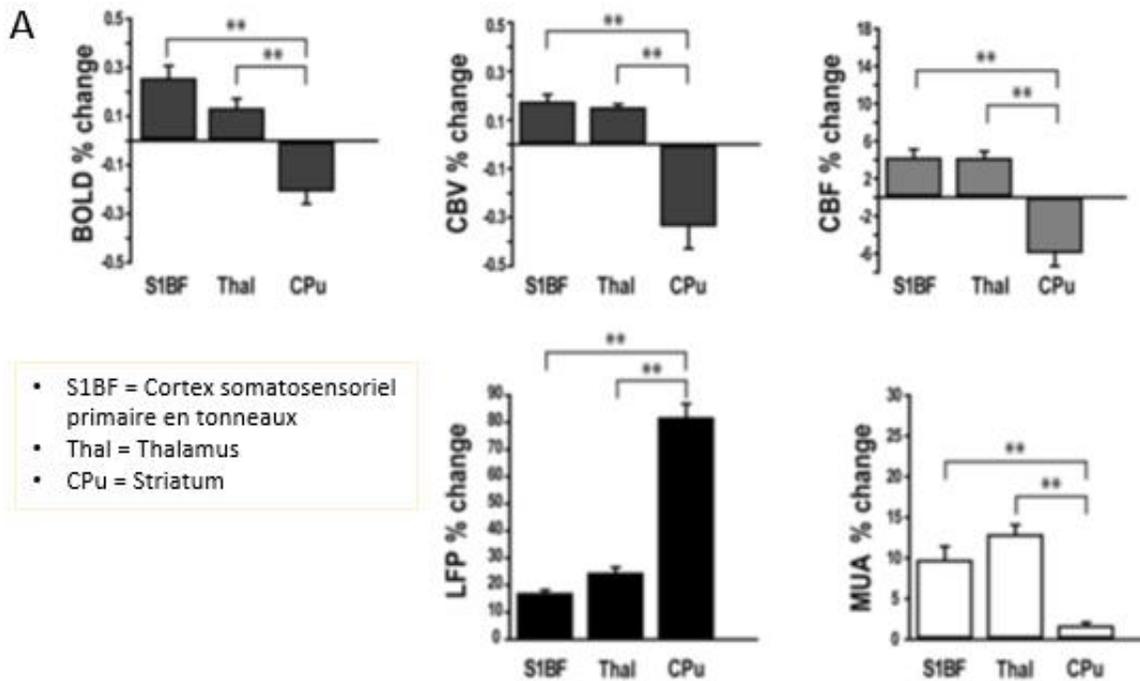


Figure 27 : Evolution des différents paramètres hémodynamiques et des activités neuronales dans le cortex somatosensoriel primaire en tonneaux, le thalamus et le striatum. **A.** Variation des signaux hémodynamiques pendant les crises d'absence chez le rat GAERS. Notez une augmentation du signal BOLD, du CBV, du CBF, du LFP et de l'activité multi-unitaire (MUA) dans le S1BF et de Thal et une diminution des paramètres hémodynamiques dans le CPu corrélé à une augmentation du LFP et de la MUA. **B.** Variation de l'oxygénation sanguine 15 secondes avant les crises. Hémoglobine oxygénée = HbO₂ ; hémoglobine désoxygénée = HHb ; Hémoglobine totale = HbT. Notez une diminution du rapport HbO₂/HHb avant les crises et une diminution de l'HbT. Adaptée de Mishra et al., 2011; Roche-Labarbe et al., 2010.

II.3.2.2) Exploration des variations de CBV pendant et entre les crises avec le fUS-EEG

Comme démontré précédemment, l'utilisation de nouvelles techniques telles que l'imagerie ultrasonore fonctionnelle combinée aux enregistrements EEG (fUS-EEG), permet de lier les variations de CBV aux oscillations électrophysiologiques. Contrairement à l'IRMf-EEG, cette approche ne nécessite pas de sédation ce qui nous rapproche des conditions physiologiques nécessaires aux études comportementales.

La **figure 28** présente une étude faite au sein de mon laboratoire d'accueil (Sieu et al., 2015). Ici, les auteurs ont réalisé des enregistrements fUS-EEG sur des rats GAERS vigiles et mobiles. Ils ont enregistré différents plans coronaux pour suivre l'évolution du CBV dans les structures d'intérêt : le cortex somatosensoriel primaire, le thalamus et le striatum. Dans la **figure 28A**, on peut voir pour chaque plan imagé à des temps différents, l'EEG qui lui correspond. On voit que les DPO sont associées à une augmentation du CBV dans le thalamus et le cortex et une diminution dans le striatum. Cela est confirmé dans la **figure 28B** qui fournit la quantification des variations moyennes du CBV. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par les techniques conventionnelles précédemment décrites, ce qui valide la pertinence de l'emploi du fUS-EEG en condition pathologique.

La **figure 28C** et **D** offre une vision plus dynamique des variations du CBV lors des périodes de crises (ictales) et des périodes entre crises (interictales). Nous pouvons voir que le CBV augmente pendant les périodes ictales et diminue en dessous de la valeur basale pendant les périodes interictales dans le thalamus et le cortex. A l'inverse, dans le striatum le CBV diminue pendant les périodes ictales et augmente au-dessus de la valeur basale pendant les périodes interictales. Le fait qu'il soit possible de détecter des variations du CBV à l'échelle de la crise unique atteste de la sensibilité du fUS-EEG. En outre, la possibilité de distinguer le signal ictal du signal interictal atteste de la qualité de la résolution temporelle de cette technique. En effet, les périodes interictales sont aussi corrélées à des modifications des signaux hémodynamiques qui n'étaient pas détectées par l'IRMf-EEG (cf **figure 26**). Cette observation renforce l'idée émise dans la partie précédente que des variations hémodynamiques, qui pourraient résulter d'activités neuronales indétectables sur l'EEG intracortical, précèderaient l'apparition de décharges pointes-ondes sur l'EEG.

Par ailleurs, on constate dans la **figure 28A** au niveau du tracé EEG que les crises apparaissent de façon irrégulière avec des périodes d'une durée de 20 minutes où la probabilité d'enregistrer une crise est plus élevée. De ce fait, certains plans ont été enregistrés sans que suffisamment de crises se soient produites, et d'autres ont été enregistrés sans suffisamment de périodes interictales. Cette variabilité de

l'occurrence des crises a rendu délicate la mise en évidence des variations de CBV ou la normalisation du signal fUS par rapport à un signal basal. Il s'avère donc nécessaire de décrire avec précision comment le taux de crise varie au cours du temps et quels sont les paramètres qui pourraient influencer ces évolutions afin d'optimiser notre protocole d'enregistrement fUS-EEG.

Pour conclure, le fUS-EEG donne un nouvel élan dans la description des mécanismes pathophysiologiques liés aux crises d'absence. Les enregistrements sur animaux mobiles, le suivi en temps réel des variations hémodynamiques et la haute sensibilité de la technique offre de nombreuses perspectives prometteuses. Toutefois, cette approche ne donne qu'une vision partielle des phénomènes hémodynamiques sous-jacents aux décharges pointes-ondes. Pour avoir un suivi exhaustif de ces phénomènes, le développement de nouvelles approches qui allient la détection des crises avec un suivi du CBV, du CBF et de la saturation sanguine en oxygène, en temps réel avec une bonne résolution temporelle est nécessaire. Nous aborderons cette question dans la 4^{ème} partie de cette introduction.

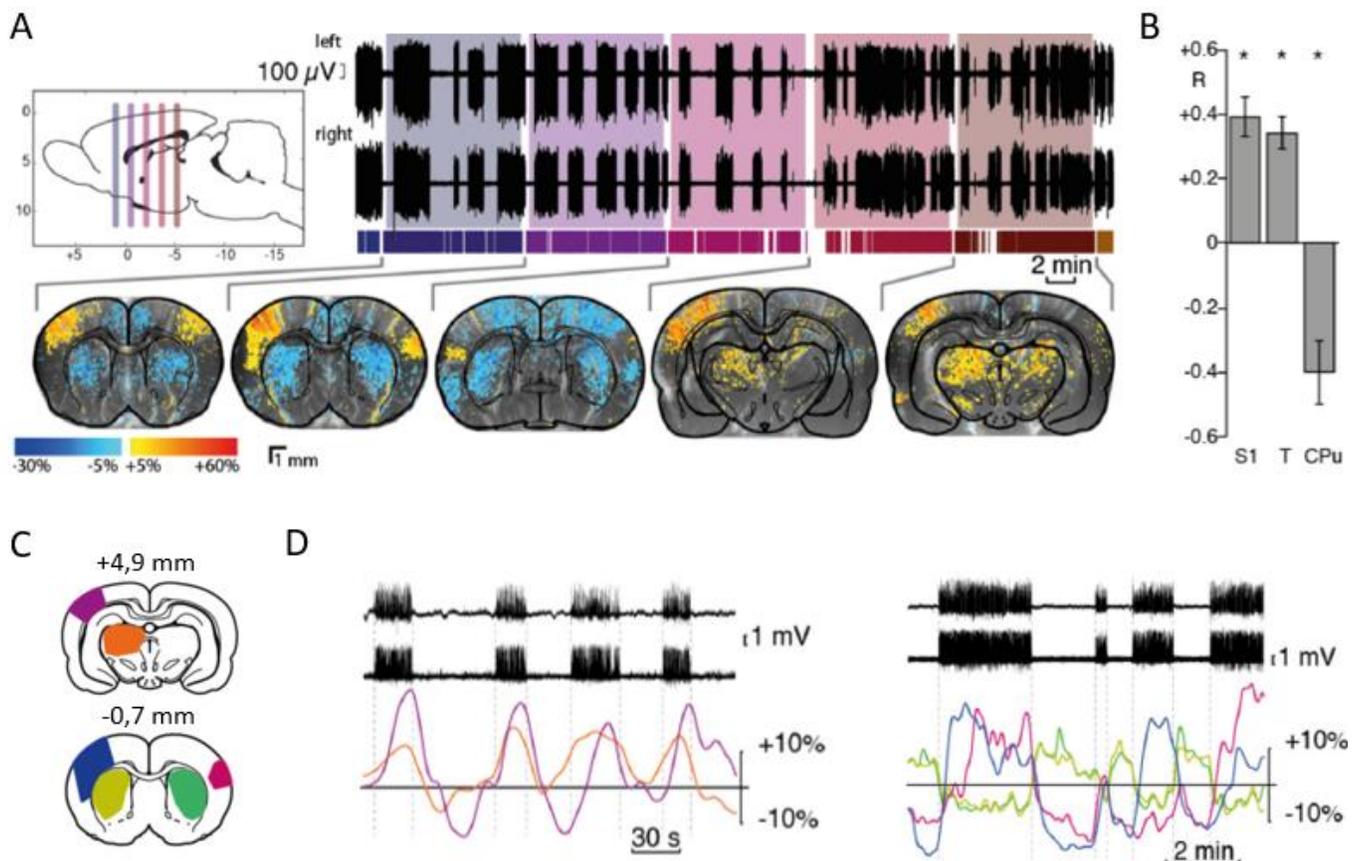


Figure 28 : Variations du CBV pendant et entre les crises d'absence. A. Suivi du CBV sur différents plans d'acquisition fUS (présentés à gauche). En haut : détection des crises par l'EEG réalisé pendant les 5 plans d'acquisition fUS (indiqués avec le code couleur). En bas : évolution du CBV pendant les crises sur chaque

plan d'acquisition fUS. Les couleurs chaudes montrent une hyperperfusion alors que les couleurs froides montrent une hypoperfusion. **B.** Evolution moyenne du CBV pendant les crises. S1 : Cortex Somatosensoriel primaire ; T : Thalamus ; CPu : Striatum. **C.** Positions des plans enregistrés par rapport au bregma et délimitation des régions d'intérêt. Violet, bleu, rose : cortex ; vert clair et foncé : striatum ; orange : thalamus. **D.** Signaux EEG pour détecter les crises et fUS pour suivre le CBV dans les régions d'intérêts

II.3.3) Rôle des activités astrocytaires dans la mise en place des crises d'absence.

Les astrocytes sont nécessaires au fonctionnement métabolique cérébral. Ils régulent en partie les activités hémodynamiques pour assurer l'hyperhémie fonctionnelle qui fait suite à une activité neuronale augmentée, et fournissent les neurones en substrats métaboliques (cf. **figure 17**). Leur rôle neuroprotecteur par la formation de la barrière hématoencéphalique et la production de facteurs neurotrophiques est capital pour la survie de l'organisme. Ils régulent aussi la concentration en glutamate et en GABA dans l'espace extracellulaire, ce qui leur donne un rôle capital dans la régulation de la balance excitation/inhibition. Ces cellules gliales fonctionnent comme un syncytium dans lequel se propagent des vagues calciques via des jonctions GAP. Ces nombreux rôles, ainsi que la prépondérance des cellules gliales dans le cerveau par rapport aux neurones, font que les astrocytes en particulier suscitent un intérêt croissant de la communauté scientifique pour étudier des pathologies cérébrales (Dolotov et al., 2022; Miyazaki and Asanuma, 2020; Sadick et al., 2022; Sun et al., 2019; Wang et al., 2023; Wheeler and Quintana, 2019), et d'autres formes d'épilepsies (Purnell et al., 2023; Seifert et al., 2010; Seifert and Steinhäuser, 2013).

L'épilepsie absence fait partie des pathologies qui mettent en jeu les astrocytes. Une étude montre que chez les rats épileptiques, l'activité astrocytaire est augmentée de façon progressive avec l'âge. Cette activité augmentée est détectée dans les réseaux thalamo-corticaux mais pas dans l'hippocampe (Dutuit et al., 2002). Dans ces conditions, il semblerait plausible que les neurones des réseaux thalamo-corticaux présentent des altérations métaboliques qui modifieraient l'activation astrocytaire. Cette idée est cohérente avec deux études qui montrent que chez les rats GAERS, le métabolisme du glucose et l'activité de la lactate déshydrogénase sont accrus (Dufour et al., 2003, 2001). Néanmoins, ces activités métaboliques et enzymatiques altérées affectent la totalité des structures cérébrales, qu'elles produisent des décharges pointes-ondes ou non. Il est donc délicat de conclure quant à leur implication dans l'apparition des crises.

Une approche pour élucider la place des astrocytes dans l'épilepsie absence est de comparer leur activité avant et après l'apparition et la stabilisation des crises. Cette approche a révélé que le cycle glutamate-glutamine n'est pas modifié chez les rats GAERS immatures, en comparaison avec des rats non-épileptiques. Ce cycle est augmenté chez les rats GAERS matures, lorsque les crises sont détectables (**figure**

29). En revanche, les astrocytes des rats immatures transmettent moins de glutamine aux neurones GABAergiques en comparaison avec les astrocytes de rat non épileptiques. Ce taux de glutamine est rétabli à un niveau normal chez les rats GAERS matures. Compte-tenu de ces résultats, on pourrait s'attendre à une signalisation GABAergique normale chez les rats GAERS adultes. Or, des études électrophysiologiques révèlent une activité GABAergique parfois inchangée (Bessaïh et al., 2006; Caddick et al., 1999), ou parfois augmentée (Cope et al., 2009; Tan et al., 2008; Wong, 2010). Cette variabilité pourrait s'expliquer par la diversité des modèles étudiés. Il est possible que chez certain modèles, les astrocytes jouent un rôle dans le développement des crises.

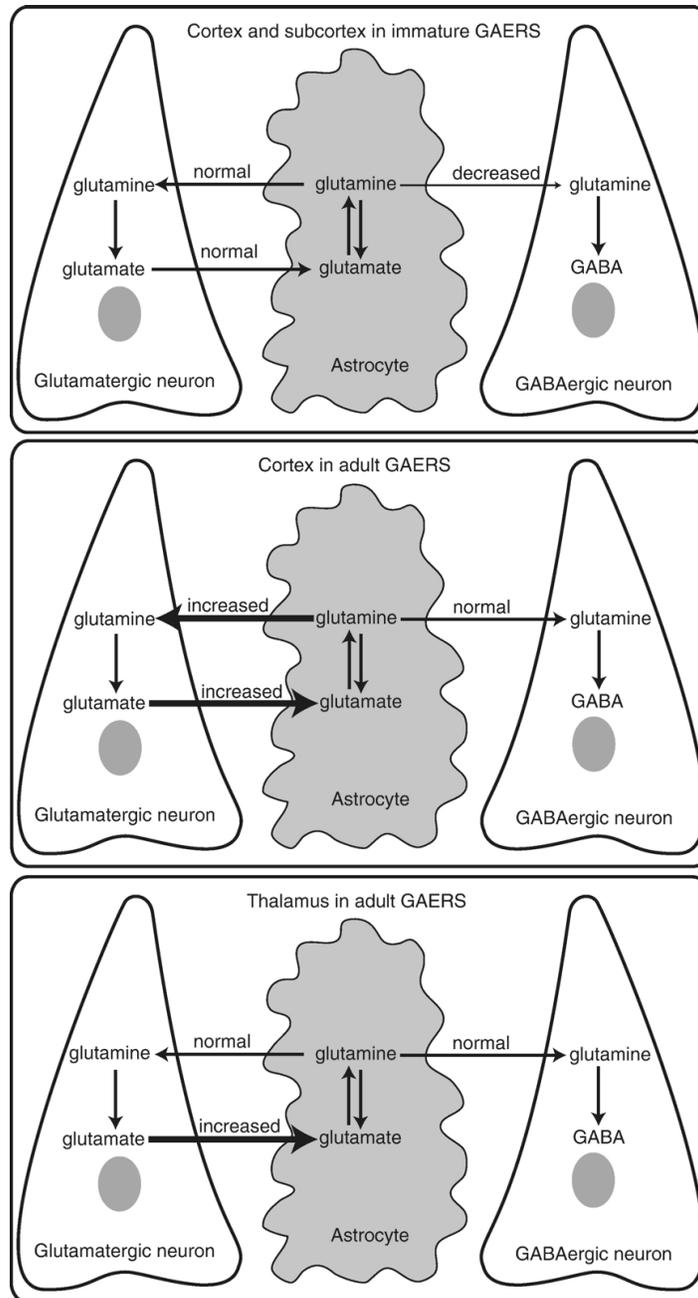


Figure 29 : Schéma des cycles glutamine-glutamate-GABA dans le cortex et le thalamus de rats GAERS.

Les interactions entre les neurones glutamatergiques et les astrocytes sont identiques entre les rats GAERS immatures et les rats non épileptiques, alors que le transport de glutamine vers les neurones GABAergiques est diminué. Chez les rats GAERS adultes, les interactions entre les neurones glutamatergiques et les astrocytes sont plus fortes. Dans le thalamus, seule la recapture du glutamate par les astrocytes est plus marquée. L'interaction entre les neurones GABAergiques et les astrocytes est équivalente à celle observée chez les rats non épileptiques. Melø et al., 2007

III/ Niveau d'activité comportementale et épilepsie

Dans la partie précédente, nous avons abordé la question du lien étroit entre l'apparition des crises d'absence et les variations hémodynamiques et métaboliques. Ces variations peuvent se produire à l'échelle d'une activité cérébrale ponctuelle, ou être modulées sur des échelles plus lentes telles que celles des rythmes circadiens qui comportent des états comportementaux divers (activité/repos, éveil/sommeil). Parallèlement à ces variations, les crises semblent être répartie de façon non uniforme au cours du temps. Dans cette partie, nous évoquerons tout d'abord les variations hémodynamiques et métaboliques durant le cycle éveil/sommeil et comment l'état comportemental peut influencer l'occurrence des crises.

III.1) L'occurrence des crises en fonction du niveau d'activité comportementale

Les crises d'absence engagent la synchronisation de l'activité de la boucle thalamo-corticale. Ces activités génèrent des décharges pointes-ondes détectables par enregistrement EEG. Ces évènements électrophysiologiques sont proches des oscillations lentes 9-16 Hz détectables pendant le sommeil nommées les fuseaux de sommeil (« *sleep spindles* »). Ces observations ont mené à l'idée que les décharges pointes-ondes seraient des fuseaux de sommeil « dégénérés » (cf partie I.4.a.i). Cette hypothèse considère que la frontière entre les oscillations physiologiques (fuseaux de sommeil, ondes theta et alpha) et les oscillations pathologiques (décharges pointes-ondes) peut être franchie spontanément en situation pathologique. Ces observations justifient l'intérêt des études comportementales qui explorent le lien entre épilepsie et niveau d'activité comportementale.

III.1.1) Le cycle éveil/sommeil et les variations métaboliques

III.1.1.1) Le cycle éveil/sommeil

De nombreuses fonctions physiologiques sont modulées selon le rythme circadien. Parmi celles-ci, se trouvent les cycles éveil/sommeil. Ces cycles, régulés par le tronc cérébral, impliquent l'activité de la boucle thalamo-corticale (Steriade, 2000) ainsi que de celle de l'hypothalamus. Les mécanismes de régulation de ces cycles sont récapitulés dans la **figure 30**. L'éveil est maintenu par l'activité noradrénergique du locus coeruleus, sérotoninergique du raphé, dopaminergique de la substance noire, histaminergique du noyau tubéromammillaire et cholinergique du tronc cérébral. Toutes ces structures sont stimulées par l'activité des neurones orexinergiques de l'hypothalamus. Le sommeil est promu par l'accumulation d'adénosine extracellulaire qui fait suite aux activités neuronales et par la mélatonine qui est sécrétée par la glande pinéale. L'activité de la glande pinéale est régulée par des facteurs extrinsèques comme l'alternance jour/nuit et par des facteurs intrinsèques comme l'activité du noyau

suprachiasmatique. En parallèle, l'expression cyclique des *clock genes* module l'éveil et le sommeil sur des périodes de 24h (Piggins, 2002).

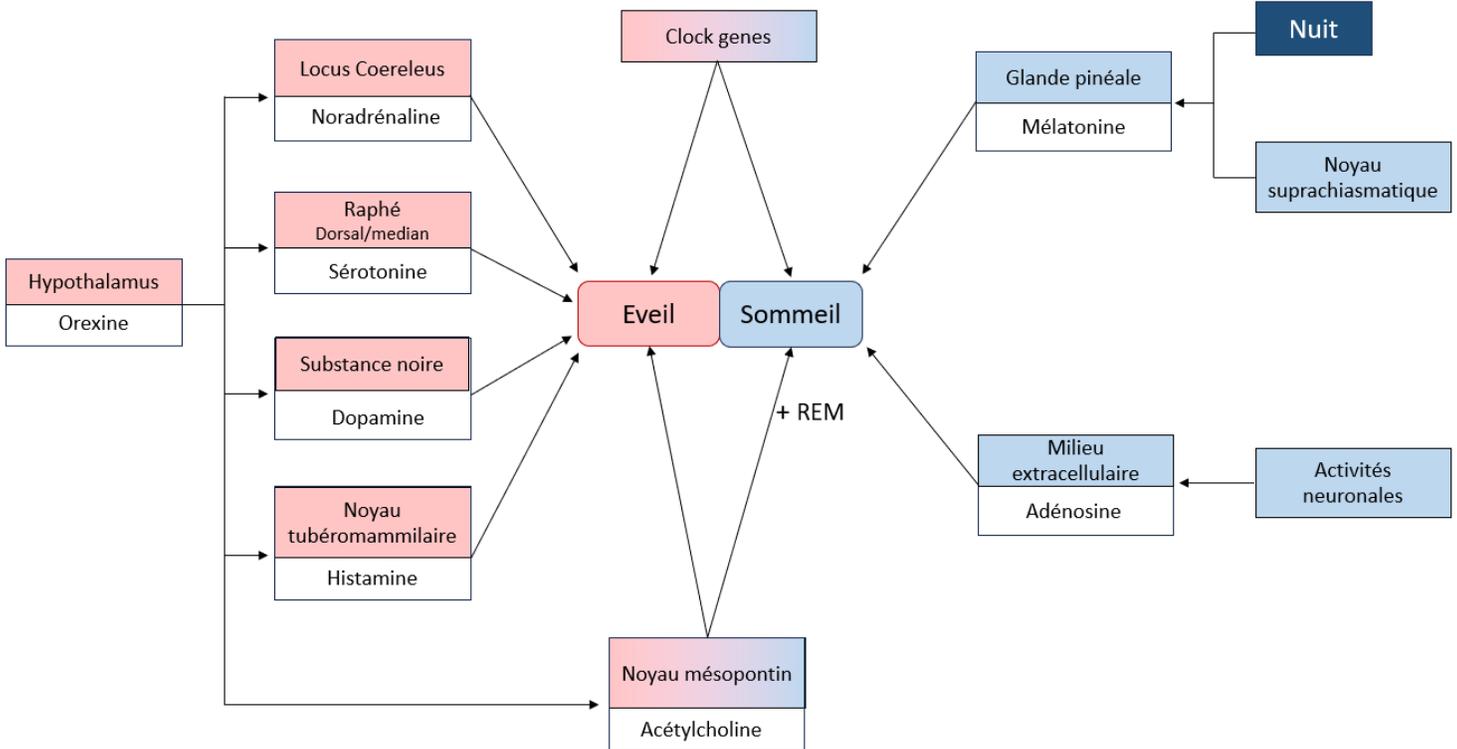


Figure 30 : Régulation des cycles éveil/sommeil. Les flèches noires désignent une activation. On note que le tronc cérébral peut promouvoir l'éveil ou le sommeil paradoxal (REM).

Les périodes d'éveil se subdivisent en éveil actif, lors d'une activité physique, d'une tâche cognitive ou d'une tâche inhabituelle (Murthy and Fetz, 1992) et en éveil calme (lorsque le sujet est immobile, en repos passif et/ou préparant l'endormissement). Les périodes d'éveil actif sont associées à une désynchronisation de l'activité des neurones du néocortex et de la partie médiane du noyau postérieur du thalamus (Bouyer et al., 1981; Desmedt and Tomberg, 1994; Murthy and Fetz, 1992). Les périodes d'éveil calme sont associées à une plus grande synchronisation de l'activité corticale (Poulet and Crochet, 2019).

Chacun des états d'éveil et de sommeil est caractérisé par un signal EEG caractéristique (cf **figure 3**). De façon générale, les oscillations à plus haut fréquence sont observées lors des phases d'éveil, et les oscillations à basse fréquence lors des phases de sommeil (Mikulan et al., 2018).

Les périodes de sommeil sont constituées de cycles qui comportent le sommeil lent et le sommeil paradoxal ou REM (Rapid Eye Movement). Il est corrélé à des mouvements oculaires rapides. C'est la phase de rêve et de la consolidation à long terme de la mémoire.

D'une durée d'environ 90 minutes chez l'Homme, ces cycles se répètent 3 à 5 fois par nuit (**figure 31**). La durée de chacun des stades est variable au cours de la nuit.

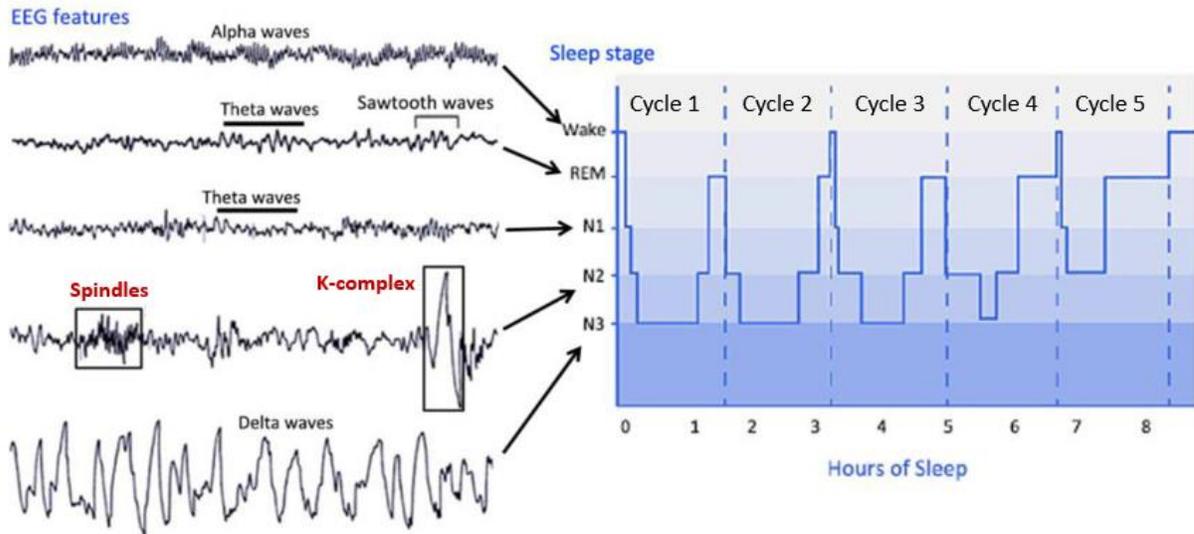


Figure 31 : Organisation des stades de sommeil. A. EEG et hypnogramme lors d'une nuit de sommeil chez un sujet sain. N3 correspond aux stades 3 et 4 du sommeil lent. Les lignes verticales en pointillés délimitent les cycles. Adaptée de Pan et al., 2021.

Les phases de sommeil lent sont composées de 4 stades :

- Le stade 1 correspond à l'étape d'endormissement. C'est l'étape de transition entre l'éveil et le sommeil, où l'EEG présente des ondes thêta et de moins en moins d'ondes alpha.
- Le stade 2 représente 50% du sommeil total. C'est le sommeil léger. A partir de ce stade, l'individu peut poursuivre dans des stades de sommeil profond (3 et 4), de sommeil paradoxal ou peut se réveiller. Les stimulations sensorielles extérieures (bruit, contact physique) suffisent à réveiller l'individu.
- Les stades 3 et 4 composent le sommeil profond. Ces phases sont cruciales dans l'élimination de déchets métaboliques cérébraux (Reddy and Van Der Werf, 2020) et dans la consolidation de la mémoire.

Au niveau de l'EEG, le sommeil lent se caractérise par des ondes lentes (*slow wave sleep*), avec une fréquence de 0,4 à 4Hz. Ces ondes lentes résultent de la synchronisation de l'activité de populations de neurones corticaux. C'est principalement pendant le stade 2 du sommeil lent que se produisent par moment des oscillations plus rapides appelées fuseaux de sommeil (*sleep spindles*), à une fréquence de 11-16Hz (**figure 31 et 34**) (Dijk et al., 1993; Silverstein and Michael Levy, 1976; Zeitlhofer et al., 1997). Ces oscillations apparaissent suite à des stimulations sensorielles et résultent de l'activation de neurones du noyau réticulé thalamique qui hyperpolarisent des neurones thalamocorticaux (Steriade et al., 1993). Ces hyperpolarisations ont pour conséquence d'activer des courants I_H et I_T , déclenchant un rebond post-inhibition et menant à l'activation de neurones pyramidaux corticaux de la couche 4 (Bal et al., 1995a, 1995b). Les potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE) de ces neurones forment les fuseaux de sommeil détectés par EEG. Les fuseaux de sommeil joueraient un rôle dans le traitement des informations sensorielles et la stabilité du sommeil (Dang-Vu et al., 2010), ainsi que dans la consolidation de la mémoire (Nishida and Walker, 2007). Le stade 2 comporte aussi les complexes K qui sont des ondes lentes de grande amplitude mais de courte durée, qui peuvent apparaître de façon spontanée ou suite à un stimulus externe (**figure 31**) (Loomis et al., 1938). Ces complexes K sont associés à une absence de réponse aux stimuli externes et participeraient au maintien du sommeil (Forget et al., 2011).

En conclusion, le sommeil comporte des marqueurs électrographiques qui peuvent permettre de subdiviser les cycles de sommeil en phases physiologiquement repérables et de comparer les caractéristiques de fréquence d'onde pathologiques.

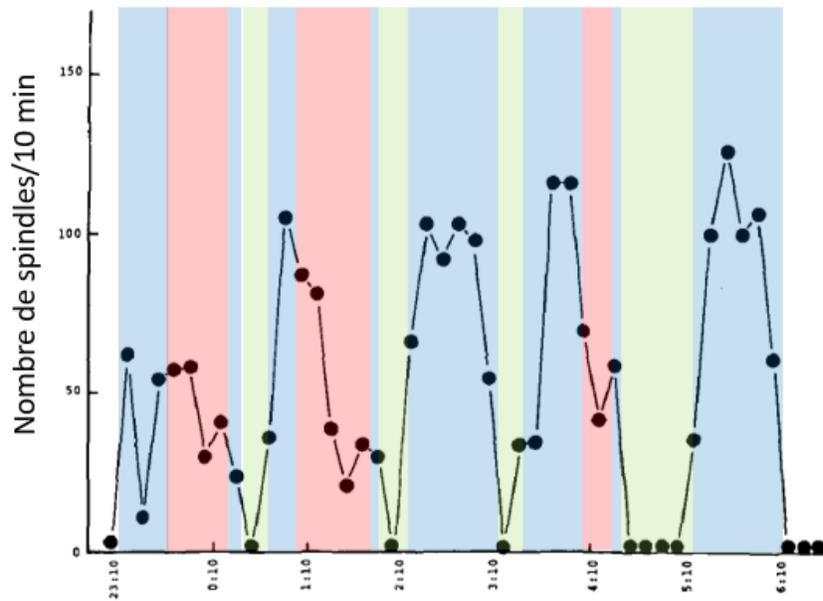


Figure 34 : Répartition des fuseaux de sommeil (sleep spindle) en fonction du stade de sommeil lent ou du sommeil REM. Blocs bleus : sommeil lent léger, stades 1 et 2 ; blocs rouges : sommeil lent profond, stades 3 et 4 ; blocs verts : sommeil REM. On note que les fuseaux de sommeil apparaissent en majorité pendant les stades 1 et 2 du sommeil lent, de façon modérée pendant les stades 3 et 4 et sont absents lors du sommeil REM. Adaptée de Azumi and Shirakawa, 1982.

III.1.1.2) Les oscillations lentes

Depuis le début des années 2000, la question des oscillations lentes, appelées « infraslow » dans la littérature, connaît un regain d'intérêt. Les oscillations infraslow ont une fréquence inférieure à 0.1 Hz (Aladjalova, 1957). Elles sont détectées lorsque le cerveau entre en mode « par défaut » pendant l'éveil (Pan et al., 2013), c'est-à-dire que son activité n'est pas dirigée vers une tâche extérieure, et pendant le sommeil lent (Achermann and Borbély, 1997; McKeown et al., 1998), avec une prévalence pour le stade 2 (Lázár et al., 2019). Ces oscillations pourraient jouer un rôle dans la détection de stimulations somatosensorielles (Monto et al., 2008). Elles apparaissent de façon rythmique lorsque la respiration est régulière (Karavaev et al., 2018) et peuvent augmenter l'excitabilité des neurones corticaux (De Goede and Van Putten, 2019). En outre, ces oscillations sont détectées chez des patients épileptiques lors d'événements interictaux (Vanhatalo et al., 2004). Puisque l'hyperventilation est l'approche employée pour le diagnostic de l'épilepsie absence (Kessler and McGinnis, 2019; Sadleir et al., 2006) et que l'hyperexcitabilité corticale qu'elle génère semble favoriser l'occurrence des crises (Shouse, 1988), il se pourrait qu'il y ait un lien entre les oscillations *infraslows* et l'occurrence des crises d'absence.

III.1.1.3) Variations métaboliques entre les états d'éveil et de sommeil

Il a été décrit que c'est particulièrement au moment des transitions entre le sommeil et l'éveil que des variations métaboliques importantes se produisent (**figure 35**). Une diminution de la fonction respiratoire et de la consommation cérébrale en glucose et en oxygène accompagne l'endormissement et le sommeil lent. De ce fait, il se produit une accumulation de glycogène dans le cerveau et une diminution du lactate, qui suggèrent le passage à un métabolisme cérébral basé sur les acides gras (corps cétoènes) au moment de l'endormissement, comme observé en période de jeûne.

Nous avons vu que des changements d'oxygénation sanguine et de signal BOLD précèdent les crises d'absence, chez l'Homme et chez les rats épileptiques. Ces modifications se retrouvent aussi pendant les transitions entre le sommeil et l'éveil. Il est donc nécessaire de faire le lien entre les crises d'absence et le niveau d'activité comportementale. Dans la prochaine partie, nous nous intéresserons à la répartition des crises d'absence selon l'état d'éveil et de sommeil.

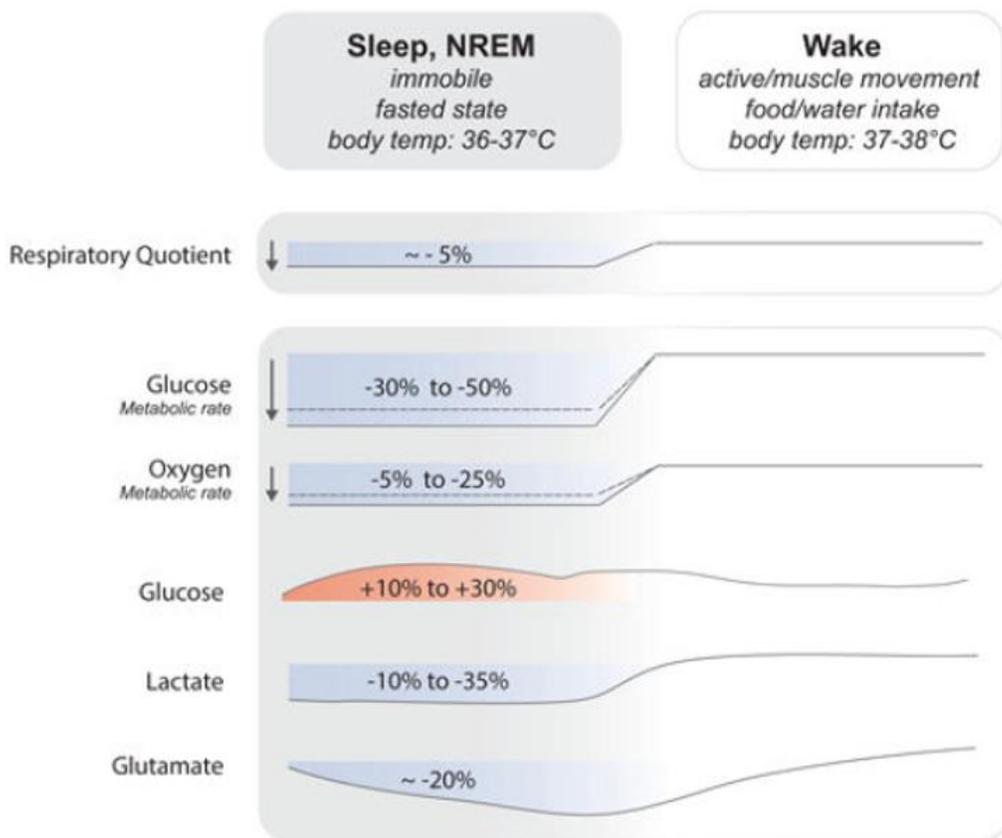


Figure 35 : Variation du métabolisme cérébral entre les phases de sommeil lent et d'éveil. Le sommeil lent se caractérise par l'absence de prise alimentaire et d'eau. Ce jeûne modifie le métabolisme cérébral et diminue la consommation en glucose pour augmenter le métabolisme des corps cétoènes. Adaptée de Aalling et al., 2018.

III.1.2) Occurrence des crises d'absence et cycle éveil/sommeil

Chez les patients épileptiques, les crises se répartissent de façon non uniforme au cours d'une journée. Elles sont détectées pendant le sommeil et l'éveil et s'accumulent pendant la transition du sommeil vers l'éveil (Nagao et al., 1990; Stevens et al., 1971a). Il existe des fenêtres temporelles où le taux de crise diminue. Des auteurs rapportent une « suppression périodique des crises » toutes les 70 à 140 minutes et pendant les phases de sommeil paradoxal (Nita et al., 2006; Stevens, 1972). Les périodes de sommeil paradoxal sont d'ailleurs moins longues chez les patients épileptiques qui ne répondent pas au traitement pharmacologique (valproate de sodium) par rapport à ceux qui répondent au traitement, ce qui suggère un lien entre la durée du sommeil paradoxal et le taux de crise (Hamdy et al., 2020). Chez les rats WAG/Rij, on observe une variation circadienne de l'occurrence des crises qui apparaissent plus souvent pendant les phases sombres (qui correspondent aux phases d'activité chez les rongeurs) que pendant les phases éclairées (Peeters et al., 1990). La **figure 36** présente un exemple d'enregistrement obtenu chez un modèle de chat épileptique qui montre que les activités paroxystiques (DPO) sont détectées pendant les phases d'éveil et de sommeil lent et sont absentes lors du sommeil paradoxal. Pour cela, les auteurs ont combiné les enregistrements EEG aux enregistrements électromyographiques du cou (EMG) et électro-oculographiques (EOG). L'EMG mesure la contraction du muscle nuchal, qui se contracte pendant l'éveil et se relâche pendant le sommeil. L'EOG mesure la contraction des muscles périoculaires, actifs pendant les mouvements des yeux. Avec cette approche, il est possible de distinguer les phases d'éveil (signaux EMG et EOG forts) des phases de sommeil lent (signaux EMG et EOG faibles) et des phases de sommeil paradoxal (signal EMG faible et signal EOG fort).

A

Caractérisation du niveau d'activité comportementale avec les signaux EMG et EOG			
	Eveil	Sommeil lent	REM
Signal EMG	Fort	Faible	Faible
Signal EOG	Fort	Faible	Fort

B

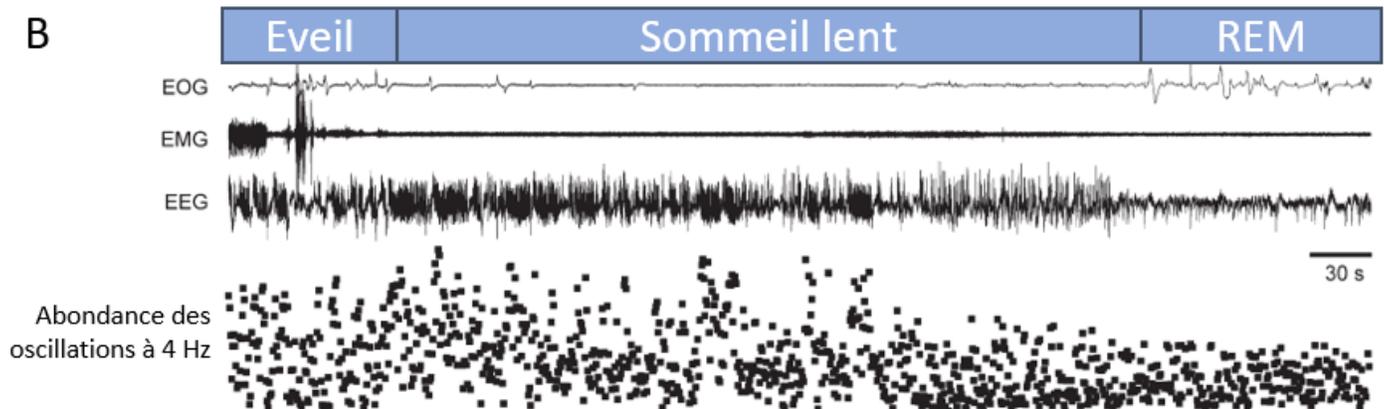


Figure 36 : Evolution du taux de décharges pointes-ondes en fonction du niveau d'activité d'un chat épileptique. A. Définition du niveau d'activité comportementale en fonction des signaux EMG et EOG. **B.** Enregistrement EEG-EMG-EOG chez un chat épileptique. On note que les oscillations à 4Hz, considérées comme pathologiques, sont abondantes pendant l'éveil et le sommeil lent. Elles sont beaucoup moins détectées pendant la transition du sommeil lent au REM et pendant le REM. Adapté de Nita et al., 2006.

Ces résultats sont en partie discordants avec une autre étude conduite chez l'Homme (Horita et al., 1991). Dans l'étude d'Horita et al., les auteurs montrent que les crises d'absence apparaissent le plus souvent pendant les phases d'éveil, les stades 1 et 2 du sommeil lent et pendant le sommeil paradoxal. En outre, les crises sont plus fréquentes pendant le dernier tiers de la nuit, moment où les stades 3 et 4 du sommeil lent sont le moins fréquents (cf **figure 31**). Cette discordance pourrait s'expliquer par le critère choisi pour discriminer les crises d'absence. Les auteurs ne considèrent comme crise que les décharges pointes-ondes régulières et symétriques (bilatérales) qui durent au moins 5 secondes. Il est possible que leur approche omette un certain nombre de crises, ce qui biaiserait le résultat final. En effet, dans l'étude de Stevens et al., 1971, les auteurs expliquent que les crises sont moins stables et moins marquées pendant les phases de sommeil lent, en particulier pendant les stades 3 et 4. Il faut noter que leur méthode de discrimination des crises est peu restrictive et inclut sûrement des événements qui ne sont pas des DPO. Il est donc nécessaire d'employer des critères suffisamment restrictifs et permissifs pour être spécifique et exhaustif dans la détection des crises d'absence.

Une manière de contourner cet obstacle est d'analyser manuellement les enregistrements EEG pour détecter les DPO. C'est ce qui a été réalisé dans une étude sur des rats épileptiques explorant les liens entre états de vigilance et occurrence des crises (Lannes et al., 1988). Les auteurs expliquent que les DPO peuvent durer moins d'une seconde et qu'elles apparaissent pendant les états d'éveil passif, calme et pendant le sommeil lent, avec une préférence pour les moments de transition entre ces deux états. A l'inverse, les DPO ne sont pas détectées pendant l'éveil actif et très rarement pendant le sommeil REM. Il a été montré que les rats WAG/Rij ont moins de périodes de sommeil REM et plus de sommeil lent que les rats non épileptiques (Gandolfo et al., 1990). Il est possible que l'apparition des crises soit concomitante avec des perturbations des cycles de sommeil, ce qui agirait en synergie avec les mécanismes épileptogènes. Ces résultats issus d'une analyse manuelle des enregistrements présentent la limite d'être expérimentateur dépendant. Cependant, des méthodes d'analyses automatisées chez des rats WAG/Rij ont permis de reproduire ces résultats (Drinkenburg et al., 1991; Van Luijtelaaar and Coenen, 1986).

Dans une autre étude, les auteurs placent les rats wistar dans un état de privation de sommeil REM (Peeters et al., 1989). Il apparaît que l'absence de sommeil paradoxal favorise l'éveil actif chez ces animaux, ce qui est associé à une diminution du nombre de crises détectées. Chez des rats WAG/Rij, l'administration d'éthosuximide pendant 4 mois diminue l'occurrence des crises et la quantité de sommeil paradoxal, sans modifier le sommeil lent ni la quantité totale de transition éveil-sommeil. Ces résultats confortent l'idée que les crises d'absence apparaissent de façon préférentielle pendant les périodes de sommeil lent et d'éveil calme, où l'activité neuronale est synchronisée.

L'activité neuronale synchronisée semble être un facteur facilitateur pour l'apparition des DPO. Cette synchronisation doit se faire dans une certaine gamme de fréquence pour donner lieu aux crises. Chez des patients humains, on observe que la fréquence des signaux EEG tend progressivement vers la fréquence des décharges pointes-ondes vers 3-4 Hz (Inouye et al., 1990). Ces changements s'observent jusqu'à 45 secondes avant les décharges pointes ondes. Les signaux à haute fréquence voient leur fréquence diminuer avant la crise et les signaux à basse fréquence voient leur fréquence augmenter avant la crise. Toutefois, lorsque le signal EEG du patient présente des ondes alpha, qui sont dans une gamme de fréquence proche de celle des décharges pointes-ondes, aucune modification de fréquence n'est observée. Cela conforte l'idée que les états d'éveil calme sont caractérisés par une activité basale favorable au développement des crises d'absence. Cette activité basale favorable abaisserait le seuil de déclenchement des crises.

Bien qu'une augmentation du taux de crise ait été décrite pendant les états de transition entre l'éveil et le sommeil chez le rat WAG/Rij, aucune étude n'a confirmé cette observation chez les rats GAERS. Par ailleurs, identifier des fenêtres temporelles pendant lesquelles les crises tendent à s'accumuler est un préalable indispensable pour la prédiction des crises. La prédiction des crises doit être fiable, c'est-à-dire avec peu de faux positifs et de faux négatifs, et doit pouvoir se faire suffisamment tôt avant le déclenchement de la crise pour envisager une intervention qui puisse empêcher la crise. Pour l'instant, les études faites chez le WAG/Rij ne permettent une prédiction des crises que 4 secondes avant leur déclenchement (Smyk et al., 2019). De plus, les travaux menés jusqu'à présent n'ont pas permis de déterminer lequel de l'arrêt comportemental ou de la série de décharges pointes-ondes apparaît en premier. La première partie de mon travail de thèse (présentée dans le chapitre 2) porte sur la caractérisation de l'occurrence des crises chez le rat GAERS, en fonction de son état d'activité ou de repos et abordera aussi le rapport de temporalité entre l'arrêt du comportement et l'apparition des décharges pointes ondes.

IV) Vers une nouvelle approche : L'acousto-optique

IV.1) Limites des approches actuelles de mesure de l'oxygénation sanguine cérébrale

L'imagerie en profondeur du tissu cérébral représente un défi majeur des Neurosciences à la recherche de données dynamiques provenant de la globalité du tissu neuronal cérébral, cortical et sous-cortical. Les approches d'imagerie fonctionnelle cérébrale reposent sur le principe d'hyperhémie fonctionnelle pour mesurer de façon indirecte les activités neuronales. Sur ce principe et comme précédemment décrit au paragraphe II.2.1, les activités neuronales provoquent des variations des paramètres hémodynamiques (volume sanguin cérébral – CBV ; flux sanguin cérébral – CBF ; consommation en oxygène – CMRO₂) qui sont détectables par les différentes techniques d'imagerie fonctionnelle (Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle – IRMf ; Tomographie par Emission de Positron – TEP ; Spectroscopie dans le proche infrarouge ou *Near InfraRed Spectroscopy* - NIRS, imagerie ultrasonore fonctionnelle ou *functional UltraSound imaging* – fUS ; imagerie ultrasonore de localisation microscopique ou *functional Ultrasound Localization Microscopy* - fULM).

L'IRMf permet un suivi du CBV, du CBF et du CMRO₂. L'inconvénient est que ces trois paramètres peuvent évoluer de façon distincte, ce qui complique l'interprétation des données (Blumenfeld, 2007;

Mishra et al., 2011; Schridde et al., 2008). Le fUS/fULM mesure le CBV et le CBF, avec une très bonne résolution spatio-temporelle (dimension des voxels : $100 \mu\text{m}^3$; 1 image / 1.4 seconde). Cette approche ne donne pas d'information sur le CMRO_2 , qui est la variable métabolique représentant directement l'activité neuronale. En effet, les activités neuronales mènent à des déplétions localisées en oxygène (Özugur et al., 2020) qui sont ensuite surcompensées par la réponse hémodynamique. L'idéal serait de pouvoir localiser et quantifier ces déplétions et ces surcompensations qui donneraient des indications indirectes mais fiables des activités neuronales sous-jacentes.

Pour l'instant, il existe différentes techniques qui permettent la mesure du CMRO_2 . Par exemple, il est possible de mesurer le CMRO_2 par IRM par l'application de la loi de Fick :

« Dans un échangeur, le passage d'un gaz entre la phase gazeuse et le sang est régi par le principe de conservation de la masse : la quantité de gaz échangée en régime stable est égale à la différence de quantité entre l'entrée et la sortie du gaz fixé sur le sang. »

De ce fait, on peut avoir une idée globale du CMRO_2 pour le cerveau entier par le calcul de la différence entre la saturation sanguine en oxygène du sang artériel et celle du sang veineux (Bolar et al., 2011; De Vis et al., 2014; Haacke et al., 1997; Thulborn et al., 1982). La limite de cette approche en IRM est la sensibilité et la vitesse de mesure pour observer les paramètres permettant de déduire les variations de CMRO_2 .

Une autre approche est l'utilisation de la TEP. Cette technique peut servir à mesurer le CBF et le CMRO_2 (Ibaraki et al., 2004; Reivich et al., 1979). Elle nécessite l'injection de traceurs radioactifs. Ceux-ci ont des courtes demi-vies, ce qui limite la durée des enregistrements. Par ailleurs, la production des traceurs radioactifs nécessite la présence d'un cyclotron à proximité du site d'enregistrement, ce qui pose des difficultés logistiques et de coût.

En somme, les méthodes présentées jusqu'ici permettent de suivre l'activité cérébrale de façon indirecte avec une fiabilité et/ou une résolution spatio-temporelle modérée. Il convient donc de mettre au point de nouvelles approches qui combleraient ces limites. Pour la suite et fin de cette introduction, nous verrons comment il serait possible d'améliorer une technique déjà existante, l'imagerie NIRS, pour effectuer un suivi oxymétrique localisé dans le tissu cérébral superficiel et profond.

IV.2) L'imagerie NIRS : principe et limite

L'imagerie optique est une alternative à l'IRM et au PET pour mesurer le CMRO_2 . En particulier, l'imagerie proche infrarouge (NIRS – Near InfraRed Spectroscopy) permet une oxymétrie globale du

cerveau, de façon non-invasive. Le principe de la mesure exploite le fait que le cerveau est relativement transparent à la lumière dans la gamme du proche infrarouge (Jöbsis, 1977) et que l'hémoglobine oxygénée et l'hémoglobine désoxygénée ont des spectres d'absorption distincts pour ces longueurs d'onde (**figure 37A**). On peut voir sur le spectre d'absorption que l'hémoglobine désoxygénée (Hb) absorbe plus la lumière à 760 nm que l'hémoglobine oxygénée (HbO₂) et que l'HbO₂ absorbe plus la lumière à 850 nm que l'Hb. Entre ces deux valeurs, se trouve le point de croisement des courbes, appelé point isobestique (à 800 nm). C'est à 800 nm que l'absorption de la lumière par l'HbO₂ et l'Hb est équivalente. La loi de Beer-Lambert met en relation l'absorption d'un faisceau lumineux avec les propriétés du milieu qu'il traverse. Elle s'exprime mathématiquement par la formule :

$$A = \varepsilon \cdot L \cdot C$$

Avec, A l'absorbance, ε le coefficient d'extinction molaire, une constante spécifique à une espèce chimique donnée, L la longueur parcourue par la lumière à travers le milieu étudié (ici, le tissu cérébral), C la concentration de l'entité chimique absorbante (ici HbO₂ ou Hb, selon la longueur d'onde utilisée).

Cette loi part du postulat que le milieu étudié n'est pas diffusant (milieu homogène et transparent dans lequel la lumière se propage en ligne droite). Or, les milieux biologiques sont diffusants (renvoient dans toutes les directions la lumière qu'ils reçoivent) rendant cette loi inefficace pour l'étude de la saturation en oxygène. C'est pourquoi, elle a dû être adaptée (Franceschini et al., 1995).

La loi de Beer-Lambert modifiée s'exprime par la formule suivante :

$$\varepsilon = \Delta C \cdot L \cdot DPF$$

On a introduit un coefficient qui est le DPF pour *Differential Pathway Factor*. Ce facteur permet de prendre en compte le fait que, dans le cerveau, la lumière parcourt une distance qui est plus grande que la distance émetteur-récepteur. La valeur du DPF dépend de la longueur d'onde de la lumière utilisée et de l'âge du sujet/patient étudié (Duncan et al., 1996; Scholkmann and Wolf, 2013). En fonction de ces deux paramètres, la valeur du DPF a été estimée entre 3 et 6 (Delpy et al., 1988; Duncan et al., 1996). En outre, on mesure des variations de concentrations, d'où l'ajout d'un delta.

En alternant une illumination à 850 nm et à 760 nm on peut déterminer de façon respective les concentrations en HbO₂ puis en Hb (**figure 37B**). L'emploi d'un faisceau de lumière à 800 nm (point isobestique) permet de déterminer la concentration en HbO₂ et en Hb, autrement dit en hémoglobine totale

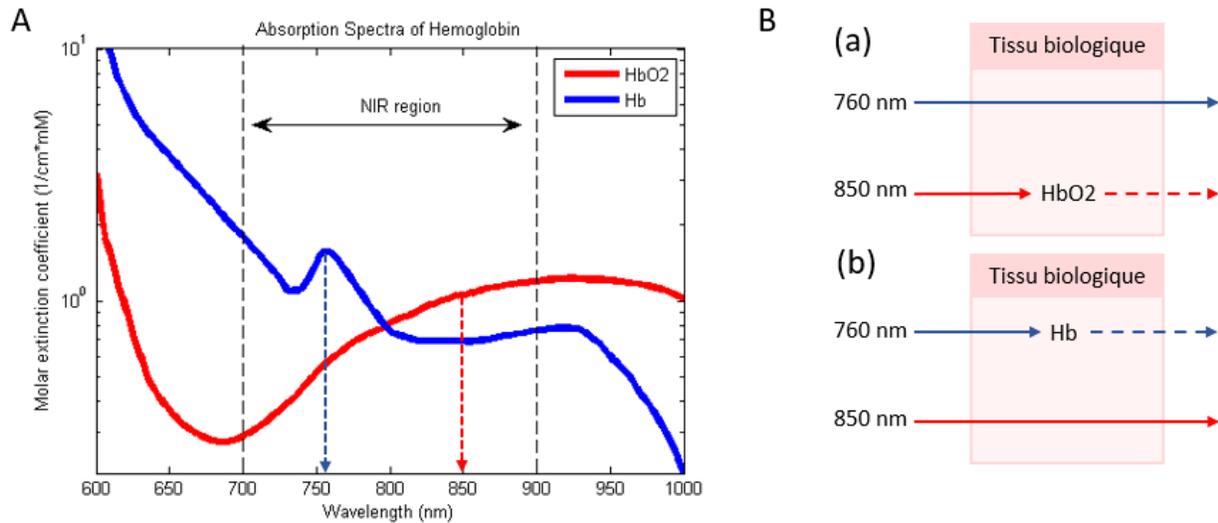


Figure 37 : NIRS : principe et fonctionnement. **A.** Spectres d'absorption de l'hémoglobine oxygénée (HbO₂) et désoxygénée (Hb). Flèche bleue en pointillés : longueur d'onde (760 nm) utilisée pour mesurer la concentration de Hb ; Flèche rouge en pointillés : longueur d'onde (850 nm) utilisée pour mesurer la concentration de HbO₂. **B.** Schéma de l'absorption de la lumière à travers un tissu pour les deux longueurs d'ondes. (a) A 850nm, HbO₂ absorbe une partie de la lumière. (b) A 760nm Hb absorbe une partie de la lumière.

L'alternance des deux longueurs d'ondes permet d'obtenir le diagramme présenté en **figure 38A**. On peut y voir l'intensité de lumière transmise par le tissu et captée par la photodiode. La photodiode convertit l'information de l'intensité lumineuse en tension électrique. Ainsi, la quantité de lumière transmise est proportionnelle à la tension affichée par la photodiode. En prenant la valeur moyenne obtenue aux différents plateaux lors des différents éclairages, on peut tracer les courbes présentées en **figure 38B**. On remarque la présence d'oscillations lentes (1-2 Hz) qui se distinguent du bruit de fond. Ces oscillations sont liées aux battements cardiaques comme montré en **figure 38C**. Les valeurs de l'intensité lumineuse transmise aux diastoles et systoles servent à normaliser le signal d'intensité.

$$A = \frac{I_D - I_S}{I_D}$$

Avec A pour l'intensité normalisée, I_D pour l'intensité lumineuse transmise en fin de diastole et I_S pour l'intensité lumineuse transmise en fin de systole.

En calculant la valeur de A aux deux longueurs d'ondes, on peut calculer le ratio des signaux optiques :

$$R_{OS} = \frac{A_{760}}{A_{850}}$$

Ensuite, en incorporant la valeur du R_{OS} dans la formule permettant le calcul de la saturation en oxygène, on obtient la formule suivante :

$$S_aO_2(R_{OS}) = \frac{\varepsilon_{760, Hb} - \varepsilon_{850, Hb} \cdot R_{OS}}{(\varepsilon_{760, Hb} - \varepsilon_{760, HBO_2}) + (\varepsilon_{850, HBO_2} - \varepsilon_{850, Hb}) R_{OS}}$$

En faisant l'application numérique des constantes ε , on obtient la formule simplifiée suivante :

$$S_aO_2 = 110 - 25 R_{OS}$$

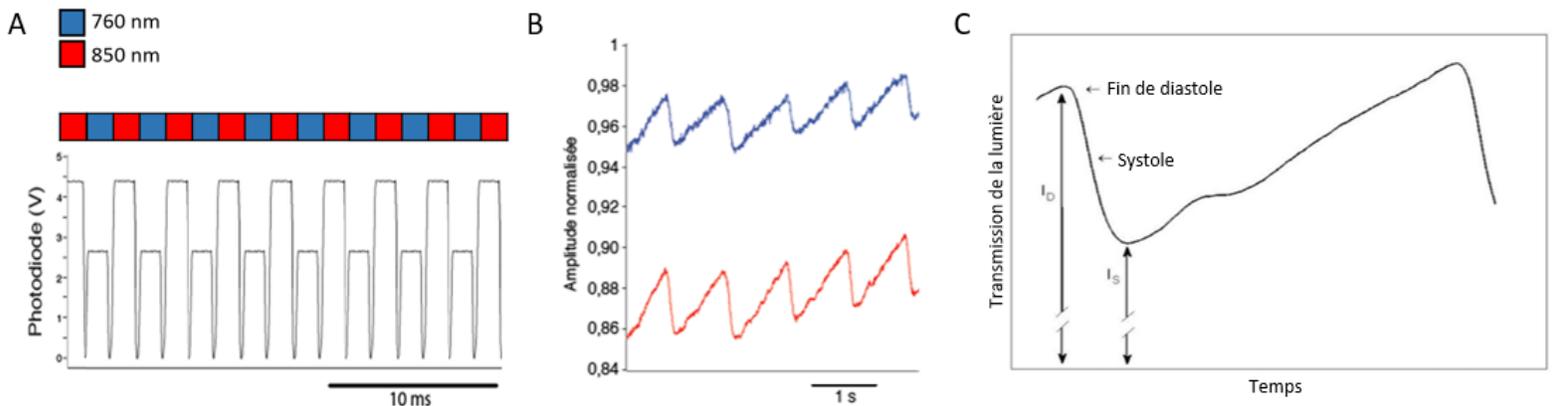


Figure 38 : Principe de la mesure de la saturation sanguine en oxygène. **A.** Diagramme de l'intensité de lumière détectée par la photodiode aux différentes longueurs d'ondes. **B.** Evolution de l'intensité lumineuse transmise pour les deux longueurs d'ondes. **C.** Composantes systoliques et diastoliques des oscillations lentes.

L'imagerie NIRS est employée en routine en clinique. Pour cela, on dispose à la surface de la tête des diodes et des capteurs. La lumière envoyée est en partie réfléchiée à la surface du scalp, l'autre partie de la lumière pénètre le tissu et se propage selon une enveloppe probabiliste de trajectoires qui s'apparente à la forme d'une banane de diffusion (**figure 39A**). Une partie de cette lumière est absorbée. Le reste est transmis à la sortie du tissu pour être capté. L'intensité lumineuse transmise permet de calculer les concentrations respectives en HbO_2 et en Hb , comme détaillé ci-dessus. La distance entre le faisceau incident et la fibre de collecte de la lumière transmise définissent la profondeur du tissu imagé. Ainsi, plus cette distance est élevée, plus la profondeur du tissu imagé augmente (**figure 39B**). En général, la source de lumière et la collecte sont espacés de 2 à 7 cm pour des enregistrements chez l'Homme (Villringer and Chance, 1997) et de 1 à 5 mm chez le rat (Crespi, 2007; Roche-Labarbe et al., 2010). On

estime que la profondeur du tissu imagé correspond à un tiers de la distance entre la source de lumière et le détecteur (Patterson et al., 1995).

La principale limite de l'imagerie NIRS est sa résolution spatiale. L'information la plus précise que nous ayons est que la lumière emprunte de façon préférentielle un trajet tel que décrit dans la **figure 39A**. Chez le rat, cette banane de diffusion peut englober la majeure partie du cerveau, ce qui rend impossible la cartographie précise des variations d'oxymétrie. Dans le milieu diffusant qu'est le cerveau, la lumière va connaître des événements de réflexion multiples. La conséquence est qu'il est impossible de connaître le trajet exact d'un photon à travers un tissu. Cela est d'autant plus vrai lorsque l'on tente d'imager le tissu en profondeur.

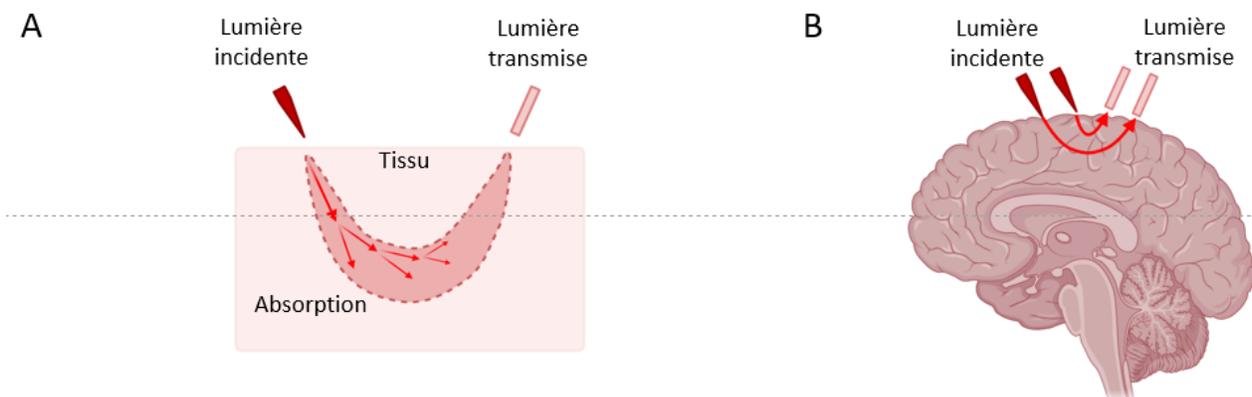


Figure 39 : Diffusion de la lumière à travers le tissu A. Propagation du faisceau de lumière à travers le tissu. La lumière diffuse avec une forme de banane. Une partie de la lumière est absorbée ou réfléchiée et une autre partie est transmise. **B.** Profondeur de la propagation de la lumière en fonction de la distance entre l'émission et la collecte.

IV.3) L'acousto-optique : vers une oxymétrie localisée et en profondeur

IV.3.1) Principes physiques et détection du signal acousto-optique

L'imagerie optique est entravée par un obstacle : la diffusion multiple. Lorsqu'un faisceau de lumière traverse un tissu, les photons empruntent des trajectoires aléatoires impossibles à déterminer seulement d'après la lumière reçue (**figure 40A**). Cela limite la localisation des paramètres mesurables comme l'oxymétrie. Il est possible d'y remédier en ajoutant un faisceau d'ultrasons focalisés qui traverse le tissu (**figure 40B**). Les ultrasons focalisés, en faisant vibrer le tissu par lequel transitent certains photons les « marquent » en modifiant leur fréquence (**figure 40C**), c'est l'effet acousto-optique. En outre, les ondes sonores se propageant dans le milieu modifient la densité moléculaire de celui-ci en alternant des zones de compression et des zones de dilatation. Ces déformations élastiques provoquent des

modifications de l'indice de réfraction du milieu, c'est-à-dire de la manière dont va se propager la lumière, ce qui provoque des modifications de la phase de l'onde optique. Nous détaillerons plus tard l'effet de ces modifications sur la détection du signal acousto-optique. La finalité sera que le spectre énergétique de lumière transmise aura une composante principale, à la fréquence de la lumière incidente (ω_0), et deux composantes minoritaires à la fréquence de la lumière incidente +/- la fréquence des ultrasons ($\omega_0 \pm \omega_{US}$). Ce marquage des photons renseigne sur leur trajet à travers le tissu : un photon marqué est forcément passé par le faisceau d'ultrason en son point de focalisation.

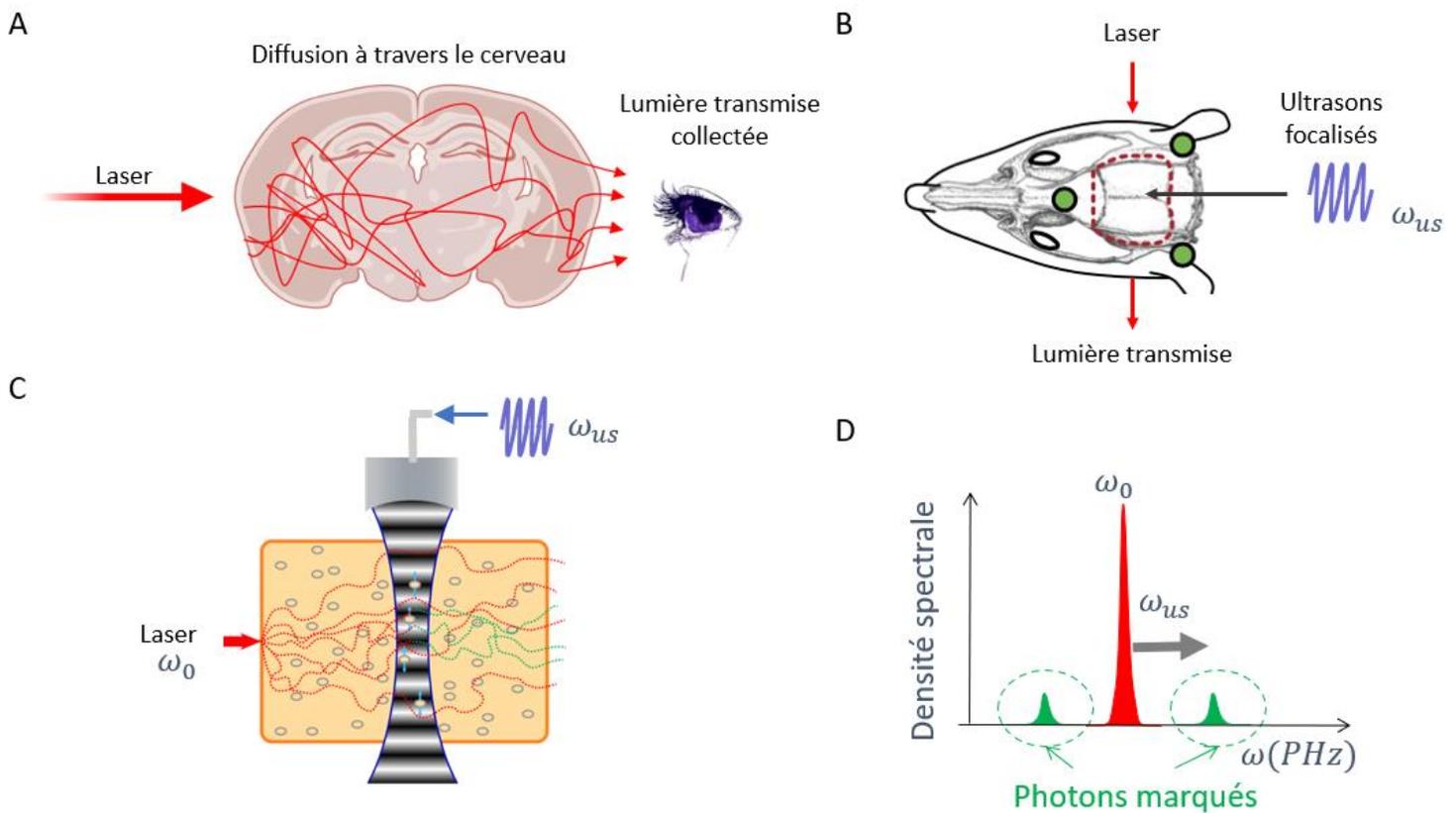


Figure 40 : Localiser les informations optiques par acousto-optique. **A.** Diffusion de la lumière à travers le tissu cérébral. **B.** Ajout d'un faisceau d'ultrasons focalisés. **C.** Marquage des photons par les ultrasons focalisés. **D.** Séparations des photons marqués et des photons non marqués.

La détection du signal acousto-optique repose sur l'emploi d'un cristal photoréfractif. L'effet photoréfractif a été observé pour la première fois en 1966 par les laboratoires Bell (Ashkin et al., 1966). Dans cette étude, les auteurs ont mesuré la propagation d'un faisceau de laser (visible ou ultraviolet),

focalisé ou non, dans un cristal de LiNbO_3 et de LiTaO_3 . Ils ont constaté qu'aux endroits où la lumière se propage, l'indice de réfraction du cristal, autrement dit la vitesse de propagation de la lumière à travers le cristal, était modifié. Ces altérations provoquent une distorsion du front d'ondes, modifiant la manière dont le laser se propage à travers le cristal. Il est apparu que l'intensité de cet effet dépendait de la longueur d'onde, de la puissance et de la durée d'exposition du laser. Ces trois paramètres se regroupent pour définir l'énergie reçue par le cristal.

Au départ, cet effet était considéré comme indésirable et était appelé « dommage optique ». Une série d'étude a donc été menée avec pour but d'atténuer l'effet photoréfractif. En parallèle, d'autres travaux ont permis une meilleure compréhension du phénomène dans le but de pouvoir l'exploiter. C'est en 1968 que des hologrammes ont été enregistrés dans des cristaux photoréfractif, qui sont à la fois photoconducteurs et électro-optiques (Chen et al., 1968).

Un matériau est dit photoconducteur lorsque sa résistance électrique varie suite à l'exposition à un rayonnement électromagnétique. Ce phénomène nécessite l'absorption de la lumière par les cristaux utilisés. Les cristaux transparents dans la gamme thérapeutique peuvent être dopés ou ce sont des impuretés dans la structure cristalline qui leur confèrent leur absorptivité. Ainsi, un photon absorbé par le cristal provoquera une photo-ionisation localisée dans le réseau cristallin, libérant des porteurs de charges comme des électrons ou des trous d'électrons. Ces charges passent d'un site à un autre, soit de façon directe, soit par l'intermédiaire d'un porteur de charge libre qui se déplace sous l'effet d'un champ électrique ou de l'agitation thermique. Ces mouvements de charges constituent l'étape de conduction. Ils dépendent de la manière dont est éclairé le cristal. Dans nos travaux, les cristaux sont éclairés de façon non-uniforme. Par conséquent, la redistribution des charges n'est pas uniforme, ce qui donne lieu à un champ électrique, appelé charge d'espace.

L'effet électro-optique se manifeste dans des matériaux optiques non-linéaires (cristaux, polymères). Il résulte de la présence de ces charges d'espace qui créent un champ électrique. Cela se traduit par une modification de l'indice de réfraction, et donc de la manière dont se propage la lumière à travers le cristal photoréfractif.

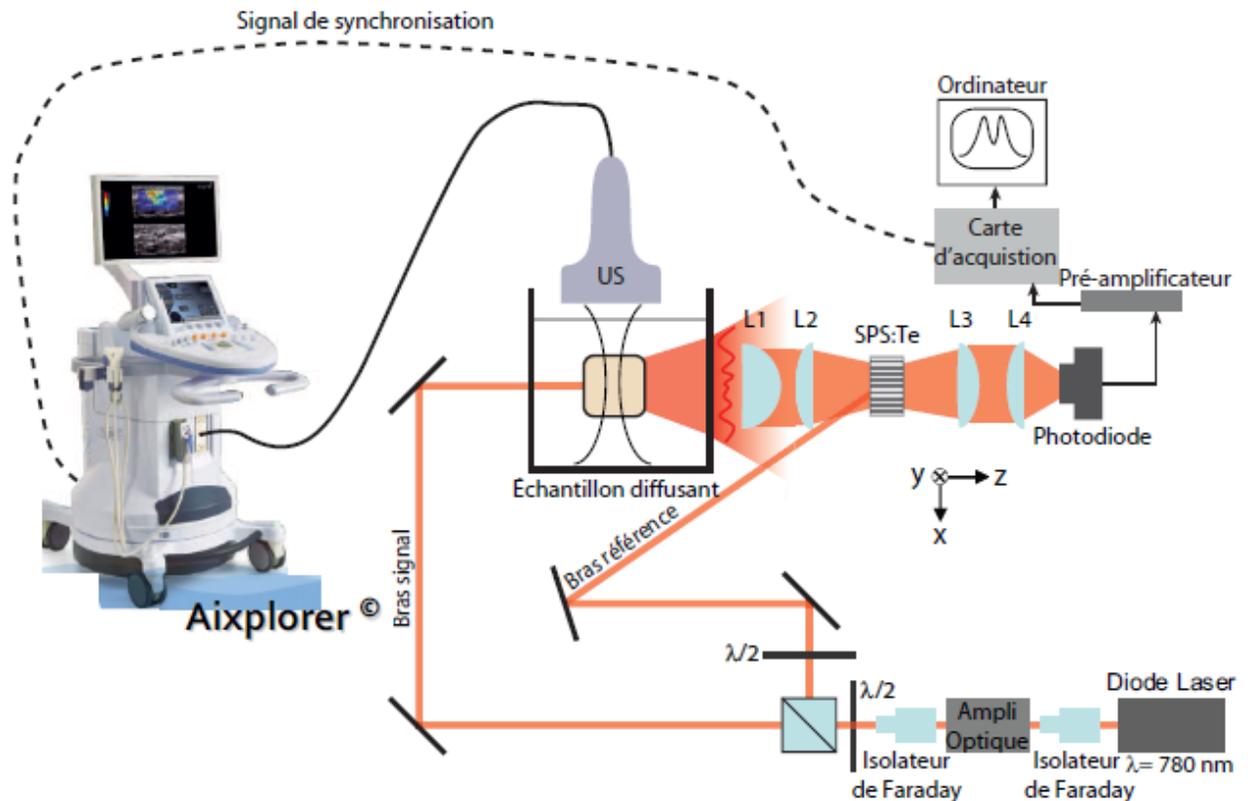


Figure 41 : Schéma du montage acousto-optique. L'holographie photoréfractive est réalisée avec un cristal $\text{Sn}_2\text{P}_2\text{S}_6 : \text{Te}$ (SPS) de dimension $9 \times 9 \times 6 \text{ mm}^3$ dans les directions x , y et z . L'emploi du SPS est motivé par sa compatibilité avec les enregistrements dans la fenêtre thérapeutique (dans le proche infrarouge ; autour de 800 nm) et par son temps photoréfractif court, de quelques millisecondes. Tirée de A La Guillaume, 2013.

Dans notre étude, nous utilisons deux faisceaux de lumière (**figure 41**) dont les fronts d'ondes interfèrent de façon cohérente. Il est possible de modifier l'orientation du cristal pour obtenir un gain photoréfractif négatif dans la direction du faisceau qui sort de l'échantillon diffusant, et qui se dirige vers le détecteur. Nous avons choisi cette configuration dans le but de limiter l'auto-diffraction du faisceau référence (beam-fanning) susceptible de créer un signal parasite important sur le détecteur. Ce phénomène se manifeste lorsque les cristaux photoréfractifs ont un fort gain, comme c'est le cas pour notre cristal $\text{Sn}_2\text{P}_2\text{S}_6 : \text{Te}$ (SPS). La détection de notre signal de notre acousto-optique repose sur le principe du mélange à deux ondes dans ces cristaux. Prenons pour cela deux faisceaux lumineux de même fréquence ν_{Laser} qui se recombinent dans le cristal. Suite aux processus microscopiques décrits précédemment, les interférences produites dans le cristal créent un réseau d'indice. Celui-ci peut être complexe si l'un des faisceaux correspond à de la lumière diffuse qui sort de l'échantillon. Le temps

d'établissement de l'effet dans les cristaux de SPS est en général de l'ordre de quelques millisecondes. La conséquence de ce réseau photo-créé est que le faisceau référence diffracte une réplique spatiale du faisceau Objet (qui sort de l'échantillon). Ainsi, au niveau du détecteur (photodiode de grande surface) on aura deux contributions avec un même front d'onde (objet+référence diffractée), ce qui optimise le rapport signal sur bruit associé au terme d'interférences : on parle d'adaptation de front d'onde. La lumière qui sort de l'échantillon excité par les ultrasons contient plusieurs fréquences : celle du laser (v_{Laser}) reste prépondérante malgré l'apparition de nouvelles composantes de fréquences liées à l'application des ultrasons ($v_{\text{Laser}} \pm v_{\text{US}}$), que nous appellerons « photon marqués ». L'amplitude de ces photons marqués dépend de la quantité de lumière qui passe dans le champ des ultrasons, ainsi leur détection révèle la présence ou non d'un objet absorbant dans le milieu (**figure 42**). On pourrait alors effectuer ce mélange à deux ondes en prenant un faisceau Référence par exemple à ($v_{\text{Laser}} \pm v_{\text{US}}$) et créer ce réseau dans le cristal avec la composante à ($v_{\text{Laser}} \pm v_{\text{US}}$) qui sort du milieu. Mais il n'en est rien car l'excitation ultrasonore est en impulsions de quelques microsecondes et le réseau n'aurait pas le temps de s'établir dans le cristal. Nous devons adopter une stratégie de mesure complémentaire : nous prenons un faisceau Référence à v_{Laser} , qui crée un réseau (hologramme) des « photons non marqués ». Lorsque les ultrasons traversent la tache de lumière diffuse dans l'échantillon, il y a création de photons marqués : par conservation de l'énergie, nous avons donc moins de photons non marqués. Cependant, comme le cristal ne « voit » pas le cheminement des ultrasons, le réseau inscrit ne change pas et la quantité de lumière diffractée par la référence reste la même : l'amplitude du mélange à deux ondes mesurées sur le détecteur subit donc une variation correspondant à l'amplitude des photons marqués, ce qui permet de suivre en temps réel la propagation des ultrasons dans le milieu et *de facto* le contraste optique local, qui révèle la présence d'un objet.

En général, la principale limitation de cette approche est qu'une partie du faisceau de référence peut diffuser sur les impuretés du cristal et interférer avec l'autre partie de ce même faisceau. Cela crée un fond de lumière diffuse qui participe au bruit de la mesure. Pour pallier à cela et améliorer le rapport signal/bruit, il est nécessaire de faire des moyennages de plusieurs centaines d'acquisitions acousto-optiques, ce qui limite les enregistrements à une image/minute. En outre, la création d'un hologramme dans un cristal nécessite plusieurs millisecondes, ce qui peut être trop long par rapport à la décorrélation de speckle *in vivo* qui se fait en moins d'une milliseconde pour des profondeurs de 3.2mm dans le cerveau de souris (Qureshi et al., 2017). Donc, l'utilisation de cette approche peut limiter la profondeur du tissu enregistré.

IV.3.2) Formation d'une image acousto-optique

Afin de réaliser une acquisition acousto-optique, nous utilisons des ondes ultrasonores focalisées. Après avoir définies les dimensions du champ imagé, des tirs successifs d'ultrasons focalisés permettent de marquer de façon localisée des photons (**figure 42**). En superposant les images obtenues avec les différents points de focalisation, on arrive à une image composite dans laquelle on peut localiser et quantifier les photons marqués. On peut alors repérer des endroits où la quantité de photons marqués est moindre, qui correspondent à la périphérie du faisceau laser et à des inclusions absorbantes présentes dans le milieu imagé.

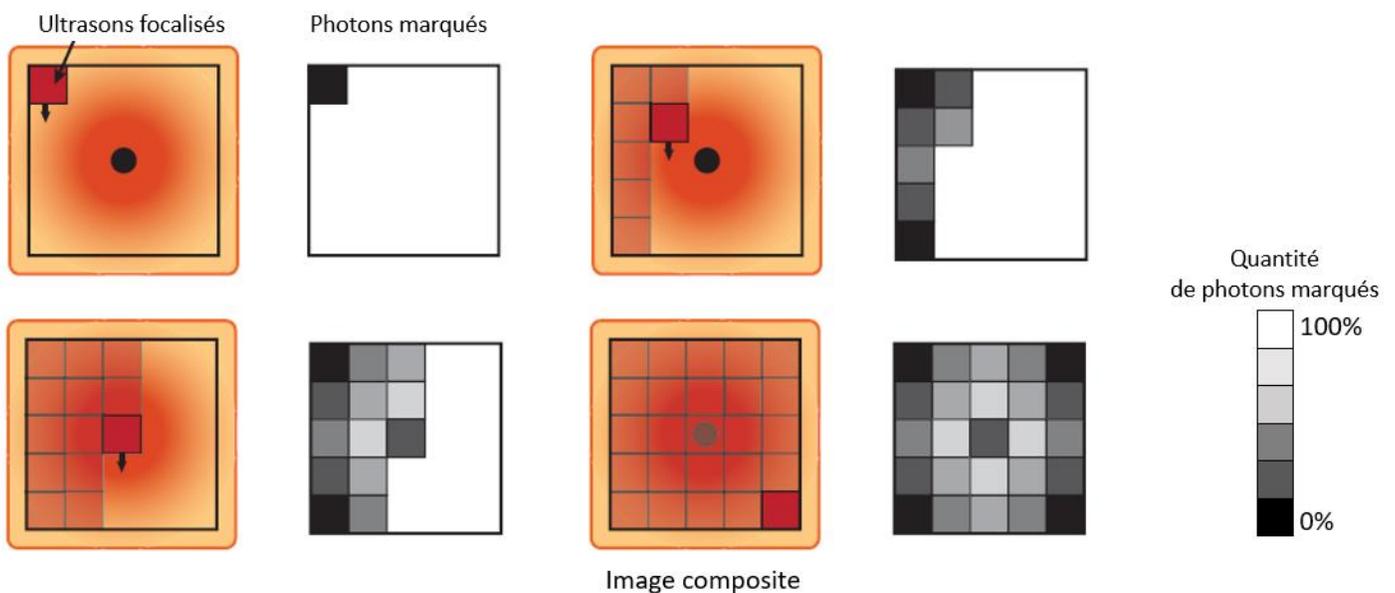


Figure 42 : Schéma de la formation d'une image acousto-optique. Les ultrasons sont focalisés en un point sur le plan imagé. En modifiant la position du point de focalisation pour recouvrir la totalité du plan imagé, on parvient à localiser et quantifier les photons marqués. Adaptée de Laudereau, 2016.

Ce type d'imagerie point par point nécessite des acquisitions par impulsion ultrasonore (US). Ce ne sont donc pas des acquisitions en continue. Cette approche repose sur le fait qu'on puisse déterminer la profondeur d'une particule échogène en fonction du délai qu'il y a entre l'émission de l'onde (US) par la sonde US et la réception de l'écho US par cette même sonde US. En prenant en compte ce délai et en modifiant progressivement la profondeur de focalisation des ultrasons, on peut imaginer la totalité d'un

échantillon. Un des intérêts de cette méthode est que la résolution spatiale des photons marqués lors d'une impulsion dépend de la taille du point de focalisation de l'onde US. Or, la taille de ce point de focalisation dépend de l'étendue temporelle de l'onde US, qui est réglable via l'échographe.

IV.3.3) Etat de l'art de l'imagerie acousto-optique

Bien que le principe physique d'acousto-optique ait été décrit au début du 20^{ème} siècle, l'imagerie acousto-optique n'en est encore qu'à ses balbutiements mais elle est déjà prometteuse (Gunther et al., 2018). Deux études réalisées sur des gels fantômes montrent que cette technique est sensible aux variations d'absorbance d'un milieu (Bratchenia et al., 2009) et qu'elle pourrait permettre une mesure du flux sanguin dans un milieu diffusant (Hussain et al., 2018). Dans une autre étude décrite en **figure 43**, réalisée sur des biopsies de tissu, les auteurs détectent des tissus tumoraux grâce à leurs propriétés optiques (Laudereau et al., 2015). Les tissus tumoraux provenaient d'un patient qui souffrait de mélanome de l'uvéa qui affecte la peau ou les muqueuses des yeux, et peut métastaser au niveau du foie. La tumeur initiale et les tissus métastatiques expriment le pigment mélanine, et ont donc tendance à absorber plus de lumière que les tissus sains (**figure 43d**). Cette étude montre que là où l'imagerie ultrasonore classique échoue (**figure 39a**), l'imagerie acousto-optique parvient à détecter deux masses tumorales distinctes (**figure 43b** et **c**). Ces tumeurs ne se distinguent pas du tissu sain d'un point de vue de leurs propriétés mécaniques mais présentent des propriétés optiques différentes exploitables en acousto-optique. En effet, on observe une diminution du signal acousto-optique à l'emplacement des tissus tumoraux (**figure 43b**), du fait de l'absorption de la lumière par les pigments de mélanine. Ces résultats montrent que l'acousto-optique présente une sensibilité qui permet de différencier des tissus sur la base de propriétés optiques distinctes.

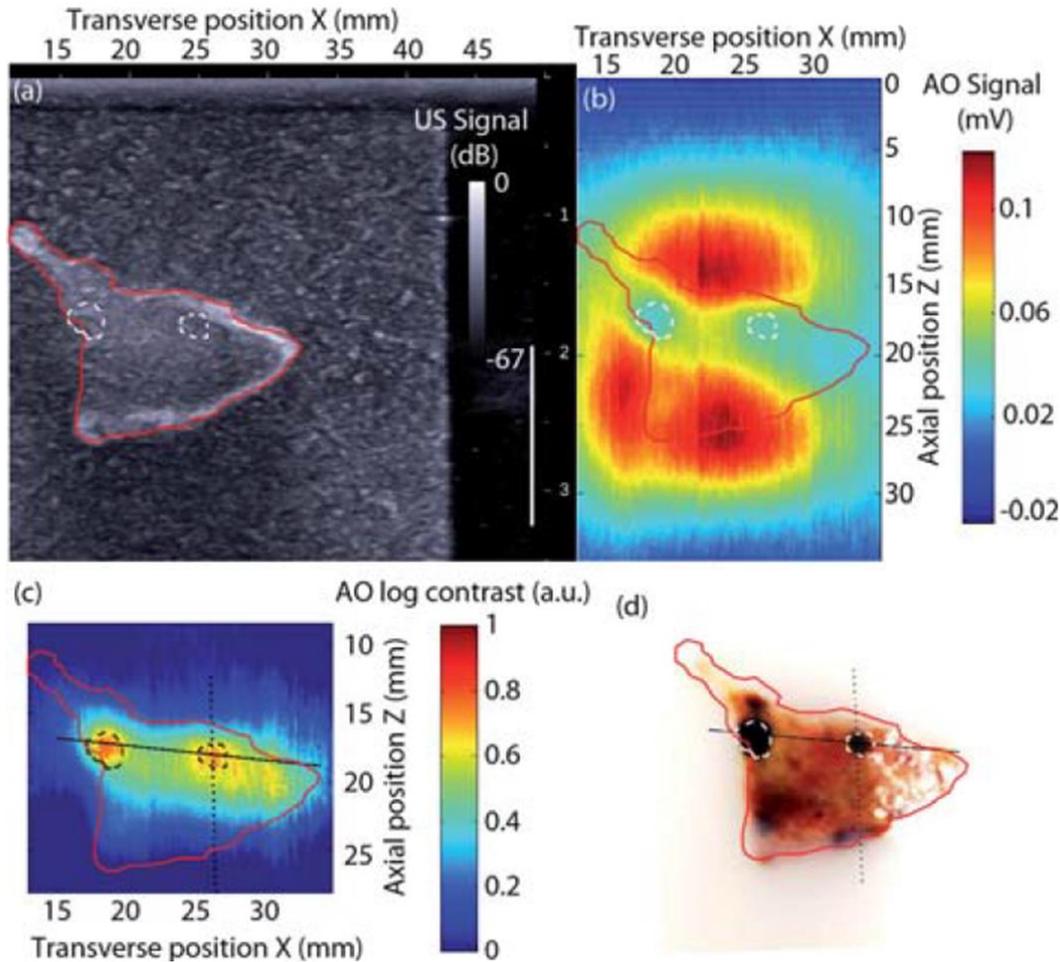


Figure 43 : Détection de deux métastases hépatiques d'un mélanome uvéal. L'échantillon (délimité en rouge) est obtenu après une biopsie chez un patient. Les tissus métastatiques sont délimités par des pointillés blancs. **(a)** L'imagerie ultrasonore ne permet pas la détection des tissus tumoraux. **(b)** L'imagerie acousto-optique permet la détection des tissus tumoraux. On observe une diminution de l'intensité du signal à leur emplacement. **(c)** Carte de contraste acousto-optique. **(d)** Photographie de l'échantillon hépatique montrant les deux métastases noires. Tiré de Laudereau et al., 2015.

Un objectif de ma thèse était d'évaluer la possibilité d'employer cette technique pour l'oxymétrie cérébrale localisée chez le rat. Pour cela, deux étapes sont nécessaires. La première est d'adapter la technique aux propriétés tissulaires du cerveau (milieu très diffusant) et aux contraintes anatomiques inhérentes aux enregistrements *in vivo*, à savoir la présence de l'os crânien qui limite la propagation de la lumière et des ultrasons. La seconde est de déterminer les paramètres qui ont une influence critique sur la qualité des images. Ce sont ces deux points que j'ai explorés expérimentalement pendant ma thèse. Les avancées réalisées sont décrites dans le chapitre 3.

CHAPITRE 2 – OCCURRENCE DES CRISES D’ABSENCE EN LIEN AVEC LES ETATS D’ACTIVITE ET DE REPOS CHEZ LE RAT GAERS

Reda El Mahzoum*, Hieu Tran*, Agnès Bonnot**, Ivan Cohen**

* : Ces auteurs sont co-premiers auteurs

** : Ces auteurs sont co-derniers auteurs

Bien que les réseaux neuronaux impliqués dans l’apparition des crises d’absences aient été largement étudiés, les facteurs abaissant le seuil de déclenchement des crises restent méconnus. Pour les appréhender, il est nécessaire de mettre en relation l’occurrence des crises avec le comportement. C’est ce que nous avons fait dans l’étude présentée dans ce chapitre.

Nous avons réalisé des enregistrements électroencéphalographiques (EEG) en continu sur une longue période (5-7 jours) afin de déterminer l’occurrence des crises chez le modèle *Genetic Absence Epileptic Rat of Strasbourg* (GAERS). En parallèle, nous avons recueilli les électro-oculogrammes (EOG), électromyogrammes du cou (EMG) et accélération de la tête (ACCEL) afin d’identifier deux états comportementaux de l’animal, à savoir la phase d’activité et la phase de repos.

Les analyses ont montré que les crises s’assemblent en bouffées de crises et qu’il existe une probabilité accrue d’occurrence des crises spécifiquement lors de la transition entre les périodes d’activité et de repos. De plus, chez les rats épileptiques, les phases d’activité durent plus longtemps que chez les rats contrôles. Ces résultats suggèrent que ces états transitoires, en agissant sur le niveau d’excitabilité des réseaux neuronaux, pourraient être un facteur déterminant dans le processus de déclenchement des crises.



OPEN ACCESS

EDITED BY

Leon D. Iasemidis,
Barrow Neurological Institute (BNI),
United States

REVIEWED BY

Noah Hutson,
Barrow Neurological Institute (BNI),
United States
Suraj Thyagaraj,
Case Western Reserve University,
United States

*CORRESPONDENCE

Ivan Cohen
✉ ivan.cohen@upmc.fr

[†]These authors share first authorship

[†]These authors share senior authorship

RECEIVED 18 September 2023

ACCEPTED 14 December 2023

PUBLISHED 24 January 2024

CITATION

Tran H, El Mahzoum R, Bonnot A and
Cohen I (2024) Epileptic seizure clustering
and accumulation at transition from activity
to rest in GAERS rats.
Front. Neurol. 14:1296421.
doi: 10.3389/fneur.2023.1296421

COPYRIGHT

© 2024 Tran, El Mahzoum, Bonnot and
Cohen. This is an open-access article
distributed under the terms of the [Creative
Commons Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The
use, distribution or reproduction in other
forums is permitted, provided the original
author(s) and the copyright owner(s) are
credited and that the original publication in
this journal is cited, in accordance with
accepted academic practice. No use,
distribution or reproduction is permitted
which does not comply with these terms.

Epileptic seizure clustering and accumulation at transition from activity to rest in GAERS rats

Hieu Tran[†], Reda El Mahzoum[†], Agnès Bonnot[†] and Ivan Cohen^{*†}

Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Neuroscience Paris Seine, Institut de Biologie Paris Seine, Paris, France

Knowing when seizures occur may help patients and can also provide insight into epileptogenesis mechanisms. We recorded seizures over periods of several days in the Genetic Absence Epileptic Rat from Strasbourg (GAERS) model of absence epilepsy, while we monitored behavioral activity with a combined head accelerometer (ACCEL), neck electromyogram (EMG), and electrooculogram (EOG). The three markers consistently discriminated between states of behavioral activity and rest. Both GAERS and control Wistar rats spent more time in rest (55–66%) than in activity (34–45%), yet GAERS showed prolonged continuous episodes of activity (23 vs. 18 min) and rest (34 vs. 30 min). On average, seizures lasted 13 s and were separated by 3.2 min. Isolated seizures were associated with a decrease in the power of the activity markers from steep for ACCEL to moderate for EMG and weak for EOG, with ACCEL and EMG power changes starting before seizure onset. Seizures tended to occur in bursts, with the probability of seizing significantly increasing around a seizure in a window of ± 4 min. Furthermore, the seizure rate was strongly increased for several minutes when transitioning from activity to rest. These results point to mechanisms that control behavioral states as determining factors of seizure occurrence.

KEYWORDS

epilepsy, electroencephalogram, electromyogram, electrooculogram, head motion, seizure occurrence, behavior transition, rest

Introduction

In humans, absence epilepsy is characterized by sudden and brief loss of consciousness, correlated with 3–4 Hz bilateral spike–wave discharge (SWD) detectable by scalp electroencephalographic (EEG) recordings, and grouped together to form a seizure. These non-convulsive events affect mostly children and teenagers due to a significant amount of remittance after puberty (1). The attention and learning disorders observed in one-third of young patients as well as the resistance to pharmacological treatment in 30% of cases underline the need to understand its mechanisms and develop new therapeutic approaches (2–5). An approach derived from that used in convulsive epilepsy is to predict seizure occurrence (6, 7) in order to reduce harmful side effects and/or engage in short-term treatment specifically when needed.

Anecdotal descriptions have long suggested an unexplained influence of biorhythms, such as circadian and ultradian, on the modulation of seizure onset, maintenance, and termination. Observation of absence seizures, particularly in children, initially suggested that they occur only during wakefulness, but a growing number of studies have shown that regular SWDs, similar to those of clinical seizures, were also observed during sleep (8, 9).

In patients with idiopathic generalized epilepsy (IGE), it was observed that the onset of SWDs would be inhibited by periods of active wakefulness and REM sleep, whereas it would be favored during the transition phase between wakefulness and slow-wave sleep and between slow-wave and REM sleep (10). Thus, the idea emerged that susceptibility to seizure is greater in intermediate states of drowsiness and/or inactivity and lower during conscious physical or mental activity, suggesting that seizure onset could be predicted on the basis of the state of alertness.

Animal models have been pivotal in addressing these questions, revealing specificities both for the duration of states of vigilance and for the genesis of SWDs in relation to these states. In genetic animal models of absence epilepsy, the intermediate stage of sleep, which is a transitional stage occurring before and sometimes after REM sleep and characterized by high voltage spindle activity in frontoparietal areas (11), was found to be almost three times longer in the WAG/Rij rat than in control Wistar rats (12, 13), with an overall shorter sleep cycle (14). In the cat, the efficacy of penicillin to induce SWDs increased during light slow-wave sleep and fell to zero during REM sleep (15). In absence-type IGE rat models, SWDs were predominant during quiet wakefulness and drowsiness and rarely occurred during REM sleep and active wakefulness (14, 16, 17). When WAG/Rij rats were equipped with cortical EEG and nuchal electrodes (18), SWDs were found to occur mainly during light slow-wave sleep and passive arousal and, in contrast, were rare in periods of REM sleep, deep sleep, and active wakefulness. In Smyk's et al. (19) study using WAG/Rij rats, the authors found that SWDs are most often preceded by active wakefulness and followed by light, slow-wave sleep, regardless of the timing and phase of the circadian cycle. However, in their study, it was impossible to predict SWD onset based on pre-seizure behavioral state, except for a very short time window of 4 s (19).

As SWDs are massively synchronized oscillations occurring selectively in some thalamocortical networks (20), it has been hypothesized that a high degree of desynchronized thalamocortical neuronal activity during periods of active wakefulness and REM sleep would inhibit SWDs (18). However, it is difficult to establish such a direct link between the electrographic manifestations of a condition and the presence or absence of seizures, as SWDs are absent from periods of deep, slow sleep where precisely the degree of synchronization is high.

The hypothesis that seems promising is that of a concordance between the onset of seizure and intermediate levels of alertness, with a partial and/or unstable level of synchronization that can be considered a transition state. SWDs could not only be favored in these periods but also modulate these transitions. There would thus be a functional link between the mechanisms of regulation of wakefulness and seizures. This thesis is widely discussed in Leresche et al. (21) review, which argues that SWDs could be "perverted" physiological sleep clusters, deriving from the 10–14 Hz oscillations called spindles observed mainly during delta light slow-wave sleep and often preceding or following SWDs (21–23). As was already suggested in a study of penicillin-induced generalized epilepsy in cats (24), the excitatory thalamocortical input produced by sleep spindles in the anterior and posterior areas could increase the excitability of cortical neurons and give rise to SWDs in the somatosensory cortex.

For these reasons, in this study, instead of looking for the links between discrete states of vigilance and the appearance of SWDs, we focused on the identification of states of arousal and rest in the GAERS rat. The GAERS rat is a validated genetic model of absence

epilepsy (25), as it recapitulates the main markers of this pathology: electrophysiological profile (26), characteristic ethosuximide pharmacological response, behavioral manifestations, and comorbidities (27–29). We identified periods of activity by the level of tonic activity of the neck muscles (EMG), oculomotor muscles (EOG), or by tracking overall head movements using an accelerometer. We asked if there is a preponderance of electrographic seizures during activity, rest, or transitional states. Thus, we addressed the question in terms of how distinct states of alertness may favor seizures.

Materials and methods

Animals

For this study, 8 GAERS and 12 Wistar male rats aged 6 weeks to 4 months were used. They were housed under controlled conditions (temperature: 22°C, humidity: 49–52%, day/night cycle: 12 h–12 h, light on at 6 a.m.). Animal care and use conformed to the European Community Council Directive of September 22, 2010 (2010/63/EU) and French law (87/848). Our study was approved by the ethics committee Charles Darwin No. 5 and the French Ministry for Research.

Electrodes

The five-channel EEG electrodes were made of 50 μ m diameter tungsten wire. For each electrode, five wires were soldered to five miniature connectors. Their tips had a difference in depth of 0.5 mm. For the EOG (bipolar, 50 μ m diameter tungsten wires) and EMG (bipolar, 25 μ m diameter tungsten wires) electrodes, the wires were inserted into the periorbital muscle and the neck muscle, respectively. An EEG electrode implanted on the surface of the cerebellum served as a reference electrode. Ground electrode screws were attached above the olfactory bulb and the cerebellum. The locations of the electrodes are shown in Figure 1.

Surgery

Anesthesia was induced by inhalation of isoflurane for 20 min at 2% and then maintained by intramuscular injection of a ketamine/xylazine mixture (80/10 mg/kg). The animal was placed in a stereotaxic frame on a heating mat (Bioseb, France) to maintain a temperature of 36°C. Under general anesthesia, an incision was made along the sagittal axis of the head. A pair of five-channel electrodes was placed bilaterally at the level of the primary somatosensory cortex via two small holes drilled in the cranial bone at stereotaxic coordinates taken relative to the Bregma: –1.3 mm in the anteroposterior (AP) axis; 5.0 mm in the mediolateral (ML) axis; and –3.0 mm in the dorsoventral (DV) axis (30). Electrodes for EOG, EMG, reference, and ground were placed in corresponding muscles. The electrode assemblies were secured to the skull with dental cement. Analgesia was provided in the post-surgical period (buprenorphine 0.1 mg/kg every 12 h for 48 h). Three nuts were sealed in the cement to allow attachment of the accelerometer. Surgery recovery rest was at least 3 days.

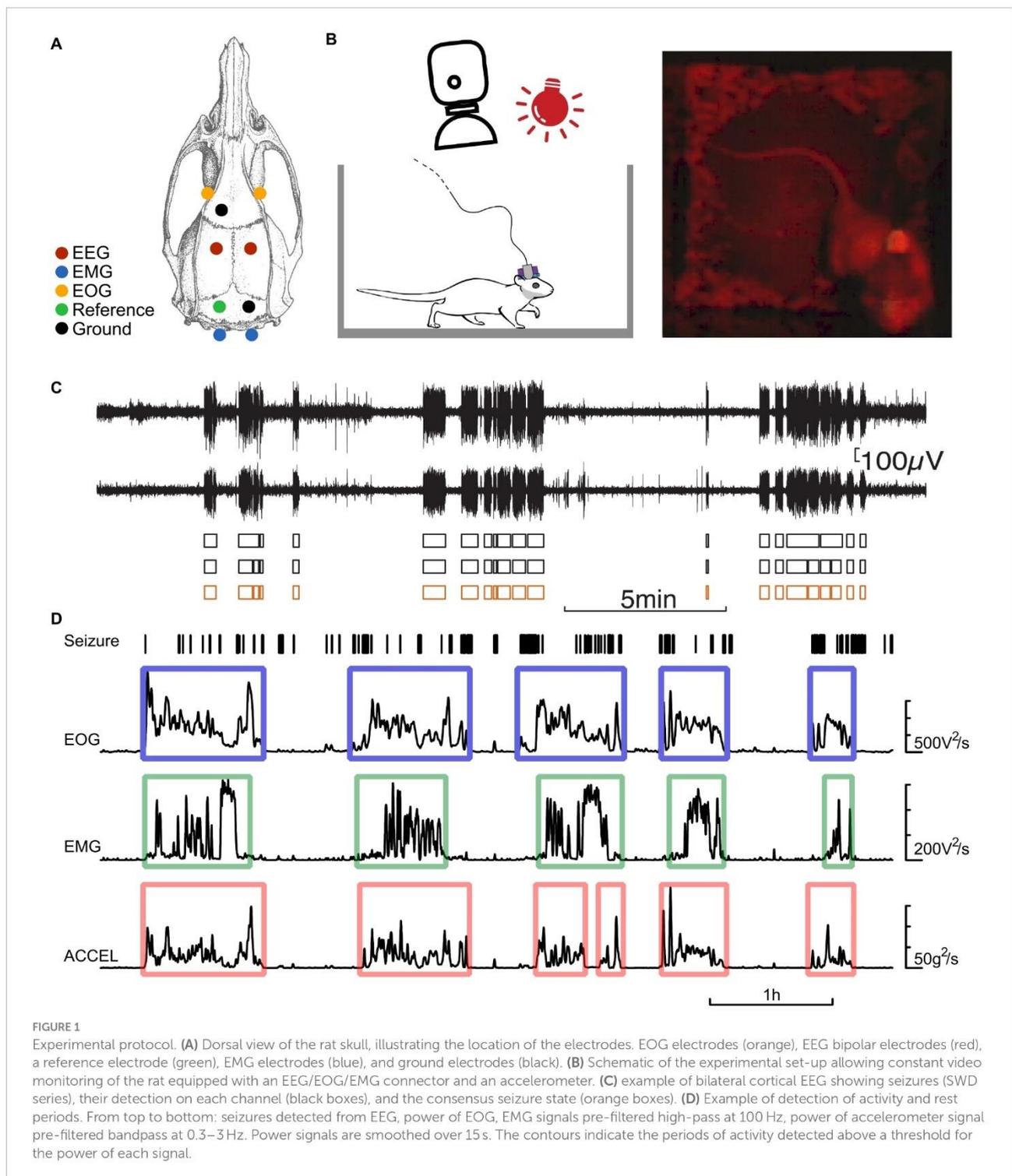
Recording

Simultaneous recordings (Figure 1) of EEG, EMG, EOG, and head acceleration (ACCEL) in GAERS and Wistar rats were obtained for 116 ± 43 ($n=8$ rats) and 107 ± 44 ($n=12$ rats) h, respectively ($AVG \pm SD$). A brief (15–30 min) isoflurane induction is allowed to attach the connector on the head of the animal to the acquisition system, composed of a high input impedance amplifier (high-pass

filter at 1 Hz, gain of 1,000) and a digitizer (Xcell, Dipsi, Cancale, France).

Detection of activity and rest periods

The activity and rest periods were determined according to three independent criteria based on EOG, EMG, and ACCEL



signals (Figure 1). The EOG and EMG signals were high-pass filtered at 100 Hz, and then the instantaneous power (square) was computed and smoothed by convoluting a Gaussian function of time constant σ of 15 s. Accelerometer signal on each of the three axes was bandpass filtered between 0.3 and 3 Hz, and then the instantaneous power (square) was computed and smoothed by convoluting a Gaussian function of time constant σ of 20 s. The ACCEL signal was then computed by summing the three axes. EOG, EMG, and ACCEL signals showed rapid transitions between stable periods near zero (rest) and periods of large fluctuations (activity). The periods of activity were detected by a threshold above the noise level on the power signals set to correspond to transitions between near-zero power and large fluctuations. On EMG and EOG signals, a minimum duration of 3 min was required to validate an activity period, and a tolerance of 5 min below the threshold was allowed to consider that the animal was still in the same activity cycle. This avoided splitting activity periods due to short breaks in behavior. Rest periods were taken between two consecutive activity periods. On the ACCEL signal, a minimum duration of 2 min was required to validate an activity period, and the tolerance was 5 min below the threshold.

Detection of absence seizures

Absence seizures were detected by means of a succession of processing of the EEG signal (Figure 1): bandpass filtering, detection of SWDs and series of SWDs on individual channels, and the presence of concomitant series of SWDs on at least half of the channels as a sign of seizure. First, the raw signals were filtered in the 5–50 Hz bandwidth to preserve the SWDs. SWDs were detected on the basis of their amplitude, typically in the range of 150–1,500 μ V. A series of SWDs were detected on each channel based on the following criteria: a maximum interval between SWDs of 1 s, an average interval between SWDs of at least 0.4 s, and a duration of the series of SWDs of at least 2 s. Seizures were identified when at least half of the channels showed a series of SWDs. However, if this condition was not met for a short period of <2 s, then the algorithm ignored the gap. In this way, seizures were not split into pieces in case of brief fluctuations in the SWD pattern. The minimum duration for seizure was set at 3 s.

Detected seizures were used to compute the seizing time fraction in activity or rest episodes as the ratio of time spent in seizure over the whole duration of the episode. A seizing state function was defined as having a value of 1 during a seizure and 0 in the interictal periods.

Statistical analysis

Comparisons were based on the Student's *t*-test, considering means and standard deviations (unpaired two-sided *t*-test). Correlations were tested using the Fisher *z*-test on the Spearman correlation coefficient since the underlying distributions of durations were not Gaussian. Peri-event graphs were computed by aligning all occurrences of the events, such as activity–rest transition, seizure

initiation, or termination. For each time delay around the reference event, we computed the mean and SEM of the observed signal. Signal processing and statistical analyzes were performed with LabVIEW (National Instruments).

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors without undue reservation.

Results

The activity of GAERS rats was continuously monitored for several days. Our protocol recorded 16,481 seizures ($n=8$ rats, 939 h total recording time), which were consistent across animals. The activity level of these animals was simultaneously recorded and compared to control non-epileptic Wistar rats following the same recording procedure ($n=12$ rats, total 1,288 h).

Activity and rest in GAERS and control animals

We wished to test whether activity and rest could show a temporal relationship to seizures. As detailed in the Methods section, we considered three criteria to estimate the activity/rest state of the animal: motion of the head sensed by an accelerometer, tonus of the neck, and eye motion estimated from electromyograms of corresponding muscles. For each criterion, we quantified the power intensity of the signal at each point in time. During activity, these signals show a sharp rise above the baseline that is observed when the animal is idle (Figure 1). We could determine the time windows of activity and rest by applying a thresholding procedure to these activity markers.

These three criteria measure some aspects of activity and rest, which should overlap most of the time but not always. For example, an animal may remain motionless (ACCEL at rest state) for some time while otherwise alert, showing active EMG when neck muscles maintain head position. Yet, recordings showed that the criteria matched most of the time. We quantified this observation over all our recordings by counting the fraction of time one criterium is in active or rest state versus another criterium (Table 1). Most often (81.5–88.6% of the time), any two criteria matched, being simultaneously in the active or rest state.

We compared the initiation and termination of activity according to our criteria (Figure 2; Table 2). Pairwise comparison between any two criteria showed marked peak probability at a latency of <30 s. In Wistar, activity beginning and end have a similar sequence: ACCEL is the first, followed after 13–27 s by EMG and EOG, which are in a short succession (–2 to 3 s). In GAERS, activity starts with a 29 s sequence of almost equally spaced ACCEL, EMG, and EOG. Activity ends in a shorter sequence (11 s), in the order EOG, ACCEL, and EMG.

We measured the time an animal spends continuously in an active or resting state and the overall fraction of time in the two states (Table 3). Numbers were consistent across criteria, with both GAERS and controls spending a larger fraction of time in rest (54.7–66.5%) than in activity (33.5–45.3%), with longer continuous episodes of rest (28.3–35.6 min) than activity

TABLE 1 ACCEL/EMG/EOG match in fraction of time (AVG ± SD).

GAERS, % time, n = 8 recordings			Match	Wistar, % time, n = 12 recordings			Match
	EMG on	EMG off			EMG on	EMG off	
ACCEL on	31.8 ± 7.9	1.6 ± 1.7	88.6 ± 5.6	ACCEL on	30.5 ± 3.9	2.8 ± 1.9	86.4 ± 4.8
ACCEL off	9.9 ± 6.5	56.8 ± 9.3		ACCEL off	10.8 ± 5.6	55.9 ± 6.7	
ACCEL on	24.9 ± 7.6	8.4 ± 6.6	83.7 ± 6.9	ACCEL on	28.5 ± 4.0	4.7 ± 3.1	86.1 ± 4.6
ACCEL off	7.9 ± 4.7	58.8 ± 9.5		ACCEL off	9.2 ± 5.0	57.5 ± 3.7	
EMG on	28.0 ± 8.3	13.7 ± 8.7	81.5 ± 8.7	EMG on	31.8 ± 5.4	9.5 ± 5.5	84.6 ± 5.9
EMG off	4.8 ± 4.8	53.5 ± 10.7		EMG off	5.9 ± 3.8	52.8 ± 7.0	

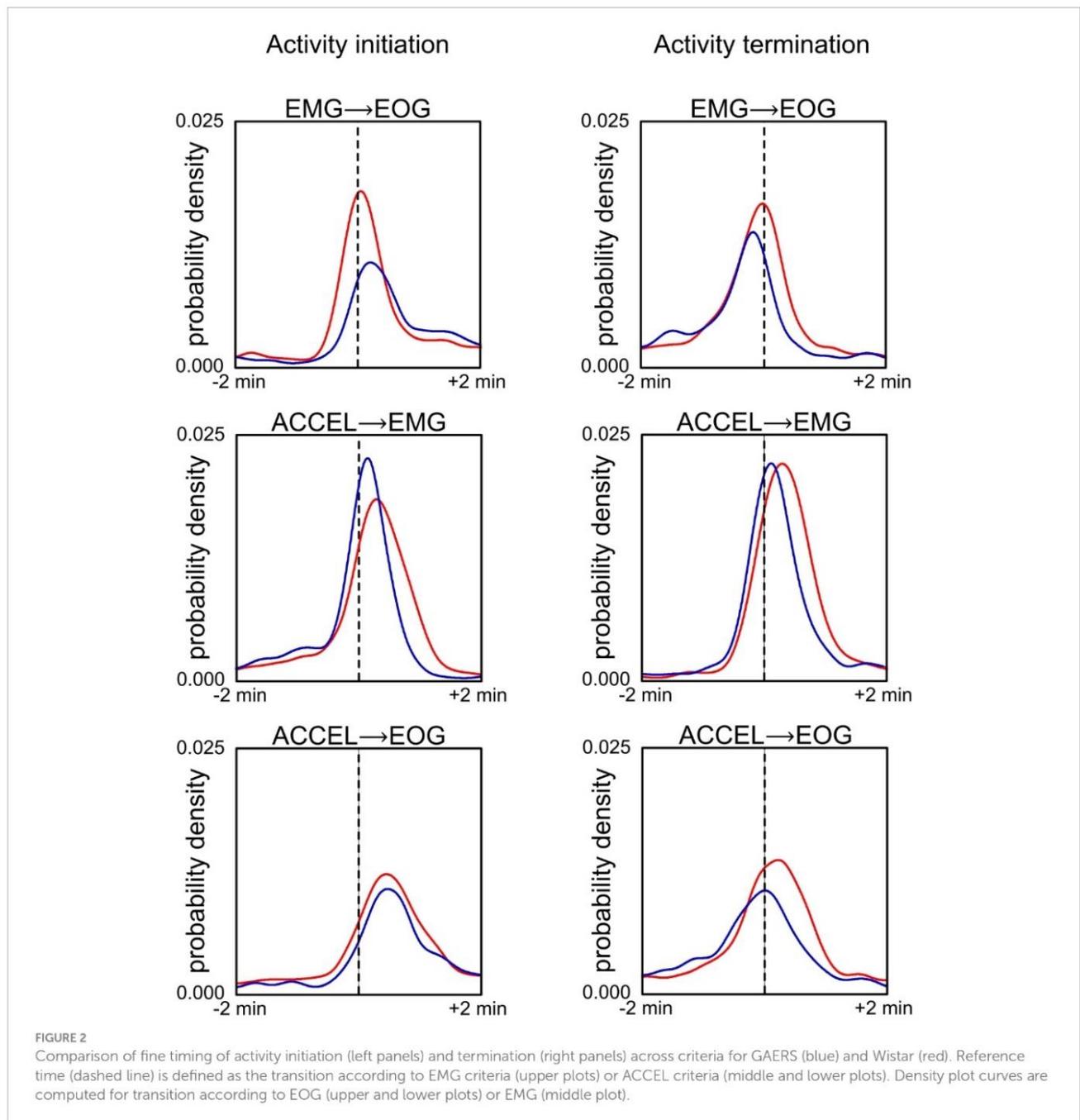


TABLE 2 Delay of the peak probability density function for activity initiation and termination.

		Start delay (s)			End delay (s)		
		Half height before	pdf peak	Half height after	Half height before	pdf peak	Half height after
Wistar	EMG → EOG	-18	3	27	-32	-2	22
	ACCEL → EMG	-9	17	52	-11	18	49
	ACCEL → EOG	-5	27	68	-24	13	49
GAERS	EMG → EOG	-10	13	44	-36	-11	10
	ACCEL → EMG	-12	8	31	-17	7	32
	ACCEL → EOG	0	29	60	-40	1	34

For the curves of Figure 2, we measured the delay in seconds for the half-height before the peak, for the peak, and for the half-height after the peak.

TABLE 3 Time in activity and rest.

		GAERS activity	GAERS rest	Wistar activity	Wistar rest
ACCEL	min	20.9 ± 18.9, n = 988	35.6 ± 31.3, n = 996	15.3 ± 13.5, n = 1,687	30.1 ± 28.4, n = 1,699
	%	36.3 ± 4.6, n = 8	63.6 ± 4.6, n = 8	33.5 ± 3.5, n = 12	66.5 ± 3.5, n = 12
EMG	min	27.6 ± 25.4, n = 938	32.0 ± 29.4, n = 946	20.3 ± 17.6, n = 1,566	28.3 ± 27.4, n = 1,578
	%	45.3 ± 7.0, n = 8	54.7 ± 7.0, n = 8	41.6 ± 7.6, n = 12	58.4 ± 7.6, n = 12
EOG	min	20.0 ± 18.8, n = 1,020	34.5 ± 32.0, n = 1,028	19.8 ± 17.1, n = 1,476	32.0 ± 31.5, n = 1,488
	%	35.9 ± 8.9, n = 8	64.1 ± 8.9, n = 8	38.0 ± 5.5, n = 12	62.0 ± 5.5, n = 12

Duration of episodes of activity and rest in minutes, AVG ± SD. Fraction of time (%) across a recording.

(15.3–27.6 min). We compared the duration of continuous episodes between GAERS and control (Figure 3). Unlike the overall fraction of time spent at rest and in activity, which did not differ between the two groups, the duration of continuous episodes was significantly longer for the GAERS group compared to the control group (one-sided Student's *t*-test, ACCEL activity $t = 8.242$, $p < 0.001$; ACCEL rest $t = 4.539$, $p < 0.001$; EMG activity $t = 7.742$, $p < 0.001$; EMG rest $t = 3.138$, $p < 0.001$; EOG rest $t = 1.982$, $p < 0.025$), except for EOG activity. Thus, for most criteria, the GAERS group showed less fragmented patterns of activity and rest while keeping the same overall fraction of time in active and rest states. When we combine the three criteria for continuous episodes, we obtain a simplified overview of 22.8 vs. 18.5 min for activity and 34.0 vs. 30.1 min for rest, for GAERS vs. Wistar, respectively.

Since the duration of an episode could be influenced by the previous one, as in sleep inertia (31), the relationship between the duration of a period of activity (respectively rest) and the preceding period of rest (respectively activity) was explored in Table 4. In both Wistar and GAERS strains, correlation coefficients (Pearson's *R*) range from -0.045 to 0.101, meaning that the duration of one period has little effect on the duration of the next, explaining less than 10% of its variance. Despite their low values, we found correlations to be significantly non-null, mostly for GAERS ($p < 0.05$), but not for Wistar (*z*-test on Spearman's ρ).

Seizures in activity and rest

Given that GAERS and control rats exhibit distinct activity and rest patterns, we wondered whether this particularity of the GAERS

rat could be linked to seizure generation. Thus, we explored the occurrence of seizure in relation to the activity–rest cycle. First, taking into account both seizures occurring during activity and rest, we computed the distribution of seizure durations and the distribution of intervals between consecutive seizures (Figure 4, upper part). As expected, these two variables showed a steady decline for larger times (Figure 4; duration: 12.7 ± 12.0 s, AVG ± SD, $n = 16,481$ seizure; interval: 3.2 ± 9.5 min, AVG ± SD, $n = 16,473$). More specifically, the median seizure duration was 9 s, 95% of seizures were shorter than 36 s, and 99% were shorter than 60 s. We also computed these two distributions relative to time spent rather than a count of events (Figure 4, bottom part). Thus, half of the seizure time was spent in seizures shorter than 18 s, 95% of time in seizures shorter than 65 s, and 99% of time in seizures shorter than 102 s. The median value for seizure interval was 39 s, 95% were shorter than 14.8 min, and 99% were shorter than 36 min. Half of the non-seizing time was spent in intervals shorter than 13.1 min. Thus, while the intervals between seizures are typically several minutes, which is in the range of the duration of activity and rest episodes, seizures are, on the contrary, typically shorter than a minute, which is much shorter than continuous episodes of activity or rest.

How do seizures compare between activity and rest periods? In GAERS rats, we compared the duration of seizures and the overall fraction of time spent seizing in activity and rest (Table 5). Seizure length is slightly yet significantly shorter during activity compared to rest using ACCEL and EOG criteria (11.8 ± 10.4 s vs. 13.4 ± 13.2 s, $p < 0.001$; 10.4 ± 9.8 s vs. 14.2 ± 13.0 s, Student $p < 0.001$), but not EMG. The fraction of time spent seizing is also slightly but significantly shorter during activity compared to rest using ACCEL and EOG ($7.5 \pm 8.2\%$ vs. $8.4 \pm 12.4\%$, $p < 0.03$; $5.4 \pm 6.8\%$ vs. $8.2 \pm 10.5\%$, Student $p < 0.001$). However, the seizing time fraction was longer in activity compared to rest using the EMG criteria ($8.2 \pm 9.2\%$ vs. $6.0 \pm 10.3\%$,

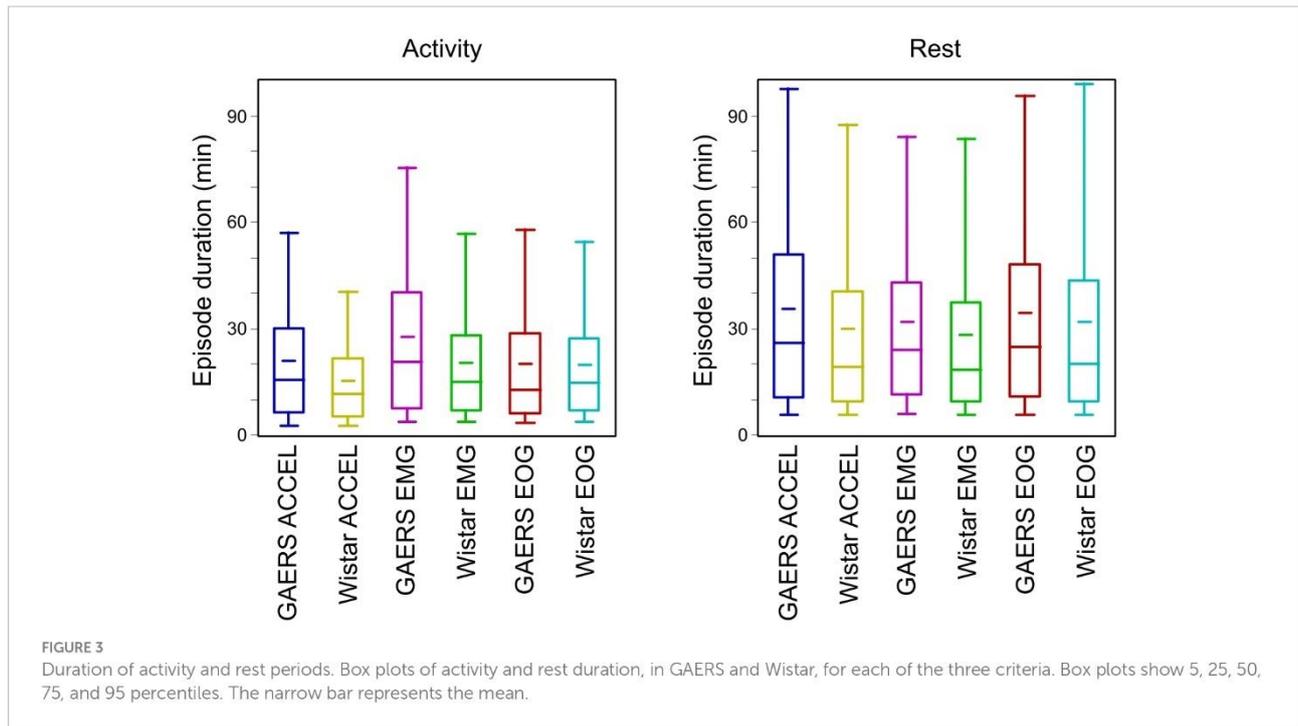


FIGURE 3 Duration of activity and rest periods. Box plots of activity and rest duration, in GAERS and Wistar, for each of the three criteria. Box plots show 5, 25, 50, 75, and 95 percentiles. The narrow bar represents the mean.

TABLE 4 Correlation between the duration of consecutive rest and activity periods.

	ACCEL				EMG				EOG			
	R	n	ρ	p	R	n	ρ	p	R	n	ρ	p
Wistar rest vs. previous activity	0.013	1,687	0.040	0.098	-0.045	1,566	-0.048	0.056	-0.008	1,476	0.003	0.941
Wistar activity vs. previous rest	0.028	1,699	0.021	0.394	-0.004	1,578	-0.020	0.425	0.033	1,488	0.030	0.241
GAERS rest vs. previous activity	0.080	988	0.081	0.011	0.078	938	0.121	<0.001	0.078	1,020	0.132	<0.001
GAERS activity vs. previous rest	0.072	996	0.121	<0.001	0.101	946	0.179	<0.001	0.065	1,028	0.121	<0.001

Pearson's coefficient, n, Spearman's ρ , and p-value for z-test $\rho \neq 0$.

Student $p < 0.001$). This difference between criteria could be caused by the occasional criteria mismatch (Table 1) or by the delays in transition times (Figure 2).

We then wondered whether the seizing time fraction in one phase (activity or rest) was significantly influenced by the seizing time fraction in the previous phase (respectively, rest or activity). To do this, we compared the seizing time fraction of consecutive periods in the cycle of activity and rest (Table 6). All six correlation coefficients were significantly non-null (z-test on Spearman's ρ). The correlation coefficients (R) were all positive and similar for the three criteria between the seizing fractions in rest and in the

preceding activity, and in the range of 0.233–0.360. The correlation coefficients were smaller and in the range of 0.073–0.167 between the seizing fraction in activity and in the preceding rest. We compared the pairs of correlation coefficients (rest vs. activity and activity vs. rest) for each of the three criteria and found the difference to be significant for ACCEL and EMG but not for EOG (z-test on Spearman's ρ : ACCEL: $p < 0.001$; EMG: $p < 0.001$; EOG: $p = 0.034$). Thus, at least when ACCEL and EMG are considered, the fraction of time spent seizing in activity explained more variance of the fraction of time seizing in the following rest period than the other way around.

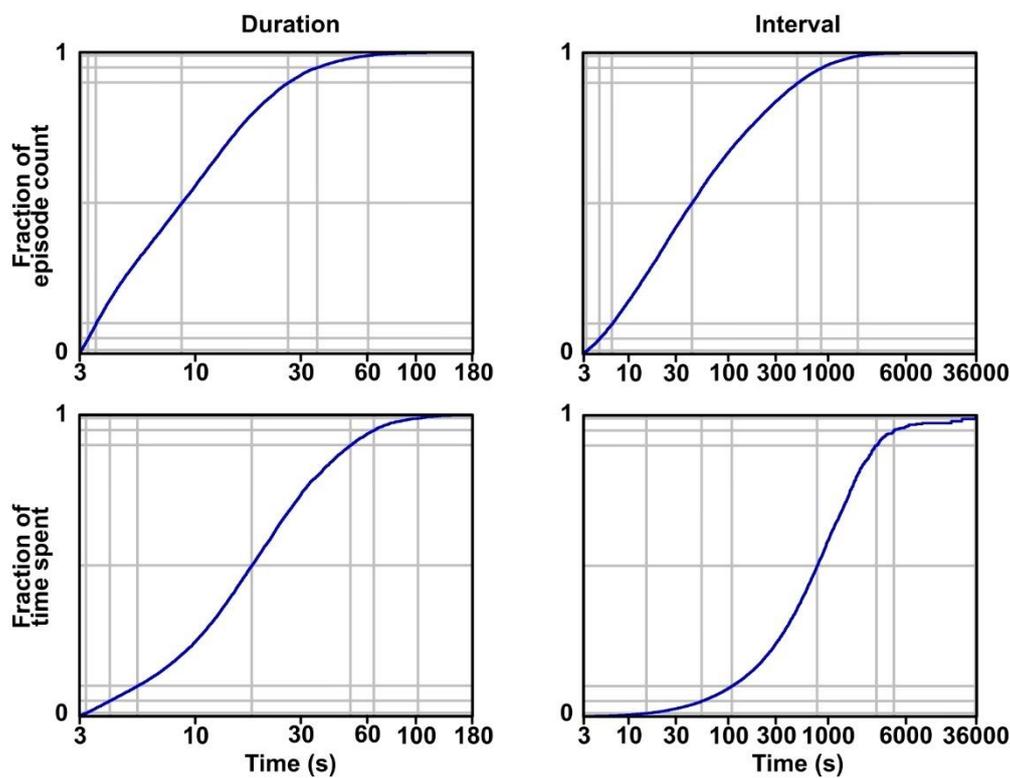


FIGURE 4
Distribution of seizure duration and interval. Cumulative distributions are shown in terms of the count of events (A) and time spent (B). Soft gray lines show the 1, 5, 25, 50, 75, 95, and 99 percentiles from bottom to top.

Relation between seizure and activity markers

Since electrographic absence seizures in GAERS are known to be associated with freezing behavior, we quantified the effect of seizure on our activity markers (Figure 5). We aligned the data on seizure, either initiation or termination, to compute the average time course of the power signal on ACCEL, EMG, and EOG over a time window of ± 90 s. Only time windows with a single seizure were used so that statistics were not biased by seizures occurring at short interval. All three activity markers showed a similar profile between the initiation and termination of seizure, with a decrease in their power. The effect was strong for ACCEL, moderate for EMG, and weak for EOG (respectively peaking down to 0.12, 0.62, and 0.76 of baseline during initiation and down to 0.12, 0.61, and 0.83 of baseline at termination). Delays relative to the onset of seizure were also distinct, with respective significance ($p < 0.01$) in the range -15 to $+19$ s, -5 to $+41$ s, $+17$ to $+48$ s for initiation, and -30 to $+1$ s, -20 to $+26$ s, -7 to $+40$ s for termination, for ACCEL, EMG, and EOG, respectively. Interestingly, ACCEL and EMG power showed a significant decrease before seizure onset, suggesting that seizure is not causal to the freezing behavior. The EOG slight decrease in activity displays a different timing, occurring rather outside of the seizing period.

Seizure occurrence depends on recent seizure state

One of the parameters likely to influence the next occurrence of an epileptic seizure, in any phase, is the number of recent past seizures. Indeed, it has been known for decades (32) that seizures can show a palette of temporal distribution, from time-independent process (Poisson) to non-Poisson process exhibiting seizure clusters. In our recordings, seizures seemed to occur as a non-time-independent process (Figure 6). This was most visible when seizures were marked as a pair of dots for duration and interval, which showed patterns previously coined as “palisade” in seizures observed in epileptic patients (33). These patterns correspond to clusters of seizures of varying length coming in short succession, interspersed with variable and sometimes prolonged interictal periods (Figure 6A).

In order to quantify seizure clustering, we measured the probability of being in a state of seizure at any time t before or after being in a seizure state at a reference time $t = 0$. First, we estimated the probability of being in a state of seizure originating from the same seizure that was present at $t = 0$. Then we estimated the probability of seizing at time t due to the seizure at $t = 0$ or any other seizure. By subtracting the two, we obtained the probability of seizing at time t from a seizure distinct from the one at $t = 0$. If seizures were to occur independently, this

TABLE 5 Time spent in seizure during activity and rest.

	Activity	Test	Rest
ACCEL			
Duration (s)	1,248 ± 1,129		2,124 ± 1879
Seizing time (s)	88 ± 120		120 ± 156
Seizing fraction (%)	7.5 ± 8.2	$p < 0.03$	8.4 ± 12.4
<i>n</i> period	1,004		1,009
Seizure duration (s)	11.8 ± 10.4	$p < 0.001$	13.4 ± 13.2
<i>n</i> seizure	7,409		9,072
EMG			
Duration (s)	1,646 ± 1,517		1904 ± 1764
Seizing time (s)	137 ± 196		82 ± 124
Seizing fraction (%)	8.2 ± 9.2	$p < 0.001$	6.0 ± 10.3
<i>n</i> period	954		959
Seizure duration (s)	12.7 ± 11.8	NS	12.6 ± 12.4
<i>n</i> seizure	10,532		5,949
EOG			
Duration (s)	1,197 ± 1,126		2067 ± 1928
Seizing time (s)	67 ± 94		133 ± 191
Seizing fraction (%)	5.4 ± 6.8	$p < 0.001$	8.2 ± 10.5
<i>n</i> period	1,036		1,043
Seizure duration (s)	10.4 ± 9.8	$p < 0.001$	14.2 ± 13.0
<i>n</i> seizure	6,665		9,816

Duration of activity and resting periods using the 3 criteria ACCEL, EMG, EOG. Time in seizure in activity and rest. Ratio of time spent seizing in activity and rest periods. Distribution of fraction of time seizing. One-sided Student's *t*-test.

TABLE 6 Seizing fraction correlation between consecutive activity and rest periods.

	ACCEL				EMG				EOG			
	R	<i>n</i>	ρ	<i>p</i>	R	<i>n</i>	ρ	<i>p</i>	R	<i>n</i>	ρ	<i>p</i>
Rest vs. previous activity	0.287	998	0.386	<0.001	0.360	947	0.541	<0.001	0.233	1,029	0.399	<0.001
Activity vs. previous rest	0.073	1,002	0.235	<0.001	0.166	951	0.337	<0.001	0.167	1,035	0.318	<0.001

Pearson's coefficient, *n*, Spearman's ρ , and *p*-value for *z*-test $\rho \neq 0$.

probability should be flat, except for intervals on the order of magnitude of the duration of a seizure (12.7 ± 12.0 s). Indeed, the simple fact that seizures have a non-null duration prevents the short-term occurrence of a distinct seizure. This time window of reduced occurrence of distinct seizure corresponds to the upward peak observed in the upper probability curve and the downward peak at zero in the lower probability curve (Figure 6B). We observed that the empiric probability of a distinct seizure flattens as expected for long intervals, above 5–10 min, indicative of time independence only for large intervals. Yet we found significant changes ($p < 0.01$) in the interval -4.25 to $+4.25$ min, which suggests that seizures tend to cluster in increased seizing bouts of more than 4 min.

Seizure occurrence at transition from active to rest state

Finally, we wondered whether there was a temporal relationship between the occurrence of seizure and the activity/rest cycle. We aligned data on the transition time from activity to rest and from rest to activity, determined according to one or other of the three criteria. We could thus estimate the average, over all our recordings, of the seizure state function, which values 1 during a seizure and 0 in the interictal period, over a time window of 4 min before and 10 min after each transition. As a comparison, we also computed the average power in the continuous signals used to detect activity periods (ACCEL, EMG, and EOG) (Figure 7).

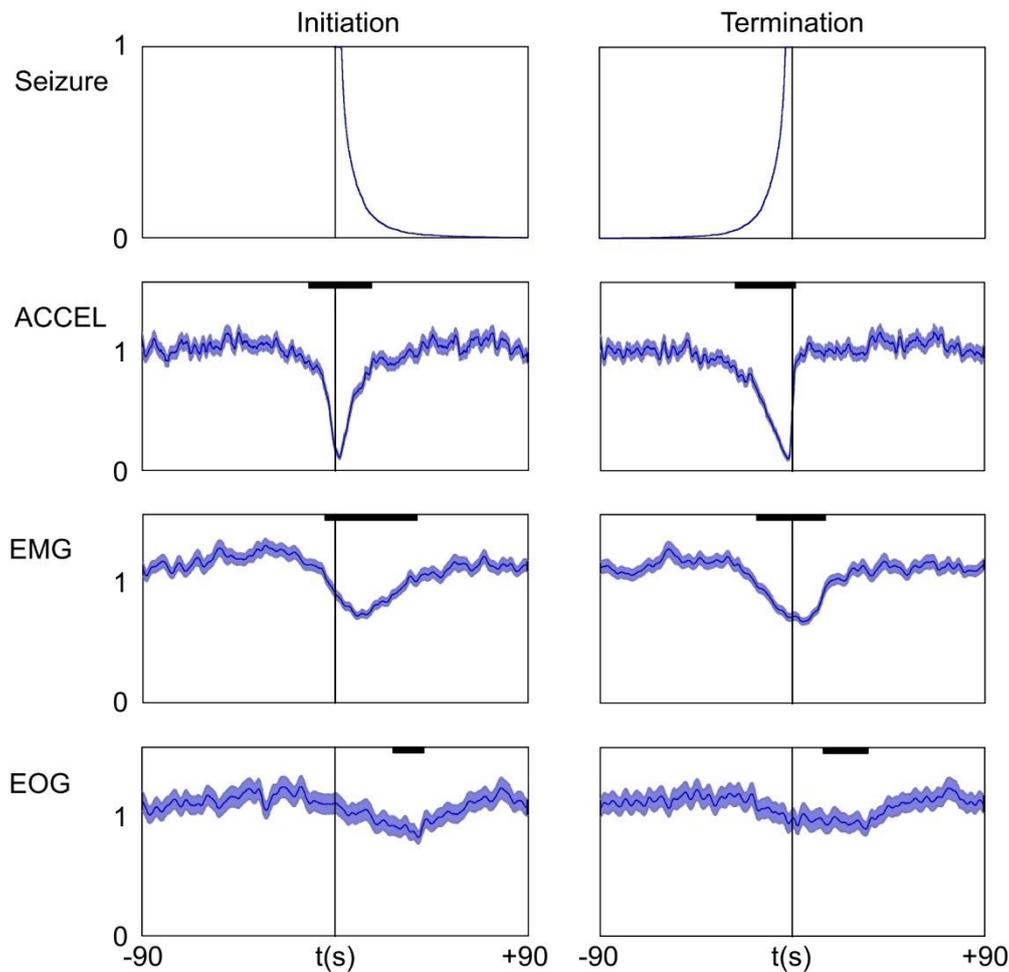


FIGURE 5

Short-term effect of seizure on activity and power signals. Data were aligned on seizure initiation (left) or termination (right). Upper plot shows the average of the seizing function. For clarity of interpretation, only time windows with a single seizure were used. Below: ACCEL/EMG/EOG power average \pm SEM. For better time accuracy, power was smoothed with a shorter time constant of $\tau = 1$ s. Significant effects (bold black lines) last tens of seconds ($p < 0.01$).

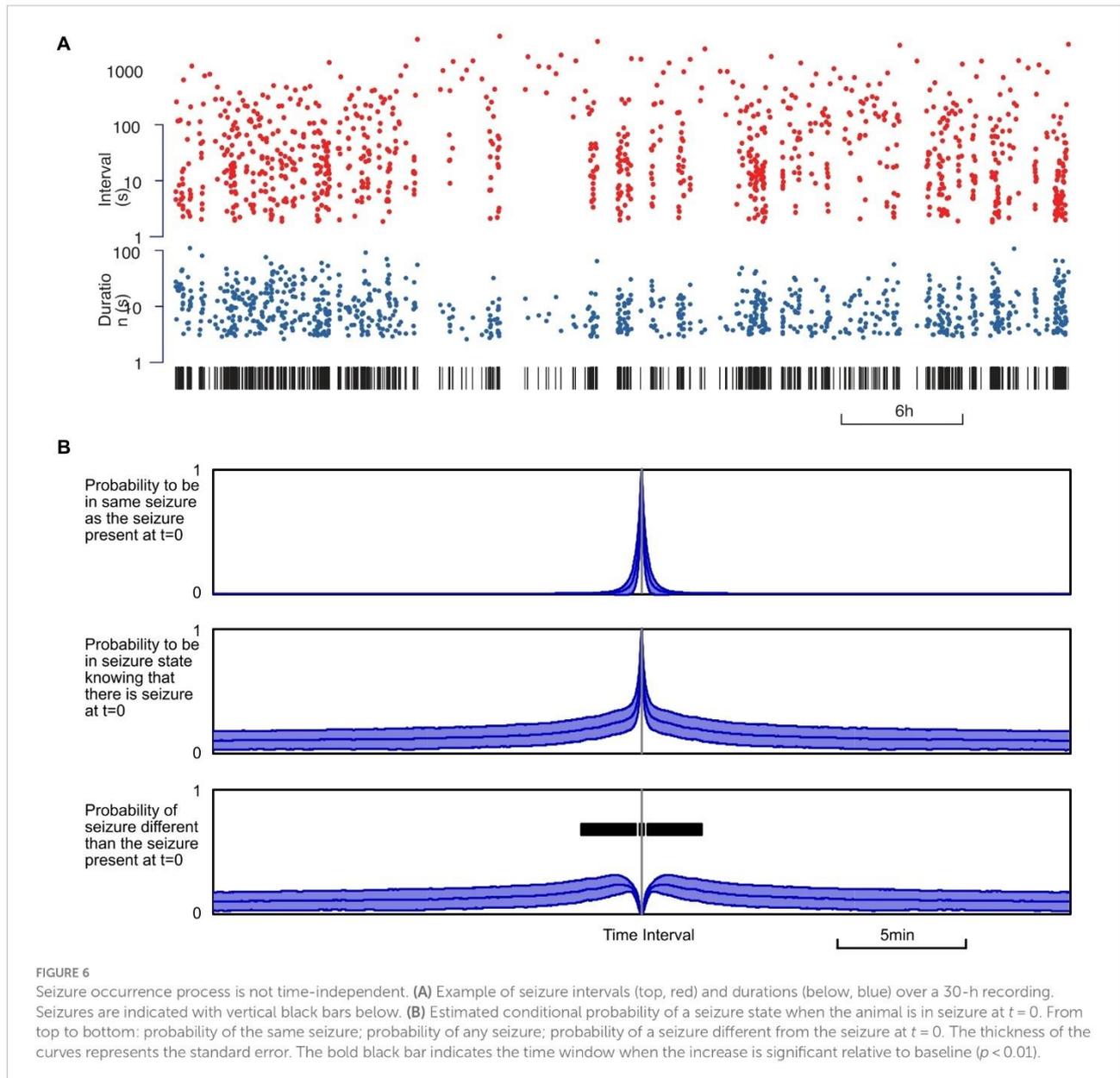
We found a strong and prolonged increase in seizure density at the transition from activity to rest (ACCEL: from -20 s to $+4.4$ min, $p < 0.01$ $n = 998$, peaking at 0.343 from a baseline at 0.077; EMG: from -29 s to $+2.4$ min, $p < 0.01$ $n = 949$, peaking at 0.363 from a baseline at 0.088; EOG: from -34 s to $+6.0$ min, $p < 0.01$ $n = 1,030$, peaking at 0.230 from a baseline at 0.058). Thus, seizure fraction increased by 4.5 \times , 4.1 \times , and 4.0 \times for ACCEL, EMG, and EOG criteria, respectively. A minor dip in seizing time fraction was observed before transition time only for ACCEL (from -39 s to -27 s, $p < 0.01$ $n = 998$, trough at 0.023 from a baseline at 0.077).

At the transition from rest to activity, we found a small dip in seizure fraction average according to ACCEL and EOG criteria (ACCEL: from 14 s to 56 s, $p < 0.01$ $n = 998$, trough at 0.044 from a baseline at 0.077, a 43% decrease; EOG: from -16 s to -71 s, $p < 0.01$ $n = 1,033$, trough at 0.026 from a baseline at 0.079, a 67% decrease). A minor increase observed for the EMG criteria was not significant. A minor increase was observed just prior to the transition for the ACCEL criteria (from -32 s to -4 s, $p < 0.01$ $n = 1,033$, peaking at 0.125 from a baseline at 0.077).

These results suggest that seizures tend to accumulate at the transition from activity to rest and are slightly less frequent at the transition from rest to activity. This observation was further supported when we computed the distribution of seizing fraction in a time window of 1 min centered on activity/rest transitions and on distant time points used as comparison (Figure 7B). The transition from activity to rest stands out as having about half the proportion of complete absence of seizure (null fraction) and an enhanced contribution of larger seizing fractions.

Discussion

In this study, we compared markers of activity and rest between absence epilepsy and control rats, and we analyzed the temporal pattern of seizure in relation to activity and rest. The three markers that we used (ACCEL, EMG, and EOG) were consistent and showed transition times between activity and rest that matched within half a minute. Epileptic and control animals exhibited the same proportion



of activity and rest. The duration of continuous episodes of activity and rest were on the order of tens of minutes and were longer in the epileptic animal than in control. Seizures were typically much shorter than periods of activity or rest, lasting less than a minute. On average, a single seizure occurred concomitantly with a partial and transient decrease in the power of activity marker signals. Spontaneously occurring seizures tended to come in clusters, corresponding to a time window of around 4 min. Seizing time fraction was found to be increased by more than 4-fold at the transition from activity to rest.

Relevant criteria for determining behavioral state

In this study, we have chosen to compare seizure occurrence with the global level of activity, rather than circadian rhythm or vigilance states (19, 34). Despite extensive efforts, these authors could not

predict seizure occurrence based on the pre-seizure state. Similarly, no clear link between circadian rhythms and seizure onset could be identified. Our rationale was that lab rodents have only partial coupling to circadian rhythms and that extensive distinction between the different resting states (quiet wakefulness and sleep stages) could blur the overall picture. Furthermore, in humans, absence epilepsy triggers gaps in consciousness, including loss of environmental awareness and interruptions in behavior, and we wanted to use this solid behavioral marker as a starting point for our analysis. For this reason, we considered behavioral activity parameters *en bloc* to detect periods of activity, and all remaining periods were considered as rest.

Our markers for activity were overall consistent (Table 1), with a good match for phase start and end (Figure 2; Table 2). Differences between any two criteria for activity may correspond to specific behaviors, for example, alert immobile posture (ACCEL low with EMG and EOG high), relaxed head (EMG low and EOG high), or relaxed gaze (EOG low and EMG high) during wakefulness, postural

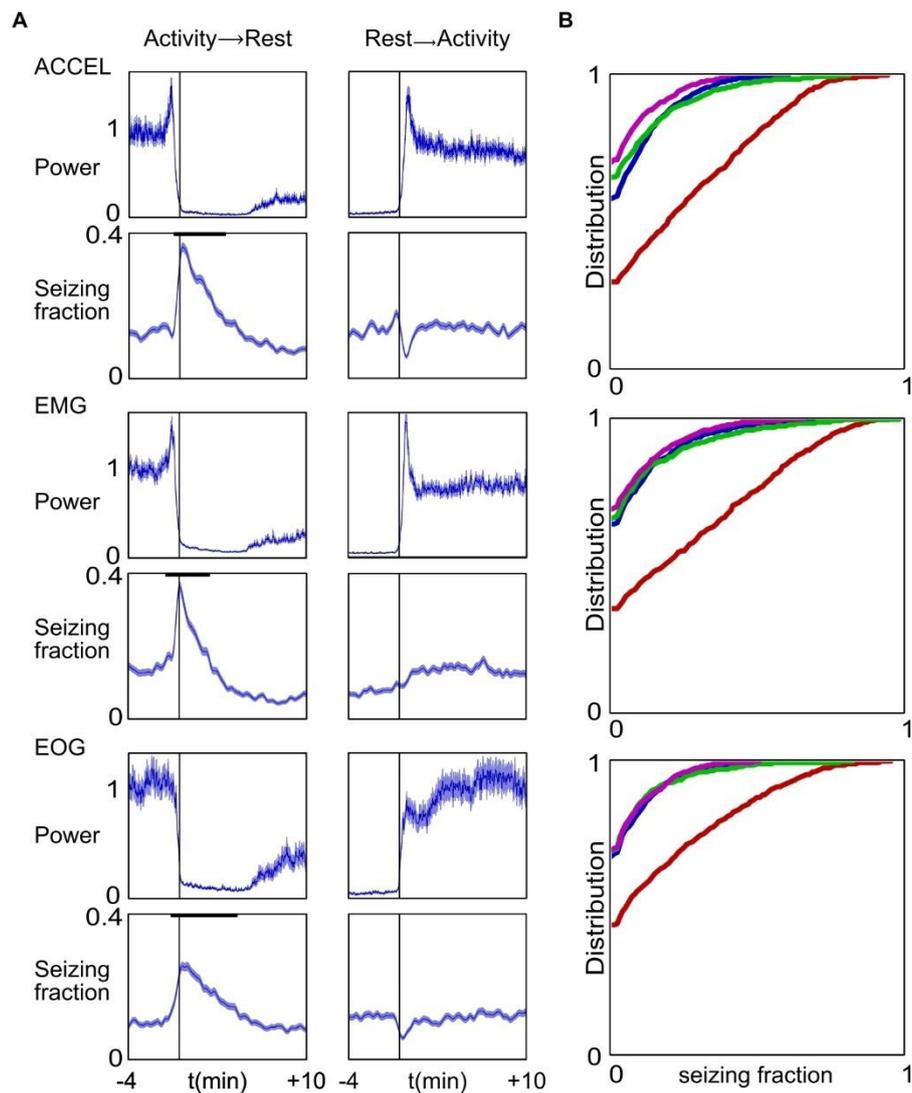


FIGURE 7

Increased fraction of time spent seizing around transition time from activity to rest. (A) Top to bottom panels represent the same computation for ACCEL, EMG, and EOG, respectively. Data were aligned on the reference transition time (left, activity to rest; right, rest to activity). In each panel, upper plots show the mean and SEM of the corresponding power signal, normalized as 1 for baseline values. Lower plots show the mean \pm SEM of the seizing function. Bold black lines indicate windows of significant variation at $p < 0.01$. (B) Cumulative distribution of seizing fraction in a 1-min interval centered around transition from activity to rest (red), transition from rest to activity (blue), activity midpoint (green), and activity maximum (pink).

shift motion during sleep (ACCEL high and EMG low), or eye movement in paradoxical sleep (EOG high with EMG and ACCEL low). Our criteria were therefore precise and could reveal subtle behavioral differences. Yet in this study, we did not try to correlate them systematically with behavior, and we used them mainly so that their common activity or inactivity allowed us to represent activity and rest phases in a binary way.

Candidate mechanisms that could explain the seizure pattern

The pattern of occurrence of seizures constrains the candidate mechanisms of their generation and sheds light on the physiological processes that epilepsy may build upon.

The first major element that we discovered in this model of absence seizure is the clustering pattern on a time scale of around 4 min, which suggests that a specific mechanism generating bursts of seizures modulates ictogenesis. This duration is much longer than the average seizure, implying that seizures are not merely independent events, each with their sole generation process, although there are mechanisms at this time scale (34, 35). Rather, seizures appear to ride upon a more massive underlying mechanism of “epileptic storm,” carrying a series of seizures and short lulls. This underlying mechanism responsible for seizure burst generation (SBG) lays at an intermediate level between those of ictogenesis, on the scale of a few tens of seconds, and epileptogenesis, on the scale of days to months. In addition to the distinct time scales, the observation that many seizures occur without eliciting rest and that lone seizure have only a limited effect on some activity markers (Figure 5), while the transition

from activity to rest is associated with a strong and prolonged increase in seizing fraction in line with seizure bursts (Figure 7), further supports the existence of a specific mechanism for SBG.

Our second major observation, that seizing increases strongly at transitions from activity to rest, suggests that SBG is linked to circuits of the activity/rest cycle, a component of metabolic homeostasis. Studies on the WAG/Rij model have reported that SWDs tend to occur in transitional states, around sleep onset and awakenings (18). Our study confirms the importance of transitional states in seizure generation, suggesting that cerebral state switching networks, comprising thalamus, striatum, or brainstem nuclei, could be dysfunctional or not timely activated, as hypothesized in WAG/Rij (36). Our data further show that the activity–rest transition is not symmetrical in the GAERS model, where the occurrence of seizures was particularly prevalent at the time of the transition from activity to rest (Figure 7). Indeed, from activity to rest, the maximum amplitude of the seizing fraction increased by 4–4.5 times and remained significant for time windows in the range of 2.9–6.5 min, depending on the criteria (Figure 7A). On the other hand, the transition from rest to activity showed an opposite yet smaller effect on seizing fraction, consisting mainly in a decrease for two of the three criteria, in the range of 43–67%, over a window of 0.7–1.3 min. While transition from activity to rest occurs without seizure in a 1-min time window (null seizing fraction) in 30–45% of cases, depending on activity marker, this is about half the cases observed at distant time points from the transition (Figure 7B). This implies that seizing is not mandatory for the transition from activity to rest but is a strong, specific correlate.

Our third finding, that GAERS have prolonged periods of activity and rest compared to controls, suggests that their circuits that are supposed to trigger a cessation of activity either do not detect when rest is needed or are inefficient at triggering rest. Such pathways of central fatigue include complex multifactorial mechanisms based on monoamines and cytokines (37), which play a key role in wake/sleep switching and global metabolic homeostasis. Indeed, we expected that GAERS would show more frequent rest periods due to the freezing behavior observed during electrographic seizures. Rather, isolated seizures only transiently reduce some markers of activity. Mechanisms underlying SBG appear to be a more likely link between absence seizure and rest debts. Thus, the global picture emerging from our data suggests that GAERS have a deficiency in the mechanisms of pausing activity when fatigue accumulates. A subsequent fallback mechanism lasting a few minutes could force the brain network to rest. The corresponding delayed switch to rest is associated with an increased occurrence of seizures. This conceptual framework may help redirect research into the treatment of absence epilepsy toward rescuing resting triggers rather than blocking seizures since seizures may be more than just a symptom but rather a beneficial aid to resetting cerebral dynamics (38, 39) and metabolic status.

Seizure clusters and seizure precursor signs

Our results show that seizures in GAERS do not occur as a time-independent (Poisson) process. Rather, our observations suggest that seizure occurrence is controlled both by a reflexive effect from the past history of seizure and by an external influence from the activity/rest cycle.

While the concept of seizure cluster has always belonged to the vocabulary of clinical epileptology, it is not associated with absence epilepsy but rather is used for *grand mal*, i.e., tonic–clonic, focal, or idiopathic generalized epilepsy, where it represents an acute clinical episode of deterioration in seizure control (7, 40). Indeed, there is a history of research in the regularities and forecasting of *grand mal* seizure, aiming at alleviating the burden of the disease, using automatic signal processing on the EEG made possible by the progress in microelectronics, at least since the 1970s (41, 42). The rationale is that seizures may build up progressively before onset through progressive synchronization of assemblies of neurons, which in some patients corresponds to anticipatory symptoms such as auras (43) and thus could be detected from the EEG, even without patient notice. A major conceptual step was introduced in the 1980s, when the problem was approached with theoretical tools developed in the frame of the physics of non-linear dynamic systems (44–47), which established both the principle of predictability horizons and provided qualitative analysis of complex signals such as the EEG. Early studies showed promising scores in terms of sensitivity and specificity, yet rigorous methodological design of evaluation suggested that more developments, in terms of algorithms and statistical approach, and/or by aggregating multimodal sensors such as body parts motion detectors or video monitoring, could help improve practical suitability (48–55). In this context, our study suggests that there is a potential for such a multimodal approach in seizure prediction, although applied to *petit mal*, i.e., absence, non-convulsive epilepsy, which is significantly different from *grand mal*, tonic–clonic epilepsy, most studied in seizure prediction.

In our model of absence epilepsy, the statistical concept of periods with an increased probability of seizing applies to the pattern of seizures on a shorter time scale of minutes rather than days or weeks. Time non-independence is readily visible in the palisade representation (33) when transposed to GAERS seizure trains. Previous physiological studies have found seizure precursor EEG or neurovascular signals a few seconds or at most tens of seconds before seizure onset (19, 34, 35, 56–59). Thus, our approach, taking into account a series of seizures and global behavior, could help find earlier seizure signs. Although absence seizures cannot be considered a point process since seizure have a non-negligible duration in tens of seconds, their duration remains short compared to periods of enhanced occurrence, which count in minutes (Figures 5, 6). Combining all these monitoring approaches could allow future advanced mathematical time-process studies to help predict seizure occurrence over a larger time window of a few minutes.

In conclusion, altered patterns of activity/rest cycle, seizure occurrence clustering, and increased seizing at transition from activity to rest are temporal patterns highlighted in this model of absence epilepsy that open new venues for predicting seizure onset in patients on a time scale allowing immediate therapeutic intervention and directing studies toward the underlying mechanisms of absence epilepsy.

Data availability statement

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Ethics statement

The animal study was approved by Ethics committee Charles Darwin No. 5 and the French Ministry for Research. The study was conducted in accordance with the local legislation and institutional requirements.

Author contributions

HT: Conceptualization, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing, Funding acquisition. REM: Conceptualization, Formal analysis, Investigation, Methodology, Funding acquisition, Writing – original draft, Writing – review & editing. AB: Conceptualization, Formal analysis, Investigation, Methodology, Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing, Funding acquisition. IC: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Funding acquisition, Investigation, Methodology, Project administration, Software, Supervision, Writing – original draft, Writing – review & editing.

References

- Gloor P. Generalized cortico-reticular epilepsies. Some considerations on the pathophysiology of generalized bilaterally synchronous spike and wave discharge. *Epilepsia*. (1968) 9:249–63. doi: 10.1111/j.1528-1157.1968.tb04624.x
- Crunelli V, Leresche N. Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nat Rev Neurosci*. (2002) 3:371–82. doi: 10.1038/nrn811
- Kessler SK, McGinnis E. A practical guide to treatment of childhood absence epilepsy. *Paediatr Drugs*. (2019) 21:15–24. doi: 10.1007/s40272-019-00325-x
- Niedermeyer E. Primary (idiopathic) generalized epilepsy and underlying mechanisms. *Clin Electroencephal*. (1996) 27:1–21. doi: 10.1177/155005949602700103
- Panayiotopoulos CP. Typical absence seizures and their treatment. *Arch Dis Child*. (1999) 81:351–5. doi: 10.1136/adc.81.4.351
- Litt B, Esteller R, Echaz J, D'Alessandro M, Shor R, Henry T, et al. Epileptic seizures may begin hours in advance of clinical onset: a report of five patients. *Neuron*. (2001) 30:51–64. doi: 10.1016/S0896-6273(01)00262-8
- Taubøll E, Lundervold A, Gjerstad L. Temporal distribution of seizures in epilepsy. *Epilepsy Res*. (1991) 8:153–65. doi: 10.1016/0920-1211(91)90084-5
- Horita H, Uchida E, Maekawa K. Circadian rhythm of regular spike-wave discharges in childhood absence epilepsy. *Brain and Development*. (1991) 13:200–2. doi: 10.1016/S0387-7604(12)80032-5
- Jin B, Aung T, Geng Y, Wang S. Epilepsy and its interaction with sleep and circadian rhythm. *Front Neurol*. (2020) 11:11. doi: 10.3389/fneur.2020.00327
- Halász P, Terzano MG, Parrino L. Spike-wave discharge and the microstructure of sleep-wake continuum in idiopathic generalised epilepsy. *Neurophysiol Clin*. (2002) 32:38–53. doi: 10.1016/S0987-7053(01)00290-8
- Gandolfo G, Glin L, Gottesmann C. Study of sleep spindles in the rat: a new improvement. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. (1985) 45:151–62.
- Gandolfo G, Romettino S, Gottesmann C, van Luijckelaar G, Coenen A. Genetically epileptic rats show a pronounced intermediate stage of sleep. *Physiol Behav*. (1990) 47:213–5. doi: 10.1016/0031-9384(90)90063-A
- Sitnikova E, Hramov AE, Grubov V, Koronovsky AA. Rhythmic activity in EEG and sleep in rats with absence epilepsy. *Brain Res Bull*. (2016) 120:106–16. doi: 10.1016/j.brainresbull.2015.11.012
- van Luijckelaar G, Bikbaev A. Midfrequency Cortico-thalamic oscillations and the sleep cycle: genetic, time of day and age effects. *Epilepsy Res*. (2007) 73:259–65. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2006.11.002
- Shouse MN, Siegel JM, Wu MF, Szymusiak R, Morrison AR. Mechanisms of seizure suppression during rapid-eye-movement (REM) sleep in cats. *Brain Res*. (1989) 505:271–82. doi: 10.1016/0006-8993(89)91453-4
- Vanluijckelaar G, Sitnikova E. Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic models. *Neurosci Biobehav Rev*. (2006) 30:983–1003. doi: 10.1016/j.neubiorev.2006.03.002

Funding

The author(s) declare financial support was received for the research, authorship, and/or publication of this article. This study was funded by the Agence Nationale de la Recherche (ANR-20-NEUR-0005 VELOSO) and the Sorbonne Université PhD program Interfaces pour le Vivant (IpV).

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

- Micheletti G, Warter J-M, Marescaux C, Depaulis A, Tranchant C, Rumbach L, et al. Effects of drugs affecting noradrenergic neurotransmission in rats with spontaneous petit mal-like seizures. *Eur J Pharmacol*. (1987) 135:397–402. doi: 10.1016/0014-2999(87)90690-X
- Drinkenburg WHIM, Coenen AML, Vossen JMH, Van Luijckelaar ELJM. Spike-wave discharges and sleep-wake states in rats with absence epilepsy. *Epilepsy Res*. (1991) 9:218–24. doi: 10.1016/0920-1211(91)90055-K
- Smyk MK, Syssoev IV, Syssoeva MV, van Luijckelaar G, Drinkenburg WH. Can absence seizures be predicted by vigilance states?: advanced analysis of sleep-wake states and spike-wave discharges' occurrence in rats. *Epilepsy Behav*. (2019) 96:200–9. doi: 10.1016/j.yebeh.2019.04.012
- Blumenfeld H. Cellular and network mechanisms of spike-wave seizures. *Epilepsia*. (2005) 46:21–33. doi: 10.1111/j.1528-1167.2005.00311.x
- Leresche N, Lambert RC, Errington AC, Crunelli V. From sleep spindles of natural sleep to spike and wave discharges of typical absence seizures: is the hypothesis still valid? *Pflug Arch - Eur J Physiol*. (2012) 463:201–12. doi: 10.1007/s00424-011-1009-3
- Coenen AML, Drinkenburg WHIM, Peeters BWMM, Vossen JMH, van Luijckelaar ELJM. Absence epilepsy and the level of vigilance in rats of the WAG/Rij strain. *Neurosci Biobehav Rev*. (1991) 15:259–63. doi: 10.1016/S0149-7634(05)80005-3
- Sitnikova E, Rutskova EM, Tsvetaeva D, Raevsky VV. Spike-wave seizures, slow-wave sleep EEG and morphology of substantia nigra pars compacta in WAG/Rij rats with genetic predisposition to absence epilepsy. *Brain Res Bull*. (2021) 174:63–71. doi: 10.1016/j.brainresbull.2021.06.003
- Kostopoulos G, Gloor P, Pellegrini A, Gotman J. A study of the transition from spindles to spike and wave discharge in feline generalized penicillin epilepsy: microphysiological features. *Exp Neurol*. (1981). 73:55–77. doi: 10.1016/0014-4886(81)90045-5
- Jarre G, Guillemain I, Deransart C, Depaulis A. Genetic models of absence epilepsy in rats and mice In: A Pitkänen, AS Galanopoulou, PS Buckmaster and SL Moshé, editors. *Models of seizures and epilepsy*. Cambridge, MA: Academic Press (2017). 455–71.
- Akman O, Demiralp T, Ates N, Onat FY. Electroencephalographic differences between WAG/Rij and GAERS rat models of absence epilepsy. *Epilepsy Res*. (2010) 89:185–93. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2009.12.005
- Danober L, Deransart C, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C. Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog Neurobiol*. (1998) 55:27–57. doi: 10.1016/S0301-0082(97)00091-9
- Depaulis A, Charpier S. Pathophysiology of absence epilepsy: insights from genetic models. *Neurosci Lett*. (2018) 667:53–65. doi: 10.1016/j.neulet.2017.02.035
- Depaulis A, David O, Charpier S. The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg as a model to decipher the neuronal and network mechanisms of generalized idiopathic epilepsies. *J Neurosci Methods*. (2016) 260:159–74. doi: 10.1016/j.jneumeth.2015.05.022

30. Polack PO, Guillemain I, Hu E. Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *J Neurosci.* (2007) 27:6590–9. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0753-07.2007
31. Oken BS, Salinsky MC, Elsas SM. Vigilance, alertness, or sustained attention: physiological basis and measurement. *Clin Neurophysiol.* (2006) 117:1885–901. doi: 10.1016/j.clinph.2006.01.017
32. Schomer DL, Lopes Da Silva FH. *Niedermeyer's electroencephalography: Basic principles, clinical applications, and related fields.* 7th ed. Oxford: Oxford University Press (2018).
33. Seneviratne U, Karoly P, Freestone DR, Cook MJ, Boston RC. Methods for the detection of seizure bursts in epilepsy. *Front Neurol.* (2019) 10:156. doi: 10.3389/fneur.2019.00156
34. McCafferty C, Gruenbaum BF, Tung R, Li JJ, Zheng X, Salvino P, et al. Decreased but diverse activity of cortical and thalamic neurons in consciousness-impairing rodent absence seizures. *Nat Commun.* (2023) 14:117. doi: 10.1038/s41467-022-35535-4
35. Roche-Labarbe N, Zaaïmi B, Mahmoudzadeh M, Osharina V, Wallois A, Nehlig A, et al. NIRS-measured oxy- and deoxyhemoglobin changes associated with EEG spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy: the GAERS. *Epilepsia.* (2010) 51:1374–84. doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02574.x
36. Sunstova N, Kumar S, Guzman-Marin R, Alam MN, Szymusiak R, McGinty D. A role for the preoptic sleep-promoting system in absence epilepsy. *Neurobiol Dis.* (2009) 36:126–41. doi: 10.1016/j.nbd.2009.07.005
37. Harrington ME. Neurobiological studies of fatigue. *Prog Neurobiol.* (2012) 99:93–105. doi: 10.1016/j.pneurobio.2012.07.004
38. Good LB, Sabesan S, Iasemidis LD, Tsakalis K, Treiman DM. Brain dynamical disentrainment by antiepileptic drugs in rat and human status epilepticus. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* (2004) 2006:176–9. doi: 10.1109/IEMBS.2004.1403120
39. Iasemidis LD, Shiau DS, Sackellares JC, Pardalos PM, Prasad A. Dynamical resetting of the human brain at epileptic seizures: application of nonlinear dynamics and global optimization techniques. *IEEE Trans Biomed Eng.* (2004) 51:493–506. doi: 10.1109/TBME.2003.821013
40. Jafarpour S, Hirsch LJ, Gainza-Lein M, Kellinghaus C, Detyniecki K. Seizure cluster: definition, prevalence, consequences, and management. *Seizure.* (2019) 68:9–15. doi: 10.1016/j.seizure.2018.05.013
41. Lange HH, Lieb J Jr, Engel J, Crandall P. Temporo-spatial patterns of pre-ictal spike activity in human temporal lobe epilepsy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* (1983) 56:543–55. doi: 10.1016/0013-4694(83)90022-6
42. Viglione SS, Walsh GO. Proceedings: epileptic seizure prediction. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* (1975) 39:435–6.
43. Schulze-Bonhage A, Kurth C, Carius A, Steinhoff BJ, Mayer T. Seizure anticipation by patients with focal and generalized epilepsy: a multicentre assessment of premonitory symptoms. *Epilepsy Res.* (2006) 70:83–8. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2006.02.001
44. Glanz J. Mastering the nonlinear brain. *Science.* (1997) 277:1758–60. doi: 10.1126/science.277.5333.1758
45. Iasemidis LD, Sackellares JC, Zaveri HP, Williams WJ. Phase space topography and the Lyapunov exponent of electrocorticograms in partial seizures. *Brain Topogr.* (1990) 2:187–201. doi: 10.1007/BF01140588
46. Lopes da Silva FH, Pijn JP, Wadman WJ. Dynamics of local neuronal networks: control parameters and state bifurcations in epileptogenesis. *Prog Brain Res.* (1994) 102:359–70. doi: 10.1016/S0079-6123(08)60552-X
47. Martinerie J, Adam C, Le Van QM, Baulac M, Clemenceau S, Renault B, et al. Epileptic seizures can be anticipated by non-linear analysis. *Nat Med.* (1998) 4:1173–6. doi: 10.1038/2667
48. Hubbard I, Beniczky S, Ryvlin P. The challenging path to developing a Mobile health device for epilepsy: the current landscape and where we go from Here. *Front Neurol.* (2021) 12:740743. doi: 10.3389/fneur.2021.740743
49. Iasemidis LD. Epileptic seizure prediction and control. *IEEE Trans Biomed Eng.* (2003) 50:549–58. doi: 10.1109/TBME.2003.810705
50. Iasemidis L, Sabesan S, Good L, Chakravarthy N, Treiman D, Sirven J, et al. SEIZURES | a new look into epilepsy as a dynamical disorder: seizure prediction, resetting and control In: PA Schwartzkroin, editor. *Encyclopedia of Basic Epilepsy Research.* Amsterdam: Elsevier (2009). 1295–302.
51. Meisel C, Loddenkemper T. Seizure prediction and intervention. *Neuropharmacology.* (2020) 172:107898. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.107898
52. Mormann F, Andrzejak RG, Elger CE, Lehnertz K. Seizure prediction: the long and winding road. *Brain.* (2007) 130:314–33. doi: 10.1093/brain/awl241
53. Ramgopal S, Thome-Souza S, Jackson M, Kadish NE, Sánchez Fernández I, Klehm J, et al. Seizure detection, seizure prediction, and closed-loop warning systems in epilepsy. *Epilepsy Behav.* (2014) 37:291–307. doi: 10.1016/j.yebeh.2014.06.023
54. Saboo KV, Cao Y, Kremen V, Sladky V, Gregg NM, Arnold PM, et al. Individualized seizure cluster prediction using machine learning and chronic ambulatory intracranial EEG. *IEEE Trans Nanobioscience.* (2023) 22:818–27. doi: 10.1109/TNB.2023.3275037
55. Snyder DE, Echaz J, Grimes DB, Litt B. The statistics of a practical seizure warning system. *J Neural Eng.* (2008) 5:392–401. doi: 10.1088/1741-2560/5/4/004
56. Lüttjohann A, van Luijtelaar G. Dynamics of networks during absence seizure's on- and offset in rodents and man. *Front Physiol.* (2015) 6:16. doi: 10.3389/fphys.2015.00016
57. Meeran HK, Pijn JP, Van Luijtelaar EL, Coenen AM, Lopes da Silva FH. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci.* (2002) 22:1480–95. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-04-01480.2002
58. Sorokin JM, Paz JT, Huguenard JR. Absence seizure susceptibility correlates with pre-ictal β oscillations. *J Physiol Paris.* (2016) 110:372–81. doi: 10.1016/j.jphysparis.2017.05.004
59. Zheng TW, O'Brien TJ, Morris MJ, Reid CA, Jovanovska V, O'Brien P, et al. Rhythmic neuronal activity in S2 somatosensory and insular cortices contribute to the initiation of absence-related spike-and-wave discharges. *Epilepsia.* (2012) 53:1948–58. doi: 10.1111/j.1528-1167.2012.03720.x

CHAPITRE 3 – ACOUSTO-OPTIQUE : PRINCIPALES AVANCEES POUR UNE OXYMETRIE CEREBRALE IN VIVO

Dans ce chapitre, j'exposerai la démarche expérimentale employée pour mettre en place l'oxymétrie cérébrale *in vivo* par acousto-optique. Je décrirai les premières expériences qui nous ont mis face à la complexité de cette approche puis, dans un manuscrit d'article, je détaillerai par quelles étapes on arrive à une meilleure compréhension de la technique.

I. Premières tentatives *in vivo*

J'ai commencé mes travaux en essayant d'obtenir un signal acousto-optique du cerveau de rat anesthésié. J'ai très vite compris que j'avais été bien optimiste et je vais vous montrer pourquoi.

La **figure 44A** montre une photo du montage acousto-optique avec le rat anesthésié et fixé sur un cadre stéréotaxique pour limiter les mouvements liés à la respiration. Afin de permettre le passage des ultrasons dans le cerveau, j'ai réalisé un volet crânien et remplacé l'os crânien par une prothèse en TPX. Cette approche chirurgicale a déjà été employée dans d'autres études d'imagerie ultrasonore fonctionnelle (Bergel et al., 2018; Sieu et al., 2015). On peut aussi voir sur cette photo la sonde ultrasonore (US) qui sert à envoyer des ultrasons focalisés à travers le cerveau pour marquer les photons et aussi à faire des images anatomiques pour localiser le cerveau et le plan d'enregistrement. Le laser et la fibre de collecte sont positionnés de part et d'autre de la sonde pour s'assurer que la lumière traverse bien les ultrasons avant d'être collectée.

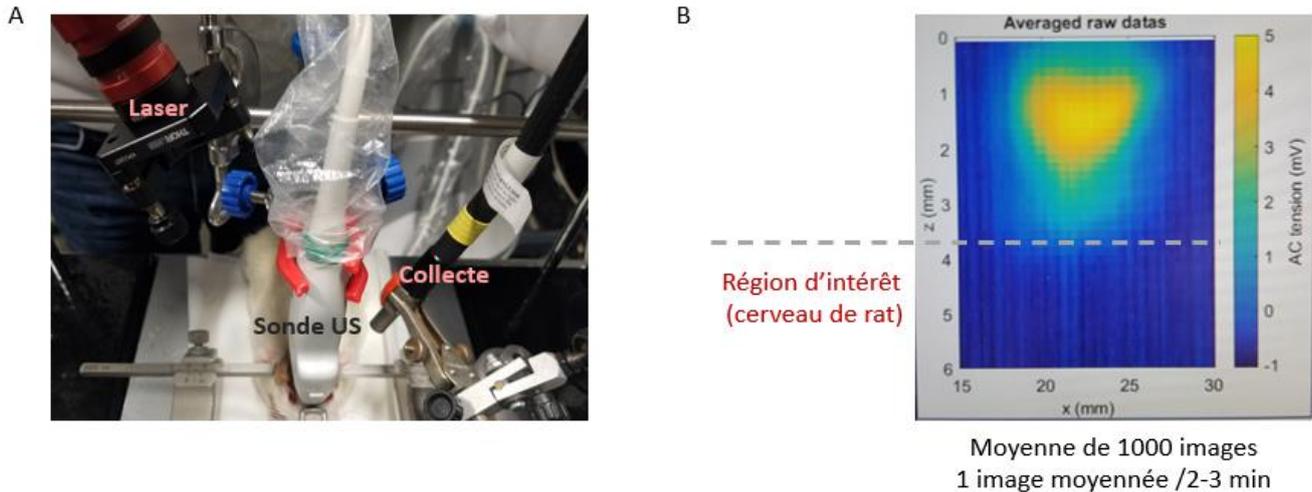


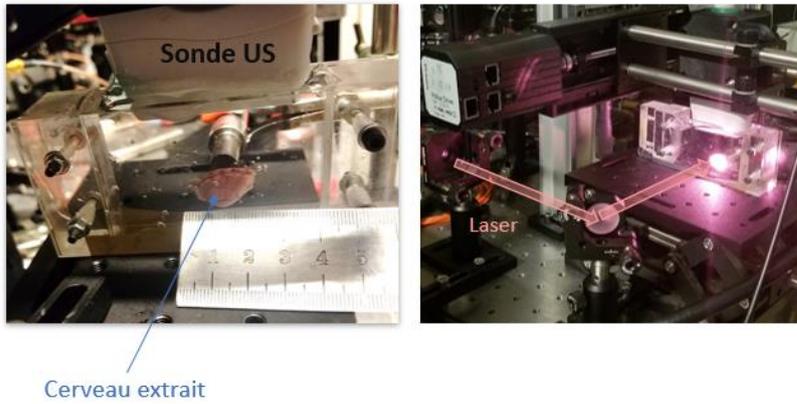
Figure 44 : Enregistrements acousto-optique de cerveau de rat anesthésié. A. Photo du montage avec le rat anesthésié, la sonde ultrasonore (US), le laser et la fibre de collecte. **B.** Signal acousto-optique

En combinant l'enregistrement acousto-optique présenté en **figure 44B** avec les images ultrasonores non présentées ici, on peut repérer la surface du cerveau qui se situe autour de 3,8mm de profondeur. Cela nous permet de définir une région d'intérêt qui est délimitée par la ligne pointillée et qui correspond au cerveau de rat. Ensuite, le signal qui correspond aux photons marqués est capté par la photodiode et est converti en une tension électrique, exprimée en mV. Donc, la quantité de photons marqués détectée est proportionnelle à la tension affichée par la photodiode. On peut voir qu'au-dessus de la région d'intérêt cette tension atteint une valeur maximale de 5mV et qu'elle est nulle dans la région d'intérêt. A ce stade, il était impossible d'enregistrer le signal acousto-optique dans le cerveau de rat. Pour tenter de comprendre quels étaient les obstacles à cette détection, j'ai décidé de reculer d'un pas et de passer à un modèle simplifié. J'ai réalisé la suite des enregistrements sur des cerveaux extraits et des cerveaux dans la boîte crânienne. L'enjeu était alors de voir si le tissu cérébral permettait d'enregistrer un signal acousto-optique ou si la totalité de la lumière était absorbée par le cerveau.

La **figure 45A** montre des photos du montage acousto-optique utilisé pour ces expériences. On peut y voir le cerveau de rat extrait et disposé dans une cuve de gel ultrasonore, la sonde US, et la trajectoire du faisceau laser en transmission à travers le cerveau. Le signal acousto-optique présenté en **figure 45B** montre la région d'intérêt qui correspond au tissu cérébral. On peut voir que dans cette région d'intérêt, on détecte une quantité modérée de photons marqués (environ 10 mV détectés par la photodiode). En dessous de la région d'intérêt, on remarque d'une part la présence de photons marqués, d'autre part, on voit que ces photons génèrent une tension électrique 2,5 fois supérieure à ceux détectés dans la région d'intérêt. Il est plausible que ces photons détectés en dessous de la région d'intérêt soient des photons marqués qui sont soit réfléchis à la surface du cerveau, soit qui passent

directement en dessous du cerveau. Dans les deux cas, ces photons seraient détectés par transmission directe et ne serait pas soumis aux propriétés d'absorption du tissu cérébral, ce qui donnerait lieu à ce **halo de lumière** autour de la région d'intérêt.

A



B

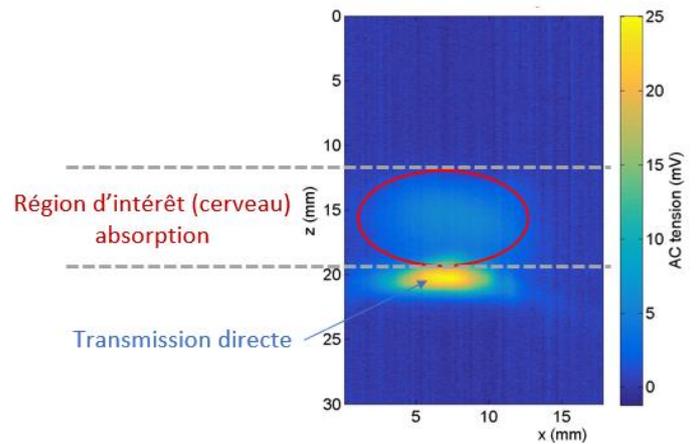


Figure 45 : Transmission de la lumière par le cerveau de rat extrait. A. Photos du montage acousto-optique avec cerveau de rat extrait. B. Signal acousto-optique sur cerveau extrait.

Afin de limiter la présence de ces halos, j'ai travaillé sur l'alignement entre la source de lumière et l'échantillon étudié. De plus, j'ai veillé à ce que le diamètre du faisceau de lumière soit inférieur ou égal à la surface de l'échantillon étudié. La **figure 46** montre qu'avec ces paramètres correctement réglés, on peut supprimer le halo de lumière et n'avoir que du signal qui provient du cerveau. Cette expérience était nécessaire pour s'assurer que le cerveau laissait suffisamment passer de lumière pour détecter un signal acousto-optique.

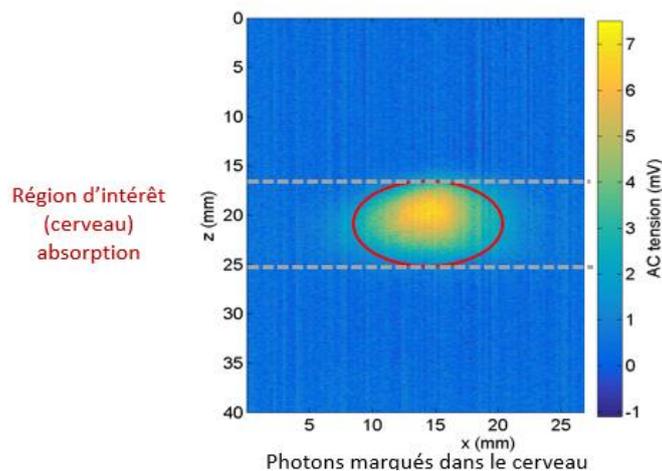


Figure 46 : Image acousto-optique après repositionnement du laser

La suite de ce travail a consisté à déterminer quels paramètres influençaient la qualité du signal acousto-optique. Les résultats sont présentés dans le manuscrit qui a pour titre « Assessment of fixed brain imaging with acousto-optics ».

II. Optimisation du signal acousto-optique

Assessment of fixed rat brain imaging with acousto-optics

Reda El Mahzoum¹, AA Grabar², François Ramaz^{3†}, Ivan Cohen^{1†}

1 Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Neuroscience Paris Seine, Institut de Biologie Paris Seine, Paris, France

2 Institute of Solid State Physics and Chemistry, Uzhgorod National University, Uzhgorod, Ukraine

3 Institut Langevin, ESPCI ParisTech, CNRS UMR 7587, INSERM, Laboratoire d'Optique Physique, 10 rue Vauquelin, F-75231 Paris Cedex 05, France

*Correspondence: ivan.cohen@upmc.fr

Abstract

Measuring optical properties deep into the brain could potentially provide a way to improve functional near-infrared spectroscopy-based oximetry by addressing small areas of the brain even deep in the tissue. One candidate method stem from acousto-optic imaging. In this approach photon scattering throughout the brain are tagged in an area of interest by vibrating the tissue with ultrasound. We explored this paradigm on fixed rat brain tissue placed between a monochromatic coherent light source and an analyzer based on holographic photorefractive crystal pumped by a reference beam coupled to a photodiode. We found that ultrasound focusing depth had little influence on the reconstructed acousto-optics image. By recording from successive planes along the optical ballistic axis we observed a conical profile envelop of the scattered photon increasing in width as it progressed along the sample. Using a brain still inside the skull cavity we found that the acousto-optical signal could still be recorded despite bone attenuation, provided a top and lateral skull flap was performed. Finally, we estimated the effect of varying light absorption in a region of the imaged plane by passing black ink of successive dilution, which showed progressive decrease of contrast with increased dilution. These data suggest useful elements to take into account for the design of head mounted acousto-optics probes, even before proceeding with multispectral imaging.

Introduction

Understanding and healing the brain represents one of the major challenges of science for the years to come. Such a challenge cannot be met without the implementation and development of new concepts and techniques, stemming from various disciplines, making it possible to probe the brain in depth and in its entirety, by combining sensitivity, spatial and temporal precision for a growing number of physiological variables. Currently, there are a number of imaging techniques that measure different parameters related to metabolic activity, such as MRI or NIRS. However, these techniques rely on compromises between spatial, temporal resolution, sensitivity and experimental usability in freely moving animals still far from events that may be associated with physiological or pathological conditions. It is therefore necessary to develop novel approaches to image brain metabolism.

One current direction for development of imaging modalities builds on NIRS measures of oxygen saturation in tissue based on the difference in absorption spectra of oxygenated and deoxygenated hemoglobin. Optical scattering properties of biological tissues imply that oximetry is limited in resolution at depth beyond a few hundred microns. One way to improve spatial resolution is based on the acousto-optic approach of tagging photons passing in deep tissue areas vibrated with ultrasounds, which produces a frequency shift in the ultrasound-tagged photons. Several methods exist to identify tagged photons in the collected exiting flow, which is characterized by a low number of labeled photons, significant absorption in the tissue, and dispersed exiting photons. Thus, tissue illumination and acousto-optic signal detection must be optimized. The aim of the work presented here was to evaluate on fixed brain tissue the image quality, and also to assess the sensitivity of this technique, using the photorefractive crystal holography technique variant of the acousto-optics technique, based on a previously described setup [Laudereau 2015]. Ultimately, we hope that these results will help develop new tools for *in vivo* studies.

Material & methods

Tissue preparation

Experiments on rat brain were performed on sample prepared according to European and local regulation. Head tissue was taken from animals induced into deep sleep and euthanized with volatile anesthetics (isoflurane). Skin covering the top of the head was dissected and the skull was exposed. A drill was used to cut out the portion of bone covering the cortex, from Bregma to Lambda, and on the sides down the parietal bone [Li 2015]. The bilateral bone flap was removed while preserving brain tissue from mechanical damage. In some experiments the brain was maintained in the skull. In other

experiments the brain was isolated by practicing an incision between cortex and cerebellum, an incision between cortex

and olfactory cortex, gently lifting the brain and cutting the visual nerves. Samples were preserved in isotonic 0.9% salt water for up to a week and kept at 4°C between experiments.

Ultrasound probe and samples

The ultrasound probe was composed of 192 transducer elements of central frequency 6MHz, aligned at a pitch 200 microns. The sample was disposed 20-30mm below the transducer lens. B-mode imaging was performed with built-in scanner software. Ultrasound wave coupling between the probe and the sample was provided either with acoustic gel or water. In one set of experiment, we used fine tubing instead of rat tissue, with inner diameter x outer diameter of 0.5x0.9mm, 0.9x1.5mm (Hotty Polymer, Japan). An Intralipid solution was added for the tubing experiment to provide a uniform scattering around the tubing which covered only a small part of the observed field. Black ink was passed through the tube to modify its absorption characteristics (stamp oil free ink, Herlitz Stempelfarbe ölfrei).

Ultrasound and acousto-optics setup

The acousto-optics setup (figure 1) was adapted from an earlier version [Laudereau 2015]. Ultrasound b-mode and acousto-optics images were performed on a commercially available ultrasound scanner (Aixplorer, Supersonic Imagine, Aix-en-Provence) coupled to an optical bench locally developed for illumination by coherent monochromatic light and quantification of ultrasound-tagged photons.

The optical bench was based on light generated by a 790nm 1200mW Littrow configuration external cavity diode laser (DTU Fotonik, Lyngby, Denmark) coupled to an optical amplifier. The beam was split in two, with one arm passing through the sample and a reference beam. Sorting of collected photons was based on holographic interference in a photo-sensitive crystal of Sn₂P₂S₆:Te of dimensions 9 × 9 × 6 mm³ in the respective x, y and z directions (AA Grabar, Uzhgorod, Ukraine) pumped with the reference beam. The principle of operation is based on the photorefractive property of the crystal, which consists in a local modification of the index by the incident light wave. For a detailed explanation of the physics of the photorefractive effect, the reader can refer to the works of P. Yeh [Yeh 1993] or P. Günter [Günter 2006]. Photorefractive holography maintains a large optical detection etendue despite the use of a single-element sensor, this etendue being limited by the size of the crystal entry section and by the quality of the collection of diffuse light coming out of the sample. The rationale for choosing this crystal is that it is the best currently available for work in the optical therapeutic window, around 800 nm. It has a photorefractive response time of a few ms and a two-

wave mixing gain of 6 cm^{-1} , that is to say an amplification factor $g \simeq e^{(\gamma-\alpha)L}$ of 30 ($\alpha = 0,4 \text{ cm}^{-1}$ at 780 nm, according to [Kogelnik 2009], and $L = 6 \text{ mm}$), for a usual illumination of 1 W.cm^{-2} .

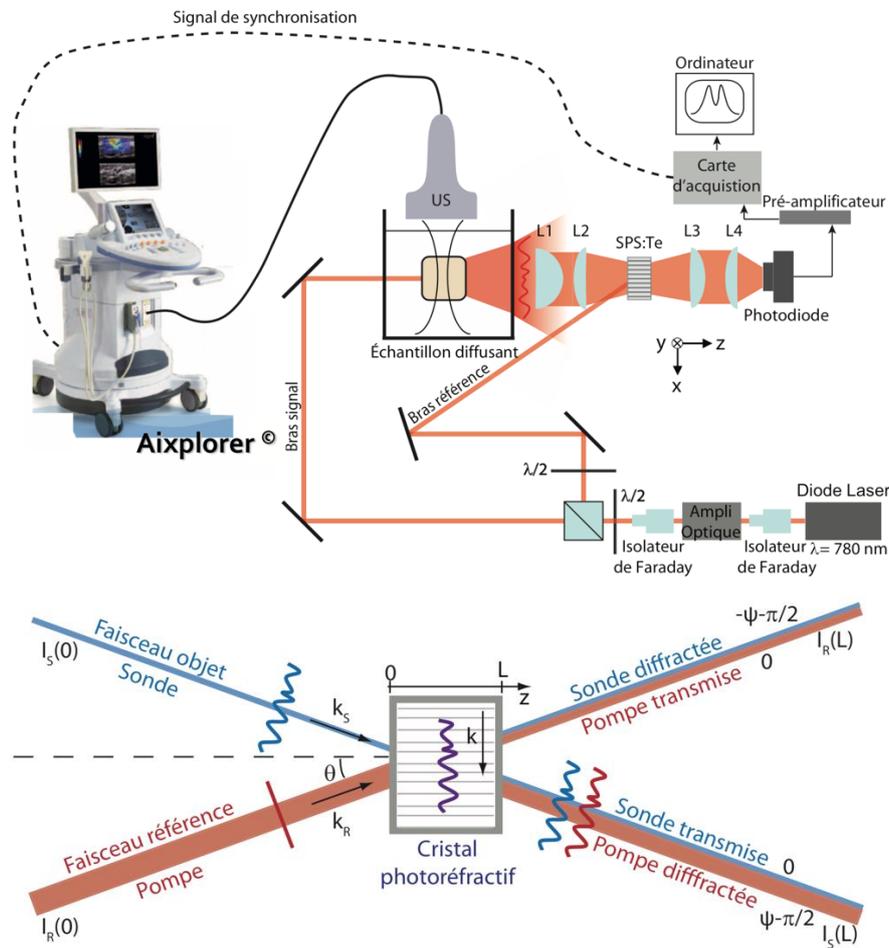


Figure 1 : experimental acousto-optics setup and photo-sensitive crystal interference scheme. A. optical path from the source to the sensor. **B.** Two-wave mixing based on the diffraction by a volume index grating. When the reference and signal beams, of complex amplitudes and respective wave vectors (E_R, k_R) et (E_S, k_S) , interfere at the level of the photorefractive crystal, the hologram inscribes, wave vector $k = k_S - k_R$, will induce the creation of a thick index network in the crystal. The two beams are immediately diffracted by this network: the diffracted reference beam propagates in the direction of the transmitted signal beam and conversely, the diffracted signal wave propagates in the direction of the transmitted reference wave. (A La Guillaume, 2013)

Acousto-optics signal was acquired using a photodiode coupled to a high-speed computer-controlled analog to digital converter with a sampling frequency of 40MHz. The ultrasound pulse sequence was composed of 2 hemicycles at 6MHz, corresponding to a resolution of 0.25mm, at 50V repeated over 500 acquisitions, for a maximum depth of 50mm based on sound velocity of 1540m/s. At each ultrasound emission, the temporal acousto-optic signal detected by the photodiode was converted into spatial information using a synchronization line triggered at the time of ultrasound emission.

Results

In order to determine which factor could influence the quality of acousto-optical images, we first explored the extent to which ultrasound focusing depth could modulate signal quality (figure 2). We performed this experiment on an isolated brain placed in a chamber filled with transparent ultrasound gel. The ultrasound probe was placed above the center half of the brain. We fixed the light source and varied the ultrasound focusing depth between 21 and 25mm. Within this depth range, the images were of similar quality.

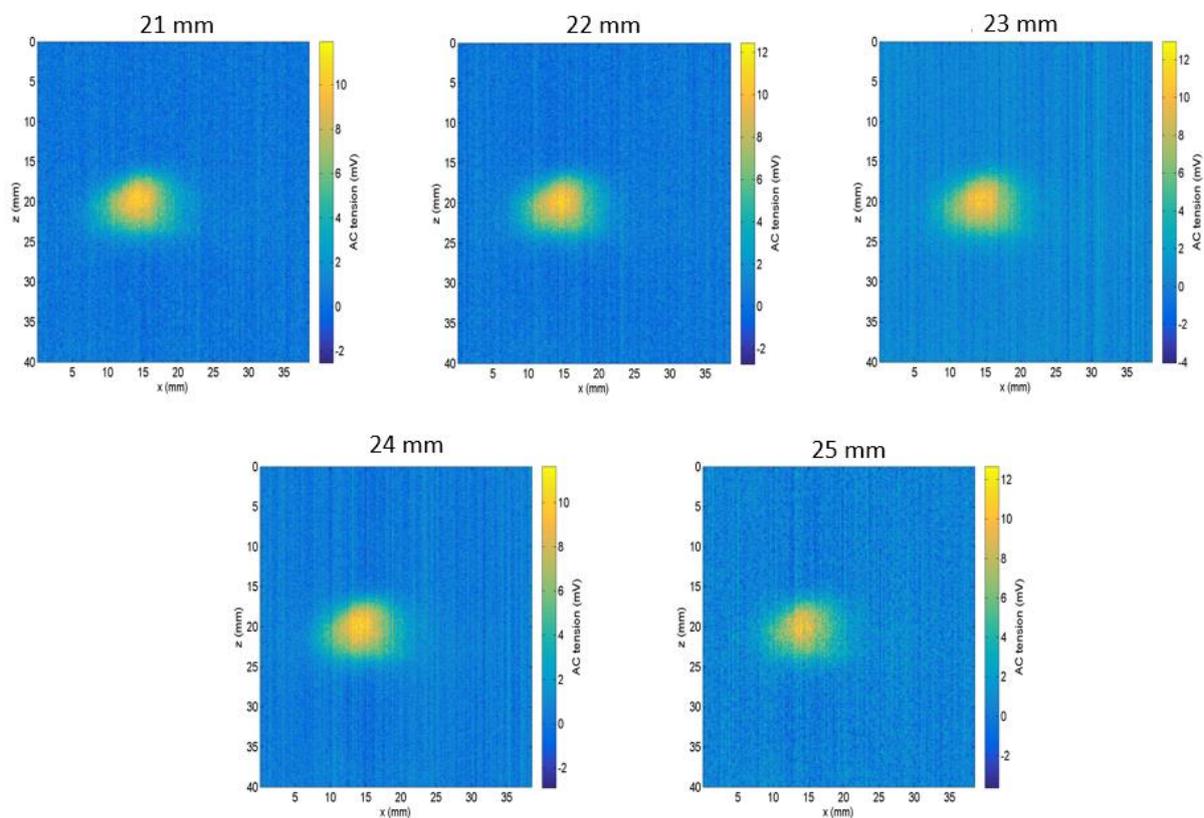


Figure 2: Effect of varying ultrasound focusing depth on image quality. Ultrasound focusing depth is specified above each image.

Next, we wanted to describe how light propagates through brain tissue. To do this, we illuminated a rat brain ex vivo and collected the light as it exited the tissue, in direct transmission. We marked the photons on successive planes across the entire brain volume. Example images shown in figure 3, reveal that in planes closer to the light source the signal is of larger amplitude and spread across a smaller width and height compared to planes further away. Indeed, the maximum signal intensity is 14mV for the closest image and 7mV for the farthest image. The area covered by light increases many folds spread between the most distant planes. These observations lead us to the conclusion that the photon scattering profile forms a cone.

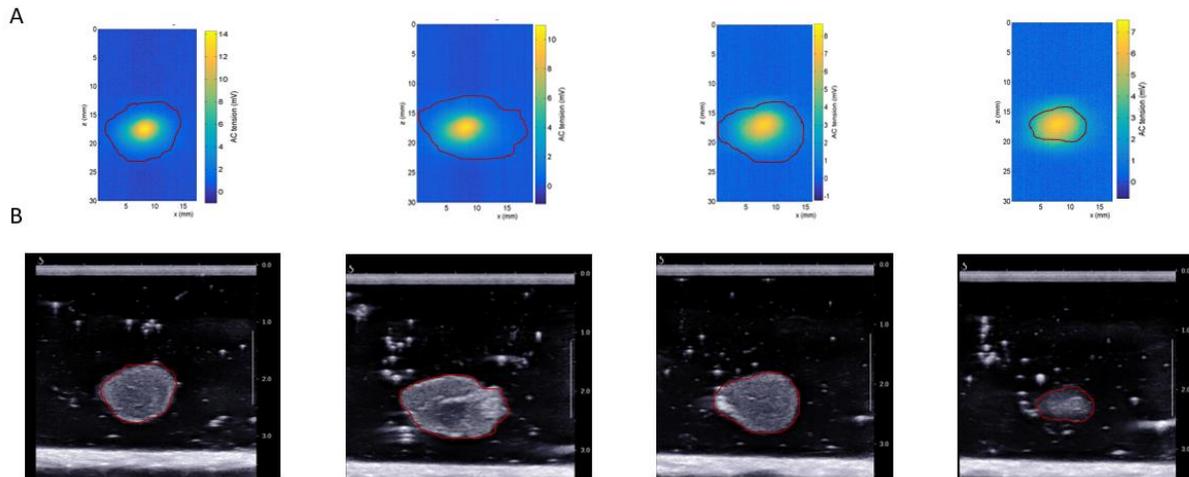


Figure 3: Conical light path envelop through brain tissue. A. Acousto-optical images taken on different planes of the brain. The region of interest outlined in red corresponds to the brain. **B.** B-mode acoustic images of the brain in different planes. The brain is outlined in red to define the regions of interest that are plotted on the acousto-optical images. **A and B.** The leftmost images correspond to those closest to the light source.

We then asked whether the skull around the brain, which would be present in *in vivo* recordings, could help provide a more uniform illumination of the brain. We replaced the isolated brain by a brain still in the cranial cavity, with a large flap on the top to accommodate for the propagation of ultrasound. An example of the image obtained is shown in figure 3. We alternatively recorded acousto-optic and b-mode images to compare the position of the acousto-optic signal with the actual position of the sample, as outlined in red (figure 4A). The region identified in the b-mode image was aligned in the corresponding acousto-optical image (figure 4B). It can be seen that photons can be imaged through the brain when it is inside the skull. We also note that the signal intensity is lower than that obtained with the brain extracted from the cranial cavity shown in figure 2 (1.6mV vs. 7-14 mV), suggesting a significant effect of photon absorption by the bone.

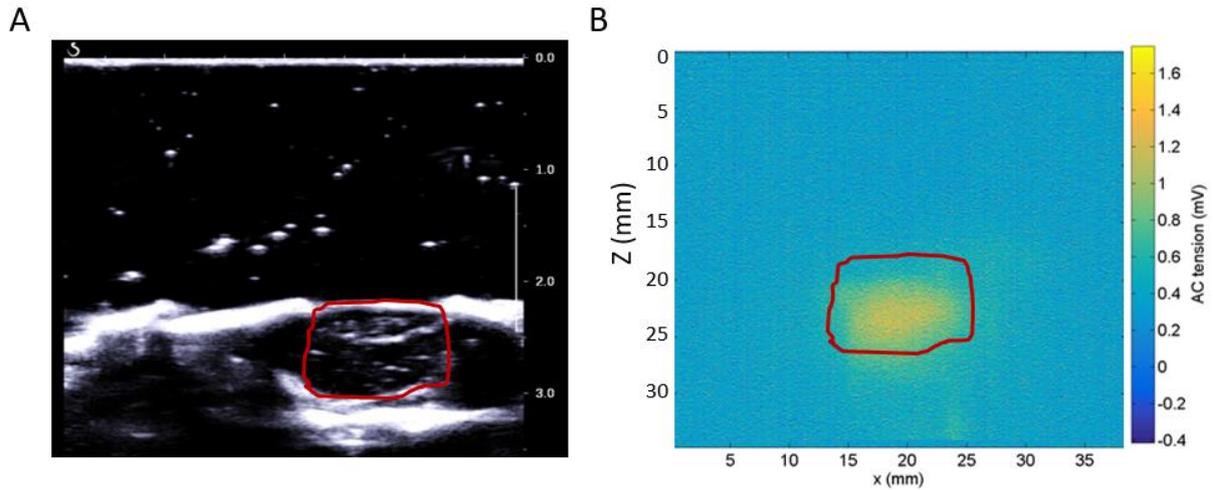


Figure 4: Acousto-optical imaging of a rat brain in its cranium. A. Acoustic b-mode image of the brain. **B.** Corresponding acousto-optical image. Red area: delimitation of the brain.

We noticed that the image from figure 4 does not show obvious contrast from the brain tissue. While it the brain is made of relatively uniform white diffusive tissue, we wanted to know why we did not have more contrast and how we could potentially image time varying signal rather than constant absorption. We thus replaced the tissue with a short piece of tubing made of TPX, a material with a similar sound propagation index as water, so as to avoid unwanted reflections. We filled the tubing with successive dilutions of ink to modify the absorption of the tubing. The recording chamber was filled with intralipid solution to compensate for the absence of scatterers around the tube. In order to improve the accuracy of the measure we normalized the images according to the intensity of the background acousto-optics signal by fitting a 2D gaussian on the areas of the image without tubing. This allowed to measure the absorption of light in the tube. By repeating the experiment with successive dilutions of ink we found, as expected, that the contrast increased with decreased with higher dilution of the ink.

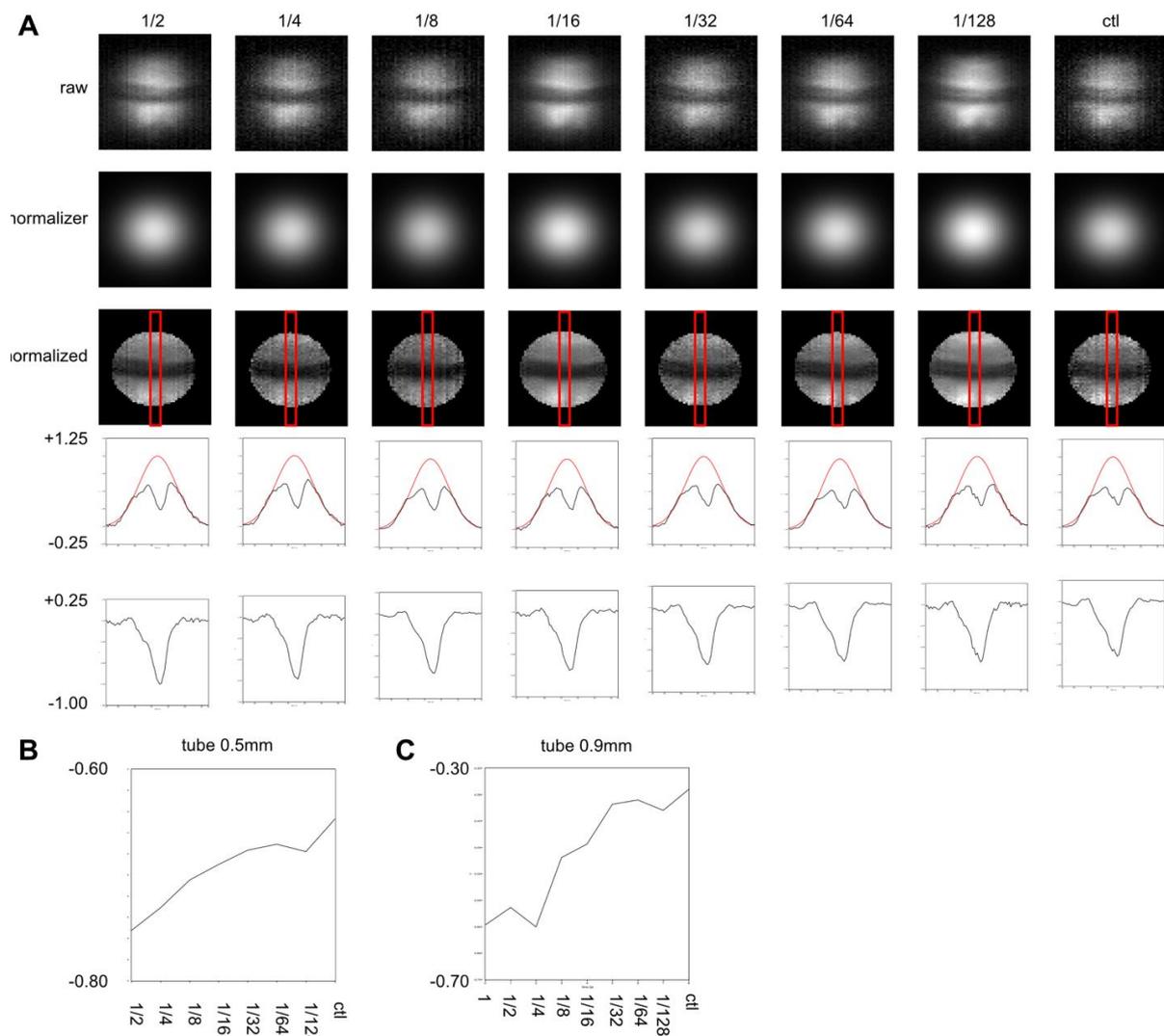


Figure 5: Estimation of sensitivity of the acousto-optics signal. A. we imaged a fine tube made of TPX, a polymer with sound velocity similar to water, passing different concentrations of black ink (from left to right). For each dilution of ink, we show from top to bottom the raw acousto-optics image, the 2D fit of the image field envelop, the normalized acousto-optics image, the signal profile along the midline of the image across the tube showing both the gaussian reference and the normalized image, and finally the difference between the two curves representing the absorption by the tube. **B and C.** amplitude of the contrast as a function of ink dilution shows a progressive decrease of contrast with increased dilution.

Discussion

In this study we provided a first assessment of acousto-optics imaging on fixed brain tissue from rat in the frame of a long-term perspective of developing the technique for *in vivo* imaging. We observed acousto-optics signal which was not sensitive to focalization depth. Imaging successive planes of an isolated brain in acoustic gel showed that the scattering profile of photons across the brain resembled a cone. On a brain still in the cranial cavity we could still observe acousto-optic signal

in the brain, provided a large bone flap was performed. Because little contrast was observed in images, we asked how the signal could be influenced by absorption in the imaging plane. With tubes filled with ink of varying dilution we found that tagged photon decreased when the ink was darker. These data suggest that acousto-optics imaging may be further explored *in vivo* in the rat, with proper skull flap and well positioned illumination and photon collection optics.

As we set up these experiments the most important conclusion that we came across was that proper experiment design is required to obtain images. While in the data shown here, we have visible acousto-optic signal, our early attempts using a reflection configuration rather than ballistic, on-axis, illumination-sample- collection was inefficient at providing acousto-optics signal. In the design that we present here, a halo was present when the incoming light was targeted at regions near the edge of the silhouette of the sample. We interpreted that as photons coming close to the limb of the sample requiring only a small number of scattering events to reach the collection optical system. Thus, these photons were minimally absorbed and the signal they generated tended to saturate images and make signals originating from the brain appear weak. Thus, one lesson learned from our experiments is that illumination and collection should be well thought of so that the light diffusion cone spread well across all the regions of interest and do not offer shortcut path.

Another lesson that we learned from these experiments is that acousto-optics signal from the brain offers low contrast on still sample. Indeed, earlier work on artificial samples or pathological biopsies from other organs presented region of strong optical contrast, such as nodules with dark pigmented cells. In those experiments the presence of light absorption is readily visible in an otherwise generally gaussian-like light background. It thus appears that in future experiments it would be useful to better characterize the reference background that would appear before placing the sample in the middle of the light path. This element could be taken into consideration by designing an illumination system that could provide a lighting profile as little sensitive to the shape of the brain as possible, for example with the uniform lighting across the largest entry area on the surface of the brain.

Last, as we set up these experiments, we added an optic fiber in the optical that should in principle allow improved flexibility when dealing with positioning live samples. We noticed that image quality tended to degrade, which was fixed by preventing the fiber motion. This aspect of acousto-optic imaging should be further investigated, especially in relation with the various methods available for sorting tagged photons. In our experiments we used a photorefractive crystal that transforms a complex wavefront into a intensity that can be sampled easily with a single optical sensor element. The time constant of the crystal on the order of ms and the dynamics of the engraved hologram may be a weak point of the current system for *in vivo* imaging, where the sample is moving, at least because of heart beat or breathing. The hole-burning and digital holography approaches may be better suited for practical biology experiments.

As a conclusion, acousto-optics is indeed a novel imaging modality in the field of *in vivo* observation that deserves careful experimental design. Our experiments revealed some of the constraints that will have to be taken into consideration when designing the future experimental setup. While there remains a long way before acousto-optics setup could measure multispectral information deep into the brain, the work presented here suggests way to go forward in this direction.

Bibliography

- Laudereau JB Acousto-optic imaging : challenges of in vivo imaging. (2016) <https://theses.hal.science/tel-01493690>
- Benoit À La Guillaume E. (2013) Imagerie acousto-optique dans les milieux diffusants épais: de l'amélioration technique à l'application pré-clinique ex vivo. <https://theses.hal.science/pastel-00916570v1>
- Ashkin, G. D. Boyd, J. M. Dziedzic, R. G. Smith, and A. A. Ballman. Optically-induced refractive index inhomogeneities in LiNbO₃ and LiTaO₃. *Applied Physics Letters*, 9(1) :72–74, 1966.
- F. S. Chen. Holographic Storage in Lithium Niobate. *Applied Physics Letters*, 13(7) :223, 1968.
- P. Yeh. Introduction to photorefractive nonlinear optics. Wiley, New York, 1993.
- P. Günter and J.-P. Huignard. Photorefractive materials and their applications. Springer, New York, 2006.
- Li P, Gao K, Ding D, Salvi R. Characteristic anatomical structures of rat temporal bone. *J Otol*. 2015 Sep;10(3):118-124. doi: 10.1016/j.joto.2015.11.002.
- Bocoum M, Figliolia F, Huignard JP, Ramaz F, Tualle JM. Suppression of the Talbot effect in Fourier transform acousto-optic imaging. *Appl Opt*. 2023 Jun 20;62(18):4740-4746. doi: 10.1364/AO.488757. PMID: 37707246.
- Thai QM, Kalot G, Venet C, Seguin J, Bocoum M, Mignet N, Ramaz F, Louchet-Chauvet A. In vivo ultrasound modulated optical tomography with a persistent spectral hole burning filter. *Biomed Opt Express*. 2022 Nov 16;13(12):6484-6496. doi: 10.1364/BOE.475449. PMID: 36589564; PMCID: PMC9774882.
- Dutheil L, Bocoum M, Fink M, Popoff SM, Ramaz F, Tualle JM. Fourier transform acousto-optic imaging with off-axis holographic detection. *Appl Opt*. 2021 Aug 20;60(24):7107-7112. doi: 10.1364/AO.427181. PMID: 34612995.
- Bocoum M, Gennisson JL, Grabar AA, Ramaz F, Tualle JM. Reconstruction of bi-dimensional images in Fourier-transform acousto-optic imaging. *Opt Lett*. 2020 Sep 1;45(17):4855-4858. doi: 10.1364/OL.396688. PMID: 32870875.
- Bocoum M, Gennisson JL, Laudereau JB, Louchet-Chauvet A, Tualle JM, Ramaz F. Structured ultrasound-modulated optical tomography. *Appl Opt*. 2019 Mar 10;58(8):1933-1940. doi: 10.1364/AO.58.001933. PMID: 30874058.
- Katz O, Ramaz F, Gigan S, Fink M. Controlling light in complex media beyond the acoustic diffraction-limit using the acousto-optic transmission matrix. *Nat Commun*. 2019 Feb 12;10(1):717. doi: 10.1038/s41467-019-08583-6. PMID: 30755617; PMCID: PMC6372584.
- Venet C, Bocoum M, Laudereau JB, Chaneliere T, Ramaz F, Louchet-Chauvet A. Ultrasound-modulated optical tomography in scattering media: flux filtering based on persistent spectral hole burning in the optical diagnosis window. *Opt Lett*. 2018 Aug 15;43(16):3993-3996. doi: 10.1364/OL.43.003993. PMID: 30106935.

- Bocoum M, Gennisson JL, Venet C, Chi M, Petersen PM, Grabar AA, Ramaz F. Two-color interpolation of the absorption response for quantitative acousto-optic imaging. *Opt Lett*. 2018 Feb 1;43(3):399-402. doi: 10.1364/OL.43.000399. PMID: 29400869.
- Laudereau JB, Grabar AA, Tanter M, Gennisson JL, Ramaz F. Ultrafast acousto-optic imaging with ultrasonic plane waves. *Opt Express*. 2016 Feb 22;24(4):3774-89. doi: 10.1364/OE.24.003774. PMID: 26907033.
- Barjean K, Ramaz F, Tualle JM. Theoretical study of Fourier-transform acousto-optic imaging. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis*. 2016 May 1;33(5):854-62. doi: 10.1364/JOSAA.33.000854. PMID: 27140883.
- Barjean K, Contreras K, Laudereau JB, Tinet É, Etti D, Ramaz F, Tualle JM. Fourier transform acousto-optic imaging with a custom-designed CMOS smart-pixels array. *Opt Lett*. 2015 Mar 1;40(5):705-8. doi: 10.1364/OL.40.000705. PMID: 25723412.
- Laudereau JB, À La Guillaume EB, Servois V, Mariani P, Grabar AA, Tanter M, Gennisson JL, Ramaz F. Multi-modal acousto-optic/ultrasound imaging of ex vivo liver tumors at 790 nm using a Sn₂P₂S₆ wavefront adaptive holographic setup. *J Biophotonics*. 2015 May;8(5):429-36. doi: 10.1002/jbio.201400071. Epub 2014 Sep 18. PMID: 25236956.
- Devaux F, Huignard JP, Ramaz F. Modelization and optimized speckle detection scheme in photorefractive self-referenced acousto-optic imaging. *Opt Express*. 2014 May 5;22(9):10682-92. doi: 10.1364/OE.22.010682. PMID: 24921769.
- Lesaffre M, Farahi S, Ramaz F, Gross M. Experimental study of z resolution in acousto-optical coherence tomography using random phase jumps on ultrasound and light. *Appl Opt*. 2013 Feb 10;52(5):949-57. doi: 10.1364/AO.52.000949. PMID: 23400056.
- Benoit a la Guillaume E, Bortolozzo U, Huignard JP, Residori S, Ramaz F. Dynamic ultrasound modulated optical tomography by self-referenced photorefractive holography. *Opt Lett*. 2013 Feb 1;38(3):287-9. doi:10.1364/OL.38.000287. PMID: 23381413.
- Benoit a la Guillaume E, Farahi S, Bossy E, Gross M, Ramaz F. Acousto-optical coherence tomography with a digital holographic detection scheme. *Opt Lett*. 2012 Aug 1;37(15):3216-8. doi: 10.1364/OL.37.003216. PMID: 22859137.
- Farahi S, Benoit E, Grabar AA, Huignard JP, Ramaz F. Time resolved three-dimensional acousto-optic imaging of thick scattering media. *Opt Lett*. 2012 Jul 1;37(13):2754-6. doi: 10.1364/OL.37.002754. PMID: 22743518.
- Farahi S, Montemezzani G, Grabar AA, Huignard JP, Ramaz F. Photorefractive acousto-optic imaging in thick scattering media at 790 nm with a Sn₂P₂S₆:Te crystal. *Opt Lett*. 2010 Jun 1;35(11):1798-800. doi:10.1364/OL.35.001798. PMID: 20517420.
- Gross M, Lesaffre M, Ramaz F, Delaye P, Roosen G, Boccara AC. Detection of the tagged or untagged photons in acousto-optic imaging of thick highly scattering media by photorefractive adaptive holography. *Eur Phys J E Soft Matter*. 2009 Feb;28(2):173-82. doi: 10.1140/epje/i2008-10408-2. PMID: 19104857.
- Lesaffre M, Jean F, Ramaz F, Boccara AC, Gross M, Delaye P, Roosen G. In situ monitoring of the photorefractive response time in a self-adaptive wavefront holography setup developed for acousto-optic imaging. *Opt Express*. 2007 Feb 5;15(3):1030-42. doi: 10.1364/oe.15.001030. PMID: 19532331.
- Gross M, Ramaz F, Forget B, Atlan M, Boccara A, Delaye P, Roosen G. Theoretical description of the photorefractive detection of the ultrasound modulated photons in scattering media. *Opt Express*. 2005 Sep 5;13(18):7097-112. doi: 10.1364/opex.13.007097. PMID: 19498733.
- Ramaz F, Forget B, Atlan M, Boccara AC, Gross M, Delaye P, Roosen G. Photorefractive detection of tagged photons in ultrasound modulated optical tomography of thick biological tissues. *Opt Express*. 2004 Nov 1;12(22):5469-74. doi: 10.1364/opex.12.005469. PMID: 19484107.
- Kogelnik H. Coupled Wave Theory for Thick Hologram Gratings. *Bell System Technical Journal*, 48(9):2909–2947, 1969.

CHAPITRE 4 – DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

I. Objectifs de la thèse

Mon laboratoire d'accueil s'intéressait à l'imagerie des réseaux impliqués dans des activités pathologiques (type épilepsie absence) ou physiologiques (exploration) chez le petit rongeur, en utilisant notamment la technique d'imagerie ultrasonore ultrarapide fonctionnelle (fUS) pour suivre les variations de flux sanguin en lien avec les activités neuronales. Une des forces de cette technique est de permettre théoriquement une imagerie exhaustive du cerveau par le biais de plans dorso-ventraux successifs mais aussi d'avoir une sensibilité suffisante pour permettre le suivi d'évènements uniques au lieu de devoir les moyennner comme en IRMf. De plus, en s'intéressant au flux sanguin, cette technique du fUS, en étant couplée à des EEG de surface (fUS-EEG), apportait des informations quant au timing de mise en jeu de la composante vasculaire dans ces différents phénomènes pathophysiologiques.

Deux voies d'améliorations s'avéraient nécessaires pour pousser plus loin les investigations accessibles à notre laboratoire :

La première voie d'amélioration était de mieux caractériser notre modèle pathologique d'épilepsie absence (le GAERS) afin de comprendre comment, si elle n'est pas aléatoire, s'organise la production des crises au cours du temps. En effet, la méconnaissance de ce phénomène était une limitation pour pouvoir comparer sur les mêmes structures des périodes avec crises et sans crise et pouvoir reconstituer la dynamique vasculaire spatio-temporelle et identifier les spécificités liées aux crises.

Cette caractérisation a nécessité de réaliser des enregistrements de longue durée chez le rat GAERS afin de suivre à la fois l'occurrence des crises et l'alternance de phases d'activité et de repos. Ces travaux, réalisés en collaboration avec Hieu Tran, ont mené à décrire une augmentation du taux de crises essentiellement à la transition entre l'activité et le repos.

La deuxième voie d'amélioration était de combler l'écart qui existe entre activité neuronale et activité vasculaire par l'information de la composante métabolique qui, selon le principe du couplage neuro-vasculaire, lie ces deux composantes. En effet, des incohérences apparentes pouvaient apparaître entre un enregistrement électrophysiologique montrant une activation neuronale et un enregistrement fUS montrant une réduction du flux vasculaire, allant potentiellement à l'encontre du principe du couplage neurovasculaire. Dès lors, l'information du

niveau de consommation locale en oxygène est nécessaire pour comprendre les mécanismes de couplage ou découplage neurovasculaire susceptibles d'intervenir dans l'épileptogénèse.

Ce deuxième objectif m'a amené à reprendre des travaux d'acousto-optique qui, en focalisant des ondes ultrasonores sur un échantillon par ailleurs illuminé avec deux longueurs d'ondes précises, devrait, à terme, permettre d'évaluer le niveau d'oxygène en ce point précis, même en profondeur dans le cerveau. Cette partie a été réalisée en collaboration avec mon autre encadrant de thèse, François Ramaz.

II. Suivi des activités/repos et détection des crises chez l'animal

La première partie de mon travail, qui portait sur l'occurrence des crises d'épilepsie absence, a mené à 3 résultats principaux : (i) les crises d'épilepsie s'assemblent en bouffées de crises. (ii) les crises d'épilepsie tendent à s'accumuler pendant les états de transition de l'activité vers le repos chez le rat GAERS. (iii) les durées des périodes d'activité et de repos sont plus longues chez les rats GAERS que chez les rats contrôles wistars.

L'observation que les rats GAERS ont des périodes d'activité et de repos allongées par rapport aux contrôles non-épileptiques, suggère qu'une particularité des GAERS puisse être une difficulté à l'endormissement. Cette difficulté les placerait en situation de privation de sommeil qui elle-même favoriserait la production de décharges pointes ondes (Drinkenburg et al., 1995). La qualité du sommeil étant essentielle pour ne pas développer un état de privation de sommeil, je discute dans le paragraphe suivant de la possibilité qu'elle soit un facteur déclencheur ou favorisant les crises.

Il est à noter que l'extraction depuis nos données existantes d'informations concernant les phases de sommeil et/ou d'éveil passif contenues dans le repos (à laquelle on n'a volontairement pas donné priorité dans l'étude activité/repos), permettra de tester certaines des hypothèses évoquées ci-après.

1) L'épilepsie et les mécanismes régulateurs de l'endormissement

La qualité du sommeil se définit notamment par la latence entre le coucher et l'endormissement, la durée totale du sommeil et l'alternance entre les différents stades de sommeil (telle que décrite dans la partie II.1.1.i). Le sommeil et l'éveil sont régulés par des systèmes différents. Les facteurs qui promeuvent le sommeil peuvent être extrinsèques (dépendance à la lumière de la sécrétion de mélatonine) ou intrinsèques par les *clock genes*. Dans ce cadre, il a été observé que l'expression des *clock genes*, responsables des rythmes circadiens et qui est régulée par le noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus (Baranwal et al., 2023; Pace-Schott and Hobson, 2002) est modifiée chez le rat

GAERS (Yamakawa et al., 2023). Une molécule importante à considérer dans la régulation des phases d'endormissement est l'adénosine. L'adénosine provient, à l'intérieur des neurones et des cellules gliales, de la dégradation des nucléotides comme l'ATP et l'ADP et diffuse dans le milieu extracellulaire notamment pendant l'état de veille où les besoins énergétiques sont importants. Une fois dans ce compartiment, elle active des récepteurs qui lui sont spécifiques (A1, A2a, A2b et A3), notamment au niveau du noyau latéral préoptique de l'hypothalamus (VLPO) pour causer l'endormissement. Chez le rat, il a été observé que la concentration extracellulaire en adénosine augmente avec la fatigue ou la privation de sommeil (Basheer et al., 2004) et que les niveaux d'adénosine extracellulaires sont plus élevés dans le striatum et l'hippocampe pendant la période active que pendant la période de repos (Huston et al., 1996). L'adénosine extracellulaire active notamment les récepteurs $A_{2A}R$, fortement exprimés sur des neurones striataux qui coexpriment les récepteurs dopaminergiques de type D2 (Borea et al., 2018). La fixation de l'adénosine sur les récepteurs $A_{2A}R$ active les neurones striataux (Ferré et al., 1993). On rappelle que l'activation de ces neurones striataux de la voie indirecte inhibe le mouvement et aggrave les crises d'absence (Deransart et al., 2000). Dans cette logique, chez les rats WAG/Rij, l'administration systémique d'adénosine augmente la fréquence des crises (Ilbay et al., 2001), tandis que l'injection de caféine, qui agit comme un antagoniste aux récepteurs à l'adénosine, a un effet pro-inflammatoire et diminue la fréquence des crises (Dede et al., 2019) ou les supprime chez le GAERS (Germé et al., 2015). Par conséquent, il est plausible que l'accumulation d'adénosine extracellulaire causée par l'allongement des périodes d'activité chez le GAERS modifie l'activité de ces neurones striataux $A_{2A}R/D2$ et favorise l'apparition des crises d'absence. Dans de futurs travaux, il serait pertinent de considérer l'altération éventuelle des cycles activité/repos chez le GAERS en amont du stade d'apparition des premières crises (autour de 8 semaines). Il serait aussi judicieux de tester l'effet éventuel de la caféine pour retarder ou empêcher le développement des crises d'absence. Enfin, on pourra se demander si, à l'inverse, l'injection d'agonistes aux récepteurs à l'adénosine serait suffisante pour générer des décharges pointes-ondes chez des rats non-épileptiques.

2) L'épilepsie et les mécanismes promoteurs de l'éveil

Outre les mécanismes promoteurs du sommeil précédemment décrits, des neuromodulateurs participent aussi au maintien de l'éveil. Parmi ceux-ci, on compte la sérotonine (sécrétée par le raphé), la noradrénaline (sécrétée par le locus cœreleus), l'histamine (sécrétée par le noyau tubéromamillaire), la dopamine (sécrétée par la substance noire et l'aire tegmentale ventrale) et l'acétylcholine (sécrétée par le tegmentum latérodorsal). La sécrétion de ces neuromodulateurs est régulée par l'orexine (aussi appelée hypocrétine) qui est produite par l'hypothalamus. Les neurones orexinergiques sont très actifs pendant l'éveil, modérément actifs pendant le sommeil lent et inactifs pendant le sommeil paradoxal. Ainsi, l'utilisation d'antagoniste des récepteurs orexinergiques juste

avant l'endormissement permet d'améliorer la qualité du sommeil (Sun et al., 2013). A l'extrême, le taux anormalement faible d'orexine causé par la perte pathologique de neurones orexinergiques est impliqué dans la narcolepsie, où les patients subissent de brusques transitions incontrôlables de l'éveil vers le sommeil REM. Des cas de patients narcoleptiques présentant des activités épileptiques, parmi lesquelles les décharges pointes-ondes (DPO) ont été rapportées, ce qui suggère des similitudes dans la physiopathologie de la narcolepsie et de l'épilepsie (Yang et al., 2012).

Bien que le lien entre la signalisation orexinergique et différentes formes d'épilepsie ait été démontré (Kortunay et al., 2012 ; **figure 40**), peu de travaux ont porté sur la relation entre l'épilepsie absence et l'activité orexinergique. Cette question suscite un intérêt croissant puisque deux études tout juste publiées ont mis en évidence, chez les deux modèles de rats épileptiques, une modulation à la baisse de récepteurs orexinergiques dans le thalamus et le cortex. Précisément, les récepteurs orexinergiques sont moins exprimés dans le thalamus de rats WAG/Rij et dans le cortex et le thalamus de rats GAERS (Celli and Luijtelaar, 2022; Toplu et al., 2023). D'après les auteurs, cela pourrait altérer le contrôle inhibiteur des neurones du noyau réticulé thalamique (nRT) sur les neurones du noyau ventrobasal (VB), ce qui diminuerait le seuil de déclenchement des crises d'absence (Celli and Luijtelaar, 2022 ; **figure 47**). Dans l'étude de Toplu et al, les auteurs rapportent aussi que l'utilisation d'agonistes orexinergiques permet de diminuer l'occurrence des crises et d'augmenter la quantité de sommeil lent. Cet effet pourrait être lié à l'obtention d'une meilleure « qualité » de sommeil chez ces rats GAERS, ce qui augmenterait le seuil de déclenchement des crises. A l'avenir, nous pourrions évaluer l'effet de l'utilisation d'agonistes ou d'antagonistes orexinergiques sur les durées des périodes d'activité et repos et mettre ces éventuels effets en relation avec l'occurrence des crises. Il serait également intéressant d'enregistrer l'activité des neurones orexinergiques de l'hypothalamus pour voir si leur activité diffère pendant les transitions de l'activité vers le repos selon que celles-ci s'accompagnent ou pas de crises. S'il s'avère que l'activité de ces neurones orexinergiques est différente en présence ou en absence de crise, leur stimulation optogénétique pourrait alors empêcher la survenue des crises.

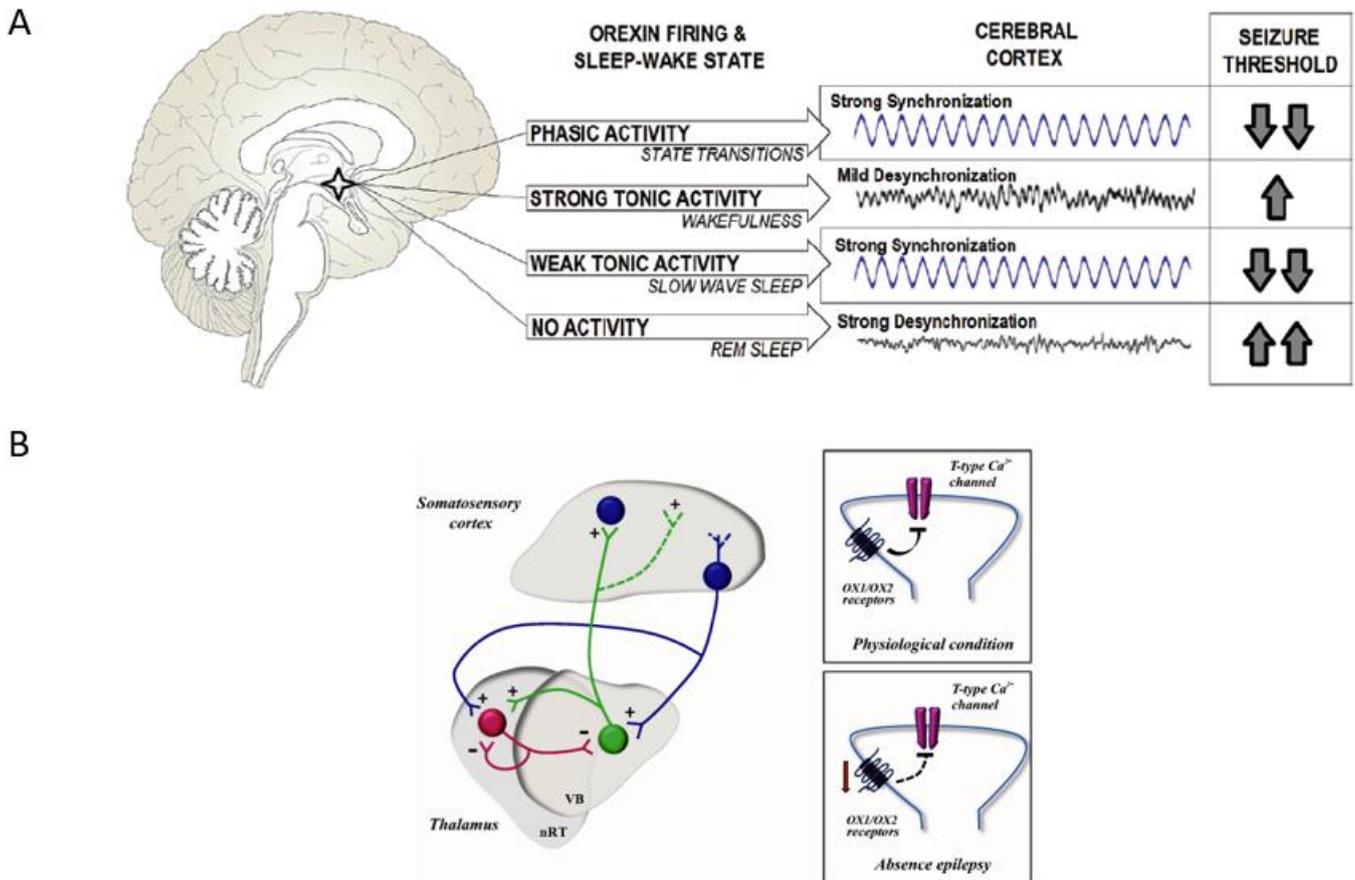


Figure 47 : Signalisation orexinergique et épilepsie. A. Effet de l'activité des neurones orexinergiques sur la synchronisation de l'activité corticale et sur le seuil de déclenchement des crises. On note que c'est pendant les états de transition et pendant le sommeil lent, lorsque les neurones orexinergiques ont une activité phasique ou tonique faible, que le seuil de déclenchement des crises est le plus bas, c'est-à-dire que la survenue des crises est facilitée. **B.** Effet de la diminution de l'expression des récepteurs orexinergiques (OX1 et OX2) sur l'activité de la boucle thalamo-corticale.

3) Privation de sommeil et épileptogénèse

Le paragraphe précédent suggère que des mécanismes en amont de la survenue des DPO et participant à la régulation des transitions éveil/repos sont à la base du déclenchement des DPO. Or, on pourrait imaginer que ce soit précisément l'inverse et que la survenue des DPO puisse empêcher l'animal ou le sujet de se reposer. Le fait que les durées des périodes d'activité et repos soient modifiées chez le GAERS soulève en effet la question de savoir si cela est une cause ou une conséquence de l'apparition des DPO mais n'y répond pas en soi. Cependant, l'analyse précise du timing des événements réalisée dans notre étude, a permis de constater que la cessation d'activité intervient avant l'augmentation du taux de crise et que les DPO ne seraient donc pas la cause de l'immobilité ictale. Une approche qui permettrait d'étudier plus en profondeur cette question serait de tester si le fait de restaurer des durées d'activité et de repos normales suffirait à supprimer les crises. Si tel est le cas, alors les crises d'absence seraient bien la conséquence d'une dérégulation des

durées des périodes d'activité et de repos. Inversement, l'administration d'un traitement anti-épileptique comme l'éthosuximide (ETX) serait alors susceptible de réduire les durées des périodes d'activité et repos. Une autre approche non pharmacologique serait de limiter l'état de privation de sommeil en modifiant les conditions d'hébergement, qui alternent entre une phase éclairée (12h) et une phase obscure (12h). Bien que les rongeurs soient des animaux nocturnes, et qu'ils soient plus actifs pendant la phase obscure, il a été montré que l'allongement des durées des périodes obscures est associée à un sommeil moins fragmenté (Tobler et al., 1994). En augmentant la durée des phases obscures, il est plausible que l'on puisse relativement naturellement augmenter la durée des périodes de sommeil et sortir les rats GAERS de leur état de privation de sommeil.

4) Effet de la privation de sommeil sur les comorbidités de l'épilepsie absence

Que ce soit chez l'Homme ou chez les rats épileptiques, l'épilepsie absence est souvent associée à des troubles de l'attention et de l'apprentissage (Caplan et al., 2008; Karson et al., 2012; Marques-Carneiro et al., 2016), de la dépression et de l'anxiété (Gencpinar et al., 2016; Jones et al., 2008). Autant il a été montré que l'administration d'ETX permet de prendre en charge ces comorbidités chez le rat (Dezsi et al., 2013; Sarkisova et al., 2010) autant chez l'Homme leur prise en compte est plus complexe (Glauser et al., 2010; Masur et al., 2013). Rétablir un sommeil de qualité suffisante chez le GAERS permettrait de comprendre quelle composante des comorbidités liées à l'épilepsie absence est due à cette dérégulation des rythmes biologiques. Pour cela, l'utilisation de tests comportementaux, permettrait d'évaluer des paramètres caractéristiques de la dépression comme l'anhédonie (test de préférence aux solutions sucrées), de l'anxiété comme la tendance à explorer des territoires exposés (*Elevated Plus Maze*), ou de l'apprentissage comme la capacité à retenir un chemin (piscine de Morris). Ces tests pourraient être réalisés avant et après avoir rétabli des périodes d'activité et repos par les méthodes proposées précédemment.

III. Développer l'acousto-optique *in vivo*

L'autre axe de mon travail a été de poser les bases sur lesquelles pourrait reposer l'imagerie acousto-optique de l'oxygénation sanguine du cerveau de rongeur. Ce projet constituait un défi considérable car l'imagerie acousto-optique *in vivo* est balbutiante. Les avancées effectuées durant ma thèse ont résidé dans le fait de déterminer les paramètres importants pour obtenir des images d'acousto-optique fiables sur cerveau extrait. J'ai d'abord réalisé des images d'un cerveau extrait et d'un cerveau dans sa boîte crânienne avant d'aborder de façon systématique la question de la sensibilité de la technique aux propriétés optiques du milieu imagé.

Mes travaux ont permis de lister les principaux obstacles inhérents à l'imagerie acousto-optique du cerveau et d'établir des stratégies pour les surmonter.

Ce développement technologique ambitieux qui fait appel à des notions physiques poussées, nécessite de maîtriser à la fois les paramètres de la lumière laser qui doit passer par l'échantillon de façon horizontale et ceux des ondes ultrasonores focalisées qui proviennent perpendiculairement depuis le côté dorsal. Il faut en outre gérer l'ouverture de la boîte crânienne nécessaire à l'accès de ces ondes électromagnétiques et ultrasonores mais aussi l'encombrement stérique autour de la tête de l'animal. Tous ces aspects présentent en eux-mêmes un défi méthodologique.

Lorsque nous avons tenté d'enregistrer du signal acousto-optique en transmission directe à travers un cerveau extrait de rat, nous nous sommes heurtés à la présence d'un halo de lumière qui était détecté autour de l'échantillon étudié. Nous avons déterminé que ce halo résultait de la détection de photons qui, au lieu de passer par l'échantillon biologique et d'être absorbés, étaient au contraire réfléchis à sa surface et atteignaient assez directement la fibre de collecte (**figure 48**). Dans ces conditions, le rapport de l'intensité du signal des photons qui ne pénétraient pas le tissu sur le signal des photons qui pénétraient le cerveau était de 4 ou 5. Cette différence d'intensité fait que le halo masque le signal intracérébral. Pour pallier ce problème, nous avons utilisé un zoom pour réduire le diamètre du faisceau de lumière et mieux l'orienter et le circonscrire au tissu cérébral. Une autre approche pourra être d'appliquer un seuil maximal d'intensité du signal en prenant comme référence le signal intracérébral.

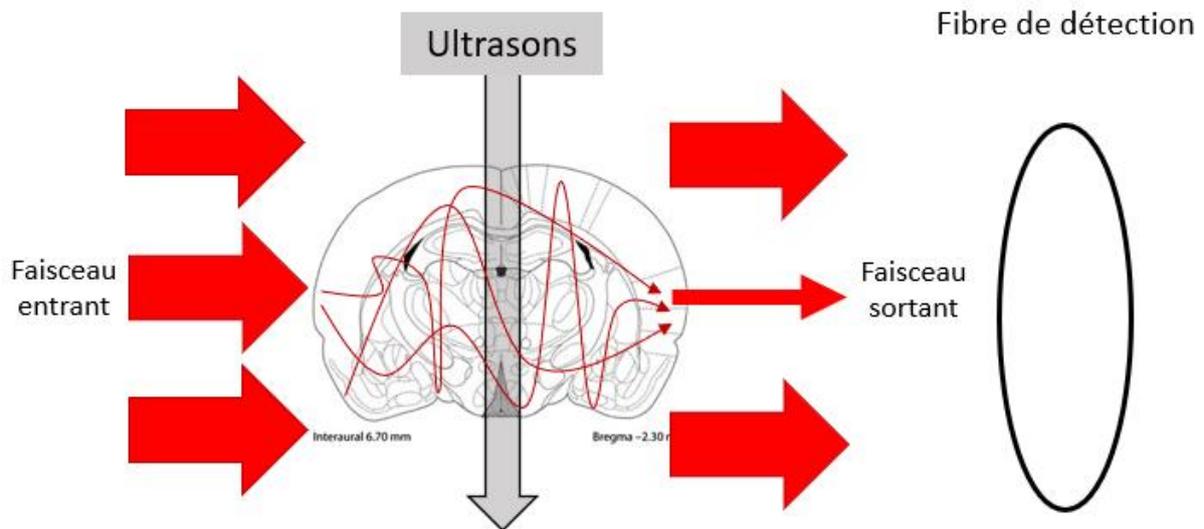


Figure 48 : Réflexion et transmission directe de la lumière.

Nos tentatives pour réaliser un volume 3D du cerveau de rat ont révélé qu'en transmission, la lumière diffuse préférentiellement selon un cône à travers le tissu. En effet, le diamètre du champ imagé augmente à mesure que l'on s'éloigne de la source de lumière (**figure 49A**). Cela pose plusieurs problèmes. Le premier est qu'avec les caractéristiques de notre lumière laser (laser MOPA réglé à 700 mW), on obtient des plans avec un champ imagé de 4mm de diamètre sur un plan parasagittal. Or, pour imager tout le cerveau dans sa largeur, il nous faudrait un champ d'environ 1cm de diamètre. Le second est que l'intensité maximale du signal varie selon le plan imagé, les plans les plus éloignés de la source laser ont une intensité de signal plus faible que les plans les plus proches, ce qui complique la comparaison entre des images de plans différents. Pour contourner ces problèmes, il serait possible d'illuminer le tissu avec une fibre optique à ramifications (**figure 49B**). Cette approche aurait aussi pour avantage de permettre d'augmenter la puissance du laser utilisée sans risquer d'endommager le tissu.

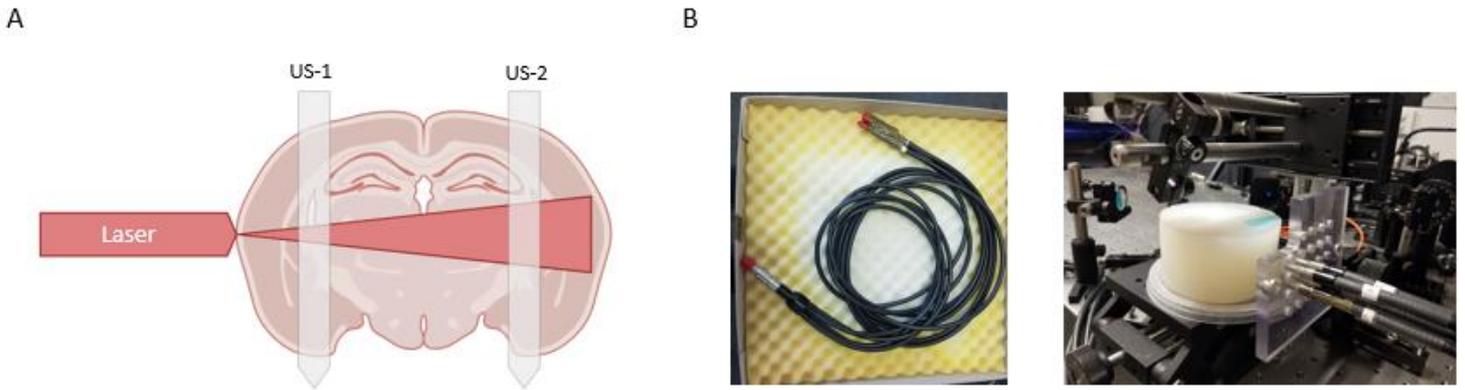


Figure 49 : L'influence de l'illumination sur le diamètre du champ imagé. **A.** Trajectoire conique de la lumière à travers le tissu. US-1/2 : différentes positions du faisceau d'ultrasons. **B.** Photographies de la fibre à 4 ramifications (gauche) et du montage optique avec cette fibre (droite)

Actuellement, les images d'acousto-optique ne peuvent être acquises qu'à une fréquence d'environ 1 image/minute. Cela est dû au fait que l'on moyenne plusieurs centaines d'acquisitions pour obtenir une image. Ces moyennages sont nécessaires en raison de la trop faible sensibilité du cristal photoréfractif qui nous sert de système de détection des photons. Toutefois, nous avons testé de ne faire des images que sur des colonnes de pixels, ce qui permettait de produire une image toutes les 5 secondes, augmentant considérablement la cadence à laquelle nos images étaient faites. Une autre approche pour améliorer la cadence d'acquisition serait de changer de système de détection en utilisant une détection numérique (caméra CMOS) ou d'utiliser la méthode de *holeburning*. Le *holeburning* consiste à supprimer l'absorption d'un matériau à des longueurs d'ondes précises, lorsque ce matériau est exposé à de la lumière. On parle de création de « trous » dans le spectre d'absorption. Ainsi, si ce matériau est exposé à un signal acousto-optique, on verra apparaître 3 bandes d'absorption qui correspondent aux photons non marqués et aux photons marqués, c'est-à-dire aux seules informations qui nous intéressent pour créer notre signal.

Un autre point qui a posé problème pendant mes travaux est que sur le dispositif utilisé il existait un décalage temporel entre l'émission des ultrasons et des photons qui se traduit par un décalage spatial entre l'image acoustique et l'image acousto-optique. L'importance de ce décalage varie en fonction de la fréquence des ultrasons que l'on utilise. Or, l'image acoustique sert à repérer les objets imagés. Donc, la variabilité de ce décalage constitue un réel obstacle pour localiser le signal acousto-optique par rapport à l'échantillon imagé. La solution à court terme que j'ai choisie a été de déterminer empiriquement la valeur du décalage à une fréquence ultrasonore donnée et de conserver ce paramètre. Pour cela, j'ai placé un obstacle optique (règle en aluminium) à une profondeur donnée du champ imagé, et j'ai comparé la profondeur de cet obstacle entre l'image acoustique et l'image

acousto-optique. J'ai pu voir que pour une fréquence ultrasonore de 6MHz, le décalage entre les deux images était de 5mm. La **figure 50** illustre le décalage entre les deux images et montre que pour un objet qui est optiquement relativement homogène (le cerveau extrait), ce décalage est invisible.

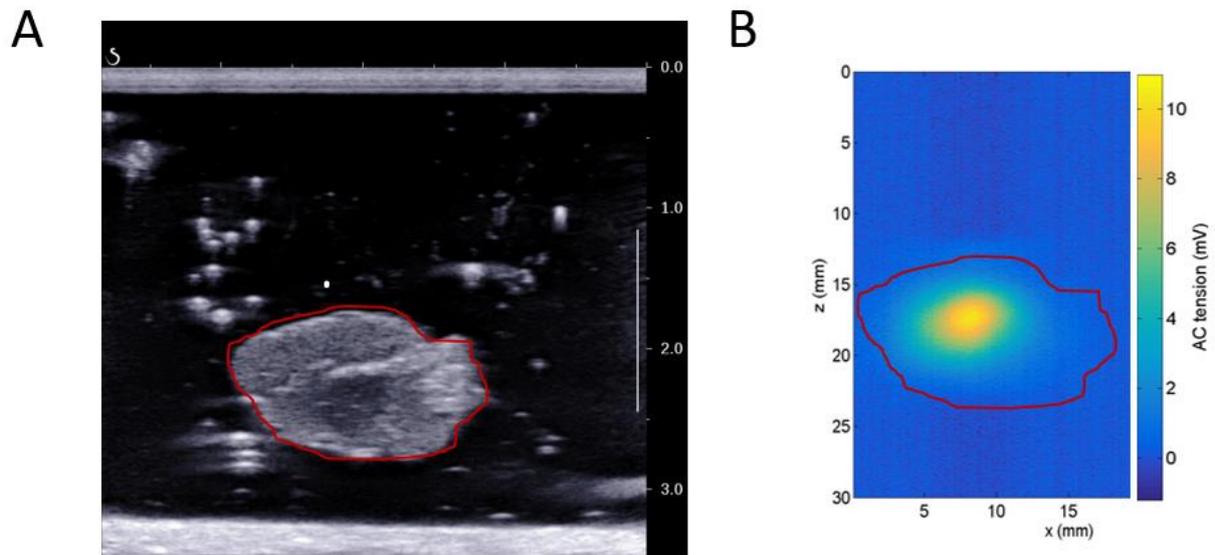


Figure 50 : Décalage entre l'image acoustique (A) et l'image acousto-optique (B). On note qu'entre les deux images, la limite dorsale du cerveau de rat (délimité en rouge) est détectée à la profondeur de 17mm en **A** et de 12mm en **B**.

Pour finir, une fois que ces obstacles seront contournés, il sera possible d'utiliser des laser à deux longueurs d'ondes différentes (760nm et 850nm) qui permettront de mesurer les taux d'hémoglobine oxygénée et désoxygénée. La prochaine étape sera de réaliser des mesures d'oxymétrie cérébrales localisées chez le rat, suite à l'application corticale d'un agent dépolarisant (4AP) comme il a été fait dans des travaux précédents lors du développement du fUS (Macé et al., 2011) ou en faisant des stimulations des moustaches pour détecter des activations corticales et thalamiques. A terme, on souhaitera développer l'imagerie acousto-optique chez des rats vigiles et mobiles.

IV. Implication dans des projets en cours

Pendant toute ma thèse, je n'ai pas perdu de vue l'un des objectifs principaux de l'équipe qui est d'utiliser le cas de l'épilepsie absence pour étudier la mise en jeu de diverses structures corticales et sous-corticales dans la genèse d'une activité de réseau. Si l'acousto-optique n'est pas encore prête pour être associée à la compréhension des enjeux métaboliques de ce processus, nous avons développé les enregistrements longs des états comportementaux couplés au suivi des DPO et nous

avons compris comment optimiser les enregistrements en fonction de ce phénomène de « clusterisation » des crises. Il s'agissait d'associer ces enregistrements longs à une technique de laboratoire qui est l'enregistrement fonctionnel ultrasonore (fUS) des flux vasculaires. J'ai donc couplé l'imagerie fUS aux enregistrements longs (pendant 7h) EEG-EMG/EOG/ACCEL pour permettre une normalisation fiable du signal fUS en fonction du niveau d'activité comportemental de l'animal. Cette approche permet de combiner la détection des états de crises, celle des différents niveaux d'activité comportementales et le suivi des variations hémodynamiques dans le cortex et les structures sous-corticales, chez des rats mobiles et sans sédation. Pour cela, j'ai ajouté à la chirurgie déjà existante (Sieu et al., 2015) le placement d'électrodes dans les muscles du cou et dans les muscles périoculaires (cf chapitre 2). J'ai aussi élargi la fenêtre crânienne afin de réaliser des enregistrements sur une étendue antéro-postérieure du cerveau (de la partie antérieure du cervelet à la partie postérieure des bulbes olfactifs). Enfin, j'ai pu élargir le puit de placement de la sonde ultrasonore pour résoudre le problème récurrent de fuite de gel au cours des enregistrements. Après une période de mise au point technique, j'ai réalisé les premiers enregistrements sur les rats GAERS (n=2) et l'analyse de ces expériences devrait permettre une meilleure description de la signature vasculaire des DPO et des mécanismes responsables des crises. A terme, les nouvelles hypothèses de travail qui résulteront de ce type d'observations jalonneront les futures expériences visant à ajouter, par le biais de l'acousto-optique, la composante métabolique au schéma mécanistique.

En parallèle à mes travaux principaux, j'ai participé, dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire BioMaps, à un projet visant à caractériser les variations de l'anatomie vasculaire avant et après ouverture de la barrière hémato-encéphalique (BHE) dans le cortex de rat wistar. Pour cela, nous réalisons des images anatomiques avec de l'imagerie ultrasonore à super-résolution (USSR). L'USSR nécessite l'emploi de microbulles de 3µm de diamètre injectées dans la veine caudale du rat. Ces microbulles se propagent dans la circulation sanguine cérébrale et sont détectées par l'écho ultrasonore qu'elles produisent. Cet outil est très puissant pour cartographier de façon complète et précise l'anatomie vasculaire cérébrale, avant et après l'ouverture de BHE. Après une période de mise au point du protocole, nous avons pu constater (n=1 rat) que l'ouverture de BHE diminuait le volume sanguin dans certains vaisseaux corticaux. Il s'agira ensuite de reproduire ces expériences pour voir si cet effet s'observe de nouveau.

Parce que l'imagerie cérébrale nécessite de pouvoir identifier les structures enregistrées, j'ai participé au développement d'un atlas 3D de cerveau de rat adapté à l'imagerie ultrasonore. Cet atlas se base sur des repères anatomiques corticaux et vasculaires (dimension, forme) qui permettent de localiser un plan d'enregistrement sur l'axe antéro-postérieur (plan coronal) ou l'axe médio-latéral (plan sagittal ou parasagittal). Pour ce projet, j'ai préparé des rats et réalisé des enregistrements *in*

vivo de leur cerveau (n=6) sur des plans successifs recouvrant tout l'axe antéro-postérieur de la partie antérieure du cervelet à la partie postérieure des bulbes olfactifs. L'obtention de ces images a été rendue possible par l'élargissement de la fenêtre crânienne comme précédemment mentionnée. L'acquisition de données stables et de grande qualité était nécessaire car elles serviraient de base pour établir les repères anatomiques cérébraux.

CONCLUSION

Le fait de m'immerger dans ces problématiques liées aux réseaux, aux activités électriques pathologiques qu'ils produisent et à l'imagerie des flux vasculaires et/ou consommation énergétiques qu'elles nécessitent, m'a amené à repenser la façon dont ces études ont débuté et sur le fait, présenté en introduction, qu'il y ait encore aujourd'hui une polémique quant à l'origine corticale ou thalamique des crises. Nous avons eu une approche beaucoup plus holistique où nous cherchons simplement à observer les réseaux neuronaux. Ceux-ci étant très dynamiques, il y a fort à parier qu'à un même état cérébral puisse correspondre des activités de réseau très différentes, avec des implications non stéréotypées des types cellulaires et structures neuronales. Dès lors, ce qui pourra caractériser un sujet épileptique d'un sujet sain ou une période ictale d'une période interictale, n'est peut-être pas à trouver dans la séquence de mise en jeu des types cellulaires et structures neuronales, mais plutôt dans le niveau global que j'appellerais « résilience » du réseau quel qu'il soit, et que je définirais par sa propension à rester dans le même état ou à tomber dans un état de résilience supérieure. C'est la forte résilience des états de crises qui pourrait attirer/absorber les réseaux vers ces oscillations lentes, cycliques et synchrones que sont les DPO. Il ne serait pas impossible qu'un niveau de résilience anormalement élevé soit dû à une anomalie du mécanisme de couplage neurovasculaire et c'est ce que nos développements technologiques devraient nous aider à élucider.

Après tant d'investissement dans ces sujets passionnants, je rêve du jour, pas si éloigné je pense, où l'apport combiné de toutes ces approches permettra de jouer avec cette balance complexe de la régulation des états cérébraux. L'objectif étant de maintenir les enfants épileptiques en dessous du seuil de déclenchement de crises d'absence délétères, le temps nécessaire pour que leur cerveau et leurs capacités cognitives se développent sans entrave.

REFERENCES

- A La Guillaume, E.B., 2013. Imagerie acousto-optique dans les milieux diffusants épais: de l'amélioration technique à l'application pré-clinique ex vivo. Université Pierre et Marie Curie. pastel-00916570.
- Aalling, N.N., Nedergaard, M., DiNuzzo, M., 2018. Cerebral Metabolic Changes During Sleep. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 18, 57. <https://doi.org/10.1007/s11910-018-0868-9>
- Aaslid, R., Markwalder, T.-M., Nornes, H., 1982. Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries. *J. Neurosurg.* 57, 769–774. <https://doi.org/10.3171/jns.1982.57.6.0769>
- Abbasova, K.R., Chepurinov, S.A., Chepurnova, N.E., van Luijckelaar, G., 2010. The role of perioral afferentation in the occurrence of spike-wave discharges in the WAG/Rij model of absence epilepsy. *Brain Res.* 1366, 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.10.007>
- Abhang, P.A., Gawali, B.W., Mehrotra, S.C., 2016. Technological Basics of EEG Recording and Operation of Apparatus, in: *Introduction to EEG- and Speech-Based Emotion Recognition*. Elsevier, pp. 19–50. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804490-2.00002-6>
- Achermann, P., Borbély, A.A., 1997. Low-frequency (<1Hz) oscillations in the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience* 81, 213–222. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00186-3](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00186-3)
- Adie, W.J., 1924. Pyknolepsy: A Form of Epilepsy occurring in Children, with a Good Prognosis. *Brain* 47, 96–101. <https://doi.org/10.1093/brain/47.1.96>
- Adrian, E.D., Matthews, B.H.C., 1934. The interpretation of potential waves in the cortex. *J. Physiol.* 81, 440–471.
- Aghakhani, Y., 2004. fMRI activation during spike and wave discharges in idiopathic generalized epilepsy. *Brain* 127, 1127–1144. <https://doi.org/10.1093/brain/awh136>
- Akman, O., Demiralp, T., Ates, N., Onat, F.Y., 2010. Electroencephalographic differences between WAG/Rij and GAERS rat models of absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 89, 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2009.12.005>
- Aladjalova, N.A., 1957. Infra-Slow Rhythmic Oscillations of The Steady Potential of the Cerebral Cortex. *Nature* 179, 957–959. <https://doi.org/10.1038/179957a0>
- Archer, J., 2003. fMRI “deactivation” of the posterior cingulate during generalized spike and wave. *NeuroImage* 20, 1915–1922. [https://doi.org/10.1016/S1053-8119\(03\)00294-5](https://doi.org/10.1016/S1053-8119(03)00294-5)
- Ashkin, A., Boyd, G.D., Dziedzic, J.M., Smith, R.G., Ballman, A.A., Levinstein, J.J., Nassau, K., 1966. OPTICALLY-INDUCED REFRACTIVE INDEX INHOMOGENEITIES IN LiNbO₃ AND LiTaO₃. *Appl. Phys. Lett.* 9, 72–74. <https://doi.org/10.1063/1.1754607>
- Assous, M., Tepper, J.M., 2019. Excitatory extrinsic afferents to striatal interneurons and interactions with striatal microcircuitry. *Eur. J. Neurosci.* 49, 593–603. <https://doi.org/10.1111/ejn.13881>
- Avanzini, G., Vergnes, M., Spreafico, R., Marescaux, C., 1993. Calcium-Dependent Regulation of Genetically Determined Spike and Waves by the Reticular Thalamic Nucleus of Rats. *Epilepsia* 34, 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1993.tb02369.x>
- Avoli, M., 2012. A brief history on the oscillating roles of thalamus and cortex in absence seizures. *Epilepsia* 53, 779–789. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03421.x>
- Avoli, M., 1995. Feline generalized penicillin epilepsy. *Ital. J. Neurol. Sci.* 16, 79–82. <https://doi.org/10.1007/BF02229078>
- Avoli, M., Gloor, P., 1982. Interaction of cortex and thalamus in spike and wave discharges of feline generalized penicillin epilepsy. *Exp. Neurol.* 76, 196–217. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(82\)90112-1](https://doi.org/10.1016/0014-4886(82)90112-1)
- Ayala, G.F., Lin, S., Vasconetto, C., 1970. Penicillin as Epileptogenic Agent: Its Effect on an Isolated Neuron. *Science* 167, 1257–1260. <https://doi.org/10.1126/science.167.3922.1257>
- Azumi, K., Shirakawa, S., 1982. Characteristics of Spindle Activity and Their Use in Evaluation of Hypnotics. *Sleep* 5, 95–105. <https://doi.org/10.1093/sleep/5.1.95>

- Bai, X., Vestal, M., Berman, R., Negishi, M., Spann, M., Vega, C., Desalvo, M., Novotny, E.J., Constable, R.T., Blumenfeld, H., 2010a. Dynamic time course of typical childhood absence seizures: EEG, behavior, and functional magnetic resonance imaging. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 5884–5893. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5101-09.2010>
- Bai, X., Vestal, M., Berman, R., Negishi, M., Spann, M., Vega, C., Desalvo, M., Novotny, E.J., Constable, R.T., Blumenfeld, H., 2010b. Dynamic time course of typical childhood absence seizures: EEG, behavior, and functional magnetic resonance imaging. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 5884–5893. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5101-09.2010>
- Bal, T., Von Krosigk, M., McCormick, D.A., 1995a. Role of the ferret perigeniculate nucleus in the generation of synchronized oscillations in vitro. *J. Physiol.* 483, 665–685. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1995.sp020613>
- Bal, T., Von Krosigk, M., McCormick, D.A., 1995b. Synaptic and membrane mechanisms underlying synchronized oscillations in the ferret lateral geniculate nucleus in vitro. *J. Physiol.* 483, 641–663. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1995.sp020612>
- Baranwal, N., Yu, P.K., Siegel, N.S., 2023. Sleep physiology, pathophysiology, and sleep hygiene. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 77, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2023.02.005>
- Basheer, R., Strecker, R.E., Thakkar, M.M., McCarley, R.W., 2004. Adenosine and sleep–wake regulation. *Prog. Neurobiol.* 73, 379–396. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2004.06.004>
- Bélanger, M., Allaman, I., Magistretti, P.J., 2011. Brain Energy Metabolism: Focus on Astrocyte–Neuron Metabolic Cooperation. *Cell Metab.* 14, 724–738. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.08.016>
- Bercoff, J., Montaldo, G., Loupas, T., Savery, D., Mézière, F., Fink, M., Tanter, M., 2011. Ultrafast compound doppler imaging: providing full blood flow characterization. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 58, 134–147. <https://doi.org/10.1109/TUFFC.2011.1780>
- Berg, A.T., Levy, S.R., Testa, F.M., Blumenfeld, H., 2014. Long-term seizure remission in childhood absence epilepsy: Might initial treatment matter? *Epilepsia* 55, 551–557. <https://doi.org/10.1111/epi.12551>
- Berg, A.T., Shinnar, S., Levy, S.R., Testa, F.M., 1999. Newly Diagnosed Epilepsy in Children: Presentation at Diagnosis. *Epilepsia* 40, 445–452. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb00739.x>
- Bergel, A., Deffieux, T., Demené, C., Tanter, M., Cohen, I., 2018. Local hippocampal fast gamma rhythms precede brain-wide hyperemic patterns during spontaneous rodent REM sleep. *Nat. Commun.* 9, 5364. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07752-3>
- Berger, H., 1929. Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Arch. Für Psychiatr. Nervenkrankh.* 87, 527–570. <https://doi.org/10.1007/BF01797193>
- Berman, R., Negishi, M., Vestal, M., Spann, M., Chung, M.H., Bai, X., Purcaro, M., Motelow, J.E., Danielson, N., Dix-Cooper, L., Enev, M., Novotny, E.J., Constable, R.T., Blumenfeld, H., 2010. Simultaneous EEG, fMRI, and behavior in typical childhood absence seizures. *Epilepsia* 51, 2011–2022. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02652.x>
- Bessaïh, T., Bourgeois, L., Badiu, C.I., Carter, D.A., Toth, T.I., Ruano, D., Lambolez, B., Crunelli, V., Leresche, N., 2006. Nucleus-Specific Abnormalities of GABAergic Synaptic Transmission in a Genetic Model of Absence Seizures. *J. Neurophysiol.* 96, 3074–3081. <https://doi.org/10.1152/jn.00682.2006>
- Bin He, Zhongming Liu, 2008. Multimodal Functional Neuroimaging: Integrating Functional MRI and EEG/MEG. *IEEE Rev. Biomed. Eng.* 1, 23–40. <https://doi.org/10.1109/RBME.2008.2008233>
- Binder, J.R., Frost, J.A., Hammeke, T.A., Cox, R.W., Rao, S.M., Prieto, T., 1997. Human Brain Language Areas Identified by Functional Magnetic Resonance Imaging. *J. Neurosci.* 17, 353–362. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-01-00353.1997>
- Birioukova, L.M., Midzyanovskaya, I.S., Lensu, S., Tuomisto, L., Van Luijtelaaar, G., 2005. Distribution of D1-like and D2-like dopamine receptors in the brain of genetic epileptic WAG/Rij rats. *Epilepsy Res.* 63, 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2004.12.001>
- Bishop, J.M., n.d. HISTORY AND PHILOSOPHY OF NEURAL NETWORKS.

- Blumenfeld, H., 2007. Functional MRI Studies of Animal Models in Epilepsy. *Epilepsia* 48, 18–26. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01238.x>
- Blumenfeld, H., Klein, J.P., Schridde, U., Vestal, M., Rice, T., Khera, D.S., Bashyal, C., Gibling, K., Paul-Laughinghouse, C., Wang, F., Phadke, A., Mission, J., Agarwal, R.K., Englot, D.J., Motelow, J., Nersesyan, H., Waxman, S.G., Levin, A.R., 2008. Early treatment suppresses the development of spike-wave epilepsy in a rat model. *Epilepsia* 49, 400–409. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01458.x>
- Bode, H., 1992. Intracranial blood flow velocities during seizures and generalized epileptic discharges. *Eur. J. Pediatr.* 151, 706–709. <https://doi.org/10.1007/BF01957579>
- Bolar, D.S., Rosen, B.R., Sorensen, A.G., Adalsteinsson, E., 2011. QUantitative Imaging of eXtraction of oxygen and Tissue consumption (QUIXOTIC) using venular-targeted velocity-selective spin labeling. *Magn. Reson. Med.* 66, 1550–1562. <https://doi.org/10.1002/mrm.22946>
- Borea, P.A., Gessi, S., Merighi, S., Vincenzi, F., Varani, K., 2018. Pharmacology of Adenosine Receptors: The State of the Art. *Physiol. Rev.* 98, 1591–1625. <https://doi.org/10.1152/physrev.00049.2017>
- Bouyer, J.J., Montaron, M.F., Rougeul, A., 1981. Fast fronto-parietal rhythms during combined focused attentive behaviour and immobility in cat: cortical and thalamic localizations. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 51, 244–252. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(81\)90138-3](https://doi.org/10.1016/0013-4694(81)90138-3)
- Bowlby, M.R., 1993. Pregnenolone sulfate potentiation of N-methyl-D-aspartate receptor channels in hippocampal neurons. *Mol. Pharmacol.* 43, 813–819.
- Bratchenia, A., Molenaar, R., Van Leewen, T., Kooyman, R.P.H., 2009. Millimeter-resolution acousto-optic quantitative imaging in a tissue model system. *J. Biomed. Opt.* 14, 034031. <https://doi.org/10.1117/1.3153894>
- Brigo, F., Igwe, S.C., 2017. Ethosuximide, sodium valproate or lamotrigine for absence seizures in children and adolescents. *Cochrane Database Syst. Rev.* <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003032.pub3>
- Broicher, T., Kanyshkova, T., Meuth, P., Pape, H.-C., Budde, T., 2008. Correlation of T-channel coding gene expression, IT, and the low threshold Ca²⁺ spike in the thalamus of a rat model of absence epilepsy. *Mol. Cell. Neurosci.* 39, 384–399. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2008.07.012>
- Budziszewska, B., Van Luijtelaaar, G., Coenen, A.M.L., Leśkiewicz, M., Lasoń, W., 1999. Effects of neurosteroids on spike-wave discharges in the genetic epileptic WAG/Rij rat. *Epilepsy Res.* 33, 23–29. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(98\)00067-9](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(98)00067-9)
- Buxton, R.B., Wong, E.C., Frank, L.R., 1998. Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: The balloon model. *Magn. Reson. Med.* 39, 855–864. <https://doi.org/10.1002/mrm.1910390602>
- Buzsaki, G., Bickford, R., Ponomareff, G., Thal, L., Mandel, R., Gage, F., 1988. Nucleus basalis and thalamic control of neocortical activity in the freely moving rat. *J. Neurosci.* 8, 4007–4026. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.08-11-04007.1988>
- Caddick, S.J., Wang, C., Fletcher, C.F., Jenkins, N.A., Copeland, N.G., Hosford, D.A., 1999. Excitatory But Not Inhibitory Synaptic Transmission Is Reduced in Lethargic (*Cacnb4*^{lh}) and Tottering (*Cacna1a*^{tg}) Mouse Thalami. *J. Neurophysiol.* 81, 2066–2074. <https://doi.org/10.1152/jn.1999.81.5.2066>
- Cahill, G.F., Herrera, M.G., Morgan, A.P., Soeldner, J.S., Steinke, J., Levy, P.L., Reichard, G.A., Kipnis, D.M., 1966. Hormone-fuel interrelationships during fasting. *J. Clin. Invest.* 45, 1751–1769. <https://doi.org/10.1172/JCI105481>
- Caplan, R., Siddarth, P., Stahl, L., Lanphier, E., Vona, P., Gurbani, S., Koh, S., Sankar, R., Shields, W.D., 2008. Childhood absence epilepsy: Behavioral, cognitive, and linguistic comorbidities. *Epilepsia* 49, 1838–1846. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01680.x>
- Casillas-Espinosa, P.M., Lin, R., Li, R., Nandakumar, N.M., Dawson, G., Braine, E.L., Martin, B., Powell, K.L., O'Brien, T.J., 2023. Effects of the T-type calcium channel CaV3.2 R1584P mutation on

- absence seizure susceptibility in GAERS and NEC congenic rats models. *Neurobiol. Dis.* 184, 106217. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106217>
- Cavada, C., Goldman-Rakic, P.S., 1991. Topographic segregation of corticostriatal projections from posterior parietal subdivisions in the macaque monkey. *Neuroscience* 42, 683–696. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90037-O](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90037-O)
- Celli, R., Luijtelaar, G.V., 2022. The Orexin System: A Potential Player in the Pathophysiology of Absence Epilepsy. *Curr. Neuropharmacol.* 20, 1254–1260. <https://doi.org/10.2174/1570159X19666211215122833>
- Celli, R., Santolini, I., Guiducci, M., van Luijtelaar, G., Parisi, P., Striano, P., Gradini, R., Battaglia, G., Ngomba, R.T., Nicoletti, F., 2017. The $\alpha\delta$ Subunit and Absence Epilepsy: Beyond Calcium Channels? *Curr. Neuropharmacol.* 15. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666170309105451>
- Chen, F.S., LaMacchia, J.T., Fraser, D.B., 1968. HOLOGRAPHIC STORAGE IN LITHIUM NIOBATE. *Appl. Phys. Lett.* 13, 223–225. <https://doi.org/10.1063/1.1652580>
- 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. <https://doi.org/10.1002/ana.10607>
- Coenen, A.M.L., Van Luijtelaar, E.L.J.M., 1987. The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Res.* 1, 297–301. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(87\)90005-2](https://doi.org/10.1016/0920-1211(87)90005-2)
- Conley, M., Fitzpatrick, D., 1989. Morphology of retinogeniculate axons in the macaque. *Vis. Neurosci.* 2, 287–296. <https://doi.org/10.1017/S0952523800001206>
- Cope, D.W., Di Giovanni, G., Fyson, S.J., Orbán, G., Errington, A.C., Lőrincz, M.L., Gould, T.M., Carter, D.A., Crunelli, V., 2009. Enhanced tonic GABA inhibition in typical absence epilepsy. *Nat. Med.* 15, 1392–1398. <https://doi.org/10.1038/nm.2058>
- Coppola, A., Moshé, S.L., 2012. Animal models, in: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier, pp. 63–98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52898-8.00004-5>
- Coulter, D.A., Huguenard, J.R., Prince, D.A., 1989. Specific petit mal anticonvulsants reduce calcium currents in thalamic neurons. *Neurosci. Lett.* 98, 74–78. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(89\)90376-5](https://doi.org/10.1016/0304-3940(89)90376-5)
- Crespi, F., 2007. Near-Infrared Spectroscopy (NIRS): A Non-Invasive In Vivo Methodology for Analysis of Brain Vascular and Metabolic Activities in Real Time in Rodents. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 5, 305–321. <https://doi.org/10.2174/157016107782023398>
- Curtis, D.R., Game, C.J., Johnston, G.A., McCulloch, R.M., MacLachlan, R.M., 1972. Convulsive action of penicillin. *Brain Res.* 43, 242–245. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(72\)90288-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(72)90288-0)
- Dang-Vu, T.T., McKinney, S.M., Buxton, O.M., Solet, J.M., Ellenbogen, J.M., 2010. Spontaneous brain rhythms predict sleep stability in the face of noise. *Curr. Biol.* 20, R626–R627. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.06.032>
- David, O., Guillemain, I., Saille, S., Reyt, S., Deransart, C., Segebarth, C., Depaulis, A., 2008a. Identifying Neural Drivers with Functional MRI: An Electrophysiological Validation. *PLoS Biol.* 6, e315. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060315>
- David, O., Guillemain, I., Saille, S., Reyt, S., Deransart, C., Segebarth, C., Depaulis, A., 2008b. Identifying Neural Drivers with Functional MRI: An Electrophysiological Validation. *PLoS Biol.* 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060315>
- Davidoff, R.A., 1972. Penicillin and inhibition in the cat spinal cord. *Brain Res.* 45, 638–642. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(72\)90498-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(72)90498-2)
- De Goede, A.A., Van Putten, M.J.A.M., 2019. Infralow activity as a potential modulator of corticomotor excitability. *J. Neurophysiol.* 122, 325–335. <https://doi.org/10.1152/jn.00663.2018>
- De Simone, R., Placidi, F., Diomed, M., Marciari, M.G., Silvestrini, M., 2002. Inter-hemispheric asymmetry of cerebral flow velocities during generalized spike-wave discharges. *J. Neurol.* 249, 1191–1194. <https://doi.org/10.1007/s00415-002-0803-4>

- De Simone, R., Silvestrini, M., Marciani, M.G., Curatolo, P., 1998a. Changes in cerebral blood flow velocities during childhood absence seizures. *Pediatr. Neurol.* 18, 132–135. [https://doi.org/10.1016/S0887-8994\(97\)00165-3](https://doi.org/10.1016/S0887-8994(97)00165-3)
- De Simone, R., Silvestrini, M., Marciani, M.G., Curatolo, P., 1998b. Changes in cerebral blood flow velocities during childhood absence seizures. *Pediatr. Neurol.* 18, 132–135. [https://doi.org/10.1016/S0887-8994\(97\)00165-3](https://doi.org/10.1016/S0887-8994(97)00165-3)
- De Vis, J.B., Petersen, E.T., Alderliesten, T., Groenendaal, F., De Vries, L.S., Van Bel, F., Benders, M.J.N.L., Hendrikse, J., 2014. Non-invasive MRI measurements of venous oxygenation, oxygen extraction fraction and oxygen consumption in neonates. *NeuroImage* 95, 185–192. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.03.060>
- Dede, F., Karadenizli, S., Ozsoy, O.D., Eraldemir, F.C., Sahin, D., Ates, N., 2019. Antagonism of adenosinergic system decrease SWD occurrence via an increment in thalamic NFkB and IL-6 in absence epilepsy. *J. Neuroimmunol.* 326, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2018.11.004>
- Delpy, D.T., Cope, M., Zee, P.V.D., Arridge, S., Wray, S., Wyatt, J., 1988. Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement. *Phys. Med. Biol.* 33, 1433–1442. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/33/12/008>
- 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. *J. Neurosci. Methods* 260, 159–174. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.05.022>
- Depaulis, A., Van Luijtelaaar, G., 2006. Genetic Models of Absence Epilepsy in the Rat, in: *Models of Seizures and Epilepsy*. Elsevier, pp. 233–248. <https://doi.org/10.1016/B978-012088554-1/50020-7>
- Depaulis, A., Vergnes, M., Marescaux, C., Lannes, B., Warter, J.-M., 1988. Evidence that activation of GABA receptors in the substantia nigra suppresses spontaneous spike-and-wave discharges in the rat. *Brain Res.* 448, 20–29. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)91097-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)91097-9)
- Deransart, C., Riban, V., Lê, B.-T., 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. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00266-9](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00266-9)
- Deransart, C., Vercueil, L., Marescaux, C., Depaulis, A., 1998. The role of basal ganglia in the control of generalized absence seizures. *Epilepsy Res.* 32, 213–223. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(98\)00053-9](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(98)00053-9)
- Desmedt, J.E., Tomberg, C., 1994. Transient phase-locking of 40 Hz electrical oscillations in prefrontal and parietal human cortex reflects the process of conscious somatic perception. *Neurosci. Lett.* 168, 126–129. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)90432-4](https://doi.org/10.1016/0304-3940(94)90432-4)
- Dezsi, G., Ozturk, E., Stanic, D., Powell, K.L., Blumenfeld, H., O'Brien, T.J., Jones, N.C., 2013. Ethosuximide reduces epileptogenesis and behavioural comorbidity in the GAERS model of genetic generalised epilepsy. *Epilepsia* 54, 635–643. <https://doi.org/10.1111/epi.12118>
- Dijk, D.-J., Hayes, B., Czeisler, C.A., 1993. Dynamics of electroencephalographic sleep spindles and slow wave activity in men: effect of sleep deprivation. *Brain Res.* 626, 190–199. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90579-C](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90579-C)
- Dolotov, O.V., Inozemtseva, L.S., Myasoedov, N.F., Grivennikov, I.A., 2022. Stress-Induced Depression and Alzheimer's Disease: Focus on Astrocytes. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 4999. <https://doi.org/10.3390/ijms23094999>
- Dorr, A., Sled, J.G., Kabani, N., 2007. Three-dimensional cerebral vasculature of the CBA mouse brain: A magnetic resonance imaging and micro computed tomography study. *NeuroImage* 35, 1409–1423. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.12.040>
- Drinkenburg, W.H.I.M., Coenen, A.M.L., Vossen, J.M.H., Van Luijtelaaar, E.L.J.M., 1995. Sleep Deprivation and Spike-Wave Discharges in Epileptic Rats. *Sleep* 18, 252–256. <https://doi.org/10.1093/sleep/18.4.252>

- Drinkenburg, W.H.I.M., Coenen, A.M.L., Vossen, J.M.H., Van Luijtelaar, E.L.J.M., 1991. Spike-wave discharges and sleep-wake states in rats with absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 9, 218–224. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(91\)90055-K](https://doi.org/10.1016/0920-1211(91)90055-K)
- Dufour, F., Koning, E., Nehlig, A., 2003. Basal levels of metabolic activity are elevated in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS): measurement of regional activity of cytochrome oxidase and lactate dehydrogenase by histochemistry. *Exp. Neurol.* 182, 346–352. [https://doi.org/10.1016/S0014-4886\(03\)00052-9](https://doi.org/10.1016/S0014-4886(03)00052-9)
- Dufour, F., Nalecz, K.A., Nalecz, M.J., Nehlig, A., 2001. Metabolic approach of absence seizures in a genetic model of absence epilepsy, the GAERS: Study of the leucine-glutamate cycle. *J. Neurosci. Res.* 66, 923–930. <https://doi.org/10.1002/jnr.10086>
- Duncan, A., Meek, J.H., Clemence, M., Elwell, C.E., Fallon, P., Tyszczuk, L., Cope, M., Delpy, D.T., 1996. Measurement of Cranial Optical Path Length as a Function of Age Using Phase Resolved Near Infrared Spectroscopy. *Pediatr. Res.* 39, 889–894. <https://doi.org/10.1203/00006450-199605000-00025>
- Duran, J., Saez, I., Gruart, A., Guinovart, J.J., Delgado-García, J.M., 2013. Impairment in Long-Term Memory Formation and Learning-Dependent Synaptic Plasticity in Mice Lacking Glycogen Synthase in the Brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 33, 550–556. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.200>
- Dutuit, M., Touret, M., Szymocha, R., Nehlig, A., Belin, M., Didier-Bazès, M., 2002. Decreased expression of glutamate transporters in genetic absence epilepsy rats before seizure occurrence. *J. Neurochem.* 80, 1029–1038. <https://doi.org/10.1046/j.0022-3042.2002.00768.x>
- Ferner, R.E., Panayiotopoulos, C.P., 1993. ‘Phantom’ typical absences, absence status and experiential phenomena. *Seizure* 2, 253–256. [https://doi.org/10.1016/S1059-1311\(05\)80135-9](https://doi.org/10.1016/S1059-1311(05)80135-9)
- Ferré, S., Snaprud, P., Fuxe, K., 1993. Opposing actions of an adenosine A2 receptor agonist and a GTP analogue on the regulation of dopamine D2 receptors in rat neostriatal membranes. *Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharmacol.* 244, 311–315. [https://doi.org/10.1016/0922-4106\(93\)90157-5](https://doi.org/10.1016/0922-4106(93)90157-5)
- Fisher, R.S., Cross, J.H., French, J.A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F.E., Lagae, L., Moshé, S.L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I.E., Zuberi, S.M., 2017. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 58, 522–530. <https://doi.org/10.1111/epi.13670>
- Forget, D., Morin, C., Bastien, 2011. The Role of the Spontaneous and Evoked K-Complex in Good-Sleeper Controls and in Individuals with Insomnia. *Sleep.* <https://doi.org/10.5665/SLEEP.1250>
- Franceschini, M.-A., Fantini, S., Walker, S.A., Maier, J.S., Mantulin, W.W., Gratton, E., 1995. Multichannel optical instrument for near-infrared imaging of tissue, in: Chance, B., Alfano, R.R. (Eds.), . Presented at the Photonics West '95, San Jose, CA, pp. 264–273. <https://doi.org/10.1117/12.209975>
- Gandolfo, G., Romettino, S., Gottesmann, C., Van Luijtelaar, G., Coenen, A., 1990. Genetically epileptic rats show a pronounced intermediate stage of sleep. *Physiol. Behav.* 47, 213–215. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(90\)90063-A](https://doi.org/10.1016/0031-9384(90)90063-A)
- Garzon, P., Lemelle, L., Auvin, S., 2016a. Épilepsie absence de l’enfant : actualités diagnostiques et thérapeutiques. *Arch. Pédiatrie* 23, 1176–1183. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2016.08.005>
- Garzon, P., Lemelle, L., Auvin, S., 2016b. Épilepsie absence de l’enfant : actualités diagnostiques et thérapeutiques. *Arch. Pédiatrie* 23, 1176–1183. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2016.08.005>
- Gauguier, D., Luijtelaar, G. van, Bihoreau, M.T., Wilder, S.P., Godfrey, R.F., Vossen, J., Coenen, A., Cox, R.D., 2004. Chromosomal Mapping of Genetic Loci Controlling Absence Epilepsy Phenotypes in the WAG/Rij Rat. *Epilepsia* 45, 908–915. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.13104.x>

- Gencpinar, P., Kalay, Z., Turgut, S., Bozkurt, Ö., Duman, Ö., Ozel, D., Haspolat, S., 2016. Evaluation of Executive Functions in Patients With Childhood Absence Epilepsy. *J. Child Neurol.* 31, 824–830. <https://doi.org/10.1177/0883073815623632>
- Germé, K., Faure, J.-B., Koning, E., Nehlig, A., 2015. Effect of caffeine and adenosine receptor ligands on the expression of spike-and-wave discharges in Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS). *Epilepsy Res.* 110, 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2014.11.022>
- Ghit, A., Assal, D., Al-Shami, A.S., Hussein, D.E.E., 2021. GABAA receptors: structure, function, pharmacology, and related disorders. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 19, 123. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00224-0>
- Gibbs, M.E., Anderson, D.G., Hertz, L., 2006. Inhibition of glycogenolysis in astrocytes interrupts memory consolidation in young chickens. *Glia* 54, 214–222. <https://doi.org/10.1002/glia.20377>
- Giguere, M., Goldman-Rakic, P.S., 1988. Mediodorsal nucleus: Areal, laminar, and tangential distribution of afferents and efferents in the frontal lobe of rhesus monkeys. *J. Comp. Neurol.* 277, 195–213. <https://doi.org/10.1002/cne.902770204>
- Glauser, T.A., Cnaan, A., Shinnar, S., Hirtz, D.G., Dlugos, D., Masur, D., Clark, P.O., Capparelli, E.V., Adamson, P.C., 2010. Ethosuximide, Valproic Acid, and Lamotrigine in Childhood Absence Epilepsy. *N. Engl. J. Med.* 362, 790–799. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0902014>
- Gloor, P., 1979a. Generalized Epilepsy with Spike-and-Wave Discharge: A Reinterpretation of Its Electrographic and Clinical Manifestations ¹ .: The 1977 William G. Lennox Lecture, American Epilepsy Society. *Epilepsia* 20, 571–588. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1979.tb04840.x>
- Gloor, P., 1979b. Generalized Epilepsy with Spike-and-Wave Discharge: A Reinterpretation of Its Electrographic and Clinical Manifestations ¹ .: The 1977 William G. Lennox Lecture, American Epilepsy Society. *Epilepsia* 20, 571–588. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1979.tb04840.x>
- Gloor, P., 1969. EPILEPTOGENIC ACTION OF PENICILLIN. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 166, 350–360. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1969.tb46405.x>
- Gloor, P., Fariello, R.G., 1988. Generalized epilepsy: some of its cellular mechanisms differ from those of focal epilepsy. *Trends Neurosci.* 11, 63–68. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(88\)90166-X](https://doi.org/10.1016/0166-2236(88)90166-X)
- Gloor, P., Pellegrini, A., Kostopoulos, G.K., 1979. Effects of changes in cortical excitability upon the epileptic bursts in generalized penicillin epilepsy of the cat. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 46, 274–289. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(79\)90202-5](https://doi.org/10.1016/0013-4694(79)90202-5)
- Gómez-Ocádiz, R., Silberberg, G., 2023. Corticostriatal pathways for bilateral sensorimotor functions. *Curr. Opin. Neurobiol.* 83, 102781. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2023.102781>
- Gotman, J., Grova, C., Bagshaw, A., Kobayashi, E., Aghakhani, Y., Dubeau, F., 2005. Generalized epileptic discharges show thalamocortical activation and suspension of the default state of the brain. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 15236–15240. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504935102>
- Grosso, S., Galimberti, D., Vezzosi, P., Farnetani, M., Di Bartolo, R.M., Bazzotti, S., Morgese, G., Balestri, P., 2005. Childhood Absence Epilepsy: Evolution and Prognostic Factors. *Epilepsia* 46, 1796–1801. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00277.x>
- Gunther, J., Walther, A., Rippe, L., Kröll, S., Andersson-Engels, S., 2018. Deep tissue imaging with acousto-optical tomography and spectral hole burning with slow light effect: a theoretical study. *J. Biomed. Opt.* 23, 1. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.7.071209>
- Guo, J.N., Kim, R., Chen, Y., Negishi, M., Jhun, S., Weiss, S., Ryu, J.H., Bai, X., Xiao, W., Feeney, E., Rodriguez-Fernandez, J., Mistry, H., Crunelli, V., Crowley, M.J., Mayes, L.C., Constable, R.T., Blumenfeld, H., 2016. Impaired consciousness in patients with absence seizures investigated by functional MRI, EEG, and behavioural measures: a cross-sectional study. *Lancet Neurol.* 15, 1336–1345. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30295-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30295-2)

- Gurbanova, A.A., Aker, R., Berkman, K., Onat, F.Y., van Rijn, C.M., van Luijtelaar, G., 2006. Effect of systemic and intracortical administration of phenytoin in two genetic models of absence epilepsy. *Br. J. Pharmacol.* 148, 1076–1082. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706791>
- Gutnick, M.J., Prince, D.A., 1971. Penicillinase and the convulsant action of penicillin. *Neurology* 21, 759–759. <https://doi.org/10.1212/WNL.21.7.759>
- Haacke, E.M., Lai, S., Reichenbach, J.R., Kuppusamy, K., Hoogenraad, F.G.C., Takeichi, H., Lin, W., 1997. In vivo measurement of blood oxygen saturation using magnetic resonance imaging: A direct validation of the blood oxygen level-dependent concept in functional brain imaging. *Hum. Brain Mapp.* 5, 341–346. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0193\(1997\)5:5<341::AID-HBM2>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0193(1997)5:5<341::AID-HBM2>3.0.CO;2-3)
- Hamdy, M.M., Elfatry, A.M., Mekky, J.F., Hamdy, E., 2020. Rapid eye movement (REM) sleep and seizure control in idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsy Behav.* EB 107, 107064. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107064>
- Hamos, J.E., Van Horn, S.C., Raczkowski, D., Sherman, S.M., 1987. Synaptic circuits involving an individual retinogeniculate axon in the cat. *J. Comp. Neurol.* 259, 165–192. <https://doi.org/10.1002/cne.902590202>
- 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. <https://doi.org/10.1002/ana.21169>
- Horita, H., Uchida, E., Maekawa, K., 1991. Circadian rhythm of regular spike-wave discharges in childhood absence epilepsy. *Brain Dev.* 13, 200–202. [https://doi.org/10.1016/S0387-7604\(12\)80032-5](https://doi.org/10.1016/S0387-7604(12)80032-5)
- Huguenard, J., Prince, D., 1992. A novel T-type current underlies prolonged Ca(2+)-dependent burst firing in GABAergic neurons of rat thalamic reticular nucleus. *J. Neurosci.* 12, 3804–3817. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-10-03804.1992>
- Hussain, A., Steenbergen, W., Vellekoop, I.M., 2018. Imaging blood flow inside highly scattering media using ultrasound modulated optical tomography. *J. Biophotonics* 11, e201700013. <https://doi.org/10.1002/jbio.201700013>
- Huston, J.P., Haas, H.L., Boix, F., Pfister, M., Decking, U., Schrader, J., Schwarting, R.K.W., 1996. Extracellular adenosine levels in neostriatum and hippocampus during rest and activity periods of rats. *Neuroscience* 73, 99–107. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(96\)00021-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(96)00021-8)
- Hyder, F., Kida, I., Behar, K.L., Kennan, R.P., Maciejewski, P.K., Rothman, D.L., 2001. Quantitative functional imaging of the brain: towards mapping neuronal activity by BOLD fMRI. *NMR Biomed.* 14, 413–431. <https://doi.org/10.1002/nbm.733>
- Ibaraki, M., Shimosegawa, E., Miura, S., Takahashi, K., Ito, H., Kanno, I., Hatazawa, J., 2004. PET measurements of CBF, OEF, and CMRO₂ without arterial sampling in hyperacute ischemic stroke: Method and error analysis. *Ann. Nucl. Med.* 18, 35–44. <https://doi.org/10.1007/BF02985612>
- Ilbay, G., Sahin, D., Karson, A., Ates, N., 2001. Effects of adenosine administration on spike-wave discharge frequency in genetically epileptic rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 28, 643–646. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2001.03499.x>
- Inoue, M., Duysens, J., Vossen, J.M.H., Coenen, A.M.L., 1993. Thalamic multiple-unit activity underlying spike-wave discharges in anesthetized rats. *Brain Res.* 612, 35–40. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)91641-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)91641-5)
- Inouye, T., Sakamoto, H., Shinosaki, K., Toi, S., Ukai, S., 1990. Analysis of rapidly changing EEGs before generalized spike and wave complexes. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 76, 205–221. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(90\)90016-D](https://doi.org/10.1016/0013-4694(90)90016-D)
- Jain, P., 2020. Absence Seizures in Children: Usual and the Unusual. *Indian J. Pediatr.* 87, 1047–1056. <https://doi.org/10.1007/s12098-020-03423-8>
- Jiang, Z.G., North, R.A., 1991. Membrane properties and synaptic responses of rat striatal neurones in vitro. *J. Physiol.* 443, 533–553. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1991.sp018850>

- Jöbbsis, F.F., 1977. Noninvasive, Infrared Monitoring of Cerebral and Myocardial Oxygen Sufficiency and Circulatory Parameters. *Science* 198, 1264–1267. <https://doi.org/10.1126/science.929199>
- 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. *Exp. Neurol.* 209, 254–260. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.09.026>
- Kandel, A., Buzsáki, G., 1993. Cerebellar neuronal activity correlates with spike and wave EEG patterns in the rat. *Epilepsy Res.* 16, 1–9. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(93\)90033-4](https://doi.org/10.1016/0920-1211(93)90033-4)
- Kang, J., Macdonald, R.L., 2004. The GABA_A Receptor $\gamma 2$ Subunit R43Q Mutation Linked to Childhood Absence Epilepsy and Febrile Seizures Causes Retention of $\alpha 1\beta 2\gamma 2S$ Receptors in the Endoplasmic Reticulum. *J. Neurosci.* 24, 8672–8677. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2717-04.2004>
- Kanungo, S., Wells, K., Tribett, T., El-Gharbawy, A., 2018. Glycogen metabolism and glycogen storage disorders. *Ann. Transl. Med.* 6, 474–474. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.10.59>
- Karavaev, A.S., Kiselev, A.R., Runnova, A.E., Zhuravlev, M.O., Borovkova, E.I., Prokhorov, M.D., Ponomarenko, V.I., Pchelintseva, S.V., Efremova, T.Yu., Koronovskii, A.A., Hramov, A.E., 2018. Synchronization of infra-slow oscillations of brain potentials with respiration. *Chaos Interdiscip. J. Nonlinear Sci.* 28, 081102. <https://doi.org/10.1063/1.5046758>
- Karson, A., Utkan, T., Balci, F., Aricioğlu, F., Ateş, N., 2012. Age-dependent decline in learning and memory performances of WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Behav. Brain Funct.* 8, 51. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-8-51>
- Kasteleijn-Nolst Trenité, D.G.A., 2012. Provoked and reflex seizures: surprising or common? *Epilepsia* 53 Suppl 4, 105–113. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03620.x>
- Kessler, S.K., McGinnis, E., 2019. A Practical Guide to Treatment of Childhood Absence Epilepsy. *Pediatr. Drugs* 21, 15–24. <https://doi.org/10.1007/s40272-019-00325-x>
- Kimura, A., Donishi, T., Okamoto, K., Tamai, Y., 2005. Topography of projections from the primary and non-primary auditory cortical areas to the medial geniculate body and thalamic reticular nucleus in the rat. *Neuroscience* 135, 1325–1342. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.06.089>
- Kirkcaldie, M.T.K., 2012. Neocortex, in: *The Mouse Nervous System*. Elsevier, pp. 52–111. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-369497-3.10004-4>
- Kita, H., 1996. Glutamatergic and gabaergic postsynaptic responses of striatal spiny neurons to intrastriatal and cortical stimulation recorded in slice preparations. *Neuroscience* 70, 925–940. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00410-6](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00410-6)
- Klein, J.P., Khera, D.S., Nersesyan, H., Kimchi, E.Y., Waxman, S.G., Blumenfeld, H., 2004. Dysregulation of sodium channel expression in cortical neurons in a rodent model of absence epilepsy. *Brain Res.* 1000, 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.11.051>
- Kortunay, S., Erken, H.A., Erken, G., Genç, O., Şahiner, M., Turgut, S., Turgut, G., 2012. Orexins increase penicillin-induced epileptic activity. *Peptides* 34, 419–422. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.02.013>
- Kreitzer, A.C., Malenka, R.C., 2008. Striatal Plasticity and Basal Ganglia Circuit Function. *Neuron* 60, 543–554. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.11.005>
- Lacinová, L., Klugbauer, N., Hofmann, F., 2000. Regulation of the calcium channel $\alpha 1G$ subunit by divalent cations and organic blockers. *Neuropharmacology* 39, 1254–1266. [https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(99\)00202-6](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(99)00202-6)
- Lalo, U., Koh, W., Lee, C.J., Pankratov, Y., 2021. The tripartite glutamatergic synapse. *Neuropharmacology* 199, 108758. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108758>
- Lang, J.D., Taylor, D.C., Kasper, B.S., 2018. Stress, seizures, and epilepsy: Patient narratives. *Epilepsy Behav.* 80, 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2018.01.005>

- Lannes, B., Micheletti, G., Vergnes, M., Marescaux, Ch., Depaulis, A., Warter, J.M., 1988. Relationship between spike-wave discharges and vigilance levels in rats with spontaneous petit mal-like epilepsy. *Neurosci. Lett.* 94, 187–191. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(88\)90293-5](https://doi.org/10.1016/0304-3940(88)90293-5)
- Laudereau, J., À La Guillaume, E.B., Servois, V., Mariani, P., Grabar, A.A., Tanter, M., Gennisson, J., Ramaz, F., 2015. Multi-modal acousto-optic/ultrasound imaging of *ex vivo* liver tumors at 790 nm using a Sn₂P₂S₆ wavefront adaptive holographic setup. *J. Biophotonics* 8, 429–436. <https://doi.org/10.1002/jbio.201400071>
- Laudereau, J.-B., 2016. Acousto-optic imaging: challenges of in vivo imaging. Université Pierre et Marie Curie. tel-01493690.
- Lázár, Z.I., Dijk, D.-J., Lázár, A.S., 2019. Infralow oscillations in human sleep spindle activity. *J. Neurosci. Methods* 316, 22–34. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2018.12.002>
- Lee, A.T., Glover, G.H., Meyer, C.H., 1995. Discrimination of Large Venous Vessels in Time-Course Spiral Blood-Oxygen-Level-Dependent Magnetic-Resonance Functional Neuroimaging. *Magn. Reson. Med.* 33, 745–754. <https://doi.org/10.1002/mrm.1910330602>
- Leresche, N., Parri, H.R., Erdemli, G., Guyon, A., Turner, J.P., Williams, S.R., Asproдини, E., Crunelli, V., 1998. On the Action of the Anti-Absence Drug Ethosuximide in the Rat and Cat Thalamus. *J. Neurosci.* 18, 4842–4853. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-13-04842.1998>
- Lesica, N.A., Stanley, G.B., 2004. Encoding of Natural Scene Movies by Tonic and Burst Spikes in the Lateral Geniculate Nucleus. *J. Neurosci.* 24, 10731–10740. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3059-04.2004>
- Li, L., Ebner, F.F., 2007. Cortical Modulation of Spatial and Angular Tuning Maps in the Rat Thalamus. *J. Neurosci.* 27, 167–179. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4165-06.2007>
- Li, Q., Luo, C., Yang, T., Yao, Z., He, L., Liu, L., Xu, H., Gong, Q., Yao, D., Zhou, D., 2009. EEG–fMRI study on the interictal and ictal generalized spike-wave discharges in patients with childhood absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 87, 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2009.08.018>
- Liu, K.K.L., Bartsch, R.P., Lin, A., Mantegna, R.N., Ivanov, P.Ch., 2015. Plasticity of brain wave network interactions and evolution across physiologic states. *Front. Neural Circuits* 9. <https://doi.org/10.3389/fncir.2015.00062>
- Loomis, A.L., Harvey, E.N., Hobart, G.A., 1938. DISTRIBUTION OF DISTURBANCE-PATTERNS IN THE HUMAN ELECTROENCEPHALOGRAM, WITH SPECIAL REFERENCE TO SLEEP. *J. Neurophysiol.* 1, 413–430. <https://doi.org/10.1152/jn.1938.1.5.413>
- Lopez-Gordo, M., Sanchez-Morillo, D., Valle, F., 2014. Dry EEG Electrodes. *Sensors* 14, 12847–12870. <https://doi.org/10.3390/s140712847>
- Lüttjohann, A., van Luijtelaa, G., 2013. Thalamic stimulation in absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 106, 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2013.03.009>
- Lüttjohann, A., van Luijtelaa, G., 2012. The dynamics of cortico-thalamo-cortical interactions at the transition from pre-ictal to ictal LFPs in absence epilepsy. *Neurobiol. Dis.* 47, 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.03.023>
- Macé, E., Montaldo, G., Cohen, I., Baulac, M., Fink, M., Tanter, M., 2011. Functional ultrasound imaging of the brain. *Nat. Methods* 8, 662–664. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1641>
- Mahon, S., Delord, B., Deniau, J., Charpier, S., 2000. Intrinsic properties of rat striatal output neurones and time-dependent facilitation of cortical inputs *in vivo*. *J. Physiol.* 527, 345–354. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00345.x>
- Maljevic, S., Krampfl, K., Cobilanschi, J., Tilgen, N., Beyer, S., Weber, Y.G., Schlesinger, F., Ursu, D., Melzer, W., Cossette, P., Bufler, J., Lerche, H., Heils, A., 2006. A mutation in the GABA_A receptor α_1 -subunit is associated with absence epilepsy. *Ann. Neurol.* 59, 983–987. <https://doi.org/10.1002/ana.20874>
- Manning, J.-P.A., Richards, D.A., Leresche, N., Crunelli, V., Bowery, N.G., 2004. Cortical-area specific block of genetically determined absence seizures by ethosuximide. *Neuroscience* 123, 5–9. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.09.026>

- Marques-Carneiro, J.E., Faure, J.-B., Barbelivien, A., Nehlig, A., Cassel, J.-C., 2016. Subtle alterations in memory systems and normal visual attention in the GAERS model of absence epilepsy. *Neuroscience* 316, 389–401. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.048>
- Martins da Silva, A., Leal, B., 2017. Photosensitivity and epilepsy: Current concepts and perspectives—A narrative review. *Seizure* 50, 209–218. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2017.04.001>
- Masterton, R.A.J., Carney, P.W., Abbott, D.F., Jackson, G.D., 2013. Absence epilepsy subnetworks revealed by event-related independent components analysis of functional magnetic resonance imaging. *Epilepsia* 54, 801–808. <https://doi.org/10.1111/epi.12163>
- Masur, D., Shinnar, S., Cnaan, A., Shinnar, R.C., Clark, P., Wang, J., Weiss, E.F., Hirtz, D.G., Glauser, T.A., 2013. Pretreatment cognitive deficits and treatment effects on attention in childhood absence epilepsy. *Neurology* 81, 1572–1580. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182a9f3ca>
- Matura, S., Fleckenstein, J., Deichmann, R., Engeroff, T., Füzéki, E., Hattingen, E., Hellweg, R., Lienerth, B., Pilatus, U., Schwarz, S., Tesky, V.A., Vogt, L., Banzer, W., Pantel, J., 2017. Effects of aerobic exercise on brain metabolism and grey matter volume in older adults: results of the randomised controlled SMART trial. *Transl. Psychiatry* 7, e1172–e1172. <https://doi.org/10.1038/tp.2017.135>
- McEwen, B.S., n.d. Non-genomic and genomic effects of steroids on neural activity.
- McKeown, M., Humphries, C., Achermann, P., Borbély, A., Sejnowski, T., 1998. A new method for detecting state changes in the EEG: exploratory application to sleep data. *J. Sleep Res.* 7, 48–56. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2869.7.s1.8.x>
- Medani, T., n.d. Contribution à l'amélioration du modèle de source dans la méthode des éléments finis pour la résolution du problème direct en électroencéphalographie.
- 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. *J. Neurosci.* 22, 1480–1495. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-04-01480.2002>
- Melø, T.M., Sonnewald, U., Bastholm, I.A., Nehlig, A., 2007. Astrocytes may play a role in the etiology of absence epilepsy: a comparison between immature GAERS not yet expressing seizures and adults. *Neurobiol. Dis.* 28, 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2007.07.011>
- Mikulan, E., Hesse, E., Sedeño, L., Bekinschtein, T., Sigman, M., García, M.D.C., Silva, W., Ciruolo, C., García, A.M., Ibáñez, A., 2018. Intracranial high- γ connectivity distinguishes wakefulness from sleep. *NeuroImage* 169, 265–277. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.12.015>
- Mishra, A.M., Ellens, D.J., Schridde, U., Motelow, J.E., Purcaro, M.J., DeSalvo, M.N., Enev, M., Sanganahalli, B.G., Hyder, F., Blumenfeld, H., 2011a. Where fMRI and electrophysiology agree to disagree: corticothalamic and striatal activity patterns in the WAG/Rij rat. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 15053–15064. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0101-11.2011>
- Mishra, A.M., Ellens, D.J., Schridde, U., Motelow, J.E., Purcaro, M.J., DeSalvo, M.N., Enev, M., Sanganahalli, B.G., Hyder, F., Blumenfeld, H., 2011b. Where fMRI and electrophysiology agree to disagree: corticothalamic and striatal activity patterns in the WAG/Rij rat. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 31, 15053–15064. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0101-11.2011>
- Miyazaki, I., Asanuma, M., 2020. Neuron-Astrocyte Interactions in Parkinson's Disease. *Cells* 9, 2623. <https://doi.org/10.3390/cells9122623>
- Moeller, F., LeVan, P., Muhle, H., Stephani, U., Dubeau, F., Siniatchkin, M., Gotman, J., 2010. Absence seizures: Individual patterns revealed by EEG-fMRI. *Epilepsia* 51, 2000–2010. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02698.x>
- Moeller, F., Siebner, H.R., Wolff, S., Muhle, H., Granert, O., Jansen, O., Stephani, U., Siniatchkin, M., 2008. Simultaneous EEG-fMRI in drug-naive children with newly diagnosed absence epilepsy. *Epilepsia* 49, 1510–1519. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01626.x>

- Moeller, F., Stephani, U., Siniatchkin, M., 2013. Simultaneous EEG and fMRI recordings (EEG - fMRI) in children with epilepsy. *Epilepsia* 54, 971–982. <https://doi.org/10.1111/epi.12197>
- Montaldo, G., Tanter, M., Bercoff, J., Benech, N., Fink, M., 2009. Coherent plane-wave compounding for very high frame rate ultrasonography and transient elastography. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* 56, 489–506. <https://doi.org/10.1109/TUFFC.2009.1067>
- Monto, S., Palva, S., Voipio, J., Palva, J.M., 2008. Very Slow EEG Fluctuations Predict the Dynamics of Stimulus Detection and Oscillation Amplitudes in Humans. *J. Neurosci.* 28, 8268–8272. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1910-08.2008>
- Murthy, V.N., Fetz, E.E., 1992. Coherent 25- to 35-Hz oscillations in the sensorimotor cortex of awake behaving monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89, 5670–5674. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.12.5670>
- Musall, S., Von Pförtl, V., Rauch, A., Logothetis, N.K., Whittingstall, K., 2014. Effects of Neural Synchrony on Surface EEG. *Cereb. Cortex* 24, 1045–1053. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhs389>
- Myers, K.A., Bennett, M.F., Grinton, B.E., Dabscheck, G., Chan, E.K., Bello-Espinosa, L.E., Sadleir, L.G., D’Alfonso, S., Schneider, A.L., Damiano, J.A., Hildebrand, M.S., Bahlo, M., Berkovic, S.F., Buchhalter, J., Scheffer, I.E., 2021. Contribution of rare genetic variants to drug response in absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 170, 106537. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106537>
- Nagao, H., Morimoto, T., Takahashi, M., Habara, S., Nagai, H., Matsuda, H., 1990. The circadian rhythm of typical absence seizures--the frequency and duration of paroxysmal discharges. *Neuropediatrics* 21, 79–82. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1071466>
- Naia, L., Shimosawa, M., Bereczki, E., Li, X., Liu, J., Jiang, R., Giraud, R., Leal, N.S., Pinho, C.M., Berger, E., Falk, V.L., Dentoni, G., Ankarcona, M., Nilsson, P., 2023. Mitochondrial hypermetabolism precedes impaired autophagy and synaptic disorganization in App knock-in Alzheimer mouse models. *Mol. Psychiatry* 28, 3966–3981. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02289-4>
- Nehlig, A., 2004. Brain uptake and metabolism of ketone bodies in animal models. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 70, 265–275. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2003.07.006>
- Nehlig, A., Pereira De Vasconcelos, A., 1993. Glucose and ketone body utilization by the brain of neonatal rats. *Prog. Neurobiol.* 40, 163–220. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(93\)90022-K](https://doi.org/10.1016/0301-0082(93)90022-K)
- Nehlig, A., Vergnes, M., Waydelich, R., Hirsch, E., Charbonne, R., Marescaux, C., Seylaz, J., 1996. Absence Seizures Induce a Decrease in Cerebral Blood Flow: Human and Animal Data. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 16, 147–155. <https://doi.org/10.1097/00004647-199601000-00017>
- Nersesyan, H., Herman, P., Erdogan, E., Hyder, F., Blumenfeld, H., 2004. Relative changes in cerebral blood flow and neuronal activity in local microdomains during generalized seizures. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* 24, 1057–1068. <https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000131669.02027.3E>
- Nishida, M., Walker, M.P., 2007. Daytime Naps, Motor Memory Consolidation and Regionally Specific Sleep Spindles. *PLoS ONE* 2, e341. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000341>
- Nita, D.A., Cisse, Y., Timofeev, I., Steriade, M., 2006. Waking-Sleep Modulation of Paroxysmal Activities Induced by Partial Cortical Deafferentation. *Cereb. Cortex* 17, 272–283. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhj145>
- Ogawa, S., Menon, R.S., Kim, S.-G., Ugurbil, K., 1998. ON THE CHARACTERISTICS OF FUNCTIONAL MAGNETIC RESONANCE IMAGING OF THE BRAIN. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 27, 447–474. <https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.27.1.447>
- Ogawa, S., Menon, R.S., Tank, D.W., Kim, S.G., Merkle, H., Ellermann, J.M., Ugurbil, K., 1993. Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging. A comparison of signal characteristics with a biophysical model. *Biophys. J.* 64, 803–812. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(93\)81441-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(93)81441-3)
- Olsen, R.W., Avoli, M., 1997. GABA and Epileptogenesis. *Epilepsia* 38, 399–407. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1997.tb01728.x>

- Owen, O.E., Morgan, A.P., Kemp, H.G., Sullivan, J.M., Herrera, M.G., Cahill, G.F., 1967. Brain Metabolism during Fasting*. *J. Clin. Invest.* 46, 1589–1595. <https://doi.org/10.1172/JCI105650>
- Özugur, S., Kunz, L., Straka, H., 2020. Relationship between oxygen consumption and neuronal activity in a defined neural circuit. *BMC Biol.* 18, 76. <https://doi.org/10.1186/s12915-020-00811-6>
- Pace-Schott, E.F., Hobson, J.A., 2002. The Neurobiology of Sleep: Genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat. Rev. Neurosci.* 3, 591–605. <https://doi.org/10.1038/nrn895>
- Pan, J., Wu, Jianhui, Liu, J., Wu, Jiawu, Wang, F., 2021. A Systematic Review of Sleep in Patients with Disorders of Consciousness: From Diagnosis to Prognosis. *Brain Sci.* 11, 1072. <https://doi.org/10.3390/brainsci11081072>
- Patterson, M.S., Andersson-Engels, S., Wilson, B.C., Osei, E.K., 1995. Absorption spectroscopy in tissue-simulating materials: a theoretical and experimental study of photon paths. *Appl. Opt.* 34, 22. <https://doi.org/10.1364/AO.34.000022>
- Peeters, B.W.M.M., Kerbusch, J.M.L., van Luijckelaar, E.L.J.M., Vossen, J.M.H., Coenen, A.M.L., 1990. Genetics of absence epilepsy in rats. *Behav. Genet.* 20, 453–460. <https://doi.org/10.1007/BF01065569>
- Peeters, B.W.M.M., Van Luijckelaar, E.L.J.M., Coenen, A.M.L., 1989. Absence epilepsy in rats is reduced by deprivation of REM sleep. *Physiol. Behav.* 46, 115–119. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(89\)90243-6](https://doi.org/10.1016/0031-9384(89)90243-6)
- Pierret, T., Lavallée, P., Deschênes, M., 2000. Parallel Streams for the Relay of Vibrissal Information through Thalamic Barreloids. *J. Neurosci.* 20, 7455–7462. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-19-07455.2000>
- Piggins, H.D., 2002. Human clock genes. *Ann. Med.* 34, 394–400. <https://doi.org/10.1080/078538902320772142>
- Polack, P., Charpier, S., 2009a. Ethosuximide converts ictogenic neurons initiating absence seizures into normal neurons in a genetic model. *Epilepsia* 50, 1816–1820. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02047.x>
- Polack, P., Charpier, S., 2009b. Ethosuximide converts ictogenic neurons initiating absence seizures into normal neurons in a genetic model. *Epilepsia* 50, 1816–1820. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02047.x>
- 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. *J. Neurosci.* 27, 6590–6599. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0753-07.2007>
- Portas, C.M., Krakow, K., Josephs, O., Armony, J.L., Frith, C.D., n.d. Auditory Processing across the Sleep-Wake Cycle: Simultaneous EEG and fMRI Monitoring in Humans.
- Poulet, J.F.A., Crochet, S., 2019. The Cortical States of Wakefulness. *Front. Syst. Neurosci.* 12, 64. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2018.00064>
- 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 $Ca_v3.2$ 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. *J. Neurosci.* 29, 371–380. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5295-08.2009>
- Proft, J., Rzhetsky, Y., Lazniewska, J., Zhang, F.-X., Cain, S.M., Snutch, T.P., Zamponi, G.W., Weiss, N., 2017. The *Cacna1h* mutation in the GAERS model of absence epilepsy enhances T-type Ca^{2+} currents by altering calnexin-dependent trafficking of $Ca_v3.2$ channels. *Sci. Rep.* 7, 11513. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11591-5>
- Purnell, B.S., Alves, M., Boison, D., 2023. Astrocyte-neuron circuits in epilepsy. *Neurobiol. Dis.* 179, 106058. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106058>
- Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W.C., LaMantia, A.S., White, L.E., 2015. *Neurosciences, De boeck supérieur. ed, Neurosciences et cognition.*

- Qureshi, M.M., Brake, J., Jeon, H.-J., Ruan, H., Liu, Y., Safi, A.M., Eom, T.J., Yang, C., Chung, E., 2017. In vivo study of optical speckle decorrelation time across depths in the mouse brain. *Biomed. Opt. Express* 8, 4855. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.004855>
- Raichle, M.E., 1998. Behind the scenes of functional brain imaging: A historical and physiological perspective. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 765–772. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.3.765>
- Raichle, M.E., Mintun, M.A., 2006. BRAIN WORK AND BRAIN IMAGING. *Annu. Rev. Neurosci.* 29, 449–476. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112819>
- Reddy, O.C., Van Der Werf, Y.D., 2020. The Sleeping Brain: Harnessing the Power of the Glymphatic System through Lifestyle Choices. *Brain Sci.* 10, 868. <https://doi.org/10.3390/brainsci10110868>
- Reivich, M., Kuhl, D., Wolf, A., Greenberg, J., Phelps, M., Ido, T., Casella, V., Fowler, J., Hoffman, E., Alavi, A., Som, P., Sokoloff, L., 1979. The [18F]fluorodeoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization in man. *Circ. Res.* 44, 127–137. <https://doi.org/10.1161/01.RES.44.1.127>
- Richter, W., Richter, M., 2003. The shape of the fMRI BOLD response in children and adults changes systematically with age.
- Roche-Labarbe, N., Zaaimi, B., Berquin, P., Nehlig, A., Grebe, R., Wallois, F., 2008. NIRS-measured oxy- and deoxyhemoglobin changes associated with EEG spike-and-wave discharges in children. *Epilepsia* 49, 1871–1880. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01711.x>
- Roche-Labarbe, N., Zaaimi, B., Berquin, P., Nehlig, A., Grebe, R., Wallois, F., 2008. NIRS-measured oxy- and deoxyhemoglobin changes associated with EEG spike-and-wave discharges in children. *Epilepsia* 49, 1871–1880. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01711.x>
- Roche-Labarbe, N., Zaaimi, B., Mahmoudzadeh, M., Osharina, V., Wallois, A., Nehlig, A., Grebe, R., Wallois, F., 2010a. NIRS-measured oxy- and deoxyhemoglobin changes associated with EEG spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy: the GAERS. *Epilepsia* 51, 1374–1384. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02574.x>
- Roche-Labarbe, N., Zaaimi, B., Mahmoudzadeh, M., Osharina, V., Wallois, A., Nehlig, A., Grebe, R., Wallois, F., 2010b. NIRS-measured oxy- and deoxyhemoglobin changes associated with EEG spike-and-wave discharges in a genetic model of absence epilepsy: the GAERS. *Epilepsia* 51, 1374–1384. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02574.x>
- Rossokhin, A.V., Sharonova, I.N., Bukanova, J.V., Kolbaev, S.N., Skrebitsky, V.G., 2014. Block of GABAA receptor ion channel by penicillin: Electrophysiological and modeling insights toward the mechanism. *Mol. Cell. Neurosci.* 63, 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2014.10.001>
- Roy, C.S., Sherrington, C.S., 1890. On the Regulation of the Blood-supply of the Brain. *J. Physiol.* 11, 85-158.17.
- Rudolf, G., Therese Bihoreau, M., F. Godfrey, R., P. Wilder, S., D. Cox, R., Lathrop, M., Marescaux, C., Gauguier, D., 2004. Polygenic Control of Idiopathic Generalized Epilepsy Phenotypes in the Genetic Absence Rats from Strasbourg (GAERS). *Epilepsia* 45, 301–308. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.50303.x>
- Sadick, J.S., O’Dea, M.R., Hasel, P., Dykstra, T., Faustin, A., Liddelow, S.A., 2022. Astrocytes and oligodendrocytes undergo subtype-specific transcriptional changes in Alzheimer’s disease. *Neuron* 110, 1788-1805.e10. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.03.008>
- Sadleir, L.G., Farrell, K., Smith, S., Connolly, M.B., Scheffer, I.E., 2006. Electroclinical features of absence seizures in childhood absence epilepsy. *Neurology* 67, 413–418. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000228257.60184.82>
- Sandrone, S., Bacigaluppi, M., Galloni, M.R., Cappa, S.F., Moro, A., Catani, M., Filippi, M., Monti, M.M., Perani, D., Martino, G., 2014. Weighing brain activity with the balance: Angelo Mosso’s original manuscripts come to light. *Brain* 137, 621–633. <https://doi.org/10.1093/brain/awt091>
- Sarkisova, K.Y., Kuznetsova, G.D., Kulikov, M.A., van Luijtelaaar, G., 2010. Spike-wave discharges are necessary for the expression of behavioral depression-like symptoms. *Epilepsia* 51, 146–160. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02260.x>

- Scheffer, I.E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M.B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G.W., Moshé, S.L., Nordli, D.R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y.-H., Zuberi, S.M., 2017. ILAE Classification of the Epilepsies Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 58, 512–521. <https://doi.org/10.1111/epi.13709>
- Scholkmann, F., Wolf, M., 2013. General equation for the differential pathlength factor of the frontal human head depending on wavelength and age. *J. Biomed. Opt.* 18, 105004. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.10.105004>
- Schridde, U., Khubchandani, M., Motelow, J.E., Sanganahalli, B.G., Hyder, F., Blumenfeld, H., 2008a. Negative BOLD with Large Increases in Neuronal Activity. *Cereb. Cortex* 18, 1814–1827. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm208>
- Schridde, U., Khubchandani, M., Motelow, J.E., Sanganahalli, B.G., Hyder, F., Blumenfeld, H., 2008b. Negative BOLD with Large Increases in Neuronal Activity. *Cereb. Cortex N. Y. NY* 18, 1814–1827. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm208>
- Seidenbecher, T., Staak, R., Pape, H., 1998. Relations between cortical and thalamic cellular activities during absence seizures in rats. *Eur. J. Neurosci.* 10, 1103–1112. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1998.00123.x>
- Seifert, G., Carmignoto, G., Steinhäuser, C., 2010. Astrocyte dysfunction in epilepsy. *Brain Res. Rev.* 63, 212–221. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2009.10.004>
- Seifert, G., Steinhäuser, C., 2013. Neuron–astrocyte signaling and epilepsy. *Exp. Neurol.* 244, 4–10. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2011.08.024>
- Sharott, A., Doig, N.M., Mallet, N., Magill, P.J., 2012. Relationships between the Firing of Identified Striatal Interneurons and Spontaneous and Driven Cortical Activities *In Vivo*. *J. Neurosci.* 32, 13221–13236. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2440-12.2012>
- Shepherd, G.M., Erulkar, S.D., 1997. Centenary of the synapse: from Sherrington to the molecular biology of the synapse and beyond. *Trends Neurosci.* 20, 385–392. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(97\)01059-x](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(97)01059-x)
- Shouse, M.N., 1988. Sleep deprivation increases thalamocortical excitability in the somatomotor pathway, especially during seizure-prone sleep or awakening states in feline seizure models. *Exp. Neurol.* 99, 664–677. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(88\)90183-5](https://doi.org/10.1016/0014-4886(88)90183-5)
- Sieu, L.-A., Bergel, A., Tiran, E., Deffieux, T., Pernot, M., Gennisson, J.-L., Tanter, M., Cohen, I., 2015. EEG and functional ultrasound imaging in mobile rats. *Nat. Methods* 12, 831–834. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3506>
- Silberberg, G., Bolam, J.P., 2015. Local and afferent synaptic pathways in the striatal microcircuitry. *Curr. Opin. Neurobiol.* 33, 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.05.002>
- Silverstein, L.D., Michael Levy, C., 1976. The stability of the sigma sleep spindle. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 40, 666–670. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(76\)90142-5](https://doi.org/10.1016/0013-4694(76)90142-5)
- Sitnikova, E., van Luijelaar, G., 2004. Cortical control of generalized absence seizures: effect of lidocaine applied to the somatosensory cortex in WAG/Rij rats. *Brain Res.* 1012, 127–137. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.03.041>
- Slaght, S.J., Paz, T., Chavez, M., Deniau, J.-M., Mahon, S., Charpier, S., 2004a. On the Activity of the Corticostriatal Networks during Spike-and-Wave Discharges in a Genetic Model of Absence Epilepsy. *J. Neurosci.* 24, 6816–6825. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1449-04.2004>
- Slaght, S.J., Paz, T., Chavez, M., Deniau, J.-M., Mahon, S., Charpier, S., 2004b. On the Activity of the Corticostriatal Networks during Spike-and-Wave Discharges in a Genetic Model of Absence Epilepsy. *J. Neurosci.* 24, 6816–6825. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1449-04.2004>
- Smith, D., Pernet, A., Hallett, W.A., Bingham, E., Marsden, P.K., Amiel, S.A., 2003. Lactate: A Preferred Fuel for Human Brain Metabolism *in Vivo*. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 23, 658–664. <https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000063991.19746.11>
- Smyk, M.K., Sysoev, I.V., Sysoeva, M.V., Van Luijelaar, G., Drinkenburg, W.H., 2019. Can absence seizures be predicted by vigilance states?: Advanced analysis of sleep–wake states and spike–wave discharges’ occurrence in rats. *Epilepsy Behav.* 96, 200–209. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.04.012>

- Steriade, M., 2000. Corticothalamic resonance, states of vigilance and mentation. *Neuroscience* 101, 243–276. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00353-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00353-5)
- Steriade, M., Contreras, D., Curro Dossi, R., Nunez, A., 1993. The slow (< 1 Hz) oscillation in reticular thalamic and thalamocortical neurons: scenario of sleep rhythm generation in interacting thalamic and neocortical networks. *J. Neurosci.* 13, 3284–3299. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-08-03284.1993>
- Stevens, J.R., 1972. Seizure Occurrence and Interspike Interval: Telemetered Electroencephalogram Studies. *Arch. Neurol.* 26, 409. <https://doi.org/10.1001/archneur.1972.00490110043004>
- Stevens, J.R., Kodama, H., Lonsbury, B., Mills, L., 1971a. ULTRADIAN CHARACTERISTICS OF SPONTANEOUS SEIZURE DISCHARGES RECORDED BY RADIO TELEMETRY IN MAN.
- Stevens, J.R., Kodama, H., Lonsbury, B., Mills, L., 1971b. ULTRADIAN CHARACTERISTICS OF SPONTANEOUS SEIZURE DISCHARGES RECORDED BY RADIO TELEMETRY IN MAN.
- Sun, H., Kennedy, W.P., Wilbraham, D., Lewis, N., Calder, N., Li, X., Ma, J., Yee, K.L., Ermlich, S., Mangin, E., Lines, C., Rosen, L., Chodakewitz, J., Murphy, G.M., 2013. Effects of Suvorexant, an Orexin Receptor Antagonist, on Sleep Parameters as Measured by Polysomnography in Healthy Men. *Sleep* 36, 259–267. <https://doi.org/10.5665/sleep.2386>
- Sun, L., Zhang, Y., Liu, E., Ma, Q., Anatol, M., Han, H., Yan, J., 2019. The roles of astrocyte in the brain pathologies following ischemic stroke. *Brain Inj.* 33, 712–716. <https://doi.org/10.1080/02699052.2018.1531311>
- Suzuki, A., Stern, S.A., Bozdagi, O., Huntley, G.W., Walker, R.H., Magistretti, P.J., Alberini, C.M., 2011. Astrocyte-Neuron Lactate Transport Is Required for Long-Term Memory Formation. *Cell* 144, 810–823. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.018>
- Talley, E.M., Solórzano, G., Depaulis, A., Perez-Reyes, E., Bayliss, D.A., 2000. Low-voltage-activated calcium channel subunit expression in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Mol. Brain Res.* 75, 159–165. [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(99\)00307-1](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(99)00307-1)
- Tan, H.O., Reid, C.A., Chiu, C., Jones, M.V., Petrou, S., 2008. Increased thalamic inhibition in the absence seizure prone DBA/2J mouse. *Epilepsia* 49, 921–925. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01536.x>
- Tanaka, M., Olsen, R.W., Medina, M.T., Schwartz, E., Alonso, M.E., Duron, R.M., Castro-Ortega, R., Martinez-Juarez, I.E., Pascual-Castroviejo, I., Machado-Salas, J., Silva, R., Bailey, J.N., Bai, D., Ochoa, A., Jara-Prado, A., Pineda, G., Macdonald, R.L., Delgado-Escueta, A.V., 2008. Hyperglycosylation and Reduced GABA Currents of Mutated GABRB3 Polypeptide in Remitting Childhood Absence Epilepsy. *Am. J. Hum. Genet.* 82, 1249–1261. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.04.020>
- Taubøll, E., Sveberg, L., Svalheim, S., 2015. Interactions between hormones and epilepsy. *Seizure* 28, 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2015.02.012>
- Taylor-Courval, D., Gloor, P., 1984. Behavioral alterations associated with generalized spike and wave discharges in the EEG of the cat. *Exp. Neurol.* 83, 167–186. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(84\)90055-4](https://doi.org/10.1016/0014-4886(84)90055-4)
- Temereanca, S., Simons, D.J., 2004. Functional topography of corticothalamic feedback enhances thalamic spatial response tuning in the somatosensory whisker/barrel system.
- Tenney, J.R., Duong, T.Q., King, J.A., Ferris, C.F., 2004. fMRI of Brain Activation in a Genetic Rat Model of Absence Seizures. *Epilepsia* 45, 576–582. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.39303.x>
- Thomas, P., Arzimanoglou, A., 2000. *Epilepsies*. Masson.
- Thulborn, K.R., Waterton, J.C., Matthews, P.M., Radda, G.K., 1982. Oxygenation dependence of the transverse relaxation time of water protons in whole blood at high field. *Biochim. Biophys. Acta* 714, 265–270. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(82\)90333-6](https://doi.org/10.1016/0304-4165(82)90333-6)
- Tobler, I., Franken, P., Alfoldi, P., Borbély, A.A., 1994. Room light impairs sleep in the albino rat. *Behav. Brain Res.* 63, 205–211. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)90092-2](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)90092-2)

- Toplu, A., Mutlu, N., Erdeve, E.T., Sariyildiz, Ö., Çelik, M., Öz-Arslan, D., Akman, Ö., Molnár, Z., Çarçak, N., Onat, F., 2023. Involvement of orexin type-2 receptors in genetic absence epilepsy rats. *Front. Neurol.* 14, 1282494. <https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1282494>
- Toreva, D., Lukanov, I., Kostadinova, I., Zaprianov, G., Krūstev, A., 1991. [A pharmacological analysis of the mechanism of action of ethosuximide]. *Farmakol. Toksikol.* 54, 23–27.
- Tsakiridou, E., Bertollini, L., de Curtis, M., Avanzini, G., Pape, H., 1995. Selective increase in T-type calcium conductance of reticular thalamic neurons in a rat model of absence epilepsy. *J. Neurosci.* 15, 3110–3117. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-04-03110.1995>
- Tsuda, A., Ito, M., Kishi, K., Shiraishi, H., Tsuda, H., Mori, C., 1994. Effect of penicillin on GABA-gated chloride ion influx. *Neurochem. Res.* 19, 1–4. <https://doi.org/10.1007/BF00966719>
- Tsyba, E.T., Midzyanovskaya, I.S., Birioukova, L.M., Tuomisto, L.M., Van Luijtelaar, G., Abbasova, K.R., 2023. Striatal Patchwork of D1-like and D2-like Receptors Binding Densities in Rats with Genetic Audiogenic and Absence Epilepsies. *Diagnostics* 13, 587. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13040587>
- Valjent, E., Bertran-Gonzalez, J., Hervé, D., Fisone, G., Girault, J.-A., 2009. Looking BAC at striatal signaling: cell-specific analysis in new transgenic mice. *Trends Neurosci.* 32, 538–547. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.06.005>
- Van Den Broek, S.P., Reinders, F., Donderwinkel, M., Peters, M.J., 1998. Volume conduction effects in EEG and MEG. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 106, 522–534. [https://doi.org/10.1016/S0013-4694\(97\)00147-8](https://doi.org/10.1016/S0013-4694(97)00147-8)
- Van Luijtelaar, E.L.J.M., Coenen, A.M.L., 1986. Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neurosci. Lett.* 70, 393–397. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(86\)90586-0](https://doi.org/10.1016/0304-3940(86)90586-0)
- van Luijtelaar, G., Budziszewska, B., Jaworska-Feil, L., Ellis, J., Coenen, A., Lasoń, W., 2001. The ovarian hormones and absence epilepsy: a long-term EEG study and pharmacological effects in a genetic absence epilepsy model. *Epilepsy Res.* 46, 225–239. [https://doi.org/10.1016/S0920-1211\(01\)00277-7](https://doi.org/10.1016/S0920-1211(01)00277-7)
- van Raay, L., Jovanovska, V., Morris, M.J., O'Brien, T.J., 2012a. Focal administration of neuropeptide Y into the S2 somatosensory cortex maximally suppresses absence seizures in a genetic rat model: Focal NPY Suppresses Seizures in GAERS. *Epilepsia* 53, 477–484. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03370.x>
- van Raay, L., Jovanovska, V., Morris, M.J., O'Brien, T.J., 2012b. Focal administration of neuropeptide Y into the S2 somatosensory cortex maximally suppresses absence seizures in a genetic rat model: Focal NPY Suppresses Seizures in GAERS. *Epilepsia* 53, 477–484. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03370.x>
- Vanhatalo, S., Palva, J.M., Holmes, M.D., Miller, J.W., Voipio, J., Kaila, K., 2004. Infralow oscillations modulate excitability and interictal epileptic activity in the human cortex during sleep. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 5053–5057. <https://doi.org/10.1073/pnas.0305375101>
- Velkova, K., Kristev, A., Kostadinova, I., 1995. Effects of ethosuximide on the cerebral vasculature and hemodynamics of rats. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 17, 677–684.
- Vergnes, M., Marescaux, C., Micheletti, G., Reis, J., Depaulis, A., Rumbach, L., Warter, J.M., 1982. Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neurosci. Lett.* 33, 97–101. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(82\)90136-7](https://doi.org/10.1016/0304-3940(82)90136-7)
- Villringer, A., Chance, B., 1997. Non-invasive optical spectroscopy and imaging of human brain function. *Trends Neurosci.* 20, 435–442. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(97\)01132-6](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(97)01132-6)
- Waalder, P.E., Blom, B.H., Skeidsvoll, H., Mykletum, A., 2000. Prevalence, Classification, and Severity of Epilepsy in Children in Western Norway. *Epilepsia* 41, 802–810. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.2000.tb00246.x>
- Wallace, R.H., Marini, C., Petrou, S., Harkin, L.A., Bowser, D.N., Panchal, R.G., Williams, D.A., Sutherland, G.R., Mulley, J.C., Scheffer, I.E., Berkovic, S.F., 2001. Mutant GABAA receptor γ 2-subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. *Nat. Genet.* 28, 49–52. <https://doi.org/10.1038/ng0501-49>

- Wang, D., Bordey, A., 2008. The astrocyte odyssey. *Prog. Neurobiol.* S030100820800110X. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2008.09.015>
- Wang, T., Sun, Y., Dettmer, U., 2023. Astrocytes in Parkinson's Disease: From Role to Possible Intervention. *Cells* 12, 2336. <https://doi.org/10.3390/cells12192336>
- Watts, M.E., Pocock, R., Claudianos, C., 2018. Brain Energy and Oxygen Metabolism: Emerging Role in Normal Function and Disease. *Front. Mol. Neurosci.* 11, 216. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00216>
- Weber, J.T., Yin, T.C.T., 1984. Subcortical projections of the inferior parietal cortex (area 7) in the stump-tailed monkey. *J. Comp. Neurol.* 224, 206–230. <https://doi.org/10.1002/cne.902240204>
- Weiss, N., Zamponi, G.W., 2019. T-type calcium channels: From molecule to therapeutic opportunities. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 108, 34–39. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2019.01.008>
- Wells, P.N.T., 2006. Ultrasound imaging. *Phys. Med. Biol.* 51, R83–R98. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/51/13/R06>
- Wheeler, M.A., Quintana, F.J., 2019. Regulation of Astrocyte Functions in Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 9, a029009. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029009>
- Williams, S.R., Stuart, G.J., 2000. Site Independence of EPSP Time Course Is Mediated by Dendritic I_h in Neocortical Pyramidal Neurons. *J. Neurophysiol.* 83, 3177–3182. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.83.5.3177>
- Wilson, C., Kawaguchi, Y., 1996. The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. *J. Neurosci.* 16, 2397–2410. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-07-02397.1996>
- Wirrell, E.C., 2003. Natural History of Absence Epilepsy in Children. *Can. J. Neurol. Sci. J. Can. Sci. Neurol.* 30, 184–188. <https://doi.org/10.1017/S0317167100002560>
- Wirrell, E.C., Camfield, C.S., Camfield, P.R., Gordon, K.E., Dooley, J.M., 1996. Long-term prognosis of typical childhood absence epilepsy: Remission or progression to juvenile myoclonic epilepsy. *Neurology* 47, 912–918. <https://doi.org/10.1212/WNL.47.4.912>
- Wong, M., 2010. Too Much Inhibition Leads to Excitation in Absence Epilepsy. *Epilepsy Curr.* 10, 131–133. <https://doi.org/10.1111/j.1535-7511.2010.01379.x>
- Wu, F.S., Gibbs, T.T., Farb, D.H., 1991. Pregnenolone sulfate: a positive allosteric modulator at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Mol. Pharmacol.* 40, 333–336.
- Yamakawa, G.R., Patel, M., Lin, R., O'Brien, T.J., Mychasiuk, R., Casillas-Espinosa, P.M., 2023. Diurnal circadian clock gene expression is altered in models of genetic and acquired epilepsy. *Epilepsia Open* 8, 1523–1531. <https://doi.org/10.1002/epi4.12841>
- Yang, Z., Liu, X., Dong, X., Qin, J., Li, J., Han, F., 2012. Epilepsy and Narcolepsy-Cataplexy in a Child. *J. Child Neurol.* 27, 807–810. <https://doi.org/10.1177/0883073811432888>
- Yetton, B.D., McDevitt, E.A., Cellini, N., Shelton, C., Mednick, S.C., 2018. Quantifying sleep architecture dynamics and individual differences using big data and Bayesian networks. *PLOS ONE* 13, e0194604. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194604>
- Zago, S., Ferrucci, R., Marceglia, S., Priori, A., 2009. The Mosso method for recording brain pulsation: The forerunner of functional neuroimaging. *NeuroImage* 48, 652–656. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.05.062>
- Zeitlhofer, J., Gruber, G., Anderer, P., Asenbaum, S., Schimicek, P., Saletu, B., 1997. Topographic distribution of sleep spindles in young healthy subjects. *J. Sleep Res.* 6, 149–155. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2869.1997.00046.x>
- Zheng, T.W., O'Brien, T.J., Morris, M.J., Reid, C.A., Jovanovska, V., O'Brien, P., van Raay, L., Gandrathi, A.K., Pinault, D., 2012. Rhythmic neuronal activity in S2 somatosensory and insular cortices contribute to the initiation of absence-related spike-and-wave discharges: *Rhythmic Activity in S2 and IC Initiate SWDs*. *Epilepsia* 53, 1948–1958. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2012.03720.x>

RESUME

Les fonctions cognitives reposent sur la mise en jeu de réseaux neuronaux dont le fonctionnement nécessite une régulation fine du métabolisme. Parvenir à suivre le métabolisme cérébral est aujourd'hui un défi majeur des Neurosciences qui, pour être relevé, exploite les développements technologiques issus des avancées les plus récentes en biologie et en physique. Mes travaux de thèse portent sur le développement de ces technologies et sur leur application dans un modèle d'épilepsie absence afin de mieux comprendre le lien entre métabolisme, comportement et apparition des crises.

Au cours de ma thèse, j'ai pu explorer la manière dont les crises d'épilepsies absences se répartissent selon le niveau d'activité comportementale du rat GAERS, avec une acuité temporelle qui ouvre la porte au large domaine de la prédiction des crises. J'ai aussi participé au développement d'une technique prometteuse qui, en établissant des liens spatiotemporels précis entre le métabolisme cérébral et des activités neuronales pathologiques comme les crises d'épilepsie permettra d'approfondir la question du lien entre métabolisme cérébral et activité cognitive.

SUMMARY

Cognitive functions rely on neuronal networks whose operation requires fine-tuned metabolic regulation. Tracking the brain's metabolism is a major challenge in neuroscience, and one that can only be met by harnessing technological developments based on the latest advances in biology and physics. My thesis work focuses on the development of these technologies and their application to a model of absence epilepsy, in order to better understand the link between metabolism, behavior and seizure onset.

In the course of my thesis, I was therefore able to explore the way in which absent epileptic seizures are distributed according to the level of behavioral activity of the GAERS rat, with a temporal acuity that opens the door to the broad field of seizure prediction. I have also participated in the development of a promising technique which, by establishing precise spatiotemporal links between cerebral metabolism and pathological neuronal activities such as epileptic seizures, will enable us to further investigate the link between cerebral metabolism and cognitive activity.