



**HAL**  
open science

# Effets antiépileptiques de la neurostimulation asservie dans un modèle d'épilepsie chez le rat

Sandrine Saillet

► **To cite this version:**

Sandrine Saillet. Effets antiépileptiques de la neurostimulation asservie dans un modèle d'épilepsie chez le rat. Neurobiologie. Université de Grenoble, 2010. Français. NNT: . tel-00770861

**HAL Id: tel-00770861**

**<https://theses.hal.science/tel-00770861>**

Submitted on 7 Jan 2013

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

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

## THÈSE

Pour obtenir le grade de

## DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : Modèles, méthodes et algorithmes en biologie, santé et environnement

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

**Sandrine SAILLET**

Thèse dirigée par **Antoine DEPAULIS** et **Olivier DAVID**

préparée au sein du **Laboratoire Dynamique des réseaux synchrones épileptique**  
dans l'**École Doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement**

**Effets antiépileptiques de la neurostimulation asservie dans un modèle d'épilepsie chez le rat**

Thèse soutenue publiquement le **15 décembre 2010**,  
devant le jury composé de :

**Mr Alain BUISSON**

Professeur, Université Grenoble 1, Président

**Mr Fabrice WENDLING**

Directeur de recherche, Université Rennes 1, Rapporteur

**Mr Michel LE VAN QUYEN**

Directeur de recherche, Université Paris 6, Rapporteur

**Mr Stéphane CHARPIER**

Professeur, Université Paris 6, Examineur

**Mr Olivier DAVID**

Directeur de recherche, Université Grenoble 1, Examineur

**Mr Antoine DEPAULIS**

Directeur de recherche, Université Grenoble 1, Examineur



## Remerciements

Avant tout, je tiens à remercier les membres du jury, Fabrice WENDLING, Michel LE VAN QUYEN, Alain BUISSON, d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail de thèse, et Stéphane CHARPIER sans qui rien n'aurait pu être possible.

Je tiens tout d'abord à remercier Antoine DEPAULIS, mon directeur de thèse, pour m'avoir accueillie au sein de son équipe. Merci Antoine, pour la confiance que tu as mise en moi, tes conseils, ta rigueur scientifique, ainsi que ta disponibilité à toute épreuve.

Je tiens ensuite à remercier tout particulièrement Olivier DAVID mon codirecteur de thèse, pour m'avoir soutenue tout au long de cette thèse, avoir toujours été présent et répondu à la moindre de mes questions que ce soit de jour, de nuit, en vacances ou non. Le temps passé avec toi m'a beaucoup appris d'un point de vue scientifique mais aussi personnel. Je n'oublierai jamais ta disponibilité et ta réactivité face aux petits problèmes rencontrés avec le système BioMEA, Matlab et le traitement du signal.

Je tiens aussi à remercier l'équipe du CEA-LETI dirigée par Régis GUILLEMAUD et notamment Guillaume CHARVET et Sadoc GHARBI, pour m'avoir formée à la prise en main de leur système BioMEA et avoir toujours répondu présent. Merci à vous deux pour votre sympathie et vos déplacements rapides, pour palier à mes angoisses du début de thèse.

Je remercie également les membres de mon équipe, en commençant par Sabine GIROD, amie et compagne de bureau, de nuit et de week-ends passés au labo,

pendant mes deux dernières années de thèse. Merci à Anne Marie LAHARIE, pour m'avoir accueillie chez elle les 15 premiers jours à mon arrivée à Grenoble et pour avoir répondu présente jusqu'à la fin. Merci à Colin DERANSART qui m'a encadrée dans les débuts, en tant que spécialiste des GAERS et des ganglions de la base. Merci aussi à Isabelle, Benoit, Hélène, Tanguy et Caroline pour leur soutien. Merci aux cliniciens de l'équipe et en particulier Lorella, pour son aide et sa bonne humeur; Cécile, pour ses conseils et les petites soirées après le boulot, Sophie, Laurent et Philippe.

Je tiens aussi à remercier certaines personnes au sein de l'institut. En premier lieu l'ex équipe U704, avec qui tout a commencé au LBFA : Marc, Mireille, Carole, Véronique; les étudiants de l'institut; ainsi que les animaliers. Merci pour votre soutien moral, logistique et pour les bons moments partagés.

Je tiens enfin à dédier cette thèse à ma famille, à mes amis et à Guillaume Roussin qui ont toujours soutenus mes choix et m'ont épaulée. Merci à «la terrasse de la honte», Jean Mi, Gold, Seb, Fab, Fred, Ben, à «la familia 38», au monde du «down hill» et enfin à Valérie et Sylvie, mes meilleures amies.

Ce travail de thèse n'aurait pas pu être réalisé sans les soutiens financiers du Clusters Recherche Rhône-Alpes Handicap-Vieillesse-Neurosciences, et la Fondation pour la Recherche Médicale, que je remercie vivement pour la confiance qu'ils m'ont accordée.

## SOMMAIRE

Abréviations.....	7
Avant-propos.....	8
Première partie : Introduction.....	10
I. Les épilepsies.....	11
I.1. Définition.....	11
I.2. Classification des crises et syndromes épileptiques.....	12
I.3. Traitements des épilepsies.....	16
3.1. Traitements pharmacologiques.....	16
3.2. Traitements chirurgicaux.....	20
I.4. Modèles animaux en épilepsie.....	23
II. Rôle des ganglions de la base dans le contrôle des crises d'épilepsie.....	28
II.1. Anatomie des ganglions de la base.....	28
II.2. Les ganglions de la base comme structures de contrôle endogène.....	31
2.1. Etudes pharmacologiques.....	31
2.2. Etudes électrophysiologiques.....	32
III. La neurostimulation.....	34
III.1. Etat des lieux de la neurostimulation en épilepsie – Article 1.....	34
Saillet S, Langlois M, Feddersen B, Minotti L, Vercueil L, Chabardès S, David O, Depaulis A, Deransart C, Kahane P. (2009) Manipulating the epileptic brain using stimulation: a review of experimental and clinical studies. <i>Epileptic Disorders</i> , 11: 100-112.	
III.2. La stimulation asservie.....	36

Deuxième partie : Travaux originaux.....	39
I. Objectif de l'étude.....	40
I.1. Caractérisation de l'activité des structures en vue d'un choix de cible pour la stimulation.....	40
I.2. Développement d'un système de stimulation asservie.....	41
I.3. Quantification des effets antiépileptiques de la stimulation asservie.....	41
II. Stratégie de l'étude .....	42
II.1. Modèle animal.....	42
II.2. Cible de stimulation.....	42
II.3. Système d'enregistrement/stimulation.....	43
III. Matériels et Méthodes.....	44
III.1. Animaux.....	44
III.2. Chirurgie stéréotaxique.....	44
III.3. Enregistrements électroencéphalographiques.....	45
III.4. Système de stimulation.....	47
4.1. Détermination du seuil antiépileptique.....	48
4.2. Traitement en temps réel de la stimulation asservie en boucle fermée .....	48
4.3. Détermination de la période réfractaire.....	49
4.4. Robustesse de la stimulation asservie .....	50
III.5. Histologie.....	50
III.6. Analyses et statistiques.....	50
IV. Résultats .....	52
IV.1 Identification du réseau impliqué dans l'épilepsie et caractérisation du réseau - Article 2-.....	52

David O, Guillemain I, Saillet S, Reyt S, Deransart C, Segebarth C, Depaulis A. (2008) Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological validation. PLoS Biol. 6(12):2683-97.

## IV.2 Développement d'un système de stimulation asservie - Articles 3 & 4-- 55

Saillet S, Charvet G, Gharbi S, Depaulis A, Guillemaud R, David O. (2009) Closed-loop control of seizures in a model of absence epilepsy using the BioMEA system. Proc. 4<sup>th</sup> International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering.

Guillemaud R, Bêche J-F, Billoint O, Bonnet S, Gharbi S, Rostaing J-P, Trévisiol M, Yvert B, Rousseau L, Goy F, Heuschkel M, David O, Saillet S, Charvet G (2010). A multi channel platform for recording and stimulation of large neuronal structures. *IRBM*, 30(5-6):226-33.

## IV.3 La stimulation asservie sur le long terme..... 57

Résultats ..... 57

Discussion..... 67

## Troisième partie : Discussion ..... 73

### III.1 Discussion générale..... 74

I. Caractérisation de l'activité des structures en vue d'un choix de cible pour la stimulation ..... 74

II. Développement du système de stimulation asservie ..... 76

III. Quantification des effets antiépileptiques de la stimulation asservie ..... 80

### III.2 Références bibliographiques..... 83

### III.3 Annexes ..... 101

3.1 Publications ..... 101

3.2 Communications orales ..... 102

3.3 Communications affichées..... 102

## Abréviations

AMPA:  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate

DPO: décharge de pointe-onde

EEG: électroencéphalogramme

GABA: acide gamma-aminobutyrique

GAERS: Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg

GB: ganglions de la base

GP: glomus pallidus

GPe: segment externe du glomus pallidus

GPI: segment interne du glomus pallidus

IIC: intervalle inter critique

ILAE: International League Against Epilepsy

ISI: intervalle interstimulation

KA: kainate

NMDA: N-méthyl-D-aspartate

nRT: noyau réticulaire du thalamus

NST: noyau soubsthalamique

PC: potentiel de champ

PILO: pilocarpine

PTZ: pentylènetétrazole

SN: substance noire

SNc: substance noire compacte

SNr: substance noire réticulée

T-F: temps-fréquence



## Avant-propos

L'objectif principal de ma thèse a été de développer un nouveau système de stimulation intracérébrale profonde adaptée aux épilepsies qui soit à la fois efficace pour le contrôle des crises sur le long terme et économe en énergie. Ce système est fondé sur la notion de stimulation adaptative déclenchée par la détection du début de crises d'épilepsie ou stimulation asservie. Potentiellement, cette approche peut être appliquée chez des patients épileptiques pharmacorésistants qui ne peuvent être candidats à la chirurgie résective.

Trois points principaux ont été abordés chez un modèle animal d'épilepsie absence, le GAERS (Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg) : (1) décrire quelle est l'activité des ganglions de la base, principal circuit de contrôle, pendant les crises d'absence afin de choisir une cible «optimale»; (2) développer un système de stimulation asservie sur le principe de «détection/stimulation» de crises; (3) valider ce nouveau système de stimulation en boucle fermée sur le long terme.

La première partie du document présente le contexte général de mon sujet de thèse. Elle est constituée d'une introduction sur les épilepsies, qui passe en revue les différents types de crises et syndromes, les traitements pharmacologiques et chirurgicaux, ainsi que les différents modèles animaux. Suivie d'une description du rôle des ganglions de la base dans le contrôle des crises qui s'appuie sur les études pharmacologiques et électrophysiologiques. Et se clôt par un état des lieux de la neurostimulation en épilepsie permettant d'introduire la stimulation asservie.

Dans une seconde partie, les travaux originaux sont développés: (1) objectifs de thèse et stratégie adoptée : choix du modèle, de la cible de stimulation et du

système d'enregistrement/stimulation; (2) matériels et méthodes; (3) résultats et publications.

Le document se clôt sur une discussion générale de mes résultats me permettant d'émettre des perspectives à plus ou moins long terme.

## Première partie : Introduction

## I. Les épilepsies

### I.1. Définition

L'épilepsie est un des troubles neurologiques les plus fréquents. D'une prévalence moyenne située à environ 8,2 pour 1000 dans l'ensemble de la population mondiale, selon l'Organisation Mondiale de la Santé, elle concerne en France près de 500.000 patients, et constitue ainsi un problème majeur de santé publique. D'un point de vue historique, le terme «épilepsie», apparaît dans la langue française en 1503 prenant son origine de l'ancien grec : 'επιλαμβάνειν' (epilambanein) qui signifie 'saisir' ou 'attaquer par surprise'. Les crises d'épilepsie sont caractérisées par des manifestations cliniques paroxystiques motrices, sensitives, sensorielles ou psychiques, accompagnées ou non d'une perte de connaissance, et caractérisées par des décharges excessives et hypersynchrones dans une population neuronale plus ou moins vaste du cortex cérébral. Les causes sont diverses et les crises se traduisent par des manifestations intermittentes dont les aspects cliniques sont multiples : les plus fréquents sont la perte de connaissance et la convulsion. La maladie épileptique est définie par la répétition chez un même sujet, de crises d'épilepsie spontanées. Ainsi, une crise épileptique unique ou la répétition de crises dans le cadre d'une affection cérébrale aiguë ne constitue pas une maladie épileptique. Le diagnostic définitif d'une maladie épileptique nécessite l'obtention des données électroencéphalographiques (EEG), même si la quasi-totalité des crises est associée à des symptômes cliniques plus ou moins spécifiques (pour revue voir Thomas et Arzimanoglou, 2000).

## I.2. Classification des crises et syndromes épileptiques

La classification internationale des crises épileptiques par l'International League Against Epilepsy (ILAE) en 1981, permet de distinguer, sur la concordance des critères cliniques et EEG, trois grands types de crises d'épilepsie : les crises généralisées, les crises partielles et les crises non-classées (voir tableau 1).

**Les crises généralisées** sont caractérisées par des décharges paroxystiques qui surviennent simultanément dans les deux hémisphères cérébraux. Les manifestations EEG critiques sont caractérisées par des décharges de pointes, poly-pointes, pointes-ondes ou poly-pointes-ondes bilatérales, synchrones et symétriques enregistrées à la surface des deux hémisphères. Ces crises sont caractérisées par l'altération de la conscience mais sont aussi accompagnées de manifestations motrices bilatérales et symétriques qui peuvent être convulsives ou non convulsives.

**Les crises partielles ou focales** sont caractérisées par une décharge paroxystique initialement restreinte à un nombre limité de neurones corticaux ou sous-corticaux d'un seul hémisphère, constituant la région appelée «zone épileptogène» ou «foyer épileptogène». Cette spécificité anatomique est caractérisée par des signes cliniques très localisés spécifiques du désordre fonctionnel de la région cérébrale concernée. Les manifestations EEG critiques peuvent rester focales, se propager secondairement à une partie ou à la totalité d'un hémisphère, puis se généraliser.

**Les crises non-classées** sont caractérisées par le fait qu'elles présentent une sémiologie atypique et complexe dont le caractère focal ou généralisé n'est pas déterminé. C'est par exemple le cas des crises convulsives nocturnes. D'autres ne sont pas classables par manque d'informations sur le type de crises ou l'absence d'anomalies EEG.

La connaissance des mécanismes de l'épileptogenèse restant encore limitée, une classification syndromique fut adoptée en 1989 (voir tableau 2), dans le but d'établir une catégorisation diagnostique des épilepsies (ILAE, 1989). Cette classification repose sur deux axes, symptomatologique et étiologique.

*L'axe symptomatologique* distingue les crises généralisées des crises partielles ou focales.

*L'axe étiologique* distingue (1) les épilepsies idiopathiques (dont la cause est inconnue), qui surviennent en absence de lésions apparentes du système nerveux central et dont le facteur étiologique principal est représenté par une prédisposition héréditaire ; (2) les épilepsies symptomatiques, qui résultent d'une lésion structurelle diffuse ou focale, évolutive ou fixe du système nerveux central et (3) les épilepsies cryptogéniques dont la cause est cachée, présumées symptomatiques mais qui résulte d'un désordre neurologique qui échappe aux moyens d'investigation cliniques actuels.

## Tableau 1 : Classification des Crises Epileptiques

---

### 1. Les crises généralisées convulsives ou non-convulsives

- 1.2. Crises de type absences
  - Absences typiques
  - Absence atypiques
- 2.2. Crises myocloniques
- 3.2. Crises cloniques
- 4.2. Crises toniques
- 5.2. Crises tonico-cloniques
- 6.2. Crises atoniques

### 2. Les crises partielles

- 2.1. Crises partielles simples (sans perte de conscience)
  - Accompagnées de symptômes moteurs
  - Accompagnées de symptômes somatosensoriels ou sensoriels
  - Accompagnées de symptômes végétatifs
  - Accompagnées de symptômes psychiques
- 2.2. Crises partielles complexes (avec perte de conscience)
  - Débutant comme une crise partielle simple, suivie d'une perte de conscience
    - Accompagnées de symptômes psychiques
    - Accompagnées d'automatismes
  - Accompagnées d'une perte de conscience
    - Accompagnées de symptômes psychiques
    - Accompagnées d'automatisme
- 2.3. Crises partielles secondairement généralisées

### 3. Les crises non-classées

Incluent toutes les crises qui ne peuvent être classées dans les catégories citées ci-dessus, par des données incomplètes ou inadéquates.

---

D'après Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*, 1981, 22, 489-501.

## Tableau 2 : Classification des épilepsies et syndromes épileptiques

---

### 1. Epilepsies et syndromes épileptiques focaux

- 1.1. Idiopathiques liées à l'âge
    - Epilepsie bénigne de l'enfance à paroxysmes rolandiques
    - Epilepsie bénigne de l'enfance à paroxysmes occipitaux
    - Epilepsie primaire de la lecture
  - 1.2. Symptomatiques
    - Syndromes variés en fonction de la localisation et de l'étiologie
  - 1.3. Cryptogéniques
    - Syndromes d'étiologie inconnue
- 

### 2. Epilepsies et syndromes épileptiques généralisés

- 2.1. Idiopathiques, liées à l'âge, avec par ordre chronologique
    - Convulsions familiales néonatales bénignes
    - Convulsions néonatales bénignes
    - Epilepsie myoclonique bénigne de l'enfance
    - Epilepsie-absence de l'enfance
    - Epilepsie-absence de l'adolescence
    - Epilepsie myoclonique juvénile
    - Epilepsie à crises Grand Mal du réveil  
(d'autres épilepsies peuvent être classées comme généralisées idiopathiques sans faire partie de ces syndromes)
  - 2.2. Cryptogéniques et/ou symptomatiques, avec en particulier
    - Spasmes infantiles (syndrome de West)
    - Syndrome de Lennox-Gastaut
    - Epilepsie avec crises myocloniques précoces
    - Epilepsie avec absences myocloniques
  - 2.3. Symptomatiques
    - 2.3.1. Sans étiologie spécifique
      - Encéphalopathie myoclonique précoce
      - Encéphalopathie infantile précoce avec suppression-bursts (Sd d'Ohtahara)
      - Autres
    - 2.3.2. Syndromes spécifiques
      - De nombreuses étiologies métaboliques ou dégénératives peuvent entrer dans ce cadre
- 

### 3. Epilepsies dont le caractère focal ou généralisé n'est pas déterminé

- 3.1. Avec association de crises généralisées et partielles, avec en particulier
    - Epilepsie myoclonique sévère
    - Epilepsie avec pointes-ondes continues pendant le sommeil lent
    - Epilepsie avec aphasie acquise (syndrome de Landau-Kleffner)
  - 3.2. Sans caractères généralisés ou focaux certains
- 

### 4. Syndromes spéciaux

- 4.1. Crises occasionnelles, liées à une situation épileptogène transitoire
    - Convulsions fébriles
    - Crises uniquement précipitées par un facteur toxique ou métabolique
  - 4.2. Crise isolée, état de mal isolé
- 

D'après Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*, 1989, 30, 389-399.



## I.3. Traitements des épilepsies

### 3.1. Traitements pharmacologiques

Le choix d'une thérapeutique en épilepsie dépend d'une évaluation diagnostique précise du type de crises ou du syndrome épileptique en cause. En effet, chaque forme d'épilepsie répond de façon différente au traitement pharmacologique (Panayiotopoulos, 2005). Ces traitements pharmacologiques permettent de stabiliser les crises chez plus de 70% des cas, améliorant ainsi la qualité de vie des patients épileptiques. Cependant, ces traitements sont tous symptomatiques et obligent les patients à prendre des médicaments durant de longues années, voire tout au long de leur vie. Parmi les différents médicaments antiépileptiques, on peut distinguer deux grands groupes : les antiépileptiques de première génération, découverts de façon empirique et commercialisés avant 1990, et les molécules de deuxième génération, mises au point selon certaines hypothèses (neurotransmission GABAergique, canaux sodiques ou calciques) et mises sur le marché après cette date.

Parmi les antiépileptiques de première génération figurent notamment :

Le **phénobarbital** qui est une molécule relativement ancienne présentant un effet antiépileptique dans à peu près toutes les formes d'épilepsie à l'exception des absences typiques. Il fait partie de la famille des barbituriques et sa fixation sur les sous-unités du récepteur GABA-A, modifie sa conformation allostérique, potentialisant ainsi les effets du GABA (Macdonald, 1988; Macdonald, 1989). Il est de moins en moins utilisé en Europe et aux Etats Unis en raison de ses effets secondaires et de sa toxicité.

Le **valproate** est un antiépileptique à large spectre, prescrit pour traiter les crises d'épilepsie généralisée d'emblée, ou secondairement généralisée. Sa bonne

tolérance fait de lui un des principaux antiépileptiques de première intention (Brodie et Dichter, 1997 ; Rogawski et Loscher, 2004), même si plusieurs mécanismes d'actions ont été décrits. C'est principalement un inhibiteur d'une enzyme responsable de la dégradation du GABA, la semi-aldéhyde-succinyl-déshydrogénase. De plus, il semble activer l'enzyme de synthèse du GABA, la L-Glutamic-acid-decarboxylase, et module des canaux calciques à bas seuil (Macdonald, 1995).

La **phénytoïne** a été un des premiers antiépileptiques à large spectre d'efficacité, sauf pour les crises d'absence typiques où elle présente un effet aggravant (Perucca, 2001). Ce composé se lie aux canaux sodiques voltage-dépendants dans leur état inactivé, elle ralentit alors leur réactivation et diminue la capacité du neurone à produire des décharges à haute fréquence (McLean et Macdonald, 1983; Rogawski et Loscher, 2004). Elle semble modifier également les courants sodiques persistants (Niespodziany et coll., 2004).

La **carbamazépine** est un antiépileptique particulièrement utilisé pour traiter les épilepsies partielles ou secondairement généralisées (Brodie et French, 2000). Sa structure est proche des composés tricycliques prescrits dans le cadre de désordres psychiatriques (Birkhimer et coll., 1985) et elle présente le même mécanisme d'action sur les canaux sodiques que la phénytoïne (Schmidt et Elger, 2004). Elle interagit également avec les récepteurs à l'adénosine et présente une sélectivité pour le système limbique.

L'**éthosuximide** est un antiépileptique prescrit uniquement dans les épilepsies de type absence (Brodie et Dichter, 1997). Son effet antiépileptique s'exerce à travers la réduction des courants calciques de type T situés sur les neurones relais thalamo-corticaux, bloquant leur décharge synchrone (Coulter et coll., 1989 a, b, c; Rogawski et Loscher, 2004) ainsi qu'en réduisant légèrement les courants sodiques persistants (Niespodziany et coll., 2004).

Parmi les antiépileptiques de seconde génération, huit sont déjà utilisés en France depuis plusieurs années (Figure 1). Contrairement aux antiépileptiques de première génération, l'étude de leurs mécanismes d'action fait à présent partie du développement préclinique et clinique (Perucca et coll., 2007).

Certains de ces antiépileptiques ont un mécanisme d'action principal tel que l'inhibition de la dégradation du GABA pour le **vigabatrin** (Ben-Menachem 1995; Tolman et Faulkner 2009; Willmore 2009), de sa recapture pour la **tiagabine** (Angehagen et coll., 2003), ou le blocage des canaux  $\text{Na}^+$  voltage-dépendants pour la **lamotrigine** (Cheung et coll., 1992; Zona et Avoli, 1997). et l'**oxcarbazépine** (Bouquié et coll., 2010; Vohora et coll., 2010). D'autres ont plusieurs mécanismes d'action identifiés. Ainsi, en plus du blocage des canaux  $\text{Na}^+$ , le **topiramate** (Angehagen et coll., 2005; White 2005) et le **felbamate** (Parker et coll., 2005 ; Yang et coll., 2007) ont un effet GABA-ergique et atténuent la transmission glutamatergique. Le **zonisamide** diminue les courants calciques T (Leppik 2004; Wilfong et coll., 2006). L'atténuation de la neurotransmission excitatrice ne constitue pas le mode d'action unique ou prépondérant pour aucun des antiépileptiques existants. La **gabapentine** et le **prégabaline** (Taylor et coll., 2007) agissent sur des canaux calciques voltage-dépendants, essentiellement présynaptiques. Enfin, le **lévétiracétam** (Gillard et coll., 2006; Raevskii et coll., 2007; Lynch et coll., 2009) semble présenter un mécanisme d'action tout à fait original en agissant sur les protéines SV2 impliquées dans l'exocytose.

Malgré l'utilisation courante d'antiépileptiques, la pharmaco-résistance représente un grand défi dans le traitement de l'épilepsie. Chez plus de 30% des patients, les antiépileptiques classiques ne parviennent pas à supprimer les crises d'épilepsie (Perucca et coll., 2007).

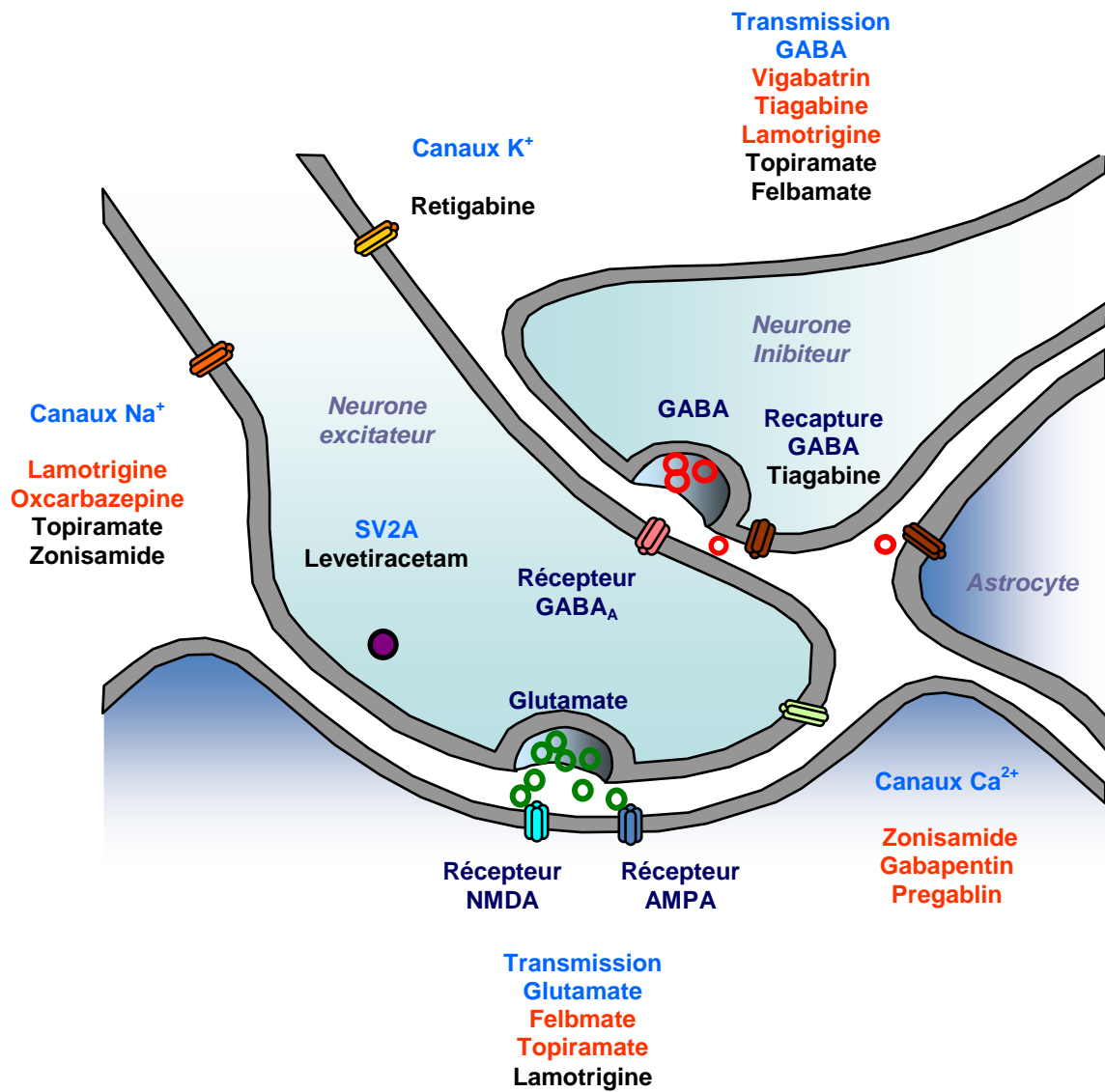


Figure 1: Représentation schématique des mécanismes d’actions des antiépileptiques de seconde génération. Figure adaptée de LaRoche et Helmers, 2004; Beyreuther et coll., 2007.

### 3.2. Traitements chirurgicaux

La majorité des patients souffrants d'épilepsie est bien contrôlée par un traitement médicamenteux adapté. Cependant, environ 30% des épilepsies résistent malgré tout aux différents antiépileptiques disponibles (Perucca et coll., 2007). Pour ces patients souffrants d'une épilepsie dite pharmacorésistante, le traitement chirurgical fait désormais partie de l'arsenal thérapeutique à notre disposition. Depuis l'étude de Wiebe et coll. 2001, l'efficacité de la chirurgie de l'épilepsie contre le seul traitement médicamenteux a été clairement établie, en tous cas pour les épilepsies du lobe temporal.

D'une façon générale, chez l'adulte comme chez l'enfant, la chirurgie de résection s'adresse aux patients souffrants d'une épilepsie partielle non contrôlée par un traitement médicamenteux adapté et plus particulièrement aux épilepsies partielles, c'est-à-dire caractérisées par la survenue de crises à début focal dont les premières manifestations électrocliniques indiquent le dysfonctionnement d'un système neuronal limité à une région du cortex cérébral. Les épilepsies partielles réfractaires aux traitements pharmacologiques, comme les épilepsies mésiotemporales ou celles associées à une dysplasie corticale focale, représentent l'indication la plus fréquente pour une chirurgie résective (Engel et coll., 2003). Dans ces cas, une résection limitée à la zone du cortex où le foyer épileptogène a été identifié permet la suppression définitive des crises chez 80-85% des patients (Kahane et coll., 2008).

Un traitement chirurgical, palliatif ou curatif, peut être envisagé aussi dans le cadre des syndromes épileptiques dits généralisés comme par exemple dans le Syndrome de West et le Syndrome de Lennox-Gastaut ou encore dans le cadre des épilepsies symptomatiques de lésions étendues, comme la Maladie de Sturge-Weber (Arzimanoglou et coll., 2000), l'hémimégalencéphalie (Folhen et coll., 2002), la maladie de Rasmussen (Hart et Andermann 2005; Bien et

coll., 2005), ou de lésions multifocales comme la Sclérose Tubéreuse de Bourneville (Bebin et coll., 1993; Koh et coll., 2000).

L'évaluation pré chirurgicale nécessite une méthodologie rigoureuse prenant en compte les données cliniques, EEG, d'imagerie et neuropsychologiques propres à chaque patient et ayant pour but la localisation de la région responsable de l'origine des crises, la faisabilité du geste chirurgical et l'évaluation préalable du rapport bénéfice/risque lié à l'intervention chirurgicale (Engel et coll., 2003; Jokeit, 2001). La conduite et le choix des examens à réaliser au cours du bilan pré chirurgical et notamment la décision d'avoir recours aux enregistrements invasifs (électrodes intracérébrales, électrodes sous-durales) seront discutés, au cas par cas, au sein d'une équipe multidisciplinaire. Dans ces conditions, le bilan pré chirurgical doit être réalisé dans des centres hospitaliers qui en ont l'expertise. En fonction des résultats colligés au cours du bilan pré chirurgical, différentes options chirurgicales pourront être proposées.

Il existe plusieurs types d'intervention chirurgicale. La **cortectomie** (Turak et coll., 2008), qui consiste en l'ablation très limitée de la zone du cerveau où a été défini le foyer épileptogène, est une chirurgie de résection qui comprend un ensemble varié de techniques, comme la **lobectomie** qui consiste en la résection d'un lobe cérébral. Cette approche est très souvent utilisée dans les cas d'épilepsie du lobe temporal qui est la forme la plus fréquente des épilepsies partielles pharmacorésistantes (Engel, 1996b; Thomas et Arzimanoglu, 2003) et du lobe frontal. Il existe aussi des interventions plus limitées spatialement comme la **lésionnectomie** qui consiste en l'ablation d'une lésion anatomique, ou l'**amygdalo-hippocampectomie**.

A côté des interventions potentiellement curatives se placent les interventions considérées comme palliatives, principalement dans les épilepsies secondairement généralisées, généralisées ou localisées aux régions fonctionnelles, qui permettent d'améliorer la qualité de vie du patient, sans

nécessairement permettre un contrôle total des crises. C'est par exemple le cas des **callosotomies** qui consistent à sectionner partiellement ou totalement le corps calleux reliant les deux hémisphères cérébraux (Asadi-Pooya et coll., 2008). Ceci interrompt les voies de connexions qui participent à la bilatéralisation des crises. Une autre approche est la **transsection sous-piale** qui consiste à sectionner au niveau du cortex les fibres courtes cortico-corticales support de l'épileptogénicité tout en respectant la vascularisation piale et les fibres longues cortico-sous-corticales (Morrell et coll., 1989; Kaufmann et coll., 1996). Cette technique est utilisée dans les régions hautement fonctionnelles comme la région motrice et les régions du langage dont elle préserve l'intégrité tout en supprimant l'épileptogénicité (Engel, 1996b; Spencer et coll., 2002; Thomas et Arzimanoglou, 2003). L'**hémisphérotomie** fonctionnelle consiste à déconnecter l'un des hémisphères tout en laissant en place le tissu et sa vascularisation (Chabardès et coll., 2008; Pollo et coll., 2008); elle est une variante de l'hémisphérectomie (Rasmussen, 1983) qui est actuellement abandonnée afin d'éviter les complications liées à l'importance de l'espace mort intracrânien laissé en place par la résection d'un hémisphère entier.

Malgré les progrès des traitements chirurgicaux, les techniques résectives restent mal adaptées à des formes d'épilepsies généralisées qui impliquent des circuits corticaux et sous-corticaux bilatéraux souvent très complexes. Au cours de ces dernières années, la principale option thérapeutique innovante est la neurostimulation des circuits générateurs et/ou de contrôle des crises épileptiques. En effet, à l'instar des patients parkinsoniens (Benabid, 2003), la neurostimulation pourrait constituer une approche thérapeutique non lésionnelle de ces formes d'épilepsies pharmacorésistantes qui ne peuvent bénéficier d'une chirurgie résective curative (voir troisième partie de cette introduction).

#### I.4. Modèles animaux en épilepsie

Les mécanismes physiopathologiques des épilepsies ne peuvent être étudiés de façon approfondie chez l'homme pour des raisons à la fois techniques, économiques et éthiques. La modélisation a donc pour but de reproduire les caractéristiques physiopathologiques principales des maladies afin de comprendre les mécanismes et de tester l'efficacité de nouveaux traitements, constituant ainsi une approche pertinente de l'étude des pathologies. D'une façon générale, le modèle animal se définit comme une préparation simplifiée chez l'animal dans son intégrité qui permet l'étude, dans les conditions de laboratoire, de la physiopathologie et du traitement d'une maladie (Depaulis, 2003). Le choix d'un modèle répond à plusieurs critères dont l'importance varie en fonction des questions posées: (1) *l'isomorphisme* se traduit par la similitude des symptômes entre le modèle et la traduction clinique de la pathologie; (2) *la prédictivité* est caractérisée par la similitude des profils pharmacologiques entre le modèle et la pathologie; enfin (3) *l'homologie* est définie par la similitude étiologique des mécanismes physiopathologiques (Dantzer, 1986).

Dans le cas de l'épilepsie, plusieurs types de crises induites ou spontanées peuvent être observés chez les animaux, en particulier chez les mammifères. Au cours des cinquante dernières années, plusieurs modèles animaux d'épilepsies ont été décrits principalement chez le rongeur et chez certains primates. Parmi ces modèles, on peut distinguer deux grands types : les modèles de crises d'épilepsie qui utilisent des animaux sains chez lesquels une crise, souvent unique, est induite par l'injection d'un convulsivant ou par une stimulation électrique, et les modèles chroniques ou modèle d'épilepsie où des crises récurrentes et spontanées sont observées. Ici notre intérêt s'est porté sur les modèles d'épilepsie où des crises spontanées peuvent être observées soit à la suite d'une manipulation unique (état de mal), soit à la suite d'une sélection génétique, soit enfin provenant d'une ou plusieurs manipulations génétiques. Il



ne s'agit pas ici de répertorier tous les modèles animaux d'épilepsie, mais d'en décrire brièvement trois couramment utilisés dans les laboratoires: deux modèles induits par état de mal initial, le rat pilocarpine (PILO) et la souris kainate (KA), et un modèle génétique, le rat GAERS. Ces trois modèles présentent des crises spontanées récurrentes. En effet, seuls des modèles de ce type peuvent être utilisés pour mettre en place un type de stimulation asservie.

Le *modèle PILO* est un modèle de crises partielles induites par injection systémique de pilocarpine chez le rat (Fujikawa, 2003) qui reproduit plusieurs des caractéristiques des épilepsies du lobe temporal chez l'homme. Ce modèle est caractérisé par un état de mal limbique initial consécutif à l'injection, encore appelé phase aiguë d'une durée de 24 heures. Au cours de cet état de mal, des pointes et des bouffées d'activité rapide de bas voltage sont enregistrées dans l'hippocampe et se propagent au cortex. Puis ces activités progressent jusqu'à l'apparition d'activité rapide à haut voltage, et enfin les crises comportementales apparaissent de manière séquentielle toutes les 5-10 minutes (Cavalheiro et coll., 1991; Leite et coll., 1990). Au cours de cet état de mal et dans les jours qui suivent, le taux de mortalité est en général de 30%, même si les crises sont interrompues par l'injection de diazépam. Cette phase initiale est suivie d'une phase latente de plusieurs jours à plusieurs semaines pendant laquelle aucune manifestation comportementale n'est observée. Cependant, des pertes cellulaires sont observées préférentiellement localisées dans l'hippocampe mais aussi dans l'amygdale, le thalamus, les cortex piriforme et entorhinal, le néocortex et la substance noire (Honchar, 1983; Mello et coll., 1993; Andre et coll., 2000). Des crises récurrentes spontanées sont observées après cette phase latente qui peuvent ensuite survenir de façon récurrente pendant toute la vie de l'animal. Pendant cette phase chronique, les crises sont caractérisées par des myoclonies faciales, des hochements de tête accompagnés de clonies des pattes antérieures, de redressements suivis de chutes concomitantes à des décharges paroxystiques

initiées dans l'hippocampe et qui se propagent rapidement au cortex. Les crises spontanées sont observées en moyenne deux à trois fois par semaines (Cavalheiro et coll., 1991). D'un point de vue pharmacologique, des antiépileptiques comme le phénobarbital ou la carbamazépine suppriment les crises spontanées alors que d'autres comme le valproate ne sont efficaces qu'à fortes doses. C'est un modèle qui permet l'étude des mécanismes impliqués dans l'épileptogenèse grâce à la présence des trois phases bien distinctes et qui demeure largement étudié, dans le développement de nouvelles stratégies et dans l'identification des circuits épileptogènes. Toutefois, en raison du taux de mortalité important, de la très grande variabilité et gravité des lésions corrélées à la durée de l'état de mal, qui peut s'étendre à d'autres structures que les structures limbiques et à la faible fréquence des crises spontanées. Ce modèle paraît difficile à envisager pour la mise au point d'un système de stimulation asservie.

Le *modèle MTLE* est un modèle de crises focales chez la souris induit par l'injection intrahippocampique de kainate. Ce modèle est initié par un état de mal consécutif à l'injection, qui dure environ 12-15h et qui est caractérisé par des mouvements cloniques des membres antérieurs et des rotations, associés d'un point de vue EEG à des pointes, des polypointes et pointes-ondes, continues ou non, dans l'hippocampe et le cortex à la fois ipsi et contralatéraux (Bouilleret et coll., 1999; Riban et coll., 2002). Dans les 2-3 jours qui suivent cet état de mal, des pointes rythmiques récurrentes sont observées au niveau de l'hippocampe injecté uniquement. Puis, pendant deux à trois semaines, ces pointes se regroupent en bouffées de plus en plus longues (3 à 10 sec) et de véritables décharges paroxystiques hippocampiques surviennent régulièrement de façon très stéréotypées (Riban et coll., 2002). Ainsi, pendant la période chronique, des décharges paroxystiques récurrentes et spontanées sont observées qui débutent le plus souvent par des pointes lentes rythmiques (3-6 Hz) de haute

amplitude, suivies par une activité rapide (9-13 Hz) de faible amplitude, localisées à l'hippocampe injecté et s'accompagnant d'un arrêt comportemental et/ou de quelques stéréotypies (Riban et coll., 2002). Ces crises peuvent survenir en moyenne toutes les minutes quand l'animal est en veille calme, et durent environ 20 sec. Elles restent stables jusqu'à la mort de l'animal et ne généralisent que très rarement. Lorsque c'est le cas, la décharge se propage au cortex et s'accompagne de clonies asymétriques des pattes antérieures (Riban et coll., 2002). Dans ce modèle, une sclérose de l'hippocampe est observée dans l'hippocampe injecté, caractérisée par une perte cellulaire importante dans les régions CA1, CA3 et le hile du gyrus denté, et le bourgeonnement des fibres moussues. Ce modèle présente en particulier une dispersion des cellules du gyrus denté le long de travées radiaires (Bouilleret et coll., 1999, Heinrich et coll., 2006) qui est très semblable à ce qui est observé sur les pièces de résection des patients MTLE (Houser et coll., 1990). La plupart des antiépileptiques de 1<sup>ère</sup> génération sont inefficaces sur ce modèle, ou alors à fortes doses (Bressand et coll., 2009). Les antiépileptiques de 2<sup>ème</sup> génération présentent une meilleure efficacité mais perdent souvent leur effet supprimeur lors d'un traitement chronique (Bressand et coll., en préparation). Ce modèle remplit ainsi plusieurs critères de validation qui correspondent à l'épilepsie mésio temporale chez l'homme (Engel 1995; White 2003). Bien que ce modèle offre la possibilité d'une survenue régulière de crises pendant lesquelles l'animal est suffisamment calme pour permettre un recueil fiable de données électrophysiologiques, il reste limité d'un point de vue traitement des données. En effet, ce modèle présente des crises difficilement détectables par des algorithmes de traitement du signal, c'est un modèle difficile à utiliser pour des études de stimulation asservie pendant plusieurs jours, et enfin, à ce jour, aucune étude de stimulation n'a été faite en utilisant ce modèle.

Le *modèle GAERS* est un modèle issu d'une sélection génétique de rats Wistar qui présentent spontanément des DPO de 7-9 Hz, bilatérales et synchrones sur le cortex lors d'un enregistrement EEG (Vergnes et coll., 1982; Danober et coll., 1998; Depaulis et van Luijtelaar, 2005). Ces DPO sont associées à un arrêt comportemental, des myoclonies des muscles de la face et des vibrisses, et d'une diminution du tonus musculaire axial. Elles apparaissent vers l'âge d'un mois et leur durée et leur nombre augmentent jusque vers six mois pour se maintenir ensuite durant toute la vie de l'animal. Elles surviennent à raison d'une cinquantaine de DPO par heure en moyenne, d'une durée pouvant aller de quelques secondes à une minute, quand les rats sont dans un état de veille calme. Elles disparaissent pendant le sommeil ou lorsque l'animal est en état d'éveil actif (Lannes et coll., 1988). Le cortex somatosensoriel et les noyaux latéraux du thalamus jouent un rôle prédominant dans la génération de ces crises (Polack et coll., 2007). D'un point de vue pharmacologique, tous les médicaments antiépileptiques qui sont efficaces contre les absences chez l'homme suppriment les DPO chez le GAERS et inversement pour les antiépileptiques qui les aggravent. Ce modèle chronique est actuellement un des meilleurs modèles validés d'épilepsie absence, en termes d'isomorphisme, d'homologie et de prédictivité pharmacologique.

Le choix d'un modèle animal approprié s'avère donc crucial lorsqu'il s'agit d'étudier les mécanismes physiologiques endogènes de contrôle des crises et les structures potentiellement mises en jeu. Dans le cadre de ce travail, notre choix s'est porté sur le modèle du GAERS, dont le choix stratégique du modèle sera développé dans la partie « Objectifs de l'étude ».

## II. Rôle des ganglions de la base dans le contrôle des crises d'épilepsie

Les circuits des ganglions de la base constituent une cible majeure pour la neurostimulation des épilepsies. Notre travail a porté en particulier sur le striatum et la substance noire, respectivement considérés comme les principales structures d'entrée et de sortie de ces circuits. Pour cela, la section suivante expose brièvement l'organisation et le fonctionnement de ces circuits.

### II.1. Anatomie des ganglions de la base

D'un point de vue anatomique, les ganglions de la base (GB) sont des structures sous-corticales qui regroupent différents noyaux, comprenant chez le rat le striatum, le noyau sous thalamique (STN), la substance noire réticulée (SNr) et compacte (SNc), et le globus pallidus (GP) (interne et externe chez le primate et chez l'homme). L'organisation fonctionnelle des GB a été proposée tout d'abord par Alexander et Crutcher en 1990, sous la forme d'un réseau multisynaptique complexe mettant en relation le cortex cérébral, les circuits des GB et le système thalamo-cortical, selon une polarité fonctionnelle très spécifique.

Les GB comportent deux structures d'entrée, le striatum et le noyau sous-thalamique (NST), par lesquelles les informations extérieures sont conduites à l'ensemble des circuits des GB. Le striatum (constitué chez l'homme du noyau caudé, du putamen et du noyau accumbens) traite les informations en provenance du cortex cérébral, ainsi que des noyaux thalamiques intralaminaire, ventroantérieur, ventromédial, ventrolatéral, de la ligne médiane, de l'hippocampe et de l'amygdale (Kita et Kitai, 1990; McDonald, 1991). Le STN, quant à lui, reçoit des afférences principalement issues du cortex frontal (Afsharpour, 1985 a; Canteras et coll., 1990; Maurice et coll., 1998b), du noyau parafasciculaire du thalamus (Feger et coll., 1994), ainsi que du pallidum ventral

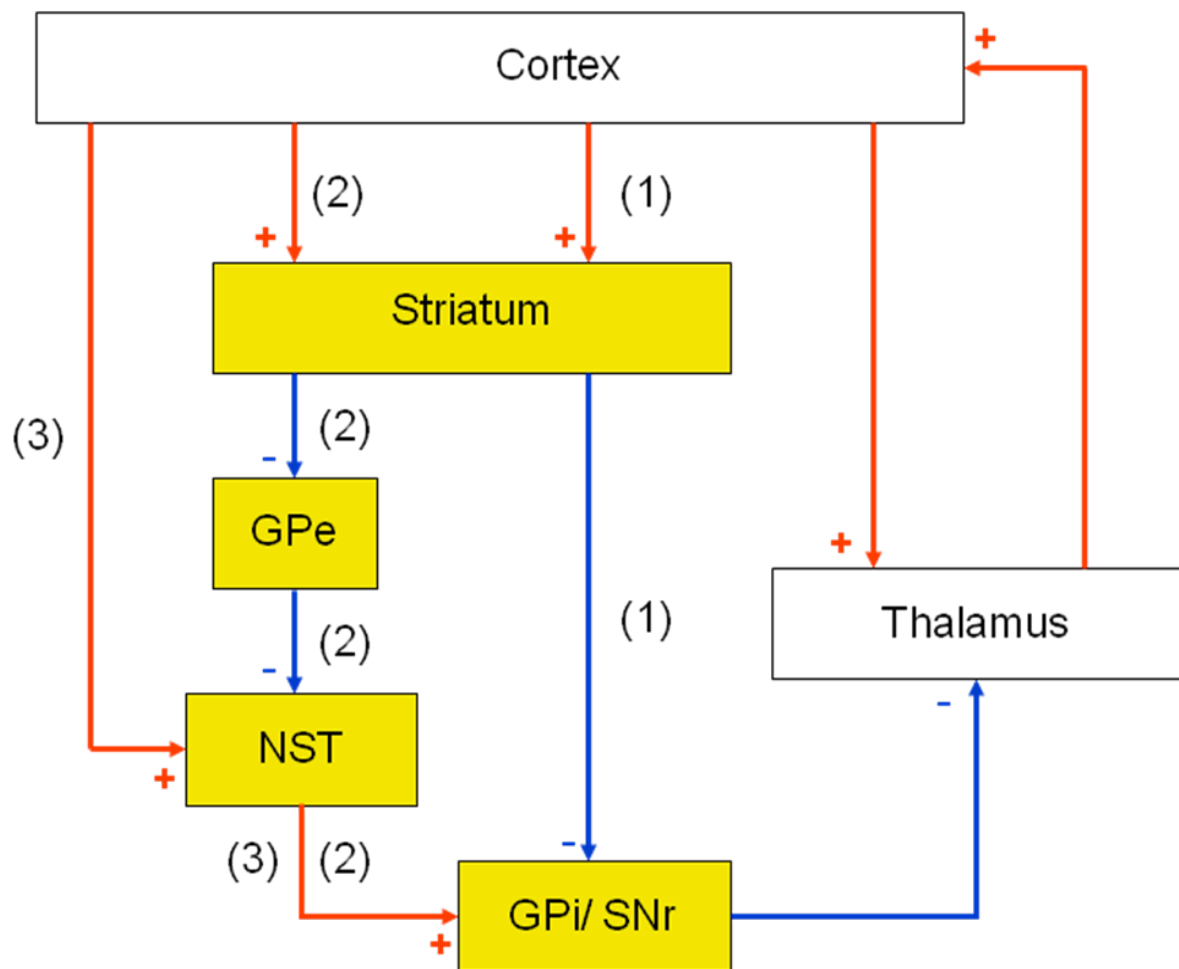
(Maurice et coll., 1997, et 1998a). Toutes les entrées des GB sont glutamatergiques et excitatrices.

Les sorties des GB, quant à elles sont la SNr (+ EP chez le rongeur ou le GPi chez l'homme), qui reçoivent des informations du striatum et du NST, et projettent vers le thalamus et vers des structures ponto-mésencéphaliques (colliculus supérieur, noyau pédonculo-pontin). Les projections vers les neurones thalamo-corticaux exercent ainsi une influence cruciale sur le fonctionnement du cortex (Chevalier et Deniau, 1984; Krout et coll., 2001). Le GPe est une structure connectée directement ou indirectement aux noyaux des GB (Kita et Kitai, 1994 ; Smith et coll., 1998a, b), et joue un rôle régulateur. Il reçoit en particulier une innervation du striatum et se projette vers le NST, constituant ainsi le circuit striato-pallido-subthalamique qui permet au striatum de fortement influencer les sorties des GB (Albin et coll., 1989a; Alexander et Crutcher, 1990).

En conclusion, les GB transmettent les informations corticales via trois voies nerveuses : (1) une voie striatale directe qui connecte le striatum à la SNr et au GPi, (2) une voie striatale indirecte connectant le striatum au GPe au NST puis à la SNr et au GPi, et (3) une voie subthalamique hyperdirecte connectant le NST à la SNr et au GPi (Figure 2).

Cette organisation anatomo-fonctionnelle et les connexions avec les structures corticales impliquées dans diverses fonctions, allant du contrôle de la motricité jusqu'aux aspects émotionnels et cognitifs, permet au GB de jouer un rôle primordial dans l'intégration et le traitement des informations provenant du cortex cérébral. Le dysfonctionnement de telles structures peut entraîner des pathologies neurologiques telles que la maladie de Parkinson, la chorée de Huntington ou l'hémibalisme (Albin et coll., 1989a). Au cours de ces dernières décennies, de nombreux travaux ont permis de suggérer que ces structures

étaient également impliquées dans certaines formes d'épilepsie et pourraient exercer un contrôle endogène, au sein du système nerveux central, capable de contrôler à distance la survenue ou l'arrêt des crises d'épilepsie (Deransart et Depaulis, 2002). C'est pourquoi ils font l'objet d'un intérêt croissant lors des récents essais thérapeutiques en épilepsie (voir article 1).



**Figure 2 : Représentation schématique de l'organisation anatomo-fonctionnelle des GB.** Les structures des GB sont en jaune, et les structures corticales et thalamiques en blanc. Les voies glutamatergiques excitatrices sont représentées en rouge avec un signe + et les voies GABAergiques inhibitrices en bleu avec un signe -.

## II.2. Les ganglions de la base comme structures de contrôle endogène

Au cours de ces dernières décennies, le rôle des GB dans les épilepsies a été exploré en particulier dans les modèles animaux, mais également, plus récemment en clinique. Bien que ce système ne génère pas de crises, de nombreuses données indiquent que ces structures pourraient jouer un rôle dans la propagation et/ou le contrôle des crises d'épilepsie (Deransart et Depaulis, 2002; Vercueil et Hirsch, 2002).

### 2.1. Etudes pharmacologiques

Le concept d'un rôle des GB dans le contrôle des crises d'épilepsie (Deransart et Depaulis 2002) fut introduit dans les années 80 par Gale et Iadarola qui furent les premiers à corréler une augmentation de GABA dans la SNr avec des effets antiépileptiques (Gale et coll., 1980). Depuis, de nombreux travaux ont montré que, dans différents modèles de crises généralisées convulsives (Iadarola et coll., 1982), non convulsives (Depaulis et coll., 1990; Deransart et coll., 1998) ou focales (Deransart et Depaulis 2004), l'injection bilatérale dans la SNr d'un agoniste GABAergique ou d'un antagoniste NMDA (Depaulis et coll., 1994; Deransart et coll., 1996; Paz et coll., 2007) avait des effets antiépileptiques. Ceci suggère que l'inhibition directe ou indirecte de la SNr pourrait induire une suppression de différents types de crises d'épilepsie par le biais de certaines de ses projections, notamment vers les couches intermédiaires et profondes du colliculus supérieur (Depaulis et coll., 1990; Garant et Gale, 1987 ; Shehab et coll., 1992, 1995; Nail-Boucherie et coll., 2002). Plus précisément, plusieurs études pharmacologiques par injections locales d'agonistes NMDA dans le striatum (Cavalheiro et coll., 1986; Turski et coll., 1988), d'agonistes dopaminergiques (Deransart et coll., 2000) ou d'antagonistes GABA (Turski et



coll., 1989; Turski et coll., 1988) ont montré que la voie striato-nigrale, ou voie directe, pouvait intervenir dans la modulation des crises grâce à une inhibition de la SNr, capable d'arrêter les crises dans différents modèles d'épilepsie chez le rat.

Les afférences glutamatergiques de la SNr en provenance du NST semblent aussi jouer un rôle critique dans le maintien de l'activité neuronale de la SNr (Slaght et coll., 2002). En effet, des injections bilatérales d'agonistes GABA dans le NST suppriment les crises dans différents modèles d'épilepsies généralisées convulsives ou non convulsives (Deransart et coll., 1996; Veliskova et coll., 1996; Deransart et coll., 1998 ; Dybdal et Gale, 2000).

Les effets antiépileptiques peuvent donc être corrélés à une intervention de la voie directe avec une augmentation des niveaux de GABA provenant du striatum, mais aussi à une participation de la voie indirecte et/ou supra-directe entraînant une diminution des niveaux de glutamate provenant du NST (Deransart et Depaulis, 2002).

## 2.2. Etudes électrophysiologiques

Le GAERS est actuellement un des modèles d'épilepsie généralisée non convulsive les plus explorés en électrophysiologie (Deransart et coll., 2003 ; Paz et coll., 2007; Polack et coll., 2007; David et coll., 2008; Vergnes et coll., 2003). Ces études, montrent clairement que des structures comme la SNr et le NST diminuent leur activité en fin de crises, ce qui est en accord avec l'hypothèse que la SNr est impliquée dans la suppression des crises. De plus, le décalage temporel observé entre la survenue et la fin des DPO dans la SNr, par rapport aux DPO corticales, suggère que cette structure soit plus impliquée dans la propagation et la modulation des crises que dans leur initiation (Deransart et coll., 2003; Polack et coll., 2007; David et coll., 2008). L'ensemble des données électrophysiologiques collectées à ce jour sont en accord avec les données

pharmacologiques suggérant que ces mécanismes de contrôle au sein des ganglions de la base pourraient contribuer aux effets antiépileptiques de ce qui a été initialement décrit comme le «contrôle nigral» (Depaulis et coll., 1994).

En lien avec la physiologie des ganglions de la base, de nombreuses études cliniques ont portées sur une possible implication du système dopaminergique dans la physiopathologie de différents syndromes épileptiques. En particulier, des études utilisant des marqueurs de la transmission dopaminergique ont mis en évidence des déficits dopaminergiques dans différents syndromes épileptiques : syndrome épileptique du chromosome 20 en anneau (Biraben 2004), épilepsie myoclonique juvénile (Ciumas 2008), épilepsie temporale (Bouilleret et coll., 2008; Dupont 2008), épilepsie frontale (Fedi 2008). Ces données d'imagerie couplées aux données cliniques soutiennent l'implication des GB dans le contrôle des décharges épileptiques (Vercueil et Hirsch 2002; Semah 2002).

L'ensemble de ces données expérimentales et cliniques suggère un rôle privilégié des GB dans le contrôle et/ou la propagation des décharges épileptiques.

### III. La neurostimulation

#### III.1. Etat des lieux de la neurostimulation en épilepsie - Article 1-

La neurostimulation pourrait représenter une thérapie alternative intéressante dans le traitement de patients pharmaco-résistants ne pouvant bénéficier d'une chirurgie résective. Au cours de ma thèse, nous nous sommes appliqués à faire, sous la forme d'un article de revue, un état des lieux des études tant expérimentales que cliniques, montrant que la neurostimulation peut exercer un contrôle des crises d'épilepsie en fonction des différentes approches qui utilisent la stimulation électrique (stimulation du nerf vague, stimulation cérébrale profonde et stimulation magnétique transcrânienne répétée). Les raisons pour lesquelles certaines cibles spécifiques ont été jusqu'à présent prises en compte (nerf vague, cervelet, noyau antérieur ou centromédian du thalamus, ganglions de la base, cortex, lobe temporal) proviennent le plus souvent de données expérimentales dans différents modèles d'épilepsie. Cependant, ces données et le choix des paramètres de stimulation restent encore sujet à discussion et c'est l'objet de cette première publication. Le type des crises que l'on peut considérer pour la neurostimulation, ainsi que les paramètres optimaux comme la fréquence de stimulation (basse, haute ou moyenne) et les modes de stimulation (chronique, continue ou adaptative), sont discutés pour déterminer les meilleurs candidats à une telle stratégie thérapeutique.

Cette revue de synthèse confirme la nécessité d'améliorer nos connaissances des circuits neuronaux qui génèrent les crises et/ou permettent leur propagation ou leur contrôle, ainsi qu'une meilleure compréhension des mécanismes d'action de la neurostimulation intracérébrale. Elle met également en évidence la nécessité du développement de la neurostimulation en épilepsie sur une base rationnelle

avant de développer des essais cliniques, base qui apparaît souvent absente dans la plupart des études en cours.

Article 1

Manipulating the epileptic brain using stimulation: a review of experimental  
and clinical studies

Saillet S, Langlois M, Feddersen B, Minotti L, Vercueil L, Chabardès S,  
David O, Depaulis A, Deransart C, Kahane P

*Epileptic Disorders (2009) 11:100-112*

# Manipulating the epileptic brain using stimulation: a review of experimental and clinical studies

Sandrine SAILLET<sup>1</sup>, Mélanie LANGLOIS<sup>1</sup>, Berend FEDDERSEN<sup>5</sup>,  
Lorella MINOTTI<sup>1,2</sup>, Laurent VERCUEIL<sup>1,2</sup>, Stephan CHABARDÈS<sup>1,3</sup>,  
Olivier DAVID<sup>1</sup>, Antoine DEPAULIS<sup>1</sup>, Colin DERANSART<sup>1,2</sup>,  
Philippe KAHANE<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup> Institut des Neurosciences, INSERM U836-UJF-CEA, Grenoble

<sup>2</sup> Neurology Department

<sup>3</sup> Neurosurgery Department, Grenoble University Hospital, Grenoble, France

<sup>4</sup> Institute for Children and Adolescents with Epilepsy – IDEE, Hospices Civils de Lyon, France

<sup>5</sup> Department of Neurology, Klinikum Grosshadern, University of Munich, Germany

**ABSTRACT** – Neurostimulation represents an interesting alternative therapy for patients resistant to drug treatment or who cannot benefit from resective surgery. Theoretically, neurostimulation allows the control of seizures to be tailored to the individual patient and specific form of epilepsy. Here, we review both experimental and clinical studies that have reported the possible control of epileptic seizures by means of different approaches using electrical stimulation (vagus nerve stimulation, deep brain stimulation and repetitive transcranial magnetic stimulation). The rationale for targeting specific areas that have thus far been considered (*i.e.*, vagus nerve, cerebellum, anterior or centromedial thalamus, basal ganglia, cortex and temporal lobe) is addressed in the light of experimental data and clinical effectiveness in different models and forms of epilepsy. The type of seizures that can be considered for neurostimulation, as well as the optimal parameters such as stimulation frequency and modes of stimulation (chronic, continuous or adaptative), are discussed to determine the best candidates for such a therapeutic strategy. This review points out the need for improved knowledge of neural circuits that generate seizures and/or allow their propagation, as well as a better understanding of the mechanisms of action of neurostimulation.

**Key words:** neurostimulation, vagus nerve, cerebellum, thalamus, basal ganglia, cortex, hippocampus

## Correspondence:

P. Kahane  
Epilepsie et Malaises Neurologiques  
Pavillon de Neurologie  
CHU de Grenoble  
BP 217X  
38043 Grenoble cedex  
France  
<philippe.kahane@ujf-grenoble.fr>

About 30% of epileptic patients do not respond to antiepileptic drugs (Kwan and Brodie 2000), of which only a minority can benefit from resective surgery. Such a therapeutic option is considered only in patients who suffer from focal seizures with an epilepto-

genic zone that is clearly identified and may be removed safely. Therefore, patients with seizures arising from eloquent cortices, or which are multifocal, bilateral, or generalized, represent a particular challenge to “new” or “alternative” therapies.

doi: 10.1684/epd.2009.0255

For these patients, neurostimulation appears to be of great potential (Polkey 2003, Theodore and Fisher 2004). Different approaches to neurostimulation in epileptic patients now exist and depend on (i) the brain region which is targeted and (ii) the way the stimulation is applied (Oommen *et al.* 2005, Morrell 2006, Theodore and Fisher 2004, Vonck *et al.* 2007). The aim of neurostimulation in epilepsy is to reduce the probability of seizure occurrence and/or propagation, either by manipulating remote control systems (vagus nerve stimulation, deep brain stimulation), or by interfering with the epileptogenic zone itself (repetitive transcranial magnetic stimulation, cortical stimulation). In most cases, stimulation is delivered continuously or intermittently according to a scheduled protocol. In particular, new progress in biotechnology and EEG signal analysis now allows stimulation in response to the detection of electrographic seizures (e.g. closed-loop stimulation). Here, we review the various experimental and clinical attempts that have been made to control epileptic seizures by means of electrical stimulation.

## Vagus-nerve stimulation

The vagus nerve, through the tractus solitarius and parabrachial nuclei, projects to autonomic and reticular brain structures as well as the thalamic and limbic areas (Henry 2002, Vonck *et al.* 2001). These widespread, bilateral, and multisynaptic projections may account for the multiple therapeutic mechanisms of vagus-nerve stimulation (VNS) in epilepsy. In animals, VNS has been studied in different models of seizures in different species (rat, cat, dog and monkey) and acute interruption of seizures was reported (see McLachlan 1993), as well as a chronic prophylactic effect on seizure frequency and severity (Lockard *et al.* 1990, Takaya *et al.* 1996, Chabardès *et al.* 2008). In human patients, the first open trial with VNS was done in 1988 and preliminary results showed that such a therapy was safe and potentially effective (Penry and Dean 1990). Later, five clinical trials were conducted (E01 to E05), including two double-blind, randomized, controlled studies (E03, E05) (Handforth *et al.* 1998, The Vagus Nerve Stimulation Study Group 1995). This has led to the approval by the European Community (1994) and FDA (1997) of VNS therapy for complex partial and secondary generalized seizures in patients over 12 years. To date, over 40 000 patients around the world have been treated with VNS.

The overall efficacy, as evaluated over three years from the five clinical trials, shows a median seizure reduction of 35-45% (Morris and Mueller 1999). Post-marketing experience, as provided by manufacturer-supported open databases, suggests that VNS reduces seizure frequency by 50% or more in 50-60% of the patients, whatever their type of epilepsy. Efficacy tends to improve over time (Handforth *et al.* 1998) and anti-epileptic drugs (AEDs)

may be reduced in a number of cases (Labar 2002). Children seem to respond similarly to adults (Wheless and Maggio 2002). Beyond seizure control, VNS also reduces daytime sleepiness and promotes alertness (Malow *et al.* 2001). It improves mood (Harden *et al.* 2000) and memory (Clark *et al.* 1999), and leads to a global improvement in the quality of life (Dodrill and Morris 2001). It is also cost-effective, as suggested by a few European studies (Ben-Menachem *et al.* 2002, Boon *et al.* 1999). Serious complications are rare (Ben-Menachem, 2001) and there has been no evidence of increased mortality and overall morbidity in patients with VNS compared with uncontrolled epilepsy (Annegers *et al.* 2000). Side effects, which mainly include hoarseness, coughing, local paresthesia and dyspnea (Morris and Mueller 1999) are typically stimulation-related and transient, and generally resolve over time (Boon *et al.* 1999). No interference with AEDs has been found and there is no evidence of impaired fertility or teratogenicity due to VNS.

Overall, VNS appears as effective as AEDs in terms of seizure control and may bring additional benefits in terms of general health. A European multicentric phase IV post-marketing study (PULSE) currently aims at evaluating this aspect. Yet, with more than 40 000 patients implanted with VNS, no clear predictive factors for responders to VNS therapy have emerged, and the precise mechanisms of action of this treatment remain to be elucidated. Neuroimaging studies, including PET (Henry *et al.* 1998, 1999, Ko *et al.* 1996), SPECT (Van Laere *et al.* 2000, Vonck *et al.* 2000) and fMRI (Liu *et al.* 2003, Narayanan *et al.* 2002) suggest the involvement of thalamic nuclei in VNS efficacy.

## Deep brain stimulation

For more than two decades, stimulation of a number of deep brain targets has been shown to be feasible, safe, and effective in humans suffering from different forms of movement disorders. This has led to the development of deep brain stimulation (DBS) in an increasing number of neurological and non-neurological diseases, including epilepsy (Benabid *et al.* 2001). Although the cortex plays a crucial role in seizure generation, accumulating evidence has pointed to the role of subcortical structures in the clinical expression, propagation and control of epileptic seizures in humans (Semah 2002, Vercueil and Hirsch 2002). Based on experimental findings, DBS has been applied to a number of targets, including the cerebellum, different nuclei of the thalamus and several structures of the basal ganglia system. Although encouraging, published results do not reach a definite conclusion and require further studies using animal models. Indeed, the study of the mechanisms of actions of such DBS on epileptic seizures is critical to understanding the transitions between normal and paroxysmal activities of the epileptic networks.

## Cerebellum

During the 1950s and 1960s, cortical cerebellar stimulation was shown to have antiepileptic properties on different animal models of seizures, mostly penicillin and cobalt foci in cats (Cooke and Snider 1955, Dow *et al.* 1962, Mutani *et al.* 1969). Following this, and assuming cerebellar outflow is inhibitory in nearly all patients, Cooper and colleagues showed that seizures were modified or inhibited in 10 out of their 15 epileptic patients, without adverse effects (Cooper *et al.* 1973, 1976, Copper 1978). These data raised the issue of distant modulation of cortical epileptogenicity by electrical currents. More especially, this study showed for the first time the feasibility and safety of a therapeutic stimulation technique in epileptic patients. Later, a large open study on 115 patients reported that 31 became seizure-free and 56 were significantly improved by stimulation of the cerebellum (Davis and Emmonds 1992). Such promising results, however, were not confirmed in three controlled clinical trials involving 14 patients, of whom only two were improved (Krauss and Fisher 1993, Van Buren *et al.* 1978, Wright *et al.* 1984). Additional animal studies conducted in monkeys with cortical focal seizures induced by alumina cream, or in kindled cats, did not confirm previous experimental findings (Ebner *et al.* 1980, Lockard *et al.* 1979, Majkowski *et al.* 1980) and the interest for cerebellar stimulation in epilepsy disappeared for many years. Recently however, a double-blind, randomized controlled pilot study conducted in five patients suffering from intractable motor seizures has renewed the interest in such stimulation (Velasco *et al.* 2005). In this study, 10-Hz stimulations were applied to the upper medial surface of each cerebellar hemisphere, and parameters were adjusted to deliver a constant charge density of 2.0 microC/cm<sup>2</sup>/phase. During the initial three-month double-blind phase, seizures were significantly reduced when the patients were stimulated. Over the following six-month open-label phase, where all the patients were stimulated, seizures were reduced by 41% (14-75%) and the difference was significant for tonic and tonic-clonic seizures. Effectiveness was maintained over two years and few complications occurred. Altogether, although cerebellar stimulation appears to possess antiepileptic effects in some patients and/or some forms of epilepsy, the rationale of such suppressive effects remains to be determined.

## Thalamus

Since the 1980s, different nuclei of the thalamus have been studied to understand the physiopathology of epilepsy because many interactive pathways exist between these nuclei and the cortex. Several thalamic targets have been stimulated to suppress seizures, mainly the anterior nucleus and the centromedian nucleus. There is limited proof from animal studies that stimulation of these

structures can influence seizure threshold. However, there is clinical evidence that continuous stimulation of these targets in epileptic patients reduces seizure frequency and severity.

### Anterior thalamus

The anterior nucleus (AN) of the thalamus receives projections from the hippocampus via the fornix, the mammillary bodies and the mamillo-thalamic fascicle of Vicq d'Azir and has outputs to the cingulate cortex and, via the cingulum, to the entorhinal cortex and back to the hippocampus. It appears to closely interact with the circuit of Papez which is often involved in some forms of epilepsies (e.g. temporal lobe epilepsies). AN therefore is central in the network which underlies limbic seizures and, as such, represents an attractive target for DBS in epileptic patients. Cooper and his group, encouraged by their experience with cerebellar stimulation, were the first to direct their interest to this nucleus, based on the hypothesis that AN could act as a "pacemaker" for the cortex. They showed that bilateral chronic stimulation of AN in six epileptic patients resulted in 60% reduction of seizure frequency in five of them, as well as a decrease in EEG spikes (Cooper and Upton 1985). Using an experimental approach, it was later shown that AN and mammillary bodies were involved in the genesis of pentylenetetrazol-induced seizures and were activated during ethosuximide-induced suppression of these seizures (Mirski and Ferrendelli 1986a, 1986b). In addition, the section of the mamillo-thalamic bundle prevented pentylenetetrazol-induced seizures in guinea pigs (Mirsky and Ferrendelli 1984). Furthermore, it was reported that 100-Hz electrical stimulation of the mammillary nuclei and AN increased the seizure threshold of pentylenetetrazol in rats (Mirski and Fisher 1994, Mirski *et al.* 1997). These anticonvulsant effects were dependent on the intensity of the stimulation rather than frequency. On the contrary, low-frequency AN stimulation tended to be proconvulsive (Mirski *et al.* 1997). More recently, high-frequency AN stimulation suppressed focal cortical and limbic seizures induced by intra-cortical or intra-amygdaloid kainic acid injections, respectively (Takebayashi *et al.* 2007a, 2007b) and delayed both status epilepticus and seizures induced by pilocarpine although without complete suppression (Hamani *et al.* 2004, 2008). Finally, 100-Hz AN stimulation was found to aggravate recurrent seizures observed following status epilepticus produced by systemic kainic acid (Lado, 2006).

These experimental data gave weight to the need for reassessing the effect of AN stimulation in epileptic patients. Four open-label trials were reported showing that seizure frequency was reduced by 20-92%, being statistically significant in 12 of 18 patients (Hodaie *et al.* 2002, Kerrigan *et al.* 2004, Lim *et al.* 2007, Osorio *et al.* 2007). Two patients presented a complication (small frontal hemor-



rhage and extension erosion over the scalp), which did not result in major or permanent neurological deficit. One study showed that insertion of AN electrodes by itself could reduce seizures (Lim *et al.* 2007) and another that observed benefits did not differ between stimulation-on and stimulation-off periods (Hodaie *et al.* 2002), thus raising the issue of a lesional, placebo or carry-over effect. To address this question, a large multicenter prospective randomized trial of AN stimulation for partial and secondary generalized seizures (Stimulation of the Anterior Nucleus of the Thalamus for Epilepsy or SANTE) is currently under investigation in North America. Whether AN stimulation could be more effective in temporal lobe epilepsy (Zumsteg *et al.* 2006) and other components of the circuit of Papez, namely the mamillary bodies and mamillo-thalamic tract (Duprez *et al.* 2005, van Rijckevorsel *et al.* 2005), are possible targets for DBS and remain important issues for clinical trials.

#### *Centromedian thalamus*

In addition to the AN, attention was also directed towards one of the intralaminar nuclei of the thalamus, the centromedian nucleus (CM). This nucleus is part of the reticulo-thalamocortical system mediating cerebral cortex excitability (Jasper 1991), and has been suggested to participate in the modulation of vigilance states (Velasco *et al.* 1979). Although experimental findings remain rare (Arduini and Lary Bounes 1952), a first open-label study was conducted in five patients with bilateral CM stimulation at the end of the 1980s (Velasco *et al.* 1987). Initial results indicated an improvement of seizure frequency and EEG spiking over three months of chronic stimulation. Later, Velasco's group accumulated data in a cohort of 49 patients suffering from different forms of seizures and epilepsies (Velasco *et al.* 2001a, 2002). Among these patients, long-term follow-up studies of between five and 13 patients were performed (Velasco *et al.* 1993, 1995, 2000a, 2000b, 2006). Overall, the procedure was reported to be beneficial and generally well-tolerated, although a central nystagmus was induced in some cases (Taylor *et al.* 2000). A few patients were explanted because of repeated and multiple skin erosions (Velasco *et al.* 2006). It is interesting to note that a decrease of 80% of seizures were observed on average in patients with generalized tonic-clonic seizures and atypical absences of the Lennox-Gastaut syndrome, with a global improvement of patients in their ability scale scores (Velasco *et al.* 2006). By contrast, no improvements were found for either complex partial seizures or focal spikes in temporal regions. The best clinical results were seen when both electrode contacts were located within the CM on both sides and when stimulation at 6-8 Hz and 60 Hz induced recruiting responses and regional DC shifts, respectively (Velasco *et al.* 2000a). Two hours of daily 130-Hz stimulation sessions (one-minute on, four-minutes off), alternating the right and left CM, were used. However, continu-

ous bilateral stimulation led to faster and more significant results (Velasco *et al.* 2001b). As for AN stimulation, persistent antiepileptic effects were found three months or more after discontinuation of the stimulation ("off effect"), and possible plasticity which develops during the stimulation procedure was suggested (Velasco *et al.* 2001b). No such seizure suppression was found in a small placebo-controlled study conducted in seven patients with mesial temporal lobe epilepsy. In this study, no statistically significant difference was observed in frequency of tonic-clonic seizures, relative to the baseline, when the stimulator was on versus off (Fisher *et al.* 1992). In the open-label follow-up phase, however, three of six patients reported at least a 50% decrease in seizure frequency.

Up to now, very few animal studies have examined the role of the CM or parafascicular nucleus (PF) of the thalamus, which have similar connections in the control of epileptic seizures. In a genetic model of absence epilepsy in the rat (GAERS), pharmacological activation of the PF was found to suppress spike-and-wave discharges (SWDs; Nail-Boucherie *et al.* 2005). More recently, 130-Hz stimulation of this structure was reported to interrupt focal hippocampal seizures in a mouse model of mesiotemporal lobe epilepsy (Langlois *et al.* in preparation). Because of their unique location between cortical and limbic structures and the basal ganglia (see below), the CM/PF nuclei could well constitute an interesting target for DBS. More animal studies are clearly required to understand the role of this structure in the modulation of epileptic seizures.

#### **Basal ganglia**

Since the beginning of the 1980s, experimental animal studies have suggested the existence of a "nigral control" of epileptic seizures (for review see Gale 1995, Depaulis *et al.* 1994). Inhibition of the Substantia Nigra pars Reticulata (SNR) has potent anti-epileptic effects in different animal models of epilepsy (Deransart and Depaulis 2002) and the GABAergic SNR output appears to be a critical relay in this control (Depaulis *et al.* 1990, Paz *et al.* 2005, 2007). Local manipulations of the basal ganglia that lead to an inhibition of the SNR neurons (*e.g.* activation of the striatum or pallidum, inhibition of the sub-thalamic nucleus) also had significant anti-epileptic effects (for review see Deransart and Depaulis 2002), suggesting that different striato-nigral circuits are involved in the control of epileptic seizures. In humans, EEG, clinical and imaging data also support the involvement of the basal ganglia in the propagation and/or control of epileptic discharges (Biraben *et al.* 2004, Bouilleret *et al.* 2008, Vercueil and Hirsch 2002). Altogether, experimental and clinical data suggest a privileged role for the basal ganglia in the control of generation and/or spread of epileptic discharges in the cortex. Paradoxically, the therapeutic relevance of such findings was rarely considered until the 1990s.

### Caudate nucleus

Following experimental evidence that stimulation of the caudate nucleus (CN) has antiepileptic properties in different animal models of seizures (La Grutta *et al.* 1971, 1988, Mutani 1969, Oakley and Ojemann 1982, Psatta 1983), Chkhenkeli and his group, as well as Sramka and colleagues, were the first to suggest the beneficial effect of striatal low-frequency stimulation (below 50 Hz) in epileptic patients (Chkhenkeli 1978, Sramka *et al.* 1980). A decrease in focal and generalized discharges was observed in 57 patients bilaterally stimulated at low frequency (4-6 Hz) in the CN (Chkhenkeli and Chkhenkeli 1997). The study, however, was not controlled and the effects on seizures were not assessed. Interestingly, epileptic activity was worsened by stimulating the CN at higher frequency, a finding that was also reported in the aluminium-hydroxide monkey model of motor seizures (Oakley and Ojemann 1982). Therefore, if one assumes that low-frequency stimulation is excitatory and high-frequency stimulation is inhibitory, these clinical data are in agreement with animal data (see Deransart and Depaulis 2002). Indeed, activation of the striatum inhibits the SNR through GABAergic projections and therefore leads to seizure suppression (Deransart *et al.* 1998). Although further studies are needed, these results highlight the ability of the basal ganglia system to modulate cortical epileptogenicity.

### Subthalamic nucleus

In 1998, Vercueil *et al.* (1998) were the first to show that 130-Hz stimulation of the subthalamic nucleus (STN) could interrupt absence seizures in GAERS, a well-established genetic model of absence epilepsy (Danober *et al.* 1998, Marescaux *et al.* 1992). Since then, high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus has been reported to protect against seizures induced by local kainate injection in the amygdala (Bressand *et al.* 1999, Loddenkemper *et al.* 2001, Usui *et al.* 2005) or by fluoroethyl inhalation (Veliskova *et al.* 1996). This is in agreement with the antiepileptic effects reported after pharmacological inhibition of the STN on seizures induced by amygdala kindling (Deransart *et al.* 1998), intravenous bicuculline or by focal application into the anterior piriform cortex (Dybdal and Gale 2000) and in GAERS (Deransart *et al.* 1996).

This led the group of Benabid at Grenoble University Hospital to perform the first STN stimulation in a five-year-old girl with pharmacologically-resistant inoperable epilepsy caused by a focal centroparietal dysplasia (Benabid *et al.* 2002). Later, 11 additional patients suffering from different forms of epilepsy received high frequency STN stimulation at different institutions (Chabardès *et al.* 2002, Loddenkemper *et al.* 2001, Vesper *et al.* 2007). Overall, seizure occurrence was reduced by at least 50% in seven out of 12 cases and

stimulation was well tolerated. Good responders suffered from very different epilepsy types including focal epilepsy, Dravet syndrome, Lennox-Gastaut syndrome and progressive myoclonic epilepsy. Surgical complications occurred in two patients, including infection of the generator in one and a postimplantation subdural hematoma in another who later underwent surgical treatment, without sequelae (Chabardès *et al.* 2002). Bilateral stimulation appeared more effective than unilateral stimulation, in agreement with experimental data (Depaulis *et al.* 1994). However, whether this should be applied continuously or intermittently remains questionable (Chabardès *et al.* 2002). Furthermore, whether the optimal target in epileptic patients is the STN itself or, as is suggested in some patients, the SNR, remains an important issue (see below Chabardès *et al.* 2002, Vesper *et al.* 2007). A double-blind, cross-over, multicentric study is in progress in France (STIMEP) and aims to evaluate the clinical effect of 130-Hz stimulation of the STN/SNR in patients with ring chromosome 20 epilepsy. These patients suffer from very long-lasting epileptic seizures, evolving often into status epilepticus, which are difficult to control with antiepileptic drugs. They exhibit a deficit of dopaminergic activity in the striatum as compared with normal subjects (Biraben *et al.* 2004), a finding which is in accordance with the critical role of striatal dopamine in the control of seizures (Deransart *et al.* 2000).

### Substantia nigra pars reticulata

In 1980, Gale and Ladarola were the first to correlate an increase of GABA in the Substantia nigra pars reticulata (SNR) with antiepileptic effects (Gale and Ladarola 1980). Later, they showed that the potentiation of the GABAergic neurotransmission within the SNR, by bilateral microinjections of GABA mimetic drugs, suppressed convulsions in various models of generalized seizures in the rat (Ladarola and Gale 1982). The possibility that seizures are controlled by the SNR also emerged from pharmacological studies in GAERS showing that a bilateral inhibition of SNR suppresses cortical SWDs (Depaulis *et al.* 1988, 1989, Deransart *et al.* 1996, 1998, 2001). Since then, several studies have confirmed that inhibition of the SNR has a potent anti-epileptic effect in different animal models of epilepsy (Depaulis *et al.* 1994, Deransart and Depaulis 2002, Paz *et al.* 2005, 2007).

In this context, it was shown that DBS applied to the SNR also suppressed generalized convulsive seizures induced by fluoroethyl inhalation (Velisek *et al.* 2002), amygdala-kindled seizures (Morimoto and Goddard 1987, Shi *et al.* 2006), absence seizures in GAERS (Feddersen *et al.* 2007) and also focal seizures in kainate treated mice (Deransart and Depaulis 2004). In the model of generalized convulsive seizures induced by fluoroethyl inhalation, bilateral and bipolar 130 Hz SNR stimulation had anticonvulsant effects in both adult and infant rats (Velisek *et al.* 2002). In amygdala-kindling, such stimulations were shown to sup-

press epileptogenesis (Shi *et al.* 2006). In GAERS, bilateral, bipolar, and monophasic SNR stimulations at a frequency of 60 Hz and a pulse width of 60  $\mu$ s were defined as the optimal conditions to interrupt ongoing absence seizures without motor side effects (Feddersen *et al.* 2007). The threshold for interrupting epileptic seizures was lower using SNR stimulation compared to STN stimulation, using the same model and stimulation parameters. However, this last study showed that continuous stimulation failed to control the occurrence of seizures, in agreement with previous reports (Vercueil *et al.* 1998) and suggested that a refractory period of about 60 seconds exists, during which time any stimulation is without effect. This study also showed that *continuous* stimulation of the SNR could even aggravate seizure occurrence. Adaptive stimulation may allow to alleviate this problem and to further specify the existence of a refractory period (see below).

### Stimulation at seizure focus

Stimulating the epileptogenic cortex to interrupt epileptic seizures may appear paradoxical. Indeed, "stimulation" classically means "excitation" and epilepsies are characterized by a pathological hyperexcitability and hypersynchrony of cortical neurons. Furthermore, cortical stimulation is generally used to map functions in eloquent brain and, as such, produces clinical symptoms. Also, it is known that cortical stimulation can evoke focal after-discharges, as well as electro-clinical seizures. The effects provoked by cortical stimulation, however, depend on the stimulation parameters used, the region which is stimulated, as well as the way that the stimulation is delivered (indirectly or directly). To date, a few studies have been conducted to evaluate the therapeutic effect of cortical stimulation, including a limited number of patients. Therapeutic results are equivocal at best.

### Repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS)

A non-invasive way of electromagnetically stimulating the cortex is to use transcranial magnetic stimulation (TMS). TMS is widely used in neurophysiology for diagnostic purposes (e.g. measuring motor cortex excitability as a marker of underlying pathologies). It has also therapeutic uses in various brain diseases when delivered in series, or trains of pulses, a method known as repetitive TMS or rTMS (Kobayashi and Pascual-Leone 2003, Tassinari *et al.* 2003, Wassermann and Lisanby 2001). Low-frequency (0.5 Hz) rTMS was reported to have anticonvulsive effects against pentylenetetrazol-induced seizures in rats (Akamatsu *et al.* 2001), while high frequency rTMS had opposite results (Jennum and Klitgaard 1996). A recent study in rats suggests that EEG-guided rTMS can suppress kainate-induced seizures and that the effect is frequency-dependent (Rotenberg *et al.* 2008).

In humans, low frequency rTMS reduces motor cortex excitability, while high frequency can lead to seizures, even in healthy subjects (Chen *et al.* 1997). rTMS therapy in epilepsy was tested for the first time at the end of the 1990s, using a round coil placed over the vertex in order to achieve global depression of excitability (Tergau *et al.* 1999). This open study showed that eight of nine patients submitted to five consecutive days of 0.33 Hz rTMS had a mean seizure reduction of 38.6%. Later, effects on rTMS were evaluated in three placebo-controlled studies, of which two failed to demonstrate any significant effect (Cantello *et al.* 2007, Theodore *et al.* 2002). In the remaining study, however, conducted in patients with cortical malformations, rTMS significantly decreased the number of seizures as compared to sham rTMS condition (Fregni *et al.* 2006). These data suggest that rTMS is more likely to be effective in patients with clearly identifiable foci in the cortical convexity, a finding also supported by another study showing greater effects in patients with neocortical foci than in those with mesial temporal lobe foci (Theodore *et al.* 2002). Other (uncontrolled) studies (Brasil-Neto *et al.* 2004, Kinoshita *et al.* 2005a, Santiago-Rodriguez *et al.* 2008), as well as anecdotal case reports (Menkes and Gruenthal 2000, Misawa *et al.* 2005), are also in line with this hypothesis. However, recent data have shown that rTMS did not always suppress seizures, and that stimulation site and structural brain lesions did not necessarily influence the seizure outcome (Joo *et al.* 2007). Thus, although most studies have found a significant decrease in interictal EEG epileptiform abnormalities, additional trials are needed to ascertain whether rTMS is an effective and convenient therapy for epilepsy. In that respect, a placebo-controlled study is in progress in Strasbourg (France), to evaluate the efficacy of rTMS in a specific group of patients suffering from drug-resistant seizures arising from the sensori-motor cortex.

### Invasive cortical stimulation

Several preclinical studies have found potential antiepileptic effects of brain stimulation in animal models. Notably, low-frequency (1 Hz) stimulation applied after kindling stimulation of the amygdala was found to inhibit the development of after discharges, an effect named *quenching* (Weiss *et al.* 1995). This quenching effect seems effective in both adult and immature rats (Velisek *et al.* 2002). Interestingly, when applied immediately *before* the kindling stimulus, preemptive 1-Hz sine wave stimulation was also effective, thus suggesting some potential benefit for seizure prevention (Goodman *et al.* 2005). Other regions such as the hippocampus (Barbarosie and Avoli 1997), the central piriform cortex (Yang *et al.* 2006, Zhu-Ge *et al.* 2007) or the cerebral fastigial nucleus (Wang *et al.* 2008) may also appear as potentially effective targets for 1-Hz stimulation treatment of epilepsy. In general, these data suggest that 1-Hz

stimulation inhibits both acquisition and expression of kindling seizure by preventing afterdischarge generation and propagation in rats. Unexpectedly, such effects are also observed in the cerebral fastigial nucleus, suggesting that targets outside the limbic system may have a significant antiepileptic action.

In humans, both low- (1-Hz) and medium- (50 Hz) frequency stimulation have proven effective at reducing interictal epileptiform discharges (Kinoshita *et al.* 2005b, Yamamoto *et al.* 2002). Therapeutic stimulation, however, was applied at high frequency in almost all studies. The first attempt of therapeutic stimulation of temporal lobe structures was reported in 1980, in three patients, without clear benefit (Sramka *et al.* 1980). More recently, several investigators have tried continuous scheduled stimulation of epileptic foci, including hypothalamic hamartoma (Kahane *et al.* 2003), neocortical structures (Elisevich *et al.* 2006) and mostly, the mesio-temporal lobe (Tellez-Zenteno *et al.* 2006, Velasco *et al.* 2000c, 2007, Vonck *et al.* 2002). The first pilot study of mesio-temporal lobe stimulation, conducted in 10 patients studied by intracranial electrodes before surgery, showed that stimulation stopped seizures and decreased the number of interictal EEG spikes in the seven patients where the stimulated electrode was placed within the hippocampus or hippocampal gyrus (Velasco *et al.* 2000c). There were no side-effects on language and memory, and no histological damages were found in the stimulated tissue. Whether such an antiepileptic effect could be observed over a more prolonged stimulation procedure was later evaluated in a small open series conducted in three patients, all of whom exhibited more than 50% seizure reduction after a mean follow-up of five months, without adverse events (Vonck *et al.* 2002).

Following this, two additional trials of hippocampal stimulation were conducted, leading to opposite results. In one double-blind study, the seizure outcome was significantly improved in all nine patients over a long-term follow-up period (Velasco *et al.* 2007), which showed more than 95% seizure reduction in the five patients with normal MRI, and 50-70% seizure reduction in the four patients who had hippocampal sclerosis. No adverse events were found although three patients were explanted after two years due to skin erosion in the trajectory system. It was suggested that beneficial effects of stimulation were associated with a high GABA tissue content and a low rate of cell loss (Cuellar-Herrera *et al.* 2004). By contrast, seizure frequency was reduced by only 15% on average in the four patients of the double-blind, multiple cross-over, randomized study of Tellez-Zenteno *et al.* (2006). Additionally, effects seemed to carry over into the off period, thus raising the issue of an implantation effect. However, no adverse events were found. Overall, stimulation of hippocampal foci shows beneficial trends, but whether the effect is significant and of clear clinical relevance, remains debatable.

Currently, a randomized controlled trial of hippocampal stimulation for temporal lobe epilepsy (METTLE) is recruiting patients to determine whether unilateral hippocampal electrical stimulation is safe and more effective than simply implanting an electrode in the hippocampus without electrical stimulation, or treating with medical therapy alone. A prospective randomized controlled study of neurostimulation in the medial temporal lobe for patients with medically refractory medial temporal lobe epilepsy is also currently recruiting patients for a controlled randomized stimulation *versus* resection (CoRaStiR) study ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)).

## Adaptative stimulation

Continuous scheduled brain stimulation, whatever the target (DBS, cortical stimulation), has appeared to be safe and of potential benefit in treating medically intractable epilepsies (see above). Limited, but growing data suggests that responsive (seizure-triggered) stimulation might also be effective (Morrel 2006). Such a strategy is distinct from continuous scheduled stimulation as it aims to block seizures when they occur, rather than chronically decrease cortical excitability. The reduced power consumption, paroxysmal nature of seizures and possible behavioural side-effects induced by chronic stimulations are all factors that have triggered interest in this strategy. Also, it has been suggested that continuous stimulations may aggravate seizures in animals (Feddersen *et al.* 2007). Seizure-triggered stimulation requires an implanted stimulating device coupled with real-time signal analysis techniques. Usually, a seizure detection algorithm allows the delivery of a stimulation to interrupt seizure prior to, or concomitantly with, the onset of clinical symptoms. A number of algorithms to detect seizures do exist (see for instance Osorio *et al.* 2002, Grewal and Gotman 2005). The main stumbling block, as for continuous stimulation, is to find, ideally following an automatic search, optimal stimulation parameters to abort seizures. To our knowledge, existing literature about automatic seizure-triggered stimulation in animal models *in vivo* is rather limited. Using similar techniques, such as VNS therapy, Fanselow and colleagues have shown a reduction of pentylentetrazole-induced seizure activity in awake rats by seizure-triggered trigeminal nerve stimulation (Fanselow *et al.* 2000). Interestingly, seizure-triggered stimulation was more effective than the stimulation protocol involving a fixed duty cycle, in terms of the percent seizure reduction per second of stimulation (up to 78%). Currently, a preliminary study in Grenoble (France) is testing a new technology based on stimulation combined to seizure-detection to interrupt absence seizures in GAERS (Saillet *et al.* 2009). This should allow better determination of the optimal target and parameters of stimulation required by such technology.

In humans, responsive stimulation can shorten or terminate electrically-elicited afterdischarges using brief bursts of 50-Hz electrical stimulation (Lesser *et al.* 1999), the effect being greater at primary sites than at adjacent electrodes (Motamedi *et al.* 2002). Preliminary trials of responsive stimulation, however, were not consistent with this paradigm (Kossoff *et al.* 2004, Fountas *et al.* 2005, Osorio *et al.* 2005). The effects of responsive stimulation were first evaluated in four patients using an external neurostimulator, which proved effective at automatically detecting electrographic seizures, delivering targeted electrical stimuli and altering or suppressing ictal discharges (Kossoff *et al.* 2004). Another feasibility study confirmed these results using a cranially implantable device in eight patients (Fountas *et al.* 2005). Detection and stimulation were performed using electrodes placed over the seizure focus, and seven of the eight patients exhibited more than a 45% decrease in their seizure frequency, with a mean follow-up time of 9.2 months. In the third pilot study, conducted in eight patients, stimulation was delivered either directly to the epileptogenic zone (local closed-loop,  $n = 4$ ), or indirectly through the anterior thalami (remote closed-loop,  $n = 4$ ), depending on whether the epileptogenic zone was single, or multiple (Osorio *et al.* 2005). On average, a 55.5% and 40.8% decrease in seizure frequency was observed in the local closed-loop group and in the remote closed-loop group, respectively. Overall, none of the 20 patients enrolled in these three pilot studies had adverse events. Although promising, this new therapy needs further evaluation and a multi-institutional prospective clinical trial is underway in the USA. The Responsive Neurostimulation System (RNS), sponsored by NeuroPace Inc., is designed to continuously monitor brain electrical activity from the electrodes and, after identifying the "signature" of a seizure's onset, deliver brief and mild electrical stimulation with the intention of suppressing the seizure. The purpose of the RNS System Pivotal Clinical Investigation is to assess safety and demonstrate that the RNS System is effective as an add-on (adjunctive) therapy in reducing the frequency of seizures in individuals with partial onset seizures that are refractory to two or more AED medications. Whether closed-loop stimulators will be able to react using seizure-prediction algorithms in the near future represents a particularly challenging issue.

## Conclusion

Neurostimulation in non-surgically remediable epileptic patients represents an emerging treatment. It has the advantage of reversibility and adjustability, but remains palliative and surgical resection remains the gold standard treatment for drug-resistant epilepsies, whenever this option is possible. VNS is the only approved stimulation therapy for epilepsy so far and, as such, it is licensed in

many countries as an adjunctive therapy. Other stimulation techniques must be considered experimental although several controlled studies are currently under investigation. Notably, results of direct brain stimulation, although encouraging, are not conclusive and further investigations are required to evaluate the real benefit of this emerging therapy, in as much as the risks of haemorrhage and infection, although low (around 5%), do exist. However, pathological examination in post-mortem studies and temporal lobe resection, in Parkinson's disease or epilepsy, suggest that chronic stimulation does not induce neural injury and can be delivered safely (Haberler *et al.* 2000, Pilitsis *et al.* 2008, Velasco *et al.* 2000c). In any case, seizure types or epileptic syndromes which may respond to stimulation should be identified, as well as the type of stimulation that is likely to be of potential efficacy depending on the patient's characteristics. This requires improvement in our knowledge of the neural circuits in which seizures start and propagate, a better understanding of the precise mechanisms of the supposed effect of neurostimulation and a search for optimal stimulation parameters. The development of experimental research in this field, as well as rigorous clinical evaluation, is essential for further improvements in clinical efficacy. □

## References

- Akamatsu N, Fueta Y, Endo Y, Matsunaga K, Uozumi T, Tsuji S. Decreased susceptibility to pentylentetrazole-induced seizures after low frequency transcranial magnetic stimulation in the rat. *Neurosci Lett* 2001; 310: 153-6.
- Arduini D, Lary Bounes GC. Action de la stimulation électrique de la formation réticulaire du bulbe et des stimulations sensorielles sur les ondes strychniques. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1952; 4: 502-12.
- Annegers J, Coan SP, Hauser WA, Lesteema J. Epilepsy, vagal nerve stimulation by the NCP system, all-cause mortality, and sudden, unexpected, unexplained death. *Epilepsia* 2000; 41: 549-53.
- Barbarosie M, Avoli M. CA3-driven hippocampal-entorhinal loop controls rather than sustains in vitro limbic seizures. *J Neurosci* 1997; 17: 9308-14.
- Ben-Menachem E. Vagus nerve stimulation, side effects, and long-term safety. *J Clin Neurophysiol* 2001; 18: 415-8.
- Ben-Menachem E, Hellström K, Verstappen D. Analysis of direct hospital costs before and 18 months after treatment with vagus nerve stimulation therapy in 43 patients. *Neurology* 2002; 59 (Suppl. 4): S44-7.
- Benabid AL, Koussié A, Benazzouz A, *et al.* Deep brain stimulation of the corpus luyisi (subthalamic nucleus) and other targets in Parkinson's disease. Extension to new indications such as dystonia and epilepsy. *J Neurol* 2001; 248 (Suppl. 3): III37-III47.
- Benabid AL, Minotti L, Koussié A, de Saint Martin A, Hirsch E. Antiepileptic effect of high-frequency stimulation of the subthalamic nucleus (corpus luyisi) in a case of medically intractable

- epilepsy caused by focal dysplasia: a 30-month follow-up: technical case report. *Neurosurgery* 2002; 50: 1385-91.
- Biraben A, Semah F, Ribeiro MJ, Douaud G, Remy P, Depaulis A. PET evidence for a role of the basal ganglia in patients with ring chromosome 20 epilepsy. *Neurology* 2004; 63: 73-7.
- Boon P, Vonck K, D'Have M, O'Connor S, Vandekerckhove T, De Reuck J. Cost-benefit of vagus nerve stimulation for refractory epilepsy. *Acta Neurol Belg* 1999; 99: 275-80.
- Bouillèret V, Semah F, Chassoux F, Mantzarides M, Biraben A, Trebossen R, Ribeiro MJ. Basal ganglia involvement in temporal lobe epilepsy: a functional and morphologic study. *Neurology* 2008; 70: 177-84.
- Brasil-Neto JP, de Araujo DP, Teixeira WA, Araujo VP, Boechat-Barros R. *Arq Neuropsiquiatr* 2004; 62: 21-5.
- Bressand K, Dematteis M, Kahane P, Benazzouz A, Benabid AL. Involvement of the subthalamic nucleus in the control of temporal lobe epilepsy: study by high frequency stimulation in rats. *Soc Neurosci* 1999; 25: 1656.
- Cantello R, Rossi S, Varrasi C, et al. Slow repetitive TMS for drug-resistant epilepsy: clinical and EEG findings of a placebo-controlled trial. *Epilepsia* 2007; 48: 366-74.
- Chabardès S, Kahane P, Minotti L, Koudsie A, Hirsch E, Benabid AL. Deep brain stimulation in epilepsy with particular reference to the subthalamic nucleus. *Epileptic Disord* 2002; 4 (Suppl. 3): 83-93.
- Chabardès S, Najm I, Luders HO. Vagus nerve stimulation and experimental data: a critical overview. In: Luders HO, ed. *Text book of Epilepsy Surgery*. Informa Healthcare, 2008.
- Chen R, Classen J, Gerloff C, et al. Depression of motor cortex excitability by low-frequency transcranial magnetic stimulation. *Neurology* 1997; 48: 1398-403.
- Chkhenkeli SA. The inhibitory influence of the nucleus caudatus electrostimulation on the human's amygdalar and hippocampal activity at temporal lobe epilepsy. *Bull Georgian Acad Sci* 1978; 4/6: 406-11.
- Chkhenkeli SA, Chkhenkeli IS. Effects of therapeutic stimulation of nucleus caudatus on epileptic electrical activity of brain in patients with intractable epilepsy. *Stereotact Funct Neurosurg* 1997; 69: 221-4.
- Clark KB, Naritoku DK, Smith DC, Browning RA, Jensen RA. Enhanced recognition memory following vagus nerve stimulation in human subjects. *Nat Neurosci* 1999; 2: 94-8.
- Cooke PM, Snider RS. Some cerebellar influences on electrically-induced cerebral seizures. *Epilepsia* 1955; 4: 19-28.
- Cooper I. *Cerebellar stimulation in man*. New York: Raven Press, 1978.
- Cooper IS, Upton ARM. The effect of chronic stimulation of cerebellum and thalamus upon neurophysiology and neurochemistry of cerebral cortex. In: Lazorthes Y, Upton ARM, eds. *Neurostimulation: an overview*. New York: Futura, 1985: 207-11.
- Cooper IS, Amin I, Riklan M, Waltz JM, Poon TP. Chronic cerebellar stimulation in epilepsy. Clinical and anatomical studies. *Arch Neurol* 1976; 33: 559-70.
- Cooper IS, Amin I, Gilman S. The effect of chronic cerebellar stimulation upon epilepsy in man. *Trans Am Neurol Assoc* 1973; 98: 192-6.
- Cuellar-Herrera M, Velasco M, Velasco F, et al. Evaluation of GABA system and cell damage in parahippocampus of patients with temporal lobe epilepsy showing antiepileptic effects after subacute electrical stimulation. *Epilepsia* 2004; 45: 459-66.
- Danober L, Deransart C, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C. Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in rat. *Prog Neurobiol* 1998; 55: 27-57.
- Davis R, Emmonds SE. Cerebellar stimulation for seizure control: 17-year study. *Stereotact Funct Neurosurg* 1992; 58: 200-8.
- Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C, Lannes B, Warter JM. Evidence that activation of GABA receptors in the substantia nigra suppresses spontaneous spike-and-wave discharges in the rat. *Brain Res* 1988; 448 (1): 20-9.
- Depaulis A, Snead 3rd OC, Marescaux C, Vergnes M. Suppressing effects of intranigral injection of muscimol in three models of generalized non-convulsive epilepsy induced by chemical agents. *Brain Res* 1989; 498: 64-72.
- Depaulis A, Vergnes M, Liu Z, Kempf E, Marescaux C. Involvement of the nigral output pathways in the inhibitory control of the substantia nigra over generalized non-convulsive seizures in the rat. *Neuroscience* 1990; 39: 339-49.
- Depaulis A, Vergnes M, Depaulis A. Endogenous control of epilepsy: the nigral inhibitory system. *Prog Neurobiol* 1994; 42: 33-52.
- Deransart C, Depaulis A. The control of seizures by the basal ganglia? A review of experimental data. *Epileptic Disord* 2002; 4 (Suppl. 3): S61-72.
- Deransart C, Marescaux C, Depaulis A. Involvement of nigral glutamatergic inputs in the control of seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience* 1996; 71: 721-8.
- Deransart C, Lê BT, Marescaux C, Depaulis A. Role of the subthalamo-nigral input in the control of amygdala-kindled seizures in rat. *Brain Res* 1998; 807: 78-83.
- Deransart C, Riban V, Lê BT, Marescaux C, Depaulis A. Dopamine in the nucleus accumbens modulates seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience* 2000; 100: 335-44.
- Deransart C, Depaulis A. Le concept de contrôle nigral des épilepsies s'applique-t-il aux épilepsies partielles pharmacorésistantes? *Epilepsies* 2004; 16: 75-82.
- Dodrill CB, Morris GL. Effects of Vagal Nerve Stimulation on Cognition and Quality of Life in Epilepsy. *Epilepsy Behav* 2001; 2: 46-53.
- Dow RS, Fernandez-Guardiola A, Manni E. The influence of the cerebellum on experimental epilepsy. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1962; 14: 383-98.
- Duprez TP, Serieh BA, Raftopoulos C. Absence of memory dysfunction after bilateral mammillary body and mammillothalamic tract electrode implantation: preliminary experience in three patients. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005; 26: 195-7.
- Dybdal D, Gale K. Postural and anticonvulsant effects of inhibition of the rat subthalamic nucleus. *J Neurosci* 2000; 20: 6728-33.
- Ebner TJ, Bantli H, Bloedel JR. Effects of cerebellar stimulation on unitary activity within a chronic epileptic focus in a primate. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1980; 49: 585-99.

- Elisevich K, Jenrow K, Schuh L, Smith B. Long-term electrical stimulation-induced inhibition of partial epilepsy. Case report. *J Neurosurg* 2006; 105: 894-7.
- Fanselow EE, Reid AP, Nicoletis MA. Reduction of pentylentetrazole-induced seizure activity in awake rats by seizure-triggered trigeminal nerve stimulation. *J Neurosci* 2000; 20: 8160-8.
- Feddersen B, Vercueil L, Noachtar S, David O, Depaulis A, Deransart C. Controlling seizures is not controlling epilepsy: a parametric study of deep brain stimulation for epilepsy. *Neurobiol Dis* 2007; 27: 292-300.
- Fisher RS, Uematsu S, Krauss GL, et al. Placebo-controlled pilot study of centromedian thalamic stimulation in treatment of intractable seizures. *Epilepsia* 1992; 33: 841-51.
- Fountas KN, Smith JR, Murro AM, Politsky J, Park YD, Jenkins PD. Implantation of a closed-loop stimulation in the management of medically refractory focal epilepsy: a technical note. *Stereotact Funct Neurosurg* 2005; 83: 153-8.
- Fregni F, Otachi PT, Do Valle A, et al. A randomized clinical trial of repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with refractory epilepsy. *Ann Neurol* 2006; 60: 447-55.
- Gale K. Chemoconvulsant seizures: advantages of focally-evoked seizure models. *Ital J Neurol Sci* 1995; 16: 17-25.
- Gale K, Iadarola MJ. Seizure protection and increased nerve-terminal GABA: delayed effects of GABA transaminase inhibition. *Science* 1980; 208: 288-91.
- Goodman JH, Berger RE, Tchong TK. Preemptive low-frequency stimulation decreases the incidence of amygdala-kindled seizures. *Epilepsia* 2005; 46: 1-7.
- Grewal S, Gotman J. An automatic warning system for epileptic seizures recorded on intracerebral EEGs. *Clin Neurophysiol* 2005; 116: 2460-72.
- Haberler C, Alesch F, Mazal PR, et al. No tissue damage by chronic deep brain stimulation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2000; 48: 372-6.
- Harden CL, Pulver MC, Ravdin LD, Nikolov B, Halper JP, Labar DR. A Pilot Study of Mood in Epilepsy Patients Treated with Vagus Nerve Stimulation. *Epilepsy Behav* 2000; 1: 93-9.
- Hamani C, Ewerton FI, Bonilha SM, Ballester G, Mello LE, Lozano AM. Bilateral anterior thalamic nucleus lesions and high-frequency stimulation are protective against pilocarpine-induced seizures and status epilepticus. *Neurosurgery* 2004; 54: 191-5.
- Hamani C, Hodaie M, Chiang J, et al. Deep brain stimulation of the anterior nucleus of the thalamus: effects of electrical stimulation on pilocarpine-induced seizures and status epilepticus. *Epilepsy Res* 2008; 78: 117-23.
- Handforth A, DeGiorgio CM, Schachter SC. Vagus nerve stimulation therapy for partial-onset seizures: a randomized active-control trial. *Neurology* 1998; 51: 48-55.
- Henry TR, Bakay RA, Votaw JR, et al. Brain blood flow alterations induced by therapeutic vagus nerve stimulation in partial epilepsy, I: acute effects at high and low levels of stimulation. *Epilepsia* 1998; 39: 983-90.
- Henry TR, Votaw JR, Pennell PB, et al. Acute blood flow changes and efficacy of vagus nerve stimulation in partial epilepsy. *Neurology* 1999; 52: 1166-73.
- Henry TR. Therapeutic mechanisms of vagus nerve stimulation. *Neurology* 2002; 59 (Suppl. 4): S3-14.
- Hodaie M, Wennberg RA, Dostrovsky JO, Lozano AM. Chronic anterior thalamus stimulation for intractable epilepsy. *Epilepsia* 2002; 43: 603-8.
- Iadarola MJ, Gale K. Substantia nigra: site of anticonvulsant activity mediated by gammaaminobutyric acid. *Science* 1982; 218: 1237-40.
- Jasper H. Current evaluation of the concepts of centrencephalic and cortico-reticular seizures. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1991; 78: 2-11.
- Jennum P, Klitgaard H. Repetitive transcranial magnetic stimulations of the rat. Effect of acute and chronic stimulations on pentylentetrazole-induced clonic seizures. *Epilepsy Res* 1996; 23: 115-22.
- Joo EY, Han SJ, Chung S-H, Cho J-W, Seo DW, Hong SB. Antiepileptic effects of low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation by different stimulation durations and locations. *Clinical Neurophysiology* 2007; 118: 702-8.
- Kahane P, Ryvlin P, Hoffmann D, Minotti L, Benabid AL. From hypothalamic hamartoma to cortex: what can be learnt from depth recordings and stimulation? *Epileptic Disord* 2003; 5: 205-17.
- Kerrigan JF, Litt B, Fisher RS, et al. Electrical stimulation of the anterior nucleus of the thalamus for the treatment of intractable epilepsy. *Epilepsia* 2004; 45: 346-54.
- Kinoshita M, Ikeda A, Begum T, Yamamoto J, Hitomi T, Shibusaki H. Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation for seizure suppression in patients with extratemporal lobe epilepsy – a pilot study. *Seizure* 2005a; 14: 387-92.
- Kinoshita M, Ikeda A, Matsushashi M, et al. Electric cortical stimulation suppresses epileptic and background activities in neocortical epilepsy and mesial temporal lobe epilepsy. *Clin Neurophysiol* 2005b; 116: 1291-9.
- Ko D, Heck C, Grafton S, et al. Vagus nerve stimulation activates central nervous system structures in epileptic patients during PET H2(15)O blood flow imaging. *Neurosurgery* 1996; 39: 426-30.
- Kobayashi M, Pascual-Leone A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurol* 2003; 2: 145-56.
- Kossoff EH, Ritzl EK, Politsky JM, Murro AM, Smith JR, Duckrow RB, Spencer DD, Bergery GK. Effect of an external responsive neurostimulator on seizures and electrographic discharges during subdural electrode monitoring. *Epilepsia* 2004; 45: 1560-7.
- Krauss GL, Fisher RS. Cerebellar and thalamic stimulation for epilepsy. *Adv Neurol* 1993; 63: 231-45.
- Kwan P, Brodie M. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med* 2000; 342: 314-9.
- Labar DR. Antiepileptic drug use during the first 12 months of vagus nerve stimulation therapy: a registry study. *Neurology* 2002; 59 (Suppl. 4): S38-43.
- Lado FA. Chronic bilateral stimulation of the anterior thalamus of kainate-treated rats increases seizure frequency. *Epilepsia* 2006; 47: 27-32.
- La Grutta V, Amato G, Zagami MT. The importance of the caudate nucleus in the control of convulsive activity in the amygdaloid complex and the temporal cortex of the cat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1971; 31: 57-69.

- La Grutta V, Sabatino M, Gravante G, Morici G, Ferraro G, La Grutta G. A study of caudate inhibition on an epileptic focus in the cat hippocampus. *Arch Int Physiol Biochim* 1988; 96: 113-20.
- Lesser RP, Kim SH, Beyderman L, *et al.* Brief bursts of pulse stimulation terminate afterdischarges caused by cortical stimulation. *Neurology* 1999; 53: 2073-81.
- Lim SN, Lee ST, Tsai YT, Chen IA, Tu PH, Chen JL, Chang HW, Su YC, Wu T. Electrical stimulation of the anterior nucleus of the thalamus for intractable epilepsy: a long term follow-up study. *Epilepsia* 2007; 48: 342-7.
- Liu WC, Mosier K, Kalnin AJ, Marks D. BOLD fMRI activation induced by vagus nerve stimulation in seizure patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003; 74: 811-3.
- Lockard JS, Ojemann GA, Congdon WC, DuCharme LL. Cerebellar stimulation in alumina-gel monkey model: inverse relationship between clinical seizures and EEG interictal bursts. *Epilepsia* 1979; 20: 223-34.
- Lockard JS, Congdon WC, DuCharme LL. Feasibility and safety of vagal stimulation in monkey model. *Epilepsia* 1990; 31 (Suppl. 2): S20-6.
- Loddenkemper T, Pan A, Neme S, *et al.* Deep brain stimulation in epilepsy. *J Clin Neurophysiol* 2001; 18: 514-32.
- Majkowski J, Karliński A, Klimowicz-Młodzik I. Effect of cerebellar stimulation of hippocampal epileptic discharges in kindling preparation. *Monogr Neural Sci* 1980; 5: 40-5.
- Malow BA, Edwards J, Marzec M, Sagher O, Ross D, Fromes G. Vagus nerve stimulation reduces daytime sleepiness in epilepsy patients. *Neurology* 2001; 57: 879-84.
- Marescaux C, Vergnes M, Depaulis A. Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg. *J Neural Transm Suppl* 1992; 35: 37-69.
- McLachlan RS. Suppression of interictal spikes and seizures by stimulation of the vagus nerve. *Epilepsia* 1993; 34: 918-23.
- Menkes DL, Gruenthal M. Slow-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation in a patient with focal cortical dysplasia. *Epilepsia* 2000; 4: 240-2.
- Mirski MA, Ferrendelli JA. Interruption of the mammillothalamic tract prevents seizures in guinea pigs. *Science* 1984; 226: 72-4.
- Mirski MA, Ferrendelli JA. Anterior thalamic mediation of generalized pentylentetrazol seizures. *Brain Res* 1986a; 399: 212-23.
- Mirski MA, Ferrendelli JA. Selective metabolic activation of the mammillary bodies and their connections during ethosuximide-induced suppression of pentylentetrazol seizures. *Epilepsia* 1986b; 27: 194-203.
- Mirski MA, Fisher RS. Electrical stimulation of the mammillary nuclei increases seizure threshold to pentylentetrazol in rats. *Epilepsia* 1994; 35: 1309-16.
- Mirski MA, Rossell LA, Terry JB, Fisher RS. Anticonvulsant effect of anterior thalamic high frequency electrical stimulation in the rat. *Epilepsy Res* 1997; 28: 89-100.
- Misawa S, Kuwabara S, Shibuya K, Mamada K, Hattori T. Low-frequency transcranial magnetic stimulation for epilepsy partialis continua due to cortical dysplasia. *J Neurol Sci* 2005; 234: 37-9.
- Morimoto K, Goddard GV. The substantia nigra is an important site for the containment of seizure generalization in the kindling model of epilepsy. *Epilepsia* 1987; 28: 1-10.
- Morrell M. Brain stimulation for epilepsy: can scheduled or responsive neurostimulation stop seizures? *Curr Opin Neurol* 2006; 19: 164-8.
- Morris 3<sup>rd</sup> GL, Mueller WM. Long-term treatment with vagus nerve stimulation in patients with refractory epilepsy. The Vagus Nerve Stimulation Study Group E01-E05. *Neurology* 1999; 53: 1731-5.
- Motamedi GK, Lesser RP, Miglioretti DL, *et al.* Optimizing parameters for terminating cortical afterdischarges with pulse stimulation. *Epilepsia* 2002; 43: 836-46.
- Mutani R. Experimental evidence for the existence of an extrarhinencephalic control of the activity of the cobalt rhinencephalic epileptogenic focus, part 1: the role played by the caudate nucleus. *Epilepsia* 1969; 10: 337-50.
- Mutani R, Bergamini L, Doriguzzi T. Experimental evidence for the existence of an extrarhinencephalic control of the activity of the cobalt rhinencephalic epileptogenic focus. Part 2. Effects of the paleocerebellar stimulation. *Epilepsia* 1969; 10: 351-62.
- Nail-Boucherie K, Lê-Pham BT, Gobaille S, Maitre M, Aunis D, Depaulis A. Evidence for a role of the parafascicular nucleus of the thalamus in the control of epileptic seizures by the superior colliculus. *Epilepsia* 2005; 46: 141-5.
- Narayanan JT, Watts R, Haddad N, Labar DR, LiPM, Filippi CG. Cerebral activation during vagus nerve stimulation: a functional MR study. *Epilepsia* 2002; 43: 1509-14.
- Oakley JC, Ojemann GA. Effects of chronic stimulation of the caudate nucleus on a preexisting alumina seizure focus. *Exp Neurol* 1982; 75: 360-7.
- Oommen J, Morrell M, Fisher RS. Experimental electrical stimulation for epilepsy. *Curr Treat Options Neurol* 2005; 7: 261-71.
- Osorio I, Frei MG, Giftakis J, *et al.* Performance reassessment of a real-time seizure-detection algorithm on long ECoG series. *Epilepsia* 2002; 43: 1522-35.
- Osorio I, Frei MG, Sunderam S, Giftakis J, Bhavaraju NC, Schaffner SF, Wilkinson SB. Automated seizure abatement in humans using electrical stimulation. *Ann Neurol* 2005; 57: 258-68.
- Osorio I, Overman J, Giftakis J, Wilkinson SB. High frequency thalamic stimulation for inoperable mesial temporal epilepsy. *Epilepsia* 2007; 48: 1561-71.
- Paz JT, Deniau JM, Charpier S. Rhythmic Bursting in the Cortico-Subthalamo-Pallidal Network during Spontaneous Genetically Determined Spike and Wave Discharges. *J Neurosci* 2005; 25: 2092-101.
- Paz JT, Chavez M, SAILLET S, Deniau JM, Charpier S. Activity of ventral medial thalamic neurons during absence seizures and modulation of cortical paroxysms by the nigrothalamic pathway. *J Neurosci* 2007; 27: 929-41.
- Penry JK, Dean JC. Prevention of intractable partial seizures by intermittent vagal stimulation in humans: preliminary results. *Epilepsia* 1990; 31 (Suppl. 2): S40-3.
- Pilitsis JG, Chu Y, Kordower J, Bergen CD, Cochran EJ, Bakay RA. Postmortem study of deep brain stimulation of the anterior thalamus: case report. *Neurosurgery* 2008; 62: 530-2.
- Polkey CE. Alternative surgical procedures to help drug-resistant epilepsy – a review. *Epileptic Disord* 2003; 5: 63-75.
- Psatta DM. Control of chronic experimental focal epilepsy by feedback caudatum stimulations. *Epilepsia* 1983; 24: 444-54.



- Rotenberg A, Muller P, Birnbaum D, Harrington M, Riviello JJ, Pascual-Leone A, Jensen FE. Seizure suppression by EEG-guided repetitive transcranial magnetic stimulation in the rat. *Clin Neurophysiol* 2008; 119: 2697-702.
- Saillet S, Charvet G, Gharbi S, Depaulis A, Guillemaud R, David O. Closed loop control of seizures in a rat model of absence epilepsy using the BioMEATM system. *IEEE Neural Eng* 2009 in press.
- Santiago-Rodriguez E, Cardenas-Morales L, Harmony T, Fernandez-Bouzas A, Porras-Katz E, Hernandez A. Repetitive transcranial magnetic stimulation decreases the number of seizures in patients with focal neocortical epilepsy. *Seizure* 2008; 17: 677-83.
- Semah F. PET imaging in epilepsy: basal ganglia and thalamic involvement. *Epileptic Disord* 2002; 4 (Suppl. 3): S55-60.
- Shi LH, Luo F, Woodward D, Chang JY. Deepbrain stimulation of the substantia nigra pars reticulata exerts long lasting suppression of amygdala-kindled seizures. *Brain Res* 2006; 1090: 202-7.
- Sramka M, Fritz G, Gajdosova D, Nadvornik P. Central stimulation treatment of epilepsy. *Acta Neurochir Suppl* 1980; 30: 183-7.
- Takebayashi S, Hashizume K, Tanaka T, Hodozuka A. The effect of electrical stimulation and lesioning of the anterior thalamic nucleus on kainic acid-induced focal cortical seizure status in rats. *Epilepsia* 2007a; 48: 348-58.
- Takebayashi S, Hashizume K, Tanaka T, Hodozuka A. Anticonvulsant effect of electrical stimulation and lesioning of the anterior thalamic nucleus on kainic acid-induced focal limbic seizure in rats. *Epilepsy Res* 2007b; 74: 163-70.
- Tassinari CA, Cincotta M, Zaccara G, Michelucci R. Transcranial magnetic stimulation and epilepsy. *Clin Neurophysiol* 2003; 114: 777-98.
- Taylor RB, Wennberg RA, Lozano AM, Sharpe JA. Central nystagmus induced by deep-brain stimulation for epilepsy. *Epilepsia* 2000; 41: 1637-41.
- Takaya M, Terry WJ, Naritoku DK. Vagus nerve stimulation induces a sustained anticonvulsant effect. *Epilepsia* 1996; 37: 1111-6.
- Tellez-Zenteno JF, McLachlan RS, Parrent A, Kubu CS, Wiebe S. Hippocampal electrical stimulation in mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2006; 66: 1490-4.
- Tergau F, Naumann U, Paulus W, Steinhoff BJ. Low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation improves intractable epilepsy. *Lancet* 1999; 353: 2209.
- Theodore WH, Fisher RS. Brain stimulation for epilepsy. *Lancet Neurol* 2004; 3: 111-8.
- Theodore WH, Hunter K, Chen R, et al. Transcranial magnetic stimulation for the treatment of seizures: a controlled study. *Neurology* 2002; 59: 560-2.
- The Vagus Nerve Stimulation Study Group. A randomized controlled trial of chronic vagus nerve stimulation for treatment of medically intractable seizures. *Neurology* 1995; 45: 224-30.
- Usui N, Maesawa S, Kajita Y, Endo O, Takebayashi S, Yoshida J. Suppression of secondary generalization of limbic seizures by stimulation of subthalamic nucleus in rats. *J Neurosurg* 2005; 102: 1122-9.
- Van Buren JM, Wood JH, Oakley J, Hambrecht F. Preliminary evaluation of cerebellar stimulation by double blind stimulation and biological criteria in the treatment of epilepsy. *J Neurosurg* 1978; 48: 407-16.
- Van Laere K, Vonck K, Boon P, Brans B, Vandekerckhove T, Dierckx R. Vagus nerve stimulation in refractory epilepsy: SPECT activation study. *J Nucl Med* 2000; 41: 1145-54.
- van Rijckevorsel K, Abu Serieh B, de Tourtchaninoff M, Raftopoulos C. Deep EEG recordings of the mammillary body in epilepsy patients. *Epilepsia* 2005; 46: 781-5.
- Velasco F, Velasco M, Cepeda C, Munoz H. Wakefulness-sleep modulation of thalamic multiple unit activity and EEG in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1979; 47: 597-606.
- Velasco F, Velasco M, Ogarrio C, Fanghanel G. Electrical stimulation of the centromedian thalamic nucleus in the treatment of convulsive seizures: a preliminary report. *Epilepsia* 1987; 28: 421-30.
- Velasco F, Velasco M, Velasco AL, Jimenez F. Effect of chronic electrical stimulation of the centromedian thalamic nuclei on various intractable seizure patterns, I: clinical seizures and paroxysmal EEG activity. *Epilepsia* 1993; 34: 1052-64.
- Velasco F, Velasco M, Velasco AL, Jimenez F, Marquez I, Rise M. Electrical stimulation of the centromedian thalamic nucleus in control of seizures: long term studies. *Epilepsia* 1995; 36: 63-71.
- Velasco F, Velasco M, Jimenez F, et al. Predictors in the treatment of difficult-to-control seizures by electrical stimulation of the centromedian thalamic nucleus. *Neurosurgery* 2000a; 47: 295-305.
- Velasco M, Velasco F, Velasco AL, Jimenez F, Brito F, Marquez I. Acute and chronic electrical stimulation of the centromedian thalamic nucleus: modulation of reticulo-cortical systems and predictor factors for generalized seizure control. *Arch Med Res* 2000b; 31: 304-15.
- Velasco M, Velasco F, Velasco AL, et al. Subacute electrical stimulation of the hippocampus blocks intractable temporal lobe seizures and paroxysmal EEG activities. *Epilepsia* 2000c; 41: 158-69.
- Velasco F, Velasco M, Jimenez F, Velasco AL, Marquez I. Stimulation of the central median thalamic nucleus for epilepsy. *Stereotact Funct Neurosurg* 2001a; 77: 228-32.
- Velasco M, Velasco F, Velasco AL. Centromedian-thalamic and hippocampal electrical stimulation for the control of intractable epileptic seizures. *J Clin Neurophysiol* 2001b; 18: 495-513.
- Velasco F, Velasco M, Jimenez F, Velasco AL, Rojas B. Centromedian nucleus stimulation for epilepsy. Clinical, electroencephalographic, and behavioral observations. *Thalamus & Related systems* 2002; 1: 387-98.
- Velasco F, Carrillo-Ruiz JD, Brito F, et al. Double-blind, randomized controlled pilot study of bilateral cerebellar stimulation for treatment of intractable motor seizures. *Epilepsia* 2005; 46: 1071-81.
- Velasco AL, Velasco F, Jimenez F, et al. Neuromodulation of the centromedian thalamic nuclei in the treatment of generalized seizures and the improvement of the quality of life in patients with Lennox-Gastaut syndrome. *Epilepsia* 2006; 47: 1203-12.
- Velasco AL, Velasco F, Velasco M, Trejo D, Castro G, Carrillo-Ruiz JD. Electrical stimulation of the hippocampal epileptic foci for seizure control: a double-blind, long-term follow-up study. *Epilepsia* 2007; 48: 1895-903.
- Velisek L, Veliskova J, Moshe SL. Electrical stimulation of substantia nigra pars reticulata is anticonvulsant in adult and young male rats. *Exp Neurol* 2002; 173: 145-52.

- Velisek L, Velsikova J, Stanton PK. Low-frequency stimulation of the kindling focus delays basolateral amygdala kindling in immature rats. *Neurosci Lett* 2002; 326: 61-3.
- Velísková J, Velsek L, Moshé SL. Subthalamic nucleus: a new anticonvulsant site in the brain. *Neuroreport* 1996; 7: 1786-8.
- Vercueil L, Hirsch E. Seizures and the basal ganglia: a review of the clinical data. *Epileptic Disord* 2002; 4 (Suppl. 3): S47-54.
- Vercueil L, Benazzouz A, Deransart C, *et al.* High-frequency stimulation of the sub-thalamic nucleus suppresses absence seizures in the rat: comparison with neurotoxic lesions. *Epilepsy Res* 1998; 31: 39-46.
- Vesper J, Steinhoff B, Rona S, Wille C, Bilic S, Nikkhah G, Ostertag C. Chronic high-frequency deep brain stimulation of the STN/SNr for progressive myoclonic epilepsy. *Epilepsia* 2007; 48: 1984-9.
- Vonck K, Boon P, Van Laere K, *et al.* Acute single photon emission computed tomographic study of vagus nerve stimulation in refractory epilepsy. *Epilepsia* 2000; 41: 601-9.
- Vonck K, Van Laere K, Dedeurwaerdere S, Caemaert J, De Reuck J, Boon P. The mechanism of action of vagus nerve stimulation for refractory epilepsy. *J Clin Neurophysiol* 2001; 18: 394-401.
- Vonck K, Boon P, Achten E, De Reuck J, Caemaert J. Long-term amygdalohippocampal stimulation for refractory temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol* 2002; 52: 556-65.
- Vonck K, Boon P, Van Roost D. Anatomical and physiological basis and mechanism of action of neurostimulation for epilepsy. *Acta Neurochir* 2007; 97 (Suppl.): 321-8.
- Wang S, Wu DC, Ding MP, Li Q, Zhuge ZB, Zhang SH, Chen Z. Low-frequency stimulation of cerebellar fastigial nucleus inhibits amygdaloid kindling acquisition in Sprague-Dawley rats. *Neurobiol Dis* 2008; 29: 52-8.
- Wassermann EM, Lisanby SH. Therapeutic application of repetitive transcranial magnetic stimulation: a review. *Clin Neurophysiol* 2001; 112: 1367-77.
- Weiss SRB, Li XL, Rosen JB, Li H, Heynen T, Post RM. Quenching: inhibition of the development and expression of amygdala kindled seizures with low frequency stimulation. *Neuroreport* 1995; 4: 2171-6.
- Wheless JW, Maggio V. Vagus nerve stimulation therapy in patients younger than 18 years. *Neurology* 2002; 59 (Suppl. 4): S 21-5.
- Wright GD, Mc Lellan DL, Brice JG. A double-blind trial of chronic cerebellar stimulation in twelve patients with severe epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1984; 47: 769-74.
- Yamamoto J, Ikeda A, Satow T, *et al.* Low-frequency electric cortical stimulation has an inhibitory effect on cortical focus in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2002; 43: 491-5.
- Yang LX, Jin CL, Zhu-Ge ZB, Wang S, Wei EQ, Bruce IC, Chen Z. Unilateral low-frequency stimulation of central piriform delays seizure development induced by amygdaloid-kindled in rats. *Neuroscience* 2006; 138: 1089-96.
- Zhu-Ge ZB, Zhu YY, Wu DC, *et al.* Unilateral low-frequency stimulation of central piriform cortex inhibits amygdaloid-kindled seizures in Sprague-Dawley rats. *Neuroscience* 2007; 146: 901-6.
- Zumsteg D, Lozano AM, Wennberg RA. Mesial temporal inhibition in a patient with deep brain stimulation of the anterior thalamus for epilepsy. *Epilepsia* 2006; 47: 1958-62.

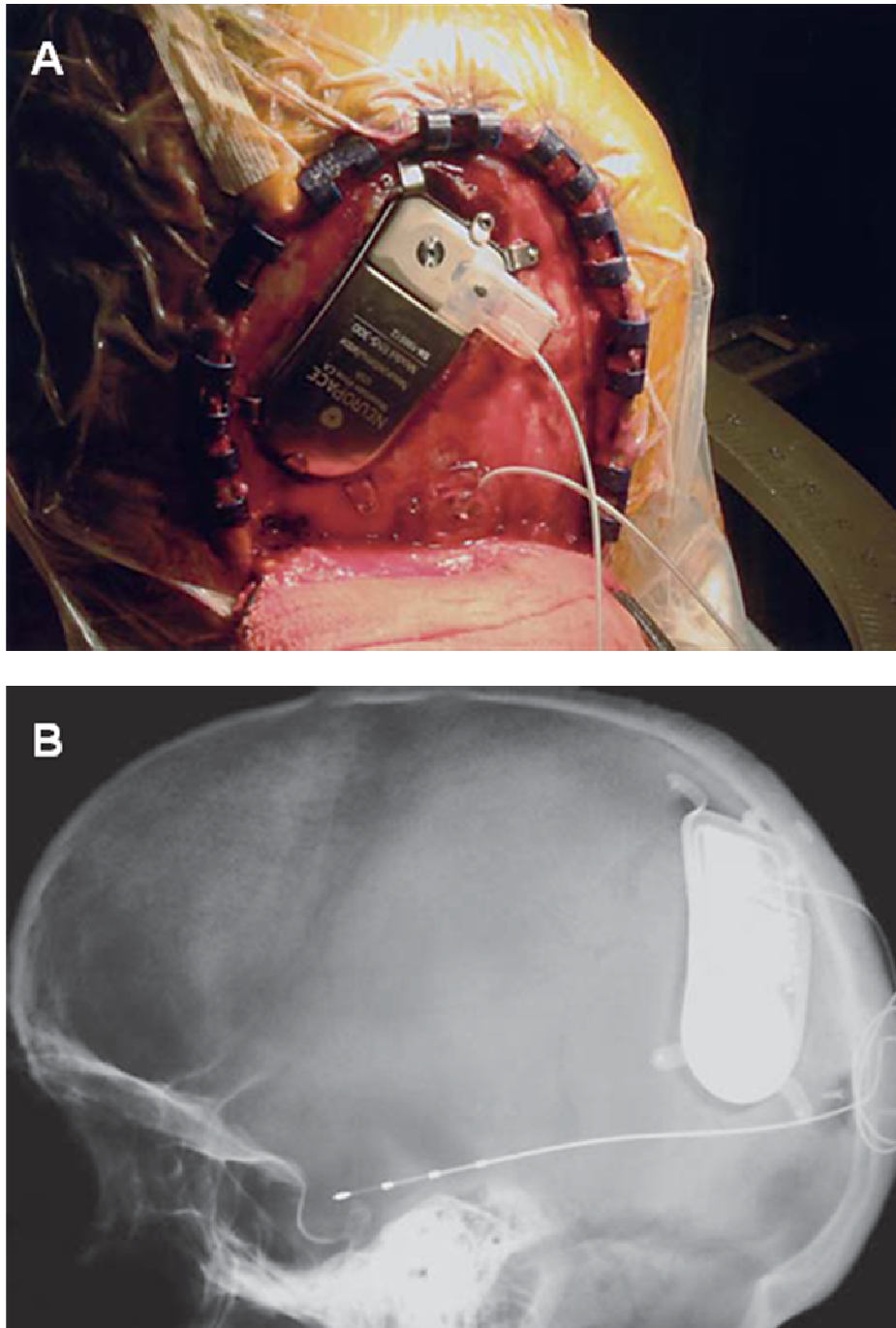
### III.2. La stimulation asservie

Des données encore limitées, mais qui sont en plein développement, suggèrent que la stimulation asservie à la détection des crises pourrait être une solution intéressante pour le contrôle des crises d'épilepsie (Osorio et coll., 2005). La stratégie utilisée dans ce type de stimulation est différente de celle de la stimulation continue. En effet, une stimulation asservie n'est déclenchée que lorsque les crises surviennent. A la différence des patients souffrant de la maladie de Parkinson où les symptômes sont quasi permanents, on peut en effet penser qu'il n'est pas indispensable de stimuler en permanence les patients épileptiques, mais plutôt seulement lorsqu'une crise survient. De plus, comme l'indique notre article de synthèse, les études de stimulation continue menées chez l'homme ne sont pas toujours efficaces, suggérant que des stimulations continues pourraient présenter des effets d'habituation, voire même d'aggravation des crises. Ceci suggère que, dans le cas de l'épilepsie, la stimulation déclenchée sur les crises pourrait être plus efficace que la stimulation continue. De plus, une stimulation asservie permet de préserver les batteries du stimulateur et pallie au problème de surconsommation d'une stimulation continue. On peut toutefois objecter qu'en plus des crises, les patients épileptiques présentent des troubles comportementaux intercritiques qu'une stimulation continue pourrait éventuellement améliorer et augmenter ainsi la qualité de vie (Kahane et Depaulis, 2010).

La stimulation déclenchée par la survenue des crises exige la mise en place d'un algorithme de détection de crise dans un premier temps ainsi que la mise en place d'un système de stimulation efficace pour interrompre les crises lors de leur initiation. La spécificité et la sensibilité de l'algorithme de détection de crises sont des facteurs cruciaux pour évaluer de façon précise tout système de stimulation asservie sur crises. Automatiser la détection de crises est toutefois un

problème ardu et malgré des années de recherche, il n'existe pas d'algorithme universel en épiléptologie, bien que les travaux de Jean Gotman servent de référence dans ce domaine (Qu et Gotman, 1995, 1997; Grewal et Gotman 2005) parmi d'autres approches (Osorio et coll., 2002 ; VanHese et coll., 2009). Le challenge pour les systèmes embarqués en épilepsie est de développer des algorithmes d'une haute complexité, capables à partir de signaux non stationnaires de faire la distinction en temps réel entre activité épileptique, de veille, de sommeil et artéfacts de tous types.

Chez le patient épileptique, des études ont pu montrer qu'une stimulation électrique brève pouvait raccourcir la durée des crises, ou diminuer leur fréquence (Lesser et coll., 1999; Motamedi et coll., 2002). Ces effets ont été évalués dans différentes études à l'aide de dispositifs automatisés (Kossoff et coll., 2004 ; Fountas et coll., 2005, 2007 ; Osorio et coll., 2005) et ont montré une efficacité de détection des crises ainsi qu'une suppression des décharges épileptiques chez certains patients. Toutefois cette nouvelle approche thérapeutique a encore besoin d'être évaluée par le biais d'essais cliniques multi-centriques. A l'heure actuelle, l'essai Neuropace poursuivi aux USA est le plus avancé (Fountas, 2005, 2007). L'approche choisie dans Neuropace est de stimuler directement le foyer néocortical ou hippocampique chez des patients atteints d'épilepsie d'origine corticale, à l'aide d'un stimulateur contenant un générateur d'impulsion implanté dans la boîte crânienne et incorporant un traitement du signal en temps réel (Figure 3) permettant de faire des stimulations déclenchées par la détection de crises. Les résultats sur 240 patients, montrent que 25 à 65% d'entre eux présentent une réduction des crises.



**Figure 3 : Images du système Neuropace.** (A) montrant le générateur d'impulsion connecté à sa position finale, (B) une radiographie post-opératoire du générateur d'impulsion et de l'électrode implantée dans l'hippocampe. D'après Fountas et coll., 2005.

## Deuxième partie : Travaux originaux

## I. Objectif de l'étude

L'objectif de mon travail de thèse a été de développer un nouveau système de stimulation intracérébrale profonde qui soit efficace pour la suppression des crises chez un modèle animal d'épilepsie. Plus précisément, notre objectif principal a été d'étudier la faisabilité d'une stimulation adaptative ou «stimulation asservie», et non continue, déclenchée par la détection de crises d'épilepsie.

Pour cela, nous avons abordé trois points principaux :

### I.1. Caractérisation de l'activité des structures implantées en vue d'un choix de cible pour la stimulation

Il était important d'examiner comment le système des GB est activé au cours des crises d'origine corticale. Pour cela, il était nécessaire de réaliser des enregistrements simultanés de l'activité de potentiel de champs au niveau de différentes structures connues pour être impliquées dans le contrôle et/ou la génération des crises d'épilepsie et d'en identifier la meilleure cible. Nous avons choisi de faire ces enregistrements chez le GAERS dans le cortex somatosensoriel, le thalamus ventrobasal, le striatum et la SNr, et d'en mesurer l'activité chez l'animal libre de se mouvoir, nous permettant ainsi de pouvoir identifier de façon robuste les décharges de pointe onde (DPO) afin de piloter une stimulation asservie. Ces structures ont été choisies suite à une étude en IRM fonctionnelle.

## I.2. Développement d'un système de stimulation asservie

Il était important de développer un système de neurostimulation qui soit capable de détecter et de stimuler les crises de façon aussi souple que possible. Les travaux de Berend Feddersen, au cours de sa thèse, ont déterminé les paramètres optimaux de stimulation de la SNr au cours des crises chez le GAERS (Feddersen et coll., 2007). De plus, des études menées chez l'homme (Chabardès et coll., 2002) suggèrent que l'effet d'une stimulation continue a tendance à disparaître avec le temps par rapport à des patients dont la stimulation est non continue. Pour ces raisons, nous avons voulu poursuivre le travail de Berend Feddersen en mettant au point un système de stimulation asservie à la détection automatisée des crises, afin d'interrompre celles-ci, dès qu'elles surviennent, dans un but thérapeutique. C'est dans le cadre d'un tel développement qu'une collaboration avec le CEA-Leti nous a permis d'utiliser, de valider et de faire évoluer un nouveau système d'acquisition et de stimulation basé sur la technologie ASIC (système BioMEA).

## I.3. Quantification des effets antiépileptiques de la stimulation asservie

Une fois la stimulation asservie mise en place, l'objectif fut d'examiner et de valider son efficacité et sa mise en œuvre à long terme sur des périodes pouvant aller d'une à 24 heures. Des conditions nous permettant d'être le plus proche possible de la réalité clinique ont été choisies dans le but d'évaluer la stabilité du système de stimulation asservie, et de voir si la stimulation asservie perturbe les rythmes biologiques, comme par exemple les phases de sommeil.



## II. Stratégie de l'étude

### II.1. Modèle animal

Pour cette étude, nous avons choisi d'utiliser le rat GAERS comme modèle animal d'épilepsie généralisée en raison de la survenue régulière de ses crises et de sa similitude électroclinique et pharmacologique avec l'homme (Danober et coll., 1998). Ce modèle chronique est actuellement l'un des mieux validés et des plus prédictifs en épilepsie (Depaulis et Van Luitjelaar, 2005). Il a permis en outre de collecter la plupart des données sur le rôle des ganglions de la base dans le contrôle des décharges épileptiques (Deransart et coll., 2002) et c'est avec ce modèle que les paramètres optimaux de stimulation de la SNr ont été déterminés (Feddersen et coll., 2007). Bien que le GAERS ne représente pas une forme d'épilepsie «candidate» à la neurostimulation chez l'homme, la nature spontanée et récurrente des crises nous permettent de valider l'efficacité au cours du temps du protocole de détection et de stimulation. De plus, dans ce modèle, les structures sous-corticales des GB restent intactes à la différence de modèles qui font suite à un état de mal.

### II.2. Cible de stimulation

Beaucoup de données de la littérature, ont montré que l'inhibition pharmacologique de la SNr, par l'administration locale d'agonistes du GABA (Depaulis et coll., 1988), d'antagonistes glutamatergiques (Paz et coll., 2007), ainsi que sa stimulation à haute fréquence (Feddersen et coll., 2007) présentaient des effets antiépileptiques dans différents modèles animaux de crises généralisées convulsives et non-convulsives (pour revue voir Depaulis et coll., 1994). De plus, les études de stimulation menées chez le GAERS (Feddersen et

coll., 2007) montrent que les seuils antiépileptiques de la SNr étaient significativement plus bas que ceux des autres structures des GB. Cette spécificité de site est confirmée par des études cliniques (Chabardès et coll., 2002), qui montrent que l'efficacité optimale des stimulations chez les patients épileptiques, était obtenue lorsque les contacts se situaient dans la partie inférieure du NST, près de la SNr. Pour toutes ces raisons nous avons choisi la SNr comme cible préférentielle pour nos stimulations.

### II.3. Système d'enregistrement/stimulation

Nous avons choisi d'utiliser le système BioMEA développé par le CEA-Leti, car ce système était pour nous mieux adapté que les dispositifs commerciaux actuels. En effet, ce système offre la possibilité de faire des enregistrements couplés à des stimulations grâce à un système électronique intégré qui permet l'enregistrement et la stimulation simultanée sur une même électrode, sans perte de signal pendant plusieurs secondes, comme c'est souvent le cas dans les systèmes du commerce. De plus, ce système permet de faire des stimulations multisites indépendantes sur différentes électrodes d'acquisitions. En outre, ce système offre la possibilité de réaliser des stimulations entièrement programmables grâce à des routines Matlab capables de piloter le BioMEA de façon automatique. Ceci nous a permis de développer, chez le rongeur, des protocoles de stimulation asservie à la détection de crises épileptiques. Le BioMEA a aussi la possibilité dans le futur d'être miniaturisé et d'évoluer vers du traitement de signal en temps réel sur circuit programmable. Ce système, initialement développé pour des études in vitro par enregistrement par matrice d'électrodes (Multi Electrode Array ou MEA), nous a permis de développer un partenariat avec le CEA-Leti en tant que testeur in vivo, participant ainsi au développement d'une nouvelle technologie.

### III. Matériels et Méthodes

Dans cette partie sont essentiellement décrits les matériels et méthodes des travaux non publiés. Pour les autres études, le lecteur peut se référer aux matériels et méthodes décrits dans les articles.

#### III.1. Animaux

Toutes les expériences ont été effectuées sur des rats GAERS élevés au laboratoire. Ces animaux ont été maintenus selon un cycle jour/nuit de 12/12h en cages individuelles avec un accès libre à l'eau et à la nourriture. Les procédures expérimentales ainsi que le soin des animaux ont été menés en accord avec les directives européennes du 24 novembre 1986 (86/609/EEC) et approuvés par les services vétérinaires (agrément 380612) ainsi que par le comité d'éthique de notre Institut : le Grenoble Institut des Neurosciences.

#### III.2. Chirurgie stéréotaxique

Les animaux ont été initialement anesthésiés par une injection intra-musculaire de xylozine (4 mg/kg, Rompun 2%, Bayer, France) et de kétamine par voie intrapéritonéale (100 mg/kg, Imalgène 1000, Merial, France). Ils ont été ensuite placés dans un appareil stéréotaxique et leur température maintenue à 37°C grâce à un tapis homéothermique (Harvard Apparatus Ltd, UK) pendant toute la procédure d'implantation. Des électrodes intracérébrales bipolaires, en acier inoxydable formées de deux fils torsadés isolés d'émail (175 µm) et séparées par 400-600 µm, ont été implantées par stéréotaxie dans l'hémisphère gauche au niveau du cortex somatosensoriel primaire (S1) (AP :-2.3 mm; ML :-5 mm; DV :-3 mm par rapport au lambda selon l'atlas de Paxinos et Watson), dans le

thalamus ventrobasal (AP :-3.3 mm; ML :-2.5 mm; DV :-6.8 mm), dans le striatum (AP :-0.2 mm; ML :-3.0 mm; DV :-6.0 mm), et dans la SNr (AP :-4.8 (-5.2) ML:-2.5; DV:-8.6), de façon bilatérale. Deux électrodes supplémentaires (des vis en acier inoxydable) ont été également fixées dans l'os nasal et occipital servant ainsi de référence et/ou de masse. Toutes les électrodes ont été soudées à un connecteur femelle (BLR 1/50Z, Fischer Electronik, Allemagne) fixées au crâne par de la colle (cyanoacrylate) et du ciment dentaire (Paladur, Allemagne). Les animaux ainsi équipés, ont été gardés au repos pendant une semaine, puis utilisés en exploration fonctionnelle dans des protocoles d'enregistrement EEG et/ou stimulation, pour lesquels les animaux étaient libres de se mouvoir.

### III.3. Enregistrements électroencéphalographiques

Les enregistrements EEG ont été effectués sur les animaux libres de se mouvoir dans leur cage de test en plexiglas (30x25x20 cm) à l'aide de différents systèmes d'acquisition.

Dans un premier temps (Article 2), un **système d'acquisition numérique Cambridge Electronic Design** (CED, Cambridge, UK) a été utilisé avec lequel le signal EEG a été préamplifié grâce à un préamplificateur miniature (MPA8I, Multi Channel Système, Reutlingen, Allemagne), filtré à l'aide d'un filtre passe bande analogique de 1 Hz à 90 Hz et stocké sur le disque dur de l'ordinateur à une fréquence d'échantillonnage de 2 kHz.

Dans un deuxième temps, j'ai utilisé le **système d'acquisition Micromed** (Treviso, Italie) (Figure 4A), avec lequel le signal EEG a été échantillonné à 256 Hz, et filtré avec un filtre passe bande de 0.16Hz à 300Hz (Article 3).

Enfin, j'ai utilisé le **système d'acquisition continu BioMEA** (CEA-Leti, Grenoble, France) (Figure 4B) piloté par une interface Matlab avec lequel le signal EEG a été échantillonné à 13 kHz, et un filtre passe bande numérique

entre 1Hz et 300 Hz qui a été implémenté pour permettre d'acquérir les données en ligne à 1.3 kHz avant l'écriture des données sur le disque dur. Les animaux ont été raccordés à ce système d'acquisition par un contacteur tournant (Dragonfly, Plastic One «SL12C 4/00») leurs permettant de se mouvoir librement dans leur cage d'enregistrement, lui même raccordé à un amplificateur ASIC (à gain maximal de +/-750), avec un bruit de 4  $\mu$  VRMS (Article 3 et 4).

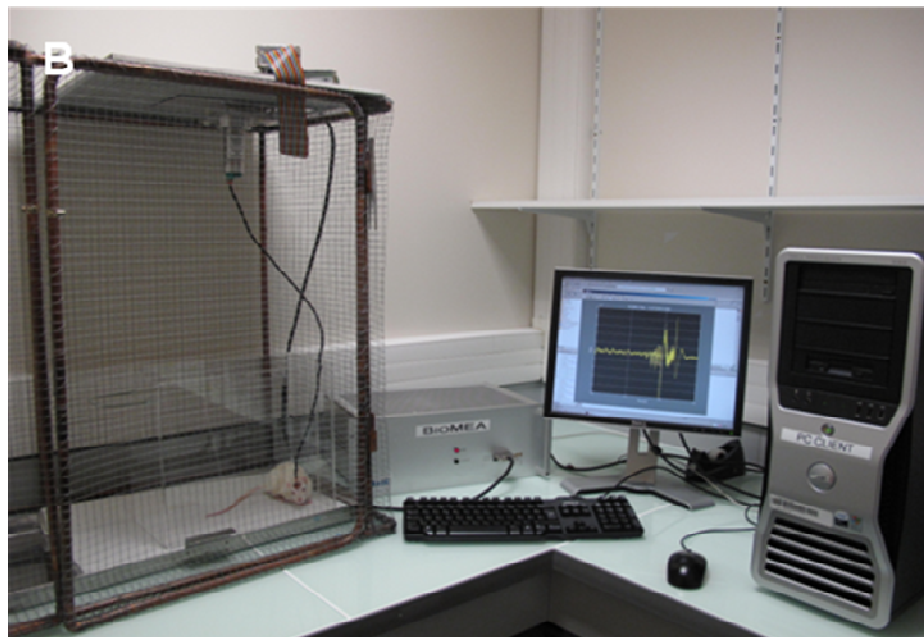
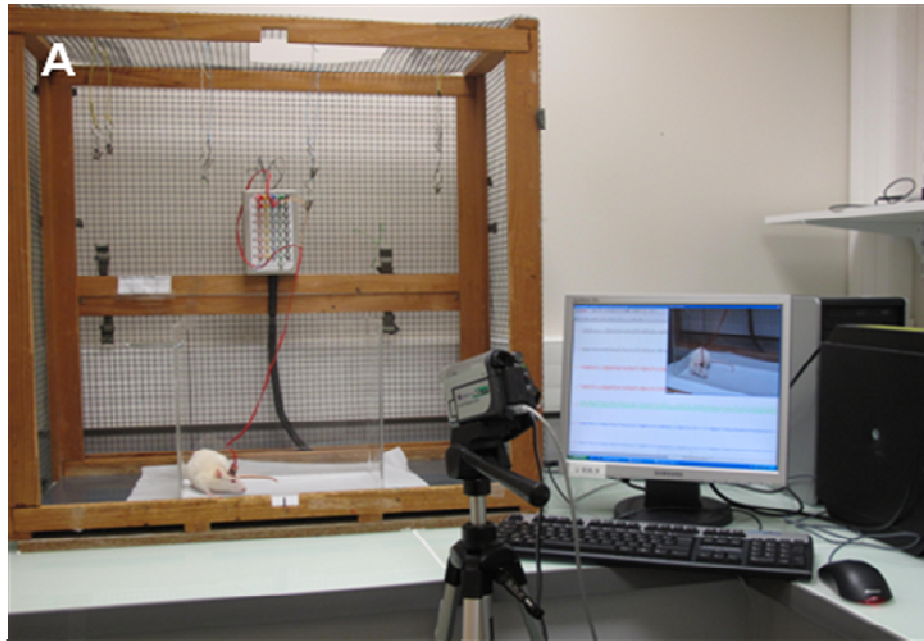


Figure 4 : (A) Photo du système Micromed et (B) photo du système BioMEA.

### III.4. Système de stimulation

Nous avons utilisé le système BioMEA également pour les stimulations et pour cela nous avons dû apporter des changements importants pour l'adapter à nos besoins (voir méthodes dans l'article 3). En particulier, nous avons développé des routines Matlab capables de piloter le BioMEA de façon automatique, établissant ainsi une communication entre Matlab et BioMEA. Ces routines, développées par Olivier David et validées par moi-même, nous ont permis de mettre en œuvre un système de stimulation en boucle fermée (Figure 5), dont les caractéristiques seront détaillées ci-dessous. Toutes les stimulations ont été effectuées à l'aide du système BioMEA, délivrant des courants en créneaux continus.

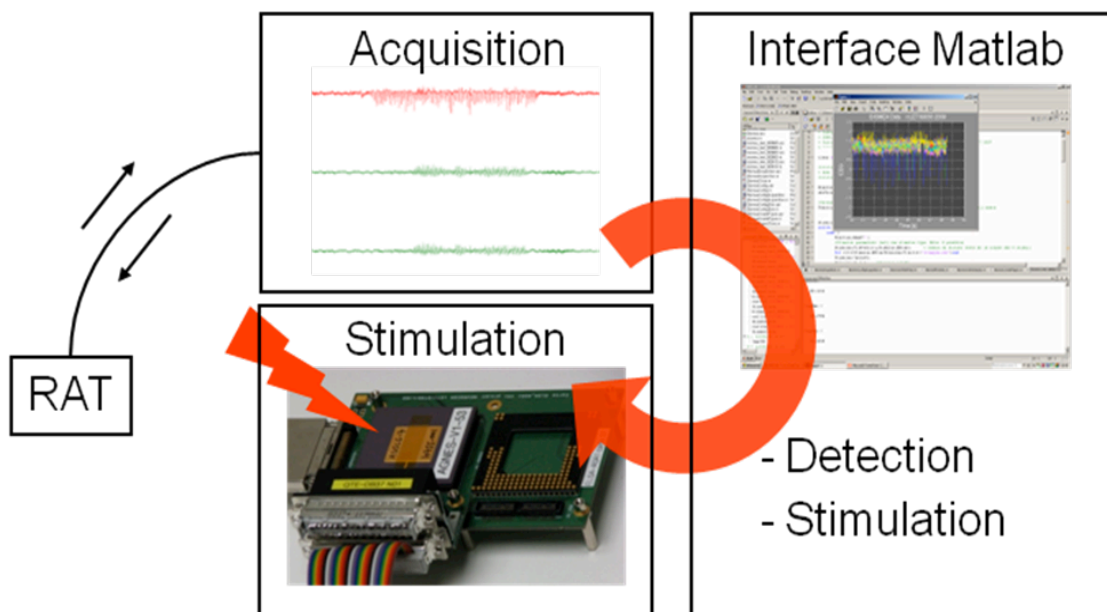


Figure 5 : Principe du système de détection-stimulation BioMEA

#### 4.1. Détermination du seuil antiépileptique

Toutes les stimulations permettant de déterminer le seuil ont été réalisées avec le système de stimulation BioMEA standard avec interface utilisateur, délivrant ainsi les impulsions carrées de courant constant à la demande (boucle ouverte). Après qu'ils aient été habitués à la cage de test pendant 20 minutes, les animaux ont subi une première phase de stimulation bilatérale de la SNr nous permettant de déterminer le seuil antiépileptique (Feddersen et coll., 2007). Ce seuil correspond à l'intensité nécessaire et suffisante à l'interruption d'une crise, définie comme un retour à l'activité EEG de base dans toutes les structures implantées, au cours des 2 sec qui suivent la fin de la stimulation. Les mêmes paramètres de stimulation que ceux déterminés par le travail de Berend Feddersen au laboratoire (Feddersen et coll., 2007) : fréquence = 60 Hz, durée de pulse = 60  $\mu$ sec, durée de stimulation = 2 sec, un délai de 2 sec minimum après le début de la crise ont été utilisés. L'intensité des seuils a été ainsi déterminée par pas croissants de 10 $\mu$ A jusqu'à une intensité maximale de 300 $\mu$ A, en respectant un délai minimum d'une minute entre deux stimulations.

#### 4.2. Traitement en temps réel de la stimulation asservie en boucle fermée

Nous avons mis au point avec Olivier David un algorithme de détection des DPO basé sur la quantification de l'entropie des signaux EEG. Cette approche permet de façon rapide et efficace de mesurer l'asymétrie de distribution des modes ordinaux des signaux (Li et coll., 2007), reflétant ainsi la dynamique non-aléatoire qui caractérise les crises (pour plus de détails voir Article 3). En pratique, une seconde d'enregistrement EEG du cortex somatosensoriel était lue toutes les 600 ms (limite de performance du BioMEA) permettant un calcul pratiquement en temps réel, pour ce qui est de la détection de début de crises, de

l'entropie de permutation ainsi que de la fréquence instantanée. La stimulation bilatérale de la SNr était alors déclenchée si et seulement si : (1) l'inverse de l'entropie de permutation dépassait un seuil donné préalablement déterminé pour chaque animal, et (2) la fréquence instantanée des signaux EEG était caractéristique des DPO, c'est-à-dire entre 6 et 11 Hz. Il est important de noter que l'entropie de permutation est insensible à l'amplitude des signaux EEG conférant ainsi à notre système de détection une grande robustesse face aux artéfacts de mouvements qui sont fréquents lors d'enregistrements où l'animal est libre de se déplacer. Cette méthodologie a toutefois montré des limites lors de la distinction entre les crises et les activités de sommeil (oscillations amples et lentes), caractéristique importante pour les enregistrements de longue durée.

#### 4.3. Détermination de la période réfractaire

Dans un second temps, nous avons déterminé la valeur de la période réfractaire, c'est à dire la période qui suit une première stimulation pendant laquelle une nouvelle stimulation a une efficacité moindre, voire nulle (Feddersen et coll., 2007). Pour déterminer ce paramètre, les animaux entraient dans un protocole où l'intervalle était de 5, 20, 40, et 60 sec (1) entre deux stimulations électriques (fréquence = 60 Hz, durée de pulse = 60  $\mu$ sec, durée de stimulation = 2 sec) ou (2) auditives (durée de 2 sec, pendant une heure de stimulation asservie à la détection des crises).

Pour s'assurer que l'arrêt des crises était bien spécifique de la stimulation électrique, les animaux ont ensuite subi deux protocoles de contrôle : (1) Un premier protocole d'une heure de stimulation asservie Sham (avec une intensité de 0 $\mu$ A. (2) Un second protocole également d'une heure de stimulation asservie à une stimulation sonore comprise entre 74.3 et 92.1dBZ pendant 2 sec. Chez



certaines animaux, ces deux protocoles ont également été réalisés pendant des périodes de 5 h.

#### 4.4. Robustesse de la stimulation asservie

Une fois les seuils déterminés, quelques rats (n=8) entraient dans une deuxième phase de stimulation nous permettant de vérifier l'efficacité et la robustesse sur le long terme de la stimulation asservie en boucle fermée pendant des périodes de 1 h, 5 h, 12 h et 24 h d'enregistrement.

### III.5. Histologie

A la fin des expériences les animaux ont été sacrifiés par une dose létale de pentobarbital en injection intrapéritonéale (60 mg/kg, Doléthal, Centravet, France). Leur cerveau a été alors prélevé et congelé par immersion dans de l'isopentane à une température de -30 °C. Des sections coronales de 25 µm d'épaisseur ont été ensuite collectées à l'aide d'un cryostat et colorées au violet de Crésyl pour une localisation de sites d'implantation des électrodes en référence à l'atlas de Paxinos (Paxinos et Watson, 2001). Seuls les animaux présentant une localisation correcte des électrodes ont été retenus pour les analyses.

### III.6. Analyses et statistiques

Pour le suivi de la stabilité des crises chez le GAERS, les valeurs ont été exprimées : en pourcentage de crises interrompues par période d'une heure pour toutes les expériences de détermination de la période réfractaire. Pour les expériences de stimulation asservie d'1 et 5 heures, en nombre de crises totales, nombre de crises stimulées, nombre de crises non stimulées, en pourcentage de

crises interrompues et en erreur standard à la moyenne par période de 20 minutes, et enfin en nombre de crises totales, nombre de crises stimulées, nombre de crises non stimulées, en pourcentage de crises interrompues et en erreur standard par périodes de 3 heures pour les expériences de stimulation sur 12 et 24 heures. Les données obtenues pour les expériences de stimulations d'une et cinq heures et pour les expériences de détermination de la période réfractaire ont été comparées en utilisant des analyses de variances multiples. Les données obtenues pour les expériences de quantification de l'efficacité de la détection des crises ont été comparées en utilisant des analyses non paramétriques test de Friedman et de Mann-Whitney.

## IV. Résultats

### IV.1 Identification du réseau impliqué dans l'épilepsie et caractérisation du réseau - Article 2-

#### **Article 2 :**

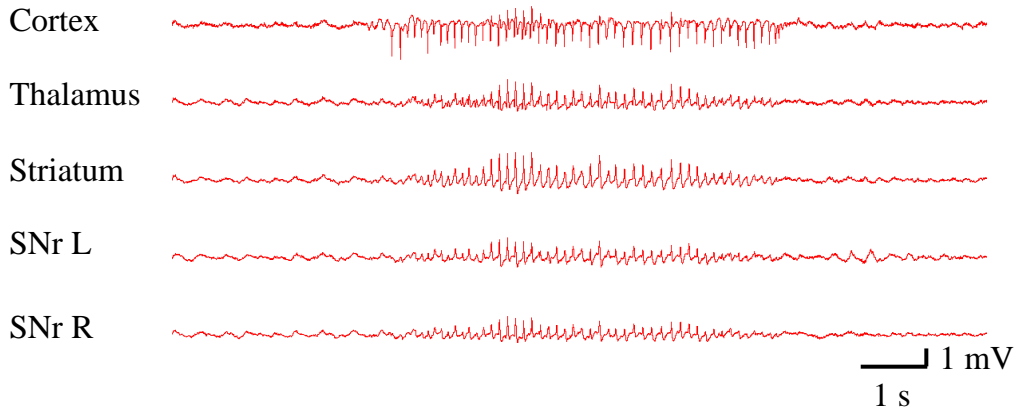
Le but de cet article était d'évaluer la connectivité fonctionnelle de différentes régions cérébrales, chez le modèle génétique d'épilepsie d'absence du rat GAERS en utilisant des enregistrements IRMf couplés à l'EEG et des enregistrements EEG avec des électrodes profondes localisées dans les structures d'intérêt. Ma participation à ce travail a porté sur les enregistrements EEG simultanés de différentes structures cérébrales telles que le cortex somatosensoriel, les noyaux ventrobasaux du thalamus, le striatum et la SNr, permettant de fournir une validation électrophysiologique du choix du modèle utilisé dans l'article.

Nous avons utilisé deux approches complémentaires : l'une nous permettant une caractérisation simple des retards de propagation, et l'autre nous permettant l'identification d'un modèle de connectivité du réseau à partir des signaux IRMf.

Cette étude a permis dans un premier temps, d'obtenir une identification par IRMf des réseaux impliqués lors de la survenue d'une DPO et dans un deuxième temps, de confirmer et de compléter les enregistrements IRMf couplés à l'EEG par des enregistrements intracellulaires simultanés. Ces derniers confirment que le cortex somatosensoriel, dans la région (S1BF) est l'initiateur (driver) neuronal de structures telles que le cortex moteur, le thalamus et le striatum pendant les DPOs.

Ce travail a également permis pour mon projet de thèse de mieux comprendre comment le système des GB interagissait avec les structures génératrices pendant les crises d'épilepsies. En outre, il a permis de valider un schéma d'implantation d'électrodes qui a ensuite été utilisé tout au long de mon étude, me permettant ainsi de faire des enregistrements dans le cortex somatosensoriel, le thalamus ventrobasal, le striatum et la SNr dans le but de mettre en place et de valider un système de stimulation asservie à la détection des crises (voir article 3). Enfin, des analyses temps fréquence supplémentaires confirment que la SNr a une activité modifiée en fin de crise. Ceci indique que la SNr pourrait jouer un rôle dans l'arrêt des crises, caractérisé par l'arrêt de synchronisation des DPO dans cette structure quelques secondes avant la fin des DPO corticales (Figure 6A et B).

**A .**



**B .**

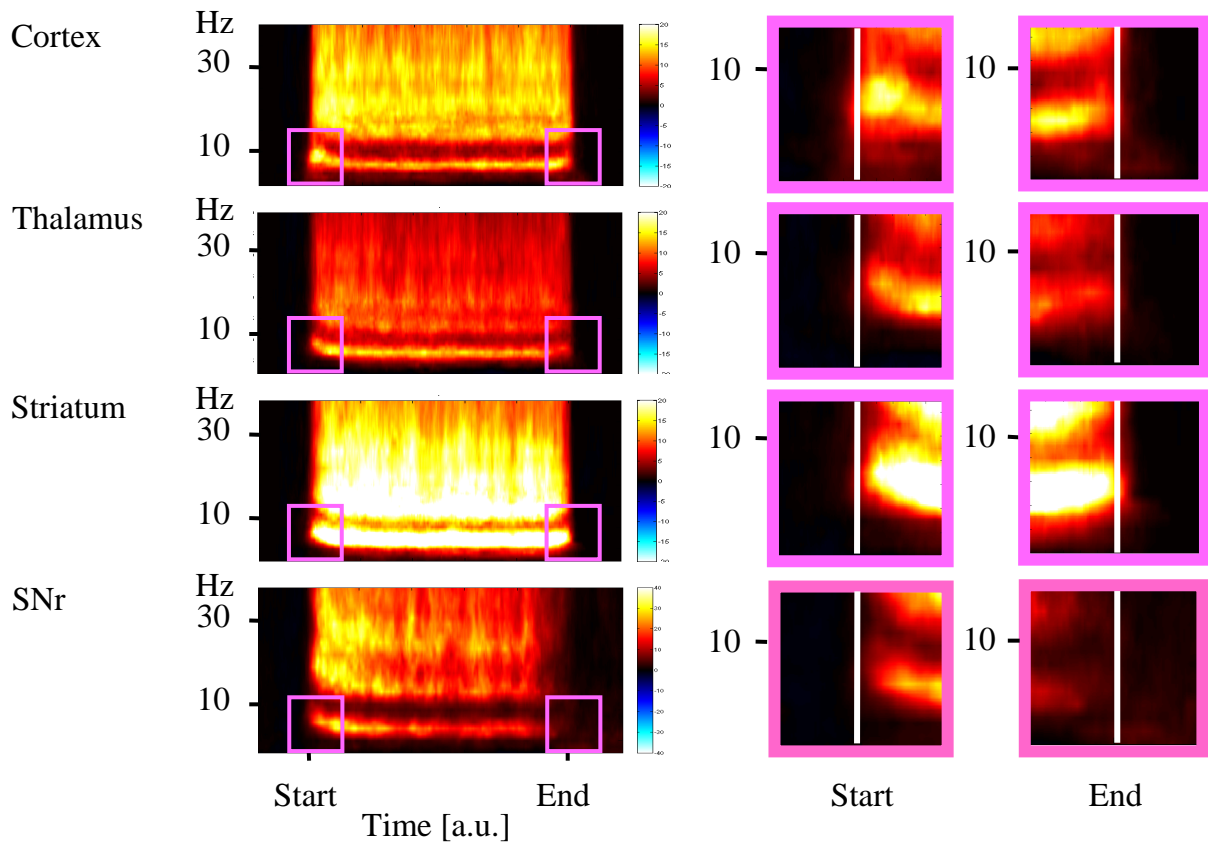


Figure 6 : (A) Exemple d'une crise dans le cortex somatosensoriel, le thalamus, le striatum et la SNr lors d'enregistrements simultanés intracerebraux, (B) analyses T-F des DPOs moyennés et normalisés dans ces différentes structures (81 crises chez n=4 rats).

Article 2

Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological  
validation

David O, Guillemain I, Sallet S, Reyt S, Deransart C, Segebarth C, Depaulis

A

*PLoS Biol.* (2008) 6:2683-2697

# Identifying Neural Drivers with Functional MRI: An Electrophysiological Validation

Olivier David<sup>1,2\*</sup>, Isabelle Guillemain<sup>1,2</sup>, Sandrine Saille<sup>1,2</sup>, Sebastien Reyt<sup>1,2</sup>, Colin Deransart<sup>1,2</sup>, Christoph Segebarth<sup>1,2</sup>, Antoine Depaulis<sup>1,2</sup>

**1** INSERM, U836, Grenoble Institut des Neurosciences, Grenoble, France, **2** Université Joseph Fourier, Grenoble, France

**Whether functional magnetic resonance imaging (fMRI) allows the identification of neural drivers remains an open question of particular importance to refine physiological and neuropsychological models of the brain, and/or to understand neurophysiopathology. Here, in a rat model of absence epilepsy showing spontaneous spike-and-wave discharges originating from the first somatosensory cortex (S1BF), we performed simultaneous electroencephalographic (EEG) and fMRI measurements, and subsequent intracerebral EEG (iEEG) recordings in regions strongly activated in fMRI (S1BF, thalamus, and striatum). fMRI connectivity was determined from fMRI time series directly and from hidden state variables using a measure of Granger causality and Dynamic Causal Modelling that relates synaptic activity to fMRI. fMRI connectivity was compared to directed functional coupling estimated from iEEG using asymmetry in generalised synchronisation metrics. The neural driver of spike-and-wave discharges was estimated in S1BF from iEEG, and from fMRI only when hemodynamic effects were explicitly removed. Functional connectivity analysis applied directly on fMRI signals failed because hemodynamics varied between regions, rendering temporal precedence irrelevant. This paper provides the first experimental substantiation of the theoretical possibility to improve interregional coupling estimation from hidden neural states of fMRI. As such, it has important implications for future studies on brain connectivity using functional neuroimaging.**

Citation: David O, Guillemain I, Saille S, Reyt S, Deransart C, et al. (2008) Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological validation. *PLoS Biol* 6(12): e315. doi:10.1371/journal.pbio.0060315

## Introduction

Distinguishing efferent from afferent connections in distributed networks is critical to construct formal theories of brain function [1]. In cognitive neuroscience, the distinction between forward and backward connections is essential in network models [2,3]. This is also important when describing how information is exchanged between different brain systems [4] and how neural coding is embedded in biological networks [5]. Such hierarchical structure is biologically grounded in the asymmetry of connections between neuronal ensembles, as suggested by computational neuroanatomy studies [6–9]. In clinical neuroscience, distinguishing neural drivers (i.e., the source of driving or forward connections in the brain—usually from deep pyramidal cells) from other brain regions is essential when trying to identify structures involved in the origin or in the control of pathological activities. Epileptic seizures are illuminating in that sense. They are characterised by paroxysmal activities which, in the case of focal seizures, originate from the “epileptic focus”, i.e., a neural network restricted to a particular cortical structure, and eventually spread to other structures of the brain [10]. The epileptic focus can thus be interpreted as a neural driver of the pathological activity.

In relation to the existence of distributed networks, theories of brain function have recently promoted the concept of functional integration [11]. Functional integration specifies that brain functions are mediated by transient changes of interactions between certain brain regions, instantiated either by autonomous mechanisms (dynamical systems operating at the limit of stability) or by the action of neural drivers reinforced by the experimental context. In

integrated neuroscience, these formal ideas have initiated a search for neural networks using sophisticated signal analysis techniques to estimate the connectivity between distant regions [4,12–18]. At the brain level, connectivity analyses were initiated in electrophysiology (electroencephalography [EEG] and magnetoencephalography [MEG]) because electrical brain signals have an excellent temporal resolution that makes them particularly amenable to such analyses. Connectivity measures in EEG and MEG [13,16] rely on the estimation of metrics of interaction that are more or less related to the notion of temporal precedence (because of propagation and synaptic delays) of the activity in the driving structure with respect to that in the driven ones.

Despite their attractive neurodynamical features, EEG and MEG studies in healthy subjects are limited by their poor spatial resolution. Functional magnetic resonance imaging (fMRI), in contrast, exhibits excellent spatial resolution and has become the method of choice for mapping brain functions. During neuronal activation, fMRI is sensitive

**Academic Editor:** Pedro Valdes-Sosa, Cuban Neuroscience Center, Cuba

**Received:** July 9, 2008; **Accepted:** November 5, 2008; **Published:** December 23, 2008

**Copyright:** © 2008 David et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Abbreviations:** CBF, cerebral blood flow; CBV, cerebral blood volume; DCM, Dynamic Causal Modelling; EEG, electroencephalography; fMRI, functional magnetic resonance imaging; FWE, Familywise Error; HRF, hemodynamic response function; iEEG, intracerebral EEG; MEG, magnetoencephalography; ROI, region of interest; S1BF, barrel field of the primary somatosensory cortex; SWD, spike-and-wave discharge

\* To whom correspondence should be addressed. E-mail: odavid@ujf-grenoble.fr

## Author Summary

Our understanding of how the brain works relies on the development of neuropsychological models, which describe how brain activity is coordinated among different regions during the execution of a given task. Knowing the directionality of information transfer between connected regions, and in particular distinguishing neural drivers, or the source of forward connections in the brain, from other brain regions, is critical to refine models of the brain. However, whether functional magnetic resonance imaging (fMRI), the most common technique for imaging brain function, allows one to identify neural drivers remains an open question. Here, we used a rat model of absence epilepsy, a form of nonconvulsive epilepsy that occurs during childhood in humans, showing spontaneous spike-and-wave discharges (nonconvulsive seizures) originating from the first somatosensory cortex, to validate several functional connectivity measures derived from fMRI. Standard techniques estimating interactions directly from fMRI data failed because blood flow dynamics varied between regions. However, we were able to identify the neural driver of spike-and-wave discharges when hemodynamic effects were explicitly removed using appropriate modelling. This study thus provides the first experimental substantiation of the theoretical possibility to improve interregional coupling estimation from hidden neural states of fMRI. As such, it has important implications for future studies on connectivity in the functional neuroimaging literature.

mainly to changes of local perfusion and oxygen uptake by neurones [19]. fMRI therefore provides an indirect measure of neuronal activity. The dynamical properties of the technique highly depend on the neurovascular coupling that relates vascular changes to neural activity [20–22]. However, this physiological limitation, which compromises the temporal resolution ( $\sim 2$  s) of metabolic neuroimaging techniques, has not prevented careful analyses of connectivity using fMRI. Connectivity measurements with fMRI quantify either *functional* connectivity, i.e., the correlation of fMRI time series between different regions [23–25], or *effective* connectivity, i.e., coupling parameters in generative models of fMRI time series [14,15,26]. Although numerous fMRI studies have shown exciting results about brain connectivity, it remains uncertain whether fMRI can be used to identify neural drivers. This is what we propose to evaluate here, in a genetic animal model of absence epilepsy using intracerebral EEG and simultaneous EEG/fMRI recordings.

We use the Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS) [27]. This animal model has been validated in terms of isomorphism, homology, and pharmacological predictability to be reminiscent of typical absence epilepsy, a form of generalised nonconvulsive epilepsy occurring during childhood in humans [28]. GAERS result from genetic selection of Wistar rats over 80 generations. Animals show spontaneous spike-and-wave discharges (SWDs) associated with behavioural arrest and slight perioral automatisms. These nonconvulsive seizures last 20 s on average and are repeated every minute when the rat is at rest. Intracerebral EEG recordings have shown that the frontoparietal cortex and ventrolateral nuclei of the thalamus play an important role in the generation and/or maintenance of these seizures [27,29]. Using local field potential and intracellular recordings, we have shown recently that SWDs originate from the perioral region of the first somatosensory cortex [30]. A similar

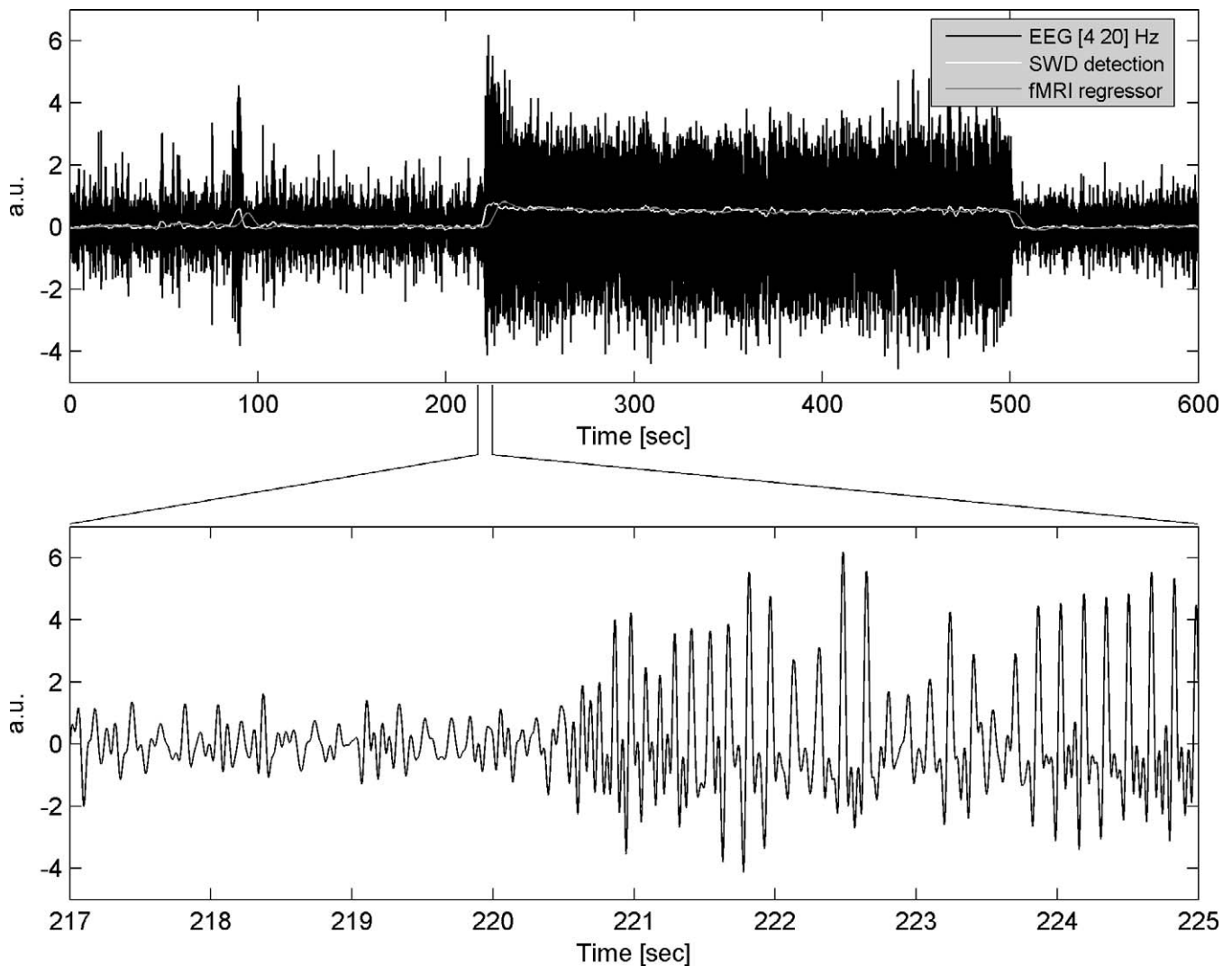
finding had earlier been obtained in another genetic model of absence epilepsy [31,32].

We assess in this study whether fMRI can show evidence of the first somatosensory cortex being a neuronal driver during SWDs. We provide a comparative evaluation of vector regression models (Granger causality) [33] and Dynamic Causal Modelling (DCM) [14]. A key distinction between these models is that Granger causality tests for statistical dependencies among observed (time-lagged) physiological responses, irrespective of how they are caused. In contrast, dynamic causal models represent hidden states that cause the observed data and are therefore causal models in a true sense. If the mapping between the hidden brain states and observed responses is not causal, Granger causality estimated directly from fMRI time series can be very misleading. An example of a noncausal mapping is regional variations in the hemodynamic response function (HRF) that delay hemodynamic responses in fMRI, relative to their hidden neuronal causes (see Protocol S1 for further explanation). Minimising the blurring effects of hemodynamic variability using explicit [34] or implicit (such as in DCM [14]) deconvolution techniques is thus the key aspect of any functional connectivity analysis using fMRI. This paper provides the first, to our knowledge, experimental substantiation of the theoretical possibility to estimate, in fMRI, functional connectivity from hidden neural variables and therefore demonstrates the *raison d'être* for DCM and other deconvolution techniques.

## Results

Our data analysis involved three distinct components. First, we characterised the hemodynamic response to seizure activity using conventional statistical parametric mapping to identify regionally specific responses. To motivate subsequent analyses of coupling, we then characterised the regional variations in the hemodynamic responses by optimising the parameters of a hemodynamic model for different regions of interest (ROIs) separately. The second component of our analyses comprised a comparative evaluation of Granger causality, before and after deconvolution of hemodynamics, and DCM using key regions identified by the whole brain analyses above. We assessed the significance of directed functional connectivity estimated from the Granger causality measure using surrogate data that removed local time dependencies between regions. To address the equivalent issue with DCM, we used Bayesian model comparison. This entailed comparing a set of models with different directed connections and identifying the model with the largest evidence. The third set of analyses provided an experimental validation of the model selection by analysing directed coupling using intracerebral EEG (iEEG) from the same regions. We used two complementary approaches for cross-validation. First, a simple characterisation of propagation delays, using event-related responses (time-locked to SWDs), enabled us to examine the latency of propagation on a millisecond by millisecond level and establish the direction of connections through temporal precedence. Second, in a series of more elaborate analyses, we used asymmetries in directed generalised synchrony. Using these invasive electrophysiological data, we were able to identify a network model that served as a reference to validate fMRI connectivity analyses.





**Figure 1.** EEG Preprocessing

Upper panel: black (“EEG [4 20 Hz]”): 15 min of EEG recordings (band-pass filtered between 4 and 20 Hz) during EPI acquisition obtained in one rat. White (“SWD detection”): EEG power in the 4–20 Hz range (shifted to zero in between SWDs). Grey (“fMRI regressor”): previous EEG power convolved with a canonical HRF. Lower panel: short time window showing the EEG at seizure onset.  
doi:10.1371/journal.pbio.0060315.g001

### EEG Preprocessing

EEG recorded during fMRI was of sufficient quality to easily visualise periods of SWDs (Figure 1). Quantification of SWDs was performed by extracting EEG power between 4 and 20 Hz. On average, SWDs showed an increase of power by a factor 2.34 as compared to interictal activity, which corresponded to 2.57 times the standard deviation of interictal power. fMRI regressors were obtained by convolving such EEG power with a canonical HRF [34]. Note that this convolution smoothes and introduces a delay in the SWD time series on the order of several seconds (corresponding approximately to the time to peak of the HRF). fMRI regressors were used to construct statistical parametric maps (SPMs) of regional effects in cerebral blood volume (CBV) related to the occurrence of SWDs.

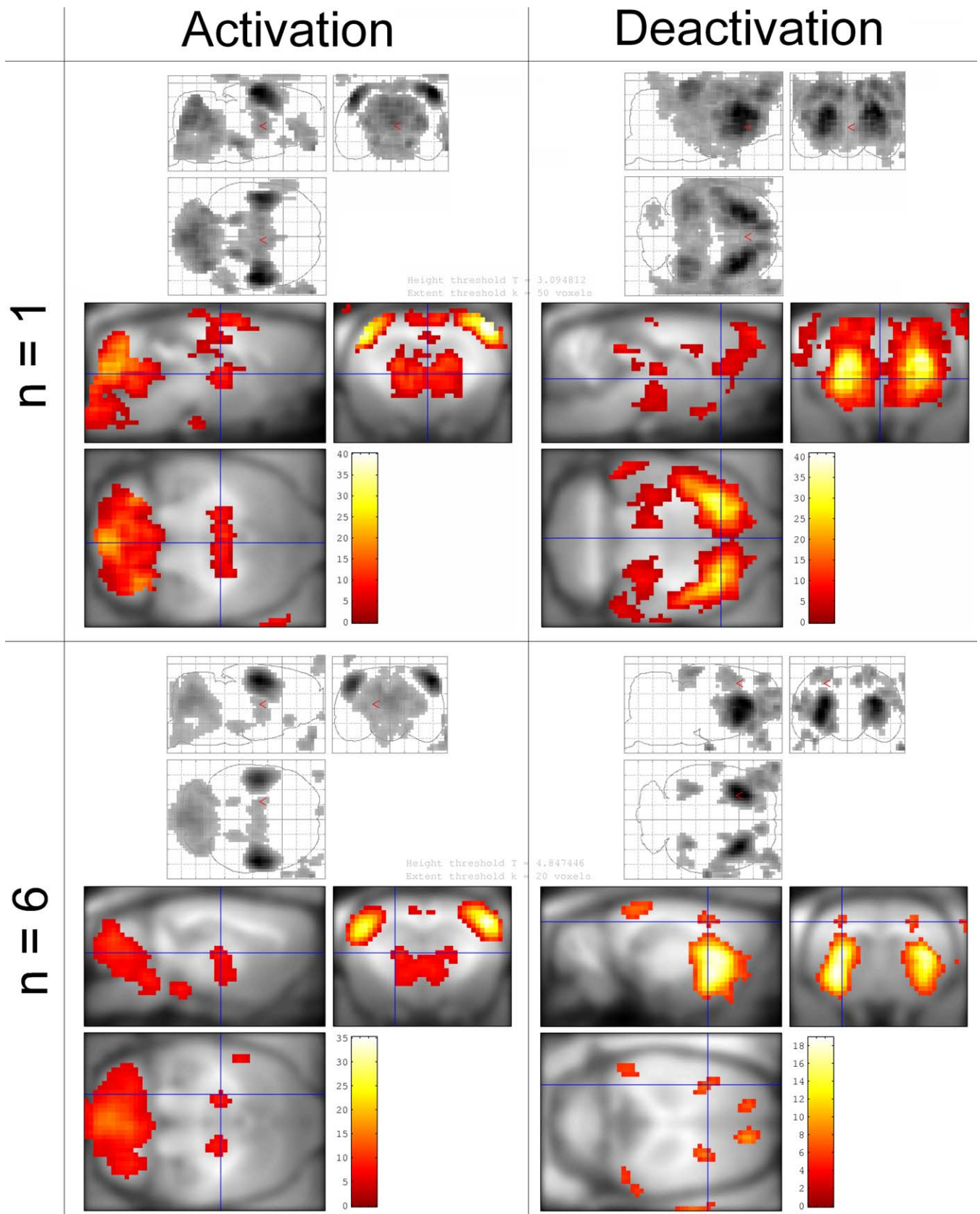
### Networks Activated during SWDs

Highly significant and reproducible seizure-related activations (CBV increases) and deactivations (CBV decreases) were

found at the animal level ( $p < 0.001$ , Familywise Error [FWE] corrected) and at the group level ( $n = 6$ ,  $p < 0.05$ , FWE corrected) (Figure 2 and Table 1). At the group level, activations were found in the barrel field of the primary somatosensory cortex (S1BF), the centromedial, mediodorsal, and ventrolateral parts of the thalamus (CM/MDL/MDC/CL/PC/VL/Po), the retrosplenial cortex (RSA/RSGb), and the reticular part of the substantia nigra (SNR). These structures are known to be involved in the generation or control of absence seizures. The cerebellum and nuclei of the pons (Mo5) and of the medulla oblongata (MdV) were also found activated. In addition, several areas were found deactivated, such as the striatum (CPu), the limb representation of the primary somatosensory cortex (S1HL/S1FL), the visual cortex (V1M/V1B/V2L), and the secondary motor cortex (M2).

### Hemodynamic Response Functions

The HRF was found to last significantly longer in S1BF than in other ROIs (Figure 3A). A similar effect was observed in the



**Figure 2.** Maps of SWD-Related Changes in CBV

Left: activation = increase of CBV; right: deactivation = decrease of CBV. Top: typical example of activation/deactivation pattern obtained for a single animal ( $n = 1$ ,  $p < 0.001$ , FWE corrected). Bottom: activation/deactivation pattern of the group of animals ( $n = 6$ , fixed effect analysis,  $p < 0.05$ , FWE corrected). Structures activated at the group level are listed in Table 1. doi:10.1371/journal.pbio.0060315.g002

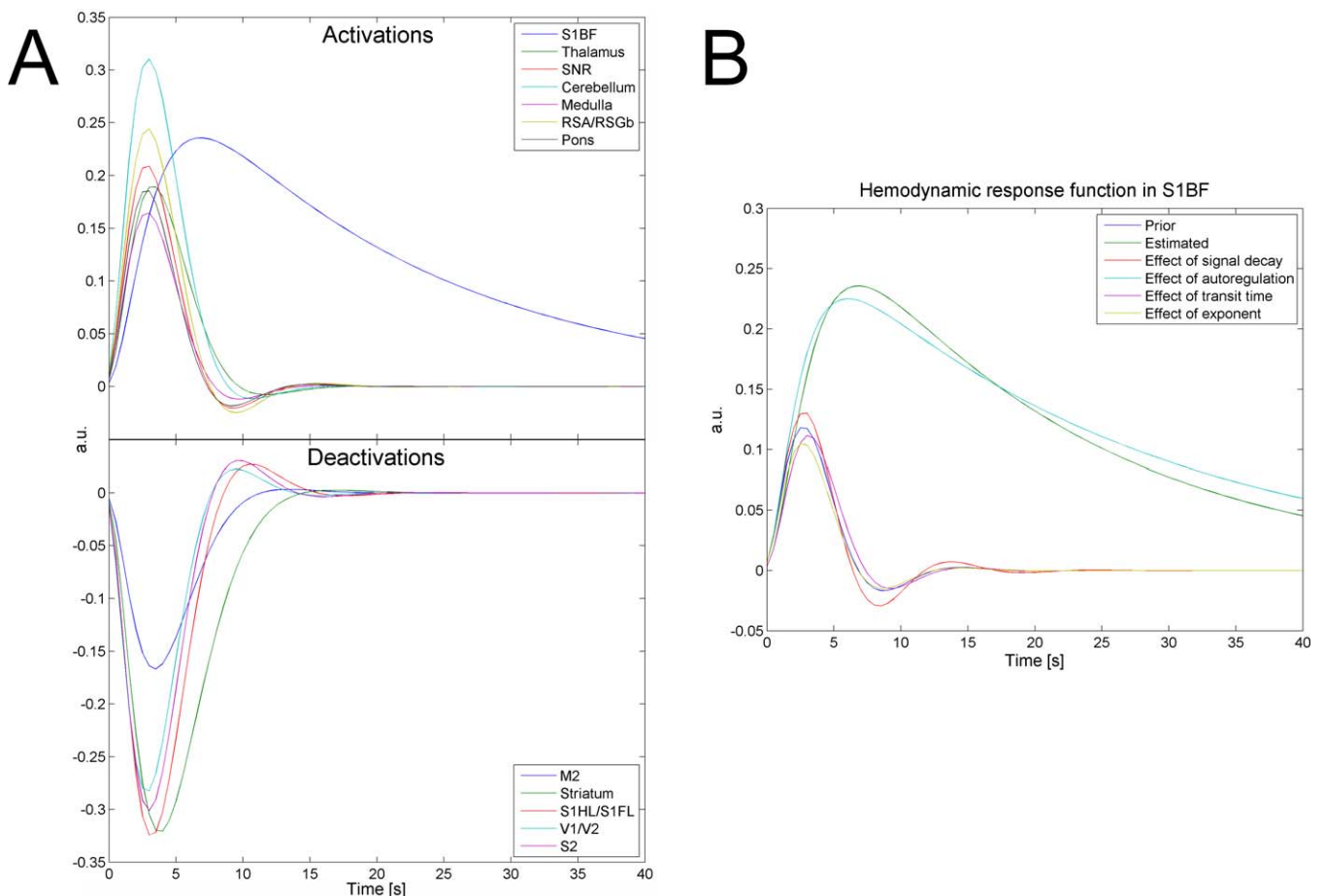
**Table 1.** List of Activated and Deactivated Structures during SWDs

CBV Changes	Structures	Abbreviations	Coordinates		
			D-V	M-L	A-P
<b>Activations</b>	Primary somatosensory cortex, barrel field	S1BF	-3.2	± 5.4	-2.6
	Thalamus, centromedial, mediodorsal and ventrolateral parts	CM/MDL/MDC/CL/PC/VL/Po	-3.2	± 0.8	-6.7
	Substantia nigra, reticular part	SNR	-6.5	± 2.3	-8.7
	Cerebellum		-12.9	0	-5.1
	Medulla oblongata (reticular formation)	MdV	-13.8	0	-9.6
	Retrosplenial cortex, barrel field	RSA/RSGb	-3.9	± 1.0	-1.4
	Pons (motor trigeminal nucleus)	Mo5	-9.7	± 2.2	-8.3
<b>Deactivations</b>	Secondary motor cortex	M2	2.8	± 1.5	-2.5
	Striatum	CPu	0.3	± 3.4	-6.0
	Primary somatosensory cortex, limb region	S1HL/S1FL	-1.0	± 2.8	-2.1
	Visual cortex	V1M/V1B/V2L	-7.1	± 4.0	-1.5
	Secondary somatosensory cortex	S2	-2.6	± 6.5	-5.4

See Figure 2. Coordinates indicate the centre of clusters, in the atlas of Paxinos and Watson referenced to bregma [62]. Abbreviations are those used in the atlas of Paxinos and Watson [62]. Statistical analysis:  $n = 6$ , fixed effect analysis,  $p < 0.05$ , FWE corrected.

A-P: anteroposterior; D-V: dorsoventral; M-L: mediolateral.

doi:10.1371/journal.pbio.0060315.t001

**Figure 3.** Hemodynamic Response Functions of (De)activated Structures during SWDs

(A) Hemodynamics of activated and deactivated structures during SWDs. HRFs for the different ROIs were generated using the median value (see Table 2) of parameters of a truncated hemodynamic model (see Equation 1) adjusted to the ROI time series.

(B) From prior values (in blue) of hemodynamic parameters (see Table 2), the effect of each parameter to explain the behaviour of the HRF in S1BF (in green) was evaluated by changing the parameters to their value estimated in S1BF, one at a time. The abnormally slow hemodynamics in S1BF is primarily explained by the strong decrease in the autoregulation constant of the CBF on the vasodilatation (in cyan).

doi:10.1371/journal.pbio.0060315.g003

**Table 2.** Hemodynamic Parameters Corresponding to the HRF Time Series Shown in Figure 3

CBV Changes	Region of Interest	Signal Decay $\kappa$	Autoregulation $\gamma$	Transit Time $\tau$	Exponent $\alpha$
<b>Prior values</b>		0.65	0.41	0.98	0.32
<b>Activations</b>	S1BF	0.52	0.03	2.24	0.28
	Thalamus	0.77 (0.0025)	0.31 (0.0002)	1.72 (0.0032)	0.33 (0.0004)
	SNR	0.72 (0.0072)	0.40 (0.0001)	1.16 (0.0001)	0.32 (0.0002)
	Cerebellum	0.86 (0.0021)	0.38 (0.0003)	1.42 (0.0005)	0.34 (0.0005)
	Medulla	0.77 (0.0019)	0.38 (0.0001)	1.21 (0.0001)	0.33 (0.0002)
	RSA/RSGb	0.69 (0.0356)	0.38 (0.0008)	1.18 (0.0008)	0.32 (0.0022)
	Pons	0.72 (0.0090)	0.41 (0.0001)	1.16 (0.0001)	0.32 (0.0003)
<b>Deactivations</b>	M2	0.80 (0.0124)	0.27 (0.0032)	1.91 (0.1560)	0.32 (0.0017)
	Striatum	0.75 (0.0051)	0.21 (0.0013)	2.09 (0.2627)	0.31 (0.0010)
	S1HL/S1FL	0.67 (0.2959)	0.31 (0.0004)	1.44 (0.0036)	0.31 (0.0090)
	V1/V2	0.76 (0.0043)	0.40 (0.0002)	1.10 (0.0003)	0.32 (0.0001)
	S2	0.68 (0.1169)	0.36 (0.0001)	1.28 (0.0002)	0.32 (0.0006)

Values between brackets indicate the uncorrected  $p$ -value derived from a matched-paired Wilcoxon test between S1BF and other ROIs. For more information, see Equation 1. doi:10.1371/journal.pbio.0060315.t002

striatum, to a much lesser extent. These HRFs are kernels of a hemodynamic model, the parameters of which were estimated for every fMRI session. The estimated distribution of hemodynamic parameters in S1BF was found to be significantly different from one of the other ROIs in almost all possible pairs tested (Wilcoxon test,  $p < 0.01$  uncorrected; see Table 2). To determine which parameter underlies predominantly the slowness of the HRF in S1BF, we generated different HRFs using prior values of the hemodynamic parameters, with the exception of one parameter, which was set to the value estimated in S1BF (Figure 3B). This allowed us to conclude that the strong decrease of the autoregulation constant  $\gamma$ , instantiating a stable feedback of changes in cerebral blood flow (CBF) on vasodilatory effects (see Equation 1), is the main cause of the pathological hemodynamics observed.

These results show a large heterogeneity of HRF waveforms, in particular in S1BF and in the striatum, which has a significant impact on the estimation of connectivity. Estimation of temporal precedence, or of information transfer, and prediction between time series will be affected much by the variability in time to peak of the HRFs. Therefore, these results call for cautious interpretation of causality results directly obtained from hemodynamic measures (see Protocol S1 for a conceptual schematic).

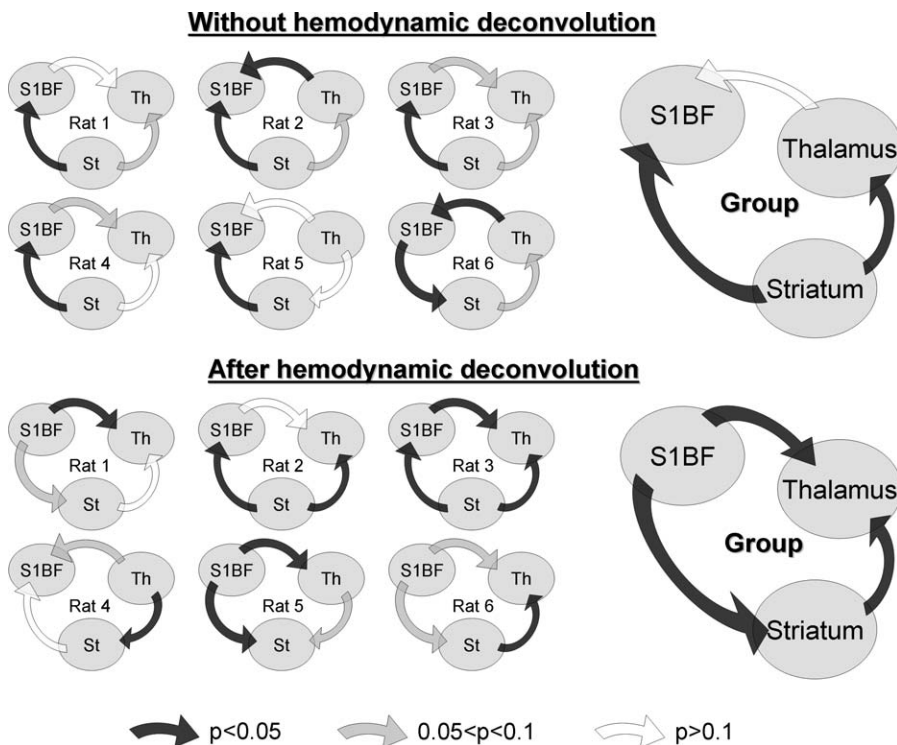
### fMRI Connectivity

**Granger causality analyses.** The oriented networks estimated using the linear measure of Granger causality applied to CBV-weighted signals directly and to state variables obtained after deconvolution of hemodynamics are shown in Figure 4. At the animal level, significant direction of information transfer is not detected for each connection, and a certain degree of variability is observed between animals. Results at the group level are more significant and easier to interpret. They show a clear distinction between the networks that are estimated without and after deconvolution of hemodynamics. Indeed, direct analysis of fMRI time series leads to the estimation of the striatum as being the driver of the network: significant ( $p < 0.05$ ) driving effects were found from the striatum onto the S1BF ( $F_{\text{Striatum} \rightarrow \text{S1BF}} - F_{\text{S1BF} \rightarrow \text{Striatum}} = 0.047$ ,  $p < 0.001$ ) and onto the thalamus ( $F_{\text{Striatum} \rightarrow \text{Thalamus}} -$

$F_{\text{Thalamus} \rightarrow \text{Striatum}} = 0.011$ ,  $p = 0.023$ ). The interaction between S1BF and thalamus did not show any consistent direction of information transfer ( $F_{\text{Thalamus} \rightarrow \text{S1BF}} - F_{\text{S1BF} \rightarrow \text{Thalamus}} = 0.000$ ,  $p < 0.471$ ). In contrast, after deconvolution of hemodynamics, the Granger causality estimated from hidden neural states concludes that S1BF is the neural driver:  $F_{\text{S1BF} \rightarrow \text{Striatum}} - F_{\text{Striatum} \rightarrow \text{S1BF}} = 0.017$ ,  $p = 0.038$ ;  $F_{\text{S1BF} \rightarrow \text{Thalamus}} - F_{\text{Thalamus} \rightarrow \text{S1BF}} = 0.032$ ,  $p = 0.002$ ; and  $F_{\text{Striatum} \rightarrow \text{Thalamus}} - F_{\text{Thalamus} \rightarrow \text{Striatum}} = 0.010$ ,  $p = 0.046$ .

To sum up, Granger causality at the group level disclosed the predicted architecture in which S1BF drove the other regions, only when applied to hidden neural states. This result clearly demonstrates the important confounding role of hemodynamic variability in functional networks estimated directly from fMRI time series.

**Dynamic Causal Modelling.** Connectivity estimated at the neuronal level (with a conjoint deconvolution of the hemodynamic effects) by DCM revealed the driving role of the first somatosensory cortex S1BF, as may be concluded by comparing the model evidences, at the group level, of the different classes of models tested (Figure 5B, top). This finding was remarkably consistent between animals (Figure 5B, bottom; in Rat 3, however, the most likely model indicated the striatum as the neural driver, but this finding did not survive averaging over model classes). For the most likely model (S1BF driver, model 3, see Figure 5B), Figure 5C shows neuronal and hemodynamic kernels estimated at the group level for each region. Kernels were obtained using the median value of the distribution of model parameters estimated for each session [14]. In agreement with the architecture of the model, neuronal responses of S1BF (in blue) preceded those of the striatum (in red) and of the thalamus (in green). The delay between S1BF and the other regions at half the magnitude of neuronal kernels was about 1.5 s. This value corresponds to the delay observed in intracerebral EEG between first EEG changes in S1BF and the ensuing spread of SWDs to other regions [30]. Interestingly, DCM was able to estimate HRF heterogeneity among regions interconnected at the neuronal level, indicating an effective correction of hemodynamic variability. The HRF in S1BF (in blue) was much slower (half-width = 21 s,  $\kappa = 0.97$ ,  $\gamma = 0.04$ ,  $\tau = 2.70$ , and  $\alpha = 0.32$ ) than that of other regions (thalamus, in green: half-



**Figure 4.** Functional Connectivity Estimated from Granger Causality

Oriented networks estimated using the linear measure of Granger causality for each animal (left) and for the group (right), without (top) and after (bottom) hemodynamic deconvolution. For each pair of regions ( $X, Y$ ), the directionality and colour of the arrows indicate the sign and statistical significance (obtained from surrogates) of  $F_{X \rightarrow Y} - F_{Y \rightarrow X}$  (see Equation 4), respectively. See main text for details. St, striatum; Th, thalamus. doi:10.1371/journal.pbio.0060315.g004

width = 7 s,  $\kappa = 0.36$ ,  $\gamma = 0.12$ ,  $\tau = 1.75$ , and  $\alpha = 0.27$ ; and striatum, in red: half-width = 8.5 s,  $\kappa = 0.50$ ,  $\gamma = 0.09$ ,  $\tau = 1.99$ , and  $\alpha = 0.29$ ), despite the fact that neuronal responses were the fastest in this region. Note that HRFs estimated by DCM were very similar to those estimated without taking into account neuronal connections between regions (Figure 3). Finally, Figure 5D shows extrinsic connectivity, obtained from the median value of the distribution in matrices  $A$  and  $C$  (see Equation 5) over animals and sessions, for the most plausible model (model 3, see Figure 5B). Input connectivity strength, decreasing between S1BF (1.00), striatum (0.66), and thalamus (0.33), reflects amplitude of hemodynamic signals recorded (see group  $t$ -values in Figure 2 and time series in Figure 5A and 5C).

### iEEG Connectivity

**Spike averaging.** Analysis of the averaged spike-and-wave complex (Figure 6) indicates that the peak of the first spike in S1BF preceded by 5.5 ms and 10 ms those measured in the thalamus and the striatum, respectively. This average sequence of activation was found in all five rats except one in which the spike in thalamus was found to precede the one in S1BF by 2.2 ms. In addition, the average spike recorded in S1BF was sharper and did not show a large slow wave as is the case in the thalamus and in the striatum. These characteristics indicate a specific electrical signature in S1BF, potentially related to its role as neural driver.

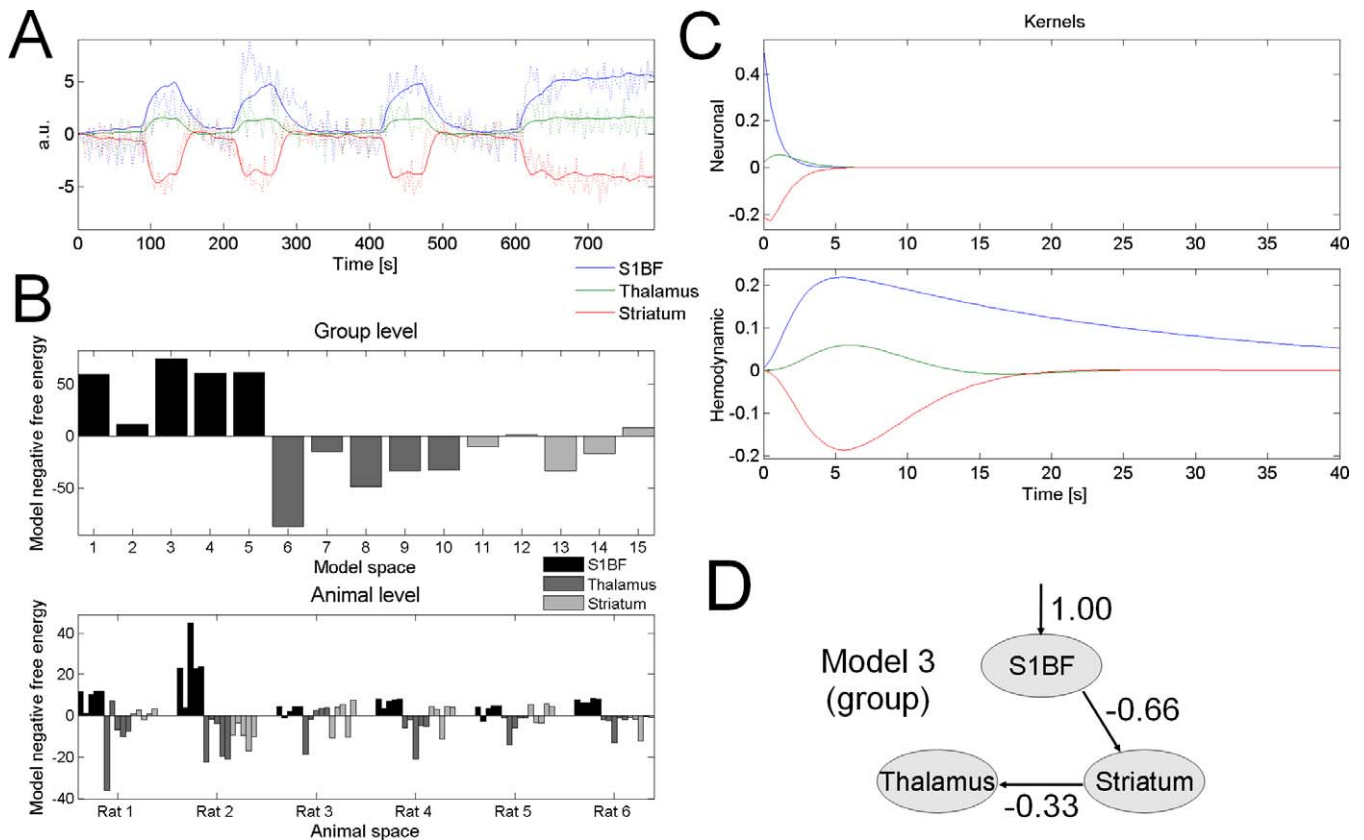
**Generalised synchronisation.** The oriented network estimated by a measure of generalised synchronisation between iEEG signals was obtained by averaging, for each pair of

regions ( $X, Y$ ), the interaction measure  $\Delta(Y | X) - \Delta(X | Y)$  (see Protocol S2) over seizures and animals between 2 and 8 s after seizure onset (Figure 7). Significant driving effects were found from S1BF onto the striatum ( $p < 10^{-9}$ , Wilcoxon test uncorrected for multiple comparisons) and onto the thalamus ( $p < 0.002$ ). The interaction between striatum and thalamus did not show any consistent direction of information transfer ( $p > 0.39$ ). Connectivity analysis of iEEG signals thus confirmed the role of S1BF as neural driver for thalamic and striatal activity.

### Discussion

In this study, we used a well-recognised animal model of absence epilepsy (GAERS) [27,28] to assess whether fMRI can be used to determine directionality of interactions between remote brain regions. In epilepsy research, estimating neuronal drivers (i.e., epileptogenic zone) within epileptic networks is one of the major issues. In drug-resistant patients with focal epilepsy, for instance, the precise determination of neuronal drivers should have a major surgical impact [35]. This is also true in cognitive neuroscience, in which the possibility to estimate oriented interregional connectivity should permit the refinement of network theories of brain function [3].

Although it is well established that SWDs in absence epilepsy result from paroxysmal oscillations within cortico-thalamic networks, the respective contributions of the neo-cortex and of the thalamic relay nuclei in the initiation of such activity are still debated [31,36]. It was first suggested that SWDs originate from a subcortical pacemaker with



**Figure 5. Dynamic Causal Modelling**

(A) Example showing how DCM (model 1) fitted measured data from a session containing four seizures.

(B) Model comparison using the negative free energy (for clarity, the average over the models of the negative energy has been removed). Top: at the group level, the models 1–5 assuming S1BF as being a driver are the most plausible (model 3 is the most plausible at the group level, mainly because of the high value of its evidence in rat 2). Bottom: this result at the group level was found in all rats when pooling over each class. However, in rats 3 and 5, a model assuming the striatum as a driver was found the most plausible (in rat 5, this finding was not significant, i.e., difference of negative energy with a model assuming S1BF as being a driver was lower than three).

(C) Neuronal and hemodynamic kernels at the group level obtained from median value of model parameters estimated at the individual level for the most plausible model (model 3, see [B]).

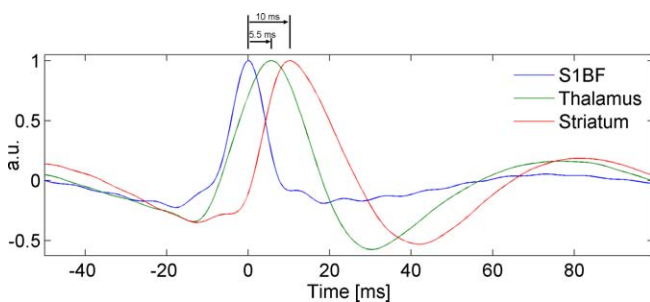
(D) Extrinsic connectivity, obtained after averaging matrices  $A$  and  $C$  over the animals, for the most plausible model (model 3, see [B]).

doi:10.1371/journal.pbio.0060315.g005

widespread and diffuse cortical projections [37–41] or from an interaction between cortical and thalamic neurons. However, data from a pharmacological model of SWDs in the cat [42–44] and from a genetic model of absence epilepsy, the Wistar Albino Glaxo/Rijswijk (WAG/Rij) rat [31,32,45], provided evidence for a leading role of the cerebral cortex. In

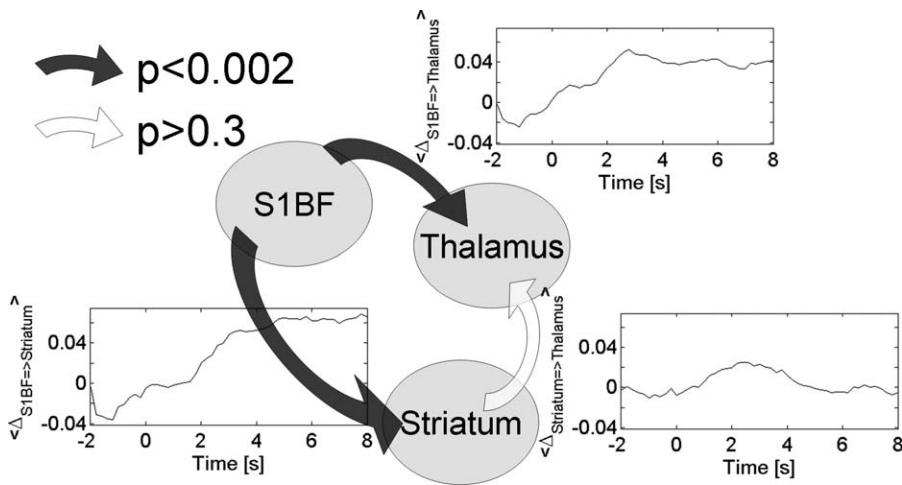
the GAERS, it was found that SWDs are initiated in the facial region of the somatosensory cortex before propagating, or not (for brief SWDs), to the ventrolateral thalamus and to the primary motor cortex [30]. In addition, inhibition of this part of the first somatosensory cortex by local application of tetrodotoxin was shown recently to suppress SWDs (P. O. Pollack, S. Mahon, M. Chavez, and S. Charpier, unpublished data). In human patients with absence epilepsy, fMRI [46] and positron emission tomography (PET) [47] studies showed the involvement of the thalamocortical system during SWDs, but without any clear evidence for the site of initiation of such activity.

Here, using concurrent fMRI and EEG measurements, we obtained SWD-correlated changes in CBV beyond the thalamus and S1. Significant activations or deactivations were also found in the brainstem, cerebellum, SNR, striatum, and different cortices (retrosplenial, visual, limb region of S1, and motor and sensory secondary). Interestingly, all these structures were activated bilaterally, resulting in a symmetrical network. Whereas, to our knowledge, the role of the cerebellum in the generation or control of SWDs has hitherto not been addressed, the spreading of discharges to different



**Figure 6. Spike and Wave Complex Averaged over Seizures and Rats**

The spike observed in S1BF precedes by 5.5 ms and by 10 ms (time to peak) those measured in the thalamus and in the striatum, respectively. doi:10.1371/journal.pbio.0060315.g006



**Figure 7.** Direction of Information Transfer Estimated in iEEG from the Measure of Generalised Synchronisation

A significant and stable, among the first seconds of SWDs, driving effect was found from S1BF towards thalamus and striatum. No consistent directionality was found for the connection between striatum and thalamus. doi:10.1371/journal.pbio.0060315.g007

cortices was described [48]. CBV changes in striatum and substantia nigra pars reticulata are particularly noteworthy, as these structures, respectively the input and output of the basal ganglia, were suggested to control epileptic seizures in different animal models [49]. For instance, activation of dopaminergic transmission in the striatum suppresses seizures, whereas its inhibition by dopaminergic antagonists aggravates SWDs [50]. Similarly, inhibition of the substantia nigra pars reticulata by pharmacological manipulation is well known to block epileptic seizures in different models, including the GAERS [51]. Our EEG/fMRI results are thus in line with the view that SWDs propagate to different cortical regions, and to subcortical regions as well. Activation of basal ganglia circuits would allow endogenous regulation of SWDs, which can be artificially enhanced by neuromodulation techniques [49].

Two EEG/fMRI studies were performed in the WAG/Rij rat [52,53]. Bilateral activations were also found in the frontoparietal cortex, the thalamus, and brainstem nuclei. No deactivations were reported, however. GAERS and WAG/Rij rats, though similar in many aspects, show also some differences, in particular in the features of spontaneous SWDs [28]. These differences may explain why fMRI activations only partly overlap. Importantly, a strong activation in S1BF is observed in both models. This finding supports the important role of this part of the cortex in the initiation of SWDs, as demonstrated by electrophysiology in GAERS and in WAG/Rij rats [30–32].

In the present study, in addition to revealing the spatial organisation of the epileptic network, we estimated the HRF to SWDs in the different regions involved. We thereby used a truncated hemodynamic model [20] characterised by various parameters directly related to underlying biophysical processes. In the model used, it is assumed that changes in synaptic activity trigger vasodilatory effects described by the lumped time constant called “signal decay  $\kappa$ .” Vasodilatation induces changes in cerebral blood flow (CBF), which in return have an autoregulation effect on changes in vasodilatation (constant  $\gamma$  in the model). Changes in CBV are then obtained from changes in CBF using a state equation

with two parameters (a transit time  $\tau$  and an exponent  $\alpha$  for nonlinear effects). Our main finding here was an abnormally slow HRF in S1BF, due to near suppression of the autoregulation mechanisms of CBF on vasodilatation. The autoregulation constant  $\gamma$  is a lumped parameter that summarises, in dynamical terms, the effects of many different physiological processes involved in the feedback autoregulatory mechanisms occurring during functional hyperemia. Functional hyperemia, which matches the delivery of blood flow to the activity level of each brain region, requires coordinated cellular events that involve neurons, astrocytes, and vascular cells [54]. Deregulation of the function of any of these cell types in S1BF thus appears as a plausible physiological mechanism to explain the abnormally long time constant of CBF feedback that we found. Additional experiments in the future are needed to reveal which processes involved in regulation of vasodilatation by blood flow are exactly altered in the first somatosensory cortex of the GAERS.

Such differences in hemodynamic properties allowed us to challenge the face validity of functional connectivity analyses in fMRI. For simplicity and reproducibility among animals of this validation study of functional connectivity in fMRI, we selected three regions of interest that (1) were the most consistently activated over sessions and animals, (2) exhibited different hemodynamics, and (3) were easily integrated in our current understanding of SWDs. We selected first S1BF because of recent evidence indicating its role as a cortical driver, second the ventrobasal thalamus because it is known that the thalamocortical loop is implicated in SWDs, and third the striatum because of various studies suggesting its role in the control of SWDs. Other structures also showing significant CBV changes at the group level were ignored, either because the signal-to-noise ratio was too low at the session level (because estimated connectivity is related to effect size and highly depends on signal-to-noise ratio, this would have entailed a significant loss of results reproducibility between animals and sessions), or because no experimental evidence was available for validating connectivity results (for instance, it would have been difficult to interpret

fMRI connectivity results for cerebellum that has never been explored in GAERS).

The Granger causality measure tested [25,33], heavily based on the concepts of temporal precedence, information transfer, and prediction between time series, estimated the striatum as being the neural driver of SWDs when applied directly to fMRI signals. This result strongly contradicts the evidence from the literature [49]. We then evaluated whether the very same Granger causality measure, but applied to hidden neural states estimated after deconvolution of hemodynamic effects in fMRI time series, would be more compelling. It was indeed the case since S1BF was identified as the neural driver at the group level. Comparison of the results of both analyses demonstrates that the failure of connectivity analysis from original fMRI time series to identify S1BF as the neural driver is due to regional variability of the HRFs. Finally, connectivity analyses at the neuronal level using DCM were also able to reconstruct a meaningful connectivity pattern. Bayesian model comparison showed a clear preference for the models specifying S1BF as the neuronal driver, with consistent reproducibility among animals. At the animal level, results obtained with DCM were more reproducible than with the linear implementation of Granger causality. It is probable that more sophisticated approaches, including multivariate, nonlinear, parametric, or nonparametric implementation of Granger causality [55–57], would have allowed a significant improvement in result reproducibility between animals.

fMRI connectivity analyses were validated using iEEG data obtained in freely moving rats. The directionality of interactions, estimated from the asymmetry of a measure of generalised synchronisation, clearly indicated S1BF as being the driver. The generalised synchronisation measure relies on time-embedding of iEEG signals (Takens' theorem). This manipulation depends upon some parameters that are sometimes difficult to optimise [58], and moreover, its theoretical underpinnings [59] might not be totally fulfilled by brain signals. In view of these potential difficulties, for construct validation in terms of spike propagation, the averaged SWD complex was computed, and a temporal precedence of the activity in S1BF was demonstrated, as anticipated from iEEG generalised synchronisation and from fMRI connectivity.

Because fMRI does not provide sufficient information to reconstruct accurate electrical activity, the neuronal model used in DCM remains necessarily simple, allowing the generation of caricatures of neural states. Nevertheless, DCM distinguished different functional hypotheses in a meaningful way. To our knowledge, this study provides the first experimental validation of DCM for fMRI using invasive EEG recordings. The so-called “synaptic activity” estimated by DCM remains difficult to interpret. First-order electrical kernels (see Figure 5) do not allow the generation of EEG-like signals if convoluted with a random input (as classically done when modelling EEG with neural mass models [60]) because their time constant ( $\sim 2$  s) is too large to generate the 7–9-Hz oscillations that characterise SWDs in GAERS. Their dynamic properties are more compatible with the rate of change of EEG power often observed at the beginning of seizures (see Figure 1 in [30]). The coupling parameters of DCM might then be interpreted as indications of how changes in EEG power are transferred between regions. Because DCM

parameters in fMRI are estimated from several minutes of recordings, the significant difference that was found between models implies that the information transfer is more or less stable during seizures—in other words, that one direction of information transfer dominates. This is indeed what we observed in iEEG, as far as connectivity from S1BF was concerned (Figure 7). Finally, it is important to note that, like any model-based approach, results depend on the assumptions of the generative model used. In particular, current implementation of DCM [14] does not take into account time lags between neural populations due to conduction velocities and propagation through dendritic trees. Elaborating and validating a more realistic neural model for DCM in fMRI taking time dependencies into consideration would be interesting, but goes well beyond the scope of this work.

This study is, to our knowledge, the first electrophysiological validation of fMRI connectivity analyses based on Granger causality and Dynamic Causal Modelling using a well-characterised animal model of functional coupling. As such, it has important implications for such studies that are starting to predominate in the functional neuroimaging literature on connectivity. Our results clearly indicate that one must minimise spurious interactions due to hemodynamic variability between brain regions using explicit or implicit (such as in DCM) deconvolution of hemodynamic effects in fMRI time series. Otherwise, directed functional connectivity results should be taken cautiously, particularly if one cannot demonstrate that hemodynamic properties are the same in every region analysed.

## Materials and Methods

**Animal preparation and data acquisition.** Experimental procedures and animal care were carried out in accordance with the European Community Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC). They were approved by the Ethical Committee in charge of animal experimentation at the Université Joseph Fourier, Grenoble (protocol number 88–06). Six male adult GAERS ( $281 \pm 56$  g) were used for the fMRI/EEG study, and five adult GAERS (two males, three females;  $232 \pm 70$  g) were recorded in iEEG.

**fMRI/EEG experiments.** Spontaneous seizures were measured during magnetic resonance (MR) experiments using EEG. Animals were equipped with three carbon electrodes located on the skull near the midline (frontal, parietal, and occipital), several hours prior to the MR experiments. Two additional carbon electrodes were used to monitor cardiac activity (electrocardiography [ECG]). Because absence epilepsy is suppressed by anaesthesia, animals were maintained conscious under neuroleptanalgesia.

Anaesthesia was induced under 5% isoflurane, maintained under 2% isoflurane during animal preparation, and stopped during MR acquisition. The femoral artery was catheterised to allow administration of an iron-based superparamagnetic contrast agent (injected as a bolus just before MR preparatory settings, 8 mg Fe/kg, i.e., 145 mmol Fe/kg, Sinerem) and infusion of curare and analgesics. Just before inducing neuroleptanalgesia, a tracheotomy was performed, and animals were ventilated at 90 breaths/min throughout the rest of the experiment. Neuroleptanalgesia was induced using an intravenous bolus of d-tubocurarine (1 ml/kg). Animals were then maintained under intravenous infusion of a mixture of d-tubocurarine (1.2 mg/kg/h), Fentanyl (3  $\mu$ g/kg/h), and haloperidol (150  $\mu$ g/kg/h) [30].

Animals were secured in an MR-compatible, customised, stereotaxic headset with ear and tooth bars. They were positioned in the magnet, maintained in position between 3 and 4 h for data acquisition, and then sacrificed. Rectal temperature was monitored and kept at 37 °C using a heating pad positioned under the animal.

MR imaging was performed in a horizontal-bore 2.35 T magnet (Bruker Spectrospin), equipped with actively shielded magnetic field gradient coils (Magnex Scientific) and interfaced to a SMIS console (SMIS). A linear volume coil was used for excitation (internal



diameter 79 mm), and a surface coil was used for detection (Rapid Biomedical). Both coils were actively decoupled.

$T_1$ -weighted anatomical images were acquired using a 3D-MDEFT sequence with parameters optimised following the procedure described in [61]: voxel size =  $0.333 \times 0.333 \times 0.333$  mm<sup>3</sup>, TI = 605 ms, quot = 0.45, alpha = 22°, TR/TE = 15/5 ms, and BW = 20 kHz. CBV-weighted measurements were made with gradient-echo echo-planar imaging (EPI) acquisition (two shots, data matrix =  $48 \times 48$ , FOV =  $35 \times 35$  mm<sup>2</sup>, 15 contiguous 1.5-mm-thick slices covering the whole brain, alpha = 90°, TE = 20 ms, TR = 3 s). Functional volumes were acquired over about 2 h, in several 30-min sessions to prevent overheating of the gradient hardware. 3D-MDEFT and EPI images were centred to facilitate superimposition.

EEG and ECG signals were sampled simultaneously with fMRI at 1,024 Hz (SD32, Micromed). ECG was merely used to monitor the physiological state of animals. When ECG revealed a heart frequency below 250 beats/min, the experiment was terminated, and the animal was sacrificed. EEG and fMRI temporal coregistration was ensured by the EEG acquisition software recording a TTL signal from the MR system at each volume acquisition.

**iEEG experiments.** For the iEEG recordings, GAERS were implanted with intracerebral electrodes under general anaesthesia (diazepam 4 mg/kg intraperitoneally [i.p.], ketamine 100 mg/kg i.p.). Pairs of electrodes formed of stainless steel wires (0.175 mm) separated by 2 mm on the longitudinal axis were stereotaxically placed in each structure targeted. Stereotactic coordinates were as follows, with the bregma as reference [62]: (1) first somatosensory cortex S1BF (anteroposterior [AP]: -1 and -3 mm; mediolateral [ML]: +5 mm; and dorsoventral [DV]: -3 mm), (2) ventrobasal thalamus (AP: -2.3 and -4.2 mm; ML: +2.4 mm; and DV: -6.2 mm), and (3) striatum (AP: +3 and -0.8 mm; ML: +3 mm; and DV: -6 mm). Two additional electrodes (stainless steel screws) were fixed in the nasal and occipital bones to serve as reference and/or ground. All electrodes were connected to a female microconnector that was fixed to the skull by acrylic cement. Animals were allowed to recover for a week, during which they were handled daily for habituation. Once implanted, the rats were kept alive 2 mo at maximum. They were killed by an overdose of pentobarbital, and their brains were then removed and cut into 20- $\mu$ m coronal sections. These sections were stained with cresyl violet, and each site was localised with reference to the atlas of Paxinos and Watson [62,63]. Electrode implantation was considered correct if the centre of gravity of the pair of electrodes was located within the targeted structure.

Electroencephalograms were recorded in awake, freely moving animals, using a digital acquisition system (Cambridge Electronic Design) with a sampling rate of 2 kHz and analog filters (high-pass filter 1 Hz/low-pass filter 90 Hz). During the recording sessions, rats were continuously watched to detect abnormal posture or behaviour. Sessions did not exceed 2 h and were performed between 9:00 AM and 5:00 PM.

**fMRI/EEG data analysis.** fMRI data analysis was done using SPM5 (Statistical Parametric Mapping, Wellcome Department of Imaging Neuroscience, Functional Imaging Laboratory, London, UK). Some routines of this software were adapted to rat imaging in accordance with [63].

**Spatial preprocessing.** For each session, EPI volumes were first realigned to account for motion correction. All images were then normalised to a 3D-MDEFT template with coordinates chosen according to the rat atlas of Paxinos and Watson, with the origin at the bregma [62]. Normalised images were resampled to reach an isotropic spatial resolution of 0.4 mm. Finally, normalised EPI images were smoothed with a Gaussian kernel of 0.5-mm width. Statistical analysis was done on smoothed, normalised, and realigned EPI images.

**Statistical maps of SWD-related regional CBV changes.** Statistical maps of regional CBV changes in relation to SWDs were obtained using the standard procedure applied in EEG/fMRI studies of epilepsy [64,65]. It consists of the detection of epileptic events in the EEG. A regressor of interest for fMRI data is then obtained by convolving EEG epileptic events with a model of the hemodynamic impulse response function [66]. If the impulse response is causal (which is usually the case), it is assumed that electrical activity precedes and causes hemodynamic changes.

SWDs were extracted from the EEG using a moving average (time window length = 2 s; sampling rate = 5 Hz) of EEG power between 4 Hz and 20 Hz. SWD power was then scaled such as to be about zero between SWDs and about one during SWDs. Note that it was not necessary to correct imaging or cardiac artefacts in our data because they were not significant at frequencies of SWDs. The SWD regressor

used for fMRI statistical analysis was obtained by convolving the normalised SWD power with the canonical HRF provided in SPM5.

For each animal, SPMs of the  $t$ -statistic of SWD-related activations were obtained by correlating the high-pass filtered (cutoff = 0.97 mHz) time series of each voxel with the SWD regressor using a standard first-level multisession statistical design [67]. Activations at the group level were obtained using a fixed-effect analysis following guidelines provided in [68]. The decision to perform a fixed-effect analysis was based on (1) the reduced number of animals ( $n=6$ ) being too small to perform a random-effect analysis and (2) the excellent reproducibility between animals of the activation patterns.

**Estimation of hemodynamic parameters in regions activated during SWDs.** Activation maps were obtained under the conventional hypothesis of identical hemodynamics all over the brain. Although this assumption is particularly convenient to obtain statistical maps, significant hemodynamic variability is to be expected [69–71]. Taking into account this spatial variability is critical in identifying neuronal drivers from fMRI signals. We therefore estimated the HRFs in the different structures activated.

A biophysical model of brain hemodynamics was used to biologically constrain the estimation of the HRFs. We therefore adapted the hemodynamic model used in [14,20] to the measurement of CBV-weighted signals (due to the use of an iron contrast agent). Briefly, we removed from the distributed version of DCM (SPM5, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) the state equation corresponding to the definition of deoxyhemoglobin content, and we changed the output equation that was developed for BOLD signals (assuming BOLD signals as arising from a mixture of CBV and blood oxygenation effects). The model thus described below is a truncated version of the hemodynamic model developed in [20]. For the  $i$ th region, neuronal activity  $z_i$  causes an increase in a vasodilatory signal  $s_i$  (time constant  $\kappa_i$ ) that is subject to autoregulatory feedback (autoregulation constant  $\gamma_i$ ). Inflow  $f_i$  responds in proportion to this signal with changes in blood volume  $v_i$  (time constant  $\tau_i$  and nonlinear constant  $\alpha_i$ ):

$$\begin{cases} \dot{s}_i = z_i - \kappa_i s_i - \gamma_i (f_i - 1) \\ \dot{f}_i = s_i \\ \tau_i \dot{v}_i = f_i - v_i^{1/\alpha_i} \\ y_i \propto v_i \end{cases} \quad (1)$$

Variations in CBV-weighted signals  $y$  were assumed to be proportional and of opposite sign to variations of blood volume  $v$ —a CBV increase shortens the transverse relaxation time [72]. The four hemodynamic parameters for each region  $i$  ( $\kappa_i$ ,  $\gamma_i$ ,  $\tau_i$ , and  $\alpha_i$ ) were estimated from the time series of each ROI using a maximisation-expectation algorithm [73], similar to the one used in the standard DCM procedure [14].

**Deconvolution of hemodynamics.** Most methods to infer the direction of information transfer between two time series are based on identifying temporal precedence. If past activity of a given region  $X$  helps predicting current activity of another region  $Y$ , then it is assumed that the activity of  $X$  causes to some extent the activity of  $Y$ . Although compelling, temporal precedence in fMRI time series may be biased by regional variability of hemodynamics (see Protocol S1 for an intuitive explanation). Consequences of hemodynamic variability can be minimised by deconvolving fMRI time series with a hemodynamic impulse response function. Output time series represent then hidden state variables that are more closely related to neuronal activity. Instead of original fMRI time series, such a state-space model can be used to infer functional connectivity.

Hemodynamic deconvolution of each ROI time series was performed as described in [34]. Under linear assumption, fMRI signals  $m(t)$  can be modelled as the result of the convolution of neural states  $s(t)$  with a hemodynamic response function  $h(t)$ :

$$m(t) = s(t) \otimes h(t) + \varepsilon(t) \quad (2)$$

where  $t$  is the time and  $\otimes$  denotes convolution.  $\varepsilon(t)$  is the noise in the measurement, assumed here to be white and therefore defined by its constant power spectrum  $|E(\omega)|^2 = \varepsilon_0^2$ . The estimation  $\tilde{s}(t)$  of the neural states  $s(t)$  was obtained using the following formula [34]:

$$\tilde{s}(t) = FT^{-1} \left\{ \frac{H^*(\omega)M(\omega)}{|H(\omega)|^2 + \varepsilon_0^2} \right\} \quad (3)$$

where  $FT^{-1}$  denotes the inverse Fourier transform, and  $H(\varepsilon)$ ,  $M(\varepsilon)$  are the Fourier transform of  $h(t)$ ,  $m(t)$ , respectively. For each ROI, the hemodynamic response function  $h(t)$  was obtained after optimising the parameters of the biophysical model described in Equation 1. The expectation-maximisation algorithm used for this parameter optimisation also provided the value of the noise power spectrum  $\varepsilon_0^2$ .

**Granger causality analysis.** Granger causality measures have been proposed recently to identify the direction of information transfer between remote brain regions recorded in fMRI [25,33]. In its simplest version, Granger causality is computed using linear multivariate autoregressive models of fMRI time series. For each pair of brain regions  $X$  and  $Y$ , the linear influence from  $X$  to  $Y$  ( $F_{x \rightarrow y}$ ) and from  $Y$  to  $X$  ( $F_{y \rightarrow x}$ ) is defined as follows [25]:

$$\begin{cases} x[n] = -\sum_{i=1}^p A_x[i]x[n-i] + u[n] \\ y[n] = -\sum_{i=1}^p A_y[i]y[n-i] + v[n] \\ q[n] = \begin{bmatrix} x[n] \\ y[n] \end{bmatrix} = -\sum_{i=1}^p A_q[i]q[n-i] + w[n] \end{cases}$$

$$\begin{cases} \text{var}(u[n]) = \Sigma_1 \\ \text{var}(v[n]) = T_1 \\ \text{var}(w[n]) = \begin{bmatrix} \Sigma_2 & C \\ C & T_2 \end{bmatrix} \end{cases}$$

$$\begin{cases} F_{x \rightarrow y} = \ln\left(\frac{|T_1|}{|T_2|}\right) \\ F_{y \rightarrow x} = \ln\left(\frac{|\Sigma_1|}{|\Sigma_2|}\right). \end{cases} \quad (4)$$

where  $x$  and  $y$  are the time series of regions  $X$  and  $Y$ . In Results, they correspond either to hemodynamic activity (fMRI signals entered directly into the analysis) or to hidden neural states (obtained from fMRI signals using Equation 3).  $x[n]$  corresponds to the  $n$ th time bin of  $x$ . The three first lines of Equation 2 define autoregressive models for time series of regions  $X$  and  $Y$ , the three lines below quantify the residual variances, i.e., how well autoregressive models predict time series, and the two last lines show how interdependency measures are defined from the residual variances. Autoregressive models were estimated using the Matlab package ARfit (<http://www.gps.caltech.edu/~tapiolarfit/>) [74,75]. The model order  $p$  was defined according to the Schwarz Bayesian criterion [76]. It measures the efficiency of the parameterised model in terms of predicting the data and penalises the complexity of the model, where complexity refers to the number of model parameters.

For each pair of regions ( $x, y$ ), statistics on the asymmetry of the interaction measure  $F_{x \rightarrow y} - F_{y \rightarrow x}$  were obtained using 999 surrogate datasets [77] that were constructed for each session by translating, independent of each another, ROI time series by a random number of time samples. Surrogates thus destroyed local time interdependencies and preserved the properties of each signal taken separately. They allowed one to estimate distributions of Granger causality under the null hypothesis that ROI time series were locally uncorrelated and were not time-locked over sessions and animals. Null distributions were drawn at the animal and group levels by averaging  $F_{x \rightarrow y} - F_{y \rightarrow x}$  over sessions and animals for each surrogate realisation.  $p$ -Values on the direction of interactions were obtained by comparing the value computed from original data to the null distribution constructed from surrogates (see [77] for a review on surrogates).

We refer here to the simplest implementation of Granger causality because it is the most popular in fMRI [25,33]. However, there are many other possibilities, including parametric and nonparametric nonlinear approaches that have been applied to the brain, mainly in electrophysiology [55–57].

**Dynamic Causal Modelling.** DCM [14] relies on a biophysical model that connects the neuronal states  $z$ , called “synaptic activity,” to fMRI signals. A bilinear neuronal state equation specifies the connectivity between  $n$  brain regions:

$$\dot{z} = \left( A + \sum_j u_j B^j \right) z + Cu \quad (5)$$

where  $A$ ,  $B$ , and  $C$  are connectivity matrices, and  $u$  are inputs to the neural system. The synaptic activity is then transformed into fMRI signals using the hemodynamic model described in Equation 1. Using a maximisation-expectation algorithm, DCM proceeds to a conjoint estimation, from the measured CBV time series, of the neuronal parameters (connectivity matrices  $A$ ,  $B$ , and  $C$ ) and of the four hemodynamic parameters for each region  $i$  ( $\kappa_i$ ,  $\gamma_i$ ,  $\tau_i$ , and  $\alpha_i$ ). In other words, it performs in one step the hemodynamic deconvolution and

connectivity estimation between hidden neural variables. This implies a certain degree of interactions between both processes that potentially results in more robust results than when deconvolution and connectivity analyses are taken separately.

For the present study, we identified neural drivers within a small network composed of three regions. To prevent introducing any bias in the estimation of functional connectivity, we did not take into account prior anatomical information about probable missing connections. We thus chose to specify all possible unidirectional networks comprising direct and/or indirect connections (15 models; S1BF driver: models 1–5; thalamus driver: models 6–10; striatum driver: models 11–15) (Figure 8). Because DCM necessitates knowledge of the inputs  $u$ , we defined  $u$  as being equal to the SWD regressor—shifted backwards in time (400 ms, which corresponds approximately to the time constant of the driver’s DCM neuronal kernel, see results in Figure 5) to account for neuronal filtering ( $u$  is a presynaptic input whereas the EEG reflects multi-postsynaptic activity [60]). In each model, an input  $u$  (non-zero  $C$  matrix) was applied to the assumed neural driver. Here, input  $u$  must be thought of as a practical way to model unstable dynamics intrinsically generated by an epileptic focus, using simple dissipative neural models used by DCM as described in Equation 5. In the models shown in Figure 8, the region receiving input  $u$  transfers the information to other regions with forward connections (matrix  $A$ ). For parsimony, we did not allow a modulation of the interregional connection strength by  $u$  (by the means of the modulatory matrix  $B$ ). We thereby assumed that the connection strength did not vary between ictal and interictal states. To conform to standard practice in DCM studies, only self modulation (first diagonal of  $B$ ) of the region receiving the exogenous input was allowed. Actually, because it appears that inputs  $u$  were very close to zero during interictal states, assumptions about connectivity modulation had little effect on the parameters estimated.

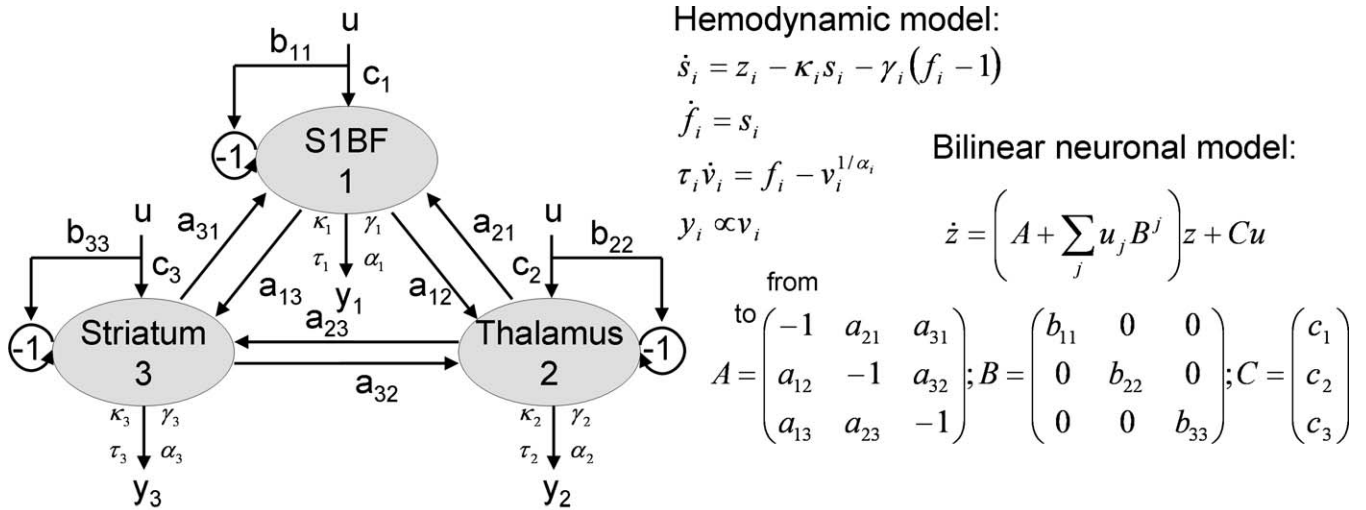
Identification of the neural driver in the 15 competing models (Figure 8) was done using Bayesian model comparison based on model evidence [78]. Practically, the model log-evidence was approximated by the model negative free energy, the criterion used for optimising the model parameters [14], which is a tight lower bound on the log-evidence. The most plausible model is the one with the largest negative free energy, i.e., the best fit to the data. A difference in log-evidence of approximately three is usually taken as strong evidence for one model over the other (i.e., the marginal likelihood of one model is  $\sim 20$  times the other) [14]. Assuming each dataset is independent of the others, the log-evidence at the group level (or at the animal level when different sessions have been acquired) is simply obtained by adding the log-evidence of each session [79].

**iEEG data analysis.** iEEG data analysis was done using a SPM5 Toolbox for intracerebral EEG developed in our laboratory. iEEG signals were first band-pass filtered between 5 and 100 Hz to capture the main frequencies of SWDs and to remove motion artefacts in low EEG frequencies. Seizures were visually detected. Only those showing (1) no movement artefact, (2) preictal and postictal periods of at least 4 s, and (3) a duration of at least 10 s were kept for further analysis ( $n = 72$ ).

As a first estimation of the sequence of “activation” within the three implanted structures, spike averaging over time was performed. An ad hoc algorithm, based on EEG amplitude thresholding and local maxima identification, was implemented in which the first peak of the SWD complex was detected in signals originating from S1BF. The mean activation pattern was then obtained by averaging each SWD complex over time, seizures and animals using a time window covering from 50 ms before up to 80 ms after detected spikes. The delay between the peaks in the signals from the different structures was finally measured on the averaged waveforms.

Further functional connectivity analyses in iEEG were performed using a nonlinear measure based on the concept of generalised synchronisation [13,16,80,81]. By definition, generalised synchronisation exists between two dynamical systems  $X$  and  $Y$  when the state of the response system  $Y$  is a function of the state of the driving system  $X: Y = F(X)$ . If  $F$  is continuous, two close points on the attractor of  $X$  should correspond to two close points on the attractor of  $Y$ . An important feature of generalised synchronisation is that synchronised time series can look very dissimilar, which is critical for analysing highly nonlinear signals such as those measured with EEG in epilepsy.

Details of these methods can be found in Protocol S2. Briefly here, we used the normalised measure of generalised synchrony  $\Delta$  between regions  $X$  and  $Y$  as described elsewhere [13,16]. There are two ways to compute  $\Delta$ , which we denote  $\Delta(X|Y)$  and  $\Delta(Y|X)$ .  $\Delta(X|Y)$  and  $\Delta(Y|X)$  are not identical for asymmetrical systems. This property can be



Competing models

- Models 1-5 (S1BF):**
  - ROI 1: S1BF
  - ROI 2: Thalamus
  - ROI 3: Striatum
- Models 6-10 (Thalamus):**
  - ROI 1: Thalamus
  - ROI 2: S1BF
  - ROI 3: Striatum
- Models 11-15 (Striatum):**
  - ROI 1: Striatum
  - ROI 2: S1BF
  - ROI 3: Thalamus

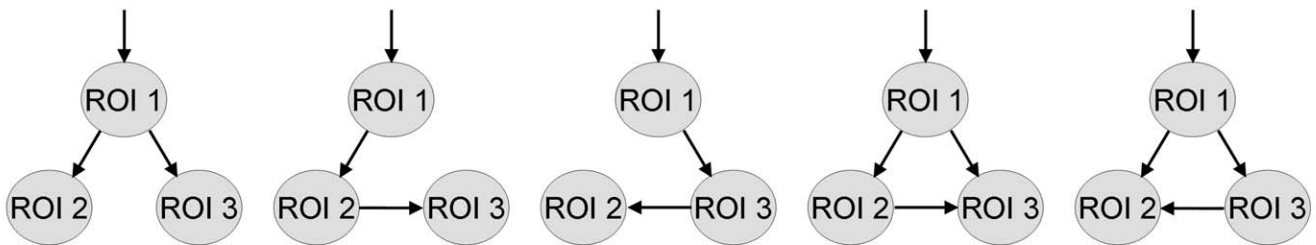


Figure 8. Dynamic Causal Model: Architecture and State Equations

Input  $u$  corresponds to detected epileptic events in the EEG. All parameters of the models are estimated from data  $y$  (CBV-weighted fMRI signals) using a Bayesian framework. Different configurations of the interregional connectivity  $A$  as shown in the competing models are used to estimate the putative neural driver, based on Bayesian model comparison. The 15 possible unidirectional models were generated from the five models shown in this figure using permutations on the ROI names (S1BF driver: models 1–5; thalamus driver: models 6–10; striatum driver: models 11–15). See main text for additional details. doi:10.1371/journal.pbio.0060315.g008

used to dissociate the driver and the driven systems, and we defined the direction of information transfer between  $X$  and  $Y$  using  $\Delta(Y|X) - \Delta(X|Y)$ . For each seizure, the normalised measure of generalised synchronisation  $\Delta$  was computed on a time window (duration of 4 s to get sufficient number of time points for robust estimation of generalised synchronisation), which was translated every 200 ms between  $-2$  s up to 8 s according to seizure onset. By using a sliding window, we were able to compute the evidence for directed connectivity as a function of peristimulus time, after SWDs onset.

Supporting Information

Protocol S1. Time Precedence and Neuronal Causality in fMRI Time Series

Reported is an intuitive view of the blurring effects of hemodynamics for the estimation of directional connectivity.

Found at doi:10.1371/journal.pbio.0060315.sd001 (41 KB DOC).

Protocol S2. Measures of Generalised Synchronisation

Reported are concepts and detailed equations used to quantify generalised synchronisation.

Found at doi:10.1371/journal.pbio.0060315.sd002 (86 KB DOC).

Acknowledgments

We are very grateful to Karl Friston for improvements suggested on an early draft of this manuscript. We thank Guerbet Research for providing us with Sinerem.

**Author contributions.** OD, IG, CD, CS, and AD conceived and designed the experiments. OD, IG, SS, SR, and AD performed the experiments. OD and SS analyzed the data. OD contributed reagents/materials/analysis tools. OD, IG, SS, CD, CS, and AD wrote the paper.

**Funding.** This study was funded by Inserm, Fondation de l’Avenir, Agence Nationale pour la Recherche and Région Rhône-Alpes.

**Competing interests.** The authors have declared that no competing interests exist.

References

- Dayan P, Abbott LF (2001) Theoretical neuroscience: computational and mathematical modeling of neural systems. Cambridge (Massachusetts): Massachusetts Institute of Technology Press. 460 p.
- Engel AK, Fries P, Singer W (2001) Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing. Nat Rev Neurosci 2: 704–716.
- McIntosh AR (2000) Towards a network theory of cognition. Neural Netw 13: 861–870.
- Salinas E, Sejnowski TJ (2001) Correlated neuronal activity and the flow of neural information. Nat Rev Neurosci 2: 539–550.
- Friston K (2003) Learning and inference in the brain. Neural Netw 16: 1325–1352.

6. Angelucci A, Bressloff PC (2006) Contribution of feedforward, lateral and feedback connections to the classical receptive field center and extra-classical receptive field surround of primate V1 neurons. *Prog Brain Res* 154: 93–120.
7. Crick F, Koch C (1998) Constraints on cortical and thalamic projections: the no-strong-loops hypothesis. *Nature* 391: 245–250.
8. Felleman DJ, Van Essen DC (1991) Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cereb Cortex* 1: 1–47.
9. Sporns O, Tononi G, Edelman GM (2000) Theoretical neuroanatomy: relating anatomical and functional connectivity in graphs and cortical connection matrices. *Cereb Cortex* 10: 127–141.
10. Engel J Jr (2004) Models of focal epilepsy. *Suppl Clin Neurophysiol* 57: 392–399.
11. Friston KJ, Penny W, David O (2005) Modeling brain responses. *Int Rev Neurobiol* 66: 89–124.
12. Buchel C, Friston K (2001) Interactions among neuronal systems assessed with functional neuroimaging. *Rev Neurol (Paris)* 157: 807–815.
13. David O, Cosmelli D, Friston KJ (2004) Evaluation of different measures of functional connectivity using a neural mass model. *Neuroimage* 21: 659–673.
14. Friston KJ, Harrison L, Penny W (2003) Dynamic causal modelling. *Neuroimage* 19: 1273–1302.
15. McIntosh AR, Gonzalez-Lima F (1994) Network interactions among limbic cortices, basal forebrain, and cerebellum differentiate a tone conditioned as a Pavlovian excitator or inhibitor: fluorodeoxyglucose mapping and covariance structural modeling. *J Neurophysiol* 72: 1717–1733.
16. Quiñ Quiroga R, Kraskov A, Kreuz T, Grassberger P (2002) Performance of different synchronization measures in real data: a case study on electroencephalographic signals. *Phys Rev E* 65: 041903.
17. Tononi G, McIntosh AR, Russell DP, Edelman GM (1998) Functional clustering: identifying strongly interactive brain regions in neuroimaging data. *Neuroimage* 7: 133–149.
18. Varela F, Lachaux J-P, Rodriguez E, Martinerie J (2001) The brainweb: phase synchronization and large-scale integration. *Nat Rev Neurosci* 2: 229–239.
19. Logothetis NK, Wandell BA (2004) Interpreting the BOLD signal. *Annu Rev Physiol* 66: 735–769.
20. Friston KJ, Mechelli A, Turner R, Price CJ (2000) Nonlinear responses in fMRI: the Balloon model, Volterra kernels, and other hemodynamics. *Neuroimage* 12: 466–477.
21. Iadecola C (2004) Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 5: 347–360.
22. Lee SP, Duong TQ, Yang G, Iadecola C, Kim SG (2001) Relative changes of cerebral arterial and venous blood volumes during increased cerebral blood flow: implications for BOLD fMRI. *Magn Reson Med* 45: 791–800.
23. Friston K, Phillips J, Chawla D, Buchel C (2000) Nonlinear PCA: characterizing interactions between modes of brain activity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 355: 135–146.
24. Lahaye PJ, Poline JB, Flandin G, Dodel S, Garnero L (2003) Functional connectivity: studying nonlinear, delayed interactions between BOLD signals. *Neuroimage* 20: 962–974.
25. Roebroeck A, Formisano E, Goebel R (2005) Mapping directed influence over the brain using Granger causality and fMRI. *Neuroimage* 25: 230–242.
26. Bullmore E, Horwitz B, Honey G, Brammer M, Williams S, Sharma T (2000) How good is good enough in path analysis of fMRI data? *Neuroimage* 11: 289–301.
27. Danober L, Deransart C, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C (1998) Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog Neurobiol* 55: 27–57.
28. Depaulis A, van Luijtelaar G (2005) Genetic models of absence epilepsy. In: Pitkanen A, Schwartzkroin P, Moshe S, editors. *The rat models of seizures and epilepsy*. San Diego (California): Elsevier. pp. 233–248.
29. Vergnes M, Marescaux C, Depaulis A (1990) Mapping of spontaneous spike and wave discharges in Wistar rats with genetic generalized non-convulsive epilepsy. *Brain Res* 523: 87–91.
30. Polack PO, Guillemain I, Hu E, Deransart C, Depaulis A, et al. (2007) Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *J Neurosci* 27: 6590–6599.
31. Meerén H, van Luijtelaar G, Lopes da Silva F, Coenen A (2005) Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch Neurol* 62: 371–376.
32. Meerén HK, Pijn JP, van Luijtelaar EL, Coenen AM, Lopes da Silva FH (2002) Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci* 22: 1480–1495.
33. Goebel R, Roebroeck A, Kim DS, Formisano E (2003) Investigating directed cortical interactions in time-resolved fMRI data using vector autoregressive modeling and Granger causality mapping. *Magn Reson Imaging* 21: 1251–1261.
34. Glover GH (1999) Deconvolution of impulse response in event-related BOLD fMRI. *Neuroimage* 9: 416–429.
35. Duncan JS (2007) Epilepsy surgery. *Clin Med* 7: 137–142.
36. van Luijtelaar G, Sitnikova E (2006) Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic models. *Neurosci Biobehav Rev* 30: 983–1003.
37. Jasper HH, Kershman J (1941) Electroencephalographic classification of the epilepsies. *Arch Neurol Psychiatry* 45: 903–943.
38. Penfield WG, Jasper HH (1954) *Epilepsy and the functional anatomy of the human brain*. Boston (Massachusetts): Little, Brown. 896 p.
39. Avanzini G, Panzica F, de Curtis M (2000) The role of the thalamus in vigilance and epileptogenic mechanisms. *Clin Neurophysiol* 111: S19–S26.
40. Bal T, von Krosigk M, McCormick DA (1995) Role of the ferret perigeniculate nucleus in the generation of synchronized oscillations in vitro. *J Physiol* 483: 665–685.
41. Buzsáki G (1991) The thalamic clock: emergent network properties. *Neuroscience* 41: 351–364.
42. Steriade M, Contreras D (1995) Relations between cortical and thalamic cellular events during transition from sleep patterns to paroxysmal activity. *J Neurosci* 15: 623–642.
43. Steriade M, Contreras D (1998) Spike-wave complexes and fast components of cortically generated seizures. I. Role of neocortex and thalamus. *J Neurophysiol* 80: 1439–1455.
44. Timofeev I, Steriade M (2004) Neocortical seizures: initiation, development and cessation. *Neuroscience* 123: 299–336.
45. Coenen AM, van Luijtelaar EL (2003) Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behav Genet* 33: 635–655.
46. Aghakhani Y, Bagshaw AP, Benar CG, Hawco C, Andermann F, et al. (2004) fMRI activation during spike and wave discharges in idiopathic generalized epilepsy. *Brain* 127: 1127–1144.
47. Prevet MC, Duncan JS, Jones T, Fish DR, Brooks DJ (1995) Demonstration of thalamic activation during typical absence seizures using H2-15O and PET. *Neurology* 45: 1396–1402.
48. Marescaux C, Vergnes M, Depaulis A (1992) Neurotransmission in rats' spontaneous generalized nonconvulsive epilepsy. *Epilepsy Res Suppl* 8: 335–343.
49. Deransart C, Depaulis A (2002) The control of seizures by the basal ganglia? A review of experimental data. *Epileptic Disord* 4: S61–S72.
50. Deransart C, Riban V, Le B, Marescaux C, Depaulis A (2000) Dopamine in the striatum modulates seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience* 100: 335–344.
51. Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C (1994) Endogenous control of epilepsy: the nigral inhibitory system. *Prog Neurobiol* 42: 33–52.
52. Nersisyan H, Hyder F, Rothman DL, Blumenfeld H (2004) Dynamic fMRI and EEG recordings during spike-wave seizures and generalized tonic-clonic seizures in WAG/Rij rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 24: 589–599.
53. Tenney JR, Duong TQ, King JA, Ferris CF (2004) fMRI of brain activation in a genetic rat model of absence seizures. *Epilepsia* 45: 576–582.
54. Iadecola C, Nedergaard M (2007) Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nat Neurosci* 10: 1369–1376.
55. Chavez M, Martinerie J, Le Van QM (2003) Statistical assessment of nonlinear causality: application to epileptic EEG signals. *J Neurosci Methods* 124: 113–128.
56. Freiwald WA, Valdes P, Bosch J, Biscay R, Jimenez JC, et al. (1999) Testing non-linearity and directedness of interactions between neural groups in the macaque inferior temporal cortex. *J Neurosci Methods* 94: 105–119.
57. Marinazzo D, Pellicoro M, Stramaglia S (2006) Nonlinear parametric model for Granger causality of time series. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 73: 066216.
58. Pereda E, Rial R, Gamundi A, Gonzalez J (2001) Assessment of changing interdependencies between human electroencephalograms using nonlinear methods. *Physica D* 148: 147–158.
59. Stark J, Broomhead DS, Davies ME, Huke J (2003) Delay embeddings for forced systems. II. Stochastic forcing. *J Nonlinear Sci* 13: 519–577.
60. David O, Friston KJ (2003) A neural mass model for MEG/EEG: coupling and neuronal dynamics. *Neuroimage* 20: 1743–1755.
61. Deichmann R, Schwarzbauer C, Turner R (2004) Optimisation of the 3D MDEFT sequence for anatomical brain imaging: technical implications at 1.5 and 3 T. *Neuroimage* 21: 757–767.
62. Paxinos G, Watson C (1997) *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego (California): Academic Press.
63. Schweinhardt P, Fransson P, Olson L, Spenger C, Andersson JL (2003) A template for spatial normalisation of MR images of the rat brain. *J Neurosci Methods* 129: 105–113.
64. Gotman J, Kobayashi E, Bagshaw AP, Benar CG, Dubeau F (2006) Combining EEG and fMRI: a multimodal tool for epilepsy research. *J Magn Reson Imaging* 23: 906–920.
65. Salek-Haddadi A, Lemieux L, Merschhemke M, Friston KJ, Duncan JS, et al. (2003) Functional magnetic resonance imaging of human absence seizures. *Ann Neurol* 53: 663–667.
66. Mirsattari SM, Wang Z, Ives JR, Bihari F, Leung LS, et al. (2006) Linear aspects of transformation from interictal epileptic discharges to BOLD fMRI signals in an animal model of occipital epilepsy. *Neuroimage* 30: 1133–1148.
67. Friston KJ, Stephan KE, Lund TE, Morcom A, Kiebel S (2005) Mixed-effects and fMRI studies. *Neuroimage* 24: 244–252.
68. Friston KJ, Holmes AP, Worsley KJ (1999) How many subjects constitute a study? *Neuroimage* 10: 1–5.
69. Aguirre GK, Zarahn E, D'Esposito M (1998) The variability of human, BOLD hemodynamic responses. *Neuroimage* 8: 360–369.
70. Hawco CS, Bagshaw AP, Lu Y, Dubeau F, Gotman J (2007) BOLD changes

- occur prior to epileptic spikes seen on scalp EEG. *Neuroimage* 35: 1450–1458.
71. Kang JK, Benar C, Al-Asmi A, Khani YA, Pike GB, et al. (2003) Using patient-specific hemodynamic response functions in combined EEG-fMRI studies in epilepsy. *Neuroimage* 20: 1162–1170.
  72. Mandeville JB, Jenkins BG, Chen YC, Choi JK, Kim YR, et al. (2004) Exogenous contrast agent improves sensitivity of gradient-echo functional magnetic resonance imaging at 9.4 T. *Magn Reson Med* 52: 1272–1281.
  73. Friston KJ, Penny W, Phillips C, Kiebel S, Hinton G, et al. (2002) Classical and Bayesian inference in neuroimaging: theory. *Neuroimage* 16: 465–483.
  74. Neumaier A, Schneider T (2001) Estimation of parameters and eigenmodes of multivariate autoregressive models. *ACM Trans Math Softw* 27: 27–57.
  75. Schneider T, Neumaier A (2001) Algorithm 808: ARfit—a Matlab package for the estimation of parameters and eigenmodes of multivariate autoregressive models. *ACM Trans Math Softw* 27: 58–65.
  76. Schwarz G (1978) Estimating the dimension of a model. *Ann Stat* 6: 461–464.
  77. Schreiber T (2000) Surrogate time series. *Physica D* 142: 346–382.
  78. Penny WD, Stephan KE, Mechelli A, Friston KJ (2004) Comparing dynamic causal models. *Neuroimage* 22: 1157–1172.
  79. Garrido MI, Kilner JM, Kiebel SJ, Stephan KE, Friston KJ (2007) Dynamic causal modelling of evoked potentials: a reproducibility study. *Neuroimage* 36: 571–580.
  80. Boccaletti S, Kurths J, Osipov G, Valladares DL, Zhou CS (2002) The synchronization of chaotic systems. *Phys Rep* 366: 1–101.
  81. Schiff SJ, So P, Chang T, Burke RE, Sauer T (1996) Detecting dynamical interdependence and generalized synchrony through mutual prediction in a neural ensemble. *Phys Rev E* 54: 6708–6724.

## IV.2 Développement d'un système de stimulation asservie - Articles 3 & 4-

### **Article 3 :**

Le but de cet article était de rendre compte des premiers résultats obtenus avec le système BIOMEA, lors de l'utilisation d'un protocole adaptatif de neurostimulation chez le rat GAERS, libre de ses mouvements. On montre que le système BioMEA permet d'effectuer aussi bien des enregistrements que des stimulations : dans nos conditions, les enregistrements étaient réalisés chez des GAERS pendant des sessions de 2 heures, en utilisant une durée d'acquisition continue d'une heure.

Cette étude technique nous a permis de montrer que les signaux EEG obtenus avec le système BioMEA étaient très comparables à ceux acquis avec des systèmes d'acquisition classiques, comme par exemple le système Micromed. Ce système présente en outre un avantage majeur qui est la possibilité de délivrer une stimulation électrique sur n'importe quelle électrode implantée à l'aide d'un interrupteur électronique commandé par une interface utilisateur. De plus, nous avons validé la lecture temps-réel effectuée par les routines Matlab, montrant bien visuellement l'interruption de crises, par des analyses off-line. Ceci a pu être possible en utilisant un montage approprié dans le logiciel Spike2 compatible avec le format de données enregistrées par BioMEA. Enfin, nous avons pu montrer que la stimulation pouvait être déclenchée dans la seconde qui suit le début d'une DPO. Toutes les crises ont été détectées avec succès, et en moyenne 70 % d'entre elles ont été interrompues par la stimulation automatique de la SNr asservie à la détection.

Article 3

Closed-loop control of seizures in a model of absence epilepsy using the  
BioMEA system

Saillet S, Charvet G, Gharbi S, Depaulis A, Guillemaud R, David O

*Proc. 4<sup>th</sup> International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering (2009)*

*5109209: 693-696*

# Closed-loop control of seizures in a rat model of absence epilepsy using the BioMEA™ system

Saillet Sandrine  
INSERM U836 - GIN  
Grenoble, France  
Sandrine.Saillet@  
bvra.e.ujf-grenoble.fr

Charvet Guillaume  
CEA-LETI-MINATEC  
Grenoble, France  
guillaume.charvet@cea.fr

Gharbi Sadok  
CEA-LETI-MINATEC  
Grenoble, France  
sadok.gharbi@cea.fr

Depaulis Antoine  
INSERM U836 - GIN  
Grenoble, France  
Antoine.Depaulis@ujf-grenoble.fr

Guillemaud Régis  
CEA-LETI-MINATEC  
Grenoble, France  
regis.guillemaud@cea.fr

David Olivier  
INSERM U836 - GIN  
Grenoble, France  
odavid@ujf-grenoble.fr

**Abstract**— This preliminary study constitutes a proof of concept for seizure-triggered neuromodulation in a genetic rat model of absence epilepsy (GAERS) using the BioMEA™ system. BioMEA™ is a 256-channel MEA system with integrated electronics (ASIC) allowing simultaneous recording and stimulation of neural networks *in vitro*. It is based on parallel architecture of 64-channel ASICs with recording and stimulation capabilities for each channel. Here, we show that BioMEA™ can also be used to develop adaptive protocols of neurostimulation *in vivo*. In epileptic rats, a seizure detection algorithm delivered online command to BioMEA™ for bilateral stimulation of the substantia nigra pars reticulata which aborted spike-and-wave discharges in many instances, within 1 second following seizure onset.

**Keywords** - Integrated electronics (ASIC); signal processing; closed-loop stimulation; epilepsy; electroencephalography; animal model

## I. INTRODUCTION

### A. Neurostimulation and epilepsy

Epilepsy is a widespread neurological pathology affecting about 0.8% of the population which require pharmacological treatment over many years. About 30% of the patients are resistant to most anti-epileptic drugs [1]. Surgical resection of the epileptic focus may suppress epileptic symptoms, but it can be used only for very focal types of seizures. Another therapeutic option is the neurostimulation of epileptic circuits involved in the control or initiation of paroxysmal activity [2;3]. Deep brain stimulation (DBS) could indeed constitute a minimal invasive therapeutic approach in some forms of pharmaco-resistant epilepsies which cannot benefit from resective surgery. A challenge for the coming years in epileptology is thus to go beyond the demonstration of feasibility and to rationalise adaptive DBS techniques. Several issues remain to be addressed and improved significantly, such as the extraction of relevant information in electrophysiological signals and the optimisation of electrical stimulation parameters and neuromodulation protocols.

### B. Integrated electronics for electrophysiology

Microelectrode arrays (MEAs) provide an elegant way to record large populations of neurons both *in vitro* [4-7] and *in vivo* [6;8]. MEAs also offer the possibility to deliver electrical

stimulation to neural networks [9], making it a promising technology to monitor and modulate pathological brain activity study, such as epilepsy, using implantable devices. To be useful, integrated systems looking towards neural prostheses should contain recording and stimulation possibilities coupled with real-time signal processing embedded in programmable digital devices.

### C. Goal of the study

In the context of a preclinical study of therapeutic DBS in epilepsy, we demonstrate here the possibility to develop adaptive protocols of neurostimulation in the freely moving rodent with integrated electronic systems (Fig. 1). We used BioMEA™, which is based on a 64-channel ASIC with recording and stimulation capabilities for each channel, initially developed for MEA recordings *in vitro*.

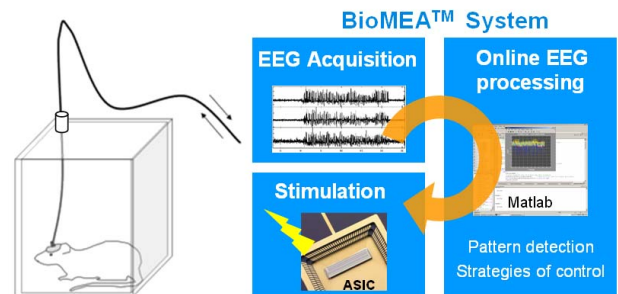


Figure 1. Principles of adaptive control of epileptic seizures, *in vivo*, using integrated electronic systems

## II. BIOMEA™

### A. Standard system architecture

The BioMEA™ system [10;11] manages up to 256 channels and performs both measurement and stimulation. This system uses four 64-channels ASICs mounted on a mechanical support allowing electrical interconnections with a 256-channel array, and a PC running a specific software and providing a user interface (Fig. 2). The modular BioMEA™ system allows the connection of different types of electrodes (64 or 128 or

This work was supported by Inserm, the French National Research Agency (ANR) through Carnot funding and the Région Rhône-Alpes.



256 electrodes) to different numbers of analog ASICs. Each ASIC includes one amplification stage (maximum gain of 750) with a noise of  $4\mu\text{VRMS}$  and one current generator per channel ( $\pm 400\mu\text{A}$  peak max). An acquisition software allows real time visualization, data storage of 256 channels and configuration of stimulation parameters. In this study, we used BioMEA™ equipped with only one ASIC (64 electrodes).

### B. Modifications made to BioMEA™ for adaptive DBS protocols in vivo

For this study, we made two important changes. First, we developed Matlab scripts to pilot automatically BioMEA™ from the PC of acquisition. Matlab and BioMEA™ communicate by the means of a DLL that was also specifically developed. It comprises all elementary functions that are called by the standard BioMEA™ user interface and allows flexible use of BioMEA™. The Matlab code permits one to record EEG data with online visualisation and to trigger stimulation according to the output command of real-time signal processing. It thus consists of the implementation of a closed loop control of epileptic seizures, the characteristics of which are detailed below. Second, instead of using standard MEAs for *in vitro* measurements, we have developed a specific connecting device that allowed to record brain activity of rats with BioMEA™ for any type of electrode implantation.

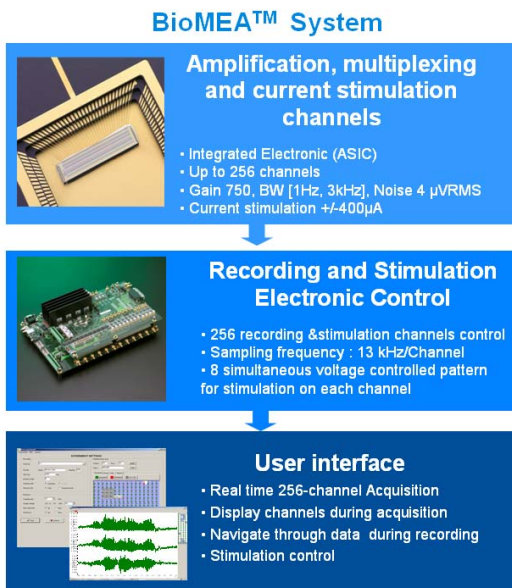


Figure 2. Standard BioMEA™ system setup

### III. REAL TIME DATA PROCESSING FOR SEIZURE-TRIGGERED STIMULATION

We implemented a seizure detection algorithm based on the quantification of permutation entropy in EEG time series. It uses a fast and efficient approach to measure asymmetry in ordinal patterns [12]. Such asymmetry reflects structured (i.e. non random) dynamics that characterise seizures. In practice, the last second of EEG recorded in the first somatosensory

cortex (cortical focus of seizures in GAERS [13;14]) was read every 200 ms. Permutation entropy and instantaneous frequency of the EEG was then simultaneously computed. Bilateral stimulation of the substantia nigra pars reticulata (SNr) was triggered if (i) permutation entropy crossed a given threshold, (ii) EEG instantaneous frequency was in the range of spike-and-wave discharges (SWD), i.e. between 6 and 11 Hz. Note that permutation entropy is insensitive to EEG amplitude, and therefore is particularly robust to movement artefacts that are frequent in recordings performed in freely moving animals.

### IV. EXPERIMENTAL PROCEDURES

Experimental procedures and animal care were carried out in accordance with the European Community Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and were approved by the ethical committee in charge of animal experimentation at the Grenoble Institute of Neuroscience.

#### A. Animal model

Experiments were performed on the Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg (GAERS) [15]. The GAERS comes from a genetic selection of a strain of Wistar rats and shows spontaneous non-convulsive generalised seizures with the same pharmacological reactivity as in human childhood absence epilepsy. These SWD last 20 seconds on average and are repeated every minute when the rats are at rest. The fronto-parietal cortex and lateral nuclei of the thalamus play a predominant role in the generation of these seizures. This chronic model is one of the best recognized in epilepsy, in terms of face validity, and pharmacological predictivity [16]. In addition, many data have shown in this model the role of the basal ganglia circuit in the control of seizures [17;18].

#### B. Animal preparation

Animal preparation for intracerebral EEG recordings consisted of the implantation of electrodes under general anaesthesia (diazepam 4 mg/kg i.p., ketamine 100 mg/kg i.p.). Bipolar stainless-steel electrodes formed of two enamel-insulated twisted wires (0.175 mm) separated by 400-600  $\mu\text{m}$  at the tip were placed stereotaxically. According to patterns of activation obtained using functional magnetic resonance imaging coupled to EEG [13], two rats were implanted, in the left hemisphere, as follows: in the first somatosensory cortex S1 (AP: -2.3 mm; ML: -5 mm; DV: -3 mm from the bregma according to the atlas of Paxinos and Watson [19]), in the ventrobasal thalamus (AP: -3.3 mm; ML: -2.5 mm; DV: -6.0 mm), in the striatum (AP: -0.2 mm; ML: -3.0 mm; DV: -6.0 mm), in the SNr (AP: -4.8 mm; ML: -2.5 mm; DV: -8.5 mm). The SNr is the structure usually stimulated for therapeutic DBS in the GAERS [18]. Because bilateral stimulations were shown to be more effective, the SNr was implanted on both sides. An additional single contact electrode was positioned over the nasal bone and served as the reference. All electrodes were connected to a female microconnector that was fixed to the skull by acrylic cement. Animals were allowed a week for recovery, during which they were handled daily for habituation to the experimental procedure.

### C. Data acquisition

Recordings were done in freely moving animals during overall sessions lasting 2 hours maximum, using continuous acquisitions lasting 10 minutes. EEG data were sampled at 13 kHz. A digital bandpass filter between 1 Hz and 300 Hz was implemented to allow online data down sampling at 1.3 kHz before data writing on disk. Parameters of bilateral stimulation of SNr were as follows: bipolar, monophasic, pulse width = 60  $\mu$ s, frequency = 60 Hz, intensity = 100  $\mu$ A, duration=2 sec.

## V. RESULTS

Fig. 3a shows that EEG signals obtained with BioMEA™ were highly comparable to those recorded with EEG apparatus from manufacturers (Micromed, Treviso, Italy) (Fig. 3b). The real benefit in using BioMEA™ is the possibility to deliver electrical stimulation at any sampled brain location in a fully programmable manner.

Fig. 4a shows online snapshot of the visual control provided by Matlab for a typical seizure that was successfully aborted. Fig. 4b shows the same seizure but displayed with an appropriate montage in the Spike2 software (compatible with the format of recorded data). Note that less than one second is needed to trigger the stimulation after seizure onset. Seizures were all successfully detected and, on average, 70 % of them were aborted by the automatically triggered stimulation.

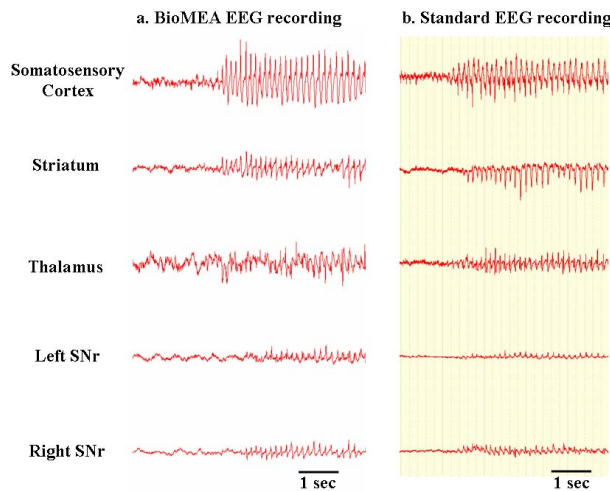
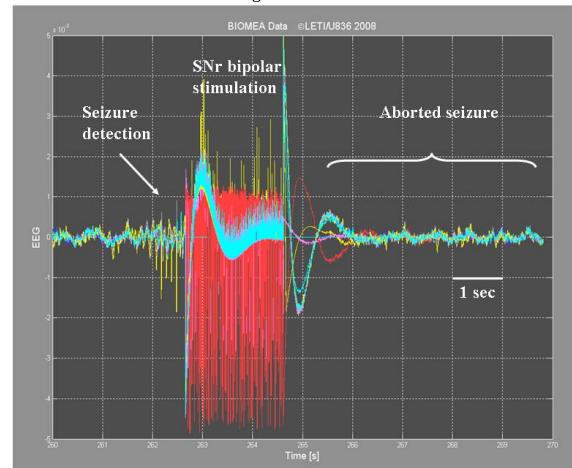


Figure 3. Comparison of BioMEA™ and standard EEG (Micromed amplifier) recordings of a spike-and-wave discharge in the same GAERS rat (SNr = substantia nigra pars reticulata)

### a. Online Matlab EEG recording



### b. Offline Spike2 EEG visualisation

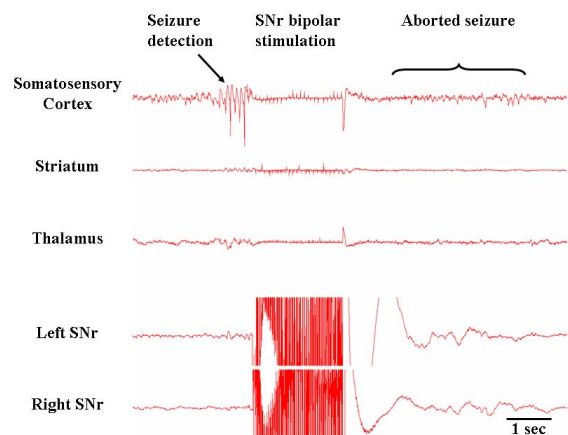


Figure 4. (a) Epileptic seizure automatically aborted as shown online in Matlab. (b) Offline display in Spike2 software of the same seizure as in (a)

## VI. DISCUSSION

This preliminary study constitutes a proof of concept for a closed-loop control of epileptic seizures in freely moving rodents, using online EEG processing and stimulation automatically triggered by the means of the BioMEA™ system interfaced to Matlab. Further work is needed to fully characterise the effectiveness and specificity of such automatic stimulation in the GAERS over long periods of time, i.e. several days. However, this proof of concept readily demonstrates the great potential of ASIC technology coupled with programmable devices for future neural implants. Beyond this, it is clear that the clinical transfer of this technology will necessitate to use, instead of Matlab, programmable digital circuits (FPGA) to process data online. In particular, it will allow to limit information flow between the animal and the back-up PC. Addition of RF link with the goal to move smoothly from an external wired electronics to an implant will also have to be implemented over the next few years in other system generations.

## REFERENCES

- [1] P. Kwan and M. J. Brodie, "Early identification of refractory epilepsy," *N. Engl. J. Med.*, vol. 342, no. 5, pp. 314-319, Feb.2000.
- [2] W. H. Theodore and R. S. Fisher, "Brain stimulation for epilepsy," *Lancet Neurol.*, vol. 3, no. 2, pp. 111-118, Feb.2004.
- [3] K. Vonck, P. Boon, L. Goossens, S. Dedeurwaerdere, P. Claeys, F. Gossiaux, P. Van Hese, T. De Smedt, R. Raedt, E. Achten, K. Deblaere, A. Thielemans, P. Vandemaele, E. Thiery, G. Vingerhoets, M. Miatton, J. Caemaert, D. Van Roost, E. Baert, G. Michielsens, F. Dewaele, K. Van Laere, V. Thadani, D. Robertson, and P. Williamson, "Neurostimulation for refractory epilepsy," *Acta Neurol. Belg.*, vol. 103, no. 4, pp. 213-217, Dec.2003.
- [4] J. M. Beggs and D. Plenz, "Neuronal avalanches in neocortical circuits," *J. Neurosci.*, vol. 23, no. 35, pp. 11167-11177, Dec.2003.
- [5] W. L. Rutten, "Selective electrical interfaces with the nervous system," *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 4, pp. 407-452, 2002.
- [6] G. Buzsaki, "Large-scale recording of neuronal ensembles," *Nat. Neurosci.*, vol. 7, no. 5, pp. 446-451, May2004.
- [7] M. A. Nicolelis and S. Ribeiro, "Multielectrode recordings: the next steps," *Curr. Opin. Neurobiol.*, vol. 12, no. 5, pp. 602-606, Oct.2002.
- [8] M. A. Nicolelis, A. A. Ghazanfar, B. M. Faggin, S. Votaw, and L. M. Oliveira, "Reconstructing the engram: simultaneous, multisite, many single neuron recordings," *Neuron*, vol. 18, no. 4, pp. 529-537, Apr.1997.
- [9] D. Eytan, N. Brenner, and S. Marom, "Selective adaptation in networks of cortical neurons," *J. Neurosci.*, vol. 23, no. 28, pp. 9349-9356, Oct.2003.
- [10] O. Billoint, J. P. Rostaing, G. Charvet, and B. Yvert, "A 64-channel ASIC for in-vitro simultaneous recording and stimulation of neurons using microelectrode arrays," *Conf. Proc. IEEE Eng Med. Biol. Soc.*, vol. 2007, pp. 6070-6073, 2007.
- [11] G. Charvet, O. Billoint, L. Rousseau, and B. Yvert, "BioMEA: a 256-channel MEA system with integrated electronics," *Conf. Proc. IEEE Eng Med. Biol. Soc.*, vol. 2007, pp. 171-174, 2007.
- [12] X. Li, G. Ouyang, and D. A. Richards, "Predictability analysis of absence seizures with permutation entropy," *Epilepsy Res.*, vol. 77, no. 1, pp. 70-74, Oct.2007.
- [13] O. David, I. Guillemain, S. Saittet, S. Reyt, C. Deransart, C. Segebarth, and A. Depaulis, "Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological validation," *PLoS Biol.*, vol. 6, no. 12, pp. 2683-2697, Dec.2008.
- [14] P. O. Polack, I. Guillemain, E. Hu, C. Deransart, A. Depaulis, and S. Champier, "Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures," *J. Neurosci.*, vol. 27, no. 24, pp. 6590-6599, June2007.
- [15] L. Danober, C. Deransart, A. Depaulis, M. Vergnes, and C. Marescaux, "Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat," *Prog. Neurobiol.*, vol. 55, no. 1, pp. 27-57, May1998.
- [16] A. Depaulis and G. van Luitjelaar, "Genetic models of absence epilepsy," in *The rat models of seizures and epilepsy*. A. Pitkanen, P. Schwartzkroin, and S. Moshe, Eds. San Diego: Elsevier Inc., 2005, pp. 233-248.
- [17] C. Deransart and A. Depaulis, "The control of seizures by the basal ganglia? A review of experimental data," *Epileptic. Disord.*, vol. 4 Suppl 3, p. S61-S72, Dec.2002.
- [18] B. Feddersen, L. Vercueil, S. Noachtar, O. David, A. Depaulis, and C. Deransart, "Controlling seizures is not controlling epilepsy: a parametric study of deep brain stimulation for epilepsy," *Neurobiol. Dis.*, vol. 27, no. 3, pp. 292-300, Sept.2007.
- [19] G. Paxinos and C. Watson, *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 3 ed. San Diego: Academic Press, Inc., 1997.

#### **Article 4**

Le but de cet article était de présenter le système d'acquisition de données BioMEA avec l'électronique intégrée permettant l'enregistrement et la stimulation simultanée de réseaux neuronaux. En faisant une description du système BioMEA, des résultats expérimentaux in vitro et in vivo, ainsi qu'une vue d'ensemble d'événements futurs. Ma participation à ce travail a porté sur les enregistrements in vivo, permettant de fournir une validation du système d'enregistrement et de stimulation en boucle fermée chez un modèle d'épilepsie libre de se déplacer.

En conclusion, ces deux études constituent une preuve de concept pour un contrôle en boucle fermée sur des durées plus longues des crises d'épilepsie chez le GAERS libre de se déplacer, utilisant un traitement de signaux EEG en ligne et une stimulation automatique grâce au système BioMEA piloté par une interface Matlab.

Article 4

A multi channel platform for recording and stimulation of large neuronal  
structures

Guillemaud R, Bêche J-F, Billoint O, Bonnet S, Gharbi S, Rostaing J-P,  
Trévisiol M, Yvert B, Rousseau L, Goy F, Heuschkel M, David O, Saillet S,  
Charvet G

*IRBM (2010) 30:226-233*



ELSEVIER  
MASSON

Disponible en ligne sur  
ScienceDirect  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
EM|consulte  
www.em-consulte.com

---

---

IRBM

---

---

IRBM 30 (2009) 226–233

Biomedical engineering

## A Multi-channel platform for recording and stimulation of large neuronal structures

*Une plateforme multicanaux pour l'enregistrement et la stimulation de grands ensembles de neurones*

R. Guillemaud<sup>a,\*</sup>, J.-F. Bêche<sup>a</sup>, O. Billoint<sup>a</sup>, S. Bonnet<sup>a</sup>, S. Gharbi<sup>a</sup>, J.-P. Rostaing<sup>a</sup>,  
M. Trévisiol<sup>a</sup>, B. Yvert<sup>b</sup>, L. Rousseau<sup>c</sup>, F. Goy<sup>d</sup>, M. Heuschkel<sup>e</sup>, O. David<sup>f</sup>,  
S. Sallet<sup>f</sup>, G. Charvet<sup>a</sup>

<sup>a</sup> CEA-LETI Minatoc, 38047 Grenoble, France

<sup>b</sup> CNIC/CNRS, 33405 Talence, France

<sup>c</sup> ESIEE, 93162 Noisy le Grand, France

<sup>d</sup> BioLogic SAS, 38640 Claix, France

<sup>e</sup> Ayanda Biosystems SA, Lausanne, Switzerland

<sup>f</sup> Inserm U836 – GIN, 38700 La Tronche-Grenoble, France

Received 22 April 2009; accepted 19 October 2009

---

### Abstract

In order to understand the dynamics of large neural networks, where information is widely distributed over thousands of cells, one of today's challenges is to successfully record the simultaneous activities of as many neurons as possible. This is made possible by using microelectrodes arrays (MEA) positioned in contact with the neural tissue. Thanks to microelectronics' microfabrication technologies, it now becomes possible to build high-density MEA containing several hundreds of microelectrodes. However, increasing the number of electrodes using conventional electronics is difficult to achieve. Moreover, high-density devices addressing all channels independently for simultaneous recording and stimulation are not readily available. Here, we present a 256-channel in vitro MEA data acquisition system with integrated electronics allowing simultaneous recording and stimulation of neural networks for in vitro and in vivo applications. This integration is a first step towards an implantable device for a neural prosthesis.

© 2009 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

**Keywords:** Electrophysiology; MEA; Recording; Stimulation; ASIC

---

### 1. Introduction

Microelectrode array (MEA) technology provides an elegant way to probe the neural code distributed over large populations of neurons either in vitro [1–3] or in vivo [4,5]. MEAs also offer the possibility to deliver electrical stimulation to neural networks [6], making them promising technologies to build neural prostheses [7–9]. The increasing number of publications about MEA studies shows that the understanding of neural networks and its

dynamics can be addressed by using the MEA technology, where a large number of neurons can be recorded simultaneously. However, increasing the number of electrodes using conventional electronics is difficult to implement into compact device. Moreover, high-density devices addressing all channels independently for simultaneous recording and stimulation are not yet available for electrophysiology studies.

Commercially available products (MultiChannel Systems [MCS], Germany and MED 64 from Alpha Med Sciences, Japan) are based on planar MEA biochips for in vitro studies (cell cultures or acute slices) with roughly 64 microelectrodes, which represents a sparse spatial sampling for large neural networks. These MEA biochips are connected to conventional electronics

---

\* Corresponding author.

E-mail address: [regis.guillemaud@cea.fr](mailto:regis.guillemaud@cea.fr) (R. Guillemaud).

system for signal recording of all electrodes and for stimulation on a limited set of electrodes. Recently MCS has proposed a new MEA data acquisition system with 256 channels but without integrated stimulation capabilities.

To increase the number of channels on planar MEA biochips, some teams have integrated the microelectrodes on integrated electronics. A Complementary metal-oxide-semiconductor (CMOS)-based MEA biochip with 11016 electrodes but only 128 channels for recording and stimulation has been developed elsewhere [10]. Even higher numbers of electrodes have been achieved based on high resolution multi-transistor arrays (pitch 7,8  $\mu\text{m}$ ) integrating 16384 sensors that can be read in parallel but with a noise which is quite high (70  $\mu\text{V}$  rms) with respect to spontaneous neuronal activity [11]. In addition, a limitation of these fully integrated solutions of electrodes and CMOS electronics is that the field of measurement is limited to a few millimetres, which is well suited for studies of small structures only.

For in vivo studies, microelectrode probes are generally implanted into the brain and are connected with wires to large amplifiers based on conventional electronics (from Plexon, Micromed or other companies). Connectors used for freely moving animals are usually limiting the number of channels in such recording system. New developments in progress try to replace the wires by RF links and to propose fully integrated and implantable devices [12,13]. Technical demonstrators for recording, but which are not usable so far in daily neurosciences studies, have been achieved.

To overcome the limitations seen previously, we designed a system with, on one hand, a high-density MEA whose topology can be adapted to the user needs and, on the other hand, an integrated electronics allowing simultaneous recording and stimulation of neural networks, and providing the opportunity to handle a larger number of channels.

This paper presents a new data acquisition system named BioMEA<sup>TM</sup>, which system can manage 256-channel MEA biochips that are interconnected to four 64-channel Application Specific Integrated Circuits (ASICs) dedicated to the amplification and the multiplexing of the signals and stimulation. Each ASIC includes one amplification stage and one current generator per channel, and has the capability to rapidly switch between recording and stimulation. The realization of high-density MEA systems with integrated electronics offers new possibilities for both in vitro and in vivo studies of large neural networks.

This paper is organized as follows: the system BioMEA<sup>TM</sup> is described first, then examples of in vitro and in vivo experimental results are presented. Finally, an overview of future developments is given.

## 2. Multi-channel platform for electrophysiology

The BioMEA<sup>TM</sup> system comprises an interface to a high-density MEA biochip with 256 electrodes, four dedicated 64-channel ASICs (amplification, analog multiplexing, current stimulation) running in parallel, specific acquisition boards, and a user-friendly software. This platform has been developed during the *Réseau des micro et nano technologies* (RMNT) project

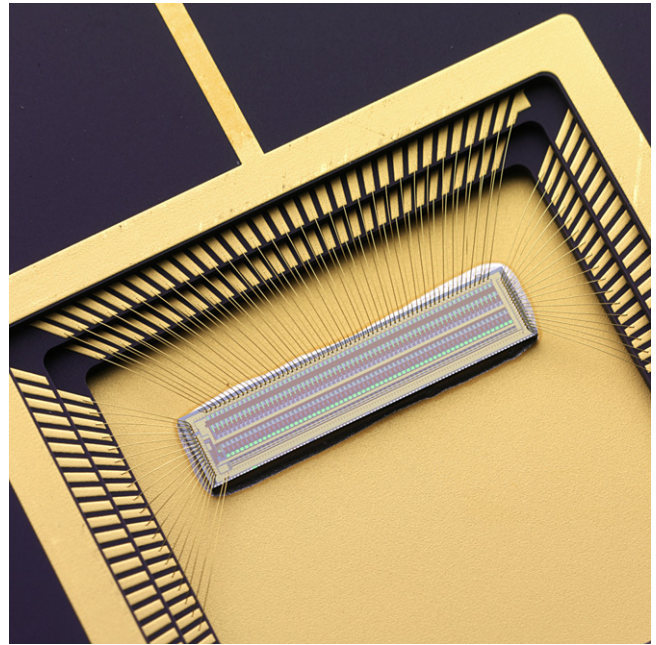


Fig. 1. Picture of ASIC AGNES mounted onto a ceramic carrier. It includes 64 channels recording and stimulation capabilities.

Neurocom (with MEMSCAP, BioLogic SAS, group ESIEE, CNRS-CNIC University of Bordeaux).

### 2.1. Integrated electronic

Interfacing neurons through MEAs using discrete electronics rapidly limits the number of channels, creating the need for highly integrated electronics to achieve sufficient spatial resolution [14–16].

Therefore, a dedicated ASIC named ASIC for General Neurons Electrical Study (AGNES) (Fig. 1) was developed in order to allow simultaneous recording and stimulation on 64 channels [17].

Each channel of this 64-channel CMOS chip (Fig. 2) is interfaced with neurons via a microelectrode array and includes a low noise, variable gain measurement channel. The preamplifier and the amplifier are based on the same structure which provides a unity DC gain and an AC gain of, respectively, 75 and 10 in the 1 Hz to 3 kHz bandwidth. Both can be separately switched to follower configuration. For each channel, an eight-to-one analog multiplexer (fed by eight external input signals for the whole ASIC) and a voltage-to-current converter allowing uniform current stimulation ( $\pm 400 \mu\text{A}$  peak maximum) independently of the electrode impedance are used for stimulation. The measured transfer function of the voltage-to-current converters shows a good linearity and a limited drift between channel 1 and channel 64. A global control signal was added to cut the residual DC current at the output of the 64 voltage-to-current converters once the stimulation patterns have been applied.

A Sample and Hold circuit allows snapshot style images of the 64 channels (with no time delay between channels as in a sequential reading), and can stand a maximum sampling frequency of 50 kHz, which leads to a data output

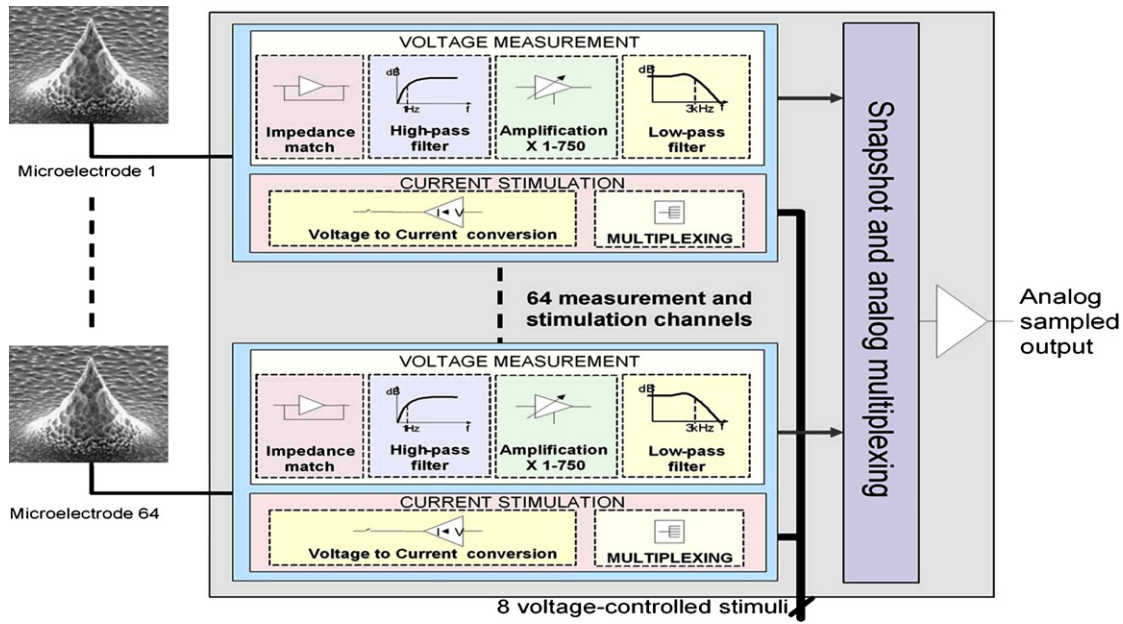


Fig. 2. Architecture of the ASIC AGNES. The preamplifier and the amplifier are based on the same structure which provides a unity DC gain and an AC gain of respectively 75 and 10 in the 1 Hz to 3 kHz bandwidth. Both can be separately switched to follower configuration. For each channel, an 8-to-1 analog multiplexer (fed by eight external input signals for the whole ASIC) and a voltage-to-current converter allowing uniform current stimulation.

frequency of 3.2 MHz (time-multiplexed). To get rid of the random DC offset potential existing at the electrode-electrolyte interface, the ASIC can be supplied with floating negative supply voltage (VSS) and positive supply voltage (VDD). The circuit's size is  $2.4 \text{ mm} \times 11.2 \text{ mm}$  ( $0.35 \text{ }\mu\text{m}$  CMOS process) (Table 1).

## 2.2. Electronic system set-up

The BioMEA<sup>TM</sup> system interfaces on 256 electrodes and performs both measurements and stimulations. This system can manage up to four 64-channels ASICs mounted on a mechanical support allowing electrical interconnections between four ASICs and an interface to a 256-channel array. The complete system includes the ASICs, recording and stimulation electronics boards for the control from a PC, and a dedicated user interface (Fig. 3).

The system can be easily adapted to interface various type of MEA biochips or probes, either for in vitro or in vivo studies.

Table 1  
Performance of the ASIC AGNES.

Parameter	Result
Power consumption	125 mW
Input-referred noise	$4.3 \text{ }\mu\text{V rms}$
Signal bandwidth	0.08 Hz to 3 kHz
Maximum sampling frequency	50 kHz
Maximum multiplexing frequency	3.2 MHz
Input impedance	$>10^{12} \text{ ohms}$
Variable gain	1, 10, 75, 750
Maximum stimulation current	$\pm 400 \text{ }\mu\text{A}$
Area (in $0.35 \text{ }\mu\text{m}$ CMOS)	$27 \text{ mm}^2$



Fig. 3. Picture of the complete BioMEA<sup>TM</sup> system including a controller (power supply and data acquisition), a MEA holder (ASIC electronics and MEA biochip interface) and a computer user interface.



### 2.2.1. Recording and stimulation electronics controls

The recording and stimulation electronics controls include analog signal adaptation, analog-to-digital converters (ADC), digital-to-analog converters (DAC), and also a digital interface (microcontroller and File Programmable Gate Array [FPGA]) for ASIC protocol and data transmission. This hardware electronics system has been designed to control up to four AGNES ASICs. There are four 14-bit ADCs for simultaneous conversions on the four ASICs' analog sampled outputs. The maximum sampling frequency for each channel is 50 kHz. Thus, each ADC is running at 3.2 MHz (64 channels per one analog sampled signal). For stimulation, eight 14-bit DACs for simultaneous voltage-controlled patterns generation are implemented. Eight voltage-controlled patterns are stored in eight 64 kB RAM blocks. A clock signal synchronizes the digital to analog conversion at a maximum sampling rate of 10 MHz. The system also provides an adjustable power supply for all ASICs. Indeed, the ASIC can be supplied with floating [VSS, VDD]: from [0 v, 5 v] to [−2.5 v, 2.5 v]. The large data amount and the low latency require high performance communications and signal processing capabilities. To handle the large amount of output data, an FPGA running at 48 MHz and a USB 2.0 interface chip were used.

### 2.2.2. Acquisition software and user interface

The BioMEA™ system is connected to a PC for data acquisition and controlled by a proprietary software user interface. The software is an essential component of the system. It manages the USB data handling, the data visualization, and the stimulus generation. Low latency and high data throughput are key requirements.

The software allows real time acquisition of 256 channels and data storage on all 256 channels at a time. The output data files are Cambridge Electronic design (CED) Spike2 data files (SON32 data format) which allows acquired data files to be replayed offline using Spike2 software (Cambridge Electronic design). Channels are displayed during acquisition and it is possible to navigate through data during recording. A user-friendly interface allows the configuration of the acquisition and of the stimulation parameters.

## 3. In vitro and in vivo validations

Scientists mainly use the MEA technology to study in vitro neuronal cell cultures and/or acute tissue brain slices. These cells/tissues are cultured/placed into the MEA biochips just above integrated metallic microelectrodes. It is then possible to monitor electrical activity of the cells/tissue, which is mainly composed of single unit neuronal action potentials or spikes (cell cultures), population spikes and local field potentials (tissue slices). With respect to commercial products, the BioMEA™ system can handle a larger number of electrodes; therefore it will be possible to cover larger neuronal networks (such as mouse spine) with a good spatial resolution. In addition, integration of the amplifiers in an ASIC is a first step towards an implantable device. The BioMEA™ has been validated with various biological preparations to show that it can

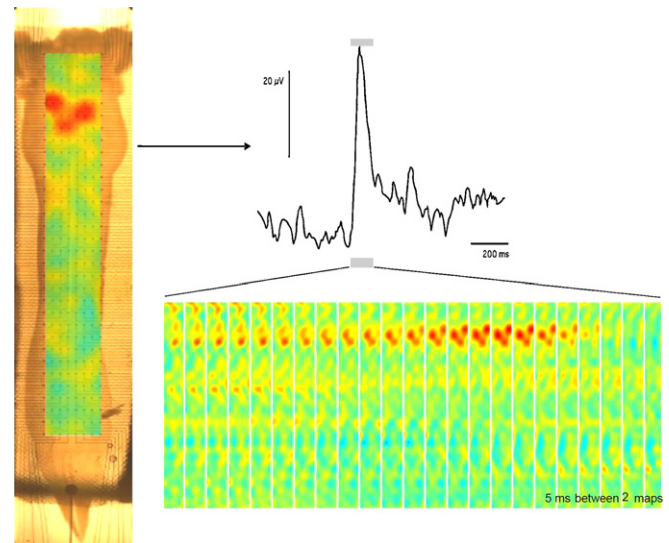


Fig. 4. Map of mouse spinal cord activities (local field potentials [LFP]) with a 256-electrode array and the BioMEA™ system.

record usual neuronal signals, spikes and LFP with good signal to noise ratio.

### 3.1. In vitro validation

As a first example, whole embryonic mouse hindbrain-spinal cord preparations isolated in vitro at embryonic days E13-E16.5 have been used using MEA biochips from ESIEE. Experiments driven at CNIC, University Bordeaux 1, France showed [18] spontaneous activity in the medulla characterized by LFP recurring every 1–3 minutes. Developing neural networks generate spontaneous activity that is important for the maturation of a functional circuit. This activity, which resembles sharp waves found in the cortex, could be suppressed by a pharmacological blockade of  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-propionate (AMPA)/Kainate glutamatergic receptors using 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) (10  $\mu$ M). A more detailed spatiotemporal mapping of these spontaneous LFP could be obtained using a transparent 256-electrode array (Fig. 4). Mapping of this 256-electrode array is adapted to the shape of the spinal cord (8 mm  $\times$  2 mm). Maps were built using surface spline interpolation.

Another example was performed at Ayanda Biosystems, Switzerland using dissociated wistar rat hippocampal neurons cell cultures (P1). Typical spontaneous activity could be recorded from dissociated hippocampal neurons with a 256-electrodes MEA biochip (Electrode diameter: 46  $\mu$ m and Electrode Spacing: 200  $\mu$ m) coated with PEI 1% prior to cell culture. Typical single unit action potentials with amplitude of up to approximately 100  $\mu$ Vpp and a noise level around 4  $\mu$ Vrms at 14 DIV are displayed in Fig. 5.

### 3.2. In vivo validation

The BioMEA™ system was initially designed for in vitro studies. However, as it was said previously, the interface with

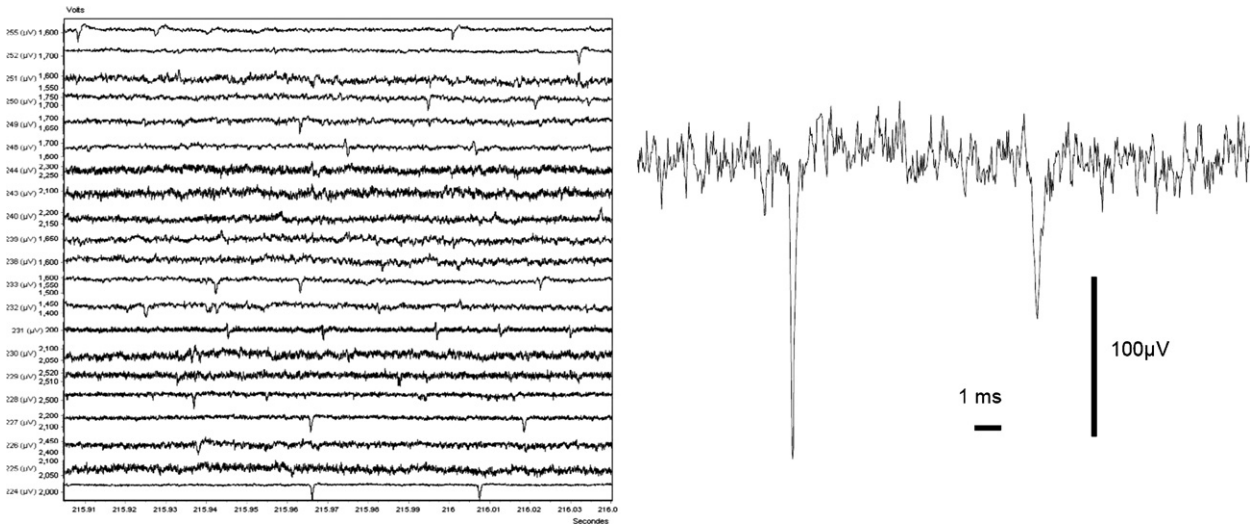


Fig. 5. Display of 20 recording traces out of 256 from monitoring of dissociated rat hippocampal neurons (P1) at 14 DIV. Spontaneous neuronal activity, i.e. single unit action potential with typical amplitudes varying between 50  $\mu\text{V}$  up to several hundreds of  $\mu\text{V}$ , can be observed without any stimulation.

the MEA biochip can be easily adapted to various connectors. Therefore, it became possible to adapt the BioMEA™ to in vivo studies with wired connections to with small animals. Experimental procedures and animal care were carried out in accordance with the European Community Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC).

First tests were performed at CEA, France with Pr A.L. Benabid within the framework of a Brain Computer Interface project in Clinatéc. The first goal was to record brain activity of rat (Electro-corticography [ECOG]). Screws were fixed in the skull of the animal and used as electrodes. They were connected by wire through a swivels commutator to

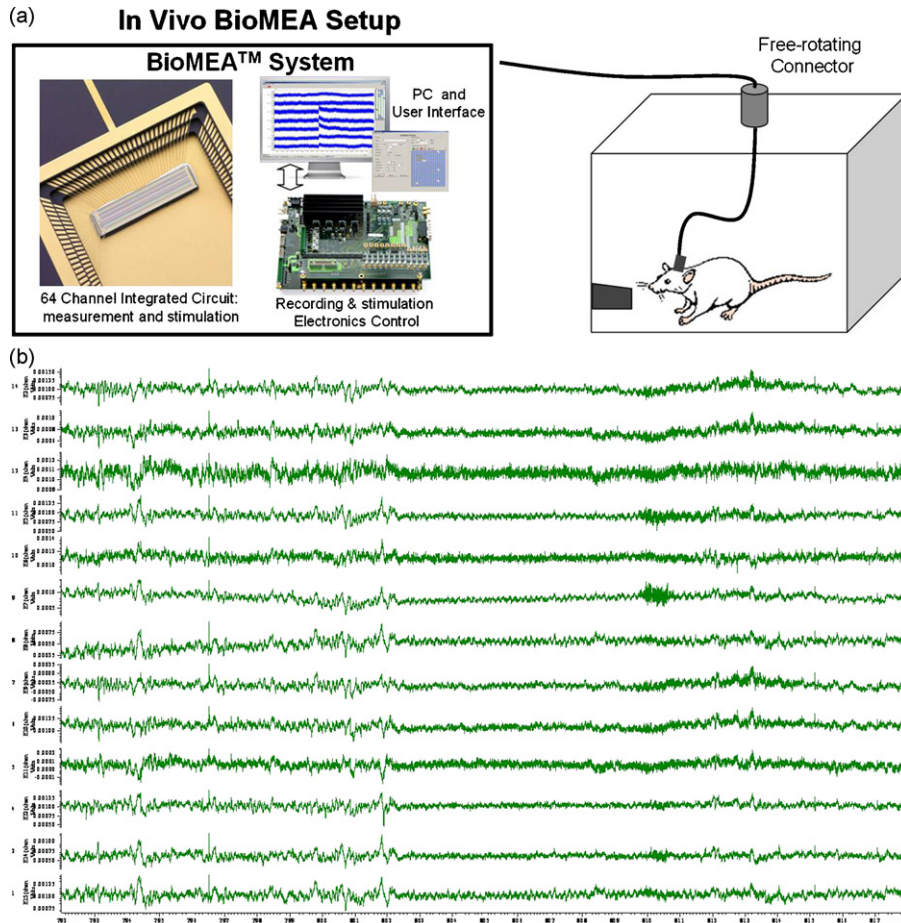


Fig. 6. In vivo recording with wired connection on a rat with implanted electrodes: (a) setup; (b) signals.

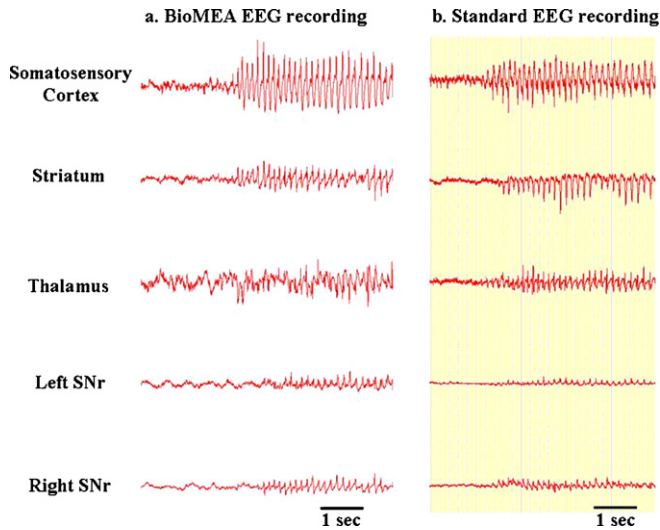


Fig. 7. Comparison of BioMEA<sup>TM</sup> and standard EEG (Micromed amplifier) recordings of a spike-and-wave discharge in the same GAERS rat (SNr = substantia nigra pars reticulata).

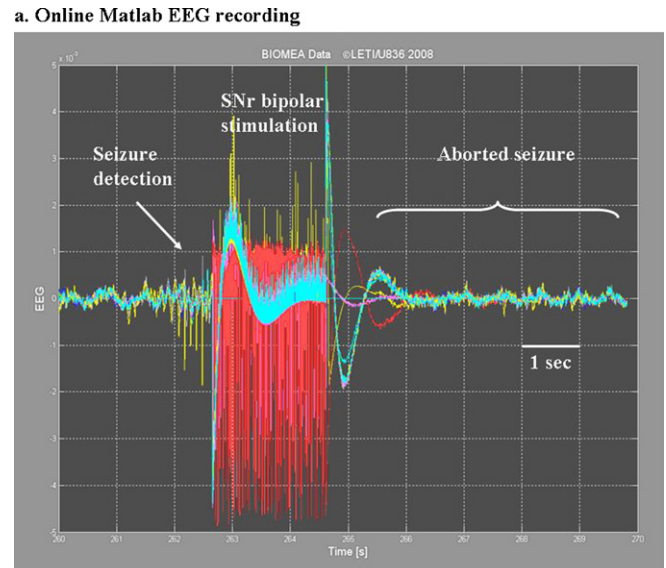
an ASIC AGNES. Brain signals were acquired with a reduced noise and an interesting bandwidth from 0.1 Hz up to 3 kHz for Brain Computer Interface (BCI) studies (Fig. 6).

Other *in vivo* validations were performed on rats at Grenoble's Institut de Neurosciences (GIN) [19] for investigations on epilepsy, using recording and stimulation capabilities of the system. This preliminary study constitutes a proof of concept for a closed-loop control of epileptic seizures in freely moving rodents (a genetic rat model of absence epilepsy: GAERS) using online EEG processing and stimulation automatically triggered by the means of the BioMEA<sup>TM</sup> system interfaced to Matlab.

Fig. 7 shows that EEG signals obtained with BioMEA<sup>TM</sup> were highly comparable to those recorded with EEG apparatus from manufacturers (Micromed, Treviso, Italy). In this application, the real benefit in using BioMEA<sup>TM</sup> is the possibility to deliver electrical stimulation at any sampled brain location in a fully programmable manner. This specific functionality was used to develop adaptive protocols of neurostimulation *in vivo*. In epileptic rats, a seizure detection algorithm delivered online command to BioMEA<sup>TM</sup> for bilateral stimulation of the substantia nigra pars reticulata (SNr), which aborted spike-and-wave discharges in many instances, within 1 second following seizure onset. The parameters of bilateral stimulation of SNr were as follows:

- bipolar;
- monophasic;
- pulse width = 60  $\mu$ s;
- frequency = 60 Hz;
- intensity = 100  $\mu$ A;
- duration = 2 seconds.

These results are presented on Fig. 8. Fig. 8a shows online snapshot of the visual control provided by Matlab for a typical seizure that was successfully aborted. Fig. 8b shows the same seizure but displayed with an appropriate montage in the



b. Offline Spike2 EEG visualisation

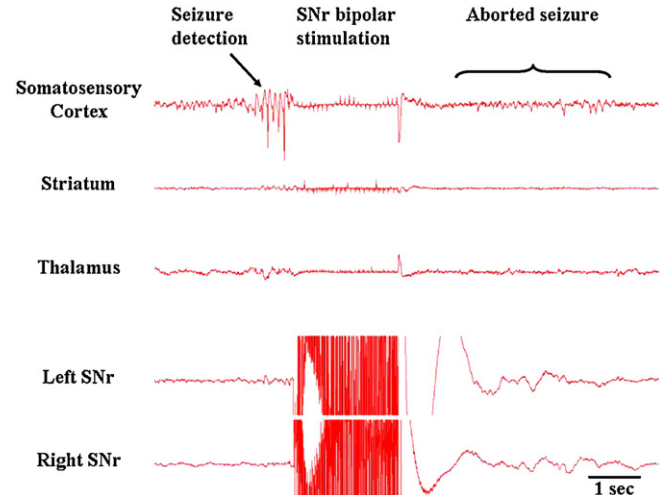


Fig. 8. a: epileptic seizure automatically aborted as shown online in Matlab; b: offline display in Spike2 software of the same seizure as in (a).

Spike2 software (compatible with the format of recorded data). Note that less than 1 second is needed to trigger the stimulation after seizure onset. Seizures were all successfully detected and, on average, 70% of them were aborted by the automatically triggered stimulation.

#### 4. Needs for embedded systems

The BioMEA<sup>TM</sup> platform provides new opportunities for research in neurosciences owing to the large number of electrodes that can be managed, and its electrical stimulation and monitoring capabilities.

Nevertheless, in order to make the current BioMEA<sup>TM</sup> system suitable for *in vitro* applications such as drug discovery where higher throughput is required, the current number of electrodes to manage will have to be increased. As recording systems such as the BioMEA<sup>TM</sup> generate large amounts of data due to the simultaneous and continuous high-rate sampling on a large num-

ber of channels, it will become important to reduce the recorded information to only the information of interest, i.e. the biological activity. Typically, the activity of biological preparations is continuously recorded at sampling frequencies in the range of 10 kSps–50 kSps. This large amount of data generated contains mostly no information because the neurons' typical spike firing rates are in the range of 10 to 50 spikes per second per electrode and the duration of a spike signal is typically 1–3 ms. There is thus a need to embed real time signal processing into the system hardware in order to detect biological activity and to remove all parts of the recording that corresponds to only background noise of the electrode-electrolyte interface of the electrodes.

Two distinct levels of data reduction can be achieved through (1) spike detection allowing the extraction of the spike signal itself and (2) spike sorting leading to on-chip classification of the spike signal. CEA-LETI is involved in that domain and is developing new methods that have a low digital complexity and which are compatible with a low-power digital architecture implementation [20,21].

The achievement of the AGNES ASIC development through the Neurocom project was the first step towards integration of an electrophysiological monitoring system. The current hardware is based on large electronics boards for control and wired connection as well as on large ASIC carriers that can be miniaturized easily.

This further miniaturization is an important step towards development of implantable devices for *in vivo* investigations or therapeutic functionalities (prostheses). In order to achieve novel *in vivo* tools, CEA-LETI is working on a new low-power ASIC suited for electrical monitoring that will include CAD and a simpler control. Therefore, it will become possible to develop a first generation of recording implants, by adding a low-power micro-controller for system management and RF link. Security of such implants is also an important issue, especially as it will be developed for usage on humans. This work is currently in progress in the project BCI in the context of Clinatec lead by Prof. A.L. Benabib.

## 5. Conclusions

An innovative system, the BioMEA<sup>TM</sup>, has been developed in the context of the Neurocom project. It provides new functionalities of recording and stimulation on large MEA for research applications in neurosciences and was successfully validated through typical *in vitro* and *in vivo* investigations on various biological preparations.

Owing to these good obtained results, an industrial transfer was organised with BioLogic, France with the objective of commercialisation of an instrument for *in vitro* applications. The BioMEA<sup>TM</sup> product [22] was developed in collaboration with Ayanda Biosystems, Switzerland.

Further developments on real-time signal processing integration using FPGA (File Programmable Gate Array) components are in progress through the project ANR TECSAN RETINE (Project that began in 2009). Electronics miniaturization towards implantable devices with improved security is also in progress through the project BCI Clinatec.

## Acknowledgment

The development of BioMEA<sup>TM</sup> was supported by The French Ministry of technology (Neurocom RMNT Project). Part of the work was also supported by the French National Research Agency (ANR) through Carnot funding.

The authors wish also to thank C. Moulin, S. Joucla and P. Meyrand (CNRS-LNR), and V. Perrais (Group ESIEE), T. Kauffmann (Bio-Logic) and partners in the project Neurocom. The authors wish also to thanks Pr A.L. Benadid, F. Sauter, and A. Depaulis, for their involvement in the *in vitro* and *in vivo* validations, and R. Escola, A. Defontaine and T. Levi for their work on neuronal signal processing.

## References

- [1] Kovacs GT. Electronic sensors with living cellular components. *Proceeding of the IEEE* 2003;91:915–29.
- [2] Rutten WL. Selective electrical interfaces with the nervous system. *Annual Review of Biomedical Engineering* 2002;4:407–52.
- [3] Beggs JM, Plenz D. Neuronal Avalanches in Neocortical Circuits. *Journal of Neuroscience* 2003;23:11167–77.
- [4] Buzsaki G. Large-scale recording of neuronal ensembles. *Nature Neuroscience* 2004;7:446–51.
- [5] Nicolelis MA, Ghazanfar AA, Faggin BM, Votaw S, Oliveira LM. Reconstructing the engram: simultaneous, multisite, many single neuron recordings. *Neuron* 1997;18:529–37.
- [6] Eytan D, Brenner N, Marom S. Selective Adaptation in Networks of Cortical Neurons. *Journal of Neuroscience* 2003;23:9349–56.
- [7] Margalit E, et al. Retinal prosthesis for the blind. *Survey of Ophthalmology* 2002;47:335–56.
- [8] Nicolelis MA. Actions from thoughts. *Nature* 2001;409:403–7.
- [9] Jackson A, Mavoori J, Fetzi EE. Long-term motor cortex plasticity induced by an electronic neural implant. *Nature* 2006;444:56–60.
- [10] Frei U, et al. "AN 11k-Electrode 126-Channel High Density Microelectrode Array to interact with Electrogenic Cells". In *ISSCC. San Francisco; 2007*, p. 158–159.
- [11] Hutzler M, Lambacher A, Eversmann B, Jenkner M, Thewes R, Fromherz P. High-resolution multi-transistor array recording of electrical field potentials in cultured brain slices. *Journal of Neurophysiology* 2006;96:1638–45.
- [12] Perlin GE, Wise KD. Ultra-Compact integration for Fully-Implantable Neural Micro-Systems Micro Electro Mechanical Systems, 2009. *MEMS 2009. IEEE 22nd International Conference on 25–29 January 2009*, p. 228–231.
- [13] Harrison RR, Kier RJ, Chestek CA, Gilja V, Nuyujukian P, Ryu S, et al. Wireless neural recording with single low-power integrated circuit. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering* 2009;17(4):322–9 [Epub 2009 June 2].
- [14] Blum RA, Ross JD, Simon CM, et al. "A Custom Multielectrode Array with Integrated Low-Noise Preamplifiers" presented at *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology – Proceedings; 2003*, p. 3396–3399.
- [15] Dabrowski W, Grybos P, Hottowy P, et al. "Development of integrated circuits for readout of microelectrode arrays to image neuronal activity in live retinal tissue" presented at *IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record; 2003*, p. 956–960.
- [16] Berdondini L, Van Der Wal PD, Guenat O, et al. High-density electrode array for imaging *in vitro* electrophysiological activity. *Biosensors and Bioelectronics* 2005;21:167–74.
- [17] Charvet G, Billoint O, Rousseau L, Yvert B. "BioMEA: a 256-channel MEA system with integrated electronics". *Conference Proceedings: Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society 2007;2007*:171–4.
- [18] Charvet G, et al. "BioMEA<sup>TM</sup>: A 256-channel microelectrode array (MEA) system with integrated electronics for recording and stimulation of neural networks". *Conference MEA Meeting 2008; pp.* 283.

- [19] SAILLET S, CHARVET G, GHARBI S, DEPAULIS A, GUILLEMAUD R, DAVID O. “Closed-loop control of seizures in a rat model of absence epilepsy using the BioMEA™ system”. IEEE EMBS Neural Engineering; 2009.
- [20] ESCOLÁ R (PhD). « Traitement de signaux neuronaux sur système embarqué »; 2008.
- [21] BÊCHE J-F, BONNET S, LÉVI T, ESCOLÁ R, NOCA A, CHARVET G, GUILLEMAUD R. “Real-time Adaptive Discrimination Threshold Estimation for Embedded Neural Signals Detection”. IEEE EMBS Neural Engineering; 2009.
- [22] BioMEA Brochure: <http://www.bio-logic.info/electrophysiology/biomea.html>.

### IV.3 La stimulation asservie sur le long terme (projet d'article 5)

Ce travail présente les premiers résultats de neurostimulation asservie réalisée pendant plusieurs heures (24h max), chez le rat GAERS libre de se mouvoir. Seuls les résultats et leurs implications sont décrits ici, les matériels et méthodes ayant été développés précédemment.

#### **Résultats**

##### 1) Mesure du seuil antiépileptique

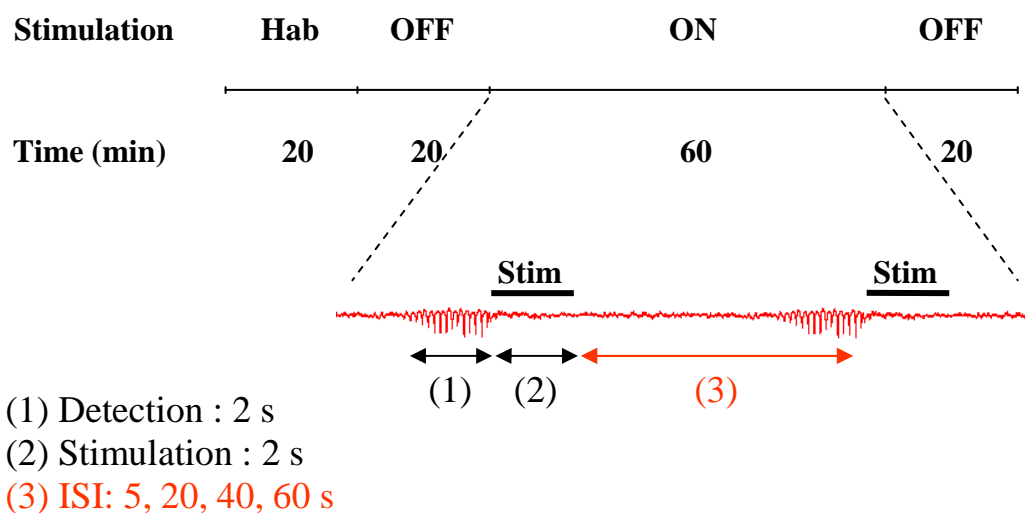
Dans un premier temps, les seuils antiépileptiques ont été déterminés pour chaque rat en suivant le protocole de stimulation bilatérale de la SNr avec les paramètres de stimulation bipolaire suivants : fréquence = 60 Hz, durée de pulse = 60  $\mu$ s, durée de stimulation = 2 s, délai de 1 minute minimum entre chaque stimulation. Les seuils antiépileptiques ont été en moyenne de  $71,1 \pm 10,47 \mu$ A (n=9 rats), résultats qui sont du même ordre de grandeur que les seuils antiépileptiques déterminés par l'étude réalisée au laboratoire (Feddersen et coll., 2007).

##### 2) Mesure de la période réfractaire

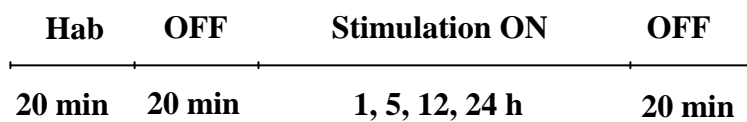
Avant de commencer la stimulation asservie sur plusieurs heures, il nous était important de quantifier l'intervalle inter-stimulation (ISI) nécessaire pour qu'une stimulation soit efficace. La valeur de cet ISI a été considérée comme la «période réfractaire» dans les travaux de Feddersen et coll., (2007), mais cette étude n'a exploré que quelques intervalles de temps. Le système de stimulation asservie développé dans cette étude, en permettant de fixer l'ISI, offre ainsi la

possibilité de déterminer la période réfractaire avec plus de précision. Pour cela, nous avons réalisé chez 6 rats des enregistrements d'une heure de stimulation asservie, avec différentes valeurs d'ISI minimum (5, 20, 40, 60 s) (Figure 1A) et les mêmes paramètres de stimulation bilatérale que ceux utilisés pour la détermination du seuil antiépileptique. Cette expérience montre que l'efficacité des stimulations augmente avec la valeur de l'ISI (Figure 2). Pour un ISI de 5 sec, on observe une interruption des crises dans 51% des cas, alors que pour 40 et 60 sec, nous avons respectivement 96 et 95% de crises interrompues. Ceci est en accord avec l'étude de Feddersen (2007) et suggère l'existence d'une période réfractaire de 40 s avec les paramètres de stimulation utilisés.

**A .**



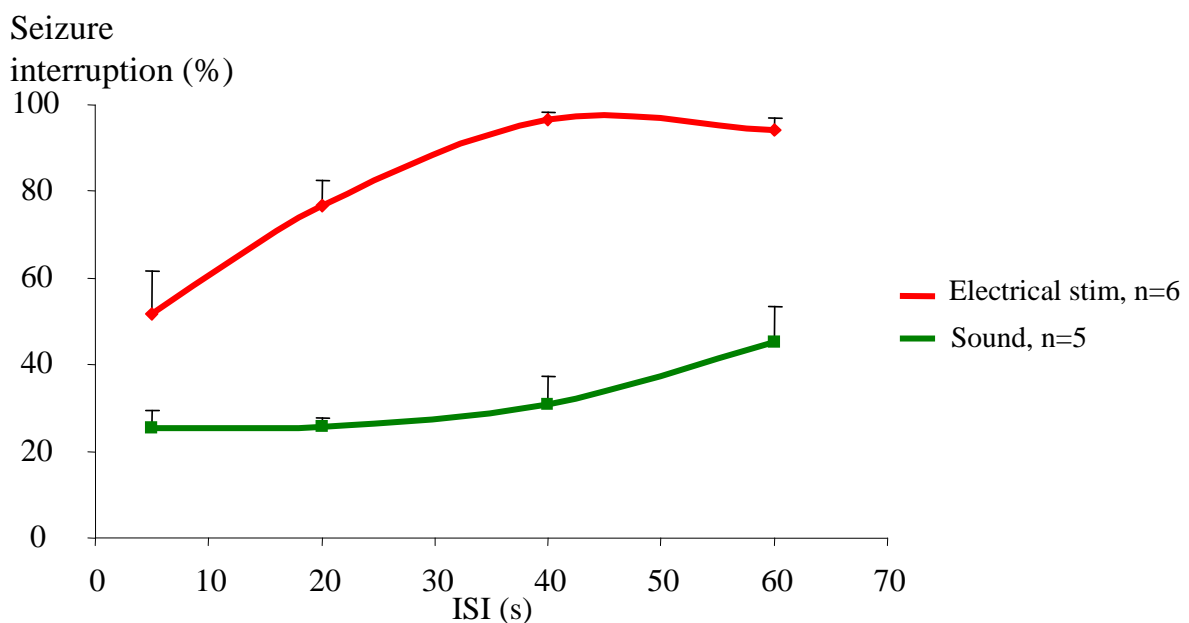
**B .**



Closed-loop stimulation of the SNr :  
 bilateral, 60Hz, 2 sec, ISI 40 s

**Figure 1: Représentation schématique des protocoles expérimentaux.** (A) Protocole de mesure de l'ISI, (B) Protocole de stimulation asservie. L'ISI correspond à l'intervalle inter stimulation.

Afin de démontrer si cette période réfractaire est un phénomène lié à la stimulation électrique intracérébrale, plutôt qu'à une réponse globale d'habituation aux stimulations répétées, nous avons appliqué chez 5 rats le même protocole, mais en substituant à la stimulation électrique un stimulus auditif (ton monofréquentiel de 2kHz pendant 2 sec, d'une intensité comprise entre 74,3 et 92,1dB). En effet, de même que chez l'homme, une stimulation sensorielle peut interrompre une décharge de pointe onde chez le rat GAERS. Les paramètres de ce stimulus sonore ont été déterminés de la même façon que les paramètres de mesure des seuils antiépileptiques. Ce seuil d'intensité sonore propre à chaque rat, correspond à l'intensité sonore nécessaire et suffisante à l'interruption d'une crise. Ce type de stimulus induit un arrêt des crises inférieur à 45%, quelle que soit la durée de l'ISI. Ceci suggère une spécificité antiépileptique de la stimulation de la SNr par rapport à une stimulation sensorielle chez le GAERS et que les deux types de stimulation sont statistiquement différentes ( $F(1,9)=120.14$ ,  $p<0.0001$ , ANOVA à deux variables). De plus, la courbe des effets antiépileptiques d'une stimulation de la SNr en fonction de l'ISI suggère que la période réfractaire obéit à d'autres lois que celles de l'habituation (Figure 2).





**Figure 2: Mesure de l'efficacité de la stimulation en fonction de l'ISI.** Le % de crise interrompu par une stimulation électrique est représenté en rouge (n=6 rats), et le % de crises interrompues par une stimulation sonore est représenté en vert (n=5 rats) Les analyses statistiques montrent une différence significative entre les deux types de stimulation ( $F(1,9)=120.14$ ,  $p<0.0001$ , ANOVA deux variables).

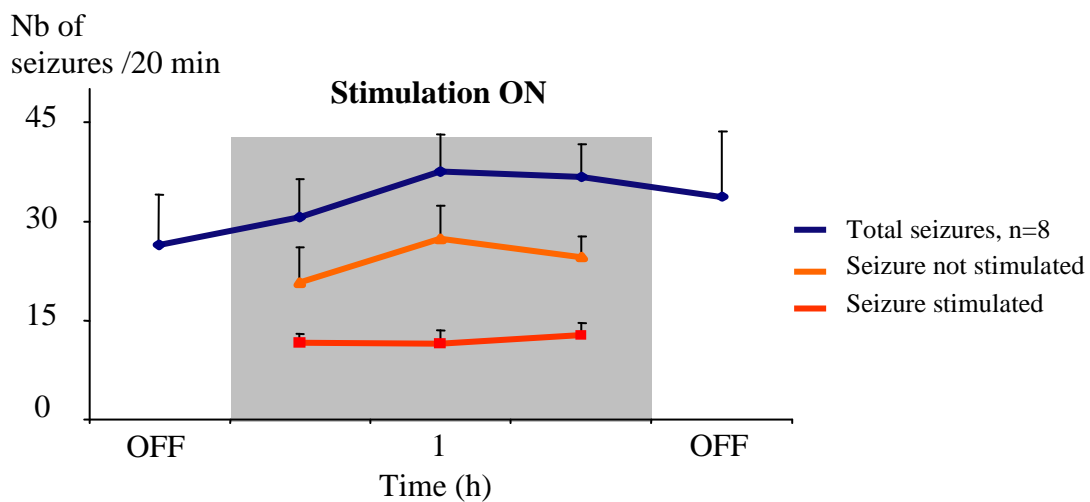
### 3) Stimulation asservie

Dans une deuxième phase de l'étude, des protocoles de stimulation asservie ont été évalués pendant des périodes de 1, 5, 12 et 24 heures, afin de déterminer l'efficacité et la spécificité de la détection des DPO. Pour les périodes de 1 et 5h, les effets de stimulations asservies de la SNr avec un ISI de 40 sec ont été comparés à des périodes équivalentes avec une stimulation sonore, comme celle utilisée précédemment, ou une stimulation «sham» (intensité = 0  $\mu$ A). Dans tous les cas, les résultats ont été exprimés en nombre total de crises par période de 20 minutes, nombre de crises non stimulées, nombre de crises détectées et stimulées et pourcentage de crises interrompues.

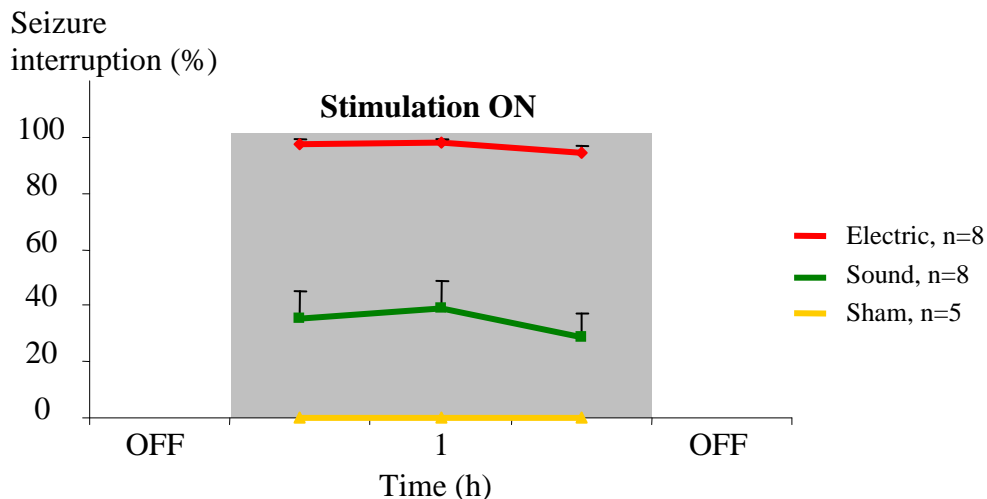
En effet, dans ces conditions, environ 35 DPO sont enregistrées par période de 20 minutes (Figure 3A) et en raison de l'ISI choisi (40 s), la stimulation est activée pour 15 d'entre elles. Le pourcentage de crises interrompues par la stimulation, suite à une détection dans les 2 s qui suit le début d'une crise, permet de définir l'efficacité de la stimulation (Figure 3B). Enfin le nombre de «fausses» détections, c'est-à-dire le nombre de stimulations faites en dehors des DPO (pendant le sommeil, pendant un artéfact de mouvement ou encore pendant une phase où le rat se toilette) a été quantifié et permet d'apprécier la spécificité de la détection, paramètre important pendant des périodes longues.

**Au cours d'un enregistrement d'une heure, 97% des crises stimulées ont été interrompues, avec une spécificité de 99%. Lorsqu'une stimulation sonore ou une stimulation sham a été utilisée sur les mêmes animaux, les DPO ont été interrompues seulement dans 40% et 0% des cas, respectivement (Figure 4B). Cette différence est statistiquement significative ( $F(2,18)=69.75, p<0.0001$ , ANOVA à deux variables).**

**A.**

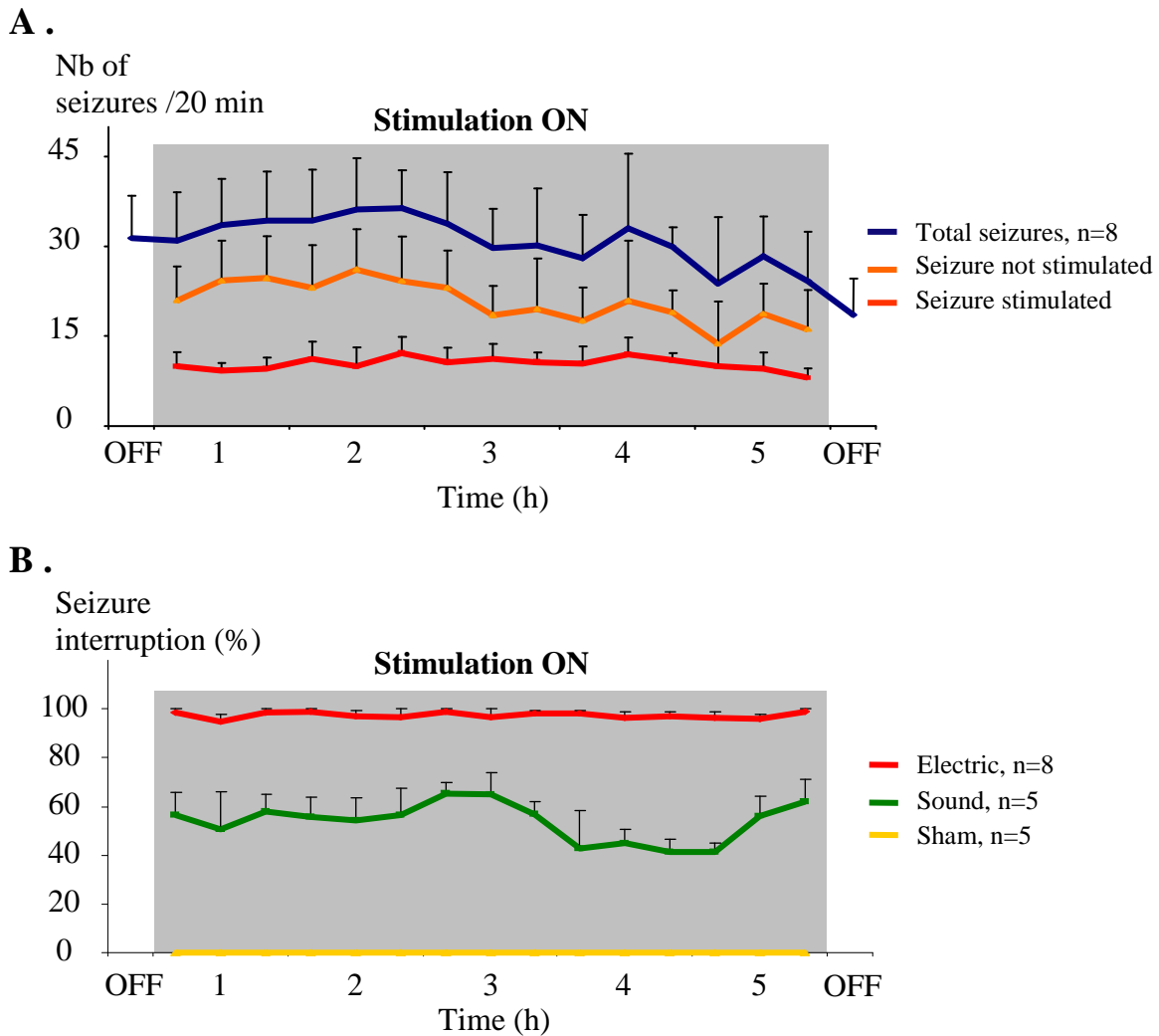


**B.**



**Figure 3: Survenue des crises et efficacité de la stimulation asservie pendant une heure. (A) Nombre de crises, (B) Efficacité de la stimulation ( $F(2,18)=69.75, p<0.0001$ , ANOVA à deux variables).**

Afin de s'assurer que cet effet ne se limite pas à un effet transitoire dans des conditions qui restent très contrôlées, nous avons appliqué le même protocole **pendant 5 heures** chez huit rats (Figure 1B). Dans ces conditions, le nombre de DPO détectées et stimulées reste en moyenne de 15 par période de 20 minutes, alors que le nombre total de DPO tend à diminuer à partir de la quatrième heure de stimulation (Figure 4A). Le pourcentage (97%) de crises interrompues reste stable au cours des 5 heures de protocole, ainsi que la spécificité de la détection (99%). Comme pour l'expérience sur 1h, la stimulation sonore entraîne une interruption des DPO dans seulement 50 % des cas, sans que l'on note un effet d'habituation avec le temps. De plus, aucune interruption n'est observée avec la stimulation Sham. Ces données confirment bien qu'une stimulation bilatérale de la SNr à 60 Hz pendant 2 s est efficace pour l'arrêt des crises chez le GAERS, sur une et cinq heures, et que cet effet est spécifique d'une stimulation électrique.



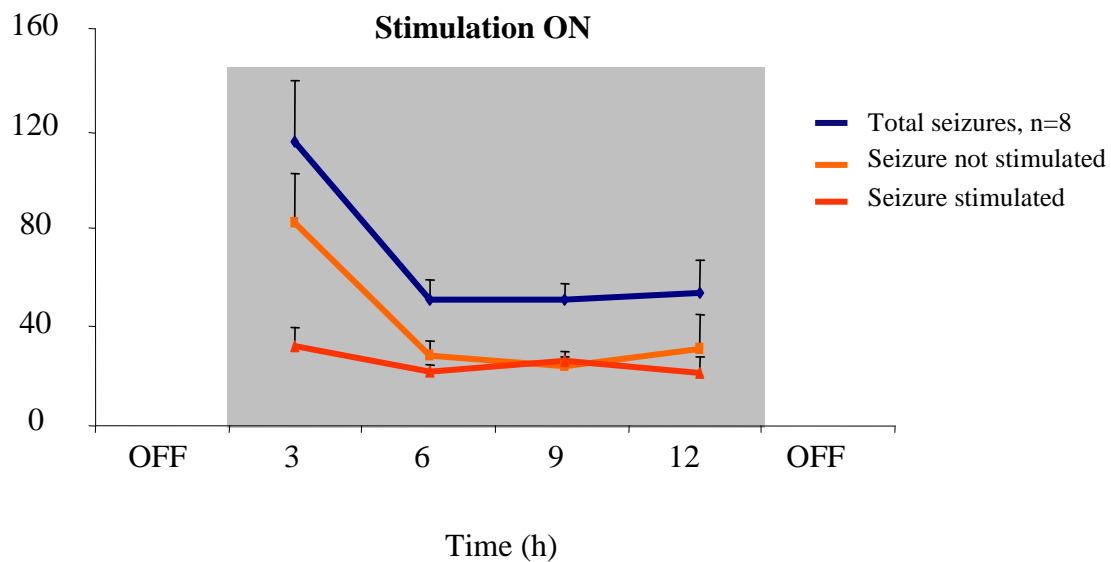
**Figure 4: Survenue des crises et efficacité de la stimulation asservie pendant 5 heures.** (A) Nombre de crises, (B) Efficacité de la stimulation ( $F(2,15)=1692$ ,  $p<0.0001$ , ANOVA à deux variables).

Enfin dans une dernière série d'expériences, notre objectif a été de suivre l'évolution d'une stimulation asservie en fonction du rythme biologique circadien. Pour cela, nous avons testé des protocoles plus longs, **de 12** (n=8 rats) (Figure 5) **et de 24 heures** (n=3 rats) (Figure 6). Contrairement aux protocoles plus courts, les rats n'étaient pas maintenus dans un état de veille calme mais en condition plus « physiologique », sans aucune intervention de l'expérimentateur où les animaux pouvaient ainsi s'endormir, s'alimenter, explorer leur cage et se

toiletter. Dans ces conditions, le nombre total de DPO varie au cours du temps (Figure 6A). Pendant les enregistrements de jour (période de lumière) : les rats ont une activité critique importante avec en moyenne 190 crises (dont seulement 40 sont stimulées en raison de l'ISI minimum) au cours des 3 premières heures d'enregistrements (de 7-10h). Puis dans les 6 heures suivantes (de 10-16h), les animaux présentent essentiellement un état de sommeil entrecoupé de périodes de veille calme où il sont sujets à des crises parfois espacées, mais aussi parfois très rapprochés (clusters). En moyenne dans ces deux périodes de 3 heures, les animaux font 50 crises (par période de 3h) dont 20 à 30 crises sont stimulées. Enfin, pendant les trois dernières heures du jour (période de lumière de 16-19h) précédant la nuit, le nombre de crises augmente pour être en moyenne de l'ordre de 90 crises, dont seulement 35 sont stimulées. Puis, pendant les 9 premières heures de la nuit (de 19-4h), les rats sont en état d'activité, avec une diminution progressive du nombre de crises totales (60 et 50 crises) par période de 3 heures, dont 20 à 30 sont détectées et stimulées. Enfin, dans les 3 dernières heures qui précèdent la période de lumière (de 4-7h), le nombre de crises est de l'ordre de 20, dont 10 en moyenne sont détectées et stimulées. Au cours des enregistrements de 12 (Figure 5A) et 24 heures (Figure 6A), on observe une variation du nombre de crise totale qui tend à diminuer, et un maintien du nombre de crises détectées et stimulées. L'efficacité de la stimulation (caractérisée par le pourcentage de crises interrompues) varie mais reste néanmoins aux alentours de 75% d'interruption de crise pour les enregistrements de 12 heures (figure 5B) et aux alentours de 70% d'interruption pour 24 heures (figure 6B) de stimulation asservie. Enfin, la spécificité de la détection est de 80% pour les enregistrements de 12 heures et de 70% pour ceux de 24 heures.

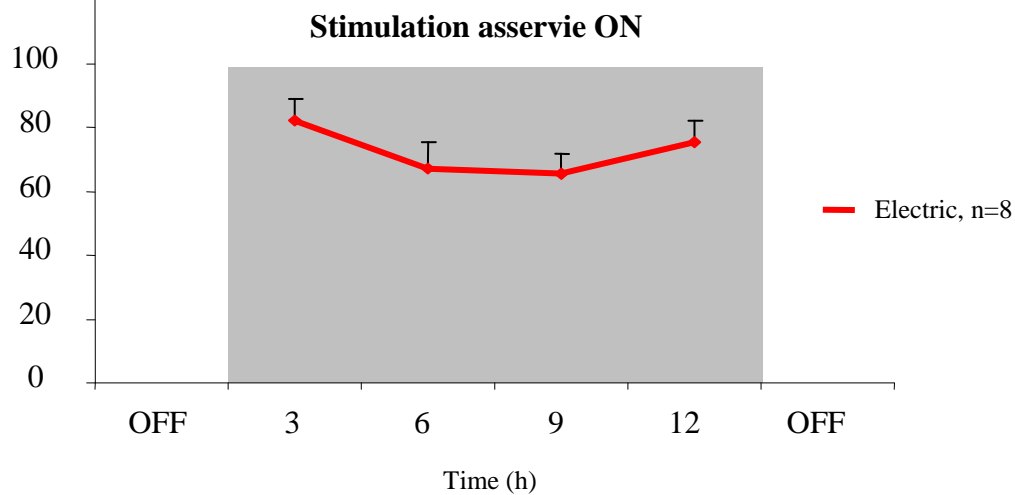
**A .**

Nb of seizures /3 h



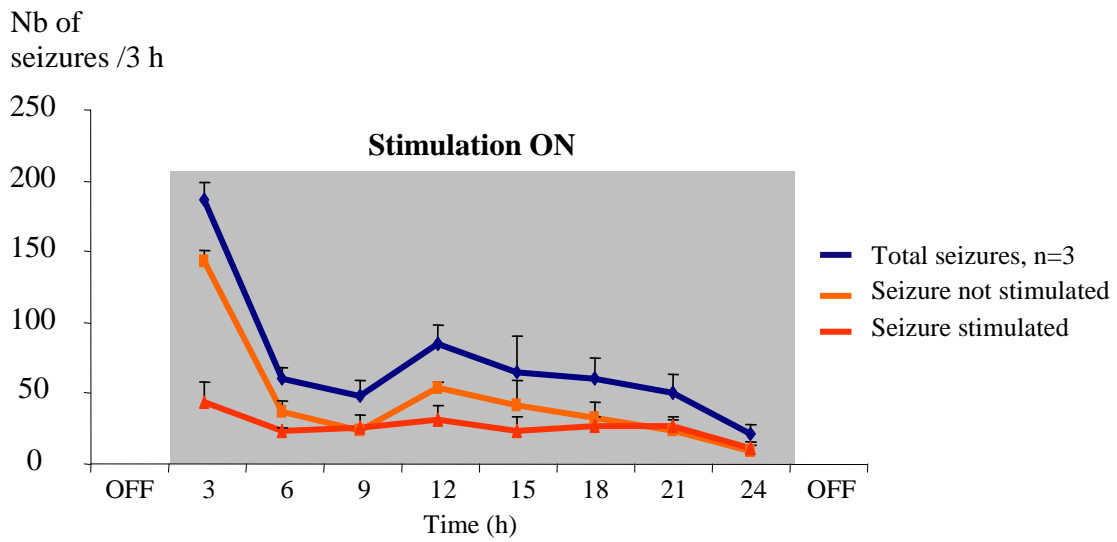
**B .**

Seizures interrupted (%)

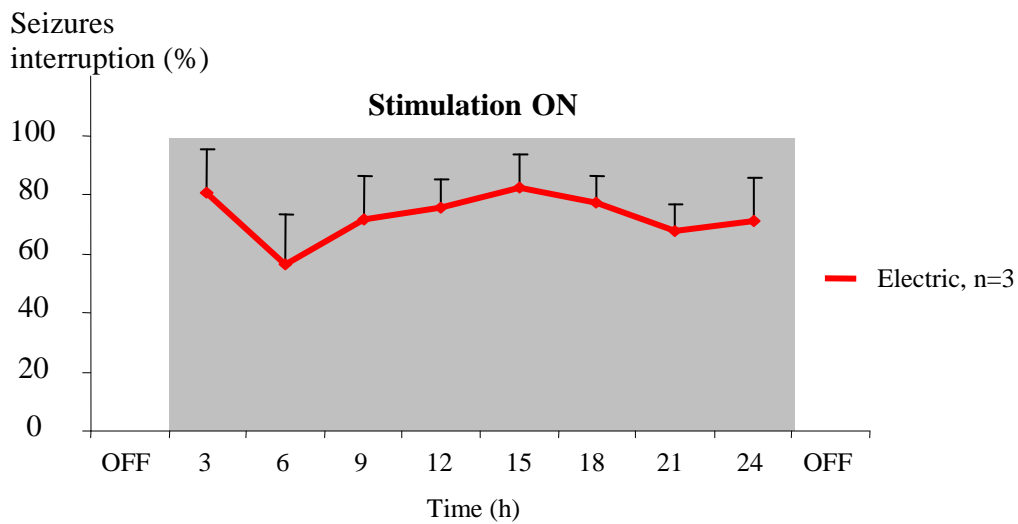


**Figure 5: Survenue des crises et efficacité de la stimulation asservie pendant 12 heures.** (A) Nombre de crises, (B) Efficacité de la stimulation.

**A.**



**B.**



**Figure 6: Survenue des crises et efficacité de la stimulation asservie pendant 24 heures. (A) Nombre de crises, (B) Efficacité de la stimulation.**

## **Discussion**

Les principaux résultats de cette dernière série d'expérience suggèrent les points suivants :

1. il est nécessaire d'attendre au minimum 40 secondes entre deux stimulations électriques de la SNr d'une durée de 2 secondes pour que la deuxième puisse interrompre une DPO.
2. la stimulation asservie de la SNr est efficace dans l'interruption des DPO, chez le GAERS.
3. cette efficacité est spécifique des stimulations électriques.
4. cette efficacité est proche de 100% sur des périodes courtes (1-5h) et elle tend à diminuer lors de périodes plus longues (12-24 h).
5. la détection est spécifique des DPO.

### **I. Période réfractaire**

Nos résultats confirment l'existence d'une période réfractaire pendant laquelle "le réseau de contrôle" mis en jeu par la stimulation à haute fréquence de la SNr peut difficilement être réactivé, confirmant ainsi l'étude précédente réalisée au laboratoire (Feddersen et coll., 2007). En outre, le système mis au point a permis de déterminer cette période avec plus de précision. De plus, nos résultats permettent de vérifier que ce phénomène n'est pas seulement dû à une habitude, comme cela peut être observé avec une stimulation sonore. Ainsi, pour qu'une stimulation électrique soit efficace, elle doit être livrée selon des protocoles non continus tenant compte de la période réfractaire pour l'obtention d'un fort effet antiépileptique (Popovych et coll., 2006).



## II. Robustesse de l'algorithme de détection

Après avoir déterminé la période réfractaire, il était important de tester les performances de notre algorithme de détection et de stimulation lors d'enregistrements d'1, 5, 12 et 24 heures. Il faut noter ici que la stratégie de stimulation mise en place a été de stimuler le plus tôt possible après l'apparition des premiers signes de crises. D'un point de vue clinique, il nous a paru en effet important d'interrompre une crise le plus tôt possible. J'ai donc paramétré notre algorithme afin de déclencher les stimulations dès les deux premières secondes de crise. Cette contrainte est au détriment de la spécificité de détection : le début d'une DPO peut en effet être confondu avec des fuseaux de sommeil (spindles) (Pinault et coll., 2006). Effectivement, alors que notre algorithme a une très bonne spécificité (99%) lors des périodes courtes, celle-ci est plus basse (80%) lors des protocoles plus longs où des périodes de sommeil peuvent survenir.

Lors des protocoles longs, différents problèmes sont survenus :

- Le système BioMEA a dû être réajusté pour ces expériences, en partie en raison de la saturation de la mémoire (problème de dialogue entre la commande Matlab et le BioMEA) de l'ordinateur qui pilote le BioMEA. En effet, au cours des enregistrements de 12 heures, le système a ainsi cessé de détecter certaines crises. Ces résultats ont dû être écartés de notre étude et nous avons réajusté le système, en rafraîchissant et allégeant certaines étapes de calcul pour la détection.
- Suite à ce réajustement, des variations du seuil d'entropie de permutation sur lequel repose la détection ont été rencontrées qui nous empêchaient de distinguer les DPO de façon robuste. Une instabilité de l'électronique est probablement à l'origine de l'apparition d'artéfacts à haute fréquence (>300 Hz) impactant la mesure d'entropie.

- Enfin, la survenue de phases de sommeil lors des périodes longues nous a permis d'identifier certaines limites de notre système, puisque dans un premier temps le système stimulait également pendant les phases de sommeil. Un dernier ajustement de l'algorithme de détection de crise a été fait, de façon à ce que le système soit capable de mieux distinguer les DPOs des fuseaux de sommeil. Ces derniers résultats, nous ont ainsi permis de faire un dernier réajustement de notre système, nous permettant d'obtenir une spécificité de détection proche de 80%. De plus, l'approche de Schindler et al (2007) à été testée lors d'un enregistrement de 24h en plus de l'entropie nous permettant de corriger le problème de faux positifs. Cette technique quantifie la synchronie entre les dix voies nomopolaires enregistrées, en calculant les valeurs propres de la matrice de covariance des DPOs.

Les différents problèmes rencontrés nous ont permis dans un premier temps, de valider la robustesse de notre système de détection-stimulation. Au cours de ce travail, des compromis ont dû être faits. En effet, j'ai décidé d'utiliser comme critère majeur de détection, une détection rapide avec une forte efficacité, quitte à accepter une spécificité un peu moins bonne (aux alentours de 80%), pendant les enregistrements longs. L'utilisation du GAERS comme modèle de crises récurrentes avec des IIC souvent inférieurs à 40 s nous permet de justifier de façon acceptable le compromis fait sur la spécificité. La robustesse d'un système de détection est donc une question majeure.

### **III. Effets antiépileptiques de la stimulation**

Ce travail nous ainsi permis de confirmer qu'une stimulation électrique asservie (1-5 h), a un effet antiépileptique spécifique et efficace. De plus, au cours des enregistrements (5, 12, 24h) une diminution progressive du nombre de crises en

fin de période de stimulation, suggère que cet effet pourrait être encore plus efficace à long terme, laissant supposer l'existence d'un phénomène de « renforcement » de la stimulation. Ce phénomène peut être comparé à l'effet de la stimulation électrique de la SNr dans un autre modèle animal d'épilepsie (Shi et coll., 2006), où les auteurs montrent qu'une stimulation à 130Hz de la SNr a un effet antiépileptique pendant 24 heures chez des rats ayant subi un kindling amygdalien. Bien que le type de crises soit différent entre ces deux modèles, ces deux études vont dans le même sens.

Au cours des enregistrements de 12-24h, une diminution de l'efficacité de la stimulation a été observée (70% d'arrêt de crises). Deux raisons peuvent être évoquées : (i) un minimum d'interférences de la part de l'expérimentateur avec l'animal lors des périodes longues; (ii) une intensité non optimale de stimulation.

En effet, au cours des enregistrements de 12-24h, les animaux qui ont suivi les protocoles de stimulation d'un demi-cycle (12 heures) et d'un cycle circadien entier (24 heures) n'étaient pas maintenus en état de veille calme, état propice à la survenue de crises dans notre modèle. Cette différence majeure avec les enregistrements de 1-5h peut expliquer les variations du nombre de crise, dues à des états d'activité, de veille et de sommeil différents (Lannes et coll., 1988). Pendant ces enregistrements, les rats présentent différentes périodes où ils font à la fois des crises rapprochées, qui entraînent une détection souvent tardive en raison de l'ISI de 40 secondes, et d'une détection dans les deux secondes qui suit le début des crises. Ces crises détectées mais stimulées souvent longtemps après leur début n'ont pas été considérées comme stimulées dans notre étude, bien qu'elles aient été interrompues dans leur grande majorité. Une prise en compte de ces crises augmente le pourcentage d'efficacité de la stimulation mais ne reflète pas forcément l'efficacité du système. Cependant, bien que l'efficacité de la stimulation soit réduite pour les périodes de 12h, elle reste stable au cours

des enregistrements. Cette stabilité, associée à une diminution progressive du nombre de crises totales au cours des enregistrements de 24 heures, pourrait confirmer l'existence de l'effet de renforcement de la stimulation lors des enregistrements de 5, 12 et 24h. Toutefois, l'efficacité antiépileptique doit être confirmée par des enregistrements avec un seuil antiépileptique mieux ajusté, puisque le délai entre la détermination des seuils antiépileptiques et les enregistrements de 12-24 heures a été de plus de 2 mois pour certains animaux.

#### **IV. Optimisation du système de stimulation asservie**

L'efficacité antiépileptique de la stimulation de la SNr asservie à la survenue des crises reste encore à optimiser, en vue d'une application dans le futur chez l'homme. Pour cela, les expériences complémentaires suivantes devraient être réalisées.

##### Correction des seuils de stimulation

Il serait important dans un premier temps, de compléter la caractérisation de la stimulation asservie sur 12 et 24 heures, en réajustant les seuils antiépileptiques. Puisque l'efficacité antiépileptique au cours des enregistrements de 12-24h a diminué (70% au lieu de 97% lors des enregistrements de 1-5h), probablement à cause du temps écoulé entre la détermination des seuils antiépileptiques et les stimulations 12-24h.

Cette confirmation, est nécessaire pour plusieurs raisons :

- En accord avec les données de la littérature, ces seuils peuvent avoir tendance à augmenter avec le temps et varier en fonction de la phase du nyctémère (Radil et coll., 1982).

- Il est probable que la baisse d'efficacité de la stimulation de la SNr, entraînant une augmentation des seuils au cours du temps lors de nos expériences, soit due en particulier à de la gliose qui se développe autour des électrodes (Dilorenzo et coll., 2010).
- Il n'est pas à exclure que cette baisse d'efficacité antiépileptique soit due à la stimulation asservie proprement dite, et que l'augmentation des seuils puisse être due à la récurrence des stimulations, phénomène observé en clinique chez des patients bénéficiant de stimulation.

Une fois précisée la cause réelle d'augmentation des seuils, l'interface BioMEA devrait permettre de développer un algorithme qui corrige l'intensité de la stimulation dès lors que leur efficacité diminue pendant un certain laps de temps.

#### Amélioration des critères de détection

Malgré quelques réajustements de l'algorithme de détection, la présence d'ondes lentes de sommeil génère encore certains problèmes de spécificité, pendant les enregistrements longs. Dans le but de rendre notre détection plus spécifique, le compromis fait sur une détection de moins de 2 s après la survenue d'une crise pourrait être réajusté à 3 voire 4 s. Ceci entraînera une diminution significative du nombre de faux positifs qui correspondent la plupart du temps à des stimulations pendant des périodes de sommeil. Dans une situation clinique, ce type de paramètre pourrait être ajusté en fonction des crises du patient et de sa qualité de vie.

## Troisième partie : Discussion générale

### III.1 Discussion générale

L'objectif de mon travail a été de développer un nouveau système de stimulation intracérébrale profonde qui puisse par la suite être efficace pour la suppression des crises chez des patients épileptiques pharmacorésistants ne pouvant bénéficier d'une chirurgie résective. Au cours de ce travail, j'ai donc choisi d'aborder trois points principaux en essayant de me positionner d'un point de vue clinique, me permettant de mettre en priorité les exigences d'un patient épileptique candidat à ce type de traitement. Ce travail, sur un modèle animal d'épilepsie, le rat GAERS, m'a permis d'étudier la faisabilité d'une stimulation asservie à la survenue de crises d'épilepsie, qui soit à la fois efficace et spécifique.

#### I. Caractérisation de l'activité des structures implantées en vue d'un choix de cible pour la stimulation

Dans cette première partie de la discussion je tenterai d'apporter des précisions quand au choix de la SNr comme cible de notre stimulation.

Les résultats obtenus au cours de cette thèse ont permis de confirmer dans un premier temps qu'il existait une propagation des décharges épileptiques corticales dans le circuit des GB. En particulier, nous confirmons ici l'existence d'un contrôle endogène des crises d'absence par des structures des GB (Deransart et Depaulis 2002).

#### → Les structures initiatrices des crises

Au début de mon travail de thèse, j'ai pu confirmer les données de la littérature, grâce à un examen des activités électrophysiologiques au cours des crises chez

le GAERS. Au cours des DPO en effet, des structures aussi bien initiatrices (cortex et thalamus) que modulatrices (striatum, NST et SNr) sont mises en jeu. Ces dernières peuvent être définies de façon électrophysiologique : (i) leur activité est modifiée après les modifications observées dans le cortex et revient à la normale avant le reste du réseau; (ii) leur mise en jeu semble engendrer une baisse de la fréquence des DPO (passage de 11 à 7 Hz chez le GAERS). Chez le GAERS, le déclenchement des DPO se situe dans une région bien précise du cortex somatosensoriel, à partir duquel elles se propagent de façon rapide vers des régions thalamiques et les structures des GB (Polack et coll., 2007). Cette hypothèse a été proposée par un travail d'analyse d'activités EEG corticale et thalamique chez le WAG/Rij (Meeren et coll., 2002) et confirmée chez le GAERS (Polack et coll., 2007). Nous apportons dans notre étude une confirmation, par une étude en IRM fonctionnelle couplée à des enregistrements simultanés dans 4 structures. En effet, grâce aux analyses de connectivité (article 2) de moyennes des DPO et de synchronisation généralisée, nous confirmons que ces DPO sont générées dans le foyer, se propagent rapidement vers le reste du cortex et vers le thalamus puis vers le striatum et la SNr.

→ Les structures modulatrices des crises

Nous nous sommes demandé à partir des données obtenues, si parmi les structures enregistrées, certaines avaient une activité modifiée en fin de DPO. Ce travail complémentaire confirme qu'en fin de décharge la SNr se désynchronise environ une seconde avant les autres structures ce qui suggère que cette structure participerait à l'arrêt des crises par le biais d'un contrôle endogène («d'un contrôle nigral») (Depaulis et coll., 1994). Ce travail associé aux études pharmacologiques et électrophysiologiques (voir introduction) confirme que la SNr serait parmi les GB, la structure cible la plus efficace dans la modulation des crises. Nous avons donc fait le choix de cette structure comme cible préférentielle de la stimulation asservie.



→ Les autres cibles non choisies

En dehors de la SNr, la stimulation d'autres structures au sein des GB ou du thalamus, a montré des effets antiépileptiques dans différents modèles animaux ainsi que chez l'homme (Article 1). Par exemple, un travail récent réalisé au laboratoire, a montré que la stimulation du noyau parafasciculaire du thalamus avec des paramètres proches des nôtres, pouvait interrompre des crises focales chez la souris (Langlois et coll., 2010). Toutefois, nos essais de stimulation du foyer cortical, du thalamus ou du striatum n'ont pas montré d'efficacité suffisante pour bloquer les DPO et n'ont pas été poursuivis (résultats préliminaires non inclus dans le manuscrit).

## II. Développement du système de stimulation asservie

Dans cette deuxième partie de la discussion, je tenterai d'apporter des précisions quant au choix de la stimulation asservie comme mode de stimulation.

→ Le mode de stimulation

Dans le contexte de la neurostimulation en épilepsie, le mode de stimulation est devenu une question essentielle (Theodore et Fisher., 2004; Saillet et coll., 2009; Kahane et Depaulis, 2010). A cette question importante sont associées d'une part le type de crises à stimuler et d'autre part la cible. Depuis deux décennies, la neurostimulation d'un certain nombre de cibles cérébrales profondes est devenue possible en épilepsie et amène au développement de la stimulation cérébrale profonde dans un grand nombre de types d'épilepsie (Chabardès et coll., 2002). Bien que le cortex joue en général, un rôle crucial dans la génération des crises, les études montrent un rôle important des structures sous-corticales dans l'expression clinique, la propagation et le contrôle

de crises chez les patients épileptiques (Semah 2002; Vercueil et Hirsch 2002). Basée sur des découvertes expérimentales, la stimulation intracérébrale a donc été appliquée à un certain nombre de cibles, y compris le cervelet, différents noyaux du thalamus et plusieurs structures du système des GB. Bien qu'encourageants, ces résultats ne nous permettent pas de conclure de façon définitive quant aux effets de la stimulation en épilepsie, et exigent donc des études complémentaires chez des modèles animaux. La stimulation cérébrale continue, indépendamment de la cible (stimulation cérébrale profonde ou la stimulation corticale), avait semblé être une façon intéressante de traiter les épilepsies, en modulant de façon chronique l'excitabilité corticale. Toutefois, les études menées actuellement, suggèrent que la stimulation non continue pourrait être plus efficace (Morrell, 2006). Par conséquent, le choix d'une stimulation déclenchée sur les crises est une option intéressante pour la qualité de vie des patients épileptiques, étant donné le caractère paroxystique de leur pathologie. La stimulation asservie exige la mise en place d'un système de détection de crise robuste couplé à une stimulation efficace pour interrompre les crises lors de leur initiation. L'efficacité, la réactivité et la spécificité de la détection sont donc des paramètres cruciaux pour évaluer de façon précise un système de stimulation asservie à la détection des crises. Pour développer un tel système, il était nécessaire d'utiliser un système de détection des crises qui soit à la fois rapide et spécifique, permettant de reconnaître une crise d'épilepsie dans la première seconde, avec un minimum d'erreurs. Il existe différents types d'algorithmes de détection de crises dans la littérature et notamment en clinique. Notre choix s'est porté sur l'entropie de permutation (Li et coll., 2007). Techniquement, les avantages de l'entropie de permutation par rapport à l'entropie classique résident dans le fait qu'elle est associée à la structure d'ordre d'événements dans un espace de phase, et est moins sensible au bruit incorporé dans des enregistrements d'EEG. Enfin, son avantage majeur est qu'elle peut être utilisée en temps réel grâce à un algorithme simple et une bonne rapidité de calcul. Ceci

en fait un bon candidat pour des études de stimulation automatisée en boucle fermée chez des patients atteints d'épilepsie. Nos résultats confirment la pertinence de ce choix.

→Positionnement vis-à-vis du compromis efficacité-spécificité

Après avoir fait le choix du type de détection, il était important de travailler dans des conditions les plus proches possibles de celles de la clinique afin d'assurer un transfert rapide de technologie si nécessaire. En effet, le choix a été d'utiliser une détection rapide (moins de deux secondes) après la survenue de la crise corticale. Ce choix nous a amené à faire un compromis entre efficacité et spécificité car un début de crise chez le GAERS peut être confondu avec d'autres types d'activité physiologique, contrairement aux crises temporales chez l'homme qui présentent des rythmes rapides de bas voltage très spécifiques (Bartolomei et coll., 2008). D'autres travaux, notamment (Qu et Gotman, 1997) qui ont développé des algorithmes pour la clinique, ont fait d'autres choix en privilégiant le minimum de faux positifs, quitte à avoir un délai de détection plus long. Dans leurs cas, il était important de ne pas omettre une crise puisque leur algorithme était testé chez des patients faisant en moyenne 1 crise par jour. La question du nombre de crises par jour et du type de compromis à faire pour valider un algorithme prend alors toute son importance. Il était aussi important dans nos conditions expérimentales, en utilisant un modèle animal de crises pouvant atteindre plus de 300 événements par jour, de mettre l'accent sur une efficacité de détection forte, quitte à avoir une spécificité moins élevée.

Pour rendre notre système de détection plus robuste par rapport à une détection basée uniquement sur l'entropie, nous avons ajouté une mesure instantanée de la fréquence du signal EEG, nous permettant ainsi une détection efficace et spécifique des crises chez le GAERS. Le calcul de l'entropie de permutation dépassant un certain seuil, associé à la mesure instantanée de la fréquence du

signal EEG, a été borné de façon à couvrir les variations de fréquence au cours des crises (soit entre 6-11Hz). Ceci nous a permis d'exclure également de notre détection les artéfacts de mouvement, fréquents dans nos conditions d'expérimentation. Bien que notre détection soit efficace et spécifique au cours d'enregistrements où l'animal reste en état de veille calme (1 à 5 heures), la spécificité a été diminuée au cours des enregistrements longs. Nous avons dû réajuster notre système de façon à nous rapprocher d'une spécificité ayant un minimum de faux positifs, tout en gardant une forte efficacité de détection.

Notre travail de détection de crises chez le GAERS peut être comparé à celui de Van Hese et coll., 2008, qui utilise un algorithme fondé sur l'utilisation de la puissance temps-fréquence. La comparaison de son algorithme de détection avec celui développé par d'autres équipes (Westerhuis et coll., 1996; Fanselow et coll., 2000; Osorio et coll., 1998; White et coll., 2006; Narakatikyan et coll., 2006), montre que la spécificité de la détection est un problème majeur et qu'il n'existe pas à l'heure actuelle de solution définitive.

Dans ces algorithmes le problème des «faux positifs» est toujours présent pour les raisons suivantes :

- La basse sélectivité des algorithmes, entraînant un fort pourcentage de faux positifs, est souvent due aux variabilités de l'amplitude du signal (Van Hese et coll., 2008).
- Une moins bonne spécificité peut être due à l'utilisation d'un algorithme de détection trop général (Narakatikyan et coll., 2006). Il est en particulier possible qu'un grand nombre de phénomènes ressemblent aux crises dans le cas de l'algorithme de White et coll., 2006, avec un taux élevé de faux positifs.
- Ce nombre de faux positifs peut être lié à une forte présence de sommeil, d'activités physiologiques autres, d'artéfacts de mouvement ou à des électrodes mal implantées (Westerhuis et coll., 1996; Fanselow et coll., 2000).

- Enfin, les conditions de validation des algorithmes sont importantes. Comme le montre l'étude de Guo et coll., 2010, il y a souvent une baisse de l'efficacité des algorithmes quand on utilise des conditions proches de la pratique clinique, ce qui a été le cas dans notre étude.

### III. Quantification des effets antiépileptiques de la stimulation asservie

Ce travail a permis d'évaluer les effets de la stimulation asservie en boucle fermée sur le long terme chez le GAERS, qui se caractérisent par (i) une période réfractaire de 40 s; (ii) une efficacité stable à 97% (animal éveillé) et à 70% (animal non contrôlé); (iii) une diminution de la survenue des DPO au cours du temps.

Bien que nous ayons pu répondre à un certain nombre de questions au cours de ce travail préliminaire, il reste encore des questions à résoudre quant à l'efficacité antiépileptique d'une telle stimulation.

Il est donc légitime dans un premier temps de se demander si nous avons fait un choix de modèle animal approprié. Bien que le modèle du GAERS soit tout à fait adapté pour l'étude de la stimulation asservie, il possède néanmoins une limitation majeure : la récurrence des crises, paramètre important dans une étude visant à évaluer les effets antiépileptiques d'une stimulation asservie, met en évidence une période réfractaire ne permettant pas d'arrêter de façon systématique toutes les crises. Nous pouvons donc nous demander si cette période réfractaire est une limite de notre modèle. Nous pouvons émettre l'hypothèse que dans un autre modèle où les crises seraient moins fréquentes (quelques crises par heures par exemple) on pourrait s'affranchir de cette période réfractaire et cela permettrait de pouvoir être efficace lors de la survenue de chaque crise. Cependant, il ne semble pas exister dans la littérature un

modèle animal où seulement quelques crises surviennent par heure ou périodes de 3h. Dans les modèles présentés dans l'introduction, les crises généralisées surviennent à raison de 2-3 par semaine ce qui compliquerait considérablement notre approche.

Bien que cette période soit probablement due à la récurrence importante des crises de notre modèle, nous pouvons nous demander si celle-ci est due au site de stimulation et en l'occurrence à des propriétés intrinsèques de la SNr. Pour répondre à cette question, une étude électrophysiologique de l'activité des neurones de la SNr pourrait être envisagée. Ceci nous permettrait de voir si les activités intrinsèques de cette structure lors de la stimulation, en comparaison avec son activité basale au cours des crises, est changée et si oui de quelle façon.

En ce qui concerne la période réfractaire, nous pouvons nous poser d'autres questions : quelles sont les conséquences qu'une telle période peut avoir sur des stimulations continues? Est-ce que l'existence de cette période peut agir sur la stimulation continue en baissant l'efficacité de celle-ci ? La stimulation continue de la SNr ne présente aucune efficacité antiépileptique (Feddersen et coll., 2007), ce que nous avons confirmé aux cours de nos expérimentations. L'existence d'une période réfractaire lors de l'activation du système des GB pourrait ainsi expliquer le manque d'efficacité de la stimulation continue en épilepsie.

Bien entendu, il est important de tester notre protocole dans d'autres modèles animaux d'épilepsie, permettant ainsi de mieux cibler la population de patients épileptiques pouvant être concernée par ce type d'approche thérapeutique. Un modèle intéressant est la souris KA, modèle remplissant plusieurs critères de validation de l'épilepsie méso-temporale chez l'homme. Cependant, dans ce modèle, la récurrence importante des décharges risque poser la même limitation que pour le GAERS.

Enfin dans un dernier temps, il serait important de comparer l'efficacité de la stimulation de la SNr avec d'autres structures cibles des GB, connues pour avoir des effets antiépileptiques. Les autres structures que j'ai testées pendant ce travail (Cortex, Striatum, Thalamus) n'ont pas permis d'établir de seuil antiépileptique, confirmant ainsi que la stimulation de la SNr est une cible efficace. Toutefois, nous pouvons peut être expliquer ce manque d'effet de ces stimulations, par le fait que lors de ces tests de stimulation du cortex, du striatum ou bien du thalamus, les stimulations étaient unilatérales et non bilatérales à cause du schéma d'implantation (unilatérale dans ces différentes structures à l'exception de la SNr où l'implantation était bilatérale). En plus d'une stimulation unilatérale inefficace, l'absence de seuil antiépileptique pourrait se justifier par le fait que dans de grandes structures comme le striatum mais aussi le cortex somatosensoriel, une stimulation trop localisée ne pourrait pas arrêter les crises. Cependant, d'autres cibles telles que le n. Parafasciculaire (Langlois et coll., 2010) ou le n. antérieur du Thalamus (Takebayashi et coll., 2007a,b; Hamani et coll., 2008) pourraient être également envisagées.

**En conclusion, cette étude souligne l'importance d'un travail expérimental dans le domaine de la neurostimulation des épilepsies. Bien que la structure cible optimale reste à préciser, l'utilisation de modèles animaux avec des crises spontanées et récurrentes est nécessaire afin d'augmenter nos connaissances dans la compréhension des mécanismes de contrôle, responsables de l'interruption des crises. Toutefois, la difficulté majeure réside dans le fait qu'il n'existe pas une mais plusieurs épilepsies et qu'une approche ciblée sur un type d'épilepsie et un type de cible semble donc nécessaire. Cependant bien que de nombreuses questions restent encore à être élucidées, la proximité de notre modèle avec la pathologie humaine associé aux données cliniques, nous permettent d'apporter des réponses à des questions cliniques proposant ainsi des nouvelles pistes thérapeutiques.**

### III.2 Références bibliographiques

(1981) Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 22:489-501.

(1989) Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 30:389-399.

#### A

Afsharpour S (1985) Topographical projections of the cerebral cortex to the subthalamic nucleus. *J Comp Neurol* 236:14-28.

Albin RL, Young AB, Penney JB (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 12:366-375.

Alexander GE, Crutcher MD (1990) Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 13:266-271.

Andre V, Ferrandon A, Marescaux C, Nehlig A (2000) Electroshocks delay seizures and subsequent epileptogenesis but do not prevent neuronal damage in the lithium-pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsy Res* 42:7-22.

Angehagen M, Ben-Menachem E, Ronnback L, Hansson E (2003) Novel mechanisms of action of three antiepileptic drugs, vigabatrin, tiagabine, and topiramate. *Neurochem Res* 28:333-340.

Angehagen M, Ronnback L, Hansson E, Ben-Menachem E (2005) Topiramate reduces AMPA-induced Ca(2+) transients and inhibits GluR1 subunit phosphorylation in astrocytes from primary cultures. *J Neurochem* 94:1124-1130.



Arzimanoglou AA, Andermann F, Aicardi J, Sainte-Rose C, Beaulieu MA, Villemure JG, Olivier A, Rasmussen T (2000) Sturge-Weber syndrome: indications and results of surgery in 20 patients. *Neurology* 55:1472-1479.

Asadi-Pooya AA, Sharan A, Nei M, Sperling MR (2008) Corpus callosotomy. *Epilepsy Behav* 13:271-278.

## B

Bartolomei F, Wendling F, Chauvel P (2008) The concept of an epileptogenic network in human partial epilepsies *Neurochirurgie*.54:174-184

Bebin EM, Kelly PJ, Gomez MR (1993) Surgical treatment for epilepsy in cerebral tuberous sclerosis. *Epilepsia* 34:651-657.

Ben-Menachem E (1995) Vigabatrin. *Epilepsia* 36 Suppl 2:S95-104.

Benabid AL (2003) Deep brain stimulation for Parkinson's disease. *Curr Opin Neurobiol* 13:696-706.

Bien CG, Granata T, Antozzi C, Cross JH, Dulac O, Kurthen M, Lassmann H, Mantegazza R, Villemure JG, Elger CE. (2005) Pathogenesis, diagnosis and treatment of Rasmussen encephalitis : a European consensus statement. *Brain* 128:454-471.

Biraben A, Semah F, Ribeiro MJ, Douaud G, Remy P, Depaulis A (2004) PET evidence for a role of the basal ganglia in patients with ring chromosome 20 epilepsy. *Neurology* 63:73-77.

Birkhimer LJ, Curtis JL, Jann MW. (1985) Use of carbamazepine in psychiatric disorders. *Clin Pharm.* 4:425-434.

Bouilleret V, Ridoux V, Depaulis A, Marescaux C, Nehlig A, Le Gal La Salle G (1999) Recurrent seizures and hippocampal sclerosis following intrahippocampal kainate injection in adult mice: electroencephalography, histopathology and synaptic reorganization similar to mesial temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 89:717-729.

- Bouilleret V, Semah F, Chassoux F, Mantzaridez M, Biraben A, Trebossen R, Ribeiro MJ (2008) Basal ganglia involvement in temporal lobe epilepsy: a functional and morphologic study. *Neurology* 70:177-184.
- Bouquie R, Dailly E, Bentue-Ferrer D (2010) [Therapeutic drug monitoring of oxcarbazepine]. *Therapie* 65:61-65.
- Brodie MJ, Dichter MA (1997) Established antiepileptic drugs. *Seizure* 6:159-174.
- Brodie MJ, French JA (2000) Management of epilepsy in adolescents and adults. *Lancet* 356:323-329.

### C

- Canteras NS, Shammah-Lagnado SJ, Silva BA, Ricardo JA (1990) Afferent connections of the subthalamic nucleus: a combined retrograde and anterograde horseradish peroxidase study in the rat. *Brain Res* 513:43-59.
- Cavalheiro EA, Turski L (1986) Intrastratial N-methyl-D-aspartate prevents amygdala kindled seizures in rats. *Brain Res* 377:173-176.
- Cavalheiro EA, Leite JP, Bortolotto ZA, Turski WA, Ikonomidou C, Turski L (1991) Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia* 32:778-782.
- Chabardes S, Kahane P, Minotti L, Koudsie A, Hirsch E, Benabid AL (2002) Deep brain stimulation in epilepsy with particular reference to the subthalamic nucleus. *Epileptic Disord* 4 Suppl 3:S83-93.
- Chabardes S, Minotti L, Hamelin S, Hoffmann D, Seigneuret E, Carron R, Krainik A, Grand S, Kahane P, Benabid AL (2008) [Temporal disconnection as an alternative treatment for intractable temporal lobe epilepsy: techniques, complications and results]. *Neurochirurgie* 54:297-302.

- Cheung H, Kamp D, Harris E (1992) An in vitro investigation of the action of lamotrigine on neuronal voltage-activated sodium channels. *Epilepsy Res* 13:107-112.
- Chevalier G, Deniau JM (1984) Spatio-temporal organization of a branched tecto-spinal/tecto-diencephalic neuronal system. *Neuroscience* 12:427-439.
- Ciomas C, Wahlin TB, Jucaite A, Lindstrom P, Halldin C, Savic I (2008) Reduced dopamine transporter binding in patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Neurology* 71:788-794.
- Coulter DA, Huguenard JR, Prince DA (1989a) Characterization of ethosuximide reduction of low-threshold calcium current in thalamic neurons. *Ann Neurol* 25:582-593.
- Coulter DA, Huguenard JR, Prince DA (1989b) Specific petit mal anticonvulsants reduce calcium currents in thalamic neurons. *Neurosci Lett* 98:74-78.
- Coulter DA, Huguenard JR, Prince DA (1989c) Calcium currents in rat thalamocortical relay neurones: kinetic properties of the transient, low-threshold current. *J Physiol* 414:587-604.

## D

- Danover L, Deransart C, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C (1998) Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog Neurobiol* 55:27-57.
- Dantzer R (1986) Behavioral, physiological and functional aspects of stereotyped behavior: a review and a re-interpretation. *J Anim Sci* 62:1776-1786.
- David O, Guillemain I, SAILLET S, Reyt S, Deransart C, Segebarth C, Depaulis A (2008) Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological validation. *PLoS Biol* 6:2683-2697.
- Depaulis A and Van Luitjelaar G. (2005) Genetic models of absence epilepsy, in

- The rat models of seizures and epilepsy. A. Pitkanen, P.Schwartzkroin, and S. Moshe, Eds. San Diego: Elsevier Inc., pp. 233-248.
- Depaulis A (2003) Physiopathologie des crises d'épilepsie. Encycl med Chir Ed Scientifiques et M2DICALES Elsevier SAS ; 17-044-R-10 10 p.
- Depaulis A, Moshe SL (2002) The basal ganglia and the epilepsies: translating experimental concepts to new therapies. *Epileptic Disord* 4 Suppl 3:S7-8.
- Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C (1994) Endogenous control of epilepsy: the nigral inhibitory system. *Prog Neurobiol* 42:33-52.
- Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C, Lannes B, Warter JM (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.
- Depaulis A, Vergnes M, Liu Z, Kempf E, Marescaux C (1990a) Involvement of the nigral output pathways in the inhibitory control of the substantia nigra over generalized non-convulsive seizures in the rat. *Neuroscience* 39:339-349.
- Depaulis A, Liu Z, Vergnes M, Marescaux C, Micheletti G, Warter JM (1990b) Suppression of spontaneous generalized non-convulsive seizures in the rat by microinjection of GABA antagonists into the superior colliculus. *Epilepsy Res* 5:192-198.
- Deransart C, Depaulis A (2002) The control of seizures by the basal ganglia? A review of experimental data. *Epileptic Disord* 4 Suppl 3:S61-72.
- Deransart C, Marescaux C, Depaulis A (1996) Involvement of nigral glutamatergic inputs in the control of seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience* 71:721-728.
- Deransart C, Le BT, Marescaux C, Depaulis A (1998) Role of the subthalamo-nigral input in the control of amygdala-kindled seizures in the rat. *Brain Res* 807:78-83.

Deransart C, Riban V, Le B, Marescaux C, Depaulis A (2000) Dopamine in the striatum modulates seizures in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Neuroscience* 100:335-344.

Deransart C, Hellwig B, Heupel-Reuter M, Leger JF, Heck D, Lucking CH (2003) Single-unit analysis of substantia nigra pars reticulata neurons in freely behaving rats with genetic absence epilepsy. *Epilepsia* 44:1513-1520.

DiLorenzo DJ, Jankovic J, Simpson RK, Takei H, Powell SZ. (2010) Long-term deep brain stimulation for essential tremor: 12-year clinicopathologic follow-up. *Mov Disord.* 25:232-238.

Dupont S. (2008) Can functional MRI replace the Wada test? *Neurochirurgie.* 54:208-211.

Dybdal D, Gale K (2000) Postural and anticonvulsant effects of inhibition of the rat subthalamic nucleus. *J Neurosci* 20:6728-6733.

## E

Engel J, Jr. (1995) Critical evaluation of animal models for localization-related epilepsies. *Ital J Neurol Sci* 16:9-16.

Engel J, Jr. (1996) Surgery for seizures. *N Engl J Med* 334:647-652.

Engel J, Jr., Wiebe S, French J, Sperling M, Williamson P, Spencer D, Gumnit R, Zahn C, Westbrook E, Enos B (2003) Practice parameter: temporal lobe and localized neocortical resections for epilepsy. *Epilepsia* 44:741-751.

## F

Fanselow EE, Reid AP, Nicolelis MA. (2000) Reduction of pentylenetetrazole-induced seizure activity in awake rats by seizure-triggered trigeminal nerve stimulation. *J Neurosci.*20:8160-8168.

Feddersen B, Vercueil L, Noachtar S, David O, Depaulis A, Deransart C (2007) Controlling seizures is not controlling epilepsy: a parametric study of deep brain stimulation for epilepsy. *Neurobiol Dis* 27:292-300.

- Fedi M, Berkovic SF, Scheffer IE, O'Keefe G, Marini C, Mulligan R, Gong S, Tochon-Danguy H, Reutens DC (2008) Reduced striatal D1 receptor binding in autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Neurology* 71:795-798.
- Feger J, Mouroux M (1991) [Demonstration of the excitatory effect of the thalamo-subthalamic efferent from the parafascicular nucleus]. *C R Acad Sci III* 313:447-452.
- Feger J, Bevan M, Crossman AR (1994) The projections from the parafascicular thalamic nucleus to the subthalamic nucleus and the striatum arise from separate neuronal populations: a comparison with the corticostriatal and corticosubthalamic efferents in a retrograde fluorescent double-labelling study. *Neuroscience* 60:125-132.
- Fohlen M, Jalin C, Bulteau C, Delalande O (2002) Surgical treatment of epilepsy in children less than 3 years of age. *Arch Pediatr* 9 Suppl 2:87s-89s.
- Fountas KN, Smith JR (2007) A novel closed-loop stimulation system in the control of focal, medically refractory epilepsy. *Acta Neurochir Suppl* 97:357-362.
- Fountas KN, Smith JR, Murro AM, Politsky J, Park YD, Jenkins PD (2005) Implantation of a closed-loop stimulation in the management of medically refractory focal epilepsy: a technical note. *Stereotact Funct Neurosurg* 83:153-158.
- Fujikawa DG (2003) Neuronal death in mesial temporal sclerosis: separating morphology from mechanism. *Epilepsia* 44:1607; author reply 1607-1608.

## G

- Gale K, Iadarola MJ (1980) GABAergic denervation of rat substantia nigra: functional and pharmacological properties. *Brain Res* 183:217-223.

- Garant DS, Gale K (1987) Substantia nigra-mediated anticonvulsant actions: role of nigral output pathways. *Exp Neurol* 97:143-159.
- Gillard M, Chatelain P, Fuks B (2006) Binding characteristics of levetiracetam to synaptic vesicle protein 2A (SV2A) in human brain and in CHO cells expressing the human recombinant protein. *Eur J Pharmacol* 536:102-108.
- Grewal S, Gotman J (2005) An automatic warning system for epileptic seizures recorded on intracerebral EEGs. *Clin Neurophysiol* 116:2460-2472.
- Guo L, Rivero D, Pazos A (2010) Epileptic seizure detection using multiwavelet transform based approximate entropy and artificial neural networks. *J Neurosci Methods*. 193:156-163.

## H

- Hamani C, Hodaie M, Chiang J, del Campo M, Andrade DM, Sherman D, Mirski M, Mello LE, Lozano AM (2008) Deep brain stimulation of the anterior nucleus of the thalamus: effects of electrical stimulation on pilocarpine-induced seizures and status epilepticus. *Epilepsy Res*. 78:117-123.
- Hart YM, Andermann F. (2005) Migraine aura, seizures, and temporal lobe epilepsy. *Adv Neurol*. 81:145-152.
- Heinrichs SC, Seyfried TN (2006) Behavioral seizure correlates in animal models of epilepsy: a road map for assay selection, data interpretation, and the search for causal mechanisms. *Epilepsy Behav* 8:5-38.
- Honchar MP, Olney JW, Sherman WR (1983) Systemic cholinergic agents induce seizures and brain damage in lithium-treated rats. *Science* 220:323-325.
- Houser CR (1990) Granule cell dispersion in the dentate gyrus of humans with temporal lobe epilepsy. *Brain Res* 535:195-204.

## I

- Iadarola MJ, Gale K (1982) Substantia nigra: site of anticonvulsant activity mediated by gamma-aminobutyric acid. *Science* 218:1237-1240.

## J

Jokeit H (2001) [Neuropsychological diagnosis in patients with epilepsy]. *Ther Umsch* 58:650-655.

## K

Kahane P, Landre E (2008) [The epileptogenic zone]. *Neurochirurgie* 54:265-271.

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

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

Kaufmann WE, Krauss GL, Uematsu S, Lesser RP (1996) Treatment of epilepsy with multiple subpial transections: an acute histologic analysis in human subjects. *Epilepsia* 37:342-352.

Kita H, Kitai ST (1990) Amygdaloid projections to the frontal cortex and the striatum in the rat. *J Comp Neurol* 298:40-49.

Kita H, Kitai ST (1994) The morphology of globus pallidus projection neurons in the rat: an intracellular staining study. *Brain Res* 636:308-319.

Koh S, Jayakar P, Dunoyer C, Whiting SE, Resnick TJ, Alvarez LA, Morrison G, Ragheb J, Prats A, Dean P, Gilman J, Duchowny MS (2000) Epilepsy surgery in children with tuberous sclerosis complex: presurgical evaluation and outcome. *Epilepsia* 41:1206-1213.

Kossoff EH, Ritzl EK, Politsky JM, Murro AM, Smith JR, Duckrow RB, Spencer DD, Bergey GK (2004) Effect of an external responsive neurostimulator on seizures and electrographic discharges during subdural electrode monitoring. *Epilepsia* 45:1560-1567.

Krout KE, Loewy AD, Westby GW, Redgrave P (2001) Superior colliculus projections to midline and intralaminar thalamic nuclei of the rat. *J Comp Neurol* 431:198-216.



## L

- Langlois M, Polack PO, Bernard H, David O, Charpier S, Depaulis A, Deransart C (2010) Involvement of the thalamic parafascicular nucleus in mesial temporal lobe epilepsy. *J. Neuroscience*
- Lannes B, Micheletti G, Vergnes M, Marescaux C, Depaulis A, Warter JM. (1988) Relationship between spike-wave discharges and vigilance levels in rats with spontaneous petit mal-like epilepsy. *Neurosci Lett.* 94:187-191.
- Leite JP, Nakamura EM, Lemos T, Masur J, Cavalleiro EA (1990) Learning impairment in chronic epileptic rats following pilocarpine-induced status epilepticus. *Braz J Med Biol Res* 23:681-683.
- Leppik IE (2004) Zonisamide: chemistry, mechanism of action, and pharmacokinetics. *Seizure* 13 Suppl 1:S5-9; discussion S10.
- Lesser RP, Kim SH, Beyderman L, Miglioretti DL, Webber WR, Bare M, Cysyk B, Krauss G, Gordon B (1999) Brief bursts of pulse stimulation terminate afterdischarges caused by cortical stimulation. *Neurology* 53:2073-2081.
- Li X, Ouyang G, Richards DA (2007) Predictability analysis of absence seizures with permutation entropy. *Epilepsy Res* 77:70-74.
- Lynch JM, Tate SK, Kinirons P, Weale ME, Cavalleri GL, Depondt C, Murphy K, O'Rourke D, Doherty CP, Shianna KV, Wood NW, Sander JW, Delanty N, Goldstein DB, Sisodiya SM. (2009) No major role of common SV2A variation for predisposition or levetiracetam response in epilepsy. *Epilepsy Res.* 83:44-51.

## M

- Macdonald RL (1988) Anticonvulsant drug actions on neurons in cell culture. *J Neural Transm* 72:173-183.
- Macdonald RL (1989) Antiepileptic drug actions. *Epilepsia* 30 Suppl 1:S19-28; discussion S64-18.

- Macdonald RL, Kelly KM (1995) Antiepileptic drug mechanisms of action. *Epilepsia* 36 Suppl 2:S2-12.
- Maurice N, Deniau JM, Menetrey A, Glowinski J, Thierry AM (1997) Position of the ventral pallidum in the rat prefrontal cortex-basal ganglia circuit. *Neuroscience* 80:523-534.
- Maurice N, Deniau JM, Menetrey A, Glowinski J, Thierry AM (1998) Prefrontal cortex-basal ganglia circuits in the rat: involvement of ventral pallidum and subthalamic nucleus. *Synapse* 29:363-370.
- Maurice N, Deniau JM, Glowinski J, Thierry AM. (1998) Relationships between the prefrontal cortex and the basal ganglia in the rat: physiology of the corticosubthalamic circuits. *J Neurosci.* 18:9539-9546.
- McDonald AJ (1991a) Topographical organization of amygdaloid projections to the caudatoputamen, nucleus accumbens, and related striatal-like areas of the rat brain. *Neuroscience* 44:15-33.
- McDonald AJ (1991b) Organization of amygdaloid projections to the prefrontal cortex and associated striatum in the rat. *Neuroscience* 44:1-14.
- McLean MJ, Macdonald RL (1983) Multiple actions of phenytoin on mouse spinal cord neurons in cell culture. *J Pharmacol Exp Ther* 227:779-789.
- Meeren HK, Pijn JP, Van Luijtelaar EL, Coenen AM, Lopes da Silva FH. (2002) Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci.* 22:1480-95.
- Mello LE, Cavalheiro EA, Tan AM, Kupfer WR, Pretorius JK, Babb TL, Finch DM (1993) Circuit mechanisms of seizures in the pilocarpine model of chronic epilepsy: cell loss and mossy fiber sprouting. *Epilepsia* 34:985-995.
- Morrell F, Whisler WW, Bleck TP (1989) Multiple subpial transection: a new approach to the surgical treatment of focal epilepsy. *J Neurosurg* 70:231-239.
- Morrell M. (2006) Brain stimulation for epilepsy: can scheduled or responsive

neurostimulation stop seizures? *Curr Opin Neurol.* 19:164-168.

Motamedi GK, Lesser RP, Miglioretti DL, Mizuno-Matsumoto Y, Gordon B, Webber WR, Jackson DC, Sepkuty JP, Crone NE (2002) Optimizing parameters for terminating cortical afterdischarges with pulse stimulation. *Epilepsia* 43:836-846.

## N

Nail-Boucherie K, Le-Pham BT, Marescaux C, Depaulis A (2002) Suppression of absence seizures by electrical and pharmacological activation of the caudal superior colliculus in a genetic model of absence epilepsy in the rat. *Exp Neurol* 177:503-514.

Navakatikyan MA, Colditz PB, Burke CJ, T. E. Inder TE, Richmond J, Williams C. E, (2006) Seizure detection algorithm for neonates based on wave-sequence analysis *Clinical Neurophysiology*, vol. 117, pp. 1190-1203.

Niespodziany I, Klitgaard H, Margineanu DG (2004) Is the persistent sodium current a specific target of anti-absence drugs? *Neuroreport* 15:1049-1052.

## O

Osorio I, Frei MG, Sunderam S, Giftakis J, Bhavaraju NC, Schaffner SF, Wilkinson SB (2005) Automated seizure abatement in humans using electrical stimulation. *Ann Neurol* 57:258-268.

Osorio I, Frei MG, Giftakis J, Peters T, Ingram J, Turnbull M, Herzog M, Rise MT, Schaffner S, Wennberg RA, Walczak TS, Risinger MW, Ajmone-Marsan C.(2002) Performance reassessment of a real-time seizure-detection algorithm on long ECoG series. *Epilepsia*.43:1522-1535.

Osorio I, Frei MG, Wilkinson SB. (1988) Real-time automated detection and quantitative analysis of seizures and short-term prediction of clinical onset. *Epilepsia*. 39:615-627.

## P

- Panayiotopoulos CP (2005a) Idiopathic generalized epilepsies: a review and modern approach. *Epilepsia* 46 Suppl 9:1-6.
- Panayiotopoulos CP (2005b) Syndromes of idiopathic generalized epilepsies not recognized by the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 46 Suppl 9:57-66.
- Parker RJ, Hartman NR, Roecklein BA, Mortko H, Kupferberg HJ, Stables J, Strong JM (2005) Stability and comparative metabolism of selected felbamate metabolites and postulated fluorofelbamate metabolites by postmitochondrial suspensions. *Chem Res Toxicol* 18:1842-1848.
- Paz JT, Chavez M, SAILLET S, Deniau JM, Charpier S (2007) Activity of ventral medial thalamic neurons during absence seizures and modulation of cortical paroxysms by the nigrothalamic pathway. *J Neurosci* 27:929-941.
- Perucca E (2007) Treatment of epilepsy in developing countries. *BMJ* 334:1175-1176.
- Perucca E, French J, Bialer M (2007) Development of new antiepileptic drugs: challenges, incentives, and recent advances. *Lancet Neurol* 6:793-804.
- Perucca E. (2001) Clinical pharmacology and therapeutic use of the new antiepileptic drugs. *Fundam Clin Pharmacol.*15:405-417.
- Pinault D, Slézia A, Acsády L. (2006) Corticothalamic 5-9 Hz oscillations are more pro-epileptogenic than sleep spindles in rats. *J Physiol.* 574:209-227.
- Polack PO, 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.
- Pollo C, Debatisse D, Pralong E, Levivier M. (2008) Periinsular hemispherotomy: surgical technique, intraoperative EEG monitoring and results on seizure outcome *Neurochirurgie.* 54:303-310.

Popovych OV, Hauptmann C, Tass PA (2006) Control of neuronal synchrony by nonlinear delayed feedback. *Biol Cybern* 95:69-85.

## Q

Qu H, Gotman J (1995) A seizure warning system for long-term epilepsy monitoring. *Neurology* 45:2250-2254.

Qu H, Gotman J. (1997) A patient-specific algorithm for the detection of seizure onset in long-term EEG monitoring: possible use as a warning device. *IEEE Trans Biomed Eng.* 44:115-122.

## R

Raevskii KS, Malikova LA, Kalinin VV (2007) [Neuronal and neurochemical mechanisms underlying the effect of a novel antiepileptic drug levetiracetam]. *Eksp Klin Farmakol* 70:70-74.

Rasmussen T (1983) Hemispherectomy for seizures revisited. *Can J Neurol Sci* 10:71-78.

Riban V, Bouilleret V, Pham-Le BT, Fritschy JM, Marescaux C, Depaulis A (2002) Evolution of hippocampal epileptic activity during the development of hippocampal sclerosis in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 112:101-111.

Rogawski MA, Loscher W (2004) The neurobiology of antiepileptic drugs for the treatment of nonepileptic conditions. *Nat Med* 10:685-692.

## S

Saillet S, Langlois M, Feddersen B, Minotti L, Vercueil L, Chabardès S, David O, Depaulis A, Deransart C, Kahane P (2009) Manipulating the epileptic brain using stimulation: a review of experimental and clinical studies. *Epileptic Disord.* 11:100-112.

Schindler K, Elger CE, Lehnertz K. (2007) Changes of EEG synchronization during low-frequency electric stimulation of the seizure onset zone. *Epilepsy Res.* 77:108-119.

- Schmidt D, Elger CE (2004) What is the evidence that oxcarbazepine and carbamazepine are distinctly different antiepileptic drugs? *Epilepsy Behav* 5:627-635.
- Semah F (2002) PET imaging in epilepsy: basal ganglia and thalamic involvement. *Epileptic Disord* 4 Suppl 3:S55-60.
- Shehab S, Dean P, Redgrave P (1995a) The dorsal midbrain anticonvulsant zone--II. Efferent connections revealed by the anterograde transport of wheatgerm agglutinin-horseradish peroxidase from injections centred on the intercollicular area in the rat. *Neuroscience* 65:681-695.
- Shehab S, Coffey P, Dean P, Redgrave P (1992) Regional expression of fos-like immunoreactivity following seizures induced by pentylentetrazole and maximal electroshock. *Exp Neurol* 118:261-274.
- Shehab S, Simkins M, Dean P, Redgrave P (1995b) The dorsal midbrain anticonvulsant zone--I. Effects of locally administered excitatory amino acids or bicuculline on maximal electroshock seizures. *Neuroscience* 65:671-679.
- Shehab S, Simkins M, Dean P, Redgrave P (1995c) The dorsal midbrain anticonvulsant zone--III. Effects of efferent pathway transections on suppression of electroshock seizures and defence-like reactions produced by local injections of bicuculline. *Neuroscience* 65:697-708.
- Shi LH, Luo F, Woodward D, Chang JY. (2006) Deep brain stimulation of the substantia nigra pars reticulata exerts long lasting suppression of amygdala-kindled seizures. *Brain Res.* 1090:202-207.
- Slaght SJ, Leresche N, Deniau JM, Crunelli V, Charpier S (2002a) Activity of thalamic reticular neurons during spontaneous genetically determined spike and wave discharges. *J Neurosci* 22:2323-2334.
- Slaght SJ, Paz T, Mahon S, Maurice N, Charpier S, Deniau JM (2002b) Functional organization of the circuits connecting the cerebral cortex and

the basal ganglia: implications for the role of the basal ganglia in epilepsy. *Epileptic Disord* 4 Suppl 3:S9-22.

Smith Y, Shink E, Sidibe M (1998a) Neuronal circuitry and synaptic connectivity of the basal ganglia. *Neurosurg Clin N Am* 9:203-222.

Smith Y, Bevan MD, Shink E, Bolam JP (1998b) Microcircuitry of the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *Neuroscience* 86:353-387.

Spencer SS, Schramm J, Wyler A, O'Connor M, Orbach D, Krauss G, Sperling M, Devinsky O, Elger C, Lesser R, Mulligan L, Westerveld M (2002) Multiple subpial transection for intractable partial epilepsy: an international meta-analysis. *Epilepsia* 43:141-145.

## T

Takebayashi S, Hashizume K, Tanaka T, Hodozuka A. (2007) The effect of electrical stimulation and lesioning of the anterior thalamic nucleus on kainic acid-induced focal cortical seizure status in rats. *Epilepsia*. 48:348-358.

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

Taylor CP, Angelotti T, Fauman E (2007) Pharmacology and mechanism of action of pregabalin: the calcium channel alpha2-delta (alpha2-delta) subunit as a target for antiepileptic drug discovery. *Epilepsy Res*. 2007 Feb;73(2):137-150.

Theodore WH, Fisher RS. (2004) Brain stimulation for epilepsy. *Lancet Neurol*. 3:111-118.

Thomas P, Arzimanoglou A. (2000) *Épilepsies*. 2ème ed. Masson Paris. p262.

Tolman JA, Faulkner MA (2009) Vigabatrin: a comprehensive review of drug properties including clinical updates following recent FDA approval. *Expert Opin Pharmacother* 10:3077-3089.

Turak B, Kehrli P, Pallud J, Devaux B (2008) [Corticectomy: technical considerations]. *Neurochirurgie* 54:287-296.

Turski L, Cavalheiro EA, Bortolotto ZA, Ikonomidou-Turski C, Kleinrok Z, Turski WA (1988) Dopamine-sensitive anticonvulsant site in the rat striatum. *J Neurosci* 8:4027-4037.

Turski L, Cavalheiro EA, Calderazzo-Filho LS, Bortolotto ZA, Klockgether T, Ikonomidou C, Turski WA (1989) The basal ganglia, the deep prepyriform cortex, and seizure spread: bicuculline is anticonvulsant in the rat striatum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:1694-1697.

## V

Van Hese P, Martens JP, Waterschoot L, Boon P, Lemahieu I (2009) Automatic detection of spike and wave discharges in the EEG of genetic absence epilepsy rats from Strasbourg. *IEEE Trans Biomed Eng* 56:706-717.

Veliskova J, Velisek L, Nunes ML, Moshe SL (1996) Developmental regulation of regional functionality of substantial nigra GABAA receptors involved in seizures. *Eur J Pharmacol* 309:167-173.

Vercueil L, Hirsch E (2002) Seizures and the basal ganglia: a review of the clinical data. *Epileptic Disord* 4 Suppl 3:S47-54.

Vergnes M, Boehrer A, Nehlig A (2003) Developmental characteristics of picrotoxin-induced convulsions in rats with genetic absence epilepsy. *Exp Neurol* 184:549-551.

Vergnes M, Marescaux C, Micheletti G, Reis J, Depaulis A, Rumbach L, Warter JM (1982) Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neurosci Lett* 33:97-101.

Vohora D, Saraogi P, Yazdani MA, Bhowmik M, Khanam R, Pillai KK (2010) Recent advances in adjunctive therapy for epilepsy: focus on sodium channel blockers as third-generation antiepileptic drugs. *Drugs Today (Barc)* 46:265-277.



## W

- Westerhuis F, Van Schaijk W, Van Luijtelaar G (1996) Automatic detection of spike-wave discharges in the cortical EEG of rats, poster presented at l'International Workshop on Methods and Techniques in Behavioral Research, 16-18 October 1996.
- White AM, Williams PA, Ferraro DJ, Clark S, Kadam SD, Dudek FE, Staley KJ. (2006) Efficient unsupervised algorithms for the detection of seizures in continuous EEG recordings from rats after brain injury. *J Neurosci Methods*. 152:255-266.
- White HS (2003) Preclinical development of antiepileptic drugs: past, present, and future directions. *Epilepsia* 44 Suppl 7:2-8.
- White HS (2005) Molecular pharmacology of topiramate: managing seizures and preventing migraine. *Headache* 45 Suppl 1:S48-56.
- Wiebe S, Blume WT, Girvin JP, Eliasziw M (2001) A randomized, controlled trial of surgery for temporal-lobe epilepsy. *N Engl J Med* 345:311-318.
- Wilfong AA, Willmore LJ (2006) Zonisamide - a review of experience and use in partial seizures. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2:269-280.
- Willmore LJ, Abelson MB, Ben-Menachem E, Pellock JM, Shields WD (2009) Vigabatrin: 2008 update. *Epilepsia* 50:163-173.

## Y

- Yang J, Wetterstrand C, Jones RS. (2007) Felbamate but not phenytoin or gabapentin reduces glutamate release by blocking presynaptic NMDA receptors in the entorhinal cortex. *Epilepsy Res*. 77:157-164.

## Z

- Zona C, Avoli M (1997) Lamotrigine reduces voltage-gated sodium currents in rat central neurons in culture. *Epilepsia* 38:522-525.

### III.3 Annexes

#### 3.1 Publications

R Guillemaud, J-F Bêche, O Billoint, S Bonnet, S Gharbi, J-P Rostaing, M Trévisiol, B Yvert, L Rousseau, F Goy, M Heuschkel, O David, S SAILLET, G Charvet. (2010) A multi channel platform for recording and stimulation of large neuronal structures. IRBM 30:226-33.

S SAILLET, M Langlois, B Feddersen, L Minotti, L Vercueil, S Chabardès, O David, A Depaulis, C Deransard, P Kahane. (2009) Manipulating the epileptic brain using stimulation: a review of experimental and clinical studies. Epileptic Disorders 11:100-112.

S SAILLET, G Charvet, S Gharbi, A Depaulis, R Guillemaud, O David. (2009) Closed-loop control of seizures in a rat model of absence epilepsy using the BioMEA<sup>TM</sup> system. Neural Engineering 4th International IEEE/EMBS Conference on, 5109209: 693-696.

P Kahane, S SAILLET, L Minotti, L Vercueil, S Chabardès, A Depaulis. (2008) Neurostimulation for epilepsy: myth or reality? Progress in Epileptic Disorders 7:153-169.

O David, I Guillemain, S SAILLET, S Reyt , C Deransart , C Segebarth, A Depaulis. (2008) Identifying Neural Drivers with Functional MRI: An Electrophysiological Validation. PLoS Biology 6:2683-2697.

J T Paz, M Chavez, S SAILLET, J M Deniau, S Charpier. (2007) Activity of Ventral Medial Thalamic Neurons during Absence Seizures and their

Modulation by the Nigrothalamic Pathway. The Journal of Neuroscience 27:929-941.

### 3.2 Communications orales

S Saillet. La stimulation asservie de la substance noire pour interrompre les crises d'épilepsie absence chez le GAERS. Troisièmes Rencontres du CTRS «Cognitive Development in Epilepsy», 11-12 Septembre 2009, Lyon, France.

S Saillet. Closed-loop stimulation. Secondes Rencontres du CTRS «Cognitive Development in Epilepsy», 19-20 Septembre 2008, Lyon, France.

### 3.3 Communications affichées

S. Saillet, G. Charvet, S. Gharbi, C. Deransart, R. Guillemaud, O. David, A. Depaulis. Closed loop control of seizures in a rat model of absence epilepsy. FENS « Federation of European Neurosciences », 3-7 juillet 2010, Amsterdam, Pays-Bas.

S Saillet, G Charvet, S Gharbi, A Depaulis, R Guillemaud, O David O. Closed-loop stimulation of seizures in a rat model of absence epilepsy using the BioMEA system. 9ème colloque de la Société des Neurosciences, 26-29 mai 2009, Bordeaux, France.

S SAILLET, O David, A Depaulis. La neurostimulation dans un modèle d'épilepsie absence : le rat GAERS. Cluster Recherche Rhône-Alpes Handicap Vieillesse Neurosciences, 22 Novembre 2008, Grenoble, France.

S SAILLET, G Charvet, S Gharbi, A Depaulis, R Guillemaud, O David. Closed-loop control of seizures in a model of absence epilepsy using the BiMEA system. Proc. 4th International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering, 29 avril-2 mai 2009, Antalya, Turquie.

S SAILLET, O David, I Guillemain, A Depaulis. Connectivity analysis of absence seizures: an intracerebral EEG study in a genetic rat model. FENS « Federation of European Neurosciences », 12-16 juillet 2008, Genève, Suisse.