

Physiopathologie et génétique de l'épilepsie : données récentes

Introduction

Jean-Marie Stutzmann¹ et Bernard Scatton²

Sanofi-Aventis R&D

¹ 13 quai Jules Guesde, 94403 Vitry-sur-Seine, France

² 31 avenue Paul Vaillant-Couturier, 92220 Bagneux (BS), France

Auteur correspondant : Jean-Marie Stutzmann, jm.stutzmann@wanadoo.fr

Reçu le 23 mars 2010

Résumé – Des stratégies nouvelles sont nécessaires pour le traitement de l'épilepsie, du point de vue de l'efficacité, de la sécurité et de la prévention. La recherche d'anti-épileptiques innovants est basée sur le choix de cibles biologiques appropriées, parmi lesquelles les plus pertinentes semblent être les canaux chlore et potassium. L'analyse transcriptomique/protéomique est également susceptible de révéler des gènes ou des protéines impliqués dans la maladie, notamment par la comparaison entre biopsies de tissu cérébral sain et épileptique. Des modèles génétiques animaux permettent d'analyser des épilepsies dont l'étiologie est unique. Enfin certaines cibles peuvent être découvertes fortuitement à l'occasion de programmes de recherche portant sur d'autres domaines, notamment sur les cytokines pro-inflammatoires.

Mots clés : Épilepsie / canaux chlore et potassium / cytokines pro-inflammatoires

Abstract – Physiopathology and genetics of epilepsy: recent data.

Novel strategies are needed to treat epilepsy, in order to ensure efficiency, security and prevention. The search for innovating anti-epileptics is based on finding appropriate target molecules, among which the most pertinent appear to be chlore and potassium channels. Transcriptomics and proteomics are also prone to detect genes or proteins implicated in the disease, in particular when biopsies from healthy and epileptic brains are compared. Animal genetic models provide information about epilepsies with a unique origin. Finally some targets are identified through fortuitous findings from research in other fields, notably that of pro-inflammatory cytokines.

Key words: Epilepsy / chlore and potassium channels / pro-inflammatory cytokines

L'épilepsie est une maladie neurologique dont l'incidence (40–80/100 000/an dans les pays développés, incluant 30 % de cas sévères ou pharmaco-résistants) et la prévalence (0,5 à 1 %) sont très élevées. Les coûts directs et indirects associés à l'épilepsie sont également très importants (15,5 milliards d'euros en 2004 en Europe).

Si la mise sur le marché de nouveaux anti-épileptiques a stagné entre les années 60 et le début des années 90, une nouvelle vague de molécules (environ 10 composés) a été mise à la disposition du corps médical durant les dix dernières années. Par

ailleurs, de nombreux composés sont actuellement en développement clinique. Cependant, force est de constater que la plupart de ces composés de seconde génération ont des mécanismes d'action très voisins de leurs prédécesseurs (si l'on excepte la rétigabine) et ont été développés essentiellement dans le but d'améliorer le profil pharmacocinétique et les effets secondaires des anti-convulsivants actuels.

L'épilepsie est une pathologie pour laquelle les besoins thérapeutiques non satisfaits sont importants : 60 % des crises partielles sont mal ou non contrôlées par les anti-épileptiques actuellement sur le marché

et un tiers des crises n'est pas traité. Il existe donc un réel besoin de stratégies nouvelles dans la recherche de composés anti-épileptiques possédant une meilleure efficacité (en particulier dans le traitement des épilepsies post-traumatiques, du *status epilepticus* et de l'épilepsie du lobe temporal), et une meilleure sécurité (absence d'effets métaboliques, endocriniens, sédatifs/cognitifs, tératogènes, hépatotoxiques, de tolérance au long cours, d'induction enzymatique, etc.). De même des composés de nouvelle génération prévenant l'épileptogénèse et l'évolution de la maladie (*disease modifiers*) ainsi que des composés actifs sur les patients pharmaco-résistants seraient nécessaires.

Pour trouver de tels composés, il est indispensable de développer des stratégies innovantes, ciblant de nouveaux mécanismes d'action qui diffèrent radicalement de ceux des anti-épileptiques actuels (Löscher & Schmidt, 2006).

L'étape la plus critique dans le processus de recherche de nouveaux anti-épileptiques au laboratoire est le choix de la cible biologique. Plusieurs approches peuvent être utilisées :

- La plus courante est celle basée sur la littérature scientifique, qui apporte souvent des cibles moléculaires possédant un fort rationnel scientifique. Par exemple, les études génétiques réalisées sur des patients souffrant d'épilepsies d'étiologies diverses ont permis d'identifier un certain nombre de gènes reliés à l'épilepsie. Quatorze chromosomes porteurs de régions candidates associées à l'épilepsie et 42 gènes mutés connus ont été étudiés. L'identification de ces gènes a mis en évidence l'implication de certains canaux ioniques neuronaux dans cette pathologie (canalopathies), fournissant ainsi des cibles originales pour la recherche de nouveaux anti-épileptiques. À cet égard, les canaux chlore C1CN2 et les canaux potassiques KCNQ2/3 et Kv1.1 constituent des pistes sérieuses qui sont activement poursuivies (Wickenden, 2002 ; Scheffer & Berkovic, 2003).
- Une autre approche repose sur la sélection des cibles biologiques par homologie structurale. Elle consiste à identifier dans le génome humain des gènes qui codent pour des protéines ayant une similitude structurale avec des membres de la même famille pour lesquels on possède déjà des ligands (petites molécules) identifiés. Ces nouvelles protéines ont une meilleure chance de devenir des cibles moléculaires intéressantes pour un programme de recherche puisqu'elles pourraient avoir des fonctions (ou dysfonctions) semblables à celles de la cible parente. De plus, les familles de composés de synthèse actives sur les protéines parentes ont une forte chance d'avoir une certaine affinité pour la protéine homologue. La grande famille des canaux potassiques (à 2, 4 ou 6 domaines

transmembranaires) peut se prêter à ce type d'approche dans la mesure où des composés affins pour certains des canaux de cette famille ont déjà été identifiés.

- La troisième approche est basée sur une recherche prospective utilisant les techniques de transcriptomique et de protéomique différentielle. Il s'agit de rechercher des variations d'expression de gènes ou des protéines correspondantes dans des tissus pathologiques par rapport à des tissus sains par la mesure des ARN messagers (analyse des signaux d'hybridation à l'aide de puces ADN = transcriptomique) ou celle des protéines elles-mêmes (électrophorèse bidimensionnelle sur gels avec identification des protéines d'intérêt par spectrométrie de masse = protéomique). Des échantillons de tissus cérébraux provenant de modèles animaux d'épilepsie ou de patients épileptiques ayant subi une exérèse chirurgicale peuvent être utilisés dans ce type d'analyse. Les gènes dont l'expression est augmentée ou diminuée dans ces modèles expérimentaux peuvent constituer des candidats potentiels au statut de cible biologique après avoir subi un processus de validation fonctionnelle. La recherche bio-informatique *in silico* dans les bases de données génomiques publiques ou privées, comparant tissus épileptiques et tissus sains, peut apporter des éléments décisionnels quant à la sélection de la cible biologique ; mais, le plus souvent, la validation de la cible biologique est réalisée par génomique fonctionnelle à l'aide de souris transgéniques dont le gène d'intérêt est invalidé ou surexprimé et par l'analyse du phénotype correspondant. Les biopsies cérébrales humaines peuvent aussi être utilisées comme filtres pour sélectionner des cibles potentielles (par exemple en comparant par hybridation *in situ* le tissu cérébral épileptique à du tissu sain).

Le choix du modèle expérimental pour l'identification de nouvelles cibles biologiques par analyse transcriptomique/protéomique est crucial. Il n'existe malheureusement pas de modèle universel reproduisant l'ensemble des événements moléculaires impliqués dans le processus pathologique conduisant au développement d'une épilepsie mais certains modèles d'épileptogénèse (développement progressif d'un *status epilepticus* induit par *kindling*, traitement au kaïnate ou à la pilocarpine, crises convulsives secondaires induites par un traumatisme crânien ou crises spontanées post-*status epilepticus*) se sont révélés intéressants. Les modèles génétiques (souches d'animaux avec des crises récurrentes spontanées, dues à des mutations ou des modifications induites d'expression de gènes spécifiques ou avec des crises réflexes)

représentent une approche alternative permettant de focaliser une étiologie unique.

Il est important de souligner que les processus biologiques dans leur globalité sont plus importants que les variations individuelles des gènes/protéines (identifiées par les différentes approches moléculaires telles que la transcriptomique, la protéomique ou même la génétique) qui doivent être intégrées au sein des réseaux biologiques pour espérer avancer dans la compréhension des mécanismes sous-jacents aux épilepsies. Le choix final d'une cible biologique peut porter sur une protéine présente en amont ou en aval de celles modulées par l'épileptogénèse dans la chaîne des événements biochimiques conduisant à la dérégulation du système biologique.

- La quatrième approche dans le choix des cibles biologiques peut être « opportuniste » et basée sur un programme de recherche issu d'autres domaines thérapeutiques. À titre d'exemple, les cibles issues de programmes de recherche de produits anti-inflammatoires peuvent avoir un grand intérêt, non seulement pour le traitement de l'arthrite rhumatoïde, mais aussi pour le traitement de l'épilepsie. En effet, de nombreuses données expérimentales et cliniques militent en faveur de l'implication de processus inflammatoires délétères dans différents désordres du système nerveux central (SNC), qu'ils soient autoimmuns, neurodégénératifs ou neurologiques et, en particulier, dans différentes formes d'épilepsie. Une production accrue de cytokines pro-inflammatoires et/ou inflammatoires (IL1 β , TNF α , NF κ B, IL6...) a été observée dans les tissus cérébraux, le liquide céphalo-rachidien (LCR) ou le plasma dans des modèles expérimentaux d'épilepsie (*i.e. status epilepticus, kindling*, etc.) et en clinique (épilepsie du lobe temporal, syndrome de Lennox-Gastaut, convulsions fébriles) (Gorter *et al.*, 2006). Des études chez le rongeur ont mis en évidence le fait que des réactions inflammatoires au niveau central peuvent significativement augmenter l'excitabilité

neuronale, réduire la survie cellulaire et favoriser la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE), phénomènes observés lors de crises d'épilepsie. De plus, tant au plan expérimental que clinique, des traitements anti-inflammatoires ont pu réduire la sévérité des crises d'épilepsie. Il n'en reste pas moins que la réponse inflammatoire au niveau du SNC représente une réponse de défense de l'organisme et son effet final est dépendant de l'environnement tissulaire, des cytokines produites, du type de tissu lésé et surtout de la durée de l'inflammation cérébrale (voir pour revue, Vezzani & Granata, 2005).

Il apparaît donc que l'inflammation cérébrale est un facteur pouvant contribuer à la survenue de crises et à la mort cellulaire dans différents types d'épilepsie. Une meilleure compréhension de ces processus inflammatoires pendant ou entre les crises pourrait ouvrir de nouvelles voies de recherche pour de nouveaux anti-épileptiques

Des pistes potentielles s'ouvrent donc pour la recherche de nouveaux anti-épileptiques basées sur les connaissances récentes acquises dans la physiopathologie de l'épilepsie.

Références

- Gorter J.A., van Vliet E.A., Aronica E., Breit T., Rauwerda H., Lopes da Silva F., Wadman W.J., Potential new antiepileptogenic targets indicated by microarray analysis in a rat model for temporal lobe epilepsy. *J Neurosci*, 2006, 26, 11083–11110.
- Löscher W., Schmidt D., New horizons in the development of antiepileptic drugs: innovative strategies. *Epilepsy Res*, 2006, 69, 183–2721.
- Scheffer I.E., Berkovic S.F., The genetics of human epilepsy. *TIPS*, 2003, 24, 428–433.
- Vezzani A.M., Granata T., Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia*, 2005, 46, 1724–1743.
- Wickenden A.D., Potassium channels as anti-epileptic drug targets. *Neuropharmacol*, 2002, 43, 1055–1060.