

Inflammation, angiogenèse et épilepsie

Mireille Lerner-Natoli

Institut de Génomique Fonctionnelle, CNRS UMR 5203, INSERM U661, UM1, UM2, 141 rue de la Cardonille, 34094 Montpellier Cedex 9, France

Auteur correspondant : Mireille Lerner-Natoli, mireille.lerner-natoli@igf.cnrs.fr

Reçu le 23 mars 2010

Résumé – Il est maintenant reconnu que la gliose participe à l'épileptogenèse, notamment dans le cas d'épilepsies focales symptomatiques. En effet, l'astroglie et la microglie activées sécrètent de nombreux facteurs inflammatoires, dont certains modifient l'excitabilité des neurones et d'autres contribuent à la neurotoxicité. Ces processus redondants entretiennent la chronicité de l'épilepsie. Cependant la glie n'est pas la seule source d'inflammation, car plusieurs études ont démontré qu'une altération de la barrière hémato-encéphalique est en elle-même une condition ictogène ou épileptogène, *via* l'extravasation de leucocytes et de protéines sériques qui induisent des réactions inflammatoires et immunitaires et modifient l'environnement neuronal. Récemment, un rôle important de l'inflammation périphérique a été évoqué dans ces épilepsies, attribué aux cytokines circulantes qui activent l'extravasation leucocytaire.

Mots clés : Épileptogenèse / inflammation / cytokines / angiogenèse / barrière hémato-encéphalique

Abstract – Inflammation, angiogenesis and epilepsy.

It is well admitted now that gliosis participates in epileptogenesis, particularly in symptomatic focal epilepsies, like temporal lobe epilepsy. Indeed, astrocytic and microglial activation was shown to release numerous inflammatory factors that modify neuronal excitability or contribute to neuronal loss. These redundant processes maintain chronic epilepsy. However, other sources of inflammation exist. Several studies pointed out the epileptogenicity of blood-brain barrier disruption due to the leakage of leukocytes and serum proteins, triggering inflammatory and immune responses which disturb the neuronal environment. Recently, it was proposed that peripheral inflammation plays a key-role in epilepsy, mainly mediated by circulating cytokines which promote leukocyte extravasation.

Key words: Epileptogenesis / inflammation / cytokines / angiogenesis / blood-brain barrier

Introduction

Les épilepsies focales symptomatiques sont censées être liées à une pathologie antérieure et fixée ou bien actuelle et évolutive, bien que parfois cette cause soit inconnue (cryptogénique).

Parmi ces formes d'épilepsie, l'épilepsie du lobe temporal (ELT) est la plus fréquente (prévalence 0,3 %) et devient souvent pharmaco-résistante. Les crises affectent essentiellement le lobe temporal et majoritairement l'hippocampe.

Son étiologie reste assez mystérieuse. On suppose que l'ELT se développe après un « facteur déclenchant », qui ne se manifeste pas systématiquement par une crise et qui n'est pas toujours signalé dans l'anamnèse. Ensuite, une période dite silencieuse car sans crise, plus ou moins longue (en mois ou années), précède l'apparition de crises spontanées et récurrentes qui correspond à la maladie chronique. De la même façon, le substrat morphologique n'est pas univoque : l'anatomopathologie peut montrer des pertes neuronales et des

remaniements tissulaires importants ou, au contraire, un tissu tout à fait normal...

Dans 60 % des cas environ, on observe une sclérose de l'hippocampe qui associe mort neuronale massive, gliose intense et dispersion anormale des cellules du gyrus denté. C'est l'épilepsie temporo-mésiale (ELTM) dans laquelle on retrouve généralement un antécédent de convulsions fébriles complexes pendant la petite enfance (Engel, 2001), mais la question du *primum movens* demeure : la sclérose est-elle la cause de l'épilepsie, ou bien sa conséquence ?

Dans les années 90, l'émergence du concept d'excitotoxicité a généré une hypothèse très séduisante pour la physiopathologie de l'ELT (Meldrum, 2002). En effet, l'hippocampe étant riche en voies et récepteurs glutamatergiques et, de ce fait, très excitable et vulnérable, on a postulé qu'une excitation prolongée qui entraîne des pertes neuronales importantes, suivies de réactions gliales et de processus de plasticité réactive, rend progressivement le tissu hyperexcitable. Plusieurs modèles induits chez l'animal ont confirmé cette hypothèse (Meldrum & Garthwaite, 1990).

Cependant, on a longtemps négligé la physiopathologie des 40 % d'épilepsies temporales sans sclérose hippocampique ni antécédents de convulsions fébriles. Dans ces cas, les étiologies et les substrats morphologiques sont très divers. Les supposés facteurs précipitants peuvent induire des pertes neuronales (trauma, ischémie, anoxie...), peu de mort neuronale mais une gliose (tumeur, infection), aucune toxicité mais des anomalies morphologiques (troubles de la migration neuronale, malformation vasculaire...) ou aucune altération neuro-gliale visible (épilepsies « cryptogéniques »). Malgré ces disparités, ces formes d'épilepsie temporale ne diffèrent pas des ELTM dans leurs caractères cliniques : sémiologie et fréquence des crises, variations hémodynamiques et métaboliques, sensibilité ou résistance aux médicaments.

Les anti-épileptiques restent majoritairement ciblés sur le système GABAergique ou sur les canaux sodiques et calciques (Meldrum & Rogawski, 2007). Paradoxalement, les médicaments anti-épileptiques les plus performants ont des cibles diverses, peu spécifiques, voire inconnues. Une résistance aux anti-épileptiques s'installe rapidement ou progressivement chez 15 à 20 % des patients souffrant d'ELT, quelles que soient leur étiologie ou l'étendue de leurs lésions. Certaines approches thérapeutiques sont efficaces mais encore totalement empiriques de nos jours (régime cétogène, plasmaphérese, stimulation du nerf vague...). Le recours à la chirurgie, lorsque le foyer est bien identifié et accessible, reste une des meilleures alternatives thérapeutiques malgré le risque d'effets secondaires, notamment cognitifs, et un impact économique important.

C'est pourquoi cette forme d'épilepsie est la plus étudiée et modélisée *in vivo* et *in vitro*. Aucun modèle animal n'est parfait, chacun apporte sa contribution à la connaissance des mécanismes, mais il faut parfois revenir à l'étude des foyers humains pour découvrir d'autres pistes d'investigations...

L'inflammation

Des processus inflammatoires sont associés à plusieurs pathologies neurologiques, dont les épilepsies symptomatiques, sans que l'on sache réellement si l'inflammation participe à la pathogenèse ou si elle en est une conséquence.

Les mécanismes par lesquels les facteurs inflammatoires, libérés par la glie, modulent l'excitabilité ou la survie neuronale ont été largement explorés, particulièrement par les travaux expérimentaux d'Annamaria Vezzani et de Stuart Allan sur l'IL-1 β et le TNF- α , ainsi que ceux de notre groupe sur le NF κ B.

Des études plus récentes supportent la notion d'une inflammation non gliale, suggérant un rôle majeur de la barrière hémato-encéphalique (BHE) et de facteurs périphériques.

La glie activée : première source d'inflammation (Fig. 1)

Depuis une vingtaine d'années, le rôle des cellules « non neuronales » dans l'épileptogénèse a été particulièrement exploré. La gliose, décrite dans des pièces d'exérèse provenant de la chirurgie des ELTM pharmacorésistantes, a inspiré de nombreuses études expérimentales sur la participation gliale à l'excitabilité. La prolifération de cellules gliales est associée à des changements majeurs de leur activité, qui contribuent au dysfonctionnement des neurones. Les astrocytes contrôlent l'excitabilité neuronale grâce à des récepteurs du glutamate, des canaux ioniques, des transporteurs qui tamponnent les ions K⁺ et le glutamate, des aquaporines qui régulent le flux hydrique. La microgliose est elle aussi impressionnante dans les ELTM chroniques, les cellules passant de l'état de repos à la forme activée amiboïde. Tous ces mécanismes maintiennent un environnement neuronal anormal qui favorise l'induction de crises (Boer *et al.*, 2006 ; Seifert *et al.*, 2006).

Outre ces effets qui régulent directement l'excitabilité neuronale, les cellules gliales participent à l'épileptogénèse par la sécrétion de facteurs inflammatoires, les cytokines et les chimiokines. Depuis une quinzaine d'années, des études menées sur différentes formes d'épilepsie humaine ont montré la présence de facteurs inflammatoires dans le plasma

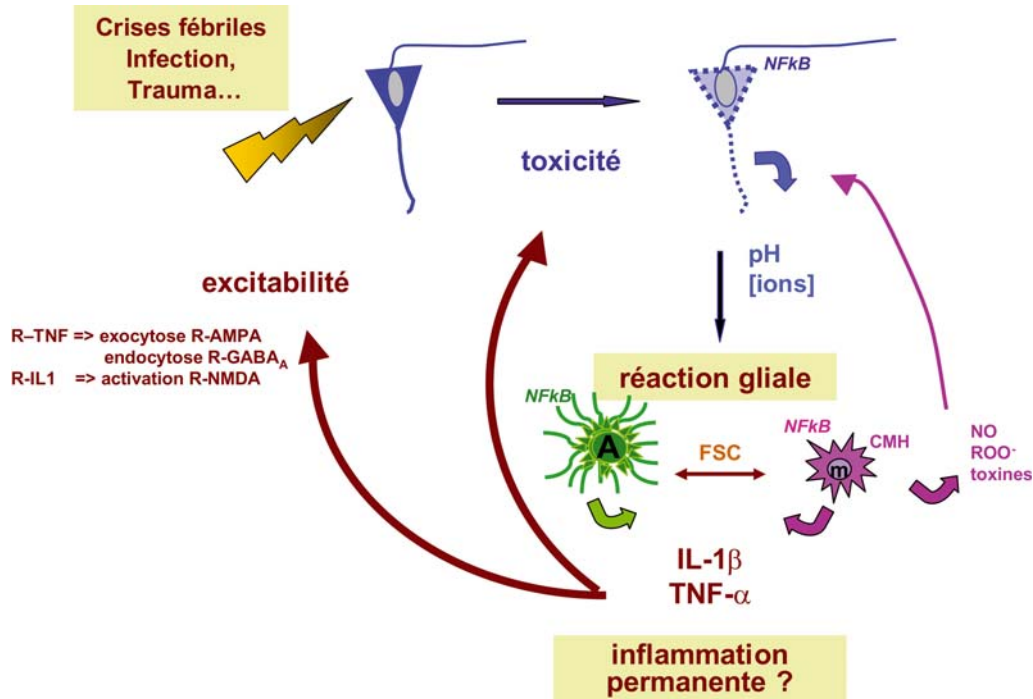


Fig. 1. Le facteur déclenchant active l'inflammation qui entretient l'épileptogenèse.

Les neurones fragilisés par une crise fébrile ou diverses pathologies émettent des signaux chimiques perçus par les cellules gliales. En réaction, celles-ci sécrètent des facteurs inflammatoires (IL-1 β , TNF- α) qui activent les récepteurs gliaux et neuronaux, modifiant l'adressage de récepteurs neuronaux en faveur d'une hyperexcitabilité. La microglie libère des facteurs stimulants de colonies, faisant proliférer les cellules gliales de façon redondante. De plus la microglie exprime les complexes majeurs d'histocompatibilité (CMH de classes I et II) et des radicaux libres, du NO ou des toxines qui contribuent au dysfonctionnement neuronal.

et/ou le LCR de patients atteints de syndrome de West, de convulsions fébriles, d'ELT, de crises tonico-cloniques et de sclérose tubéreuse. L'analyse du tissu cérébral a pu montrer la présence de cytokines dans l'encéphalite de Rasmussen, l'ELT et la sclérose tubéreuse, l'interleukine-1 β et le TNF- α étant les cytokines plus exprimées (Vezzani & Granata, 2005).

Ces facteurs sont aussi exprimés dans des modèles expérimentaux. Dans les modèles d'ELT induits chez des animaux par des convulsivants (acide kaïnique, bicuculline et pilocarpine) ou par *kindling*, on constate la surexpression de plusieurs cytokines (IL-1 β et TNF- α) et de leurs récepteurs, de chimiokines, de protéases, de facteurs de transcription et de voies de transduction connus pour participer à l'inflammation (NF κ B, P38MAPkinase, COX-2, NOS...). Dans des modèles de crises induites par l'hyperthermie ou l'inflammation, l'IL-1 β et parfois le TNF- α sont détectés dans le plasma (Vezzani & Granata, 2005).

L'interleukine-1 β

L'IL-1 β est sécrétée très rapidement après une crise par la microglie, parfois par les astrocytes. Le récep-

teur IL-1R, est exprimé par les neurones pyramidaux de l'hippocampe et par les astrocytes. Il active une voie lente impliquant les IRAK, TRAF6, NF κ B, et une voie rapide *via* les *neutral-sphingomyelinase*, céramide, Src-kinase et PI3 kinase.

L'IL-1R neuronal est co-localisé avec le récepteur du glutamate NMDA et, *via* la Src-kinase, facilite son activation en augmentant l'influx calcique. De plus, il augmente l'adressage des récepteurs AMPA à la synapse.

L'IL-1R astrocytique est indirectement épileptogène car il inhibe la recapture du glutamate et augmente sa sécrétion. Il entretient la gliose et l'inflammation par la voie NF κ B induisant IL-6, TNF- α , iNOS, COX, PGE2 (Allan *et al.*, 2005; Balosso *et al.*, 2008; Vezzani *et al.*, 2000, 2008). L'IL-1 β est donc une cytokine directement épileptogène et inflammatoire.

Cependant, les cellules gliales qui sécrètent l'IL-1 β induisent, puis libèrent un antagoniste de ce récepteur : l'IL-1RA. Or, la surexpression constitutive de cet antagoniste endogène freine considérablement l'inflammation et l'excitabilité (Vezzani *et al.*, 2000).

Deux stratégies thérapeutiques ciblant l'IL-1 β sont en développement

- 1) L'utilisation de l'*Anakinra* (*Kineret*), un recombinant de la forme humaine de l'IL-1RA prescrit dans l'arthrite rhumatoïde sévère et bientôt dans les AVC, les hémorragies subarachnoïdes ou les traumatismes (phase II), pourrait être proposée dans les ELT pharmaco-résistantes.
- 2) Le *Pralnacasan* ou la molécule VX-765 inhibent spécifiquement le site actif de l'*Interleukin Converting Enzyme*/caspase-1. Ces molécules, proposées dans des pathologies inflammatoires ou auto-immunes, ont montré des effets anti-épileptiques chez l'animal (Ravizza *et al.*, 2006).

Le TNF- α

Cette cytokine est induite par l'IL-1 β *via* NF κ B. Son action sur le fonctionnement neuronal dépend du taux de TNF- α , mais aussi de l'expression de ses récepteurs p55 (TNF- α R1) et p75 (TNF- α R2). En effet, dans les neurones, le récepteur p75 a des effets protecteurs et anti-épileptiques, *via* la voie NF κ B, alors que le récepteur p55 est neurotoxique, par la voie TRADD/FADD qui active l'apoptose. Sur les cellules endothéliales, le TNF- α exerce des effets délétères. Comme l'IL-1 β , le TNF- α participe à l'excitabilité en régulant l'expression des récepteurs ionotropes : il augmente l'adressage des récepteurs AMPA et réduit celui du GABA $_A$ à la membrane (Beattie *et al.*, 2002; Balosso *et al.*, 2005, 2009; Vezzani *et al.*, 2008).

Le TNF- α peut être épileptogène et inflammatoire mais les niveaux d'expression du TNF- α et de ses récepteurs sont déterminants.

Le NF κ B (Fig. 2)

Notre équipe a étudié les réactions inflammatoires qui succèdent à une mort neuronale excitotoxique, sur des modèles intégrés *in vivo* ou *in vitro* d'épilepsie, d'excitotoxicité, mais aussi de choc endotoxique (de Bock *et al.*, 1996, 1998). Chez l'animal, après une crise, nous avons montré une surexpression gliale et neuronale de NF κ B, facteur de transcription essentiel dans les inflammations aiguës, ainsi qu'une augmentation de son activité transcriptionnelle (Lerner-Natoli *et al.*, 2000). Dans des foyers humains provenant de la chirurgie des épilepsies pharmaco-résistantes, nous avons décrit une surexpression chronique de NF κ B dans les astrocytes réactifs et certains neurones (Crespel *et al.*, 2002b). Pour comprendre la fonction de ce facteur dans la neuro-inflammation, nous avons montré, sur des cultures organotypiques d'hippocampe en condition de choc endotoxique, que le *Caffeic Acid Phenyl Ester* (CAPE), qui inhibe la liaison de NF κ B à sa

séquence consensus, diminuait la sécrétion de TNF- α et inhibait l'induction de la NO-synthase microgliale. Comparé à d'autres anti-inflammatoires plus ou moins sélectifs, le CAPE présente un profil pharmacologique assez intéressant contre les réactions inflammatoires du système nerveux (Montpied *et al.*, 2003).

L'inflammation s'auto-entretient

De façon générale, le TNF- α et l'IL-1 β activent les cellules gliales et induisent la sécrétion d'autres cytokines ou de facteurs inflammatoires comme l'IL-6. La microglie activée est particulièrement productrice : outre les cytokines IL-1, IL-2, IL-6 et le TGF-1, elle sécrète des chimiokines, les facteurs stimulants de colonies M-CSF et GM-CSF qui entretiennent la prolifération des cellules gliales, les complexes majeurs d'histocompatibilité (MHC) de classes I et II, des protéines du complément et leurs récepteurs, comme nous l'avons décrit *in vivo* et dans les foyers humains (Lerner-Natoli *et al.*, 2000; Crespel *et al.*, 2002b). L'activation excessive des cellules gliales peut contribuer directement au dysfonctionnement des neurones. En effet, le contrôle de l'excitabilité neuronale, assuré par les astrocytes *via* les transporteurs du glutamate et les canaux potassiques rectifiants, est perturbé. Quant à la microglie suractivée, elle exprime les récepteurs du glutamate, du GABA, de l'ATP, de l'adénosine, de la dopamine, de la noradrénaline, de l'acétyl-choline, des cannabinoïdes, des opiacés, et des neuropeptides et plusieurs canaux (K $^+$, Ca $^{2+}$, H $^+$, Na $^+$ et Cl $^-$), modifiant aussi l'environnement neuronal (Hanisch & Kettenmann, 2007; Avignone *et al.*, 2008; Menteyne *et al.*, 2009). De plus, la microglie libère des quantités importantes de NO, de radicaux libres et de toxines qui sont délétères pour les neurones (Lerner-Natoli *et al.*, 1994).

Ces travaux, chez l'humain ou le rongeur, montrent que l'inflammation est persistante dans les foyers et que le NF κ B joue le rôle de chef d'orchestre dans la sécrétion redondante des cytokines. Certaines sont directement épileptogènes (IL-1 β) ou toxiques (TNF- α , IL-6) et peuvent entraîner une mort neuronale différée par apoptose. Combattre l'inflammation serait une piste thérapeutique intéressante pour empêcher le développement d'un foyer chronique.

La prolifération cellulaire : conséquence de l'inflammation et facteur de l'épileptogénèse ? (Fig. 3)

Les ELTM associent antécédents précoces de convulsions fébriles, sclérose hippocampique et épaissement anormal de la couche granulaire du

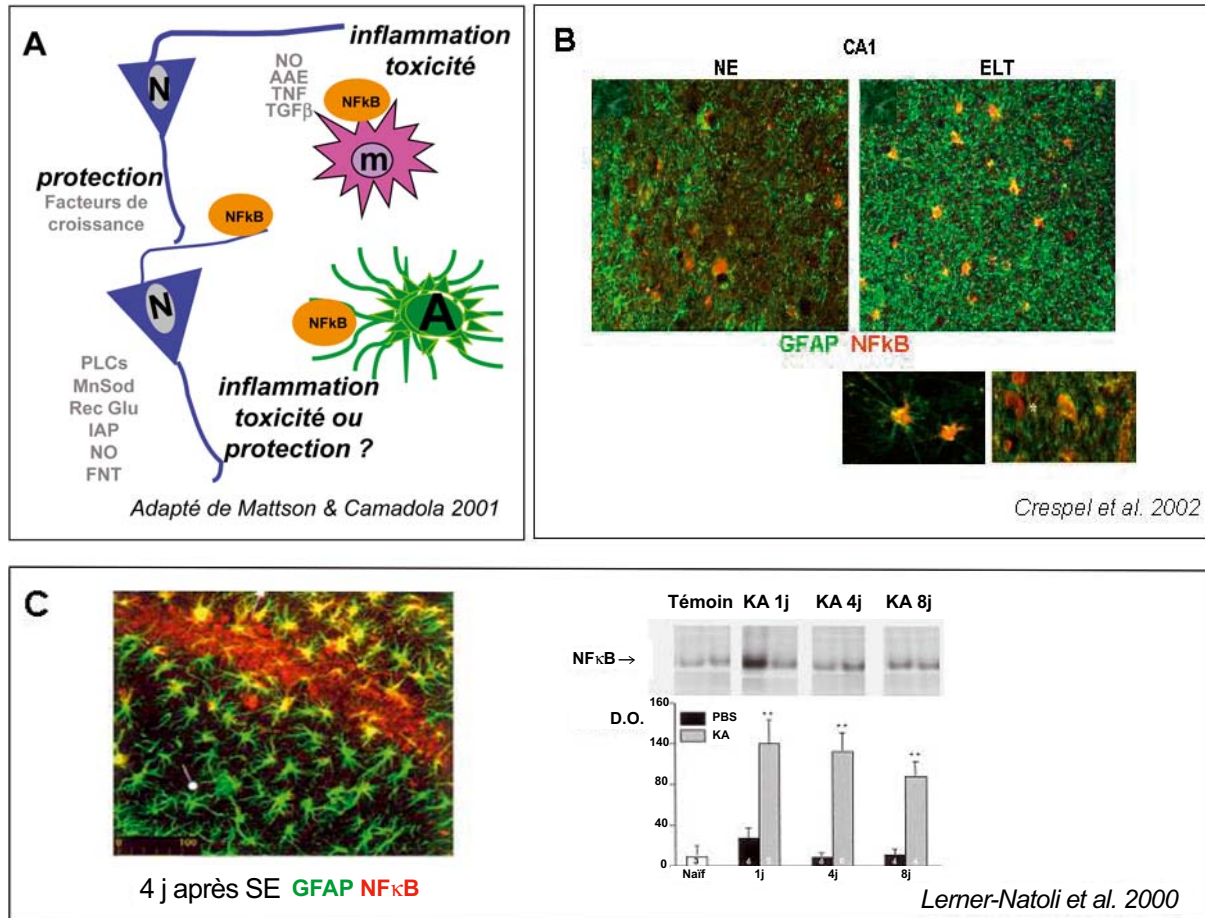


Fig. 2. Rôles de NFκB dans l'épilepsie.

(A) Fonctions intra- et inter-cellulaires du NFκB dans les différents types cellulaires du SNC (neurone (bleu), astrocyte (vert), microglie (rose), PLCs : protéines liant le calcium; AAE : acides aminés excitateurs; Rec Glu : récepteurs du glutamate; IAP : inhibiteurs d'apoptose; NO : monoxyde d'azote; MnSod : superoxyde dismutase à manganèse; NTF : facteurs neurotrophiques. TGFβ : facteur de croissance transformant. (B) expression de NFκB dans la région CA1 de l'hippocampe de patients non épileptiques (NE) et de patients souffrant d'ELT. (C) Surexpression neuronale et astrocytaire de NFκB dans l'hippocampe de rats 4 jours après induction de crises (SE, *Status Epilepticus*); quantification de son activité transcriptionnelle par gel retard montrant une translocation nucléaire importante dans les deux hippocampes à 1, 4 et 8 jours après induction des crises.

gyrus denté. Cette dernière anomalie correspond à une dispersion des neurones granulaires. Chez l'animal rendu épileptique, on a longtemps supposé que cette dispersion était associée à une neurogenèse importante, comme l'exagération de la neurogenèse « physiologique », habituellement décrite dans cette région. Ce remaniement morphologique s'accompagne de synaptogenèse et de bourgeonnement axonal, qui peut participer à l'hyperexcitabilité et/ou à la synchronisation du foyer.

Neurogenèse pathologique dans les foyers chroniques d'ELTM adultes

En comparant les phénotypes gliaux présents dans des foyers de patients atteints d'ELT, nous avons

constaté que, lorsque la couche granulaire est dispersée, les astrocytes localisés dans la zone subgranulaire présentent des prolongements radiaires épais et positifs pour la vimentine (Crespel *et al.*, 2002a). Les hypothèses actuelles attribuent à la glie radiaire embryonnaire une double fonction : à la fois « rail » de migration pour les neurones néo-formés et progéniteur commun aux neurones et astrocytes. Nous avons donc recherché des cellules souches ou progénitrices dans ces foyers. Nous avons mis en évidence la présence de très nombreux progéniteurs neuro-gliaux dans la couche sous-granulaire du gyrus denté (SGL) et la zone sous-ventriculaire (SVZ), deux régions connues comme neurogéniques, ainsi que dans la fissure hippocampique (FH), très dilatée dans les foyers. La fonction neurogénique de la FH n'a jamais été décrite auparavant,

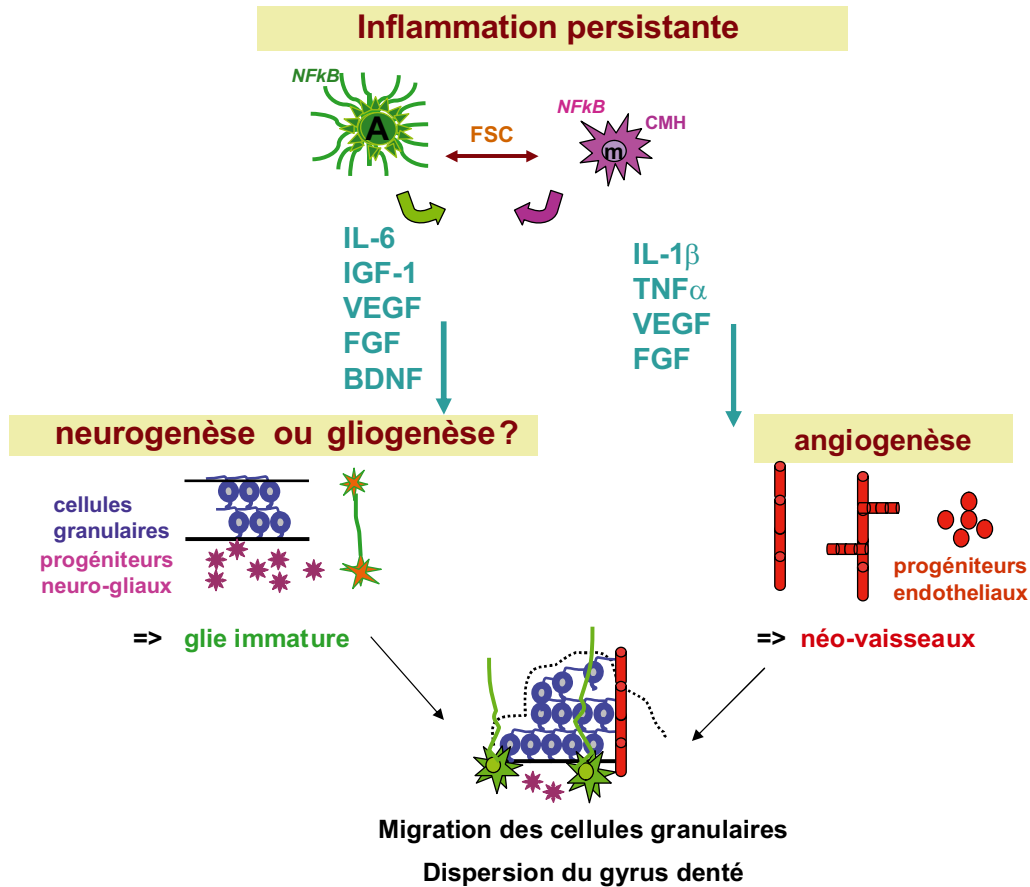


Fig. 3. L'inflammation active la prolifération des cellules neurales et vasculaires.

La glie activée libère des facteurs de croissance (FGF, VEGF, BDNF, IGF-1) et d'inflammation (IL-1 β , IL-6, TNF- α) qui stimulent les progéniteurs présents dans la couche sous-granulaire du gyrus denté. Les précurseurs neuro-gliaux prolifèrent avec une destinée majoritairement gliale immature, formant de la glie radiaire. Les précurseurs endothéliaux prolifèrent et forment de nouveaux vaisseaux. La glie radiaire et la néo-vascularisation soutiennent la migration ectopique des neurones granulaires provoquant la dispersion du gyrus denté.

mais elle est certainement comparable à celle de la SVZ, car la FH est un vestige du ventricule latéral embryonnaire.

Gliogenèse ou « neuronogenèse » : quel impact sur le foyer chronique ?

Nous avons montré que dans les foyers temporaux lésionnels, l'intense neurogenèse ne produit pas de neurones fonctionnels, mais entretient une astroglie persistante sous l'effet de différents facteurs environnementaux. Il est connu que les astrocytes immatures ont un pouvoir tampon inférieur à celui des astrocytes matures vis-à-vis du glutamate, ce qui a pour conséquence d'activer plus fortement les récepteurs glutamatergiques des neurones environnants. De même, leur courant rectifiant du potassium est inférieur à celui des astrocytes matures, ce qui

freine la repolarisation neuronale. Ces deux propriétés des astrocytes immatures ne peuvent qu'aggraver l'excitabilité du foyer épileptique (Crespel *et al.*, 2005).

Compte tenu de la quantité de progéniteurs présents dans les foyers humains, on peut considérer qu'ils participent activement à l'hyperexcitabilité chronique du foyer. Ces résultats vont à l'encontre de la tendance réparatrice, qui propose la stimulation de la « neurogenèse endogène » comme un moyen non invasif de compenser les pertes neuronales dans diverses pathologies dégénératives. Nos résultats soulignent l'importance des différents facteurs environnementaux (cytokines et facteurs de croissance sécrétés autour d'une lésion), car ils ont un effet décisif sur la destinée neuronale ou gliale des progéniteurs.

Cependant, ces remaniements neuro-gliaux sont observés uniquement dans les ELTM mais pas ou très peu dans les autres formes d'ELT, suggérant qu'ils

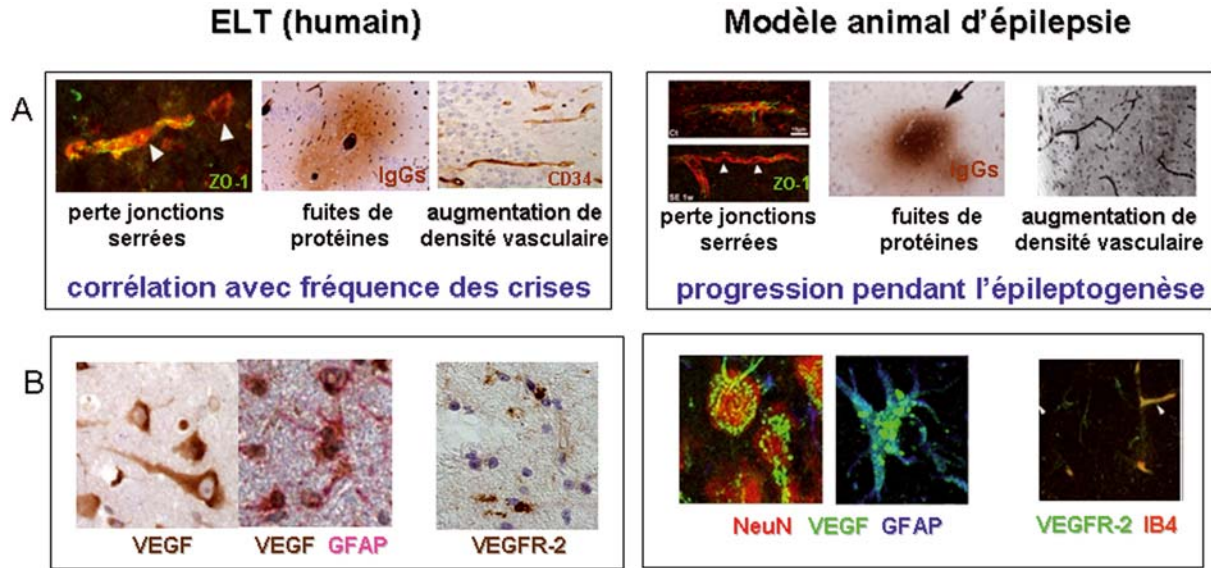


Fig. 4. Néo-vascularisation, rupture de BHE et facteurs angiogéniques.

Comparaison du remodelage vasculaire dans l'ELT chronique et dans un modèle animal. (A) Angiogenèse validée par la perte de ZO-1 (protéine de jonctions serrées de la BHE), fuite d'IgGs sériques dans le parenchyme, et présence de néo-vaisseaux. (B) Surexpression de VEGF dans les neurones et les astrocytes, néo-expression du récepteur VEGFR2 sur des capillaires bourgeonnants NeuN : marqueur spécifique des neurones, IB4 : lectine qui se fixe sur la microglie.

sont surtout associés à la sclérose hippocampique plus qu'à l'épilepsie *per se*.

L'angiogenèse : source d'inflammation et d'excitabilité (Fig. 4)

Nous avons mis en évidence des cellules vasculaires en division dans les trois zones de neurogenèse décrites ci-dessus, évoquant les « clusters neuro-angiogéniques » (Palmer *et al.*, 2000).

De plus, nous avons observé une forte densité de micro-vaisseaux exprimant des marqueurs de cellules endothéliales immatures : i) dans la couche granulaire du gyrus denté, où ils s'orientent en position radiale, ii) dans les aires lésées, notamment CA1, où les vaisseaux sont particulièrement tortueux.

Ces remaniements vasculaires sont très nets dans les ELTM mais aussi dans les autres formes d'ELT et sont absents chez les témoins. La densité vasculaire est indépendante de l'étiologie, de l'étendue des pertes neuronales, mais elle est corrélée positivement à la fréquence des crises.

Cependant, cette néo-vascularisation, qui pourrait être bénéfique pour les neurones en adaptant le débit sanguin à leur demande énergétique pendant les crises, semble être plutôt pathologique, car visiblement la barrière hémato-encéphalique (BHE) est altérée. Nous avons observé des fuites de protéines sériques dans le parenchyme et des pertes de protéines constitutives des jonctions serrées.

Or, des travaux récents, chez l'homme et l'animal épileptiques, prouvent que l'altération de la BHE est maintenant une condition épileptogène (Oby & Janigro, 2006). Des cellules sanguines et des protéines sériques envahissent le parenchyme, générant mort neuronale, inflammation, réactions immunitaires, œdème, déséquilibre osmotique, dysfonctionnement neuronal... (Ivens *et al.*, 2007 ; van Vliet *et al.*, 2007).

Néo-vascularisation et perméabilité de la BHE évoquent des processus angiogéniques. L'angiogenèse est définie comme le bourgeonnement de nouveaux capillaires à partir de vaisseaux pré-existants. L'angiogenèse « physiologique » forme de nouveaux vaisseaux matures et fonctionnels. En conditions pathologiques, elle peut être réparatrice en revascularisant un tissu ischémique par exemple. Mais dans d'autres cas (tumeurs, traumatismes, inflammation persistante...), les néo-vaisseaux ne se consolident pas et restent perméables.

Nous avons donc recherché la présence de facteurs angiogéniques dans ces foyers. Les neurones granulaires et pyramidaux expriment fortement le facteur de croissance vasculaire VEGF, ainsi que les astrocytes réactifs dans les régions lésées. Nous avons aussi mis en évidence l'expression de récepteurs du VEGF (VEGFR2) dans les micro-vaisseaux.

Afin de comprendre la cinétique du processus de néo-vascularisation du foyer épileptique, nous utilisons un modèle d'ELT chez le rat, qui récapitule l'épileptogénèse en 3 phases. La phase aiguë consiste

en l'induction d'un *Status Epilepticus* (SE), une crise épileptique limbique de quelques heures par injection de pilocarpine. Le SE est suivi de la phase silencieuse pendant laquelle se développent lésions, gliose, inflammation, réorganisation neuronale et, après 3–4 semaines, la phase chronique où apparaissent des crises spontanées.

Nous avons constaté que les facteurs angiogéniques sont exprimés très rapidement après la crise initiale et que la vascularisation augmente en quelques jours. Ensuite, lorsque l'épilepsie est chronique, il semble que chaque crise récurrente réactive ce processus. À chaque phase de l'épileptogénèse, la BHE était dégradée.

En conséquences de la perméabilité de la BHE, nous avons détecté des IgGs accumulés dans le cytoplasme de nombreux neurones, suggérant un rôle épileptogène ou toxique, que nous voulons étudier. Cette observation est à rapprocher de travaux récents sur l'extravasation de l'albumine, « recaptée » par les astrocytes, qui, en modifiant l'homéostasie potassique et glutamatergique, génère des crises (van Vliet *et al.*, 2007; Ivens *et al.*, 2007).

L'angiogenèse semble être un processus pathologique omniprésent dans les foyers chroniques.

Le VEGF est probablement le *primum movens* de cette cascade d'événements. Son récepteur VEGFR2, via la voie PI3-kinase, est neuroprotecteur. De plus, il est vasodilatateur donc adapte le débit sanguin à la demande métabolique des neurones en crise. La néo-vascularisation qu'il induit a certainement un effet bénéfique à long terme, car elle permet une meilleure irrigation des zones épileptiques.

En revanche, le bourgeonnement angiogénique a des effets délétères : pour former des collatérales, le VEGF active des métallo-protéases qui lysent la paroi vasculaire et des kinases qui dégradent les jonctions serrées de la BHE. Le taux élevé de VEGF dans les foyers chroniques laisse supposer que ces enzymes sont toujours actives, entraînant une perméabilité persistante de la BHE.

Les conséquences sont immenses et néfastes : l'accumulation de protéines sériques dans le parenchyme entraîne l'augmentation de la pression oncotique, créant un œdème qui nuit à la perfusion du tissu. L'extravasation de cellules sanguines est une source supplémentaire d'inflammation et de réactions immunitaires (voie du complément...) qui entretiennent l'excitabilité et la neurotoxicité.

L'inflammation périphérique : la source cachée...

Récemment, quelques études ont stigmatisé la participation de l'inflammation périphérique dans la sévérité

des dommages post-ischémiques (Denes *et al.*, 2009). Dans l'épilepsie, l'équipe de Pittman a démontré que des cytokines circulantes (notamment le TNF- α) activent des récepteurs localisés sur des cellules de la BHE (Riazi *et al.*, 2008; Riazi *et al.*, sous presse), initiant un processus d'extravasation des leucocytes qui induisent l'inflammation centrale. Ce processus d'« inflammation en miroir » pourrait expliquer l'existence des foyers épileptiques dits « cryptogéniques » dans lesquels on ne décèle ni mort neuronale ni gliose, mais qui présentent une altération de la BHE.

Conclusion

L'inflammation doit rester une cible thérapeutique pour les épilepsies focales symptomatiques. Les molécules qui interviennent sur l'IL-1 β et les antagonistes de l'IL-1RA sont en bonne voie d'analyse. Il faut maintenant s'intéresser aux interactions entre les différentes cytokines ou à leurs effets sur la perméabilité vasculaire.

Les facteurs angiogéniques devraient aussi constituer des cibles intéressantes, tout en bénéficiant des avancées des recherches menées sur ces molécules pour la cancérologie.

Quant à l'inflammation périphérique, elle devrait être systématiquement explorée chez les patients qui n'ont aucun antécédent neurologique.

Références

- Allan S.M., Tyrrell P.J., Rothwell N.J., Interleukin-1 and neuronal injury. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5, 629–640.
- Avignone E., Ulmann L., Levavasseur F., Rassendren F., Audinat E., *Status epilepticus* induces a particular microglial activation state characterized by enhanced purinergic signaling. *J Neurosci*, 2008, 28, 9133–9144.
- Balosso S., Ravizza T., Peregò C., Peschon J., Campbell I.L., De Simoni M.G., Vezzani A., Tumor necrosis factor-alpha inhibits seizures in mice via p75 receptors. *Ann Neurol*, 2005, 57, 804–812.
- Balosso S., Maroso M., Sanchez-Alavez M., Ravizza T., Frasca A., Bartfai T., Vezzani A., A novel non-transcriptional pathway mediates the proconvulsive effects of interleukin-1 β . *Brain*, 2008, 131, 3256–3265.
- Beattie E.C., Stellwagen D., Morishita W., Bresnahan J.C., Ha B.K., von Zastrow M., Beattie M.S., Malenka R.C., Control of synaptic strength by glial TNF-alpha. *Science*, 2002, 295, 2282–2285.
- Boer K., Spliet W.G., van Rijen P.C., Redeker S., Troost D., Aronica E., Evidence of activated microglia in focal cortical dysplasia. *J Neuroimmunol*, 2006, 173, 188–195.

- Crespel A., Coubes P., Rousset M.C., Alonso G., Bockaert J., Baldy-Moulinier M., Lerner-Natoli M., Immature-like astrocytes are associated with dentate granule cell migration in human temporal lobe epilepsy. *Neurosci Lett*, 2002a, 330, 114–118.
- Crespel A., Coubes P., Rousset M.C., Brana C., Rougier A., Rondouin G., Bockaert J., Baldy-Moulinier M., Lerner-Natoli M., Inflammatory reactions in human medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Brain Res*, 2002b, 18, 952, 159–169.
- Crespel A., Rigau V., Coubes P., Rousset M.C., de Bock F., Okano H., Baldy-Moulinier M., Bockaert J., Lerner-Natoli M., Increased number of neural progenitors in human temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis*, 2005, 19, 436–450.
- de Bock F., Derijard B., Dornand J., Bockaert J., Rondouin G. The neuronal death induced by endotoxic shock but not that induced by excitatory amino acids requires TNF- α . *Eur J Neurosci*, 1998, 10, 3107–3114.
- de Bock F., Dornand J., Rondouin G., Release of TNF α in the rat hippocampus following epileptic seizures and excitotoxic neuronal damage. *Neuroreport*, 1996, 26, 1125–1129.
- Denes A., Thornton P., Rothwell N.J., Allan S.M., Inflammation and brain injury: acute cerebral ischaemia, peripheral and central inflammation. *Brain Behav Immun*, sous presse.
- Engel J., Jr., Mesial temporal lobe epilepsy: what have we learned? *Neuroscientist*, 2001, 7, 340–352.
- Hanisch U.K., Kettenmann H., Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci*, 2007, 10, 11.
- Ivens S., Kaufer D., Flores L.P., Bechmann I., Zumsteg D., Tomkins O., Seiffert E., Heinemann U., Friedman A., TGF- β receptor-mediated albumin uptake into astrocytes is involved in neocortical epileptogenesis. *Brain*, 2007, 130, 535–547.
- Lerner-Natoli M., de Bock F., Bockaert J., Rondouin G., NADPH diaphorase-positive cells in the brain after status epilepticus. *Neuroreport*, 1994, 5, 2633–2637.
- Lerner-Natoli M., Montpied P., Rousset M.C., Bockaert J., Rondouin G., Sequential expression of surface antigens and transcription factor NF κ B by hippocampal cells in excitotoxicity and experimental epilepsy. *Epilepsy Res*, 2000, 41, 141–154.
- Meldrum B.S., Concept of activity-induced cell death in epilepsy: historical and contemporary perspectives. *Prog Brain Res*, 2002, 135, 3–11.
- Meldrum B., Garthwaite J., Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends Pharmacol Sci*, 1990, 11, 379–387.
- Meldrum B.S., Rogawski M.A., Molecular targets for antiepileptic drug development. *Neurotherapeutics*, 2007, 4, 18–61.
- Menteyne A., Levavasseur F., Audinat E., Avignone E., Predominant functional expression of Kv1.3 by activated microglia of the hippocampus after Status epilepticus. *Plos One*, 2009, 26, 4(8).
- Montpied P., de Bock F., Rondouin G., Niel G., Briant L., Courseau A.S., Lerner-Natoli M., Bockaert J., Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. *J Brain Res Mol Brain Res*, 2003, 115, 111–120.
- Oby E., Janigro D., The blood-brain barrier and epilepsy. *Epilepsia*, 2006, 47, 1761–1774.
- Palmer T.D., Willhoite A.R., Gage F.H., Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J Comp Neurol*, 2000, 425, 479–494.
- Ravizza T., Lucas S.M., Balosso S., Bernardino L., Ku G., Noé F., Malva J., Randle J.C., Allan S., Vezzani A., Inactivation of caspase-1 in rodent brain: a novel anti-convulsive strategy. *Epilepsia*, 2006, 47, 1160–1168.
- Riazi K., Galic M.A., Kuzmiski J.B., Ho W., Sharkey K.A., Pittman Q.J., Microglial activation and NF- α production mediate altered CNS excitability following peripheral inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105, 17151–17156.
- Riazi K., Galic M.A., Pittman Q.J., Contributions of peripheral inflammation to seizure susceptibility: cytokines and brain excitability. *Epilepsy Res*, sous presse.
- Seifert G., Schilling K., Steinhäuser C., Astrocyte dysfunction in neurological disorders: a molecular perspective. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7, 194–206.
- van Vliet E.A., Da Costa Araujo S., Redeker S., van Schaik R., Aronica E., Gorter J.A., Blood-brain barrier leakage may lead to progression of temporal lobe epilepsy. *Brain*, 2007, 130, 521–534.
- Vezzani A., Moneta D., Conti M., Richichi C., Ravizza T., De Luigi A., De Simoni M.G., Sperk G., Andell-Jonsson S., Lundkvist J., Iverfeldt K., Bartfai T., Powerful anticonvulsant action of IL-1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97, 11534–11539.
- Vezzani A., Granata T., Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia*, 2005, 46, 1724–1743.
- Vezzani A., Balosso S., Ravizza T., The role of cytokines in the pathophysiology of epilepsy. *Brain Behav Immun*, 2008, 22, 797–803.