

Un déséquilibre sélectif entre excitation et inhibition dendritique pourrait expliquer la genèse des crises d'épilepsie

Deux médiateurs chimiques sont responsables de l'essentiel de la transmission synaptique dans le cerveau : le GABA pour l'inhibition et le glutamate pour l'excitation. Un peu plus de 10 % des neurones libèrent du GABA, lequel va inhiber la décharge du neurone postsynaptique par l'intermédiaire du récepteur GABA_A, particulièrement important sur le plan thérapeutique. Il est la cible de nombreuses familles de médicaments agissant aussi bien sur l'anxiété que sur le sommeil ou lors de certaines crises d'épilepsie. Il en est ainsi des molécules de la famille des benzodiazépines (par exemple le Valium®) qui ont pour propriété d'augmenter l'efficacité du GABA et donc, schématiquement, de mieux inhiber les neurones et la décharge du réseau. A l'opposé, les neurones de type excitateur (plus de 90 % des neurones) libèrent du glutamate et excitent leurs cibles par l'intermédiaire d'une famille de récepteurs sélectivement activés par le glutamate. Des agents qui bloquent ces synapses peuvent bloquer totalement la décharge électrique.

On comprend intuitivement qu'un équilibre entre ces deux systèmes excitateur et inhibiteur est essentiel pour garder sous contrôle l'activité du réseau. Un déséquilibre entre ces deux actions peut se traduire par la genèse d'activités électriques de type épileptique. Ainsi, des crises sont facilement déclenchées par des produits réduisant le tonus inhibiteur ou augmentant excessivement le tonus excitateur.

Comment aborder le problème des épilepsies ? En réalité, la question

comporte deux parties indissociables. La première concerne les mécanismes de l'épileptogenèse. L'idée sous-jacente est qu'il existe des « défauts » dans le système, comme un déséquilibre entre excitation et inhibition, qui rendent le réseau épileptique. La seconde – très rarement considérée – concerne le fait que dans 99,9 % des cas le réseau est sous contrôle (il n'y a pas de crises). En d'autres termes, les « défauts » ne sont pas suffisants pour mettre le réseau en état de crise permanente.

Les travaux que nous avons entrepris depuis une vingtaine d'années nous ont permis d'expliquer certains aspects de ce problème dual. Nous nous sommes intéressés aux épilepsies dites temporales qui représentent 25 % des épilepsies. Certaines formes d'épilepsie grave du lobe temporal sont totalement résistantes aux benzodiazépines et nécessitent des interventions chirurgicales pour éliminer la sclérose. Les épilepsies temporales impliquent une structure cérébrale, l'hippocampe, également en jeu dans certains processus de mémorisation et d'apprentissage. C'est sur cette structure que ce sont concentrés nos efforts.

En premier lieu, nous avons développé un modèle animal d'épilepsie temporale qui reproduit la plupart des aspects électrographiques et pathologiques des épilepsies temporales humaines [1]. Utilisant ce modèle et des résections de tissu épileptique humain, nous avons ensuite montré que les crises d'épilepsie de type temporal provoquent des lésions de neurones « fragiles » qui vont

engendrer à leur tour un bourgeonnement de fibres nerveuses et la formation de nouvelles synapses de type excitateur. L'observation de cette néosynaptogenèse apportait une explication au vieil adage selon lequel « la crise pouvait entraîner la crise ». En effet, les nouvelles synapses – dont certaines ne sont pas présentes normalement – allaient contribuer à accroître l'excitabilité du réseau. Cette « plasticité réactive » semble être un mécanisme général du réseau malade et participe probablement à de nombreuses maladies neurologiques. Ce bourgeonnement survenant lors des crises sévères de durée importante, il ressort qu'il faut à tout prix empêcher que les crises ne durent, de façon à éviter cet emballement et la survenue de crises ultérieures. Dans un travail plus récent [2], nous avons pu identifier les conséquences fonctionnelles de cette plasticité réactive. Dans les neurones épileptiques, la fréquence des courants excitateurs est augmentée jusqu'à cinq fois par rapport au témoin du fait de l'apparition de nouvelles synapses excitatrices à la suite de la crise inaugurale. Les données morphologiques, obtenues en parallèle par injection intracellulaire d'un colorant qui permet la reconstruction du neurone, confirment directement l'importance de ces nouvelles connexions [2]. Finalement, l'activation de ces réseaux excitateurs néoformés est suffisante pour déclencher des crises épileptiformes. Par conséquent, les nouvelles synapses excitatrices sont fonctionnelles et exercent un rôle important dans la survenue des crises.

Reste à déterminer le devenir de l'inhibition. Les travaux publiés dans *Nature Neuroscience* [3] avaient pour but de déterminer le devenir des différentes formes d'inhibition dans le tissu épileptique. On sait effectivement que l'activation de synapses GABAergiques – comme celles relayées par d'autres transmetteurs – inclut des courants évoqués par la stimulation électrique, des courants spontanés engendrés par le réseau et des courants miniatures dus à une libération de quantum de transmetteur. Cette dernière est indépendante de l'activité puisqu'elle est observée en présence de TTX – une toxine qui bloque les canaux sodiques et donc la propagation d'activités de réseau.

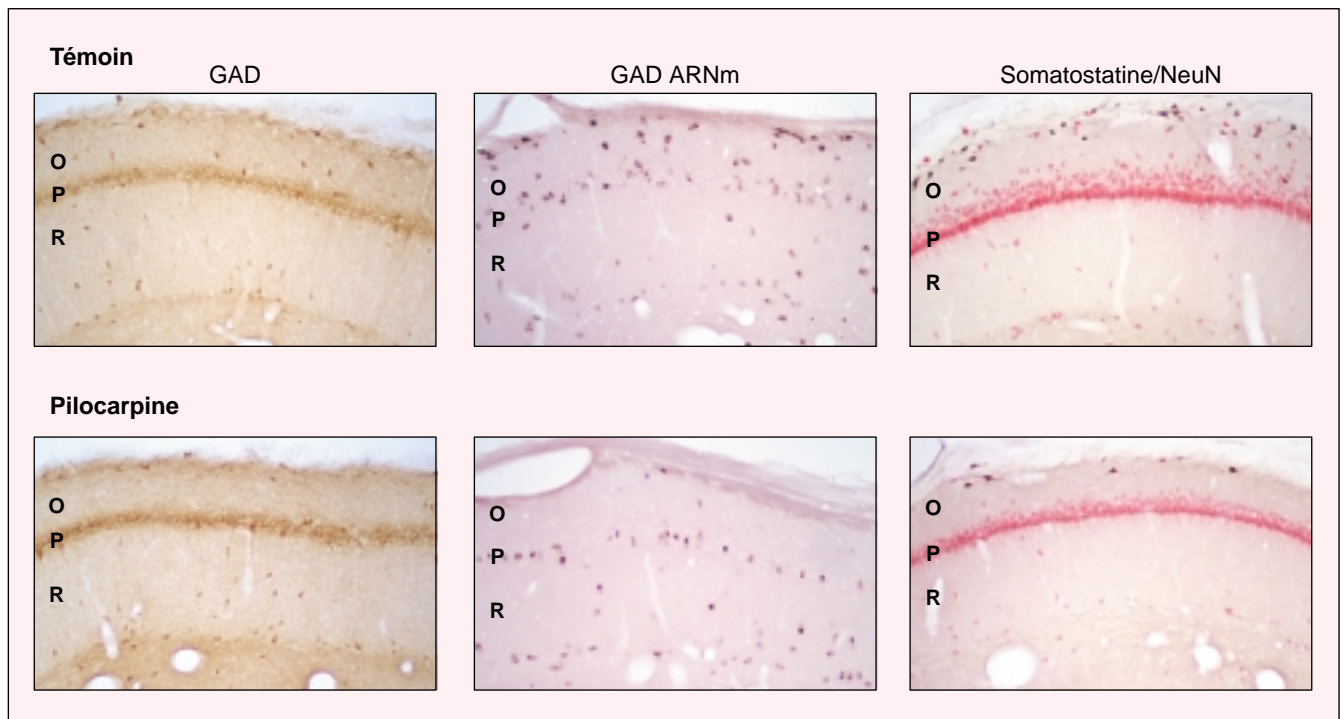
Dans ce but, nous avons utilisé deux modèles animaux de l'épilepsie du lobe temporal, les rats lésés à l'acide kaïnique et les rats lésés à la pilocarpine. Les rats sont sacrifiés une fois qu'ils ont développé des crises lim-

biques récurrentes spontanées. Des tranches d'hippocampe sont préparées et gardées en survie *in vitro*. Les techniques d'électrophysiologie, d'immunohistochimie, de morphologie et de microscopie électronique sont utilisées.

1. L'inhibition GABAergique est fonctionnelle dans le tissu épileptique [4]. Dans ce travail, nous avons montré que l'inhibition GABAergique (évoquée) n'est pas abolie dans le tissu épileptique contrairement à une théorie en vogue qui postulait que celle-ci s'effondrait car les interneurons inhibiteurs seraient « dormants » car déconnectés de leurs afférences. Cette observation est en accord avec les données cliniques et l'absence de permanence des crises et suggère que le bourgeonnement des axones glutamatergiques (*voir plus haut*) s'effectue aussi sur des neurones GABAergiques.

2. Nous avons ensuite examiné le devenir des courants miniatures

GABAergiques dans le tissu épileptique [5]. Nous avons découvert de façon totalement inattendue que ces courants étaient réduits de façon chronique dans le tissu épileptique. Cette diminution substantielle s'accompagne d'une modification de la distribution des vésicules synaptiques dans les terminaisons sans que le nombre total de terminaisons GABAergiques sur le corps cellulaire ne soit affecté dans le tissu épileptique. Ce travail qui a impliqué une analyse en microscopie électronique semi-quantitative des boutons terminaux suggère que, dans des situations pathologiques, on peut trouver des modifications de la libération quantique des transmetteurs. Ces observations suggèrent un rôle important aux mécanismes de libération quantique – domaine largement inexploré pour l'instant. De plus, ces effets semblent impliquer de façon préférentielle les corps cellulaires et non les dendrites [6, 7].



3. Restait à définir le devenir de l'inhibition spontanée et insérer l'ensemble de ces informations dans un schéma général. Nous avons d'abord utilisé des techniques immunocytochimiques (*figure 1*) pour déterminer le devenir des différents types d'interneurons dans le tissu épileptique. Nous avons observé qu'une sous-catégorie d'interneurons inhibiteurs semble particulièrement atteinte par la crise inaugurale. Ces interneurons contactent spécifiquement la partie distale de l'arbre dendritique des cellules principales, les cellules pyramidales. L'analyse en microscopie électronique a confirmé une perte de synapses GABAergiques dans cette région. Afin de déterminer les conséquences fonctionnelles de cette perte d'interneurons, nous avons enregistré directement les dendrites des cellules pyramidales et montré que l'inhibition est diminuée de 30 % dans cette région du neurone. Dans le tissu témoin, une des fonctions de ces interneurons est de contrôler la voie perforante (fibres excitatrices en provenance du cortex entorhinal). Nous avons montré que la stimulation de la voie perforante produit des décharges épileptiques dans les cellules pyramidales dans le tissu épileptique. Autrement dit, une conséquence de la perte de ces interneurons est la facilitation de la voie excitatrice temporo-ammonique. Nous nous sommes ensuite demandés si des modifications particulières affectaient les circuits inhibiteurs survivants. Afin d'aborder cette question, nous avons enregistré et caractérisé morphologiquement une centaine d'interneurons dans le tissu sain et épileptique. Les interneurons qui survivent sont hyperactifs dans le tissu épileptique. Ils déchargent plus souvent et à plus grande fréquence (+ 50 %) que dans le tissu témoin. Cette hyperactivité semble due à une augmentation de 700 % du barrage excitateur alors que l'activité inhibitrice qu'ils reçoivent n'est pas modifiée. Cette augmentation de l'activité excitatrice qu'ils reçoivent semble due au bourgeonnement réactif des fibres glutamatergiques dont nous avons parlé précédemment. En d'autres termes, la plasticité réactive glutamatergique

se traduit aussi par la formation de nouvelles synapses sur les interneurons avec comme conséquence une augmentation paradoxale du tonus inhibiteur dans le tissu épileptique. La conséquence physiologique directe de cette hyperactivité est une augmentation de l'inhibition de 50 % dans le soma des cellules pyramidales. L'inhibition somatique joue un rôle fondamental, car elle contrôle totalement la décharge neuronale. Il est intéressant de rappeler que, dans un travail parallèle, nous avons montré que l'acide kaïnique – agent épileptogène par excellence – augmente aussi le tonus inhibiteur en excitant des interneurons *via* des récepteurs dont certains semblent avoir une composition particulière en termes de sous-unités [8, 9]. En résumé (*figure 2*), les crises provoquent la formation de nouvelles connexions de type glutamatergique et induisent la perte de certains inter-

neurones GABAergiques qui ont pour particularité d'innervier sélectivement les dendrites des cellules pyramidales. Ces neurones ont pour rôle de prévenir l'invasion du corps cellulaire de la cellule principale par des activités électriques engendrées dans les dendrites. Nous avons obtenu des données qui confirment l'indépendance entre inhibition somatique et dendritique [6]. En d'autres termes, non seulement l'excitation augmente dans les cellules principales, mais aussi un frein important est enlevé. D'un autre côté, l'excitation augmente aussi dans les interneurons qui résistent aux crises, même durables. La conséquence est une hyperactivité des interneurons et une augmentation de l'inhibition au niveau du soma des cellules principales. Ce mécanisme est important, car l'inhibition du corps cellulaire permet d'empêcher la propagation d'activités électriques

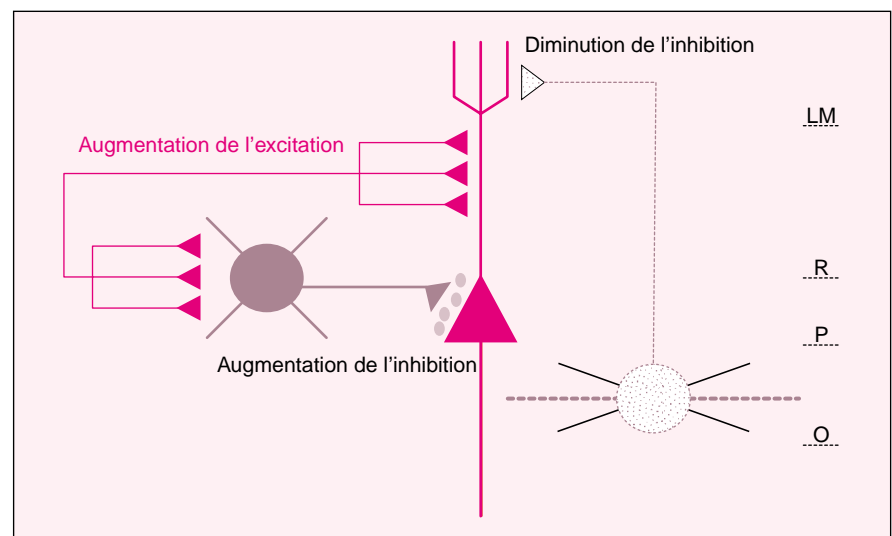


Figure 2. **Représentation schématique des modifications dans le tissu épileptique.** Dans le tissu épileptique, on observe : (1) une perte des neurones qui innervent les dendrites apicaux des cellules pyramidales avec comme conséquence une diminution de l'inhibition dendritique ; (2) une augmentation des afférences glutamatergiques sur les corps cellulaires et les dendrites des cellules principales (en rouge) et des interneurons (en gris). Il en résulte une excitation accrue des cellules pyramidales mais aussi indirectement une augmentation de l'inhibition (résultant de l'excitation des interneurons). Cependant, la conséquence de ces modifications chroniques est une baisse sélective de l'inhibition dendritique car les synapses manquantes ne sont pas remplacées. Différentes couches de la formation hippocampique : LM, lacunosum moleculare ; R, radiatum ; P, couche pyramidale ; O, Oriens.

vers d'autres neurones et donc la genèse d'activités épileptiques : c'est le seul frein qui reste à la genèse des crises, car le premier frein est en partie détruit par la crise inaugurale, mais pas le second. La conséquence de ces événements est que les crises ne vont pas être engendrées de façon continue – il y a un frein qui l'empêche – mais le seuil de déclenchement des crises est réduit au niveau des dendrites, suffisamment pour permettre la facilitation d'événements qui auraient été empêchés dans un tissu sain. De plus, la diminution des activités miniatures va entraîner une perte de l'inhibition indépendante de l'activité, ce qui implique la nécessité d'une décharge soutenue des interneurons.

Ces observations soulèvent des questions à la fois fondamentales et thérapeutiques concernant les épilepsies en général et les épilepsies temporales en particulier. Au plan fondamental, ces observations suggèrent un déficit de plasticité entre les neurones glutamatergiques et GABAergiques. En effet, le bourgeonnement de fibres excitatrices semble être une propriété fondamentale du circuit qui va concerner tous ses éléments. Nous pensons que ce type de mécanisme peut aussi être important dans les ischémies cérébrales. En revanche, nous n'avons pas démontré un bourgeonnement de fibres GABAergiques et on pourrait à la limite se demander si ce déficit – cette différence entre synapses GABAergiques (qui ne semblent pas être remplacées) et glutamatergiques – n'est pas une des principales causes de l'épileptogénèse. En tout cas, il est clair que le réseau se réorganise et mûrit après une crise et que la compréhension des mécanismes sous-jacents passe par la détermination des propriétés du foyer épileptique, les travaux sur du tissu témoin rendu épileptique par la perfusion avec des agents épileptogènes n'ayant que peu de pertinence. Au plan thérapeutique, il semble important de déterminer les différences entre les récepteurs GABA des dendrites et des corps cellulaires (certaines sont bien établies) et des approches qui devraient permettre d'augmenter l'inhibition dendritique. Les straté-

gies thérapeutiques futures devraient tenir compte de cette dualité du devenir de l'inhibition dans les épilepsies du lobe temporal : plus dans le soma, moins dans les dendrites ■

Rosa Cossart
Céline Dinocourt
June Hirsch
Monique Esclapez
Christophe Bernard
Yézékiel Ben-Ari

Inserm U. 29, Épilepsie et ischémie cérébrale, Parc scientifique de Luminy, 13273 Marseille Cedex 09, France.

RÉFÉRENCES

1. Ben-Ari Y. Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid : mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 1985 ; 14 : 375-403.
2. Esclapez M, Hirsch JC, Ben-Ari Y, Bernard C. Newly formed excitatory pathways provide a substrate for hyperexcitability in experimental temporal lobe epilepsy. *J Comp Neurol* 1999 ; 408 : 449-60.
3. Cossart R, Dinocourt C, Hirsch J, Merchan-Perez A, De Felipe X, Ben-Ari Y, Esclapez M, Bernard C. Dendritic but not somatic GABAergic inhibition is decreased in experimental temporal lobe epilepsy. *Nat Neurosci* 2001 ; 4 : 52-62.
4. Esclapez M, Hirsch JC, Khazipov R, Ben-Ari Y, Bernard C. Operative GABAergic inhibition in hippocampal CA1 pyramidal neurons in experimental epilepsy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 22 : 12151-6.
5. Hirsch JC, Agassandian C, Merchan-Perez A, Ben-Ari Y, DeFelipe J, Esclapez M, Bernard C. Deficit of quantal release of GABA in experimental models of temporal lobe epilepsy. *Nat Neurosci* 1999 ; 2 : 499-500.
6. Cossart R, Hirsch JC, Cannon RC, Dinocourt C, Wheal HV, Ben-Ari Y, Esclapez M, Bernard C. Distribution of spontaneous currents along the somato-dendritic axis of rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Neuroscience* 2000 ; 99 : 593-600.

TIRÉS À PART

Y. Ben-Ari.

7. Cossart R, Tyzio R, Dinocourt C, Esclapez M, Hirsch JC, Ben-Ari Y, Bernard C. Presynaptic kainate receptors that enhance the release of GABA on CA1 hippocampal interneurons. *Neuron* 2001 (sous presse).

8. Cossart R, Esclapez M, Hirsch JC, Bernard C, Ben-Ari Y. GluR5 kainate receptor activation in interneurons increases tonic inhibition of pyramidal cells. *Nat Neurosci* 1998 ; 1 : 470-8.

9. Ben-Ari Y, Cossart R. Kainate, a double agent that generates seizures : two decades of progress. *Trends Neurosci* 2000 ; 23 : 580-7.