

Épilepsies, convulsions fébriles et canaux ioniques : le début d'une longue histoire

Stéphanie Baulac
Isabelle An
Alexis Brice
Éric Le Guern

Les épilepsies sont des affections neurologiques fréquentes. Les épilepsies idiopathiques, c'est-à-dire celles lors desquelles on ne retrouve pas de lésion cérébrale, ont une composante héréditaire importante. L'étude de telles formes familiales d'épilepsie a permis de mettre en cause des gènes codant pour des canaux ioniques (potassiques et sodiques) et pour un récepteur-canal neuronal (le récepteur nicotinique), soulignant l'appartenance de certaines épilepsies à la famille des « canalopathies ». Dans une épilepsie généralisée familiale associée à des convulsions fébriles (syndrome GEFS+), deux sous-unités d'un canal sodique neuronal ont été incriminées. Très récemment, une mutation du récepteur GABA_A a également été reconnue dans ce type d'épilepsie, impliquant pour la première fois directement ce récepteur dans une épilepsie humaine alors que son rôle dans l'épileptogenèse est suspecté depuis des décennies.

Les épilepsies constituent un très vaste ensemble de maladies qui touchent environ 0,5 à 1 % de la population générale. L'existence de facteurs génétiques est connue depuis longtemps, du fait d'une fréquence élevée d'antécédents familiaux chez les malades, ou d'un taux de concordance plus élevé chez les jumeaux monozygotes que chez les jumeaux dizygotes. La prédisposition génétique est très variable selon les syndromes épileptiques, tels qu'ils sont définis par la classification internationale qui distingue deux grandes catégories, les syndromes partiels et géné-

ralisés [1]. A cette première dichotomie fait suite une seconde qui sépare les formes symptomatiques (présence de lésion cérébrale ou de désordre métabolique), des formes idiopathiques (absence de lésion cérébrale). Si les premières peuvent présenter une composante génétique, c'est surtout dans le domaine des épilepsies idiopathiques que l'implication de facteurs génétiques est importante (estimée entre 20 % et 40 % des cas). On suspecte que les épilepsies idiopathiques sont le plus souvent des maladies multifactorielles (intervention conjointe, chez le même malade, de plusieurs gènes qui interagissent

ADRESSES

S. Baulac, A. Brice, É. Le Guern : Inserm U. 289, neurologie et thérapeutique expérimentale, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13, France. I. An : Pôle d'épilepsie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, 47, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13, France.

avec l'environnement) mais, dans certains cas, une hérédité monogénique, souvent autosomique dominante, peut être affirmée. Plusieurs gènes codant pour des canaux ioniques neuronaux ou des récepteurs de neurotransmetteurs (de type récepteurs-canaux) ont été impliqués ces dernières années dans ces formes à « hérédité simple » : des canaux potassiques dans les convulsions familiales néonatales bénignes [2-4], le récepteur nicotinique à l'acétylcholine dans les épilepsies frontales nocturnes autosomiques dominantes [5-7] et, dernièrement, des canaux sodiques dans les épilepsies généralisées avec convulsions fébriles (syndrome GEFS+) [8, 9] (Tableau I). Nous nous intéresserons plus particulièrement à ces dernières, dans lesquelles vient d'être impliqué le récepteur GABA_A [10, 11].

Le syndrome GEFS+ : quand la variabilité est une constante

Les convulsions fébriles touchent 3 à 5 % des enfants, avant l'âge de 6 ans [12]. L'existence de convulsions fébriles familiales suggère l'interven-

tion d'une composante génétique. Les convulsions fébriles ne sont pas considérées comme une épilepsie dans les classifications internationales, mais comme un syndrome épileptique spécial, remarquable par ses caractéristiques transitoires et bénignes. Pourtant, l'association entre épilepsie et convulsions fébriles est fréquente, et 13 % des patients avec épilepsie ont eu des antécédents personnels de convulsions fébriles [12]. Des études de familles ont confirmé les liens génétiques entre convulsions fébriles et crises épileptiques.

Pour rendre compte de cette association, un nouveau contexte familial associant des épilepsies généralisées à des convulsions fébriles a été individualisé par I. Scheffer et S. Berkovic en 1997 : le syndrome « GEFS+ » pour *generalized epilepsy with febrile seizures plus* [13] (figure 1). Bien que l'on utilise le terme de syndrome, il ne s'agit pas d'un syndrome épileptique au sens habituel du terme (c'est-à-dire électro-clinique), mais de la reconnaissance d'un contexte familial. Le tableau clinique est défini à l'échelle familiale et non individuelle, et il est caractérisé par une grande variabilité phénotypique

inter et intra-familiale. Les individus atteints présentent des convulsions fébriles classiques, d'autres des convulsions fébriles particulières (dites « convulsions fébriles plus ») qui persistent tardivement, au-delà de l'âge de 6 ans. Elles sont par ailleurs souvent nombreuses chez un individu donné. L'antécédent de convulsions fébriles n'est pourtant pas constant chez tous les individus atteints. Avec ou sans intervalle libre par rapport à la période des convulsions fébriles, des crises d'épilepsie afébriles de nature variée peuvent survenir. Elles étaient toutes décrites, dans la famille princeps, comme des crises généralisées (crises tonico-cloniques, myoclonies, crises atoniques, absences) [13]. En fait, d'autres types de crises ont été décrites ultérieurement dans d'autres familles : crises toniques, crises partielles (temporales ou frontales). L'âge de début des crises afébriles est très variable, entre l'enfance et l'âge adulte. Plusieurs types de crises afébriles peuvent s'observer chez un patient, donnant lieu à des tableaux électro-cliniques plus ou moins typiques. Il faut souligner qu'un déficit intellectuel est observé chez certains

Tableau I. Gènes impliqués dans les épilepsies idiopathiques humaines.

Épilepsies monogéniques	Locus	Gènes	Mutations	Canaux ioniques
Épilepsie frontale autosomique dominante à crises nocturnes	20 q13	CHRNA4	Ser248Phe InsLeu259	Sous-unité α4 du récepteur nicotinique
	1 cen	CHRN2	Val287Leu Val287Met	Sous-unité β2 du récepteur nicotinique
Convulsions néonatales familiales bénignes	20 q13	KCNQ2	Ala306Thr Tyr284Cys	Canal potassique
	8 q24	KCNQ3 Trp309Arg	Gly263Val	Canal potassique
Épilepsies généralisées avec convulsions fébriles	19 q13	SCN1B	Cys121Trp	Sous-unité β1 du canal sodique
	2 q31	SCN1A	Arg1648His, Thr875Met Asp188Val Val1353Leu Ile1656Met Trp1204Arg	Sous-unité α1 du canal sodique
	2 q31	SCN2A	Arg187Trp	Sous-unité α2 du canal sodique
	5 q34	GABRG2	Lys289Met Arg43Gln	Sous-unité γ2 du récepteur GABA _A

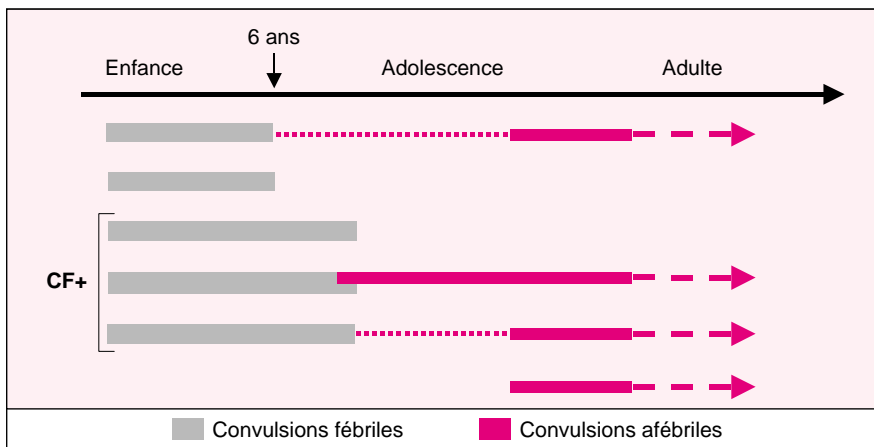


Figure 1. **Schéma des différentes associations de crises épileptiques dans le syndrome GEFS+.** Le tableau clinique GEFS+ est caractérisé par la survenue de convulsions fébriles dans l'enfance qui peuvent se prolonger au-delà de l'âge de six ans et être associées ultérieurement à des épilepsies, généralisées ou partielles.

patients. L'évolution et la pharmacosensibilité de l'épilepsie sont très variables d'un individu à l'autre au sein de la même famille mais, en règle générale, ces épilepsies sont relativement bénignes: elles guérissent spontanément ou sont contrôlées par un traitement antiépileptique standard. La variabilité phénotypique du syndrome GEFS+ et l'existence de familles associant convulsions fébriles et épilepsies partielles nous poussent à ne pas restreindre aux seules épilepsies généralisées le cadre GEFS+, qui constitue une porte d'entrée pour l'étude génétique d'une grande variété d'épilepsies.

Le syndrome GEFS+ est transmis selon un mode autosomique dominant avec une pénétrance incomplète (environ 80%). Il est génétiquement hétérogène (la maladie peut être due à l'atteinte de différents gènes). Il est aussi important de noter que, dans le domaine des épilepsies et des convulsions fébriles, il ne faut pas négliger l'existence de « phénocopies », c'est-à-dire de patients ayant une présentation clinique identique à celle de leurs apparentés atteints mais sans lien avec la mutation qui ségrège dans la famille étudiée. La fréquence de ces phénocopies peut être évaluée par la prévalence des convulsions fébriles (soit 3 à 5% des enfants) et des épilepsies généralisées dans la population générale [12].

Un canal sodique neuronal impliqué dans le syndrome GEFS+

Un premier gène a été localisé en 1998 sur le chromosome 19, dans une famille australienne, et une mutation ponctuelle (Cys121Trp) a ensuite été identifiée dans le gène *SCN1B*, qui code pour la sous-unité $\beta 1$ d'un canal sodique dépendant du voltage [8]. Cette mutation remplace une cystéine, impliqué dans la formation d'un pont disulfure nécessaire à la structure secondaire de la sous-unité $\beta 1$, par un tryptophane. En 1999, nous avons rapporté, simultanément avec l'équipe de A. Malafosse (Hôpital universitaire de Genève, Suisse), un second locus en 2q21-q33 [14, 15]. L'interrogation des banques de données a révélé la présence, dans cet intervalle génétique, d'un groupe ou d'un complexe de gènes à expression neuronale, *SCN1A*, *SCN2A* et *SCN3A* codant respectivement pour les sous-unités $\alpha 1$, $\alpha 2$ et $\alpha 3$ du même canal sodique voltage-dépendant. Ces trois gènes de grande taille (26 exons) constituaient évidemment de bons gènes candidats du fait de leur fonction. En collaboration avec le groupe de M. Meisler (Université du Michigan, États-Unis), qui avait établi la structure génomique de ces gènes, nous avons identifié deux mutations ponctuelles (Arg1648His et Thr875Met) dans le gène *SCN1A*

[9]. Deux autres familles ont ultérieurement été associées à ce locus [16, 17]. Très récemment, une mutation ponctuelle (Arg187Trp) dans le gène *SCN2A* a été décrite chez un patient présentant des crises fébriles et afébriles [18]. Bien qu'une ségrégation entre la mutation et la maladie ne puisse être démontrée dans ce cas, les résultats des études électrophysiologiques, qui ont mis en évidence un défaut d'inactivation du canal, sont en faveur de la responsabilité de cette mutation dans le phénotype.

Le canal sodique dépendant du potentiel est constitué d'une sous-unité α transmembranaire de 260 kDa qui forme le pore du canal et de deux sous-unités transmembranaires auxiliaires $\beta 1$ (33 kDa) et $\beta 2$ (36 kDa). La sous-unité $\beta 1$ est associée à la sous-unité α par des liaisons non covalentes, tandis que la sous-unité $\beta 2$ est liée par un pont disulfure. Onze gènes codant pour des sous-unités α , très homologues entre eux, ont été localisés sur le génome humain. Sept sont exprimés dans les neurones [19]. Les sous-unités α comportent quatre domaines distincts (I-IV). Chacun d'entre eux est composé de six hélices transmembranaires (S1-S6) (figure 2A) [20, 21]. Ces quatre domaines forment une structure en rosette insérée dans la membrane plasmique dont le pore du canal est le centre (figure 2B). Les domaines S4 sont responsables de l'activation du canal en réponse au potentiel. Ils sont composés de résidus chargés positivement (lysine et arginine) distribués tous les 3-4 acides aminés (ce qui correspond à un tour d'hélice α) [22]. Ce motif S4 est conservé dans les canaux calciques, potassiques et sodiques dépendants du voltage, ce qui suggère qu'il existe un mécanisme commun d'activation des canaux ioniques dépendants du voltage. Les segments S5-S6 de chaque domaine interviennent dans la formation du pore [23]. La boucle intracellulaire entre les domaines III et IV est impliquée dans l'inactivation du canal [24].

Les deux mutations initialement identifiées sont situées dans deux des segments transmembranaires S4 (domaines II et IV) [9]. Plus récemment, quatre nouvelles mutations ponctuelles ont été identifiées dans le gène *SCN1A*, dans d'autres régions

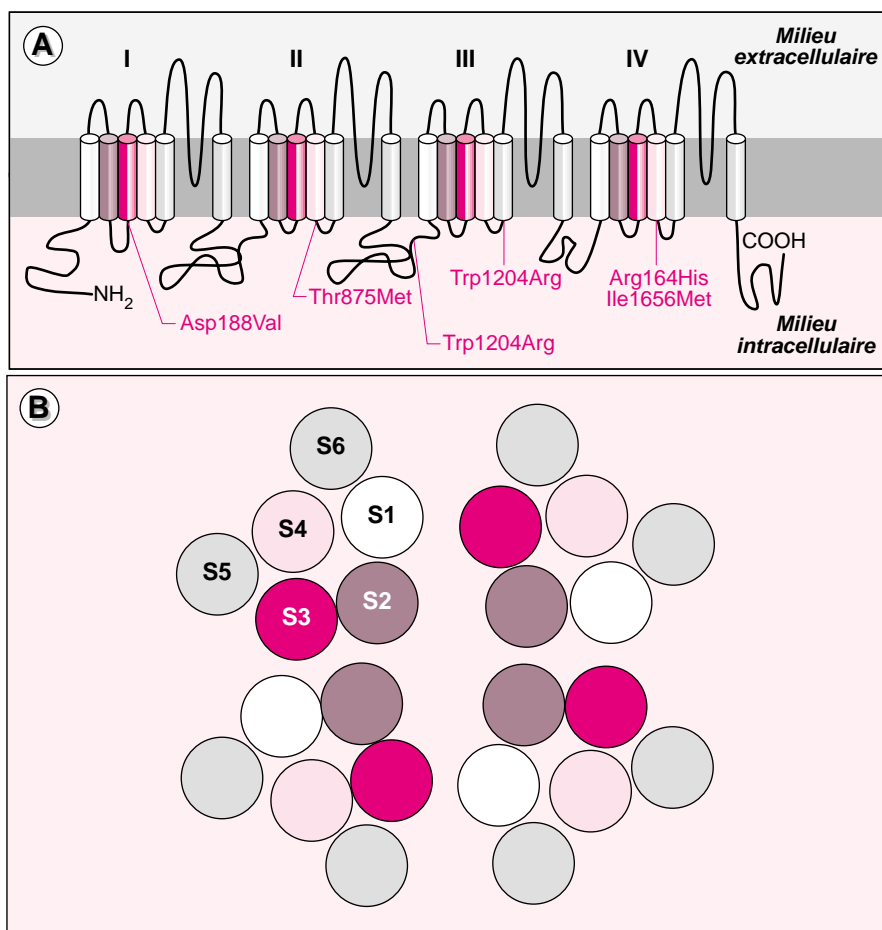


Figure 2. **A. Schéma de la sous-unité $\alpha 1$ du canal sodique neuronal dépendant du voltage.** Les mutations identifiées dans le gène SCN1A sont représentées. Trois mutations sont localisées dans le domaine S4, deux sont situées dans les boucles cytoplasmiques et une dans le domaine S5. **B. Représentation schématique** (vue en perspective et de dessus) **du canal sodique dépendant du voltage** montrant la disposition des différentes sous-unités formant le pore.

fonctionnelles de la protéine (figure 2A) [25, 26], ce qui suggère que le gène SCN1A serait plus fréquemment impliqué dans le contexte GEFS+ que le gène SCN1B.

Les canaux sodiques sont responsables du déclenchement et de la propagation des potentiels d'action dans les cellules nerveuses et musculaires. L'entrée d'ions sodium entraîne une dépolarisation qui va augmenter l'excitabilité cellulaire. Tout dysfonctionnement du canal est ainsi susceptible d'être à l'origine d'une activité électrique anormale. Le canal sodique dépendant du voltage est déjà depuis longtemps une cible pour différentes molécules anti-épileptiques qui sont fréquemment utilisées en clinique. Les drogues blo-

quant les canaux sodiques sont efficaces sur des modèles d'épilepsie tels que le modèle par électrochoc et le *kindling* (rat rendu épileptique par de brèves stimulations électriques intracérébrales répétées) [27]. Ces drogues permettent également de contrôler des décharges qui sont obtenues spontanément dans des tranches de cerveau de rongeur *in vitro* quand le milieu est pauvre en magnésium [28]. La carbamazépine et la phénytoïne, qui sont des médicaments agissant à la fois sur les crises généralisées tonico-cloniques et sur les crises partielles, diminuent l'hyperexcitabilité cellulaire en inhibant les courants sodiques à travers ces canaux dépendants du voltage [27].

Les conséquences fonctionnelles de la mutation Arg1648His ont été analysées par des études électrophysiologiques. La mutation a été introduite par mutagenèse dirigée dans l'ADN complémentaire de SCN4A, qui code pour la sous-unité $\alpha 4$ du canal sodique musculaire dépendant du voltage et est très similaire à SCN1A. La construction a été transfectée dans des cellules de mammifères. Les auteurs ont montré par la technique du voltage imposé que cette mutation altère plusieurs propriétés intrinsèques du canal, provoquant: (1) une diminution de la phase d'inactivation; (2) une récupération de la phase d'inactivation plus rapide; et (3) une accélération de la phase d'activation. Ces modifications électrophysiologiques entraînent une entrée prolongée d'ions sodium dans la cellule, et une dépolarisation membranaire. L'augmentation de la fréquence des décharges neuronales serait le reflet de l'hyperexcitabilité cellulaire [29]. Toutefois, le lien entre un dysfonctionnement des sous-unités $\alpha 1$, $\alpha 2$ ou $\beta 1$ du canal sodique dépendant du voltage et les mécanismes de l'épileptogénèse reste à préciser.

Le récepteur GABA_A enfin directement impliqué dans une épilepsie familiale !

Très récemment, nous avons étudié une famille française (identifiée lors de la campagne organisée par le Généthron sous l'égide de l'Association pour la Recherche sur la Génétique des Épilepsies) qui comprenait 17 membres atteints. Les locus situés sur les chromosomes 19q (GEFS1), alors impliqués dans le syndrome GEFS+ [8] et 2q (GEFS2) [14, 15], ont été exclus. Du fait du grand nombre de patients, la famille était suffisamment informative pour qu'une cartographie génétique soit réalisée et un troisième locus a été identifié sur le bras long du chromosome 5, en 5q34. L'intervalle génétique comprenait les gènes GABRA1, GABRA6, GABRB2 et GABRG2, qui codent respectivement pour les sous-unités α_1 , α_6 , β_2 et γ_2 du récepteur GABA_A.

Le GABA (acide γ -aminobutyrique) est le principal neurotransmetteur

inhibiteur du cerveau, et les théories physiologiques de l'épileptogénèse mettaient en avant depuis des années une hyperexcitabilité neuronale due à un déséquilibre entre excitation (neurotransmission glutamatergique) et inhibition (neurotransmission GABAergique). Dans ce contexte, l'un des gènes codant pour une sous-unité du récepteur GABA_A constituait un excellent gène candidat par fonction. Nous avons alors analysé par séquençage les neuf exons du gène *GABRG2*, qui code pour la sous-unité γ_2 du récepteur GABA_A, et identifié une mutation ponctuelle (Lys289Met). Cette mutation entraîne la substitution d'une lysine par un résidu méthionine dans la boucle extracellulaire entre les segments transmembranaires M2 et M3 [10] (figure 3). De nombreux arguments génétiques plaident pour son implication dans le phénotype : (1) la mutation co-ségrège avec la maladie dans la famille ; (2) elle concerne un acide aminé conservé chez d'autres espèces vertébrées (souris et poulet) et non vertébrées (nématode), dans d'autres sous-unités du récepteur GABA_A mais aussi dans les sous-unités α_1 et β du récepteur de la glycine ; (3) cette mutation n'a pas été retrou-

vée dans la population générale (Europe, Maghreb et Asie) chez 400 individus sains.

Le récepteur GABA_A : un élément de contrôle de l'inhibition cérébrale

Lorsqu'il est libéré dans la fente synaptique, le GABA peut se fixer sur deux types de récepteurs, les récepteurs du GABA de type A (GABA_A) et de type B (GABA_B). Le récepteur GABA_A appartient à la famille des récepteurs ionotropes, c'est-à-dire des récepteurs couplés à un canal ionique, ici perméable aux ions chlore. La fixation du GABA sur le récepteur augmente la perméabilité aux ions chlore, ce qui stabilise le potentiel de repos et induit une inhibition neuronale. Le récepteur GABA_B appartient à la famille des récepteurs métabotropiques, couplés aux protéines G. Il inhibe la libération présynaptique des neurotransmetteurs, ou induit une réponse inhibitrice lente post-synaptique en augmentant la conductance des canaux potassiques [30].

Le récepteur GABA_A est formé de cinq sous-unités d'environ 45-50 kDa, qui présentent entre elles des ressem-

blances structurales et forment un pore au travers duquel les ions chlore pénètrent à l'intérieur de la cellule (figure 4). Il existe différents types de sous-unités : α , β , γ , δ , ϵ , ρ et π . Chaque de ces sous-unités comporte plusieurs sous-types : 6 α , 3 β , 3 γ , 1 δ , 1 ϵ , 2 ρ et 1 π [31]. Chaque sous-unité comprend quatre domaines transmembranaires (M1-M4), dont le deuxième (M2) constitue la paroi du canal [32]. L'analyse des séquences en acides aminés de ces polypeptides indique des structures très similaires entre eux, ainsi qu'avec le récepteur nicotinique de l'acétylcholine, celui de la glycine et certains récepteurs du glutamate. Ces récepteurs forment une superfamille de récepteurs homologues qui dérivent par duplication et divergence d'un gène ancestral commun (figure 5). La localisation chromosomique des sous-unités indique que certaines sont regroupées en complexe sur les chromosomes 4, 5 et 15 [33]. Dans le cerveau, c'est l'isoforme $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ qui est la plus abondante. La stœchiométrie du récepteur est encore incertaine : la plupart des récepteurs GABA_A sont composés de deux sous-unités α , deux sous-unités β et une sous-unité γ ; cependant la combinaison formée de deux sous-unités α , une sous-unité β et deux sous-unités γ est également retrouvée [34]. Les sous-unités α et β portent à leur interface le site de fixation pour le GABA [35, 36]. Le récepteur GABA_A comporte également des sites de fixation pour des molécules d'intérêt thérapeutique majeur : benzodiazépines, barbituriques, anesthésiques. La sous-unité γ est nécessaire pour la liaison et la potentialisation du récepteur par les benzodiazépines, qui facilitent l'action du GABA en augmentant la fréquence d'ouverture du canal [37, 38]. D'autres médicaments antiépileptiques agissent sur le système GABAergique par d'autres mécanismes, soit en s'opposant à la recapture du GABA (tiagabine) soit en diminuant sa dégradation (vigabatrin) [27].

Un dysfonctionnement transitoire ou permanent du système GABAergique constitue depuis des années un moyen connu pour provoquer des crises épileptiques *in vivo* ou *in vitro*. Ainsi, l'injection de pénicilline [39] ou l'exposition de tranches d'hippo-

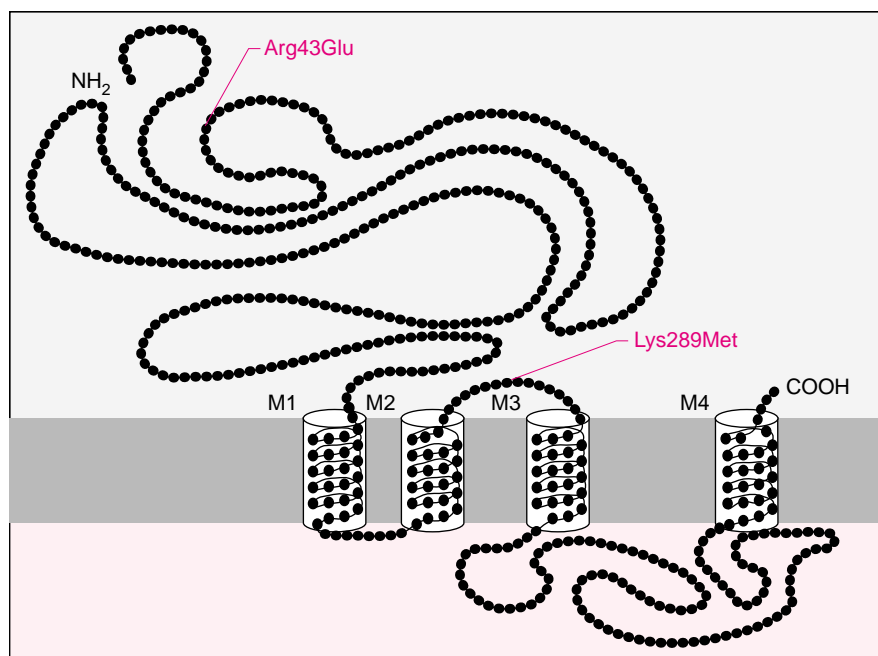


Figure 3. **Modèle de la structure de la sous-unité γ_2 du récepteur GABA_A dans la membrane plasmique.** Les deux mutations identifiées dans le gène *GABRG2* sont représentées : l'une dans la boucle cytoplasmique M2-M3 et l'autre dans la boucle amino-terminale.

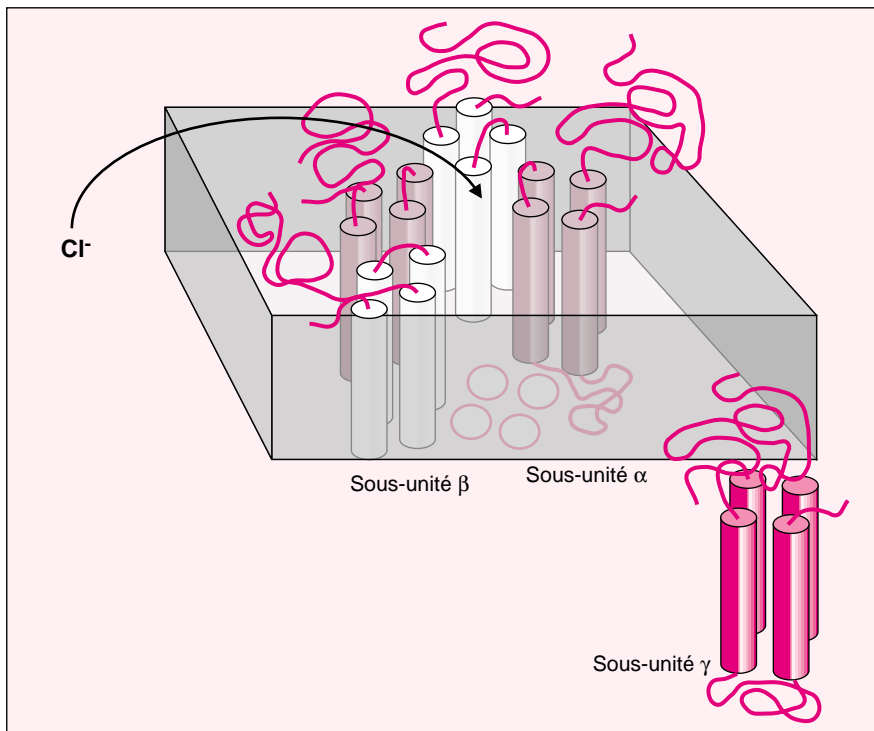


Figure 4. **Architecture du récepteur GABA_A II** est constitué par l'association de 5 sous-unités organisées en corolle autour du pore central. L'association la plus fréquente comporte 1 à 2 sous-unités de type γ. La sous-unité γ a été déplacée pour permettre de visualiser le pore.

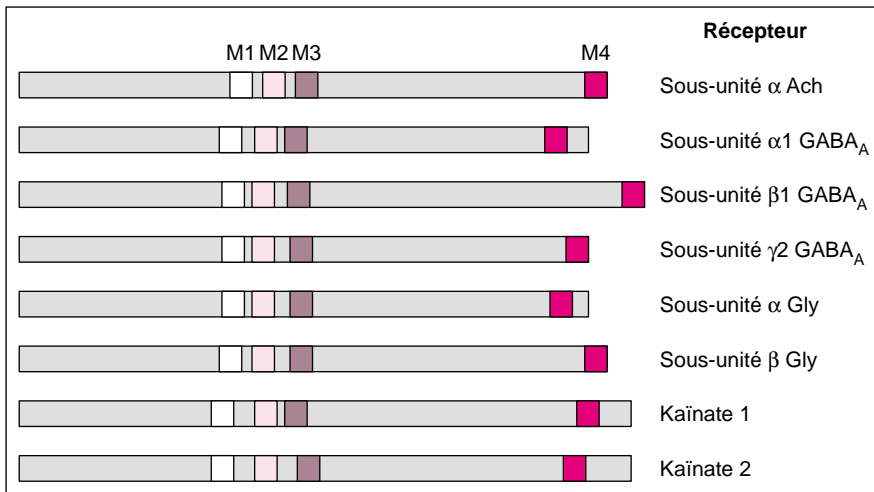


Figure 5. **Comparaison des séquences polypeptidiques des sous-unités de différents récepteurs-canaux, montrant leur similitude structurale.**

campe de rat à des antagonistes du GABA (picrotoxine, bicuculline) permettent d'induire des décharges synchrones [40]. De plus, une diminution du taux de récepteurs GABA_A est observée dans des modèles de rats épileptiques (par exemple le modèle par choc électrique), ainsi que dans des tissus épileptiques humains issus

de résection chirurgicale [42]. La neurotransmission GABAergique joue également un rôle dans la plasticité neuronale, par l'intermédiaire d'une modulation du nombre et de la localisation membranaire des récepteurs GABA_A ou d'une modification des propriétés d'un réseau neuronal (synchronisation de l'acti-

tivité neuronale et rythmicité des potentiels d'action) [43]. Chaque interneurone GABAergique peut ainsi synchroniser plus de 1000 cellules pyramidales. Une plasticité aberrante des récepteurs GABA_A pourrait être responsable de certaines épilepsies [43].

Afin d'étudier les conséquences fonctionnelles de la mutation Lys289Met, les ARN messagers des gènes codant pour les sous-unités α₁, β₂ et γ₂ (l'ARNm de γ₂ portant la mutation Lys289Met) ont été injectés dans des ovocytes de xénope. Les résultats des expériences de voltage imposé ont démontré une diminution importante de l'amplitude du courant chlore en réponse au GABA, en comparaison avec le récepteur sauvage. En revanche, le diazépam, qui appartient à la famille des benzodiazépines, potentialise en présence de GABA le courant chlore du canal muté comme celui du canal sauvage, ce qui démontre que la mutation Lys289Met n'affecte pas la liaison des benzodiazépines [10]. De manière surprenante, ce même résidu lysine est muté dans la sous-unité α1 du récepteur à la glycine (gène *GLRA1*) dans l'hyperkplexie familiale, une maladie autosomique dominante caractérisée par une sensibilité exagérée aux stimulus sonores. La mutation entraîne une diminution importante de l'amplitude du courant en réponse à l'application de glycine [44]. Ces observations soulignent le rôle important du résidu acide aminé lysine 289 pour la fonction de ces récepteurs aux neurotransmetteurs.

Simultanément, une équipe autrichienne a identifié une seconde mutation (Arg43Gln) dans le gène *GABRG2*, dans une famille comprenant des patients atteints de convulsions fébriles et d'épilepsies généralisées (de type absences principalement), phénotype proche du tableau clinique GEFS+ [11]. Le résidu arginine impliqué est situé dans un site de liaison aux benzodiazépines en position amino-terminale de la protéine γ₂. Cette mutation n'affecte pas l'activité du canal en réponse à l'application de GABA, mais la potentialisation par les benzodiazépines est abolie. Les auteurs concluent à l'existence de benzodiazépines endogènes, ainsi qu'à leur rôle probable dans la prévention de l'épilepsie et des convulsions fébriles

[45]. La comparaison des deux familles pose la question de différences phénotypiques sous-tendues par des conséquences fonctionnelles différentes des mutations d'un même gène.

La découverte de mutations de la sous-unité γ_2 du récepteur GABA_A nous semble d'un intérêt majeur car c'est la première fois que ce récepteur est impliqué directement dans une épilepsie alors que son rôle est suspecté depuis des années tant sur le plan physiologique et biochimique que pharmacologique. Un dysfonctionnement du principal agent inhibiteur du cerveau est cohérent avec une hyperexcitabilité neuronale; en revanche, il reste à élucider les raisons de la dépendance des crises fébriles en fonction de l'âge, leur déclenchement par la température et la grande variabilité phénotypique intrafamiliale.

GEFS+ : une grande hétérogénéité génétique

Le syndrome GEFS+ est génétiquement hétérogène, mais il est encore trop tôt pour établir la fréquence des mutations dans les gènes *SCN1A*, *SCN2A*, *SCN1B* et *GABRG2* car trop peu de familles ont été identifiées jusqu'ici. L'hétérogénéité génétique du syndrome GEFS+ est accentuée par l'existence de familles sans liaison avec les trois locus déjà connus (19q, 2q et 5q). Les gènes codant pour les autres sous-unités du récepteur GABA_A ou du canal sodique dépendant du voltage sont tous devenus des gènes candidats, dont l'exploration est incontournable dans les formes familiales d'épilepsies généralisées associées à des convulsions fébriles.

Ces résultats confirment l'hétérogénéité génétique qui est retrouvée dans les deux autres formes d'épilepsie idiopathique pour lesquelles des gènes ont été identifiés: les convulsions familiales néonatales bénignes et les épilepsies frontales nocturnes autosomiques dominantes. Il faut souligner que ces gènes sont impliqués chez un petit nombre de familles et que de nombreux autres gènes restent donc encore à identifier. A cette hétérogénéité génétique, il faut ajouter une hétérogénéité des mécanismes mis en jeu dans le syndrome

GEFS+ puisque deux types différents de canaux sont en cause: les canaux voltage-dépendants et les récepteurs de neurotransmetteurs. On peut émettre l'hypothèse selon laquelle les mutations identifiées dans les gènes *SCN1A*, *SCN2A*, *SCN1B* ou *GABRG2* diminuent le seuil épileptogène de manière non spécifique. L'intervention d'autres facteurs génétiques ou environnementaux contribuerait à moduler le phénotype d'un individu donné. Le facteur environnemental le plus évident est la fièvre, facteur déclenchant des convulsions dans l'enfance. Ces facteurs modulateurs du phénotype pourraient expliquer que, contrairement à d'autres membres de sa famille, un individu porteur d'une mutation puisse ne pas exprimer la maladie (pénétrance incomplète).

SCN1A, SCN2A, SCN1B et GABRG2 : gènes de susceptibilité dans les formes communes d'épilepsie ?

Les épilepsies de transmission monogénique sont rares, mais elles constituent des modèles simples pour étudier les mécanismes de l'épilepsie. Leur étude a permis d'identifier des gènes qui constituent d'excellents candidats en tant que facteurs de susceptibilité pour les formes communes d'épilepsie et de convulsions fébriles (formes multifactorielles), qui correspondent à des cas isolés. Il nous faut donc aborder le concept d'hérédité complexe ou multigénique. On peut émettre l'hypothèse selon laquelle un variant protéique de *SCN1A*, *SCN2A*, *SCN1B* ou *GABRG2* pourrait modifier légèrement les propriétés électrophysiologiques des canaux correspondants, la présence d'un variant sur un autre gène étant alors nécessaire et suffisant à la survenue de crises épileptiques. Des études d'association ont été réalisées il y a plusieurs années entre les gènes codant pour les sous-unités des récepteurs du GABA et des groupes de patients avec diverses épilepsies généralisées idiopathiques. En particulier, on a alors testé le complexe situé sur le chromosome 15 qui comprend les gènes codant pour les sous-unités α_5 , β_3 et γ_3 , et le complexe du chromosome 5 qui com-

prend entre autres les gènes codant pour les sous-unités α_1 et γ_2 . Ces travaux n'ont pas permis de mettre en évidence de liaison significative entre l'une de ces régions et les épilepsies idiopathiques généralisées [46, 47]. Il faut souligner que ces travaux n'étaient pas restreints à des groupes de patients associant convulsions fébriles et épilepsies.

Récemment, l'étude d'une grande famille avec convulsions fébriles associées à des épilepsies du lobe temporal nous a conduits à considérer l'intervention de plusieurs gènes dans une forme de transmission apparemment monogénique. En effet, une cartographie génétique réalisée chez cette famille a permis d'identifier non pas une mais deux régions chromosomiques (sur les chromosomes 1 et 18), les patients présentant tous ces deux segments chromosomiques, et la présence d'un seul ne s'accompagnant pas d'un phénotype. Ces observations nous ont amenés à émettre l'hypothèse d'un digénisme [48], qui ne pourra toutefois être définitivement validée que lorsque les deux gènes seront identifiés. Il faut admettre que, dans quelques rares familles, un digénisme peut mimer un mode de transmission autosomique dominant quand le hasard permet une coségrégation entre les deux gènes en cause sur plusieurs générations. Beaucoup plus fréquemment, ces variants se rencontreraient fortuitement dans des cas isolés, avec une probabilité correspondant au produit de leur fréquence dans la population générale.

Conclusions et perspectives

Les « canalopathies » sont un ensemble de désordres qui touchent le muscle périphérique, le cœur ou le système nerveux, et qui partagent certaines caractéristiques parmi lesquelles une nature paroxystique, l'existence de facteurs précipitants et une réponse aux agents thérapeutiques [49]. Il est maintenant acquis qu'une fraction des épilepsies idiopathiques monogéniques appartient à cette famille.

Une approche intégrée, allant du phénotype à l'étude fonctionnelle des mutations, devrait permettre une meilleure compréhension des méca-

nismes responsables de l'épilepsie, et de la réponse aux divers médicaments antiépileptiques. L'élargissement du spectre des mutations dans les gènes *SCN1A*, *SCN2A*, *SCN1B* et *GABRG2* permettra ainsi de rechercher des corrélations phénotype-génotype dans le but de mieux adapter les traitements, l'objectif essentiel étant de savoir si la nature d'une mutation sous-jacente peut moduler la réponse à un médicament donné. En effet, il faut garder à l'esprit que la grande majorité des médicaments antiépileptiques actuels sont soit des bloqueurs des canaux sodiques, soit des agents GABA mimétiques. Ces travaux doivent se poursuivre par des études de sensibilité ou de résistance aux divers médicaments antiépileptiques connus et par la possible élaboration de nouvelles molécules. L'implication du récepteur GABA_A et du canal sodique neuronal voltage-dépendant va, enfin, conduire à la création de modèles animaux (souris transgéniques) chez lesquels il devrait être possible d'étudier les mécanismes de l'épileptogénèse et l'action des médicaments antiépileptiques ■

Remerciements

Les auteurs remercient le Professeur M. Baulac pour la relecture du manuscrit et le Docteur J.F. Prud'homme (Généthon, Évry) pour la collecte des familles. Ces recherches ont été subventionnées par l'Association pour le développement de la recherche sur les maladies génétiques neurologiques et psychiatriques (ADRMGNP), l'Association française contre les myopathies (AFM), le généthon et l'Association pour la recherche sur la génétique des épilepsies (ARGE) sponsorisée par Sanofi-Synthélabo et présidée par le Professeur O. Dulac.

RÉFÉRENCES

- Classification 1989. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 1989; 30: 389-99.
- Singh NA, Charlier C, Stauffer D, et al. A novel potassium channel gene, *KCNQ2*, is mutated in an inherited epilepsy of newborns. *Nat Genet* 1998; 18: 25-9.
- Biervert C, Schroeder BC, Kubisch C, et al. A potassium channel mutation in neonatal human epilepsy. *Science* 1998; 279: 403-6.
- Charlier C, Singh NA, Ryan SG, et al. A pore mutation in a novel KQT-like potassium channel gene in an idiopathic epilepsy family. *Nat Genet* 1998; 18: 53-5.
- Steinlein OK, Mulley JC, Propping P, et al. A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet* 1995; 11: 201-3.
- Fusco MD, Becchetti A, Patrignani A, et al. The nicotinic receptor beta 2 subunit is mutant in nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet* 2000; 26: 275-6.
- Phillips HA, Favre I, Kirkpatrick M, et al. *CHRNA2* is the second acetylcholine receptor subunit associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Am J Hum Genet* 2000; 68: 225-31.
- Wallace RH, Wang DW, Singh R, et al. Febrile seizures and generalized epilepsy associated with a mutation in the Na⁺-channel beta1 subunit gene *SCN1B*. *Nat Genet* 1998; 19: 366-70.
- Escayg A, Baulac S, Moulard B, et al. Mutations of *SCN1A*, encoding a neuronal sodium channel, in two families with GEFS+2. *Nat Genet* 2000; 24: 343-5.
- Baulac S, Huberfeld G, Gourfinkel-An I, et al. First genetic evidence of GABA_A receptor dysfunction in epilepsy: a mutation in the gamma 2 subunit gene. *Nat Genet* 2001; 28: 46-8.
- Wallace RH, Marini C, Petrou S, et al. Mutant GABA_A receptor gamma 2 subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. *Nat Genet* 2001; 28: 49-52.
- Hamati-Haddad A, Abou-Khalil B. Epilepsy diagnosis and localization in patients with antecedent childhood febrile convulsions. *Neurology* 1998; 50: 917-22.
- Scheffer, Berkovic SF. Generalized epilepsy with febrile seizures plus. A genetic disorder with heterogeneous clinical phenotypes. *Brain* 1997; 120: 479-90.
- Baulac S, Gourfinkel-An I, Picard F, et al. A second locus for familial generalized epilepsy with febrile seizures plus maps to chromosome 2q21-q33. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 1078-85.
- Moulard B, Guipponi M, Chaigne D, et al. Identification of a new locus for generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+) on chromosome 2q24-q33. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 1396-400.
- Peiffer A, Thompson J, Charlier C, et al. A locus for febrile seizures (FEB3) maps to chromosome 2q23-24. *Ann Neurol* 1999; 46: 671-8.
- Lopes-Cendes I, Scheffer IE, Berkovic SF, et al. A new locus for generalized epilepsy with febrile seizures plus maps to chromosome 2. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 698-701.
- Sugawara T, Tsurubuchi Y, Agarwala KL, et al. A missense mutation of the Na⁺ channel alpha II subunit gene *Na(v)1.2* in a patient with febrile and afebrile seizures causes channel dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6384-9.
- Plummer NW, Meisler MH. Evolution and diversity of mammalian sodium channel genes. *Genomics* 1999; 57: 323-31.
- Marban E, Yamagishi T, Tomaselli GF. Structure and function of voltage-gated sodium channels. *J Physiol* 1998; 508: 647-57.
- Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron* 2000; 26: 13-25.
- Yang N, Horn R. Evidence for voltage-dependent S4 movement in sodium channels. *Neuron* 1995; 15: 213-8.
- MacKinnon R. Pore loops: an emerging theme in ion channel structure. *Neuron* 1995; 14: 889-92.
- Stuhmer W, Conti F, Suzuki H, et al. Structural parts involved in activation and inactivation of the sodium channel. *Nature* 1989; 339: 597-603.
- Escayg A, Heils A, MacDonald BT, et al. A novel *SCN1A* mutation associated with generalized epilepsy with febrile seizures plus and prevalence of variants in patients with epilepsy. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 866-73.
- Wallace RH, Scheffer IE, Barnett S, et al. Neuronal sodium-channel alpha 1 subunit mutations in generalized epilepsy with febrile seizures plus. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 859-65.
- Taylor CP. Mechanisms of new antiepileptic drugs. *Adv Neurol* 1999; 79: 1011-26.
- Zhang YF, Coulter DA. Anticonvulsant drug effects on spontaneous thalamocortical rhythms *in vitro*: phenytoin, carbamazepine, and phenobarbital. *Epilepsy Res* 1996; 23: 55-70.
- Alekov A, Rahman MM, Mitrovic N, et al. A sodium channel mutation causing epilepsy in man exhibits subtle defects in fast inactivation and activation *in vitro*. *J Physiol* 2001; 3: 533-9.
- Bowery NG. GABA_B receptor pharmacology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1993; 33: 109-47.
- Sieghart W, Fuchs K, Tretter V, et al. Structure and subunit composition of GABA_A receptors. *Neurochem Int* 1999; 34: 379-85.
- Xu M, Akabas MH. Identification of channel-lining residues in the M2 membrane-spanning segment of the GABA_A receptor alpha 1 subunit. *J Gen Physiol* 1996; 107: 195-205.
- Russek SJ. Evolution of GABA_A receptor diversity in the human genome. *Gene* 1999; 227: 213-22.

RÉFÉRENCES

34. Mehta AK, Ticku MK. An update on GABA_A receptors. *Brain Res Brain Res Rev* 1999; 29: 196-217.
35. Pritchett DB, Sontheimer H, Shivers BD, et al. Importance of a novel GABA_A receptor subunit for benzodiazepine pharmacology. *Nature* 1989; 338: 582-5.
36. Amin J, Weiss DS. GABA_A receptor needs two homologous domains of the beta-subunit for activation by GABA but not by pentobarbital. *Nature* 1993; 366: 565-9.
37. Walters RJ, Hadley SH, Morris KD, et al. Benzodiazepines act on GABA_A receptors via two distinct and separable mechanisms. *Nat Neurosci* 2000; 3: 1274-81.
38. Stephenson FA, Duggan MJ, Pollard S. The gamma 2 subunit is an integral component of the gamma-aminobutyric acid A receptor but the alpha 1 polypeptide is the principal site of the agonist benzodiazepine photoaffinity labeling reaction. *J Biol Chem* 1990; 265: 21160-5.
39. Schwartzkroin PA, Prince DA. Penicillin-induced epileptiform activity in the hippocampal *in vitro* preparation. *Ann Neurol* 1977; 1: 463-9.
40. Muller M, Gahwiler BH, Rietschin L, et al. Reversible loss of dendritic spines and altered excitability after chronic epilepsy in hippocampal slice cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 257-61.
41. Olsen RW, Wamsley JK, Lee RJ, et al. Benzodiazepine/barbiturate/GABA receptor-chloride ionophore complex in a genetic model for generalized epilepsy. *Adv Neurol* 1986; 44: 365-78.
42. Lloyd KG, Bossi L, Morselli PL, et al. Alterations of GABA-mediated synaptic transmission in human epilepsy. *Adv Neurol* 1986; 44: 1033-44.
43. Olsen RW, DeLorey TM, Gordey M, et al. GABA receptor function and epilepsy. *Adv Neurol* 1999; 79: 499-510.
44. Lynch JW, Rajendra S, Pierce KD, et al. Identification of intracellular and extracellular domains mediating signal transduction in the inhibitory glycine receptor chloride channel. *EMBO J* 1997; 16: 110-20.
45. Baraldi M, Avallone R, Corsi L, et al. Endogenous benzodiazepines. *Thérapie* 2000; 55: 143-6.
46. Sander T, Hildmann T, Janz D, et al. Exclusion of linkage between idiopathic generalized epilepsies and the GABA_A receptor alpha 1 and gamma 2 subunit gene cluster on chromosome 5. *Epilepsy Res* 1996; 23: 235-44.
47. Sander T, Kretz R, Williamson MP, et al. Linkage analysis between idiopathic generalized epilepsies and the GABA_A receptor alpha 5, beta 3 and gamma 3 subunit gene cluster on chromosome 15. *Acta Neurol Scand* 1997; 96: 1-7.
48. Baulac S, Picard F, Herman A, et al. Evidence for digenic inheritance in a family with both febrile convulsions and temporal lobe epilepsy implicating chromosomes 18qter and 1q25-q31. *Ann Neurol* 2001; 49: 786-92.
49. Ptacek LJ. Ion channel diseases: episodic disorders of the nervous system. *Semin Neurol* 1999; 19: 363-9.

Summary

Epilepsy, febrile seizures and ion channels

Epilepsy is the most common neurological disorder, affecting about 0,5-1 % of the population. Epileptic syndromes have a very diverse etiology involving genetic factors and brain insults and injuries. Idiopathic epilepsies, occurring without brain lesion, can be hereditary. Considerable progress have been made in familial epilepsy within the past decade, leading to the identification of genes encoding ion channels (potassium and sodium voltage-gated channels) or a receptor for neurotransmitters (nicotinic receptor). Some forms of epilepsy therefore belong to the channelopathy family. Generalized Epilepsy with Febrile Seizures Plus (GEFS+ syndrome) is an autosomal dominant disorder associating febrile and afebrile seizures that had so far been linked to mutations in genes encoding sodium voltage-gated channel subunits. Recently, the GABA_A receptor $\gamma 2$ subunit gene has been implicated in this syndrome, a result that provides the first direct evidence that a GABA_A receptor dysfunction is involved in human idiopathic epilepsy, while a role of this receptor in epileptogenesis had been suspected for decades.

TIRÉS À PART

S. Baulac.