

Gaëtan Lesca^{1,2,3,4} et Christian M. Korff^{4,5}

¹ Service de Génétique, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

² INSERM U1028, CNRS UMR5292, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, Bron, France

³ Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, Lyon, France

⁴ Groupe franco-Romand génétique et épilepsies

⁵ Unité de Neuropédiatrie, Service des Spécialités Pédiatriques, Département de l'Enfant et de l'Adolescent, Hôpitaux Universitaires, Genève

Résumé

L'évolution rapide des technologies de séquençage a permis l'identification de nombreux gènes responsables de formes mendéliennes d'épilepsie et de confirmer la très grande hétérogénéité génétique de certains syndromes électro-cliniques, particulièrement marquée dans le cas des encéphalopathies épileptiques. Ces nouvelles données ont permis de faire évoluer la classification internationale des épilepsies et sont maintenant transférées dans la pratique clinique quotidienne, permettant d'analyser de nombreux gènes de façon simultanée et de porter un diagnostic étiologique chez un nombre croissant de patient. L'identification de la mutation causale d'une forme mendélienne d'épilepsie représente une étape indispensable pour prodiguer un conseil génétique fiable et peut avoir des conséquences au niveau thérapeutique. Le regroupement de patients porteurs d'une forme donnée d'épilepsie mendélienne rare autour d'équipes médico-scientifiques pratiquant une recherche de pointe est une condition indispensable au développement d'une médecine de précision, permettant de cibler le mécanisme pathologique au niveau moléculaire.

Epileptologie 2018; 35: 4 – 9

Mots clés : Génétique, épilepsie, séquençage à haut débit, conseil génétique, médecine personnalisée

Practical consequences of the genetic diagnosis of Mendelian epilepsies

The rapid evolution of sequencing technologies has made it possible to identify numerous genes responsible for Mendelian forms of epilepsy and to confirm the high level of genetic heterogeneity of many electro-clinical syndromes, which is particularly marked in the case of epileptic encephalopathies. This new genetic data influenced the evolution of the international classification of the epilepsies and is now transferred to daily clinical practice, allowing the simultaneous analysis of high numbers of genes, and achieving an etiological diagnosis in a growing number of patients. Identifying the causal mutation of a Mendelian form of epilepsy is a mandatory step to provide accurate genetic counseling and may have therapeutic consequences. Gathering patients with a given form of rare Mendelian epilepsy and medical-scientific teams conducting cutting-edge research is a prerequisite for the development of precision medicine, which aims at targeting the pathological mechanism at the molecular level.

Key words: Genetics, epilepsy, high-throughput sequencing, genetic counseling, personalized medicine

Praktische Konsequenzen der genetischen Diagnose Mendelscher Epilepsien

Die rasante Entwicklung der Sequenzierungstechnologien hat die Identifizierung zahlreicher für mendelsche Epilepsieformen verantwortlicher Gene und die Bestätigung der enormen genetischen Heterogenität bestimmter elektroklinischer Syndrome, die bei epileptischen Enzephalopathien besonders ausgeprägt ist, ermöglicht. Diese neuen Daten führten zur Weiterent-

wicklung der internationalen Klassifikation der Epilepsien und finden nun Eingang in die tägliche klinische Praxis, wo sie bei einer zunehmenden Zahl von Patienten die simultane Multigenanalyse und eine ätiologische Diagnosestellung gestatten. Die Feststellung der ursächlichen Mutation einer mendelschen Epilepsie ist ein unverzichtbarer Schritt im Rahmen einer fundierten genetischen Beratung und kann einen Einfluss auf das therapeutische Vorgehen haben. Patienten mit bestimmten seltenen mendelschen Epilepsien mit Teams aus der medizinisch-wissenschaftlichen Spitzenforschung zusammenzubringen, ist eine unabdingbare Voraussetzung für die Entwicklung einer Präzisionsmedizin zur Aufklärung des pathologischen Mechanismus auf Molekülebene.

Schlüsselwörter: Genetik, Epilepsie, Hochdurchsatz-Sequenzierung, genetische Beratung, personalisierte Medizin

Introduction

L'évolution des technologies d'analyse génétique a été abordée dans un précédent article publié dans ce même journal [1]. Le séquençage à haut débit, qui a d'abord été un outil puissant pour l'identification des gènes impliqués dans les maladies humaines, et qui a été ensuite transféré au diagnostic, permet d'étudier des panels de plusieurs dizaines ou centaines de gènes et même l'exome, c'est-à-dire l'ensemble des régions codantes des gènes humains. Dans cet article, nous allons aborder les conséquences pratiques de la confirmation moléculaire d'une forme mendélienne d'épilepsie.

Evolution récente des connaissances des bases génétiques des épilepsies

Les premiers gènes impliqués dans les épilepsies mendéliennes ont été identifiés grâce aux études de liaison génétiques, qui étaient basées sur des grandes familles dont les membres présentaient des syndromes électro-cliniques bien caractérisés. Le premier gène d'épilepsie monogénique à avoir été identifié est *CHRNA4*, qui code pour une sous-unité du récepteur muscarinique à l'acétylcholine, dont certains variants causent une forme d'épilepsie frontale nocturne autosomique dominante (« autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy », récemment rebaptisée « sleep-related hypermotor epilepsy ») [2]. D'autres gènes ont été identifiés de cette manière, la plupart codant pour des canaux ioniques, donnant naissance au concept de canalopathie. Cependant, c'est l'évolution considérable des technologies, à la fin des années 2000, qui a permis une accélération exponentielle des découvertes, en permettant l'identification de formes d'épilepsies causées par des mutations de novo, comme c'est fréquemment

le cas des encéphalopathies épileptiques, et de faciliter l'étude des formes autosomiques récessives, même à partir d'un nombre limité de familles. On connaît à l'heure actuelle plus d'une centaine de gènes dont les mutations peuvent être tenues pour responsables de différentes formes d'épilepsies mendéliennes (**Tableau 1**). L'hétérogénéité est considérable en ce qui concerne les encéphalopathies épileptiques et en particulier celles qui débutent au cours des premiers jours ou de la première année de vie. Ainsi, alors que les bases génétiques du syndrome de West demeuraient encore obscures il y a quelques années seulement, en dehors des causes classiques comme la trisomie 21 ou la sclérose tubéreuse de Bourneville, on a maintenant identifié plus d'une cinquantaine de gènes dont les mutations peuvent causer ce syndrome, d'autres étant encore régulièrement découverts.

Sur le plan des mécanismes physiopathologiques, ces nombreuses découvertes génétiques ont permis de confirmer le concept de canalopathie, puisqu'environ un tiers des gènes responsables d'épilepsies mendéliennes codent pour des canaux ioniques. Ces travaux ont également montré la très grande diversité des mécanismes impliqués, puisque d'autres gènes codent pour des protéines synaptiques, des récepteurs, des transporteurs, des facteurs de transcription, des protéines impliquées dans le remodelage de la chromatine, dans le métabolisme de nombreuses molécules et neurotransmetteurs, etc..

Initialement utilisées en recherche, la cytogénétique moléculaire et le séquençage à haut débit ont maintenant remplacé, dans la plupart des indications, les outils traditionnels comme le séquençage par la méthode de Sanger ou le caryotype. Le séquençage à haut débit permet d'étudier de nombreux gènes de façon simultanée, souvent pour le même coût que l'étude d'un ou de quelques gènes par la méthode de Sanger.

Conséquences sur la classification des épilepsies

L'évolution très rapide de la connaissance des bases génétiques des épilepsies a eu des conséquences majeures sur la classification proposée par la ligue internationale contre l'épilepsie (ILAE, International League Against Epilepsy). Depuis 1989, celle-ci distinguait trois grandes catégories étiologiques, caractérisées à l'aide des données électro-cliniques et de l'imagerie cérébrale : idiopathique, cryptogénique et symptomatique. Il a été proposé en 2010 de remplacer les termes d'idiopathique par génétique et de cryptogénique par structural/métabolique. Ces modifications introduisaient toutefois plusieurs niveaux de confusion. Le premier concernait la notion même de facteur génétique. En effet, le plus souvent, les épilepsies idiopathiques ne suivent pas un mode d'hérédité mendélien mais plutôt multifactoriel, dans lequel les facteurs génétiques exercent chacun un effet modéré et interagissent entre eux et avec des

facteurs environnementaux. Ces facteurs de prédisposition génétique sont encore mal compris et exercent de toute façon un effet modeste, contrairement aux mutations responsables des épilepsies mendéliennes. Le deuxième niveau de confusion était lié à la mise sur le même plan des facteurs étiologiques et pronostiques, les épilepsies idiopathiques étant considérées comme ayant globalement un pronostic moins sévère. Or, l'utilisation du terme « génétique » avec cette signification pronostique a créé une ambiguïté puisque de nombreuses formes d'encéphalopathies épileptiques développementales ou d'épilepsies associées à des troubles cognitifs sévères sont précisément causées par des mutations génétiques. La version récemment révisée de cette classification distingue différents niveaux de description : sémiologique, syndromique, radiologique et étiologique, plaçant ainsi plus clairement les données génétiques dans la catégorie étiologique [3]. Cette évolution montre aussi que désormais, les tests génétiques sont entrés dans la démarche diagnostique quotidienne des épilepsies, comme l'avaient fait auparavant l'EEG puis l'imagerie cérébrale, en apportant un nouveau niveau de description.

Conséquences du diagnostic génétique pour le patient et sa famille

L'établissement d'un diagnostic de certitude

Outre la contribution du test génétique à la caractérisation étiologique de certains syndromes épileptiques, l'identification de la cause moléculaire d'une épilepsie mendélienne est une étape importante pour les patients et leurs familles. Il peut être la conclusion d'une véritable odyssée diagnostique en permettant de mettre fin aux investigations répétées, coûteuses et parfois invasives, comme les ponctions lombaires ou les biopsies, et parfois en évitant une intervention chirurgicale dont l'efficacité pourrait être limitée.

Des informations à visée pronostique

Un diagnostic établi précocement peut aussi avoir un intérêt en termes pronostiques. Dans le cas des épilepsies débutant dans les premiers jours ou semaines de vie, la mise en évidence d'une mutation du gène *PRRT2* ou d'une mutation du gène *KCNQ2* conduisant à une perte de fonction, seront plutôt en faveur d'un pronostic favorable. Les données pronostiques ont encore un impact limité parce que trop peu de variants identifiés chez les patients ont été suivis d'études fonctionnelles. Ce type d'études, réalisé sur des modèles cellulaires ou animaux ne peut être effectué que dans le cadre de collaborations internationales permettant de regrouper les données des patients ayant bénéficié

d'un diagnostic génétique autour d'équipes pratiquant une recherche de haut niveau.

Le conseil génétique

L'une des conséquences pratiques du diagnostic moléculaire est la possibilité d'apporter un conseil génétique fiable. A un syndrome électrochimique donné peuvent correspondre plusieurs modes de transmission. Par exemple, le syndrome de West peut être causé par des mutations du gène *AP3B2*, de transmission autosomique récessive, du gène *ARX*, situé sur le chromosome X ou par une mutation de novo du gène *STXBP1*. Evidemment, les conséquences en termes de risque de récurrence familiale ne sont pas du tout les mêmes. Les options pour les couples à risque de récurrence d'une épilepsie monogénique ou pour les apparentés potentiellement conducteurs, telles que le diagnostic prénatal ou préimplantatoire, ne sont possibles que si la mutation pathogène a été identifiée chez le cas index. La mise en évidence d'une mutation de novo chez un patient limite le risque de transmission dans la famille. Toutefois, le risque pour un futur enfant du couple parental (ou de chacun des parents s'ils sont séparés) ne peut pas être considéré comme nul. Cela est lié à l'impossibilité d'exclure une mosaïque germinale, qui correspond au fait que seule une petite proportion de cellules sont porteuses de la mutation, celles-ci étant parfois limitées aux gonades. L'existence de mosaïques parentales a pu être démontrée chez environ 9% des parents d'enfant atteint du syndrome de Dravet, par exemple, avec un taux de mosaïcisme variant entre 4 et 85% des cellules [4]. Dans ces situations, un diagnostic anténatal est également possible. L'estimation précise du risque de récurrence permet, pour les couples qui le souhaitent, d'éviter la naissance d'un autre enfant porteur d'une affection neurologique associée à un handicap sévère.

Conséquences thérapeutiques

Adaptations thérapeutiques

La confirmation diagnostique peut, dans certains cas, avoir un impact thérapeutique immédiat. C'est le cas du déficit en transporteur du glucose (Glut-1), lié à des mutations du gène *SLC2A1*, qui peut être à l'origine de syndromes épileptiques et neurologiques de sévérité variable, incluant le syndrome de De Vivo « classique » et les absences myocloniques pharmacorésistantes mais répondant de façon spectaculaire au régime cétogène, qui permet d'apporter des corps cétoniques comme source alternative d'énergie pour les neurones. C'est également le cas des déficits du métabolisme de la vitamine B6, liés à des mutations des

gènes *ALDH7A1* ou *PNPO*, qui causent des épilepsies à début néonatal, mal contrôlées par les anti-épileptiques mais répondant à la pyridoxine ou au pyridoxal phosphate, selon le gène impliqué. Cette substitution, lorsqu'elle est mise en place précocement, permet de contrôler l'épilepsie et de limiter le risque de séquelles neurologiques, en particulier cognitives [5, 6]. Dans d'autres cas, même en l'absence de traitement spécifique, la confirmation du diagnostic étiologique permet d'adapter le traitement antiépileptique, en évitant certains médicaments, comme par exemple les bloqueurs de canaux sodiques chez des patients avec syndrome de Dravet lié à une mutation du gène *SCN1A*, alors que d'autres molécules sont au contraire bénéfiques comme le Topiramate ou le Stiripentol [7]. Les bloqueurs de canaux sodiques sont particulièrement efficaces chez les patients porteurs de certaines mutations faux-sens du gène *SCN8A* causant un gain de fonction, c'est-à-dire une hyperactivité du canal, souvent à l'origine d'encéphalopathies avec épilepsie pharmacorésistante. Enfin, une étude collaborative internationale a permis de distinguer plusieurs catégories de mutations de *SCN2A*, en fonction de leur effet fonctionnel et de la présentation électro-clinique des patients [8]. Les bloqueurs de canaux sodiques sont, dans ce cas également, plus efficaces lorsque la mutation cause un gain de fonction.

Vers une médecine personnalisée

Développement de traitements ciblés

L'enjeu ultime de l'identification des gènes responsables d'épilepsies mendéliennes est bien sûr le développement de traitements qui, contrairement à la majorité des traitements antiépileptiques disponibles à l'heure actuelle, permettrait de cibler de manière spécifique les mécanismes physiopathologiques liés aux mutations d'un gène donné, voire même d'une mutation donnée, exerçant un effet fonctionnel particulier. Quelques traitements ont déjà été proposés sur la base des mécanismes physiopathologiques. Le cas le plus notable est celui de la sclérose tubéreuse de Bourneville, liée à des mutations des gènes *TSC1* et *TSC2*, qui conduit à un défaut de répression de la voie mTORC1 qui régule, au niveau cérébral, la neurogénèse, la morphologie axono-dendritique, ainsi que le fonctionnement et la plasticité synaptique. La Rapamycine, un inhibiteur de la voie mTORC1 a montré son efficacité dans le traitement de l'épilepsie réfractaire chez les patients atteints de sclérose tubéreuse de Bourneville [9]. Or, il a été récemment montré que les mutations des gènes *DEPDC5*, *NPRL2* et *NPRL3*, qui codent pour des protéines du complexe GATOR1, qui inhibe également la voie mTORC1, étaient une cause fréquente d'épilepsies familiales focales, parfois associées à des dysplasies cérébrales [10]. Chez ces patients dont l'épilepsie

est fréquemment pharmacorésistante, les inhibiteurs de la voie mTORC1 représentent également une option prometteuse. Les mutations du gène *KCNT1*, qui code pour un canal potassique activé par le calcium, sont une autre cause fréquente d'épilepsies focales familiales [11]. Des mutations de ce gène, provoquant un gain de fonction, sont également retrouvées dans la moitié des épilepsies avec crises focales migrantes du nourrisson, ainsi que dans d'autres formes d'encéphalopathies avec épilepsie à début précoce, pharmacorésistantes et de pronostic sévère [12]. Des études réalisées in vitro et sur des modèles animaux ont montré un effet inhibiteur de la quinidine sur ces canaux mutés, mais les premiers essais chez l'homme, réalisés sur un nombre limité de patients, n'a pour l'instant pas montré d'efficacité notable [13].

La rétigabine, qui favorise l'ouverture des canaux potassiques K_v7 , a été proposée pour traiter les patients porteurs de mutations faux-sens du gène *KCNQ2* qui causent une encéphalopathie épileptique à début néonatal. L'utilisation de ce traitement a cependant dû être interrompue du fait d'effets secondaires, comme une coloration bleue des muqueuses et des doigts [14]. D'autres exemples illustrant bien le fait que l'identification des mutations causales d'une épilepsie mendélienne et les mécanismes physiopathologiques qu'elles engendrent peut permettre de concevoir des thérapies ciblées, comme par exemple certaines mutations faux-sens des gènes *GRIN2A* ou *GRIN2D*, causant un gain de fonction du récepteur *NMDA*, pour lesquels un traitement par la mémantine, un inhibiteur de ce récepteur, a été prescrit chez quelques enfants [15, 16]. Ces approches thérapeutiques ciblées n'en sont encore qu'à leurs prémices. Elles seront facilitées par le regroupement de patients présentant des mutations d'un gène donné avec des effets semblables. On peut penser que ces traitements auront plus de chance d'être efficaces s'ils sont prescrits plus précocement, ce qui implique la réalisation d'un diagnostic moléculaire rapide.

La pharmacogénétique

Au cours des prochaines années, les données de séquençage à haut débit apporteront probablement également des données pharmacogénétiques concernant le métabolisme et les effets secondaires potentiels des traitements [17]. L'exemple classique est celui de l'hépatotoxicité liée au Valproate chez les patients porteurs de mutations du gène *POLG* [18]. Dans ce cas, les effets secondaires du médicament sont liés à la cause de la maladie. La plupart des antiépileptiques ont des effets secondaires qui sont probablement, en partie, liés à des facteurs génétiques, impliquant en particulier des gènes de protéines impliquées dans le métabolisme de ces molécules [19]. L'exemple le mieux étudié est celui de certains allèles des gènes *CYP2C9* et *CYP2C19* du sys-

tème des cytochromes P450 qui influencent le métabolisme des anti-épileptiques, pouvant favoriser une neurotoxicité ou des réactions cutanées sévères. Un autre exemple classique est celui de l'allèle HLA-B*15:02, particulièrement associé au risque de syndrome de Stevens-Johnson induit par la Carbamazépine chez les patients Chinois ou du Sud-Est asiatique [20]. La recherche dans ce domaine n'en est qu'à ses débuts mais représente un champ d'application prometteur.

Conclusion

L'évolution rapide des technologies de séquençage du génome humain a permis l'identification de nombreux gènes responsables de formes mendéliennes d'épilepsie. Ces technologies sont maintenant transférées dans la pratique clinique, permettant d'analyser de nombreux gènes de façon simultanée et de porter un diagnostic étiologique chez un nombre croissant de patient. Une telle confirmation représente une étape indispensable pour le conseil génétique et peut avoir des conséquences importantes dans le domaine thérapeutique.

Références

1. Ranza E, Makrythanasis P, Antonarakis SE. Genome analysis for genetic diagnosis of epilepsies and its challenges in clinical practice. *Epileptologie* 2015; 32: 118-124
2. 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: 201-203
3. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 2017; 58: 512-521
4. Depienne C, Trouillard O, Gourfinkel-An I et al. Mechanisms for variable expressivity of inherited SCN1A mutations causing Dravet syndrome. *J Med Genet* 2010; 47: 404-410
5. Plecko B, Paul K, Mills P et al. Pyridoxine responsiveness in novel mutations of the PNPO gene. *Neurology* 2014; 82: 1425-1433
6. Oliveira R, Pereira C, Rodrigues F et al. Pyridoxine-dependent epilepsy due to antiquitin deficiency: achieving a favourable outcome. *Epileptic Disord* 2013; 15: 400-406
7. McTague A, Howell KB, Cross JH et al. The genetic landscape of the epileptic encephalopathies of infancy and childhood. *Lancet Neurol* 2016; 15: 304-316
8. Wolff M, Johannesen KM, Hedrich UB et al. Genetic and phenotypic heterogeneity suggest therapeutic implications in SCN2A-related disorders. *Brain* 2017; 140: 1316-1336
9. Krueger DA, Wilfong AA, Holland-Bouley K et al. Everolimus treatment of refractory epilepsy in tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol* 2013; 74: 679-687
10. Baulac S. mTOR signaling pathway genes in focal epilepsies. *Prog Brain Res* 2016; 226: 61-79
11. Heron SE, Smith KR, Bahlo M et al. Missense mutations in the sodium-gated potassium channel gene KCNT1 cause severe autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet* 2012; 44: 1188-1190
12. Barcia G, Fleming MR, Deligniere A et al. De novo gain-of-function KCNT1 channel mutations cause malignant migrating partial seizures of infancy. *Nat Genet* 2012; 44: 1255-1259
13. Milligan CJ, Li M, Gazina EV et al. KCNT1 gain of function in 2 epilepsy phenotypes is reversed by quinidine. *Ann Neurol* 2014; 75: 581-590
14. Millichap JJ, Park KL, Tsuchida T et al. KCNQ2 encephalopathy: Features, mutational hot spots, and ezogabine treatment of 11 patients. *Neurol Genet* 2016; 2: e96
15. Pierson TM, Yuan H, Marsh ED et al. GRIN2A mutation and early-onset epileptic encephalopathy: personalized therapy with memantine. *Ann Clin Transl Neurol* 2014; 1: 190-198
16. Li D, Yuan H, Ortiz-Gonzalez XR et al. GRIN2D recurrent de novo dominant mutation causes a severe epileptic encephalopathy treatable with NMDA receptor channel blockers. *Am J Hum Genet* 2016; 99: 802-816
17. Symonds JD, Zuberi SM, Johnson MR. Advances in epilepsy gene discovery and implications for epilepsy diagnosis and treatment. *Curr Opin Neurol* 2017; 30: 193-199
18. Stewart JD, Horvath R, Baruffini E et al. Polymerase – gene POLG determines the risk of sodium valproate-induced liver toxicity. *Hepatology* 2010; 52: 1791-1796
19. EpiPM Consortium. A roadmap for precision medicine in the epilepsies. *Lancet Neurol* 2015; 14: 1219-1228
20. Balestrini S, Sisodiya SM. Pharmacogenomics in epilepsy. *Neurosci Lett* 2017; S0304-3940: 30024-1. Epub ahead of print

Adresse de correspondance :
Dr. Gaëtan Lesca
Service de génétique
Groupement Hospitalier Est
Hospices Civils de Lyon
59 Boulevard Pinel
F 69677 BRON
Tél. 0033 4 27 85 55 73
gaetan.lesca@chu-lyon.fr