



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
2015

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

Par

Anne-Charlotte CULLIER

Le 13 Octobre 2015

**IMPACT DE L'INHIBITION DE LA VOIE mTOR SUR
L'ÉPILEPTOGENÈSE ET LA NEUROPROTECTION DANS LE
MODÈLE LITHIUM-PILOCARPINE CHEZ LE RAT**

Examineurs de la thèse :

M. E .RAFFO	Professeur	Président, Directeur
M. J.MOTTE	Professeur	Juge
M. L.MAILLARD	Professeur	Juge
M. P.OLIVIER	Professeur	Juge



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE



FACULTÉ de MÉDECINE
NANCY

Président de l'Université de Lorraine :
Professeur Pierre MUTZENHARDT

Doyen de la Faculté de Médecine :

Professeur Marc BRAUN

Vice-doyens

Pr Karine ANGIOI-DUPREZ, Vice-Doyen

Pr Marc DEBOUVERIE, Vice-Doyen

Assesseeurs :

Premier cycle : Dr Guillaume GAUCHOTTE

Deuxième cycle : Pr Marie-Reine LOSSER

Troisième cycle : Pr Marc DEBOUVERIE

Innovations pédagogiques : Pr Bruno CHENUUEL

Formation à la recherche : Dr Nelly AGRINIER

Animation de la recherche clinique : Pr François ALLA

Affaires juridiques et Relations extérieures : Dr Frédérique CLAUDOT

Vie Facultaire et SIDES : Dr Laure JOLY

Relations Grande Région : Pr Thomas FUCHS-BUDER

Etudiant : M. Lucas SALVATI

Chargés de mission

Bureau de docimologie : Dr Guillaume GAUCHOTTE

Commission de prospective facultaire : Pr Pierre-Edouard BOLLAERT

Universitarisation des professions paramédicales : Pr Annick BARBAUD

Orthophonie : Pr Cécile PARIETTI-WINKLER

PACES : Dr Chantal KOHLER

Plan Campus : Pr Bruno LEHEUP

International : Pr Jacques HUBERT

=====

DOYENS HONORAIRES

Professeur Jean-Bernard DUREUX - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER

Professeur Henry COUDANE

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY

Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL - Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE

Jean-Louis BOUTROY - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT - François

CHERRIER Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE - Emile de LAVERGNE - Jean-Pierre
DESCHAMPS

Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE - Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER

Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Oliéro GUERCI - Claude HURIET

Christian JANOT - Michèle KESSLER - François KOHLER - Jacques LACOSTE - Henri LAMBERT - Pierre LANDES

Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Jacques LECLÈRE - Pierre LEDERLIN - Bernard LEGRAS

Jean-Pierre MALLIÉ - Michel MANCIAUX - Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU - Michel MERLE - Denise MONERET-

VAUTRIN Pierre MONIN - Pierre NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN - Gilbert

PERCEBOIS

Claude PERRIN - Guy PETIET - Luc PICARD - Michel PIERSON - François PLENAT - Jean-Marie POLU - Jacques

POUREL Jean PREVOT - Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER - Denis REGENT - Michel RENARD - Jacques

ROLAND

René-Jean ROYER - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT - Michel SCHWEITZER - Daniel SIBERTIN-BLANC - Claude

SIMON Danièle SOMMELET - Jean-François STOLTZ - Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Hubert UFFHOLTZ -

Gérard VAILLANT Paul VERT - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Jean-Pierre VILLEMOT - Michel WAYOFF -

Michel WEBER

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Pierre BEY - Professeur Marc-André BIGARD – Professeur Jean-Pierre CRANCE
Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ – Professeure Simone
GILGENKRANTZ Professeur Philippe HARTEMANN - Professeure Michèle KESSLER - Professeur Jacques LECLÈRE
Professeur Alain LE FAOU – Professeure Denise MONERET-VAUTRIN - Professeur Pierre MONIN
Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Luc PICARD – Professeur François PLENAT - Professeur Jacques
POUREL Professeur Michel SCHMITT – Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC - Professeur Paul VERT - Professeur
Michel VIDAILHET

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Gilles GROSDIDIER - Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (*Cytologie et histologie*)

Professeur Bernard FOLIGUET – Professeur Christo CHRISTOV

3^{ème} sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDECINE

1^{ère} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

2^{ème} sous-section : (*Radiologie et imagerie médecine*)

Professeur Michel CLAUDON – Professeure Valérie CROISÉ-LAURENT

Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER - Professeur René
ANXIONNAT

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER – Professeur Bernard NAMOUR

2^{ème} sous-section : (*Physiologie*)

Professeur François MARCHAL – Professeur Bruno CHENUÉL – Professeur Christian BEYAERT

4^{ème} sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Olivier ZIEGLER – Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière*)

Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIIEWSKI – Professeure Evelyne SCHVOERER

2^{ème} sous-section : (*Parasitologie et Mycologie*)

Professeure Marie MACHOUART

3^{ème} sous-section : (*Maladies infectieuses ; maladies tropicales*)

Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD – Professeure Céline PULCINI

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Épidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA

2^{ème} sous-section : (*Médecine et santé au travail*)

Professeur Christophe PARIS

3^{ème} sous-section : (*Médecine légale et droit de la santé*)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Professeure Eliane ALBUISSON – Professeur Nicolas JAY

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Professeur Pierre FEUGIER

2^{ème} sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie*)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY - Professeur Didier PEIFFERT

Professeur Frédéric MARCHAL

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT

4^{ème} sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{ère} sous-section : (Anesthésiologie - réanimation ; médecine d'urgence)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Gérard AUDIBERT
Professeur Thomas FUCHS-BUDER – Professeure Marie-Reine LOSSER

2^{ème} sous-section : (Réanimation ; médecine d'urgence)

Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT - Professeur Bruno LÉVY – Professeur Sébastien GIBOT

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET – Professeur J.Y. JOUZEAU (*pharmacien*)

4^{ème} sous-section : (Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)

Professeur François PAILLE – Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Hervé VESPIGNANI - Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE
Professeur Luc TAILLANDIER - Professeur Louis MAILLARD – Professeure Louise TYVAERT

2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE – Professeur Olivier KLEIN

Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS

3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)

Professeur Bernard KABUTH

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean PAYSANT

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Daniel MOLE - Professeur Didier MAINARD - Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénérologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeure Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie ; addictologie)

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE

Professeur Nicolas SADOUL - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET – Professeur Edoardo CAMENZIND

3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Thierry FOLLIGUET – Professeur Juan-Pablo MAUREIRA

4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

Professeur Denis WAHL – Professeur Sergueï MALIKOV

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

3^{ème} sous-section : (Néphrologie)

Professeure Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT

4^{ème} sous-section : (Urologie)

Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN - Professeur Athanase BENETOS

Professeure Gisèle KANNY – Professeure Christine PERRET-GUILLAUME

2^{ème} sous-section : (Chirurgie générale)

Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{ère} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET
Professeur Cyril SCHWEITZER – Professeur Emmanuel RAFFO – Professeure Rachel VIEUX

2^{ème} sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE

3^{ème} sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Olivier MOREL

4^{ème} sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Roger JANKOWSKI – Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER

2^{ème} sous-section : (Ophtalmologie)

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeure Karine ANGIOI

3^{ème} sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)

Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeure Muriel BRIX

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

61^{ème} Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Professeur Walter BLONDEL

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeur Jean-Marc BOIVIN

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeur associé Paolo DI PATRIZIO

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteure Manuela PEREZ

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Docteur Edouard BARRAT - Docteure Françoise TOUATI – Docteure Chantal KOHLER

3^{ème} sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Docteure Aude MARCHAL – Docteur Guillaume GAUCHOTTE

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDECINE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Docteur Jean-Claude MAYER - Docteur Jean-Marie ESCANYE

2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médecine)

Docteur Damien MANDRY – Docteur Pedro TEIXEIRA

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Docteure Sophie FREMONT - Docteure Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN

Docteure Catherine MALAPLATE-ARMAND - Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA – Docteur Abderrahim OUSSALAH

2^{ème} sous-section : (Physiologie)

Docteur Mathias POUSSEL – Docteure Silvia VARECHOVA

3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire)

Docteure Véronique DECOT-MAILLERET

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)

Docteure Véronique VENARD – Docteure Hélène JEULIN – Docteure Corentine ALAUZET

2^{ème} sous-section : (Parasitologie et mycologie (type mixte : biologique))

Docteure Anne DEBOURGOGNE (sciences)

3^{ème} sous-section : (Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales)

Docteure Sandrine HENARD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (Epidémiologie, économie de la santé et prévention)

Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteure Frédérique CLAUDOT – Docteur Cédric BAUMANN

Docteure Nelly AGRINIER

2^{ème} sous-section (Médecine et Santé au Travail)

Docteure Isabelle THAON

3^{ème} sous-section (Médecine légale et droit de la santé)

Docteur Laurent MARTRILLE

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Hématologie ; transfusion : option hématologique (type mixte : clinique)

Docteur Aurore PERROT

2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie : cancérologie (type mixte : biologique)

Docteure Lina BOLOTINE

4^{ème} sous-section : (Génétique)

Docteur Christophe PHILIPPE – Docteure Céline BONNET

48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

2^{ème} sous-section : (Réanimation ; Médecine d'Urgence)

Docteur Antoine KIMMOUN (*stagiaire*)

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)

Docteure Françoise LAPICQUE – Docteur Nicolas GAMBIER – Docteur Julien SCALA-BERTOLA

4^{ème} sous-section : (Thérapeutique ; Médecine d'Urgence ; Addictologie)

Docteur Nicolas GIRERD (*stagiaire*)

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Docteure Anne-Christine RAT

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Docteure Anne-Claire BURSZTEJN

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire)

Docteur Fabrice VANHUYSE

4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

Docteur Stéphane ZUILY

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)

Docteur Jean-Baptiste CHEVAUX

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)

Docteure Laure JOLY

55^{ème} Section : OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Oto-Rhino-Laryngologie)

Docteur Patrice GALLET (*stagiaire*)

=====

MAÎTRE DE CONFÉRENCE DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteure Elisabeth STEYER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES

Monsieur Vincent LHUILLIER

19^{ème} Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Joëlle KIVITS

60^{ème} Section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE, GÉNIE CIVIL

Monsieur Alain DURAND

61^{ème} Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Monsieur Jean REBSTOCK

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Monsieur Nick RAMALANJAONA

65^{ème} Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE

Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE ISLA - Madame Nathalie MERCIER – Madame Céline HUSELSTEIN

66^{ème} Section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteure Sophie SIEGRIST - Docteur Arnaud MASSON - Docteur Pascal BOUCHE

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)

Professeure Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume-Uni)
Professeur Yunfeng ZHOU (2009)
Université de Wuhan (CHINE)
Professeur David ALPERS (2011)
Université de Washington (U.S.A)
Professeur Martin EXNER (2012)
Université de Bonn (ALLEMAGNE)

Remerciements

A notre Président et directeur de Thèse,

Monsieur le Professeur Emmanuel Raffo,
Professeur de Pédiatrie.

Vous nous avez témoigné votre confiance en nous proposant ce travail et fait l'honneur d'en accepter la direction et la présidence.

Nous vous remercions pour votre écoute, votre soutien, et votre confiance au cours de nos années d'internat et de l'année de master.

Nous vous remercions de ce que vous nous avez transmis durant ces quatre années et notamment au cours des six mois passés à vos côtés en neurologie pédiatrique.

Nous sommes très heureuse de pouvoir débiter notre exercice au sein de l'équipe de neuropédiatrie que vous dirigez et de profiter encore de vos conseils éclairés.

Nous vous exprimons ici notre reconnaissance et notre profond respect.

À notre Juge,

Monsieur le Professeur Jacques Motte,

Professeur de Pédiatrie.

Nous sommes très honorée que vous ayez accepté de juger ce travail et de vous déplacer de Reims.

Nous vous remercions pour tout ce que vous nous avez appris durant les 6 mois passés à vos côtés à Reims. Vous avez largement contribué à faire de ce semestre une expérience très enrichissante.

Veillez trouver l'expression de notre vive reconnaissance et de notre profond respect.

À notre Juge,

Monsieur le Professeur Pierre Olivier,

Professeur de Médecine Nucléaire,

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail.

Nous avons eu la chance de vous côtoyer au cours de l'année de recherche au sein de l'équipe de Nancyclotep .

Veillez recevoir l'expression de notre profond respect et de notre sincère gratitude.

A notre Juge,

Monsieur le Professeur Louis Maillard,

Professeur en Neurologie.

Nous vous sommes très reconnaissant et honoré d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous vous remercions pour l'intérêt que vous y avez porté.

Nous vous exprimons notre reconnaissance.

A Guillaume,

Pour m'avoir soutenue, supportée, écoutée durant ces années d'internat.

Merci d'être si patient et si compréhensif.

Bientôt une nouvelle vie nous attend aux cotés de Pumbichou : un mini dodu !

A ma famille

A mes parents pour m'avoir offert une vie qui m'a permis d'être là où j'en suis.

Merci pour votre soutien depuis toujours, surtout dans les moments de doutes et de stress. Et n'oublions pas : « croire savoir est la première source d'erreur » !

A ma sœur et mon frère pour tous les moments de rire, de détente, mais aussi de bagarre qui font tout le charme des fratries.

A mes grands-parents pour tous les bons moments passés.

A mes amis

A Margaux, nous avons partagé tellement de choses depuis le début de ces années en médecine. Merci pour ton aide apportée pour ma thèse. Ton deuxième travail d'agence matrimoniale a également été une grande réussite pour moi !

A ma bande de filles préférée (Sarah, Marine, Virginie) pour tous ces bons moments de rires, de confidences que nous continuerons à partager longtemps aux quatre coins de la France.

A Julie, Romain, Martin, Johann, Pauline, Nora, Sophia et Pierre-Nicolas pour votre indéfectible amitié depuis tant d'années.

A Hugo, Oscar, Arthur, Alison pour nos prochaines parties de Mølkkky / apéro.

A Mathias, le bat's et la cull's forever

A Sébastien, Arielle, Eléonore et Maxence pour nos prochaines soirées Reine des neiges dans le tipi au milieu du salon.

A Delphine pour ta bonne humeur et nos soirées papotage.

A mes poulettes de la danse (Léa, Anne So, Sophie, Cécile, Aude) pour les samedi barre à terre / choré et surtout pour les cafés / débriefing.

A ma bande de médecine depuis toutes ces années (Tim, Aurélien, Charly, JB, Sibylle).

A toutes les personnes qui m'ont aidé dans l'élaboration de ce travail,

Au Docteur Fatiha Maskali, au Docteur Sylvain Poussier, Alexandra, Mickael et Carole merci pour votre aide durant l'année de Master. Travailler avec les rats n'était pas une mince affaire mais votre aide m'a été très précieuse. Merci !

A toutes les personnes rencontrées au cours de mon internat et qui ont participé à ma formation, à l'ensemble des Professeurs, Praticiens Hospitaliers et chefs de clinique.

A toute l'équipe de neuropédiatrie de Nancy (Docteur Dominique Steschenko, Docteur Catherine Barondiot, Docteur Claire Bilbault) pour tout ce que vous m'avez appris durant les 6 mois passés à vos côtés. J'ai hâte de travailler à vos côtés.

A Gaëlle, Mathilde, Calina pour avoir partagé ensemble le long chemin vers l'apprentissage de la neurophysiologie.

Aux équipes médicales et paramédicales du CHR Metz Bonsecours pour leur aide et leur indulgence au cours de mes premiers pas d'interne.

Aux équipes médicales et paramédicales du 1^{er} étage et des urgences . Au Dr Carole Legagneur, mon premier chef de clinique au CHU pour ta gentillesse, ta présence et tout ce que tu m'as appris dans mes premiers pas à l'hôpital d'enfants.

Aux médecins et équipes paramédicales de neurologie adulte pour leur aide, leur indulgence durant ces 6 mois dans un monde où les posologies ne sont pas calculées en dose-poids. Merci pour tout ce que vous m'avez appris.

A toute l'équipe médicale et paramédicale de neuropédiatrie de Reims qui m'ont conforté encore plus dans mon choix de pratiquer cette spécialité. Merci pour votre accueil, votre disponibilité, votre gentillesse et tout ce que j'ai appris à vos côtés.

A l'équipe d'oncologie pédiatrique du 2^{ème} étage, merci au Dr Mansuy, au Dr Contet Dr Fouyssac pour leur apprentissage et leur disponibilité pendant ces 6 mois.

Aux équipes de la maternité régionale pour mon initiation à la néonatalogie.

A toute l'équipe de la réanimation pédiatrique (Dr Le Tacon, Dr Maria, Dr Girard, Dr Barbier) et aux médecins anesthésistes pour ce dernier semestre au cours duquel j'ai appris énormément avant le grand saut dans la vie de chef de clinique.

Au Docteur Gebhardt, Docteur Picard, Docteur Lapp et aux médecins de la maison médicale d'Essey pour m'avoir fait confiance dans mes premiers pas de remplaçantes en pédiatrie.

A mes co-internes rencontrés durant ces quatre années :

A mes neurologues adultes préférés (Mathieu, Camille, Lisa, Lavinia, Basile) pour m'avoir fait presque regretter de retourner au monde des bisounours. Aux prochains apéros neuro du jeudi !

A mes co-internes et futurs co-chefs Chloé, Aurore et Aris, je suis ravie de partager ces deux prochaines années avec vous.

Aux internes de pédiatrie avec qui j'ai eu la chance de travailler et notamment à vous Sébastien et Lorraine.

A celles déjà Docteurs et qui partageront quelques temps avec nous le 1^{er} étage : Amélie et Julie

A celles avec qui j'ai eu le plaisir de partager mon dernier semestre : Léa mon anesthésiste préférée, Chloé, les Isabelles et Aurélie.

Aux autres internes de médecine ou de chirurgie rencontrés au cours de l'internat.

SERMENT

« **A**u moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque ».

Table des matières

LISTE DES ABRÉVIATIONS	20
LISTE DES FIGURES.....	21
I. INTRODUCTION	22
A. L'épilepsie mésiale du lobe temporal chez l'homme (mELT)	22
B. Evaluation diagnostique de la mELT chez l'Homme.....	24
C. Le modèle lithium-pilocarpine chez le rat adulte.....	27
D. Les modifications neuro-métaboliques du modèle lithium-pilocarpine étudiées par MicroTEP au 18-FDG.....	29
E. Les modifications cérébrales structurales du modèle lithium-pilocarpine étudiées par IRM30	
F. La voie mTOR	30
G. Inhibition de la voie mTOR par la Rapamycine et épilepsie.....	34
II. OBJECTIF DE L'ETUDE	37
III. MATERIEL ET METHODE	37
A. Population animale	37
B. Etat de mal épileptique	37
C. Thérapeutiques.....	38
D. Réalisation des Imageries par Résonance Magnétique (IRM)	38
E. Réalisation des microTEP au 18-FDG.....	39
F. Détection des crises convulsives spontanées.....	39
G. Quantification de la captation du 18-FDG dans les ROIs.....	39
H. Analyse histologique cérébrale	40
I. Analyse statistique.....	40
IV. RESULTATS.....	42
A. Etat de mal épileptique	42
B. Mortalité.....	42
C. Poids.....	42
D. IRM	43
E. Epileptogenèse	43
F. Evaluation des modifications métaboliques par TEP au 18-FDG.....	43
G. Résultats histologiques	46
V. DISCUSSION.....	48
A. La mortalité.....	48
B. Modifications métaboliques induites par le SE.....	48
C. Epileptogenèse et neuroprotection	49
D. Perspective de l'inhibition de la voie mTOR chez l'Homme dans l'épilepsie.....	52
VI. CONCLUSION	55
BIBLIOGRAPHIE.....	56

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AMYGD : amygdale
AON : aire olfactive
CA1 : Corne d'Ammon 1
CA3 : Corne d'Ammon 3
CXCBT : cortex cérébelleux
CXENT : cortex entorhinal
CXPIR : cortex piriforme
18- FDG : [¹⁸F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose
GABA: acide gamma-amminobutyrique
HYPOTH: hypothalamus
HYPVEN: hypothalamus ventral
ICOL: colliculus interne
IP : intrapéritonéale
IRM : imagerie par résonance magnétique
MBq : mégabecquerel
mELT : épilepsie mésiale du lobe temporale
mTOR : Mammalian Target of Rapamycine
Rheb : Ras homolog enriched in brain
ROI : région d'intérêts
SBCBT : substance blanche cérébelleuse
SC : sous-cutané
SE : statut épileptique - état de mal épileptique
SEGA : astrocytome géant sous-épendymaire
S-EEG : stéréo-électroencéphalogramme
SH : sclérose hippocampique
SN : substance noire
SPECT : single photon emission computed tomography
SUDEP : sudden unexpected death in epilepsy
SUV: standardized uptake value
S6K: protéine kinase S6
RHEB: ras homolog enriched in brain
THAL: thalamus
THALVENT: thalamus ventral
TEP : tomographie par émission de positons
TSC : tuberous sclerosis complex
4 EBP 1 : 4^E binding protein 1

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : **Schéma de la régulation physiologique de la voie mTOR**

Figure 2 : **Liste des pathologies neurologiques et psychiatriques liées à une dysrégulation de gènes codant pour la voie mTOR**

Figure 3 : **Schéma récapitulatif du protocole de l'étude**

Figure 4 : **Graphique représentant les valeurs des moyennes des rapports SUV des ROIs analysés / ROI global pour les 3 groupes aux temps**

Figure 5 : **Coupes cérébrales frontales de cerveau de rat au microTEP au FDG dans le groupe pilocarpine-Rapamycine et pilocarpine seul**

Figure 6 : **Tableau illustrant la moyenne des taux de neurone / unité de surface dans les régions hippocampiques, thalamiques, hypothalamiques, cortex entorhinal et cortex piriforme**

Figure 7 : **Coupes histologiques de cerveau de rat après coloration à la thionine dans le groupe lithium-pilocarpine et lithium-pilocarpine/ Rapamycine**

I. INTRODUCTION

A. L'épilepsie mésiale du lobe temporal chez l'homme (mELT)

Les épilepsies sont un problème de santé publique. Tous syndromes et étiologies confondus elles concernent 5 à 10 personnes pour 1.000 habitants (2). L'incidence est estimée à 43 nouveaux cas pour 100.000 habitants par an dans les pays développés (3) et 68,7 pour 100.000 habitants par an dans les pays en voie de développement.

Une crise épileptique est induite par la décharge simultanée et synchrone de l'ensemble ou d'une sous-population de neurones corticaux cérébraux. Une épilepsie est caractérisée par la récurrence spontanée de crises épileptiques. On distingue deux grands groupes de maladies épileptiques: les épilepsies focales, pour lesquelles la décharge concerne initialement une sous-population focale de neurones, et les épilepsies généralisées pour lesquelles la décharge concerne l'ensemble du cortex cérébral dès le début de la crise. La proportion d'épilepsies focales varie entre 40 et 60% selon les études (4),(5), différence qui s'explique par la difficulté à caractériser cliniquement le type de crises.

L'épilepsie du lobe temporal (ELT) est la forme la plus fréquente d'épilepsie pharmaco-résistante de l'adulte avec seulement 20% de rémission (4). Dans les ELT, on distingue une sous-catégorie individualisée dans la nouvelle classification proposée par la Ligue Internationale Contre l'Epilepsie (6). Il s'agit de **l'épilepsie mésiale du lobe temporal (mELT) avec sclérose de l'hippocampe (SH)**, encore appelée épilepsie limbique. En effet la région de l'hippocampe fait partie du système limbique, qui joue un rôle dans la mémoire, les émotions ainsi que dans le comportement. Cette sous-catégorie représente environ 66 % des ELT qui sont les épilepsies les plus fréquemment opérées chez l'adulte (7).

L'hypothèse concernant l'histoire naturelle des mELT est caractérisée par la succession de trois phases :

- La phase initiale : Il s'agit de l'agression cérébrale initiale.

Cet épisode a le plus souvent lieu dans la petite enfance. Il peut s'agir d'une crise convulsive prolongée appelée état de mal épileptique ou *status epilepticus* (SE). L'étiologie du SE n'est pas toujours retrouvée mais certaines études estiment qu'un contexte fébrile est présent dans un tiers voire la moitié des cas, ce qui sous-entend la participation de mécanismes inflammatoires (7,8). A côté des causes infectieuses, on distingue aussi les traumatismes crâniens et les souffrances néonatales.

- La phase de latence : cliniquement silencieuse, c'est la phase d'épileptogénèse. Cette période est présente dans 65 à 74 % des cas (9). Elle n'est donc pas nécessaire pour poser le diagnostic de mELT (10). Sa durée est extrêmement variable, allant de quelques mois à plusieurs années. On n'y documente aucune crise épileptique. Durant cette phase, se met en place une **restructuration fonctionnelle et anatomique** du réseau cortico-hippocampique avec formation d'un néocircuit hyperexcitable (11). En effet, l'hippocampe est souvent le siège de l'apparition d'une sclérose (7) sous-tendue par une atrophie et une perte de l'architecture interne (10). L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est l'examen d'imagerie de référence pour diagnostiquer la sclérose hippocampique, montrant alors un hypersignal en pondération T2 (12). D'autres structures sont également touchées par la gliose et la perte neuronale, à savoir les cortex parahippocampiques (piriforme, périrhinal, entorhinal) ainsi que les amygdales et le thalamus (13) (14).

- La phase chronique : crises spontanées récurrentes, épilepsie
La réorganisation neuronale et synaptique sous-tend l'épileptogénèse et l'apparition de crises spontanées récurrentes (SRS). Ceci définit la maladie épileptique. La récurrence des crises pérennise le processus de réarrangement tissulaire (phénomène d'embrasement).

Le Pronostic des mELT est sous-tendu par plusieurs critères :

- Dans la population de patients épileptiques, la mortalité est deux fois plus importante que dans la population générale (15) et notamment en termes de mortalité inattendue (Sudden Unexpected Death in Epilepsy (SUDEP)). Ainsi, le risque de mortalité est d'autant plus élevé dans la première année suivant le diagnostic (15). Les causes de surmortalité ne sont pas toutes identifiées et ne sont pas seulement la conséquence de crises ou d'un état de mal prolongé. Plusieurs études observationnelles nationales et internationales s'intéressent à ces questions. La cause du décès est statistiquement liée à l'étiologie de l'épilepsie mais également à la polythérapie. Uniquement dans le cadre des états de mal épileptiques, la mortalité est estimée entre 7,2% et 9,8% selon les ethnies (16).

- La pharmacorésistance est définie par la persistance de crises fréquentes et invalidantes malgré l'essai bien conduit d'au moins deux traitements anti-épileptiques adaptés et à dose efficace. Le taux de rémission de cette épilepsie est d'autant plus faible que s'y associe une sclérose de l'hippocampe avec une chute à seulement 11% de rémission dans ce cas (4). **L'étiologie**, la présence d'une **SH** avant l'introduction du traitement et **l'échec**

thérapeutique à l'introduction du premier traitement anticonvulsivant sont les critères pronostiques principaux (17,18).

- La sévérité de la maladie pour le patient est liée à la perte d'autonomie éventuelle et à l'impact sur la qualité de vie. Elle ne dépend pas que de la fréquence des crises.
- Les troubles neurocognitifs et en particulier un déficit de la mémoire de travail et de la mémoire verbale à long terme sont deux atteintes spécifiques de la mELT, du fait des lésions hippocampiques (10). Par ailleurs, un certain nombre d'enfants et d'adultes présentent un déficit intellectuel, des troubles attentionnels et du langage. Il existe une corrélation positive entre la sévérité de la sclérose hippocampique et l'atteinte cognitive en terme d'atrophie, de perte neuronale et de bilatéralisation (19,20).
- Les comorbidités psychiatriques dont le manque d'estime de soi ne sont pas corrélées à la pharmacosensibilité de l'épilepsie. L'ensemble des retentissements de l'épilepsie rend compte d'une moindre adaptation sociale et professionnelle pour les patients épileptiques (21)

L'enjeu des complications de l'épilepsie impose de proposer une stratégie thérapeutique ordonnée et efficace. Dans le cadre des mELT par ailleurs, la possibilité de reconnaître l'évènement agressant initial permet d'envisager des stratégies de neuroprotection qui évitent le remaniement histologique et fonctionnel.

B. Evaluation diagnostique de la mELT chez l'Homme

L'électroencéphalographie (EEG) permet de diagnostiquer une épilepsie, d'en localiser la source et les zones cérébrales impliquées dans son déroulement, d'apprécier son importance et de suivre son évolution. Cette technique se base sur la mesure de l'activité électrique cérébrale globale qui dépend en majorité de l'activité neuronale. L'EEG standard est une technique non invasive dont le signal est recueilli par des électrodes en surface du scalp. L'enregistrement est couplé à une vidéo. En cas de crises restant localisées à la zone temporale interne, l'EEG de surface peut ne pas enregistrer les modifications électriques cérébrales du fait de la profondeur des structures mais aussi de leur conformation enroulée. Des modifications électriques peuvent n'apparaître que lors de la propagation de la crise et

dans ce cas, l'EEG perd sa valeur localisatrice. Afin de déterminer plus précisément le point de départ de la crise, la stéréo-EEG (S-EEG) avec vidéo peut être utilisée. Le principe est d'implanter des électrodes en profondeur du cerveau. La S-EEG fait partie du bilan pré-chirurgicale des épilepsies pharmacorésistantes. Elle permet également de localiser les aires fonctionnelles à épargner grâce à des stimulations.

L'imagerie structurale dont l'IRM est la méthode de choix permet de préciser la nature et la localisation des lésions cérébrales. Le principe repose sur l'utilisation des propriétés magnétiques des noyaux d'hydrogène présents dans les molécules d'eau qui constituent 60% de notre organisme. Ces noyaux sont dotés d'un moment magnétique appelé « spin ». Lorsque ces noyaux sont placés sous l'influence d'un aimant, les spins s'orientent tous dans la même direction. Ces spins sont ensuite excités par une onde de radio à la fréquence de résonance qui modifie l'orientation. A la fin de chacune des impulsions, le spin retourne spontanément à sa position initiale, en émettant une onde de la même fréquence que celle qui l'a désorienté. La durée nécessaire aux spins pour retourner à leur position initiale permet d'identifier la structure à laquelle appartiennent les noyaux d'hydrogène. On peut ainsi différencier au niveau cérébral : la substance grise, la substance blanche, le sang et le liquide céphalo-rachidien. Dans la mLTE avec SH, l'IRM met en évidence une atrophie hippocampique (sensibilité 90%), un hypersignal en pondération T2 (sensibilité 80 à 85%) et une perte de l'architecture interne (10,12). La réduction du volume hippocampique est corrélée à la perte neuronale (22) et l'augmentation du signal à la gliose (23). Selon certaines études, la présence d'une **sclérose hippocampique** serait de mauvais pronostic (17,24). Le développement de nouvelles techniques comme l'IRM fonctionnelle couplée à l'EEG permet également de localiser les zones épileptogènes dans les bilans pré-chirurgicaux.

Parmi les autres outils diagnostiques et pronostiques précoces **la tomographie par émission de positons (TEP) au fluoro-déoxy-glucose (18-FDG)** utilisable depuis environ 25 ans permet par d'affiner la circonscription du foyer épileptogène. La technique se base sur l'utilisation presque exclusive de glucose comme substrat énergétique. Ainsi le métabolisme cérébral peut être étudié grâce à un radiotracer marqué, le 18-FDG qui est le plus utilisé en pratique clinique. Comme le glucose, le déoxyglucose entre dans le compartiment cytosolique neuronal par le transporteur GLUT-1. En revanche le déoxyglucose est bloqué après l'étape de 6-phosphorylation de la glycolyse anaérobie. Ainsi, il reste piégé au niveau neuronal et s'accumule là où il a été capté. Le 18-FDG est une molécule qui garde ces mêmes propriétés

mais dont le groupement hydroxyl est substitué par un atome de fluor 18 radioactif. Ainsi le niveau de captation de glucose reflète le niveau métabolique de la structure, et il est corrélé à l'intensité de radioactivité détectable lors de la réalisation du PET. Une fois l'épilepsie chronique déclarée, ce dernier n'est étudié en clinique qu'en période interictale, du fait des contraintes temporelles de la technique. On documente habituellement un hypométabolisme diffus des structures temporo-mésiales homolatérales au foyer critique, parfois bilatérale.

La physiopathologie de cette baisse de captation de glucose est encore mal expliquée. La décharge ictale, sa voie de propagation ainsi que les remaniements structurels et la durée de l'épilepsie jouent un rôle dans ces résultats (25,26). Lorsque l'IRM anatomique ne montre pas d'anomalie visible des structures temporales mésiales chez un patient présentant une mLTE diagnostiquée cliniquement et sur l'électroencéphalogramme, on peut estimer à 82% le nombre de TEP mettant en évidence un hypométabolisme, selon une récente méta-analyse (26). On note toutefois que parmi les TEP sans anomalies, 73% des cas avaient une IRM anormale, ce qui conforte l'hypothèse de l'absence à ce jour de corrélation entre SH ou atrophie hippocampique et hypométabolisme (26). Toujours selon cette méta-analyse, un hypométabolisme ipsilatéral au foyer épileptique aurait une valeur prédictive de bonne évolution estimée à 86%.

En cas de crises fréquentes et assez longues, la SPECT ictale (*single photon emission computed tomography*) est utile pour délimiter la zone cérébrale de début des crises. Il s'agit d'une technique tomoscintigraphique par émission monophotonique réalisée sur une gamma caméra et qui consiste à placer le patient sous les têtes de détecteurs qui tournent autour de lui et permettent une acquisition en trois dimensions du métabolisme cérébrale. Cette technique utilise le technétium 99m associé à un traceur qui est injecté par voie intraveineuse au patient et qui émet des rayonnements gamma de 140 keV. Elle est moins sensible que la TEP de par la technique employée. On observe ainsi dans les mLTE en phase ictale une hyperperfusion homolatérale de l'ensemble du lobe temporal, puis une hyperperfusion localisée à la partie mésiale en post-ictale précoce (60 secondes), et enfin une hypoperfusion du lobe temporal parfois bilatérale en post-ictal tardif (quelques minutes). Un retour à l'état basal se fait ensuite progressivement (27). Les SPECT peuvent également être réalisées en phase interictale, mettant en évidence des hypoperfusions au niveau du ou des foyers épileptogènes. Grâce à une technique de soustraction des images ictales/interictales puis de superposition à l'IRM, la sensibilité de la SPECT ictale est augmentée.

C. Le modèle lithium-pilocarpine chez le rat adulte

Le modèle lithium-pilocarpine est un modèle expérimental d'épilepsie induite chez le rat, qui reproduit chronologiquement les caractéristiques cliniques, histologiques et fonctionnelles principales de la mELT chez l'Homme. L'injection d'un agoniste cholinergique déclenche un SE à l'origine de lésions au niveau des structures hippocampiques (i), des thalami (ii), des cortex entorhinaux et piriformes (iii) et des amygdales (iv) (11,28,29). Les pertes neuronales induisent une réorganisation tissulaire et la création d'un néo-circuit hyperexcitable qui sous-tend la survenue de crises récurrentes spontanées (11).

Le lithium a pour rôle de sensibiliser le cerveau de l'animal à la pilocarpine lorsqu'il est administré 16 à 20 heures avant son injection. La posologie de la pilocarpine peut alors être divisée par 20, sans modifier ses propriétés pro-convulsivantes (30). Le pré-traitement par lithium a permis de déclencher plus souvent et plus rapidement un SE chez le rat. Cependant, l'introduction de lithium a montré une nette augmentation de la mortalité post-état de mal chez les rats, évaluée aux alentours de 50% (31). La pilocarpine est un agoniste cholinergique qui, par la présence de récepteurs muscariniques M1 en abondance au niveau cortical et hippocampique, induit une dépolarisation des neurones par fermeture des canaux de potassium et provoque l'apparition de crises (31,32). Afin de limiter les effets périphériques parasympathiques de la pilocarpine, qui se traduisent notamment par une hypersalivation importante, une injection de scopolamine est administrée 30 minutes avant le déclenchement de l'état de mal.

Trois phases ont été décrites chez le rat adulte, qui reproduisent l'histoire naturelle de la mELT chez l'Homme :

- La phase aigüe : statut épileptique (SE)

Le statut épileptique débute principalement 10 à 20 minutes après injection de la pilocarpine. Durant cette phase, l'animal cesse son activité d'exploration, apparaît une pilo-érection, une diminution de la motricité volontaire, une ataxie, des hochements de tête, un grattage, une défécation et une miction.

Au bout de 30 minutes, le rat présente des crises motrices limbiques caractérisées par une hypersalivation, des clonies des extrémités supérieures et des chutes latérales. Ce type de crise définit le début de l'état de mal selon l'échelle de score révisé de Racine (33)

L'état de mal épileptique se caractérise par la persistance des crises motrices limbiques pendant au moins 30 minutes (28). Des tracés d'électroencéphalogrammes ont pu montrer une activation critique à point de départ hippocampique avec une propagation aux amygdales et néocortex (28).

Sur le plan histopathologique, ces mêmes auteurs ont montré une altération tissulaire localisée des régions hippocampiques, du néocortex, du thalamus et des amygdales (28). Ces zones apparaissent œdématiées.

L'état de mal épileptique est induit par la pilocarpine dans 60% (11) à 95% des cas, avec un mortalité de 51 à 61% (34,35).

- Phase silencieuse de latence :

C'est durant cette phase que le processus d'épileptogenèse se met en place, comme chez l'Homme. Il n'y a pas de crises convulsives observées. La durée de cette période est variable d'un rat à l'autre. Selon les études elle varie de 1 à 7 semaines (11). Il semblerait également qu'il y ait une corrélation entre la longueur du SE et la durée de la phase silencieuse. Ainsi plus le SE dure longtemps, plus longue serait la durée de la phase silencieuse (36). La prolongation du SE pourrait déclencher un processus anti-inflammatoire plus important que les états de mal courts et donc contrôler plus longuement l'apparition de SRS.

Dans les régions du système limbique, on observe une perte neuronale voire une altération des interneurons et une prolifération des fibres moussues du gyrus denté qui font synapse avec les dendrites des cellules granulaires voisines, à l'origine de la formation d'un néocircuit hyperexcitable hippocampique (37). On observe donc une réorganisation cellulaire, tissulaire et fonctionnelle (36).

- La phase chronique :

Cette troisième période est la période de l'apparition de crises spontanées récurrentes (SRS). Toutefois, elle ne se produit pas dans 100 % des cas. Goffin et al. 2009 ont obtenu un taux de SRS de 42% (38) et Lee et al. 2012 avoisinent les 80% (34).

Cependant, l'étiopathogénie de l'apparition ou non de SRS n'est pas encore établie et selon les études, les hypothèses divergent. En effet certains auteurs ont montré que la perte neuronale et la prolifération des fibres moussues n'étaient pas suffisantes à la mise en place de l'épileptogenèse (31).

D. Les modifications neuro-métaboliques du modèle lithium-pilocarpine étudiées par MicroTEP au 18-FDG

Dans le domaine de la recherche pré-clinique, le TEP a été adapté aux petits animaux ; il s'agit du microTEP.

Plusieurs études ont décrit les modifications métaboliques cérébrales à différents stades post-SE dans le modèle lithium-pilocarpine grâce à l'imagerie fonctionnelle par microTEP.

A la phase très précoce du SE (H+1), Fernandes et al. ont mis en évidence un hypermétabolisme des régions thalamiques, corticales, hypothalamiques et de la substance noire (39).

A J+1 et une semaine après le SE, Lee et al. observent un hypométabolisme prédominant au niveau de l'hippocampe, des ganglions de la base et de l'amygdale. Selon les auteurs, il existe une période transitoire de retour à la normale de toutes les régions initialement atteintes après la phase sub-aigüe. Puis à 4 semaines, ils montrent à nouveau une diminution progressive du métabolisme plus focalisée aux régions hippocampiques et de l'amygdale. **L'hippocampe apparaît comme la zone clé de l'épileptogenèse** car l'hypométabolisme touche cette région en premier.

Enfin, à 7 semaines, les auteurs mettent en évidence un hypométabolisme irréversible localisé au niveau de l'amygdale et de l'hippocampe.

Sur le plan histologique, il y a peu de perte neuronale à la phase silencieuse et chronique évoquant l'imputabilité directe des SRS sur les modifications métaboliques (34).

Dans une autre étude, Goffin et al. (2009) ont montré un hypométabolisme dès J3 de l'ensemble du cerveau, à l'exception du cervelet. Les structures les plus touchées étaient l'hippocampe, le thalamus et le cortex entorhinal (54).

Les deux études s'accordent à dire que l'hypométabolisme en phase de latence puis en phase chronique est nettement moins important qu'à la phase aigüe.

Il semble donc exister deux stades de modifications métaboliques : le premier à **la phase aigüe du SE** et le deuxième au cours de **la phase de latence** lors de la mise en place du néo-circuit hyperexcitable. L'hypométabolisme de la deuxième phase se pérennise suite aux crises récurrentes.

Les modifications métaboliques du modèle lithium-pilocarpine chez le rat sont relativement concordantes entre les différentes études et rejoignent également les résultats retrouvés chez l'Homme. Toutefois l'étiopathogénie de l'hypométabolisme et l'élaboration de marqueurs pronostics d'évolution sont encore à définir.

E. Les modifications cérébrales structurales du modèle lithium-pilocarpine étudiées par IRM

L'IRM cérébrale des rats post-SE met en évidence un hypersignal en pondération T2 dans différentes régions cérébrales dont l'étiopathogénie est variable au cours du temps. Ainsi, on peut observer :

- A 2H post-SE : un hypersignal T2 du thalamus lié à la rupture de la barrière hémato-encéphalique. Ce signal disparaît à 6H ;
- A 24H : un hypersignal T2 localisé aux régions amygdaliennes et des cortex parahippocampiques lié à l'œdème. Ce signal s'éteint et disparaît vers J5 avec la régression de l'œdème aigue cytotoxique ;
- A partir de J2 : apparition progressive et irréversible d'un hypersignal T2 de l'hippocampe en lien avec l'atrophie et le début de la sclérose ;
- A la phase chronique : la gliose corticale à l'origine d'un hypersignal T2 des cortex parahippocampiques (40)

F. La voie mTOR

La protéine mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) est une protéine kinase formée de deux gros complexes : mTORC1 et mTORC2. C'est une protéine ubiquitaire, présente dans toutes les cellules eucaryotes dont les cellules nerveuses (41).

Le complexe mTORC1 (figure 1) est inhibé par la Rapamycine via l'inhibition de la protéine d'interaction FKBP 12 et intervient dans la régulation de l'autophagie, la synthèse protéique et la transcription de gènes codant pour la lipogénèse, la fonction mitochondriale ou encore des facteurs induits par l'hypoxie. Il est activé par la protéine « Ras homolog enriched in brain » (Rheb) qui est un tenseur cellulaire régulé par deux complexes : tuberous sclerosis complex 1 et 2 (TSC1 et TSC2). Il induit la phosphorylation de deux principales protéines qui sont la protéine kinase S6 (S6K) et le facteur d'initiation 4 E-Binding protein 1

(4E-BP1) à l'origine de la régulation de la synthèse protéique. La forme phosphorylée de S6K est un marqueur biologique d'activation de cette voie.

Les gènes TSC1 et TSC2 sont soumis à des facteurs génétiques, énergétiques, nutritifs et métaboliques qui font varier leur expression.

Le complexe mTORC2 intervient dans la régulation du cycle cellulaire (apoptose, prolifération) et dans la stabilité du cytosquelette. Son activation est encore faiblement étudiée mais il semblerait qu'elle soit liée à l'action du ribosome, lui-même en lien avec mTORC1 (42). Il est moins sensible à la Rapamycine, toutefois une exposition prolongée au traitement pourrait inhiber son action.

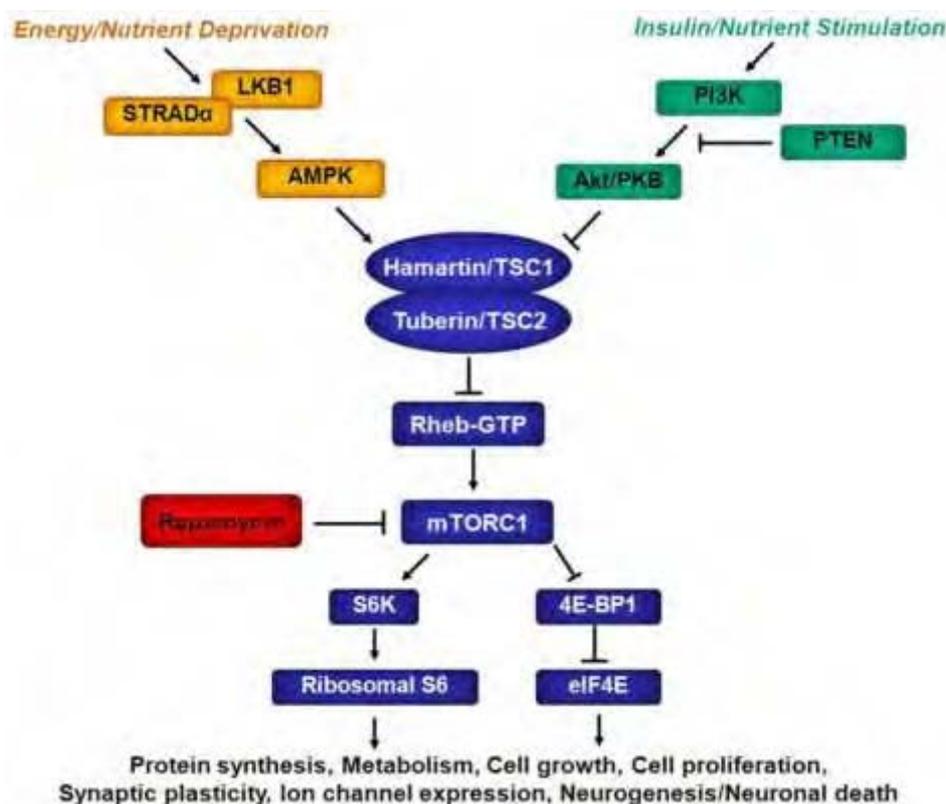


Figure 1 : Régulation physiologique de la voie mTOR (1) : la voie mTORC1 est inhibée par la Rapamycine. Elle est régulée par des facteurs métaboliques via des protéines intermédiaires (TSC1, TSC2, Rheb) et intervient dans la régulation du cycle cellulaire, de fonctions cérébrales, du métabolisme et de synthèse protéique.

Dès la phase embryonnaire, des études animales ont montré le rôle de mTOR dans le développement cérébral. L'inactivation de la voie induit une tératogénicité liée à l'absence de prolifération des progéniteurs (43) et un modèle d'hyperactivation chez des souris transgéniques a montré une microcéphalie secondaire à l'apoptose des cellules précurseurs (44). Il semble par ailleurs que la voie mTOR agisse différemment selon les stades du

développement, ainsi chez des souris adultes, son activation déclenche une hypertrophie corticale, une épilepsie sévère et une prolifération microgliale (44). On observe une dysplasie neuronale sous-tendue par une hypertrophie et ectopie dendritique, une élongation des axones et une majoration des connections synaptiques (45,46). Ce modèle animal reproduit la sclérose tubéreuse de Bourneville, liée à une mutation autosomique dominante du gène TSC 1 ou TSC 2.

Le complexe mTORC1 est également impliqué dans la myélinisation via son rôle dans la lipogenèse et la synthèse de protéine myélinique des oligodendrocytes. Une hypomyélinisation est induite par une hyperactivité du complexe (47).

Plusieurs études récentes ont mis en évidence l'impact de mTOR dans la génération et la fonctionnalité des circuits neuronaux via la synthèse de protéines axonales, dendritiques et synaptiques (41). Le complexe interfère également avec la régulation du glutamate et de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) qui sont deux neurotransmetteurs, respectivement excitateur et inhibiteur. Il module aussi l'expression des canaux voltage potassium-dépendants (46). Son rôle dans la conduction nerveuse est donc avéré et appuyé par de nombreuses études (48-50).

La plasticité et la fonction synaptique sont également régulées par mTORC1 et mTORC2, ayant pour conséquence d'influencer le comportement (41). Des modèles animaux génétiquement modifiés ont également montré que la cognition et notamment la mémoire étaient altérées du fait d'une hyperactivation de mTOR dans la région hippocampique des souris (51).

Enfin, la régulation de la faim et du rythme circadien seraient aussi influencés selon plusieurs études (41).

Ainsi, un certain nombre de mutations monogéniques dérégulent la voie mTOR et sont à l'origine de nombreuses pathologies tant sur le plan neurodéveloppemental que neurodégénératif. La sclérose tubéreuse de Bourneville, la neurofibromatose de type 1, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la schizophrénie en font partis. Lipton et al. ont résumé dans leur revue de la littérature les maladies neurologiques et psychiatriques liées à une anomalie de la voie mTOR (41) (figure 2).

Neurodevelopmental			
Tuberous sclerosis complex	TSC1 or TSC2	E, ASD, ID, tubers, hamartomas, multiosystem benign tumors	up
TBC1D7 syndrome?	TBC1D7	ID, macrocrania, neuropsychiatric	up?
Aufam spectrum with macrocephaly	PTEN	ASD, E, MacroC	up
Cowden syndrome	PTEN	MacroC, ± ID, CA	up
Bannayan-Riley-Ruvalcaba syndrome	PTEN	MacroC, polyps, ± ID, skin, WM cysts	up
Lhermitte-Duclos disease	PTEN	dysplastic gangliocytomas of the cerebellum	up
Neurofibromatosis type I	NF1	ID, E, OPG	up
Non-syndromic autism	PTEN, mTOR, ?AKT, others	ASD, E?	up/down
Epileptic encephalopathy	mTOR, others	E, ID	?
Neurodegenerative			
Alzheimer disease	APP, Presenilins, others	dementia	up?
Parkinson disease	α-synuclein, Parkin, PINK1, LRRK2, others	movement disorder, dementia	up?
Huntington disease	Huntingtin	movement disorder, neuropsychiatric	up?
Psychiatric			
Major depressive disorder	?	decreased mood, suicidality	down?
Schizophrenia	AKT1, DISC1, others	hallucinations, delusions, thought disorder, depression	up/down?

Figure 2 : Liste des pathologies neurologiques et psychiatriques liées à une dysrégulation de gènes codant pour la voie mTOR (41) et leurs expressions cliniques.

Des facteurs d'agression cérébrale induisent une activation de la voie mTOR dans plusieurs modèles animaux. Raffo et al. ont reproduit des spasmes infantiles chez des rats immatures et ont montré une augmentation de la phosphorylation et donc de l'activation de la Protéine S6K dans les neurones des cortex péri-lésionnels et de l'hippocampe (52).

Dans une autre étude, Wong et al. ont provoqué chez des souris un accident vasculaire cérébral ischémique (1). De nouveau, ils ont observé une activation de la voie comme Ruegg et al. dans un autre essai (53).

L'analyse de la voie mTOR dans le cadre de la mELT a fait l'objet de plusieurs études. La plupart concordent à prouver l'activation de la voie mTOR dans ce modèle d'épilepsie à la fois chez l'Homme et l'animal (46,54) au niveau des neurones de l'hippocampe, de la microglie et de cortex para-hippocampiques.

Zeng et al. (2009) ont mis en évidence deux phases d'activation chez le rat : à la **phase aigüe** (H3) et **subaigüe** (J5). Ceci correspond aux deux périodes critiques de l'épileptogénèse du modèle lithium-pilocarpine, que sont le SE et la phase de latence (55).

Huang et al. ont montré que la voie mTOR était beaucoup plus activée lorsque les rats déclaraient des crises spontanées comparativement à ceux qui n'entraient pas dans la

troisième phase. Les crises récurrentes paraissent alors avoir un rôle dans la majoration de l'activation de la voie mTOR (56).

Cependant, Sosonuv et al. (2012) ont montré l'absence d'activation de la voie mTOR dans le modèle lithium-pilocarpine chez le rat contrairement à l'Homme. De plus, chez l'Homme cette activation semble variable au niveau des neurones et des cellules gliales de l'hippocampe en fonction de la sclérose ou non du tissu (57).

L'implication de la voie mTOR dans les phénomènes d'épileptogénèse est ainsi démontrée dans les phénomènes d'épileptogénèse. En revanche, les mécanismes ne sont pas élucidés : le processus épileptogène est-il la conséquence de l'activation du complexe ou est-ce l'inverse ? L'impact d'une modulation exogène de la voie mTOR après un événement agressant cérébral pourrait ainsi dépendre du moment de la modulation par rapport à l'évènement initial.

G. Inhibition de la voie mTOR par la Rapamycine et épilepsie

La Rapamycine ou sirolimus est une molécule faisant partie de la famille des immunosuppresseurs du fait de sa capacité à bloquer les propriétés de prolifération cellulaire de la voie mTOR. La Rapamycine a été découverte sur l'île de Pâques (Rapa Nui) et isolée en 1975 à partir d'une bactérie filamenteuse, *streptomyces hygroscopicus*. Elle a d'abord été utilisée comme antibiotique de type macrolide. Ses propriétés immunomodulatrices ont été développées au milieu des années 70. Elle est actuellement utilisée également comme traitement anti-cancéreux.

La Rapamycine a montré un rôle bénéfique dans le modèle de spasmes infantiles chez le rat. Elle diminue la fréquence des crises et normalise l'activité mTOR au niveau des neurones des cortex périlésionnels (52). D'autres types d'épilepsies acquises chez l'animal sont également améliorés par la Rapamycine, telles que les épilepsies secondaires à un accident vasculaire cérébral ischémique (Guo et al. 2013). Un autre inhibiteur de la voie mTOR : l'Évérolimus, a une autorisation de mise sur le marché pour le traitement de la sclérose tubéreuse de Bourneville. Sur le plan neurologique un certain nombre d'études a

montré notamment une réduction de la fréquence des crises. Il ne s'agissait pas de l'objectif principal de ces études et ces résultats demandent à être confirmés (58,59).

La notion de neuroprotection est primordiale dans la lutte contre la mELT. En effet l'objectif est de limiter la perte neuronale, la réaction gliale générale et le sprouting des fibres moussues induite par le SE. Sur le plan biomoléculaire, la Rapamycine joue un rôle dans la régulation de gènes codant pour des éléments du cytosquelette des cellules nerveuses, des facteurs de croissance et de transcription cellulaire, des neurotransmetteurs et des canaux ioniques (53). Ses capacités d'inhibition de la voie mTOR sont prouvées et permettent une régulation de la mort neuronale et des réactions inflammatoires de la glie. Erlich et al. (2007) ont traité par Rapamycine des souris après avoir provoqué un accident vasculaire cérébral. La perte neuronale du groupe traité était moindre, ainsi que l'inflammation gliale (60).

Cinq études récentes ont testé la Rapamycine à différentes phases du SE induit par Lithium-Pilocarpine (avant ou après) sur des modèles animaux d'épilepsie induite. L'ensemble des publications ne concernent à ce jour que la phase pré-clinique d'expérimentation animale.

- Brewster et al. (2013) ont administré le traitement de J14 à J21 post-SE et ont montré :
- une réduction de l'activation de la voie mTOR au niveau des neurones de l'hippocampe et de la microglie
- une réduction de la gliose hippocampique
- une réduction de la perte protéique des canaux ioniques des dendrites
- une réduction des troubles de mémoire spatiale et de reconnaissance
- une réduction l'anxiété

Cependant l'effet anti-épileptogénique n'a pas été étudié.

- Zeng et al. (2009) ont administré la Rapamycine à deux groupes de rats : (i) avant et après le SE versus (ii) uniquement après. Seul le groupe traité avant et après le SE bénéficiait de l'effet anti-épileptogénique et neuroprotecteur. Dans le groupe non traité avant, on n'observait que des effets antiépileptiques.

- Huang et al. ont mis en évidence que la Rapamycine injectée de J-3 à J0 diminuait significativement l'activation du complexe mTOR quelques heures après le déclenchement de le SE (56). L'effet anti-épileptogénique n'était pas significatif. Ils ont ensuite traité par Rapamycine versus placebo les rats ayant déclenché des crises spontanées pendant 3 semaines. Ils ont montré de nouveau une diminution de l'activation mTOR et un effet anti-épileptique. Par ailleurs, la dégénérescence des faisceaux axonaux du gyrus denté de

l'hippocampe était significativement inférieure dans le groupe traité par Rapamycine, on observait donc un effet neuroprotecteur.

Les mêmes auteurs ont montré, dans une autre étude, une diminution de l'agressivité des rats traités par Rapamycine à partir de 6 semaines après le déclenchement du SE (61).

- Enfin, et contrairement aux autres auteurs, Macias et al. a mis en évidence que la Rapamycine induisait une réduction du délai d'apparition de l'état de mal ainsi qu'une plus forte mortalité, ce qui soulève de nouveau la question du rôle de la voie mTOR dans l'histoire naturelle de la mELT (54).

Au total, la mELT avec SH est une des épilepsies les plus fréquentes chez l'adulte mais également très souvent pharmacorésistante. C'est aussi celle qui bénéficie le plus souvent d'une chirurgie anti-épileptique.

L'histoire naturelle de la mELT, pour laquelle un évènement initial déclenchant comme un état de mal est incriminée, permet d'envisager l'utilisation de stratégies de neuroprotection pour bloquer le processus d'épileptogenèse. Ceci nécessite d'empêcher le remodelage tissulaire, fonctionnel et métabolique qui s'opère au niveau des structures hippocampiques et para-hippocampiques. A ce jour, il n'existe pas encore de médicaments à visée neuroprotectrice et antiépileptogénique. Leur action reste limitée à un effet antiépileptique (réduisant la fréquence des crises et leur durée) (62). Plusieurs thérapeutiques ont fait l'objet d'étude précliniques, telles que les statines (63) les anti-inflammatoires (64,65), le carisbamate (66), la gabapentine (67), le dantrolène (68) et le régime cétogène (69). La Rapamycine est également une molécule d'intérêt puisqu'elle cible une voie de signalisation intracellulaire fortement impactée lors d'un état de mal épileptique.

II. OBJECTIF DE L'ETUDE

L'objectif de cette étude expérimentale est d'évaluer l'impact de l'inhibition de la voie mTOR par la Rapamycine sur l'épileptogenèse et la neuroprotection, dans le modèle d'épilepsie induite lithium-pilocarpine, chez le rat. L'évaluation repose sur l'analyse histologique, les modifications métaboliques par 18- FDG TEP et la recherche de crises spontanées récurrentes.

III. MATERIEL ET METHODE

A. Population animale

Nous avons réalisé notre expérimentation sur des rats mâles adultes de 6 semaines, de souche OFA (Charles River, 175-200 g). Notre projet d'étude a été soumis au Comité éthique lorrain en matière d'Expérimentation animale et accepté. Tous les efforts ont été faits pour limiter le nombre d'animaux utilisés ainsi que leurs souffrances. Quarante-quatre animaux ont été utilisés dans cet essai pré-clinique. 3 groupes de rats mâles (Sprague Dawely OFA ; 175-200 g ; Charles Rivers) ont été constitués par la suite : un groupe de rats ayant présenté un SE non traité (lithium-pilocarpine), un groupe de rats ayant présenté un SE traité par Rapamycine (lithium-pilocarpine-Rapa) et un groupe témoin ayant reçu uniquement une injection de Lithium mais sans état de mal induit ni traitement par Rapamycine (lithium).

Les animaux ont été maintenus en cages individuelles, à une température avoisinant les 21- 22°C, avec un cycle jour/nuit de 12 heures.

B. Etat de mal épileptique

Le modèle choisi pour reproduire l'histoire naturelle de la mELT chez le rat est le modèle lithium-pilocarpine. La veille de l'état de mal, une injection intrapéritonéale (IP) d'une dose de **chlorure de lithium** est réalisée, à la posologie de **127,17 mg/kg** par voie (31).

Le jour de l'induction de l'état de mal et afin de limiter les effets périphériques de l'action parasymphomimétique de la pilocarpine, une dose de 1 mg/kg de **méthylscopolamine** est administrée **par voie sous-cutanée** (SC) trente minutes avant l'injection de la pilocarpine.

L'état de mal est induit par administration sous-cutanée d'une dose de 25 mg/kg de **pilocarpine**. Le début de l'état de mal (H0) est retenu sur des critères comportementaux validés : salivation, hochement de tête, clonies des membres supérieurs, redressement sur pattes arrières et perte de contrôle postural de l'animal avec chute latérale (28,70,71). Ce stade correspond au stade 4 du score revisité de Racine (33).

A H+2 du SE, une injection de Diazépam (1 mg/kg) par voie intramusculaire (IM) est administrée à visée décontracturante musculaire. Une deuxième dose plus faible (0,5 mg/kg) est réalisée à H+5 après le SE.

Tous les rats bénéficient jusque J3 de soins adaptés : hydratation orale et alimentation orale à la pipette.

C. Thérapeutiques

Dans le groupe de rats épileptiques traités, la Rapamycine est administrée de J0 à J2 post SE. Ainsi les animaux reçoivent en per os (gavage) 6 mg/kg/j à H+2, puis 3 mg/kg/j à H24 et H48, en une prise.

D. Réalisation des Imageries par Résonance Magnétique (IRM)

Les examens d'IRM de cette étude ont été réalisés à J1 après le début de du SE dans le but d'obtenir des coupes anatomiques permettant ainsi la localisation précise des régions d'intérêts (ROI).

Après anesthésie générale par inhalation d'un mélange isoflurane-oxygène (2% - 1,5v/v), l'animal, placé dans une antenne cylindrique de 5 cm de diamètre dédiée au cerveau du rat, a été soumis à deux acquisitions de 8 minutes chacune, réalisées à l'aide d'un Mini-imager Biospec Bruker horizontal 2,4T (Tesla), de 25 cm de diamètre. La séquence utilisée, de type RARE, avec un champ de vue de 6 cm, un temps de répétition de 3000 ms, une épaisseur de coupe de 1,25 mm, une inter-coupe de 1,75 mm, a permis ainsi d'obtenir deux séries de 14 coupes axiales entrelacées du cerveau du rat.

E. Réalisation des microTEP au 18-FDG

Afin d'étudier les modifications du métabolisme induite par le SE et par la Rapamycine, 4 examens microTEP au 18-FDG sont réalisés (Inveon, SIEMENS, Knoxville, USA).

Un premier TEP est réalisé à J-7 pour s'assurer de l'absence de différence à l'état basal des différents groupes, puis à H4 (phase précoce), J2 (phase subaigue), J8 (phase silencieuse).

Pour réaliser cet examen, les animaux sont mis à jeun la veille de la réalisation des TEP. Le jour des examens, les rats sont pesés et une glycémie est mesurée. Après anesthésie générale par inhalation d'un mélange isoflurane-oxygène (2% - 1,5v/v), un volume moyen de 0,3 mL contenant environ 74 MégaBecquerel (Mbc) de ¹⁸F-FDG, est injecté par voie intraveineuse (veine péniennne ou veine dorsale de la queue).

Quarante-cinq minutes après l'injection du traceur, une acquisition statique d'une durée de 30 minutes est réalisée. A la fin de l'examen une acquisition de transmission d'une durée de 600 secondes est effectuée à l'aide de deux sources de cobalt 57 incluses dans l'appareil.

Les images ont ensuite été reconstruites avec une méthode itérative, aboutissant à des voxels de taille : 0,2 mm x 0,2 mm x 0,8 mm.

F. Détection des crises convulsives spontanées

Afin de mettre en évidence l'apparition ou non de crises spontanées, les animaux sont placés sous vidéo-monitoring à partir de J8. Ils sont filmés 12h par jour (8h à 20H), 7 jours sur 7 jusqu'à J60 post-SE. Les crises retenues selon les scores revisités de Racine sont les crises cloniques des membres supérieurs avec redressement sur pattes arrières (stade 4), les crises cloniques et/ou tonico-cloniques et/ou toniques pures, couché sur le ventre (stade 5) et les crises cloniques et/ou tonico-cloniques et/ou avec bonds, couché sur le côté (stade 6) (33).

G. Quantification de la captation du 18-FDG dans les ROIs

En utilisant la description anatomique des planches de l'Atlas de Paxinos et Watson, nous avons déterminé des ROIs qui correspondent soit (i) aux zones les plus classiquement lésées dans le modèle Lithium pilocarpine, soit (ii) à des zones impliquées dans la formation de néo-circuits d'hyperexcitabilité (10,72,73). Les régions explorées sont : l'hippocampe (Corne d'Ammon 1(CA1), Corne d'Ammon 3 (CA3) et Hile), le cortex moteur, le

cortex piriforme (cxpir), le cortex entorhinal (cxent), l'amygdale, la substance noire (SN), l'aire olfactive (AON), le colliculus interne (icol) , le thalamus (thal), l'hypothalamus (hypothal), le noyau caudé (NC), corps calleux, le cortex cérébelleux (cxcbt) et la substance blanche cérébelleuse (sbcbt). Ces ROIs sont délimités sur les IRM cérébrales, en raison d'une meilleure résolution anatomique. Les coupes IRM de J1 sont ensuite recalées avec le TEP de J-7, H4, J2 et J8 afin de calculer l'activité métabolique dans les ROIs. La fusion des images TEP/IRM est réalisée au moyen d'un logiciel spécialisé (Inveon Research Workplace, Siemens). La moyenne des valeurs de captation pour une même région entre la droite et la gauche est calculée puis rapportée à la valeur de captation du cerveau global. Le poids du rat est pris en compte pour le calcul des valeurs.

H. Analyse histologique cérébrale

A J60, les animaux sont anesthésiés par inhalation d'un mélange isoflurane-oxygène (4% - 1,5v/v) puis mis à mort par injection d'une dose létale de pentobarbital sodique (200mg/Kg). Le cerveau est extrait et immédiatement congelé en le plongeant dans une solution d'isopentane à -25°C.

Les coupes sur cerveau congelé, sont réalisées à l'aide d'un cryostat selon les plans de coupes pré-définis passant par les régions d'intérêts. Les coupes sont ensuite colorées selon un protocole utilisant la thionine qui permet de visualiser le cytoplasme cellulaire. Les lames sont alors analysées au microscope électronique. Nous avons sélectionné les régions hippocampiques (CA1, CA3, Hile), thalamiques, hypothalamiques et les cortex parahippocampiques (cortex entorhinal et piriforme). Les photos numériques ont été prises au grossissement 40 du microscope optique. Le comptage semi-automatisé des neurones est réalisé grâce au logiciel Image J (<http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2014).

En cas de résultats discordants, les neurones étaient re-comptés manuellement. Nous avons ensuite rapporté le nombre de neurones retrouvés à la surface analysée.

I. Analyse statistique

Le test non-paramétrique de Kruskal Wallis a été utilisé pour les comparaisons des valeurs quantitatives continues. Les données concernant la mortalité et l'apparition ou non de crises récurrentes ont été comparées par un test de Chi 2.

Le seuil de significativité est fixé pour $p < 0,05$.

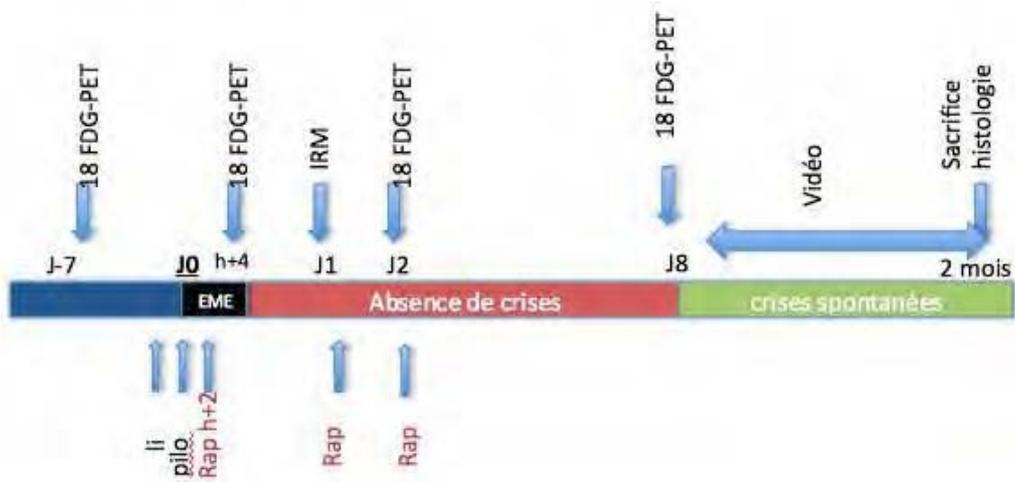


Figure 3 : schéma du protocole de l'étude

Déclenchement du SE selon le modèle lithium-pilocarpine, administration de 3 doses de Rapamycine à J0, J1, J2 ; évaluation PET à J0, J2, J8 ; vidéo de J8 à J60 ; histologie à J60

IV. RESULTATS

A. Etat de mal épileptique

Vingt-neuf rats ont reçu les injections de lithium/pilocarpine mais 4 n'ont pas déclenché de SE soit 13%. Cependant, tous présentaient un comportement anormal à type d'arrêt des activités, hochement de tête et mâchonnement signe d'une activité électrique cérébrale perturbée.

Les SE débutaient en moyenne entre 35 et 45 minutes après l'injection de pilocarpine sauf en cas de deuxième dose nécessaire, auquel cas la crise apparaissait à 60 minutes.

Tous les rats atteignaient le stade 5 de la classification revisitée de Racine. Les animaux qui déclaraient les critères du stade 6 décédaient le plus souvent dans les 3 heures post-SE.

9 rats ont été inclus dans le groupe non traité par Rapamycine et 16 dans le groupe traité.

B. Mortalité

Sept rats sur les 25 ayant déclenché un SE, sont décédés des suites du SE soit une mortalité de 28 %. Sur les 7 rats, 4 sont morts dans les 3h suivant le SE. Les 3 autres rats sont décédés de pertes de poids importantes. Parmi eux, 2 appartenaient au groupe traité par Rapamycine. 4 rats sont décédés des suites d'erreurs de manipulation.

La mortalité entre les groupes est strictement identique (1/7 versus 2/14 pour le groupe traité).

C. Poids

Le poids moyen des rats non traités était plus élevé à J0 avant même le déclenchement du SE. Une perte de poids après SE est présente dans les deux groupes mais est plus sévère dans le groupe non traité par Rapamycine, avoisinant les 18% de perte maximale versus 14 % dans le groupe traité par Rapamycine. Les différences de poids observées entre les deux groupes ne sont pas significatives, et ce pour aucun des jours post-SE.

D. IRM

Tous les rats ayant déclenché un SE, présentaient un hypersignal des structures hippocampiques et des cortex parahippocampiques à J1. Il n'y avait pas de différence visuelle d'intensité du signal entre le groupe traité et non traité.

E. Epileptogénèse

68 % rats ont déclenché des crises spontanées récurrentes, tous groupes mélangés.

72% des rats du groupe traité par Rapamycine ont déclenché des SRS contre 63% pour le groupe non traité, imputable à une différence portant sur un seul rat. Cette différence n'est pas significative.

La Rapamycine n'a donc pas d'effet sur l'épileptogénèse dans notre étude.

F. Evaluation des modifications métaboliques par TEP au 18-FDG

Modification à H4 induites par l'état de mal

Dans le groupe qui subit un état de mal SE comparé au groupe Témoin (T) à la quatrième heure après l'état de mal, on documente un hypométabolisme du noyau caudé (-20%, $p=0,02$) et un hypermétabolisme significatif dans les région hypothalamique (+ 20%, $p=0,03$). Les autres structures clefs hippocampe, amygdale, cortex parahippocampiques, montrent une tendance à l'hypermétabolisme sans que l'effectif permette d'affirmer la significativité.

Dans le groupe traité par Rapamycine SE-Rap comparé au groupes T et SE, l'hypométabolisme induit par l'état de mal dans le noyau caudé est accentué (-15%, $p=0,02$). On observe parallèlement un hypermétabolisme significatif du cortex piriforme (+22%, $p=0,05$) et de la région hypothalamique (+15%, $p=0,05$) par rapport au groupe SE. Cet hypermétabolisme est également significativement majoré par rapport a celui du groupe T (respectivement +37%, $p=0,002$ et +34%, $p=0,001$). Dans le cortex entorhinal, le groupe SE-Rap est en hypermétabolisme par rapport au groupe T (+42%, $p=0,001$) qui est moins marqué par rapport au groupe SE (+17%, $p>0,05$) (figure 4, 5).

Quatre heures après le début de l'état de mal les modifications métaboliques cérébrales locales sont accentuées par la Rapamycine.

Modification à J2 induites par l'état de mal

Dans le groupe SE au deuxième jour après l'état de mal on observe par rapport au groupe T un hypermétabolisme de l'hypothalamus dorsal (+41%; p=0,04) et ventral (+28%; p=0,02) et du cervelet (+12%; p=0,02). On trouve également un hypométabolisme des cortex entorhinal (-24%; p=0,001) et piriforme (-21%; p= 0,001), et du noyau caudé (-11%; p=0,01).

Dans le groupe SE-Rap en comparaison aux groupes SE et T, on documente un hypermétabolisme thalamique (+6% SE-Rap vs SE, p=0,04 ; +10% SE-Rap vs T, p=0,04). Parallèlement l'hypométabolisme du cortex piriforme est moins marqué dans le groupe SE-Rap que dans le groupe SE (+19% SE-Rap vs SE, p = 0,05 ; -22% SE-Rap vs T ; p =0,02) (figure 4, 5). Il n'y a pas d'impact du traitement pour toutes les autres régions du cerveau que nous avons analysées.

Deux jours après le début de l'état de mal, la Rapamycine module les modifications métaboliques secondaires à l'état de mal en les atténuant dans le cortex piriforme.

Modifications à J8 induites par l'état de mal

Dans le groupe SE on observe par rapport au groupe T un hypométabolisme dans les régions hippocampiques (CA1: -15%, p= 0,001 ; CA3 : -8%, p=0,01 ; hile : -10%, p=0,009), thalamique (-12%, p=0,03) et du noyau caudé (-15%, p=0,004) et un hypermétabolisme de la substance blanche du cervelet (+16%, p=0,001). Ces modifications métaboliques induites par le SE apparaissent à J8. Il persiste également un hypermétabolisme de la substance noire dans le groupe SE-Rap par rapport au groupe T (+14%, p=0,02). Toutefois, les modifications métaboliques induites par le SE à J2 dans les autres régions cérébrales reviennent à l'état basal à J8.

Dans le groupe SE-Rap, la substance blanche du cervelet corrige son hypermétabolisme par rapport au groupe SE (-7%, p=0,05) et rejoint les valeurs du groupe T. La Rapamycine diminue le métabolisme observé dans l'amygdale par rapport au groupe SE (-10%, p=0,03) (figure 4, 5). Dans le groupe SE-Rap, on remarque une tendance à la correction de l'hypométabolisme induit par le SE dans le hile (+8%, p> 0,05) et de l'hypermétabolisme dans la substance noire (-4%, p> 0,05) et le colliculus interne (-8%, p> 0,05) (figure 4). Cependant, on observe également une augmentation non significative du métabolisme du groupe SE-Rap par rapport aux deux autres dans le cortex piriforme (+14% SE-Rap vs SE,

$p > 0,05$; +8% SE-Rap vs T, $p > 0,05$) et significative par rapport au groupe T l'hypothalamus (+6,5%, $p > 0,05$ SE-rap vs T ; +25%, $p = 0,002$).

Sept jours après le début de l'état de mal, la Rapamycine atténue les modifications métaboliques induites par l'état de mal dans la substance blanche cérébelleuse et l'amygdale.

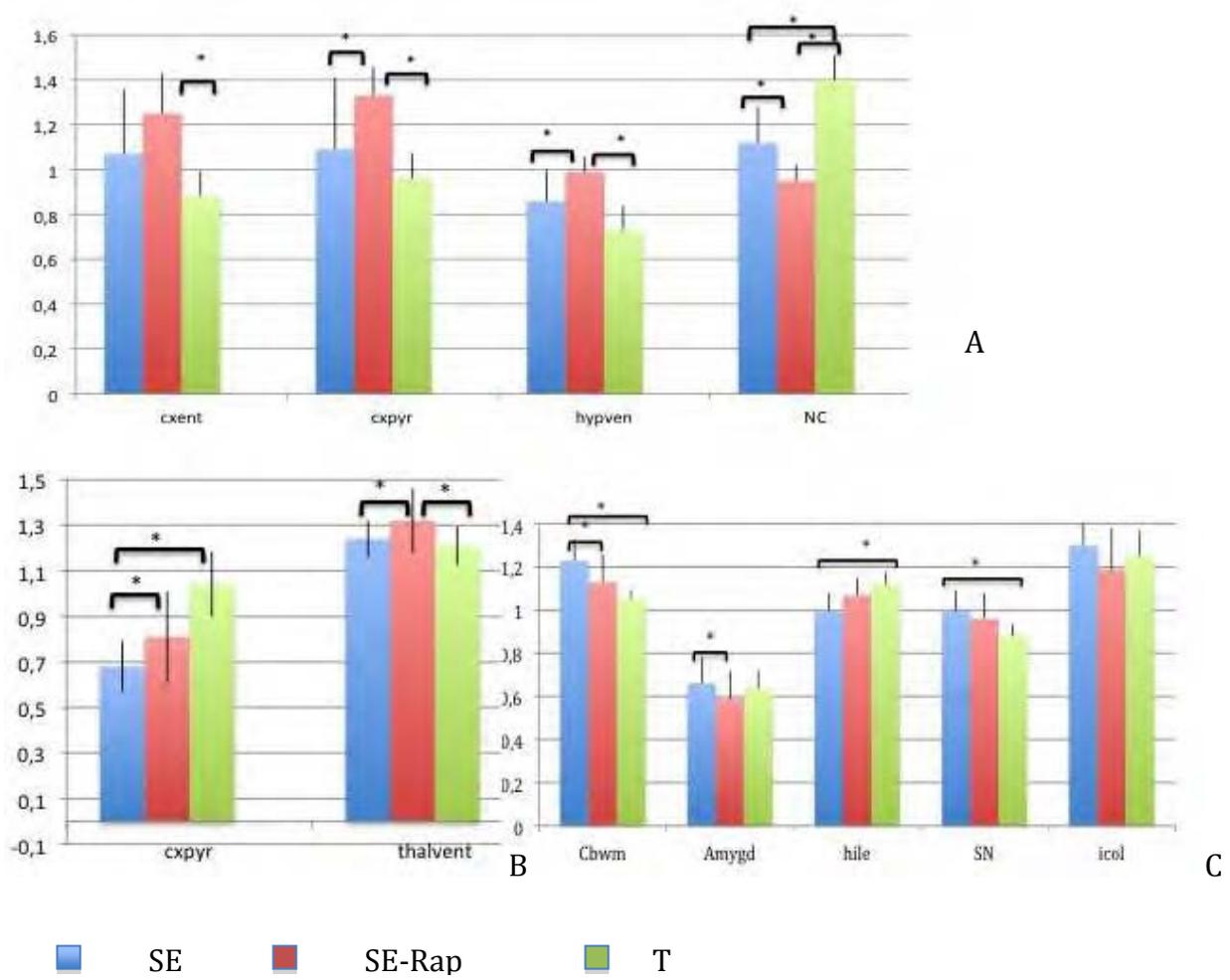


Figure 4 : Graphique représentant les valeurs des moyennes des rapports SUV des ROIs analysés / ROI global pour les 3 groupes aux temps : A : H4 ; B : J2 ; C : J8 ; * : $p < 0,05$ selon test non paramétrique de Kruskal-Wallis

amygd : amygdale ; cbwm : substance blanche cérébelleuse ; cxent : cortex entorhinal ; cxpir : cortex piriforme ; hypven : hypothalamus ventral ; icol : colliculus interne ; NC : noyau caudé ; thalvent : thalamus ventral ; SN : substance noire

A J0 : Hypermétabolisme du cortex pyriforme, hypothalamus ventral et cortex entorhinal dans le groupe SE-Rap par rapport au groupe SE; majoration hypométabolisme du noyau caudé dans le groupe SE-Rap par rapport aux deux autres

A J2 : correction de l'hypométabolisme dans le groupe SE-Rap par rapport au groupe SE et majoration de l'hypermétabolisme dans le groupe SE-Rap par rapport aux deux autres.

A J8 : correction de l'hypermétabolisme induit par le SE dans le groupe SE-Rap au niveau de la substance blanche cérébelleuse. Hypométabolisme des amygdales du groupe SE-Rap par rapport au groupe SE. Tendance à la correction des modifications induites par le SE dans le hile, la substance noire et le colliculus.

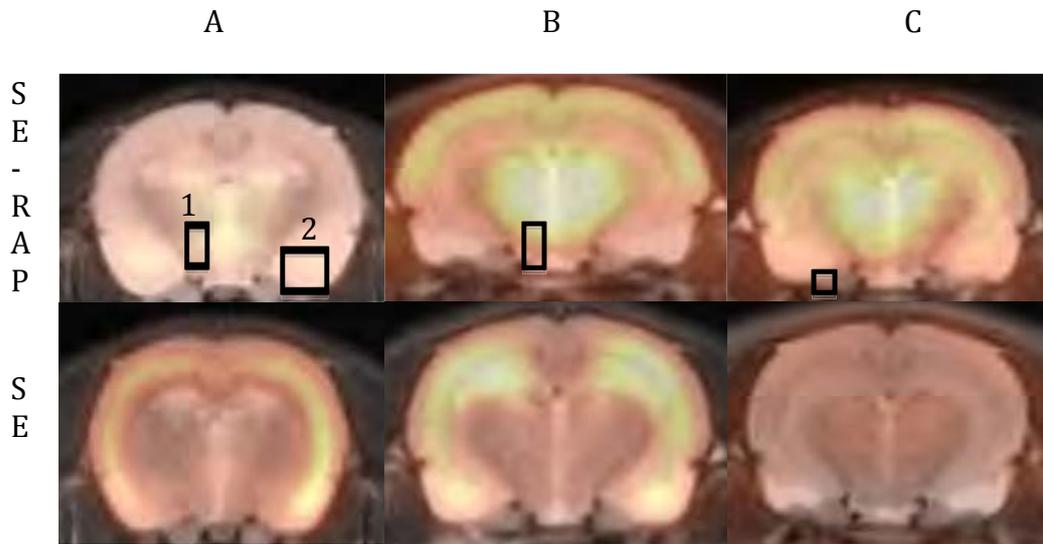


Figure 5: Coupes cérébrales frontales de cerveau de rat au microTEP au FDG dans le groupe pilocarpine-Rapamycine et pilocarpine seul. Le rapport de la valeur de SUV du ROI analysé/ ROI global est calculé.

A : A H4 hypermétabolisme de la région hypothalamique (1) et du cortex piriforme (2) dans le groupe SE-Rap par rapport au groupe SE.

B : A J2 hypermétabolisme de la région thalamique dans le groupe SE-Rap par rapport au groupe SE

C : A J8 hypométabolisme de la région amygdalienne dans le groupe SE-Rap par rapport au groupe SE

Nous montrons que la modulation par la Rapamycine du métabolisme cérébral du glucose après un état de mal évolue en deux temps. Aux temps le plus précoce H4, les hypo ou hypermétabolismes locaux sont accentués par la Rapamycine. En revanche dès J2 alors que les animaux sont toujours en état de mal, ainsi qu’au début de la phase de latence à J8 les hypo comme les hyper métabolismes locaux sont atténués par la Rapamycine.

G. Résultats histologiques

Les rats traités par Rapamycine après SE ont significativement une plus grande densité de neurones par unité de surface que le groupe SE dans la région thalamique ($\times 7,9$; $p= 0,003$).

Pour toutes les autres régions, nous ne mettons pas en évidence de diminution significative de la perte neuronale dans le groupe traité par Rapamycine (figure 6).

La Rapamycine montre un effet neuroprotecteur dans le thalamus après un état de mal

	Rap	Rap -	p
CA1	11,58680107	9,496065023	0,3
CA3	7,187414959	3,672012906	0,3
cxpiri	11,59983308	10,19928372	0,82
cxentor	14,22277147	12,59593988	0,83
hile	30,06162417	25,87038572	0,56
hypoth	13,45870161	14,67197995	0,6
thal	14,96439434	1,898570292	0,003

Figure 6 : Tableau illustrant la moyenne des taux de neurone/ unité de surface dans les régions hippocampiques, thalamiques, hypothalamiques, cortex entorhinal et cortex piriforme. Analyse statistique selon le test non paramétrique de Kruskal Wallis

Nécrose neuronale thalamique significativement inférieure dans le groupe traité par Rapamycine. Tendence à une diminution de la nécrose neuronale dans le groupe traité par Rapamycine sauf pour la région hypothalamique.

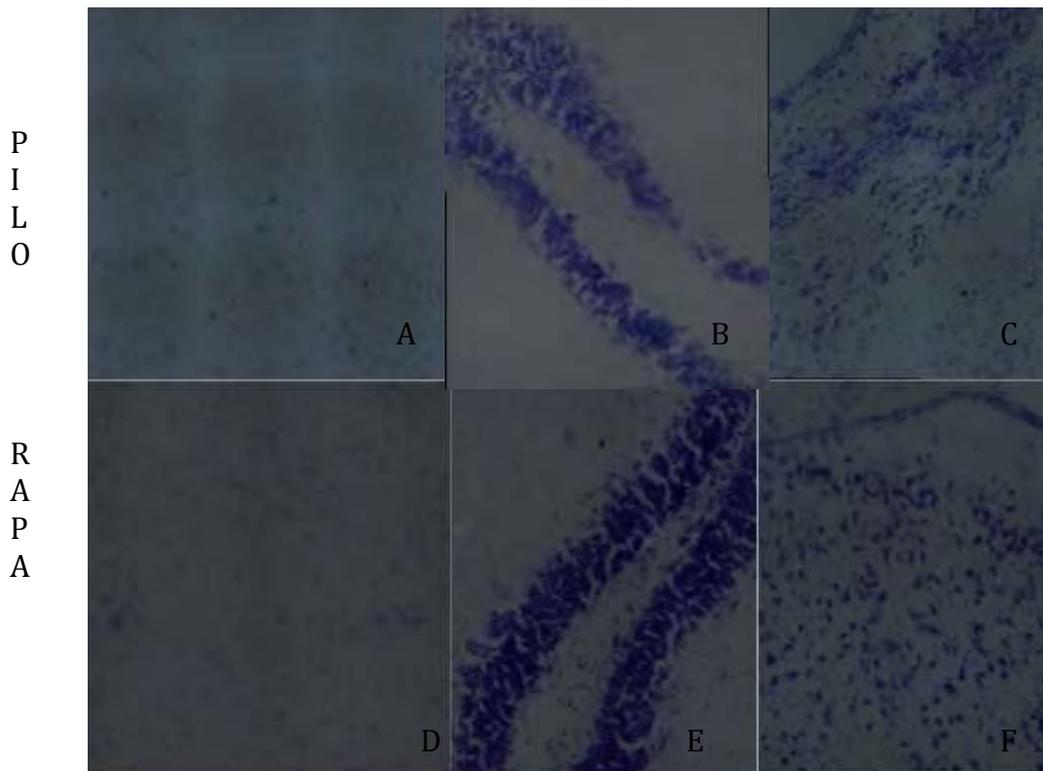


Figure 7 : Coupes histologiques de cerveau de rat après coloration à la thionine dans le groupe lithium-pilocarpine et lithium-pilocarpine/ Rapamycine. Neurons de la région thalamique (A,D), du hile (B,E), et du cortex piriforme (C,F), significativement plus nombreux dans le groupe Rapamycine

V. DISCUSSION

A. La mortalité

La mortalité dans nos animaux est inférieure à celle observée dans d'autres études, qui est de l'ordre de 55% (34,38) pouvant s'expliquer par des posologies de pilocarpine supérieures aux nôtres (25 mg/kg vs 30 mg/kg).

La mortalité était identique dans les deux groupes soumis à un état de mal. Elle est directement due à l'état de mal ou plus tardivement à la conséquence d'une perte de poids importante, secondaire à une déshydratation et aux difficultés des animaux à se nourrir malgré le nursing. La Rapamycine a un effet négatif sur l'anabolisme en général et ceci a été retrouvé dans un autre modèle d'épilepsie chronique (52). On observe pourtant une tendance à une perte moins sévère dans le groupe SE-Rap. Nous formulons l'hypothèse que ceci s'explique par une meilleure autonomie alimentaire chez ces animaux que nous avons observée au laboratoire sans avoir de critère mesurable pour l'évaluer.

B. Modifications métaboliques induites par le SE

A H4 nos résultats rejoignent ceux de Fernandes et al. qui avait mis en évidence un hypermétabolisme des structures limbiques, des cortex parahippocampiques, de ganglions de la base et du thalamus. qui sont corrélées avec des lésions neuronales à 3 semaines post-SE (39).

A J2, l'hypométabolisme des cortex parahippocampiques que nous montrons est conforme aux données de précédentes études (34,38,74). L'hypermétabolisme de l'hypothalamus, de la substance noire, du cortex cérébelleux et du colliculus n'est pas rapporté par ces auteurs ; cependant dans ces études l'état de mal était plus court car stoppé par une administration d'une dose efficace de valium à H1 et H2 respectivement ce qui pourrait expliquer des modifications métaboliques moindres. L'atteinte du cortex cérébelleux s'expliquerait par son rôle dans la propagation des crises issues du système limbique (75).

A J8, nos résultats rejoignent ceux de Dubé et al., qui s'était en particulier intéressée à la phase silencieuse. Les zones en hypométabolisme correspondent à des zones-clefs du

circuit épileptogène, siège d'une perte neuronale importante, tandis que les zones en hypermétabolisme ne sont pas le siège d'une dégénérescence neuronale. Ces dernières seraient impliquées dans des phénomènes de neuroprotection (76). La corrélation entre hypométabolisme hippocampique à la phase de latence et la perte neuronale est également retrouvée par d'autres auteurs (77). Par ailleurs, le métabolisme des autres régions (cortex parahippocampique, hypothalamus, colliculus) précédemment mis en cause à J2 semble revenir progressivement à la normale. Cette observation rejoint l'étude de Lee et al. qui rapportent une normalisation transitoire suivie d'un nouvel hypométabolisme 4 semaines post-SE.

C. Epileptogenèse et neuroprotection

Notre étude montre l'absence d'effet anti-épileptogène démontré lorsque la Rapamycine est administrée par voie gastrique précocement après un état de mal. Il a été montré que la voie mTOR au niveau des neurones de l'hippocampe est activée en deux phases, précocement après l'état de mal et plus tardivement lors de la survenue de crises récurrentes spontanées. Par marquage de la phosphorylation de la protéine S6K, il a été également montré qu'un pré-traitement par Rapamycine (avant le déclenchement du SE) bloque la première phase d'activation, ce qui n'est pas le cas en post-traitement à H24 (55) et ce qui est concordant avec l'échec de la stratégie de neuroprotection proposée. Pourtant nos résultats montrent que la Rapamycine majore l'hypermétabolisme induit par le SE au niveau des cortex parahippocampiques et hypothalamus au temps précoce H4. Dans une étude antérieure, Fernandes et al., ont montré une corrélation positive entre hypermétabolisme précoce (H+1) et lésions neuronales à J6 post SE chez le rat adulte (39). Or dans notre étude la majoration de l'hypermétabolisme n'est pas corrélée à une nécrose neuronale plus importante à J60, puisqu'on observe plutôt une tendance à la préservation de la densité neuronale. On ne dispose pas de données étudiant les lésions histologiques à la phase aigue chez des animaux traités par Rapamycine. Tout au moins, notre étude montre l'impact de la modulation de la voie mTOR sur les conséquences métaboliques du SE. On peut émettre l'hypothèse d'une activation d'autres phénomènes cellulaires impliquant un besoin énergétique accru après injection de Rapamycine lors d'un état de mal, ces mêmes phénomènes pouvant sous-tendre un mécanisme de neuroprotection.

De la même manière, la Rapamycine tend à être bénéfique dans le cortex piriforme à J2. Nos résultats d'imagerie à J8 sont également en faveur d'un effet protecteur de l'inhibition de

la voie mTOR. En effet, à J8 on observe une tendance à la normalisation de l'hypométabolisme du hile qui d'après Zhang et al. correspond à une perte neuronale diminuée, ce qui est en accord avec nos résultats histologiques à J60. Concernant la correction de l'hypermétabolisme de la substance blanche cérébelleuse dans le groupe Rapamycine et la tendance à la correction dans la substance noire et le colliculus interne, il pourrait s'agir d'un effet protecteur indirect de la Rapamycine selon les résultats de Dubé et al. précédemment cités.

Nos résultats histologiques rejoignent les résultats d'autres études (55, 76). Il semble que les 3 jours de traitements post SE aient limité la perte neuronale lors de la phase silencieuse et de la phase chronique. Il persiste donc un effet à moyen terme à l'arrêt du traitement. Toutefois, l'effet neuroprotecteur aurait pu être renforcé en cas de prolongation du traitement à la phase silencieuse, car il a été montré que l'effet de la Rapamycine est réversible à trois semaines de l'arrêt (56). D'autres études ont également montré un effet de la Rapamycine sur le blocage de la dégénérescence des fibres moussues du gyrus denté de l'hippocampe (55, 77, 78) ainsi que de sur la dispersion des cellules granulaires (79), ce qui concourt au rôle neuroprotecteur.

Concernant l'épileptogénèse, les deux groupes d'animaux, traités et non traités, sont strictement identiques sur le critère d'apparition des crises d'épilepsie spontanées sous réserve du faible effectif des animaux dans notre étude. La Rapamycine n'est ni aggravante ni protectrice.

Bien que nous n'ayons filmé les animaux qu'en journée de 8h à 20h pour déterminer la présence de SRS, ce résultat semble valide. En effet, il semblerait que les crises spontanées soient plutôt diurnes (31).

Dans d'autres modèles d'épilepsie induite chez l'animal, l'effet anti-épileptogène de la Rapamycine est variable selon le protocole utilisé et l'espèce animale. Dans un modèle d'épilepsie induit par acide kainique, deux groupes de rats ont été comparés à un groupe témoin : le premier groupe recevait de la Rapamycine les 3 jours précédent le SE puis à partir de J1 (i) et le deuxième groupe seulement à partir de H24 (ii). Les rats étaient traités jusqu'à leur décès, à la dose de 6 mg/kg/j, soit plus longtemps et à des posologies plus élevées que les nôtres. L'effet anti-épileptogénique se caractérisait par un allongement du délai d'apparition des SRS mais uniquement dans le groupe (i), expliqué par le blocage de la voie mTOR à la phase précoce. En effet, seul 37 % des rats du groupe Rapamycine ont présenté des crises durant les 7 premières semaines d'enregistrement contre 100 % pour le groupe post-traitement (55).

Huang et al. ont également administré la Rapamycine en pré-traitement et ont montré un allongement du temps de latence des SRS mais non significatif via la réduction de la phosphorylation de la protéine S6K dans l'hippocampe et les cortex para-hippocampiques quelques heures après le SE (56).

Si l'on s'intéresse aux études initiant la Rapamycine en post SE, deux études ont mis en évidence un effet anti-épileptogénique de la Rapamycine pour une administration avant H+1, l'un portant sur un modèle d'épilepsie post-accident vasculaire cérébrale ischémique (81) et l'autre sur un modèle d'épilepsie absence (82). Le délai d'administration de la Rapamycine semble donc être important dans la stratégie anti-épileptogénique et nos résultats pourraient être expliqués par une inhibition trop tardive de la voie mTOR. Cette hypothèse rejoint Shima et al. qui montre que l'administration de Rapamycine à H+5, ne suffit pas à bloquer l'épileptogénèse quand bien même il existe une action neuroprotectrice (79). De même, d'autres études ont montré l'absence d'efficacité anti-épileptogénique d'un traitement délivré au delà de H24 du SE et ce, malgré la baisse de la perte neuronale, du sprouting des fibres moussues ainsi que de la formation de synapses excitatrices (80,83). Ces données rejoignent nos résultats.

Le rôle de la voie mTOR dans l'épileptogénèse est donc encore imparfaitement compris (84). Malgré plusieurs effets neuroprotecteurs de la Rapamycine démontrés, les résultats anti-épileptogéniques sont inconstants et paraissent dépendre du délai d'administration du traitement. On peut donc suggérer que l'éventuelle efficacité de la Rapamycine sur l'épileptogénèse soit liée à d'autres processus nécessitant une inhibition précoce tels que le blocage de la formation d'autres connexions synaptiques hyperexcitables aberrantes, l'externalisation du glutamate (85), ou encore la régulation de l'autophagie (86). La piste de la régulation de l'autophagie est une donnée assez récente qui peut s'expliquer par le maintien de connexions axonales aberrantes (84). Enfin la régulation de la réaction inflammatoire est probablement également une cible d'action de la Rapamycine (82). L'inefficacité anti-épileptogénique du traitement a conduit Shima et al. à remettre en question le rôle premier de l'activation de la voie mTOR dans l'épileptogénèse. Ils avancent ainsi par leur étude l'hypothèse que cette activation n'est que la conséquence d'une hyperexcitabilité neuronale en montrant une inhibition de la voie mTOR suite à l'injection de midazolam à 3 semaines du SE.

L'effet anti-épileptique reste l'impact le plus fréquemment retrouvé dans les essais pré-cliniques (48, 53, 55, 80, 85) via une action sur l'expression de récepteurs aux neurotransmetteurs et des canaux ioniques voltage-dépendants (48, 53, 86). Nous n'avons pas étudié l'action de la Rapamycine sur la fréquence des crises. Il est envisageable que nos résultats histologiques aient permis une réduction de la répétition des crises.

Nous soutenons l'hypothèse que le délai d'administration de la Rapamycine est très probablement crucial dans la stratégie anti-épileptogénique. Cependant, la discussion d'un pré-traitement est intéressante dans les essais pré-cliniques pour mieux comprendre la physiopathologie de l'activation de la voie mTOR, sans toutefois avoir d'intérêt chez l'Homme, car un SE est de déclenchement imprévisible. Ainsi, l'administration de Rapamycine dès le début de l'état de mal, avant H+1, mérite d'être envisagée comme stratégie neuroprotectrice et anti-épileptogénique dans le modèle lithium-pilocarpine chez le rat. Par ailleurs, afin d'augmenter la rapidité d'action de la Rapamycine, le mode d'administration pourrait être modifié au profit d'une voie intra-péritonéale.

D. PERSPECTIVES DE L'INHIBITION DE LA VOIE mTOR CHEZ L'HOMME DANS L'ÉPILEPSIE

A ce jour, l'étude de la Rapamycine dans des modèles d'épilepsie induite n'est pas encore suffisamment développée chez l'animal pour être adaptée à des essais cliniques chez l'Homme.

Un des modèles génétiques d'activation de la voie mTOR est la sclérose tubéreuse de Bourneville (STB). Cette maladie est liée à une mutation autosomique dominante du gène TSC1 ou TSC2. Son expressivité est très variable et sa pénétrance de l'ordre de 95%. Elle est responsable cliniquement sur le plan neurologique d'une épilepsie (80 à 90%), de difficulté d'apprentissages (50%) voire d'un retard mental (30%). Des lésions cérébrales à type de tubers corticaux, nodules sous-épendymaires ou astrocytomes sous-épendymaire à cellules géantes (SEGA) à risque d'hydrocéphalie sont présentes jusque chez 95% des patients. Cette pathologie touche d'autres organes : le cœur, les reins, la peau et les phanères, le poumon, la rétine et le foie (89). L'épilepsie débute souvent dans l'enfance et est pharmacorésistante dans 2/3 des cas (90). Elle est secondaire d'une part à la présence des tubers corticaux. En effet, ces dysplasies corticales sont le siège d'anomalies cytologiques tels que la présence de cellules « ballons » qui pourraient favoriser l'externalisation du glutamate et donc majorer le

potentiel excitateur. On retrouve également des neurones cytomégales pyramidaux qui affichent une surrégulation des canaux ioniques sodium-dépendants et donc une hyperexcitabilité. D'autre part, la voie mTOR impacte directement l'épileptogenèse via la régulation des neurotransmetteurs, des connexions axonales et des canaux ioniques (41,46,49).

Un essai pré-clinique a montré un effet antiépileptogénique de la Rapamycine dans un modèle murin de STB. Le traitement était administré à J14 de vie, avant l'apparition de crises et permettait une inhibition de l'épileptogenèse chez tous les animaux à 17 semaines de vie (91). Ils ont mis en évidence une inhibition de la réduction des transporteurs du glutamate dans les astrocytes, ainsi que de l'astroglie et de la réorganisation neuronale hippocampique. Dans cette même étude, l'autre schéma d'administration après l'apparition des crises a montré une réduction importante de la fréquence des crises et des anomalies électriques interictales.

Chez l'Homme, l'Everolimus (un autre inhibiteur de la voie mTOR) a été testé dans un essai clinique de phase III chez des patients atteints d'une STB et présentant des SEGA de plus de 1 cm de diamètre avec une croissance de plus de 25 % et/ou une nouvelle lésion de type SEGA > 1 cm associé à une hydrocéphalie récente ou s'aggravant (35). Il n'a pas été montré de différence significative concernant l'action antiépileptique. La baisse de fréquence des crises concernait les deux groupes. Cependant les groupes étaient inégaux avec significativement plus de crise par 24h dans le groupe témoin (11 vs 5,9/ 24H). De plus, ce critère était peu discriminant car du fait du faible nombre de patients épileptiques dans les deux groupes (environ 30 %), il n'y a pas eu de stratification en fonction de la sévérité de l'épilepsie.

D'autres auteurs ont pu mettre en évidence un effet anti-épileptique de l'inhibition de la voie mTOR. Zou et al. ont ainsi observé une réduction moyenne de plus de 96% de la fréquence des crises (92) chez des enfants traités entre 24 et 96 semaines. Krueger et al. ont montré quant à eux une réduction de la fréquence des crises chez 56 % des patients durant les 6 mois de traitement (58). Enfin Car et al. ont traité 13 enfants atteints d'une STB par Sirolimus ou Everolimus et il apparaît que tous les enfants présentaient une réduction des crises avec une baisse de plus de 50% dans 71% des cas (93).

Ces 3 études ont parallèlement montré une réduction de plus de 50% de la taille des SEGA chez 32 à 71% des patients.

Une étude clinique de phase III de plus grand effectif (EXIST 3) est en cours de publication. L'impact de l'inhibition de la voie mTOR sur l'épileptogenèse dans la STB y sera étudiée.

Les effets secondaires principaux d'un traitement par Everolimus ou Sirolimus à court et moyen terme sont peu sévères et consistent en des ulcérations buccales (32%), des stomatites (31%), des infections respiratoires hautes (18%) et basses (10%), hyperthermie (22%) et dyslipidémie (21%)(35,93). Aucun patient n'a arrêté le traitement du fait d'une mauvaise tolérance. Peu d'études ont analysé les effets à long terme de l'inhibition de la voie mTOR. L'une d'elle dont le suivi médian est de 5,7 ans a confirmé le risque d'infection sévère bactérienne (38,7%) ou virale (12,9%), d'anémie (19,4%), de leucopénie/ thrombopénie (3,2%), d'ulcération buccale (16,1%) et de lymphocèle (6,5%) (94). Par ailleurs, du fait de ses propriétés immunosuppressives, il serait attendu une augmentation du risque de cancer viro-induit. Toutefois, contrairement à d'autres immunosuppresseurs, la Rapamycine diminuerait ce risque de par son action anti-proliférative, anti-tumorale et anti-angiogénique (95). A ce jour, elle en donc un traitement de choix dans la prévention du rejet de greffe rénale.

L'inhibition de la voie mTOR est une cible thérapeutique potentielle anti-épileptogénique dans la STB. Le mode d'activation de la voie dans le STB est différent de celui de la mELT, qui pour le second est sous-tendu par une agression cérébrale de type SE, ce qui pourrait expliquer une différence d'impact anti-épileptogénique entre ces deux pathologies.

VI. CONCLUSION

Nous reproduisons dans notre étude le profil évolutif caractéristique du métabolisme cérébral local du glucose dans les structures clés de l'épileptogénèse, structures hippocampiques et para-hippocampiques, après un état de mal induit par lithium-pilocarpine.

Nous ne montrons pas d'incidence du traitement par Rapamycine sur l'épileptogénèse. En revanche nos résultats confirment l'implication de la voie mTOR après un état de mal épileptique. La modulation de cette voie métabolique par la Rapamycine entraîne au temps le plus précoce une accentuation des modifications du métabolisme cérébral structural local du glucose induit par un état de mal épileptique, qui contraste avec un effet atténuateur dès le deuxième jour confirmé à J8. L'effet neuroprotecteur s'observe également à J60 par une baisse de la perte neuronale dans le thalamus.

Bien qu'il s'agisse d'une voie de signalisation clef après un état de mal épileptique, la voie mTOR doit d'abord être mieux comprise en particulier dans sa cinétique d'activation avant d'envisager sa modulation pharmacologique chez l'Homme dans un objectif antiépileptogénique et de neuroprotection.

BIBLIOGRAPHIE

1. Wong M. Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Pathways in Neurological Diseases. *Biomed J [Internet]*. 2013 [cité 30 juill 2014];36(2).
2. Bell GS, Sander JW. The epidemiology of epilepsy: the size of the problem. *Seizure J Br Epilepsy Assoc*. juin 2001;10(4):306-14; quiz 315-6.
3. Kotsopoulos IAW, Van Merode T, Kessels FGH, De Krom MCTFM, Knottnerus JA. Systematic Review and Meta-analysis of Incidence Studies of Epilepsy and Unprovoked Seizures. *Epilepsia*. 2002;43(11):1402-9.
4. Semah F, Picot MC, Adam C, Broglin D, Arzimanoglou A, Bazin B, et al. Is the underlying cause of epilepsy a major prognostic factor for recurrence? *Neurology*. nov 1998;51(5):1256-62.
5. Manford M, Hart YM, Sander JW, Shorvon SD. The National General Practice Study of Epilepsy. The syndromic classification of the International League Against Epilepsy applied to epilepsy in a general population. *Arch Neurol*. août 1992;49(8):801-8.
6. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, Van Emde Boas W, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. *Epilepsia*. 2010;51(4):676-85.
7. Berg AT. The natural history of mesial temporal lobe epilepsy. *Curr Opin Neurol*. avr 2008;21(2):173-8.
8. French JA, Williamson PD, Thadani VM, Darcey TM, Mattson RH, Spencer SS, et al. Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann Neurol*. déc 1993;34(6):774-80.
9. Berg AT, Vickrey BG, Testa FM, Levy SR, Shinnar S, DiMario F, et al. How long does it take for epilepsy to become intractable? A prospective investigation. *Ann Neurol*. juill 2006;60(1):73-9.
10. Epilepsy C by H-GW for the IC on N of. Mesial Temporal Lobe Epilepsy with Hippocampal Sclerosis. *Epilepsia*. 2004;45(6):695-714.
11. Cavalheiro EA. The pilocarpine model of epilepsy. *Ital J Neurol Sci*. mars 1995;16(1-2):33-7.
12. Malmgren K, Thom M. Hippocampal sclerosis—Origins and imaging. *Epilepsia*. 2012;53:19-33.
13. Bernhardt BC, Hong S, Bernasconi A, Bernasconi N. Imaging structural and functional brain networks in temporal lobe epilepsy. *Front Hum Neurosci [Internet]*. 1 oct 2013 [cité 24 janv 2014];7. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3787804/>
14. Biagini G, D'Antuono M, Benini R, de Guzman P, Longo D, Avoli M. Perirhinal cortex and temporal lobe epilepsy. *Front Cell Neurosci*. 2013;7:130.

15. Lhatoo SD, Johnson AL, Goodridge DM, MacDonald BK, Sander JW, Shorvon SD. Mortality in epilepsy in the first 11 to 14 years after diagnosis: multivariate analysis of a long-term, prospective, population-based cohort. *Ann Neurol.* mars 2001;49(3):336-44.
16. Dham BS, Hunter K, Rincon F. The Epidemiology of Status Epilepticus in the United States. *Neurocrit Care.* 12 févr 2014;
17. Dlugos DJ, Sammel MD, Strom BL, Farrar JT. Response to first drug trial predicts outcome in childhood temporal lobe epilepsy. *Neurology.* 26 déc 2001;57(12):2259-64.
18. Josephson CB, Pohlmann-Eden B. The « Natural » History of Medically Treated Temporal Lobe Epilepsy: What Can an Evidence-Based Approach Tell Us? *Epilepsy Res Treat* [Internet]. 2012 [cité 3 mars 2014];2012. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3420534/>
19. Sawrie SM, Martin RC, Knowlton R, Faught E, Gilliam F, Kuzniecky R. Relationships among hippocampal volumetry, proton magnetic resonance spectroscopy, and verbal memory in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* nov 2001;42(11):1403-7.
20. Baxendale SA, Van Paesschen W, Thompson PJ, Duncan JS, Harkness WF, Shorvon SD. Hippocampal cell loss and gliosis: relationship to preoperative and postoperative memory function. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol.* janv 1998;11(1):12-21.
21. Szemere E, Jokeit H. Quality of life is social--towards an improvement of social abilities in patients with epilepsy. *Seizure.* mars 2015;26:12-21.
22. Bronen RA, Cheung G, Charles JT, Kim JH, Spencer DD, Spencer SS, et al. Imaging findings in hippocampal sclerosis: correlation with pathology. *AJNR Am J Neuroradiol.* oct 1991;12(5):933-40.
23. Briellmann RS, Kalnins RM, Berkovic SF, Jackson GD. Hippocampal pathology in refractory temporal lobe epilepsy: T2-weighted signal change reflects dentate gliosis. *Neurology.* 22 janv 2002;58(2):265-71.
24. Spooner CG, Berkovic SF, Mitchell LA, Wrennall JA, Harvey AS. New-onset temporal lobe epilepsy in children: lesion on MRI predicts poor seizure outcome. *Neurology.* 26 déc 2006;67(12):2147-53.
25. Chassoux F, Semah F, Bouilleret V, Landre E, Devaux B, Turak B, et al. Metabolic changes and electro-clinical patterns in mesio-temporal lobe epilepsy: a correlative study. *Brain J Neurol.* janv 2004;127(Pt 1):164-74.
26. Willmann O, Wennberg R, May T, Woermann FG, Pohlmann-Eden B. The contribution of 18F-FDG PET in preoperative epilepsy surgery evaluation for patients with temporal lobe epilepsy: A meta-analysis. *Seizure.* sept 2007;16(6):509-20.
27. Joo EY, Seo DW, Hong S-C, Hong SB. Functional neuroimaging findings in patients with lateral and mesio-lateral temporal lobe epilepsy; FDG-PET and ictal SPECT studies. *J Neurol.* mai 2015;262(5):1120-9.

28. Turski WA, Cavalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SJ, Kleinrok Z, Turski L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav Brain Res.* sept 1983;9(3):315-35.
29. Dubé C, Boyet S, Marescaux C, Nehlig A. Relationship between neuronal loss and interictal glucose metabolism during the chronic phase of the lithium-pilocarpine model of epilepsy in the immature and adult rat. *Exp Neurol.* févr 2001;167(2):227-41.
30. Morrison JM Jr, Pritchard HD, Braude MC, D'Aguanno W. Plasma and brain lithium levels after lithium carbonate and lithium chloride administration by different routes in rats. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N.* juill 1971;137(3):889-92.
31. Curia G, Longo D, Biagini G, Jones RSG, Avoli M. The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci Methods.* 30 juill 2008;172(2):143-57.
32. Cruickshank JW, Brudzynski SM, McLachlan RS. Involvement of M1 muscarinic receptors in the initiation of cholinergically induced epileptic seizures in the rat brain. *Brain Res.* 18 avr 1994;643(1-2):125-9.
33. Lüttjohann A, Fabene PF, van Luijtelaar G. A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats. *Physiol Behav.* 7 déc 2009;98(5):579-86.
34. Lee EM, Park GY, Im KC, Kim ST, Woo C-W, Chung JH, et al. Changes in glucose metabolism and metabolites during the epileptogenic process in the lithium-pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsia.* 2012;53(5):860-9.
35. Franz DN, Belousova E, Sparagana S, Bebin EM, Frost M, Kuperman R, et al. Efficacy and safety of everolimus for subependymal giant cell astrocytomas associated with tuberous sclerosis complex (EXIST-1): a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *The Lancet.* 18 janv 2013;381(9861):125-32.
36. Biagini G, Baldelli E, Longo D, Pradelli L, Zini I, Rogawski MA, et al. Endogenous neurosteroids modulate epileptogenesis in a model of temporal lobe epilepsy. *Exp Neurol.* oct 2006;201(2):519-24.
37. Tauck DL, Nadler JV. Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* avr 1985;5(4):1016-22.
38. Goffin K, Paesschen WV, Dupont P, Laere KV. Longitudinal microPET imaging of brain glucose metabolism in rat lithium-pilocarpine model of epilepsy. *Exp Neurol.* mai 2009;217(1):205-9.
39. Fernandes MJ, Dubé C, Boyet S, Marescaux C, Nehlig A. Correlation between hypermetabolism and neuronal damage during status epilepticus induced by lithium and pilocarpine in immature and adult rats. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* févr 1999;19(2):195-209.
40. Roch C, Leroy C, Nehlig A, Namer IJ. Magnetic Resonance Imaging in the Study of the Lithium-Pilocarpine Model of Temporal Lobe Epilepsy in Adult Rats. *Epilepsia.* 2002;43(4):325-35.

41. Lipton JO, Sahin M. The Neurology of mTOR. *Neuron*. 22 oct 2014;84(2):275-91.
42. Zinzalla V, Stracka D, Oppliger W, Hall MN. Activation of mTORC2 by association with the ribosome. *Cell*. 4 mars 2011;144(5):757-68.
43. Hentges KE, Sirry B, Gingeras AC, Sarbassov D, Sonenberg N, Sabatini D, et al. FRAP/mTOR is required for proliferation and patterning during embryonic development in the mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 20 nov 2001;98(24):13796-801.
44. Kassai H, Sugaya Y, Noda S, Nakao K, Maeda T, Kano M, et al. Selective activation of mTORC1 signaling recapitulates microcephaly, tuberous sclerosis, and neurodegenerative diseases. *Cell Rep*. 12 juin 2014;7(5):1626-39.
45. Kwon C-H, Luikart BW, Powell CM, Zhou J, Matheny SA, Zhang W, et al. Pten regulates neuronal arborization and social interaction in mice. *Neuron*. 4 mai 2006;50(3):377-88.
46. Brewster AL, Lugo JN, Patil VV, Lee WL, Qian Y, Vanegas F, et al. Rapamycin Reverses Status Epilepticus-Induced Memory Deficits and Dendritic Damage. *PLoS ONE* [Internet]. 11 mars 2013 [cité 5 févr 2014];8(3). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3594232/>
47. Lebrun-Julien F, Bachmann L, Norrmén C, Trötz Müller M, Köfeler H, Rüegg MA, et al. Balanced mTORC1 Activity in Oligodendrocytes Is Required for Accurate CNS Myelination. *J Neurosci*. 18 juin 2014;34(25):8432-48.
48. Wang Y, Barbaro MF, Baraban SC. A role for the mTOR pathway in surface expression of AMPA receptors. *Neurosci Lett*. 19 juin 2006;401(1-2):35-9.
49. Li N, Lee B, Liu R-J, Banasr M, Dwyer JM, Iwata M, et al. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science*. 20 août 2010;329(5994):959-64.
50. Wu X, Kihara T, Akaike A, Niidome T, Sugimoto H. PI3K/Akt/mTOR signaling regulates glutamate transporter 1 in astrocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 12 mars 2010;393(3):514-8.
51. Ehninger D, Han S, Shilyansky C, Zhou Y, Li W, Kwiatkowski DJ, et al. Reversal of learning deficits in a *Tsc2*^{+/-} mouse model of tuberous sclerosis. *Nat Med*. août 2008;14(8):843-8.
52. Raffo E, Coppola A, Ono T, Briggs SW, Galanopoulou AS. A pulse rapamycin therapy for infantile spasms and associated cognitive decline. *Neurobiol Dis*. août 2011;43(2):322-9.
53. Ruegg S, Baybis M, Juul H, Dichter M, Crino PB. Effects of Rapamycin on Gene expression, Morphology, and Electrophysiological Properties of Rat Hippocampal Neurons. *Epilepsy Res*. déc 2007;77(2-3):85-92.
54. Macias M, Blazejczyk M, Kazmierska P, Caban B, Skalecka A, Tarkowski B, et al. Spatiotemporal Characterization of mTOR Kinase Activity Following Kainic Acid Induced Status Epilepticus and Analysis of Rat Brain Response to Chronic Rapamycin Treatment. *PLoS ONE* [Internet]. 28 mai 2013 [cité 20 janv 2014];8(5). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3665782/>

55. Zeng L-H, Rensing NR, Wong M. The Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Signaling Pathway Mediates Epileptogenesis in A Model of Temporal Lobe Epilepsy. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 27 mai 2009;29(21):6964-72.
56. Huang X, Zhang H, Yang J, Wu J, McMahon J, Lin Y, et al. Pharmacological inhibition of the mammalian target of rapamycin pathway suppresses acquired epilepsy. *Neurobiol Dis*. oct 2010;40(1):193-9.
57. Sosunov AA, Wu X, McGovern RA, Coughlin DG, Mikell CB, Goodman RR, et al. The mTOR pathway is activated in glial cells in mesial temporal sclerosis. *Epilepsia*. 2012;53:78-86.
58. Krueger DA, Care MM, Holland K, Agricola K, Tudor C, Mangeshkar P, et al. Everolimus for subependymal giant-cell astrocytomas in tuberous sclerosis. *N Engl J Med*. 4 nov 2010;363(19):1801-11.
59. Franz DN. Everolimus in the treatment of subependymal giant cell astrocytomas, angiomyolipomas, and pulmonary and skin lesions associated with tuberous sclerosis complex. *Biol Targets Ther*. 2013;7:211-21.
60. Erlich S, Alexandrovich A, Shohami E, Pinkas-Kramarski R. Rapamycin is a neuroprotective treatment for traumatic brain injury. *Neurobiol Dis*. avr 2007;26(1):86-93.
61. Huang X, McMahon J, Huang Y. Rapamycin attenuates aggressive behavior in a rat model of pilocarpine-induced epilepsy. *Neuroscience*. 26 juill 2012;215:90-7.
62. Gao L, Xia L, Zhao F-L, Li S-C. Clinical efficacy and safety of the newer antiepileptic drugs as adjunctive treatment in adults with refractory partial-onset epilepsy: A meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Epilepsy Res*. janv 2013;103(1):31-44.
63. Gouveia TLF, Scorza FA, Iha HA, Frangiotti MIB, Perosa SR, Cavalheiro EA, et al. Lovastatin decreases the synthesis of inflammatory mediators during epileptogenesis in the hippocampus of rats submitted to pilocarpine-induced epilepsy. *Epilepsy Behav EB*. 21 mai 2014;36C:68-73.
64. Marchi N, Granata T, Freri E, Ciusani E, Ragona F, Puvenna V, et al. Efficacy of Anti-Inflammatory Therapy in a Model of Acute Seizures and in a Population of Pediatric Drug Resistant Epileptics. *PLoS ONE [Internet]*. 28 mars 2011 [cité 3 avr 2014];6(3). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3065475/>
65. Kwon YS, Pineda E, Auvin S, Shin D, Mazarati A, Sankar R. Neuroprotective and antiepileptogenic effects of combination of anti-inflammatory drugs in the immature brain. *J Neuroinflammation*. 26 févr 2013;10:30.
66. François J, Germe K, Ferrandon A, Koning E, Nehlig A. Carisbamate has powerful disease-modifying effects in the lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Neuropharmacology*. août 2011;61(1-2):313-28.
67. Rossi AR, Angelo MF, Villarreal A, Lukin J, Ramos AJ. Gabapentin Administration Reduces Reactive Gliosis and Neurodegeneration after Pilocarpine-Induced Status Epilepticus. *PLoS ONE [Internet]*. 8 nov 2013 [cité 3 avr 2014];8(11). Disponible sur:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3826740/>

68. Nagarkatti N, Deshpande LS, Carter DS, DeLorenzo RJ. Dantrolene inhibits the calcium plateau and prevents the development of spontaneous recurrent epileptiform discharges following in vitro status epilepticus. *Eur J Neurosci.* juill 2010;32(1):80-8.
69. Linard B, Ferrandon A, Koning E, Nehlig A, Raffo E. Ketogenic diet exhibits neuroprotective effects in hippocampus but fails to prevent epileptogenesis in the lithium-pilocarpine model of mesial temporal lobe epilepsy in adult rats. *Epilepsia.* sept 2010;51(9):1829-36.
70. Hirsch E, Baram TZ, Snead OC. Ontogenic study of lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Brain Res.* 26 juin 1992;583(1-2):120-6.
71. Persinger MA, Makarec K, Bradley JC. Characteristics of limbic seizures evoked by peripheral injections of lithium and pilocarpine. *Physiol Behav.* 1988;44(1):27-37.
72. Henry TR, Mazziotta JC, Engel J Jr. Interictal metabolic anatomy of mesial temporal lobe epilepsy. *Arch Neurol.* juin 1993;50(6):582-9.
73. Morita ME, Yasuda CL, Betting LE, Pacagnella D, Conz L, Barbosa PH, et al. MRI and EEG as long-term seizure outcome predictors in familial mesial temporal lobe epilepsy. *Neurology.* 11 déc 2012;79(24):2349-54.
74. Shiha AA, de Cristóbal J, Delgado M, Fernández de la Rosa R, Bascuñana P, Pozo MA, et al. Subacute administration of fluoxetine prevents short-term brain hypometabolism and reduces brain damage markers induced by the lithium-pilocarpine model of epilepsy in rats. *Brain Res Bull.* févr 2015;111:36-47.
75. Paz C, Gutiérrez-Baeza F, Bazán-Perkins B. Transection of the superior cerebellar peduncle interferes with the onset and duration of generalized seizures induced by amygdaloid kindling. *Brain Res.* 30 août 1991;558(1):90-2.
76. Dubé C, Boyet S, Marescaux C, Nehlig A. Progressive Metabolic Changes Underlying the Chronic Reorganization of Brain Circuits during the Silent Phase of the Lithium-Pilocarpine Model of Epilepsy in the Immature and Adult Rat. *Exp Neurol.* mars 2000;162(1):146-57.
77. Zhang L, Guo Y, Hu H, Wang J, Liu Z, Gao F. FDG-PET and NeuN-GFAP immunohistochemistry of hippocampus at different phases of the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Int J Med Sci.* 2015;12(3):288-94.
78. Xu C, Liu C, Liu L, Zhang R, Zhang H, Chen S, et al. Rapamycin prevents cadmium-induced neuronal cell death via targeting both mTORC1 and mTORC2 pathways. *Neuropharmacology.* 19 mai 2015;
79. Shima A, Nitta N, Suzuki F, Laharie A-M, Nozaki K, Depaulis A. Activation of mTOR signaling pathway is secondary to neuronal excitability in a mouse model of mesio-temporal lobe epilepsy. *Eur J Neurosci.* 1 avr 2015;41(7):976-88.
80. Heng K, Haney MM, Buckmaster PS. High-dose rapamycin blocks mossy fiber sprouting but not seizures in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.*

2013;54(9):1535-41.

81. Guo D, Zeng L, Brody DL, Wong M. Rapamycin Attenuates the Development of Posttraumatic Epilepsy in a Mouse Model of Traumatic Brain Injury. *PLoS ONE* [Internet]. 14 mai 2013 [cité 2 avr 2014];8(5). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3653881/>
82. Russo E, Citraro R, Donato G, Camastra C, Iuliano R, Cuzzocrea S, et al. mTOR inhibition modulates epileptogenesis, seizures and depressive behavior in a genetic rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology*. juin 2013;69:25-36.
83. Yamawaki R, Thind K, Buckmaster PS. Blockade of excitatory synaptogenesis with proximal dendrites of dentate granule cells following rapamycin treatment in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *J Comp Neurol*. 1 févr 2015;523(2):281-97.
84. Ostendorf AP, Wong M. mTOR inhibition in epilepsy: rationale and clinical perspectives. *CNS Drugs*. févr 2015;29(2):91-9.
85. Abdijadid S, Mathern GW, Levine MS, Cepeda C. Basic Mechanisms of Epileptogenesis in Pediatric Cortical Dysplasia. *CNS Neurosci Ther*. 1 févr 2015;21(2):92-103.
86. McMahon J, Huang X, Yang J, Komatsu M, Yue Z, Qian J, et al. Impaired autophagy in neurons after disinhibition of mammalian target of rapamycin and its contribution to epileptogenesis. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 7 nov 2012;32(45):15704-14.
87. Galanopoulou AS, Gorter JA, Cepeda C. Finding a better drug for epilepsy: The mTOR pathway as an antiepileptogenic target. *Epilepsia*. 2012;53(7):1119-30.
88. Huang CC-Y, Ko ML, Ko GY-P. A new functional role for mechanistic/mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) in the circadian regulation of L-type voltage-gated calcium channels in avian cone photoreceptors. *PloS One*. 2013;8(8):e73315.
89. Samuelli S, Abraham K, Dressler A, Groeppel G, Jonak C, Muehlechner A, et al. Tuberous Sclerosis Complex: new criteria for diagnostic work-up and management. *Wien Klin Wochenschr*. 10 avr 2015;
90. Saxena A, Sampson JR. Epilepsy in Tuberous Sclerosis: Phenotypes, Mechanisms, and Treatments. *Semin Neurol*. juin 2015;35(3):269-76.
91. Zeng L-H, Xu L, Gutmann DH, Wong M. Rapamycin prevents epilepsy in a mouse model of tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol*. 2008;63(4):444-53.
92. Zou L, Liu Y, Pang L, Ju J, Shi Z, Zhang J, et al. [Efficacy and safety of rapamycin in treatment of children with epilepsy complicated with tuberous sclerosis]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi Chin J Pediatr*. nov 2014;52(11):812-6.
93. Cardamone M, Flanagan D, Mowat D, Kennedy SE, Chopra M, Lawson JA. Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors for Intractable Epilepsy and Subependymal Giant Cell Astrocytomas in Tuberous Sclerosis Complex. *J Pediatr*. mai 2014;164(5):1195-200.
94. Kranz B, Wingen A-M, Vester U, König J, Hoyer PF. Long-term side effects of treatment

with mTOR inhibitors in children after renal transplantation. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* août 2013;28(8):1293-8.

95. Wong G, Chapman JR. Cancers after renal transplantation. *Transplant Rev. avr* 2008;22(2):141-9.
96. <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2014

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

L'épilepsie mésiale du lobe temporal est l'épilepsie la plus pharmacorésistante.

L'histoire naturelle, reproduite par le modèle lithium-pilocarpine chez le rat, débute par un état de mal épileptique à la suite duquel se met en place un phénomène de restructuration histologique touchant les régions hippocampique et para-hippocampique, à l'origine d'un néocircuit hyperexcitable qui induit alors des crises spontanées récurrentes.

La voie mTOR est un complexe protéique intracellulaire qui régule la synaptogenèse, la plasticité cérébrale, l'inflammation et prolifération de la glie cérébrale. Cette voie est activée à différentes phases de la mELT.

L'objectif de cette étude pré-clinique est d'évaluer l'impact de l'inhibition de la voie mTOR par la Rapamycine sur l'épileptogenèse et la neuroprotection dans le modèle lithium-pilocarpine chez le rat.

Pour cette étude, 44 rats adultes ont été divisés en 3 groupes : SE-Rapamycine (i), SE (ii) et Témoins lithium (iii). La Rapamycine a été administré à 3 temps par voie per os : H+2 à 6 mg/kg/j , puis J1 et J2 à 3 mg/kg/j. Le traitement a été évalué par l'étude des modifications métaboliques en tomographie par émission de positons au 2-[¹⁸F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose à H4, J2 et J8 (1), la recherche de crises spontanées dès J8 (2) et enfin le comptage de neurones dans les régions d'intérêts après sacrifice à J60 (3).

A H4, notre étude montre une majoration par la Rapamycine des conséquences sur le métabolisme cérébral local du glucose après un état de mal lithium-pilocarpine chez le rat adulte suivi d'un effet atténuateur dès le deuxième jour confirmé à J8. L'impact neuroprotecteur est confirmé à J60 avec notamment une perte neuronale dans le thalamus 7 fois inférieure dans le groupe SE-Rap. Nous ne montrons toutefois pas d'incidence du traitement par Rapamycine sur l'épileptogenèse.

Nos résultats et ceux de précédentes études suggèrent d'évaluer l'administration de Rapamycine avant H+1 de l'état de mal, ainsi que de prolonger le traitement durant toute la phase silencieuse d'épileptogenèse.

TITRE EN ANGLAIS

Consequences of mTOR inhibition on epileptogenesis and neuroprotection in lithium-pilocarpine model of epilepsy in rats

THÈSE : MÉDECINE SPÉCIALISÉE – ANNÉE 2015

MOTS CLEFS

Modèle lithium-pilocarpine ; Rapamycine ; microTEP-FDG ; épileptogenèse ; neuroprotection

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Faculté de Médecine de Nancy

9, avenue de la Forêt de Haye

54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex
