

Université de Sherbrooke

Facteurs de risque de la non-réponse à l'*Acide Valproïque* chez les enfants  
atteints d'épilepsie généralisée avec absences.

Par : May Lissa Ollivier  
Programme des sciences cliniques

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé  
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.) en  
Sciences cliniques

Mai 2009

© May Lissa Ollivier, 2009



Library and Archives  
Canada

Published Heritage  
Branch

395 Wellington Street  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

Bibliothèque et  
Archives Canada

Direction du  
Patrimoine de l'édition

395, rue Wellington  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

*Your file Votre référence*

*ISBN: 978-0-494-88879-7*

*Our file Notre référence*

*ISBN: 978-0-494-88879-7*

#### NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

#### AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

---

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.

Canada

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Les facteurs de risque de la non-réponse à l'*Acide Valproïque* chez les enfants atteints d'épilepsie généralisée avec absences.

Par : May Lissa Ollivier  
Programme des sciences cliniques

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.) en Sciences cliniques

Mai 2009

Évaluateurs :

Marie France Dubois (co-directrice), programme des sciences cliniques.  
Département des sciences de la santé communautaire, Université de Sherbrooke.

Lionel Carmant (co-directeur), centre de recherche et service de neurologie, CHU Sainte Justine.

Maja Krajinovic (co-directrice), centre de recherche, CHU Sainte Justine.

Sylvie Lafrenaye (évaluatrice interne), programme des sciences cliniques.  
Département de pédiatrie, Université de Sherbrooke.

Charles Deacon (évaluateur externe). Département de médecine, service de neurologie, CHU Sherbrooke.

# Table des matières

LISTE DES TABLEAUX ET DES ILLUSTRATIONS .....	II
CHAPITRE 1. PROBLÉMATIQUE .....	1
1.1 QU'EST CE QUE L'ÉPILEPSIE ? .....	1
1.2 QU'EST CE QUE L'EIGA ? .....	4
1.3 QUELS SONT LES TRAITEMENTS POSSIBLES ? .....	5
1.4 L'ACIDE VALPROÏQUE DANS LE TRAITEMENT DE L'EIGA .....	7
CHAPITRE 2. RECENSION DES ÉCRITS .....	10
2.1 LES FACTEURS ASSOCIÉS À L'ÉPILEPSIE RÉFRACTAIRE .....	10
2.2 L'INFLUENCE DES FACTEURS GÉNÉTIQUES DANS LA RÉPONSE AUX MÉDICAMENTS .....	15
2.3 L'INFLUENCE DE L'ETHNIE SUR LES FACTEURS GÉNÉTIQUES .....	18
2.4 CONSTATS .....	19
CHAPITRE 3. OBJECTIFS DE RECHERCHE .....	21
CHAPITRE 4. MÉTHODOLOGIE .....	22
4.1 DISPOSITIF PRIVILÉGIÉ .....	22
4.2 DÉFINITION DE LA POPULATION VISÉE ET DE LA POPULATION ÉCHANTILLONNÉE .....	22
4.3 CRITÈRES D'INCLUSION ET D'EXCLUSION .....	23
4.4 ÉCHANTILLONNAGE ET RECRUTEMENT .....	24
4.5 VARIABLES .....	26
4.6 MÉTHODE DE COLLECTE DES DONNÉES .....	28
4.7 ANALYSE DES DONNÉES .....	30
4.8 TAILLE DE L'ÉCHANTILLON .....	31
4.9 ASPECTS ÉTHIQUES .....	32
CHAPITRE 5. RÉSULTATS DE L'ÉTUDE DES FACTEURS SOCIODÉMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES .....	34
ARTICLE : RISK FACTORS FOR VALPROIC ACID RESISTANCE IN CHILDHOOD ABSENCE EPILEPSY (SOUMIS AU JOURNAL SEIZURE) .....	34
5.1 Avant propos .....	34
5.2 Résumé de l'article .....	34
5.3 Article .....	36
CHAPITRE 6. RÉSULTATS GÉNÉTIQUES .....	64
6.1 COMPOSITION DE L'ÉCHANTILLON .....	64
6.2 GÉNOTYPAGE .....	65
6.3 INFLUENCE DU GÉNOTYPE SUR LA RÉPONSE AUX TRAITEMENTS ALTERNATIFS .....	69
CHAPITRE 7. DISCUSSION .....	71
7.1 DISCUSSION DES RÉSULTATS CLINIQUES .....	71
7.2 DISCUSSION DES RÉSULTATS GÉNÉTIQUES .....	75
7.3 FORCES ET LIMITES DE L'ENSEMBLE DE L'ÉTUDE .....	78
CHAPITRE 8. CONCLUSION .....	84
REMERCIEMENTS .....	85
BIBLIOGRAPHIE .....	86
ANNEXE 1 .....	97
ANNEXE 2 .....	106

## Liste des tableaux et des illustrations

<b>FIGURE 1</b>	Classification des crises épileptiques.....	3
<b>TABLEAU I</b>	Critères d'inclusion.....	22
<b>TABLEAU II</b>	Critères d'exclusion.....	23
<b>TABLEAU III</b>	Détails pour les PCRs et ASOs pour chaque polymorphisme testé.....	29
<b>FIGURE 2</b>	Pourcentage de rémission selon l'âge au début des crises.....	75
<b>ARTICLE</b>		
<b>TABLE 1</b>	Univariate comparison of categorical variables between responders and non-responders.....	57
<b>TABLE 2</b>	Influence of time factors on response to VPA .....	58
<b>TABLE 3</b>	Multivariable logistic regression analysis results for response to VPA.....	59
<b>TABLE 4</b>	Clinical variables linked to long term seizure freedom.....	60
<b>TABLE 5</b>	Alternative treatments in patients who did not respond to VPA.....	61
<b>FIGURE 1</b>	Outcome of the patients included in the study.....	62
<b>TABLEAU IV</b>	Comparaisons entre les répondants et les non-répondants.....	64
<b>TABLEAU V</b>	Fréquences des génotypes des CYP2C9 et CYP2C19 présents dans chaque groupe.....	65
<b>TABLEAU VI</b>	Lien entre polymorphismes et concentrations sanguines en fonction de la réponse à l'AV.....	66
<b>TABLEAU VII</b>	Modèle de régression logistique multiple.....	67
<b>TABLEAU VIII</b>	Réponse aux autres anti-épileptiques chez les patients présentant le CYP2C19*2 et qui n'ont pas répondu à l'AV.....	69
<b>TABLEAU IX</b>	Comparaison des deux sous-échantillons du projet.....	74

## Liste des sigles, abréviations et symboles

**AE** : Agent Anti-épileptique

**AER** : Absences épileptiques réfractaires

**ANOVA** : Analyse de la variance

**ASO** : hybridation avec oligonucléotides spécifiques pour des allèles (allele specific oligonucleotide hybridization)

**AV** : *Acide Valproïque*

**CBZ** : *Carbamazépine*

**CHUM** : Centre Hospitalier Universitaire de Montréal

**CHUS** : Centre Hospitalier Universitaire de Sherbrooke

**CHUSJ** : Centre Hospitalier Universitaire Sainte-Justine de Montréal

**CYP** : Cytochrome P450

**DSP** : Direction des services professionnels

**EEG** : Electroencéphalogramme

**EIGA** : Épilepsie idiopathique généralisée avec absences

**ESM** : *Ethosuximide*

**GTCS** : Crise généralisée tonico-clonique

**IC<sub>95%</sub>** : Intervalle de confiance à 95 %

**ILAE** : Ligue internationale contre l'épilepsie

**LTG** : *Lamotrigine*

**NR** : Non-répondants

**OMS** : Organisation mondiale de la Santé

**OR** : Odds ratio ou rapport de cotes

**PCR** : Polymerase chain reaction

**PHT** : *Phénytoin*

**R** : Répondants

**TDA** : Trouble de déficit d'attention

**TDAH** : Trouble de déficit d'attention avec hyperactivité

**UGT** : Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase

## Résumé

## **Facteurs de risque de la non-réponse à l'Acide Valproïque chez les enfants atteints d'épilepsie généralisée avec absences.**

May Lissa Ollivier, Marie-France Dubois, Lionel Carmant & Maja Krajcinovic

**Introduction :** L'épilepsie idiopathique généralisée avec absences (EIGA) est une des formes les plus fréquentes d'épilepsie chez l'enfant. Elle survient chez les enfants exempts de maladie avec un pic d'incidence autour de 5 ans. Des statistiques mondiales indiquent que les crises d'absences sont contrôlées par l'Acide Valproïque (AV) chez 75 % des enfants. Pour les autres, la médication est inefficace ou elle entraîne des effets secondaires qui limitent son utilisation. Certaines études ont identifié des facteurs cliniques associés à l'épilepsie réfractaire mais elles incluent tous les types d'épilepsie et tous les traitements. De plus, un nombre croissant de recherches démontrent que la réponse aux médicaments pourrait être grandement influencée par des facteurs génétiques, plus particulièrement par les polymorphismes du cytochrome P450 (CYP). Il faudrait donc ajuster le traitement en fonction du profil génétique de chaque patient. Dans cette étude, nous avons voulu identifier des facteurs cliniques, sociodémographiques et génétiques qui pourraient influencer la réponse à l'AV chez des enfants diagnostiqués d'EIGA.

**Méthodes :** Nous avons tout d'abord identifié des patients diagnostiqués d'EIGA qui étaient suivis au CHU Sainte-Justine de Montréal et traités à l'AV pendant au moins deux mois. Par la suite, une même personne (MLO) a réalisé la revue de tous les dossiers médicaux afin d'extraire l'information concernant la réponse à l'AV et les données cliniques et sociodémographiques qui pourraient influencer celle-ci. Une collecte d'échantillons d'ADN des patients toujours suivi à la clinique a ensuite été effectuée afin d'évaluer l'impact de polymorphismes dans deux enzymes du CYP (CYP2C9 et CYP2C19) sur la réponse à l'AV chez ces patients. L'évaluation des polymorphismes s'est faite par hybridation avec oligonucléotides spécifiques pour des allèles (ASO). Des analyses bivariées ont été effectuées afin d'identifier toutes les variables qui différaient entre les répondants (R) et les non-répondants (NR) à l'AV. Par la suite, nous avons effectué une analyse de régression logistique afin d'éliminer les variables qui cessaient d'être significatives en présence des autres.

**Résultats :** Nous avons révisé 190 dossiers (112 R et 68 NR) pour l'analyse des facteurs cliniques et sociodémographiques. Trois variables étaient significativement différentes entre les deux groupes soit l'âge au diagnostic (R=7,55 ans vs NR=6,11 ans,  $p=0,001$ ), la présence de crises généralisées tonico-cloniques (R=13,4 % vs NR=33,8 %,  $p=0,001$ ) et finalement une fréquence élevée de crises avant le début du traitement (R=27,0 % vs NR=52,9 %,  $p<0,001$ ). Ces trois variables continuaient d'être significatives dans le modèle de régression logistique. Pour la partie génétique du projet, un échantillon d'ADN a été prélevé sur 83 patients (46 R et 37 NR). Les NR présentaient significativement plus de polymorphismes du CYP2C19 (43,2 % vs 17,4 %,  $p=0,010$ ) avec un rapport de cotes de 3,62. Lorsqu'on incluait ce polymorphisme dans le modèle de régression logistique, seuls l'âge au diagnostic et le polymorphisme du CYP2C19 demeuraient significatifs.

**Conclusions :** Dans cette étude, nous avons pu identifier certains facteurs cliniques et génétiques qui influencent la réponse à l'AV chez les enfants diagnostiqués d'EIGA. Les résultats montrent qu'il y a un certain profil de patient plus à risque de ne pas répondre au traitement. Donc, si un patient ne semble pas répondre à l'AV et qu'il présente ces facteurs, le neurologue devrait considérer un traitement alternatif plutôt que d'augmenter la dose d'AV et ainsi risquer l'augmentation des effets secondaires dus au traitement.

**Mots clés :** Absences épileptiques, Anti-convulsivants, Pharmacorésistance, Facteurs de risque, Cytochrome P450, Pharmacogénomique.

# Chapitre 1. Problématique

## 1.1 Qu'est ce que l'épilepsie ?

Le mot épilepsie provient du grec «epilepsia» qui signifie «attaque». Plus précisément, l'Organisation Mondiale de la Santé définit l'épilepsie comme étant un «trouble caractérisé par des dysfonctionnements cérébraux paroxystiques récurrents dus à des décharges neuronales brusques et excessives». La définition de vient rejoindre. D'après cette définition, s'il y a plus d'activation que d'inhibition des neurones cérébraux, il y aura manifestation sous forme de crise épileptique.

L'épilepsie est une maladie courante dont la **prévalence** mondiale serait de 8,2 personnes atteintes pour 1 000 personnes (Organisation mondiale de la Santé, 2001). Par contre, certaines études menées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans les pays en voie de développement suggèreraient une prévalence de plus de 10 pour 1 000. Au Canada, le taux de prévalence de l'épilepsie se situait à 6 pour 1 000 en 2006 (Épilepsie Canada, 2007). Toujours selon l'OMS, l'**incidence** annuelle mondiale de l'épilepsie se situerait quant à elle aux alentours de 50 pour 100 000 dans les pays développés et de 100 pour 100 000 dans les pays en voie de développement (Organisation mondiale de la Santé, 2001). Les risques plus grands d'infections cérébrales dans les pays en voie de développement (méningite, paludisme, ...) expliqueraient cet écart avec les pays développés. Au Canada, 15 500 nouveaux cas d'épilepsie sont diagnostiqués chaque année dont 75 à 80 % sont des enfants de moins de 18 ans (Épilepsie Canada, 2007).

Il existe plusieurs types de crises épileptiques (figure I). Les crises sont classées en deux grandes catégories : les crises partielles et les crises généralisées. Les

crises partielles prennent naissance dans une région précise du cerveau (comme le lobe temporal par exemple). Ce type de crise est subdivisé en deux classes qu'on nomme simple ou complexe. Lors de crises partielles simples, le patient garde conscience des évènements tandis qu'il perd entièrement conscience lors des crises partielles complexes. Les crises généralisées (deuxième grande catégorie) sont des crises qui font appel à toutes les régions du cerveau en même temps. Dans ces circonstances, le patient perd conscience. On compte quatre sous-types de crises généralisées : les crises tonico-cloniques, les crises toniques ou atoniques, les myoclonies et les absences. Les crises tonico-cloniques (aussi appelées «grand-mal») sont caractérisées par une raideur diffuse du corps suivi des mouvements saccadés. Lors des crises toniques ou atoniques, une chute soudaine est accompagnée soit par une raideur du corps (tonique) soit par une perte de la force musculaire (atonique). Les crises myocloniques se manifestent par des mouvements saccadés très rapides. Finalement, les absences (ou «petit-mal») sont les crises généralisées les plus difficilement reconnaissables car elles sont caractérisées par une perte de contact avec l'environnement et ne durent que quelques secondes tandis que les autres types de crises généralisées peuvent durer plusieurs minutes. Une crise épileptique peut débuter comme une crise partielle puis devenir généralisée si l'influx de la crise se propage à travers tout le cerveau. Il arrive que des patients aient plusieurs types de crises épileptiques mais, la plupart du temps, on classera le patient dans la catégorie de crise qui survient le plus souvent.

# Classification des crises

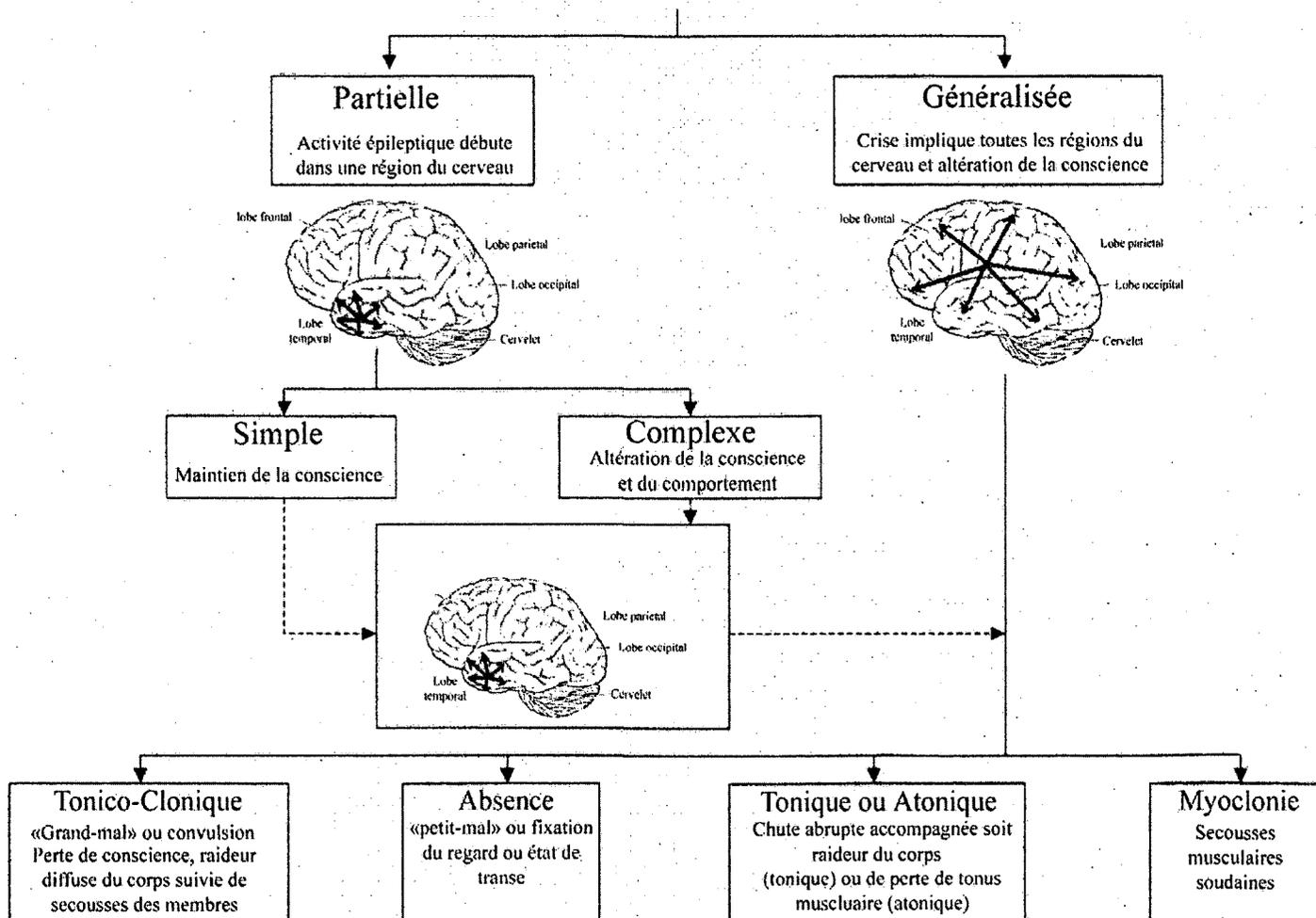


Figure 1. Classification des crises épileptiques

Les types de crises ne sont que les symptômes de l'épilepsie. Les types d'épilepsie peuvent être classés en trois grandes catégories selon leur cause. Il y a d'abord l'épilepsie idiopathique ce qui signifie que la cause est inconnue et n'affecte pas le développement de l'individu, ceci inclut la plupart des épilepsies génétiquement déterminées. Ensuite, l'épilepsie symptomatique englobe toutes les épilepsies qui ont pour origine une lésion au cerveau dont la cause est connue. Enfin, l'épilepsie cryptogénique qui réunit les épilepsies dont la cause est inconnue mais qui affecte le développement normal de l'individu. Plusieurs facteurs peuvent causer l'apparition de crises épileptiques. Par exemple, certaines crises surviennent à cause d'une tumeur cérébrale. Chez les nourrissons, les crises surviennent parfois lors de fortes poussées de fièvre ou encore après un traumatisme crânien. Une seule crise épileptique ne mènera pas forcément à un diagnostic d'épilepsie. La Ligue internationale contre l'épilepsie (ILAE) stipule qu'il faut au moins deux crises avant de poser un tel diagnostic (ILAE, 1989). Par contre, certains neurologues décideront quand même de traiter après la première crise afin d'éviter l'apparition de crises subséquentes.

## 1.2 Qu'est ce que l'EIGA ?

L'épilepsie idiopathique généralisée avec absences (EIGA), comme son nom l'indique, est un type d'épilepsie idiopathique qui est caractérisé par des absences qui sont un type de crises généralisées. Ce type d'épilepsie est l'une des formes les plus fréquentes d'épilepsie infantile et constitue 2 à 8 % de toutes les épilepsies et 10 à 15% de toutes les épilepsies infantiles (Hauser, 1994). Plusieurs groupes de recherche ont trouvé une histoire familiale d'épilepsie chez 14 à 44 % des patients (Covanis, Skiadas, Loli, Lada, & Theodorou, 1992; Crunelli & Leresche, 2002; Valentin et al.,

2007). Elle serait causée par une perturbation du réseau thalamo-cortical ce qui causerait une hyperexcitabilité des neurones (Avanzini, de Curtis, Franceschetti, Sancini, & Spreafico, 1996; Hamandi et al., 2006). Par contre, il faudrait un élément déclencheur externe (encore inconnu) pour développer des crises d'absences. Les crises d'absences peuvent être vues à l'électroencéphalogramme (EEG) et sont caractérisées par des pointes-ondes d'une fréquence de 3 Hz. Steriade et ses collaborateurs (Steriade & Amzica, 2003; Steriade, 2005) ont démontré que ces pointes-ondes proviennent des générateurs des oscillations du sommeil.

Les absences sont caractérisées par une perte de contact momentanée qui dure entre 3 et 10 secondes (McLean & Macdonald, 1986) et surviennent plusieurs fois par jour. Elles peuvent parfois être accompagnées de secousses musculaires (McLean & Macdonald, 1986) ou d'automatismes légers (Duron et al., 2005). Elles surviennent chez les enfants exempts de maladie, âgés de 3 à 8 ans avec un pic d'incidence autour de 5 à 7 ans (Crunelli & Leresche, 2002; Loiseau, Duche, & Pedespan, 1995). Cette forme d'épilepsie est un peu plus courante chez les filles que chez les garçons (Duncan, 1997; Loiseau et al., 1995). Bien que, pour la majorité des enfants, l'épilepsie évolue de façon bénigne, 10 à 30 % demeureront épileptiques à long terme (Olson, 2004).

### **1.3 Quels sont les traitements possibles ?**

En général, il existe plusieurs traitements possibles à l'épilepsie. Le neurologue commence toujours le traitement de l'épilepsie par un agent pharmacologique. Ce traitement ne guérit pas l'épilepsie mais en traite les symptômes. Il existe plusieurs types d'anti-convulsivants aussi appelés anti-épileptiques. Ils sont classés, selon leur

ordre de création, soit en médicament de première génération (le *Phénobarbital* ou *Phénytoïn* par exemple) ou de seconde génération (l'*Acide Valproïque*, les dérivés des molécules de première génération ...). Les mécanismes d'action de certains de ces agents sont connus mais, pour la majorité, ils restent encore inconnus même si certaines théories sont généralement acceptées. Chaque anti-épileptique convient pour le traitement d'un type de crises en particulier même si certains agents peuvent traiter plusieurs types de crises. Ces agents provoquent énormément d'effets secondaires qui limitent souvent leur utilisation. Dans la plupart des cas, le traitement médicamenteux devra être poursuivi pendant deux ans après l'arrêt complet des crises avant qu'on puisse penser au sevrage. Le traitement pharmacologique est généralement efficace dans environ 70 % des cas d'épilepsie (Organisation mondiale de la Santé, 2001).

Chez les patients pour lesquels le traitement médicamenteux échoue, certaines options alternatives peuvent être envisagées : la diète cétogène, le stimulateur du nerf vague ou la chirurgie. La diète cétogène est une diète riche en lipides et faible en glucides et protéines qui stimule la formation de corps cétogènes au cerveau et provoque un état de cétose générale. Ces corps cétogènes auraient des propriétés anticonvulsives mais leur mécanisme d'action n'a pas encore été démontré. Ce traitement peut être efficace mais a énormément d'effets secondaires sur la croissance de l'enfant ce qui nécessite un suivi plus particulier. Dans le cas du stimulateur du nerf vague, un petit dispositif est implanté sous la peau et est relié directement au nerf vague dans le cou. Le dispositif est programmé pour envoyer, à intervalle régulier, un faible signal électrique le long du nerf vague jusqu'au cerveau, pour prévenir les décharges électriques qui causent les crises.

## 1.4 L'Acide Valproïque dans le traitement de l'EIGA

L'Acide Valproïque (AV) est un des agents anti-épileptiques de choix dans le traitement de l'EIGA (Brodie & Dichter, 1996; Burneo & McLachlan, 2007; Genton & Bureau, 2006; Perucca, 2001). Par contre, l'ILAE écrit dans son guide sur le traitement des épilepsies qu'il ne serait pas plus efficace que l'Ethosuximide (ESM) ou le Lamotrigine (LTG) (Glauser et al., 2006).

L'AV est un agent de seconde génération, bien qu'il ait été synthétisé pour la première fois en 1882 par Burton, un chimiste américain, en tant que solvant organique (Burton, 1882). Ses propriétés anti-convulsives n'ont été découvertes que 80 ans plus tard en 1962, en France, par Meunier et ses collaborateurs (Meunier, Carraz, Meunier, Eymard, & Aimard, 1963). La première étude clinique sur l'AV comme agent médicamenteux pour combattre l'épilepsie s'effectua également en France en 1964 (Carraz, Fau, Chateau, & Bonnin, 1964; Lebreton, Carraz, Meunier, & Beriel, 1964) après qu'on ait démontré son efficacité sur des modèles animaux d'épilepsie (Meunier et al., 1963).

Jusqu'à maintenant, son mode d'action précis n'a pas encore été démontré mais certaines hypothèses sont acceptées dans la communauté scientifique. La première serait que l'AV augmente la synthèse et la relâche d'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA) dans certaines régions spécifiques du cerveau (Loscher, 1993; Loscher, 1999; Perucca, 2002). La seconde, que l'AV réduit la relâche d'acide  $\beta$ -hydroxybutyrique, un acide aminé excitateur, et atténue l'excitation neuronale modulée par l'activation de récepteurs du glutamate, les NMDA (N-méthyl-D-aspartate) (Perucca, 2002; Peterson & Naunton, 2005). La dernière, que l'AV agit directement sur les membranes excitables en bloquant les canaux calciques voltage-dépendants (Davies, 1995;

Loscher, 2002). Le large spectre d'activité de l'AV est possiblement lié à la combinaison de ces mécanismes d'action.

L'AV est administré par voie orale, une ou plusieurs fois par jour selon la dose, sous forme de capsules de 250 ou 500 mg ou sous forme de sirop (250 mg / 5 ml). La dose initiale recommandée est de 15 mg/kg/jour en augmentant de 5 à 10 mg/kg/jour chaque semaine jusqu'au contrôle des crises sauf si on observe une augmentation trop importante des effets secondaires. La dose maximale recommandée est de 60 mg/kg/jour. Si la dose journalière excède celle-ci, il est suggéré de la diviser en doses multiples (Perucca, 2002). Sa biodisponibilité orale est très bonne (95 à 100 %) (Buck, 1997; Perucca, 2002) avec un pic de concentration plasmiq ue entre 1 et 3 heures après son administration (Buck, 1997). L'AV est métabolisée principalement dans le foie par la beta-oxydation, la glucoronidation et par certains enzymes de la superfamille du cytochrome P450 (CYP) (Kiang et al., 2006; Perucca, 2002; Silva et al., 2008). Les CYP sont des enzymes retrouvés principalement dans le foie (Piper, 2004) mais également dans certains tissus extra-hépatiques (Glue & Clement, 1999; Krishna & Klotz, 1994) et qui sont responsables du métabolisme de plusieurs molécules endogènes et exogènes.

Ce médicament est généralement bien toléré par la plupart des patients (Buck, 1997). Aux doses recommandées, les effets secondaires sont légers : gain ou perte de poids (Biton, 2003; Buck, 1997; Perucca, 2002; Pijl & Meinders, 1996), éruptions cutanées (Buck, 1997), somnolence et étourdissements (Buck, 1997), diarrhées ou constipation (Perucca, 2002), tremblements (Perucca, 2002, nausée et vomissements (Buck, 1997; Perucca, 2002) ... Par contre, certains effets secondaires peuvent être sérieux et même mener à la mort du patient. L'effet secondaire idiosyncrasique qui mène le plus souvent à la mort est une hépatotoxicité sévère (Buck, 1997; Perucca,

2002; Peterson & Naunton, 2005) qui serait causée par une accumulation de 2,4-diene-valproate et/ou 4-ene-valproate (Anderson, 2002; Zaccara, Messori, & Moroni, 1988) et survient surtout chez les jeunes enfants.

Certaines études populationnelles ont démontré que l'AV contrôle les absences chez environ 75 % des enfants diagnostiqués d'EIGA (Duncan, 1997). Par contre, les autres 25 % continuent à avoir des absences malgré la prise d'AV par manque d'efficacité ou parce que les effets secondaires en limitent l'utilisation. Chez ces enfants, un deuxième ou troisième agent anti-épileptique devra être essayé, seul ou conjointement, pour contrôler adéquatement les crises d'absences. Finalement, si tous les traitements pharmacologiques échouent, il faudra envisager un traitement alternatif parmi ceux mentionnés ci-haut.

## Chapitre 2. Recension des écrits

### 2.1 Les facteurs associés à l'épilepsie réfractaire

Jusqu'ici, aucune étude portant sur la non-réponse à l'AV chez des enfants atteints d'EIGA et sur les facteurs qui pourraient prédire cette non-réponse au traitement n'a été réalisée. Par contre, d'autres études ont porté sur les facteurs qui pourraient mener à un diagnostic d'épilepsie réfractaire, c'est-à-dire à une épilepsie qui ne répond à aucun traitement.

Plusieurs études ont été menées sur les prédicteurs de l'épilepsie réfractaire en incluant tous les types d'épilepsie (Berg et al., 2001; Brodie, 2005; Hitiris & Brodie, 2005; Kwan & Brodie, 2000; Kwong, Sung, Wong, & So, 2003; MacDonald et al., 2000; Semah & Ryvlin, 2005). Les facteurs les plus fréquemment associés à une moins bonne réponse au traitement anti-épileptique sont : un plus jeune âge au début des crises (Berg et al., 2001; Camfield, Camfield, Gordon, & Dooley, 1997; Kwong et al., 2003; Nadler & Shevell, 2008), la présence de convulsions partielles simples ou complexes (Berg et al., 2001; Camfield et al., 1997; Kwong et al., 2003), une fréquence ou un nombre élevé de crises avant le début du traitement (Berg et al., 2001; Brodie, 2005; Hitiris & Brodie, 2005; Kwan & Brodie, 2000; Kwong et al., 2003; Wolf & Inoue, 1984) et enfin un diagnostic d'épilepsie symptomatique ou cryptogénique (Berg et al., 2001; Brodie, 2005; Kwong et al., 2003). Nous pouvons donc dire qu'à l'inverse, la présence d'épilepsie idiopathique, la présence de crises généralisées et une faible fréquence des crises avant le traitement sont des facteurs associés à une meilleure réponse au traitement. Malgré le fait que les patients qui présentent des crises généralisées aient un meilleur taux de réponse que les patients

qui présentent des crises partielles, ceux qui présentent des convulsions généralisées tonico-cloniques (GTCS) ou des myoclonies ont un taux de réponse encore plus faible que les patients qui présentent uniquement des absences (Wirrell, Camfield, Camfield, & Dooley, 2001; Wolf & Inoue, 1984). Les prédicteurs de la rémission de l'épilepsie sont sensiblement les mêmes que les prédicteurs de réponse au traitement énoncés précédemment. Mais, pour la rémission, un prédicteur additionnel est la réponse au premier traitement. Les patients qui répondent au premier traitement ont un plus haut taux de rémission comparativement à ceux qui n'y répondent pas (Brodie, 2005; Camfield et al., 1997; Wirrell et al., 2001). Par contre, la méthodologie utilisée pour ces études est très variée parce que les critères de diagnostic d'épilepsie ainsi que les traitements administrés ne sont pas les mêmes.

Dans son étude sur la signification de l'échec du premier traitement (tous types de médicaments confondus) chez les patients avec EIGA, Wirrell (Wirrell et al., 2001) analyse la proportion de patients qui ne répondent pas au premier traitement et qui subséquemment développent de l'épilepsie réfractaire. Cette étude comporte deux volets. Le premier concerne les facteurs qui prédisent la non-réponse au premier traitement et le deuxième évalue si l'échec du premier traitement influence les chances de rémission. Le premier traitement est généralement considéré comme étant la prise continue pendant une période minimale (généralement au moins 2 semaines) du premier agent anti-épileptique prescrit. L'étude inclut 75 patients diagnostiqués d'EIGA. Certaines informations cliniques telles que l'âge, le sexe et l'histoire familiale d'épilepsie ont été extraites des dossiers médicaux ou recueillies à partir d'un questionnaire postal. L'auteure n'a trouvé aucune corrélation entre le succès du premier traitement et les facteurs suivants: le sexe, l'âge au début de la maladie et du traitement, le statut de puberté au début des crises, le *status epilepticus* de type

absence, les complications périnatales, les difficultés cognitives, l'histoire familiale et les résultats de l'examen neurologique et de l'EEG. Soixante cinq pourcent (65 %) des patients ont eu une bonne réponse au premier traitement dont 15/20 de ceux qui ont été traité à l'AV (75 %). Par contre, la présence d'autres types de crises, telles que les convulsions tonico-cloniques généralisées (GTCS), était un prédicteur de la non-réponse au premier traitement. Seulement 36 % des patients présentant des GTCS ont eu une rémission complète comparativement à 70 % chez ceux sans GTCS. La rémission complète était plus présente chez les patients qui avaient bien répondu au premier traitement (69 %) comparativement à 41 % chez ceux pour lesquels le premier traitement avait échoué. Cette différence est statistiquement significative. Ce qui permet à l'auteure de conclure que les facteurs qui prédisent la réponse au premier traitement chez les patients qui présentent des absences sont : le type de médicament donné et la coexistence de GTCS ou de convulsions myocloniques.

L'étude de Wirrell comprend toutefois plusieurs faiblesses méthodologiques. D'abord, l'étude exclut les patients perdus au cours du suivi de 24 mois. Il est probable qu'il s'agit de ceux qui ont bien répondu au traitement et ne sont pas revenus pour le suivi. Ensuite, cette étude a été effectuée de façon rétrospective. L'équipe de recherche n'a pas décidé du moment de l'arrêt du traitement dû à une non-réponse. Le pourcentage de répondants au premier traitement est donc potentiellement plus élevé que celui observé car, si on avait continué le traitement pendant quelques semaines (ou mois) de plus, certains patients qui ont été classés comme non-répondants auraient possiblement répondu au premier traitement. De plus, l'auteure ne tient pas compte de l'observance. Une proportion de patients continue à avoir des crises alors qu'ils ne prennent pas ou peu de médicaments. Il est possible qu'avec une prise supplémentaire de médication, ils auraient pu atteindre une rémission ou du moins un arrêt des crises.

Enfin, tous les patients ne suivaient pas le même traitement et il est donc difficile de mettre tous les patients dans le même groupe car les proportions de réponses peuvent être différentes selon le traitement donné. Mentionnons finalement que cette étude utilisait uniquement la réponse au premier traitement pour prédire la progression en épilepsie réfractaire. Cette analyse est insuffisante car l'épilepsie réfractaire est un sujet complexe et que plusieurs facteurs doivent être pris en compte.

Dans son étude sur les facteurs pronostiques et l'évolution de l'EIGA, Grosso (Grosso et al., 2005) analyse certains facteurs cliniques qui pourraient influencer la rémission des patients atteints de ce type d'épilepsie. Les facteurs qu'il analyse comprennent entre autres l'âge, le sexe, l'histoire périnatale, le statut neurologique, l'âge au début des crises d'absences, le patron des absences avant l'initiation du traitement, le traitement anti-épileptique donné et les réponses aux divers traitements reçus. Son étude portait sur 119 enfants atteints d'EIGA. Ces enfants ont été divisés en deux groupes sur la base de critères diagnostiques. Les patients qui répondaient aux critères généraux de la Ligue internationale contre l'épilepsie (ILAE) (Engel, 2001) étaient placés dans le groupe 1 tandis que ceux qui répondaient aux critères diagnostiques plus stricts (selon Panayiotopoulos (Panayiotopoulos, 1997)) étaient placés dans le groupe 2. Le groupe 2 était plus homogène que le groupe 1 car, pour en faire partie, il fallait satisfaire à des critères diagnostiques très stricts. La proportion de patients qui pouvaient être considérés comme réfractaires était beaucoup plus grande dans le groupe 1 qu'au sein du second groupe. L'analyse de régression logistique n'a donc été effectuée que sur les patients du groupe 1. Quatre facteurs prédisaient le développement d'une épilepsie réfractaire dans ce groupe : l'occurrence de GTCS, la présence de secousses myocloniques, la présence de myoclonies des paupières ou péri-orales et la présence de caractéristiques atypiques d'EIGA à l'EEG. Ces facteurs

sont toutefois des facteurs d'exclusion de patients dans plusieurs autres études portant sur l'EIGA (Coppola, Auricchio, Federico, Carotenuto, & Pascotto, 2004; Wirrell et al., 2001). Cette méthode est questionnable. En effet, le laxisme dans les critères de sélection introduit la possibilité que les patients du groupe 1 aient un autre type d'épilepsie, masqué par les absences. Ceci peut donc influencer la réponse à un traitement qui est considéré comme approprié pour l'EIGA et non pour les autres types d'épilepsie. De plus, il existe d'autres facteurs qui auraient pu influencer la réponse au traitement. Par exemple, les convulsions fébriles (convulsions dues à une montée de fièvre dans l'enfance) pourraient être des prédicteurs de l'épilepsie réfractaire (Brodie, 2005; Panayiotopoulos, 2001; Panayiotopoulos, 2005) malgré que le lien entre la manifestation de convulsions fébriles et la progression en épilepsie ne soit pas très clair. Par contre, ces facteurs ne sont présents que chez la minorité des participants à cette étude. Il se peut donc qu'il n'y ait pas assez de puissance statistique pour que les relations soient statistiquement significatives. Ensuite, tous les patients n'ont pas été traités avec le même médicament. Il est donc difficile de déterminer si le patient est non-répondant à la médication donnée seulement parce que celle-ci n'était pas appropriée. Enfin, on ne retrouve pas d'information sur l'observance au traitement.

Une dernière étude canadienne publiée en 2008 par Nadler et Shevell (Kiang et al., 2006) portant sur des patients avec EIGA a également démontré une différence entre les patients bien traités en monothérapie par rapport à ceux nécessitant une polythérapie pour bien contrôler leurs crises d'absences. Ils ont observé que les patients nécessitant une polythérapie étaient plus souvent des mâles et étaient également plus jeunes au début des crises comparativement aux patients bien traités en monothérapie. Malheureusement cette étude ne comptait que neuf patients traités en polythérapie comparativement à 47 traités en monothérapie. La faible taille

d'échantillon du groupe traité en polythérapie limite donc la puissance statistique de cette étude.

## **2.2 L'influence des facteurs génétiques dans la réponse aux médicaments**

Les trois études présentées dans la section 2.1 proposent des facteurs cliniques qui pourraient affecter la non-réponse au traitement médicamenteux. Par contre, il y a une littérature de plus en plus abondante portant sur les facteurs génétiques qui peuvent influencer cette non-réponse. Il est maintenant connu que certaines mutations des enzymes du CYP peuvent altérer la réponse à diverses drogues telles les agents anti-tumoraux (Ansari & Krajinovic, 2007; Krajinovic & Moghrabi, 2004), les anti-coagulants (Linder et al., 2002; Samardzija et al., 2008) et même certains agents anti-convulsivants (Kerb et al., 2001; Odani et al., 1997; van der Weide, Steijns, van Weelden, & de Haan, 2001).

L'étude de Mamiya (Mamiya et al., 1998) traite l'effet de polymorphismes du CYP2C9 et du CYP2C19 (deux enzymes du cytochrome P450) sur le métabolisme du *phénytoïn* (un agent anti-épileptique) chez des patients japonais d'âge adulte. L'échantillon était composé de 134 patients séparés en 4 groupes selon la présence de polymorphismes. Le premier groupe comprenait 52 patients qui présentaient une forme courante (dont la fréquence est plus élevée) des deux enzymes. Par convention, cette forme est identifiée par le symbole \*1. Le bagage génétique d'un individu contient deux copies de chaque gène (chaque copie provenant d'un parent). Donc, si le patient possède deux copies de la forme courante, il sera considéré comme étant \*1/\*1. Nous pouvons donc dire que les 52 patients du groupe 1 avaient un profil génétique

\*1/\*1 pour CYP2C19. Le deuxième groupe était composé de 64 patients classés comme étant des métaboliseurs rapides car ils possédaient un polymorphisme du CYP2C19. Leur profil génétique était donc \*1/\*2 ou \*1/\*3. Le troisième groupe était composé de 15 patients présentant une mutation du CYP2C19 (\*2/\*2, \*3/\*3 et \*2/\*3) et étaient considérés comme métaboliseurs lents. Les faibles métaboliseurs (aussi appelés métaboliseurs lents) sont les personnes qui ont des polymorphismes qui affectent négativement l'activité de l'enzyme. Ce sont donc généralement des patients qui auront des effets indésirables graves dans le cas où la drogue doit être métabolisée pour son élimination ou bien ne répondront pas au traitement quand la drogue doit être transformée en molécule active afin d'agir sur sa cible thérapeutique (Piper, 2004). Le quatrième groupe, composé des patients qui avaient un polymorphisme du CYP2C9 (\*1/\*3) et un CYP2C19 de forme commune (\*1/\*1), n'avait uniquement trois patients. Les métabolismes du *phénytoïn* (PHT) entre les différents polymorphismes ont été comparés par une analyse de la variance (ANOVA) avec un niveau de confiance de 5 %. Les résultats de cette étude ont montré que les patients du groupe 4 atteignaient des concentrations sériques de PHT beaucoup plus rapidement que les autres. Les auteurs concluent que le métabolisme du PHT est affecté par les mutations du cytochrome P450 et plus particulièrement par les mutations du CYP2C9. Une grande force de cette étude est que toutes les mesures sanguines ont été prises en double afin de vérifier la fiabilité du test de concentration sérique du PHT. Par contre, cette étude présente quand même certains biais et limites. Premièrement, certains groupes sont de petite taille et aucune information sur la normalité des données n'est indiquée ce qui permet de questionner la validité d'une analyse paramétrique des données. Deuxièmement, seulement 16 patients de l'étude étaient traités en monothérapie et il n'est pas spécifié à quel groupe ils appartiennent. Ceci, en plus d'influencer les résultats, pourrait être un

facteur de confusion car il y a beaucoup d'interactions entre différents médicaments co-administrés lorsqu'ils possèdent la même voie métabolique. En effet, un médicament peut ralentir le métabolisme d'un autre. Enfin, la principale limite de l'étude est la validité externe car elle a été effectuée uniquement avec des patients japonais. Elle n'est donc pas généralisable à d'autres types de populations car la fréquence des polymorphismes varie selon l'ethnie (Kimura, Ieiri, Mamiya, Urae, & Higuchi, 1998; Luo, Poland, Lin, & Wan, 2006; Piper, 2004; Rosemary, Surendiran, Rajan, Shashindran, & Adithan, 2006; Wiwanitkit, 2006).

L'étude de Mamiya ne fut pas la première à démontrer le lien entre les polymorphismes du CYP et le métabolisme du PHT. Hashimoto et ses collaborateurs (Hashimoto et al., 1996), puis Odani et ses collaborateurs (Odani et al., 1997) avaient déjà démontré une influence du CYP dans le métabolisme du PHT avec des études portant sur de petits échantillons (17 et 44 patients respectivement) ce qui est relativement faible pour des études génétiques. Nous pouvons donc dire que l'étude de Mamiya et ses collaborateurs fut la première d'envergure sur le sujet avec 134 patients. À partir de ces études, de plus en plus d'équipes de recherche ce sont intéressées à ce phénomène et de nombreuses études sur cette relation ont été publiées et démontrent toutes la même association entre le profil génétique du CYP et le métabolisme du PHT (Kerb et al., 2001; Rosemary et al., 2006; Taguchi et al., 2005). Par contre, la portée de ces études demeure limitée car elles se sont surtout centrées sur la population asiatique. Leurs résultats sont difficilement généralisables à des populations moins homogènes telles que celle du Canada et plus particulièrement de Montréal.

## 2.3 L'influence de l'ethnie sur les facteurs génétiques

Les fréquences de polymorphismes associés à certains groupes ethniques varient énormément dans la littérature. Cela est dû surtout aux critères choisis pour classer les participants dans leur groupe d'appartenance. Il est donc difficile de prédire avec exactitude la fréquence des polymorphismes dans une population moins homogène telle que celle de Montréal. Dans une étude effectuée en collaboration avec les États-Unis et la Chine, Luo (Luo et al., 2006) a regardé les différences polymorphiques entre divers groupes ethniques soit : les mexicains américains, les noirs américains, les caucasiens, les asiatiques de l'est et les asiatiques de l'ouest. Chez les américains d'origines mexicaines et noires ainsi que chez les caucasiens, il y avait prédominance de la forme courante du CYP2C19 (plus de 81 %). Chez les asiatiques, on retrouvait aussi une grande proportion du type \*1 (environ 62 %) mais on pouvait constater aussi une présence des polymorphismes \*2 (environ 30 %) et \*3 (environ 8 %). Ces différences polymorphiques peuvent affecter le métabolisme de certaines drogues car les génotypes \*2 et \*3 sont souvent associés à un faible métabolisme de drogues (De Morais et al., 1994; de Morais et al., 1994; Goldstein & de Morais, 1994; Kimura et al., 1998; van der Weide & Steijns, 1999). Nous pouvons donc constater que la nécessité de tester les patients pour les polymorphismes avant l'administration du médicament afin d'ajuster la dose requise, variera selon la population. Par exemple, puisque selon Luo, au-delà de 81 % de la population caucasienne présente la forme courante du CYP, la grande majorité des patients n'aura pas besoin d'un ajustement de la dose selon son profil génétique.

## 2.4 Constats

Comme nous avons pu le voir dans la recension des écrits, la majorité des études tant cliniques que génétiques sur l'épilepsie réfractaire n'ont pas été effectuées à des fins prédictives, mais plutôt explicatives de la réponse médicamenteuse. Il serait pertinent de pouvoir prédire la réponse a priori afin de s'orienter vers des alternatives de traitement et ainsi réduire les effets secondaires liés au titrage élevé des drogues. Un autre atout non négligeable de la prédiction de la non-réponse serait la diminution de l'anxiété des parents reliée à la possibilité de non-réponse au traitement chez leur enfant.

Les études ci-haut mentionnées comportent également plusieurs faiblesses méthodologiques. Une des principales faiblesses porte sur l'hétérogénéité des groupes de sujets identifiés. Dans ces études, un seul groupe de patients est formé bien qu'ils présentent divers types d'épilepsie. Hors nous savons que les traitements et taux de réussite varient selon le type d'épilepsie. Ceci explique donc notre choix de n'inclure qu'un seul type d'épilepsie dans notre étude et de n'observer que la réponse à un seul et même agent soit l'AV.

Une autre faiblesse retrouvée surtout dans les études génétiques est la difficulté d'extrapolation de leurs conclusions. Ces études ont été effectuées exclusivement chez des patients asiatiques et on peut donc difficilement généraliser leurs résultats à notre population. Par contre, les études sur le CYP nous permettent malgré tout de voir l'importance de l'influence que peuvent avoir ces polymorphismes sur le métabolisme des drogues.

Il a été démontré que les enzymes du CYP métabolisent certains agents anti-épileptiques incluant l'AV (Anderson, 2004; Depondt, 2006; Peterson & Naunton,

2005; Szoeki et al., 2006). Les polymorphismes que présentent ces enzymes sont responsables, dans la majorité des cas, d'une diminution de l'activité de ceux-ci, ce qui résulterait en une diminution du métabolisme de la drogue (Anderson, 2004; De Morais et al., 1994; Goldstein & de Morais, 1994; Lee, Goldstein, & Pieper, 2002). Voilà donc l'intérêt d'étudier les conséquences des mutations au niveau de ces enzymes.

Nous insistons sur le fait que l'épilepsie n'est pas une maladie à étiologie homogène; ses causes et ses manifestations peuvent donc varier d'une personne à l'autre. Cette variation, en plus de celle induite par les enzymes métaboliques, pourrait affecter la réponse médicamenteuse. Il est donc important de considérer conjointement les facteurs cliniques et génétiques qui pourraient influencer la réponse au traitement.

Tel que mentionné précédemment, environ un quart des patients avec EIGA ne répondent pas au traitement à l'AV. Ceci provoque l'introduction de nouveaux traitements dont la réponse n'est pas forcément garantie. Par contre, nous savons que si le premier traitement a été efficace les patients ont plus de chance d'entrer en rémission (Camfield et al., 1997; Wirrell et al., 2001). Il serait donc intéressant de pouvoir prédire d'emblée quels patients répondront à l'AV afin de considérer rapidement les alternatives lorsqu'une réponse est peu probable. Cela a mené à notre question de recherche qui est :

*Quels sont les prédicteurs de la non-réponse à l'Acide Valproïque chez les patients souffrant d'épilepsie idiopathique généralisée avec absences ?*

## Chapitre 3. Objectifs de recherche

De la question de recherche qui a clos le chapitre précédent émane l'objectif principal de l'étude ainsi que les objectifs spécifiques qui en découlent et qui sont énumérés ci-dessous :

Objectif principal : *Identifier les prédicteurs (sociodémographiques, cliniques et génétiques) de la non-réponse à l'Acide Valproïque (AV) chez les enfants souffrant d'épilepsie idiopathique généralisée avec absence (EIGA).*

Objectifs spécifiques :

- 1) *Déterminer les facteurs sociodémographiques et cliniques associés à la non-réponse à l'AV chez les enfants souffrant d'EIGA suivis au CHU Sainte-Justine de Montréal.*
- 2) *Identifier les mutations (polymorphismes) fonctionnelles des gènes codants pour deux enzymes du CYP (CYP2C9 et CYP2C19) dans notre population.*
- 3) *Déterminer s'il existe des différences dans ces polymorphismes génétiques entre les répondants et les non-répondants à l'AV.*

## **Chapitre 4. Méthodologie**

### **4.1 Dispositif privilégié**

Cette étude vise principalement à établir une association entre la non-réponse à l'AV et certains facteurs de risques. Nous voulons explorer plusieurs facteurs de risques simultanément (soit des facteurs cliniques, génétiques et sociodémographiques). Nous voulons comparer des répondants à des non-répondants à l'AV afin d'observer ce qui les différencie. Puisque la proportion des patients qui ne répondent pas au traitement est relativement faible (25 à 30 %), une étude prospective de cohorte aurait nécessité beaucoup de sujets. Nous avons donc comparé un échantillon de patients réfractaires à un groupe de répondants à l'AV afin d'investiguer rétrospectivement les facteurs présents avant le début du traitement à l'AV. Ce dispositif de type cas-témoin est approprié pour répondre à notre question de recherche et il nécessite moins de sujets qu'une étude de cohorte. Ainsi, pour cette étude, tous les patients étaient atteints d'EIGA et ont été traités à l'AV. Les patients qui n'avaient pas répondu à l'AV constituaient le groupe des cas tandis que ceux qui y avaient répondu constituaient le groupe des témoins.

### **4.2 Définition de la population visée et de la population échantillonnée**

La population cible comprend des enfants (0 à 18 ans) atteints d'EIGA qui ont été traités à l'AV et qui vivent au Québec. Tous nos patients ont été suivis à la

clinique d'épilepsie du CHU Sainte-Justine de Montréal (CHUSJ). L'échantillon était donc constitué d'enfants atteints d'EIGA qui avaient été traités à l'AV et qui étaient suivis au CHU Ste Justine de Montréal.

### 4.3 Critères d'inclusion et d'exclusion

À partir des études précédentes portant sur l'EIGA (Coppola et al., 2004; Grosso et al., 2005; Wirrell et al., 2001) et des critères diagnostiques de ce type d'épilepsie (Engel, 2001; Glauser et al., 2006; ILAE, 1989; Valentin et al., 2007), nous avons identifié les critères d'inclusion et d'exclusion listés aux tableaux I et II. Il est à noter que tous ces critères sont applicables au moment du traitement à l'AV et non au moment de la collecte des données.

**Tableau I.** Critères d'inclusion

<b>Critère</b>	<b>Justification</b>
Filles ou garçons	La réponse ou non à l'AV ne semble pas être différente selon le sexe.
Être âgé entre 0 et 14 ans inclusivement	Cette étude se limite aux enfants qui se retrouvent dans cet intervalle au début du traitement à l'AV car en dehors de ces âges il est possible que le patient souffre d'un autre type d'épilepsie.
Avoir reçu un diagnostic d'EIGA*	Si le patient n'a pas reçu le diagnostic il se peut que la médication soit inefficace puisque l'AV est le traitement privilégié pour ce type d'épilepsie.
Avoir été traité à l'AV pendant au moins 2 mois	L'évaluation du traitement initial s'effectue généralement sur une période 2 mois, période après laquelle le médecin traitant décide s'il faut poursuivre le traitement ou effectuer un changement.
Consentement libre et éclairé d'un parent ou tuteur légal pour la collecte d'ADN	Principe universel pour des études cliniques. Le formulaire de consentement est fourni à l'annexe 1.

\*Pour avoir un diagnostic d'EIGA selon l'ILAE (ILAE, 1989), un patient doit avoir les caractéristiques suivantes :

- *Avoir des crises multiples par jour avant le début du traitement;*

- Avoir la présence à l'EEG de pointes-ondes de 3 Hz avec un rythme de fond normal;
- Avoir des signes cliniques d'absences qui ont été observés par le neurologue tels que des pertes de contact et de la fixation lors des crises;
- Avoir un scan cérébral normal;
- Ne pas présenter de pointes-ondes irrégulières ou à des fréquences plus rapides que 3 Hz lors de l'EEG.

**Tableau II. Critères d'exclusion**

<b>Critère</b>	<b>Justification</b>
Présence de maladies neurologiques ou neurodégénératives concomitantes	Ces maladies peuvent influencer la réponse au traitement et ne devraient pas survenir dans une épilepsie idiopathique.
Patients qui ont une lésion au cerveau	La présence d'une lésion connue change le diagnostic d'épilepsie idiopathique en épilepsie symptomatique.
Patients qui ont des problèmes psychiatriques nécessitant une médication	Les agents psychiatriques et anti-épileptiques ont souvent les mêmes effets ce qui pourrait biaiser nos résultats. Également, ils ont souvent la même voie de métabolisme et pourraient donc influencer la réponse.
Patients qui ont des problèmes cardiovasculaires, rénaux, hépatiques ou toute autre maladie qui pourrait affecter l'absorption, le métabolisme ou l'excrétion de l'AV	Tous ces facteurs pourraient affecter la réponse à l'AV.

#### **4.4 Échantillonnage et recrutement**

L'échantillonnage s'est effectué par une méthode non probabiliste, plus précisément par échantillonnage accidentel. Les patients répondant aux critères d'inclusion et d'exclusion ont été recrutés de trois façons : lors de leur visite de routine

avec leur neurologue au CHUSJ, par revue des rapports d'EEG ou à l'aide d'une banque génétique de patients épileptiques.

En premier lieu, une revue des rapports d'EEG effectués entre mai 2002 et août 2006 à la clinique de neurologie du CHU Sainte-Justine a été réalisée afin d'identifier tous les patients qui présentaient des pointes-ondes de 3 Hz. Par la suite, les dossiers de ses patients ont été revus afin de vérifier si ses patients rencontraient nos critères d'inclusion et d'exclusion. Si tel était le cas, le patient était inclus dans l'étude. Pour ces patients, l'autorisation d'accès au dossier était donnée par la DSP et nous n'avons pas effectué de collecte d'ADN.

Parallèlement, les neurologues du CHUSJ ont été rencontrés par l'équipe de recherche afin de les informer sur la nature du projet. Par la suite, ils nous ont référé des patients qui rencontraient nos critères d'inclusion et qui avaient déjà été traités à l'AV. En général, les patients qui répondent bien au traitement ne sont vus par le neurologue qu'une fois au six mois ou même une fois par année. Dans ces cas, les patients étaient contactés par téléphone afin de cédule une rencontre avec l'équipe de recherche. Nous recrutons également des patients non référés par les neurologues mais qui répondaient à nos critères et qui venaient pour leur visite de routine. Tous les participants potentiels ont été rencontrés par un membre de l'équipe de recherche. Les participants et leurs parents ont été informés de la nature du projet de recherche puis, après une période de réflexion, ces derniers ont été amenés à signer un formulaire de consentement (voir annexe 1). Ce consentement nous a donné l'autorisation de consulter le dossier médical complet de l'enfant ainsi que de collecter un petit volume de son prélèvement sanguin afin d'effectuer les analyses génétiques. Si un prélèvement sanguin n'était pas prévu lors de la visite avec le neurologue, un échantillon de salive était collecté.

Finally, the DNA of certain patients was provided by Dr Patrick Cossette of CHUM Notre-Dame in Montreal, who holds a bank of DNA from epileptic patients for research purposes. From this bank, we identified all patients who had been followed up at CHU Sainte-Justine and who met our selection criteria; we included them in the study.

## 4.5 Variables

Variable dépendante : La variable dépendante pour ce projet est la réponse ou non à l'AV. La réponse à l'AV est définie par un arrêt complet des crises d'absence due à la prise d'AV. Donc, si un patient continue à subir des crises malgré une prise d'AV pendant une durée minimale de 2 mois, il est considéré comme non-répondant. Dans le dossier du patient, l'arrêt des crises était déterminé par l'absence de crises rapportée par les parents, par le jugement du neurologue ainsi que par la normalisation de l'EEG.

Variables indépendantes : Les variables indépendantes peuvent être classées en trois grandes catégories : les caractéristiques cliniques, les caractéristiques sociodémographiques et les caractéristiques génétiques (polymorphismes).

- Caractéristiques cliniques : l'information clinique provient des dossiers médicaux des participants. Cette information contient les données sur le statut médical du patient.
  - *nombre de crises d'absences avant le début du traitement* : nombre de crises avant la prise du premier agent anti-épileptique;
  - *âge au début des crises d'absences, lors du diagnostic d'EIGA et au début du traitement*;

- *traitements anti-épileptiques reçus dans l'ordre chronologique et raison de leur arrêt;*
- *effets secondaires aux traitements;*
- *antécédents familiaux d'épilepsie : un parent au premier ou deuxième degré (père/mère, grand-père/grand-mère, oncle/tante ou cousin) a reçu un diagnostic d'épilepsie (oui/non);*
- *convulsions néonatales : convulsions qui surviennent dans le premier mois de vie de l'enfant (oui/non);*
- *convulsions fébriles : convulsions qui surviennent dans l'enfance lors une montée de fièvre de 38,5 °C ou plus (oui/non);*
- *spasmes infantiles : crise épileptique caractérisée par une contraction musculaire brève (oui/non);*
- *présence de tumeurs ou autres anomalies structurales (oui/non);*
- *co-morbidité psychiatrique (oui/non);*
- *complications périnatales : problèmes survenus pendant la grossesse de la mère ou lors de l'accouchement (oui/non);*
- *difficultés cognitives : difficultés du langage ou d'apprentissage (oui/non);*
- *examen neurologique normal (oui/non);*
- *résultats de l'EEG (pointes-ondes, réponse photoconvulsive, anomalies au rythme de fond : fréquence et longueur d'onde du tracé et activité épileptique observée;*
- *fréquence des crises lors de l'année précédent le début du traitement à l'AV (> 10 ou = 10 / jour);*
- *problèmes rénaux ou hépatiques (oui/non);*

- *statut nutritionnel* (diète normale ou cétogène);
  - *durée de la prise d'AV* : nombre de jours, de mois ou d'années;
  - *observance* : généralement, le patient prend le médicament au moment prévu (oui/non selon l'avis du médecin\*).
- Caractéristiques sociodémographiques : Ces caractéristiques sont aussi extraites des dossiers des participants et incluent l'âge, le sexe, la race, le poids et la prématurité (oui/non).
  - Polymorphismes : Cette variable n'était disponible que pour un nombre restreint de patients, ceux que nous avons rencontrés et qui ont signé le formulaire de consentement ainsi que ceux qui nous ont été fournis par le Dr Cossette. Les polymorphismes des gènes codants pour les enzymes CYP2C9 et CYP2C19 ont été analysés à partir d'échantillons sanguins ou de salive.

#### 4.6 Méthode de collecte des données

Afin d'extraire les données cliniques et sociodémographiques, nous avons effectué une recherche exhaustive dans les dossiers médicaux des patients. Pour chaque patient, une même personne a rempli une grille de collecte de données (Annexe 2). Les dossiers médicaux ont été passés en revue, depuis la naissance, jusqu'au dernier rendez-vous avec le neurologue.

---

\* Note du médecin dans le dossier du patient. Nous ne pouvons pas avoir la réponse réelle car aucun questionnaire n'est administré au patient. Ceci est donc une variable rapportée qui peut seulement nous donner une indication de la variable réelle.

L'évaluation des polymorphismes s'est faite par hybridation avec oligonucléotides spécifiques pour des allèles (ou «allele specific oligonucleotide hybridization» soit ASO). Afin d'effectuer l'évaluation des mutations, un échantillon de 5 ml a été prélevé de la prise sanguine effectuée lors de la visite de routine avec le neurologue. Si une prise de sang n'était pas prévue lors de la visite, un échantillon de salive était prélevé à l'aide d'une trousse d'auto-extraction d'Oragene (Oragene™ DNA self-extraction kit - DNA genotek; Ottawa, On). L'ADN génomique était extrait en utilisant la trousse d'isolation de Gentra (Gentra Puregene blood kit - Qiagen; Mississauga, On).

Par la suite, un PCR (polymerase chain reaction) était effectué afin d'amplifier la séquence du gène codant pour l'enzyme et effectuer l'analyse des polymorphismes. Chaque PCR contenait l'ADN du patient (12,5 ng), les amorces spécifiques pour le fragment à amplifier (0,4 µl), 200 µM de désoxy-nucléotides tri-phosphates (dNTPs), 2,25 mM de MgCl<sub>2</sub>, 10 mM de Tris-HCl (pH 8,3), 50 mM de KCl et 0,5 unités de Taq polymerase (Platinum; Invitrogen, Carlsbad, CA). Tous les échantillons étaient amplifiés dans un thermocycleur pour 40 cycles composés de 30 secondes à 94 °C, 30 secondes à 57 °C (pour CYP2C9\*2 et \*3 et CYP2C19\*3), 60 °C (pour CYP2C19\*2), 61 °C (pour CYP2C19\*5), 62 °C (pour CYP2C19\*4) ou à 63 °C (pour CYP2C19\*6) et 30 secondes à 72 °C. Une petite fraction du produit de PCR était déposée sur un gel d'agarose 2 % pour la faire migrer avec un standard de poids moléculaire et vérifier que le produit est bien le fragment voulu. Les produits de PCR pour tous les patients ont été transférés sur une membrane de nylon afin de permettre une hybridation avec une sonde radioactive, tel que décrit précédemment (Bourgeois & Labuda, 2004). Une sonde est une suite d'oligonucléotides avec la séquence anti-sens du fragment d'ADN que l'on veut identifier. Cette sonde, radiomarquée au <sup>32</sup>P, s'hybridera au fragment

d'ADN sur la membrane. Donc, si l'échantillon d'ADN contient le polymorphisme voulu, il y aura un marquage radioactif sur la membrane. Un compétiteur non radioactif est ajouté en même temps que la sonde radioactive afin d'éliminer les faux positifs. Les séquences des diverses amorces et sondes sont présentées dans le tableau III. La variable analysée est dichotomique : présence ou absence de polymorphisme.

**Tableau III. Détails pour les PCRs et ASOs pour chaque polymorphisme testé**

Polymorphismes		PCR		Sonde pour ASO
Nomenclature	Substitution	Taille pb	Amorce	
CYP2C9 *2	430 C→T	118	F: gaaggagatccggcggtt, R: ggTTTTctcaactcctcca	tgaggacCgtgttca, tgaggacTgtgttca
CYP2C9 *3	1075 A→C	205	F: gagattgaacgtgtgattgg, R: tggagttgcagtgtaggaga	gagatacAttgacct, gagatacCttgacct
CYP2C19 *2	681 G→A	323	F: cagagcttggcataattgtatc, R: gtaaacacacaaaactagtcaatg	tatttcccGggaaccc, tatttcccAggaaccc
CYP2C19 *3	636 G→A	119	F: aacatcaggattgtaagcac, R: tcagggcttggcaatatag	acccctgGatccagg, acccctgAatccagg
CYP2C19 *4	1 A→G	286	F: gcacacacacttaattagcatgg, R: taccttttgcaagccactga	aggcttcaAtggatcc aggcttcaGtggatcc
CYP2C19 *5	1297 C→T	300	F: tgcataattctgtctgtgccagt, R: agcagccagaccatctgt	aggaaaaCggatttgtgt aggaaaaTggatttgtgt
CYP2C19 *6	395 G→A	237	F: cctgggatctccctcctagt, R: aggagagcagtcagaaaagg	gacgctgcGgaatTTT gacgctgcAgaatTTT

PCR, polymerase chain reaction; ASO, Allele specific oligonucleotide; pb, paires de bases; F, amorce forward; R, amorce reverse.

#### 4.7 Analyse des données

Caractéristiques cliniques et sociodémographiques : Une analyse bivariée a d'abord été effectuée afin de déterminer les facteurs cliniques et sociodémographiques qui diffèrent entre les répondants et les non-répondants. Les variables significativement reliées au niveau conservateur  $\alpha=0,15$  étaient retenues pour une analyse de régression logistique permettant de tenir compte de leurs interrelations. Une technique

d'élimination à rebours (backward) au seuil  $\alpha=0,05$  permettait enfin de retirer du modèle les variables qui n'étaient plus significatives en présence des autres.

Polymorphismes : Rappelons que les polymorphismes sont des variables dichotomiques (présence ou non de mutation). Les participants ont été classés dans des tableaux de contingence selon la présence ou non de mutation par rapport à la variable dépendante (réponse ou non à l'AV). Nous avons calculé les rapports de cotes associés à la présence de polymorphismes et le fait d'être réfractaire au traitement. Par la suite, une analyse à l'aide du test du khi-carré ou du test exact de Fisher a été effectuée afin de vérifier si les caractéristiques polymorphiques différaient statistiquement entre les groupes.

Finalement, nous avons effectué une analyse de régression logistique globale incluant toutes les catégories de variables afin de déterminer celles qui influencent la réponse à l'AV.

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées avec un logiciel de statistiques (SPSS® version 14,0) à un niveau de confiance de 95 % ( $\alpha = 0,05$ ).

#### **4.8 Taille de l'échantillon**

Un calcul de la taille de l'échantillon requis a été effectué à l'aide du logiciel nQuery Advisor® (version 7,0). La fréquence génétique des polymorphismes étudiés a été estimée à environ 20 %. Avec un niveau de confiance  $\alpha$  fixé à 5 % et une puissance de 80 %, nous devons recruter 170 patients (85 par groupe) afin de détecter un rapport

de cotes de 2,5 ou plus. Comme nous anticipions une fréquence d'AER relativement faible (environ 25 %,) il était très probable que nous recruterons moins de non-répondants que de répondants à l'AV (ratio de 3 répondants pour 1 non-répondant). Si nous tenions compte de ce facteur dans le calcul, il fallait recruter 55 non-répondants et 164 répondants à l'AV ( $n_{\text{total}} = 219$ ) pour détecter le même effet et garder le même niveau de puissance statistique.

#### **4.9 Aspects éthiques**

Ce projet de recherche a été soumis pour approbation au Comité d'éthique de la recherche (CÉR) du CHUSJ car la recherche allait s'effectuer dans cet établissement. Il a également été soumis au CÉR du CHUS, l'étudiante en charge du projet étant inscrite à l'Université de Sherbrooke. Nous avons donc obtenu l'approbation de ces deux comités d'éthique avant d'entamer l'étude.

Une partie du projet nécessitant une collecte de matériel biologique, nous devions procéder au recrutement des patients. Les patients ciblés par notre étude faisant partie d'une population vulnérable (les enfants), nous avons rédigé un formulaire de consentement qui devait être expliqué au parent ou gardien légal de l'enfant lors du recrutement. Une fois le consentement libre et éclairé obtenu, nous pouvions procéder à la collecte du matériel biologique (sang ou salive) pour l'analyse génétique. La signature du formulaire de consentement par le parent ou tuteur légal de l'enfant nous donnait également le droit d'accéder au dossier médical du patient. Par contre, dans la majorité des cas, nous avons besoin d'avoir accès au dossier médical avant le recrutement afin d'évaluer si le patient répondait à nos critères de sélection. Nous avons donc obtenu la permission de la Direction des services professionnels

(DSP) du CHUSJ pour l'accès aux dossiers des patients sans leur autorisation directe. Cette méthode d'autorisation d'accès est conforme à la *loi sur les services de santé et les services sociaux* (L.R.Q. chapitre S-4.2 a.19.2). Finalement, le consentement d'utilisation de l'ADN pour d'autres recherches en épilepsie étant donné par le parent ou tuteur légal de l'enfant lors de l'inclusion de l'ADN de ce dernier dans la banque d'ADN du Dr Cossette au CHUM, le CÉR du CHUSJ nous a également donné l'autorisation d'accès à cette banque.

## **Chapitre 5. Résultats de l'étude des facteurs sociodémographiques et cliniques**

### **Article : Risk Factors for Valproic Acid Resistance in Childhood Absence Epilepsy**

#### **5.1 Avant propos**

Dans cet article, les résultats de l'analyse des facteurs cliniques et socio-démographiques en lien avec la réponse à l'*Acide Valproïque* sont présentés. Cet article a été accepté pour publication le 18 septembre 2009 au journal *Seizure*.

#### Auteurs et contributions :

May Lissa Ollivier : A conçu l'étude et a effectué le recrutement, la recherche dans les dossiers, l'analyse statistique ainsi que la rédaction de l'article.

Marie-France Dubois, Maja Krajinovic et Lionel Carmant, à titre de co-directeurs, ont supervisé l'étudiante lors de la conception de l'étude, de sa réalisation, de l'analyse des données et de la rédaction de l'article.

Patrick Cossette : A fourni le nom de patients ainsi que de leur ADN pour la partie génétique du projet.

#### **5.2 Résumé de l'article**

**Introduction :** L'épilepsie idiopathique avec absences constitue 2 à 8 % de tous les types d'épilepsie. Des statistiques mondiales montrent que les crises d'absences

peuvent être contrôlées par l'Acide Valproïque (AV) chez 75 % des enfants. Les autres continuent à subir des crises ou les effets secondaires limitent son utilisation. Le but de cette étude est d'identifier certains facteurs cliniques et sociodémographiques qui pourraient être reliés à la non-réponse à l'AV.

**Matériel et méthodes :** Nous avons recruté 180 patients qui ont été suivis à la clinique de neurologie du CHU Sainte-Justine. Les variables cliniques et socio-démographiques ont été extraites rétrospectivement des dossiers des patients. Des analyses statistiques bivariées et multivariées ont été effectuées afin d'identifier des variables associées à la non-réponse à l'AV dans notre échantillon.

**Résultats :** Le traitement a été efficace chez 112 des 180 patients (58,3 %). Trois variables ont été identifiées comme significativement différentes entre les répondants et les non-répondants. Les répondants étaient plus vieux au moment du diagnostic ( $p=0,001$ ) et présentaient moins de crises généralisées tonico-cloniques (GTCS) que les non répondants ( $p=0,001$ ). Les non-répondants présentaient également plus souvent une fréquence élevée de crises d'absences avant le début du traitement ( $p<0,001$ ) que les répondants. Tous ces facteurs sont demeurés significatifs dans le modèle de régression logistique multivarié. Le manque de contrôle de l'épilepsie à long terme était associé avec la présence de GTCS, l'absence de réponse au traitement initial et le besoin de traiter avec de multiples agents anti-épileptiques.

**Conclusions :** Nous avons pu identifier certains facteurs cliniques qui sont liés à la non-réponse à l'AV. Donc, si un patient ne semble pas répondre à l'AV et qu'il présente ces facteurs, le neurologue devrait considérer un traitement alternatif plutôt que d'augmenter la dose d'AV et ainsi risquer l'augmentation des effets secondaires dus au traitement.

## **Abstract**

**Aims:** Valproic Acid (VPA) is reported to be effective for the control of absence seizures in 75% of children. The aim of this study was to determine the clinical and socio-demographic factors associated with VPA response in newly diagnosed childhood absence epilepsy (CAE) and to determine if these factors also influence the chances of achieving long-term seizure freedom.

**Methods:** Medical charts of 180 children with CAE were retrospectively reviewed. Clinical, electroencephalographic and imaging findings were recorded to correlate with complete VPA response and long-term epilepsy outcome. Factors associated with non-responsiveness were identified individually and in a multivariable logistic regression analysis.

**Results:** Treatment was successful in 112 (58.3%) children. More children that were non-responsive to VPA experienced generalized tonic-clonic seizures (GTCS) (33.8% vs. 13.4% for responders;  $p=0.001$ ) and 52.9% had a pre-treatment seizure frequency greater than 10/day (vs. 27.0% for responders;  $p<0.001$ ). Finally, responders were older at time of diagnosis versus non-responders ( $p=0.001$ ). Absence of long-term seizure freedom was linked to the presence of GTCS, the absence of initial response and the need for multiple AEDs to control seizures.

**Interpretation:** Our results suggest that clinical phenotypes are associated with reduced response rates to VPA. This should be taken into account when counselling families of children with newly diagnosed absence epilepsy.

**Key words:** co-morbidity, anticonvulsants, refractory seizures, pharmacoresistance.

## Introduction

The proportion of patients with all types of epilepsy that are pharmacoresistant varies from study to study but can be roughly estimated to be around 30% [1-3]. This percentage will vary depending on the age of the cohort, proportion of each seizure type and different treatments given. Many studies have attempted to define the factors that could be responsible for refractory epilepsy. Some of the identified factors include response to the first treatment [4,5], age at seizure onset [6,7], presence of generalized tonic clonic seizures (GTCS) [8], types of seizures or epilepsy [2,6,7] and a large number of pre-treatment seizures [1,7]. These studies have used a wide range of diagnostic criteria as well as variable therapies. And most of them have actually focused on factors predicting a lack of long-term remission [6,9].

Childhood absence epilepsy (CAE) is one of the most common forms of epilepsy in young children. It accounts for 10-15% of all childhood epilepsies [10]. A peak in incidence can be observed in children that are 5 to 7 years old [11] and it is slightly more common in girls than boys [11,12]. CAE is characterised by absence seizures (AS) that are brief, with no post-ictal phase and occur many times a day. These can also be accompanied by GTCS or myoclonic seizures [11,13]. All idiopathic absence epilepsies are due to a disruption of thalamo-cortical networks. The 3 hertz (Hz) spike and wave discharges have been shown by Steriade and collaborators as originating from sleep oscillations generators [14,15]. Therefore one would predict that since absence epilepsy is a well-defined clinical and pathophysiological entity, a single drug should be effective for all children with CAE.

Valproic Acid (VPA) is often considered to be the drug of choice for the treatment of CAE [16,17] even though it is still unclear if it is more effective than Ethosuximide (ESM) or Lamotrigine (LTG) [18]. Population based studies have shown that VPA can control AS in about 75% of children with CAE [12]. The remaining 25% continue to have seizures on VPA or experience side effects limiting its utilisation. In our study, we wanted to identify factors that would predict not only long-term outcome but also the initial VPA response to assess its value as a predictor for the lack of long-term remission [19].

The aim of this study was to determine the clinical and socio-demographic factors associated with VPA response in children newly diagnosed with CAE and to determine if these factors also influence the chances of achieving long-term seizure freedom.

## **Patients & Methods:**

### **Patients**

The CHU Sainte Justine (Université de Montréal, Canada) offers tertiary care and specialized clinics for patients with newly diagnosed and refractory epilepsy from the greater Montreal area as well as from remote areas in the province of Quebec. All patients are referred to the neurologist by pediatric and ER doctors as well as general practitioners. They are first seen during the new diagnosis clinic and then followed during regular clinic periods for treatment and follow-up. Patients younger than 18 years old at time of diagnosis of idiopathic CAE and treated at the CHU Sainte Justine between 2000 and 2008 were retrospectively identified. Potential candidates were identified by EEG and chart review. All patients that met the diagnosis criteria of CAE (according to the ILAE [20]) and that had been treated with VPA (Epival<sup>®</sup>, Depacon<sup>®</sup>, Depakene<sup>®</sup> or Depakote<sup>®</sup>) were included in the study. The standard protocol for VPA treatment at the CHU Sainte Justine consists of an initial dose of 30 mg/kg/day that can be titrated up to 60 mg/kg/day depending on the patient's response, tolerance and plasma levels. EEGs with hyperventilation are performed periodically for all patients. We excluded all patients who had known brain lesions. Developmental delay and attention deficit disorder were the only two accepted neurological comorbidities. One hundred and eighty children met our study criteria and were therefore included in our sample. Medical charts of these patients were reviewed in order to determine their responsiveness to VPA and to identify clinical factors potentially related to its response.

## **Methods**

Clinical and socio-demographical information were extracted by chart review. Variables included sex, all prenatal complications, perinatal history (including prematurity), febrile seizures, family history of epilepsy, age at AS onset, age at treatment onset, seizure frequency prior and after treatment onset, VPA efficacy and serum concentration, other AEDs used as well as other medications not related to epilepsy, coexisting seizure types (GTC or myoclonic seizures), presence of a learning disability, and finally the presence or absence of a long-term seizure freedom. The **initial** EEGs were only used to confirm the clinical diagnosis and were not used as a variable in the prediction of outcome.

## **Definitions**

*Seizure frequency* was the average number of seizures per day prior to treatment and following the treatment as defined by the parents. It was categorized as less than 10 seizures per day and 10 or more per day. *Response to treatment* was considered to be a complete disappearance of AS during VPA treatment. A normal EEG during VPA treatment was also a *sine qua non* criterion for response. A patient was considered to be refractory to VPA if he/she continued to experience absence seizures despite a therapeutic VPA level. A patient was considered *seizure free* if the parents did not report any seizures, no seizures were apparent during hyperventilation and the EEG was normal. We then divided this group into two categories which were *seizure free without medication* and *seizure free but still on medication*. The latter corresponded to patients who were seizure free but the neurologist decided to pursue the treatment for more than two years after the last seizure to better the chances of remission.

### **Statistical methods**

Data processing and analysis were performed with SPSS Version 14.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, U.S.A.). Statistical comparisons between responders and non-responders used either Fisher's exact tests,  $\chi^2$  tests or t tests for independent samples. Variables associated with responsiveness ( $p < 0.20$ ) in bivariate analyses were entered in a multivariable logistic regression model. This model was reduced using a backward elimination procedure ( $\alpha = 0.05$ ). Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were calculated. The same type of analyses was conducted using long term seizure freedom as the dependent variable. This time, response to VPA was considered among the potential predictors. This study was approved by the Research Ethical Committees of both CHU Sainte Justine and CHU Sherbrooke.

## Results

### Study Sample

One hundred and eighty patients identified as having CAE and treated with VPA were included in this study. The mean age at diagnosis was  $7 \pm 2.94$  years (range 9mo-14y8mo) and 77 (42.8%) were male. Thirty eight patients (21.1%) presented a single GTCS, 9 (5%) presented a single myoclonic seizure and one patient presented both. These other seizure types happened either during treatment with VPA or following treatment withdrawal. One hundred and sixty three patients (90.6%) were given VPA as a first line treatment. The remaining 17 (9.4%) were first treated with ESM and then switched to VPA for lack of efficacy.

We had originally identified a total of 332 patients with suspected absence seizures but we had to exclude 152 patients for the following reasons: 12 presented brain lesions, 30 did not have enough information in the files, 12 had CAE but treated with a different AED, one had CAE and was prescribed VPA but the parents refused to give the treatment to their child and finally 97 were treated with VPA but had a different diagnosis than CAE.

-----  
Insert Table 1  
-----

### VPA efficacy

Treatment with VPA led to seizure freedom in 112 (58.3%) patients. As shown in table 1, more patients refractory to VPA experienced GTCS compared to responders

and had a pre-treatment seizure frequency greater than 10/day (with  $p=0.001$  in both cases). Age was also a factor significantly linked to response with patients in the responsive group being on average 16 months older at time of seizure onset, diagnosis and treatment onset (data shown in table 2). However, the age at which the patients experienced their GTCS did not impact on the response to VPA.

-----  
Insert Table 2  
-----

When all factors were combined in a multivariable logistic regression analysis, we could not keep all time factors in the equation because of co-linearity. We therefore chose to keep age at diagnosis as the only time variable since age at seizure onset is known to be less reliable since it is reported by the parents and absences seizures can take some time to be recognized. In the final model shown in table 3, all variables that were significantly correlated to VPA response at the 5% level in the univariate analyses continued to be significant in presence of each other. A high seizure frequency ( $=10/\text{day}$ ) prior to treatment and the presence of GTCS were both factors that increased the risk of non-response to VPA with odds ratios of 3.1 and 4.1 respectively. A higher age at diagnosis was a protective factor since it decreased the risk of non-response with an odds ratio of 0.82 which is below 1. Gender did not affect VPA response rates. The maximum VPA dosage as well as blood levels also did not correlate with response to VPA or seizure freedom.

-----  
Insert Table 3  
-----

**Long-term seizure outcome**

Twenty-four patients were excluded from the analysis regarding long term outcome since these patients were still within their two first years of treatment at the end of the study period so we can not evaluate long-term seizure freedom for these patients. As shown in figure 1, 45.2% of patients achieved seizure freedom and remained so even after treatment withdrawal (58 out of 99 in the VPA responsive group and 12 out of 57 in the non-response group,  $p < 0.001$ ). Sixty one patients were also seizure free but continued to take medication (39 out of 99 in the responsive group and 22 out of 57 in the non-responsive group). The patients who were not seizure free took significantly more AEDs and continued to show an abnormal EEG (data shown in table 4). Also, they were more likely to have a history of GTCS (more than twice the percentage of responders;  $p = 0.003$ ).

-----  
Insert Figure 1  
-----  
-----

-----  
Insert Table 4  
-----

Thirty five patients responded to a different AED after failing VPA. The different treatment options and the number of patients who responded to these are shown in table 5. Ethosuximide (ESM) was most often the first drug tried after VPA failure. It was effective as a monotherapy in 8 out of 49 patients and in an additional 10 children in polytherapy. Lamotrigine (LTG) was also tried in 44 patients with four patients responding when given as a monotherapy and 13 in polytherapy. When both drugs were combined, five patients became seizure free. The remaining 33 patients did not respond to any of the drugs tried over the study period.

-----  
Insert Table 5  
-----

## **Discussion**

The main finding in this study is that VPA response is associated with long-term seizure freedom in our cohort of children with CAE since 98.0% of responders were seizure free at the end of our study period. In contrast, the patients who did not respond to VPA treatment have a less favourable long-term outcome since more than a third (39.3%) of these patients do not achieve good seizure control with any AED treatment ( $p < 0.001$ ).

### **Clinical factors predictive of VPA response**

The main goal of our study was to define the clinical variables that could help us predict VPA efficacy in children with absence seizures. Our sample resembles that of other hospital based studies even though our percentage of non-responders is in the upper range of the previously reported response rates (32.2% compared to 25 - 37% [1,5,8,21]).

Factors predicting a poor response to VPA in our study (table 3) are in accordance with previous reports on the prognosis of CAE [5,11]. The occurrence of GTCS is known to worsen the prognosis of children presenting with absence seizures [8,11]. A younger age at seizure onset has also been associated with poor response to AED treatment [7,8]. Age at seizure onset was not found to be linked to response to first AED in one study on absence seizures [5], but that study included either treatment with VPA, Ethosuximide (ESM) or Carbamazepine (CBZ). We believe that including three different treatments modified the effect of certain variables, which could be predictive of response to one drug but not to another. A large number of pre-treatment

seizures has already been associated with a poor response to AEDs [1,21]. We chose to evaluate the effect of frequency using a categorical model (more or less than 10 per day) instead of a linear model since absences seizures occur several times a day and it is hard to determine exactly when the seizures began, especially in a retrospective study. This method has also been previously used and has shown to be associated with a poor prognosis [6]. Finally, age at diagnosis was also predictive with patients responding to VPA treatment being on average 17.3 months older than the non-responsive patients at the time of diagnosis and 14.6 months older at the occurrence of the first seizure. This is in accordance with previous studies including one, which had responders that were 17 months older at seizure onset than non-responders [4]. We chose here to take age at diagnosis instead of age at seizure onset as a predictor variable because it is a more reliable value.

#### **Clinical factors predictive of seizure freedom**

Factors linked to long term seizure freedom are the absence of GTCS, response to VPA treatment and a low number of different AEDs taken. We do realize that these factors are not readily available at the first visit. But as clinicians we can use these factors to council parents about long-term outcome and improve treatment observance.

We could not use the standard definitions for remission (2 year or five year terminal remission) because this is a retrospective study and once the patients were off their medication for a certain time they did not come back to the epilepsy clinic unless they experienced a recurrence. This is the reason why we identifier the group only as being seizure free for more than 2 years.

Failure of the first AED is often considered to be a poor prognosis for complete seizure control for pediatric partial epilepsy [4,22] as well as for CAE [5,22]. In our cohort, 90.6% were given VPA as a first line treatment and response to VPA was also strongly correlated with seizure freedom with 98.0% of children responding to VPA being seizure free at the end of the study. In contrast, non-responders have a less favorable long-term outcome. In the 17 patients that were given ESM as the first line treatment and were switched to VPA due to lack of efficacy, 11 responded to VPA and achieved seizure freedom. Four out of the 6 patients refractory to VPA as well, were **still** able to achieve seizure freedom with another AED.

The poor outcome of non-responders to initial treatment might be another clinical example that seizures beget seizures [23]. But we cannot rule out that children, who do not respond to VPA, could also have a different form of epilepsy. For example it is known that frontal lobe epilepsy can mimic absence seizures and have a different outcome [24]. We therefore intend to study the genetic background of this cohort to search for seizure susceptibility genes as well as genes implicated in pharmacoresistance.

In summary, the main difference in our study, compared to those looking at drug responsiveness, is that we chose to look at the clinical outcome in a group of patients with a homogeneous disorder (i.e. CAE) and a single treatment. A number of studies included patients with all types of epilepsies and then subdivided them into each category [3,7,21], which diminishes the power of the statistical analysis.

As our maximum age at follow up was 18 years old, one might argue that this might be insufficient to assess complete remission because it is well known that AS can still remit at a later age [11]. However, the primary purpose of this study was to evaluate the initial response to VPA. In addition, our study suffers from certain biases and limits. First, it is a hospital-based study including patients followed in a specialized epilepsy clinic and therefore a selection bias toward refractory patients is expected. Some patients with CAE might not come to our center or are seen in the new diagnosis clinic but then followed by their pediatrician or family doctor, so seizure and epilepsy outcome were not available. The latter explanation was observed in 20 patients that were excluded. If we hypothesize that these patients were all well controlled on VPA, it could have increased our responder rate from 62.2 to 66.0%. We do realize that this calculation is highly speculative but it is only to illustrate the impact of the choice of the epilepsy clinic for the study. This bias therefore limits the generalization of our results to the general population or children with CAE. Also, we did not take into consideration race and ethnicity data because these data are not readily available in the patient's files. It would have been interesting to have this information since it is known that race and ethnicity can have an impact on response and adverse effects to certain drugs [25]. Also, one of our four predictors of poor response to VPA is the pre-treatment seizure frequency. This can be misleading since it is a variable that cannot be precisely measured retrospectively. But we believe that the amounts of seizures that are missed are low in proportion to the number of seizures that are reported. Thus, by categorizing the variable, we can speculate that the underestimation can be considered equal in both groups (low and high seizures frequency). Finally, it is possible that our sample was not homogeneous because some of the patients might have been miss diagnosed as having CAE but in fact had JAE or CAE leading to JME witch might

have a distinct profile and are known to be more severe cases of epilepsy than simple CAE.

## **Conclusion**

In conclusion, we found that the factors predicting resistance to VPA were a younger age at time of diagnosis, a higher seizure frequency prior to treatment and the presence of GTC seizures. We now need to determine if these children have a different genetic profile than responders, as this might help us guide treatment and improve long-term outcome.

## **Acknowledgements**

This study was supported by a grant from the Savoy Foundation (LC, MK) and a studentship from the Centre de Recherche du CHU Ste-Justine (MLO). We confirm that we have read the Journal's position on issues involved in ethical publication and affirm that this report is consistent with those guidelines.

## References

- [1] Kwan, P., Brodie, M.J. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med* 2000;**342**:314-9.
- [2] Brodie, M.J. Diagnosing and predicting refractory epilepsy. *Acta Neurol Scand Suppl* 2005;**181**:36-9.
- [3] Sillanpaa, M., Schmidt, D. Natural history of treated childhood-onset epilepsy: prospective, long-term population-based study. *Brain* 2006;**129**:617-624.
- [4] Camfield, P.R., Camfield, C.S., Gordon, K., Dooley, J.M. If a first antiepileptic drug fails to control a child's epilepsy, what are the chances of success with the next drug? *J Pediatr* 1997;**131**:821-824.
- [5] Wirrell, E., Camfield, C., Camfield, P., Dooley, J. Prognostic significance of failure of the initial antiepileptic drug in children with absence epilepsy. *Epilepsia* 2001;**42**:760-3.
- [6] Berg, A.T., Shinnar, S., Levy, S.R., Testa, F.M., Smith-Rapaport, S., Beckerman, B. Early development of intractable epilepsy in children: a prospective study. *Neurology* 2001;**56**:1445-1452.
- [7] Kwong, K.L., Sung, W.Y., Wong, S.N., So, K.T. Early predictors of medical intractability in childhood epilepsy. *Pediatr Neurol* 2003;**29**:46-52.
- [8] Wolf, P., Inoue, Y. Therapeutic response of absence seizures in patients of an epilepsy clinic for adolescents and adults. *J Neurol* 1984;**231**:225-229.
- [9] Ko, T.S., Holmes, G.L. EEG and clinical predictors of medically intractable childhood epilepsy. *Clin Neurophysiol* 1999;**110**:1245-1251.
- [10] Hauser, W.A. The prevalence and incidence of convulsive disorders in children. *Epilepsia* 1994;**35 Suppl 2**:S1-6.
- [11] Loiseau, P., Duche, B., Pedespan, J.M. Absence epilepsies. *Epilepsia* 1995;**36**:1182-6.

- [12] Duncan, J.S. Idiopathic generalized epilepsies with typical absences. *J Neurol* 1997;**244**:403-411.
- [13] Crunelli, V., Leresche, N. Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nat Rev Neurosci* 2002;**3**:371-82.
- [14] Steriade, M., Amzica, F. Sleep oscillations developing into seizures in corticothalamic systems. *Epilepsia* 2003;**44 Suppl 12**:9-20.
- [15] Steriade, M. Sleep, epilepsy and thalamic reticular inhibitory neurons. *Trends Neurosci* 2005;**28**:317-324.
- [16] Brodie, M.J., Dichter, M.A. Antiepileptic drugs. *N Engl J Med* 1996;**334**:168-175.
- [17] Perucca, E. The management of refractory idiopathic epilepsies. *Epilepsia* 2001;**42 Suppl 3**:31-5.
- [18] Glauser, T., Ben-Menachem, E., Bourgeois, B., Cnaan, A., Chadwick, D., Guerreiro, C., et al. ILAE treatment guidelines: evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia* 2006;**47**:1094-1120.
- [19] Sillanpaa, M. Remission of seizures and predictors of intractability in long-term follow-up. *Epilepsia* 1993;**34**:930-936.
- [20] ILAE. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 1989;**30**:389-399.
- [21] Collaborative Group for the Study of Epilepsy. Prognosis of epilepsy in newly referred patients: a multicenter prospective study of the effects of monotherapy on the long-term course of epilepsy. *Epilepsia* 1992;**33**:45-51.
- [22] Dlugos, D.J., Sammel, M.D., Strom, B.L., Farrar, J.T. Response to first drug trial predicts outcome in childhood temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2001;**57**:2259-64.

[23] Lynch, M.W., Rutecki, P.A., Sutula, T.P. The effects of seizures on the brain. *Curr Opin Neurol* 1996;**9**:97-102.

[24] Prevost, J., Lortie, A., Nguyen, D., Lassonde, M., Carmant, L. Nonlesional frontal lobe epilepsy (FLE) of childhood: clinical presentation, response to treatment and comorbidity. *Epilepsia* 2006;**47**:2198-2201.

[25] Bjornsson, T.D., Wagner, J.A., Donahue, S.R., Harper, D., Karim, A., Khouri, M.S., et al. A review and assessment of potential sources of ethnic differences in drug responsiveness. *J Clin Pharmacol* 2003;**43**:943-967.

## **Disclosure of conflict of interest**

We have nothing to disclose.

## Figure legends

**Figure 1. Outcome of patients included in the study.** R represents the group of patients who responded to VPA and NR represents patients who did not respond to VPA treatment. The percentage represents the relative percentage of patients within the group that are present in each outcome category with the specific n for each group indicated on top of each bar.

## Tables

**Table 1.** *Univariate comparison of categorical variables between responders and non responders*

Factors	Responders (n=112)	Non responders (n=68)	Odds Ratio (OR)	CI <sub>95%</sub> for OR	p Value
Male gender (%)	46.4	36.8	1.49	0.80-2.76	0.204
Prematurity (%)	8.0	5.9	0.72	0.21-3.37	0.769
Prenatal history (%)	6.3	10.3	1.70	0.57-5.09	0.335
Family history of epilepsy (%)	42.3	50.0	1.36	0.74-2.50	0.318
Febrile convulsions (%)	15.3	8.8	0.54	0.20-1.43	0.208
Learning disability (%)	36.0	41.2	1.24	0.67-2.31	0.492
ADD or ADHD (%)	35.1	45.6	1.56	0.84-2.86	0.164
VPA blood concentration within therapeutic range (%)	77.6	66.7	1.74	0.75-4.01	0.195
Presence of other seizure types (%)					
GTCS	13.4	33.8	3.30	1.58-6.93	0.001
Myoclonic	4.5	5.9	1.34	0.35-5.16	0.731
Both	0	1.5	1.02	0.99-1.04	0.378
Either	17.9	38.2	2.85	1.43-5.66	0.002
Seizure frequency = 10/day before treatment (%)	27.0	52.9	3.04	1.61-5.73	<0.001
Long term seizure freedom (%)	98.0	61.4	30.49	6.81-136.34	<0.001

CI, confidence interval; Prenatal history, problems that occurred during the pregnancy; ADD, attention deficit disorder; Family history of epilepsy, diagnosis of epilepsy in a first or second degree relative; ADHD, attention deficit disorder with hyperactivity; VPA, Valproic acid; GTCS, generalized tonic clonic seizures.

**Table 2. Influence of time factors on response to VPA**

	Responders (n=112)		Non-responders (n=68)		p value
	Mean (SD)	Range (y, mo)	Mean (SD)	Range (y, mo)	
Age at onset of absences (years)	6.71 (2.89)	0.58-14.25	5.49 (2.78)	0.08-12.00	0.006
Age at diagnosis (years)	7.55 (2.95)	0.75-14.67	6.11 (2.72)	1.33-12.00	0.001
Age at onset of therapy (years)	7.58 (2.97)	0.75-14.67	6.16 (2.72)	1.33-12.00	0.001
Delay between start of seizures and treatment (months)	10.44 (15.22)	0.00-6.67	8.05 (11.79)	0.00-5.00	0.240

SD, standard deviation; y, years; mo, months.

**Table 3. Multivariable logistic regression analysis results for response to VPA**

Variable	Coefficients	P value	Adjusted odds ratio (OR <sub>A</sub> )	CI <sub>95%</sub> for OR <sub>A</sub>
Seizure frequency = 10/day before treatment	1.19	<0.001	3.296	1.73-6.27
Presence of GTCS	1.46	<0.001	4.324	1.92-9.74
Age at diagnosis	-0.19	<0.001	0.830	0.78-0.89

CI, confidence interval; GTCS, generalized tonic clonic seizures.

**Table 4. Clinical variables linked to long term seizure freedom**

Variable	Seizure free (n=132)	Not seizure free (n=24)	P value
Response to VPA (%)	73.5	8.3	<0.001
Presence of GTCS (%)	18.2	45.8	0.003
Number of other AEDs taken (mean)	0.8	2.4	<0.001

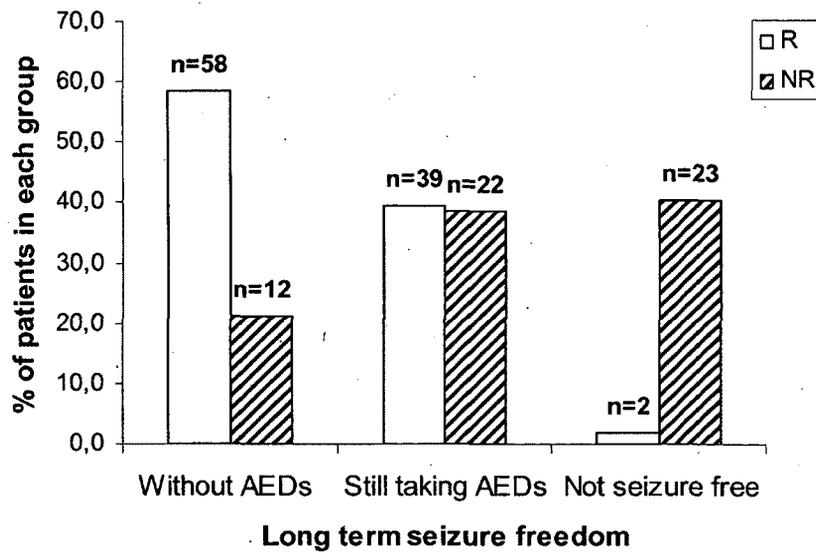
VPA, Valproic acid; GTCS, generalized tonic clonic seizures; AEDs, anti-epileptic drugs.

**Table 5. Alternative treatments in patients who did not respond to VPA**

Treatment	N tried	Response			Total
		Monotherapy	+1 <sup>a</sup>	+2 <sup>b</sup>	
Ethosuximide (Zarontin)	49	8 (16.3%)	8 (16.3%)	2 (4.1%)	18 (36.7%)
Lamotrigine (Lamictal)	44	4 (9.1%)	10 (22.7%)	2 (4.5%)	16 (36.3%)
Clobazam (Frisium)	16	1 (6.2%)	2 (12.5%)	0 (0.0%)	3 (18.7%)
Topiramate (Topamax)	7	1 (14.3%)	0 (0.0%)	1 (14.3%)	2 (28.6%)
Clonazepam (Rivotril)	17	1 (5.9%)	0 (0.0%)	1 (5.9%)	2 (11.8%)
Levetiracetam (Keppra)	12	0 (0.0%)	2 (16.7%)	0 (0.0%)	2 (16.7%)
Nitrazepam (Mogadon)	2	0 (0.0%)	1 (50.0%)	0 (0.0%)	1 (50.0%)
Acétazolamide (Diamox)	6	0 (0.0%)	1 (16.7%)	0 (0.0%)	1 (16.7%)
Cabamazépine (Tégretol)	10	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1 (10.0%)	1 (10.0%)
Zonisamide (Zonegran)	2	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Oxcarbazepine (Trileptal)	1	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Pregabalin (Lyrica)	1	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Vigabatrin (Sabril)	1	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

<sup>a</sup>Addition of one other drug.<sup>b</sup>Addition of two other drugs.

## Figure



**Figure 1.** Outcome of patients included in the study.

## Chapitre 6. Résultats Génétiques

### 6.1 Composition de l'échantillon

Le recrutement des patients dans l'étude des facteurs génétiques a été effectué au CHU Sainte-Justine entre le 1<sup>er</sup> mai 2007 et le 30 juin 2008. Un total de 56 patients qui répondaient à nos critères d'inclusion et d'exclusion ont été sollicités lors de la période de recrutement. Certains ont été vus lors de leur visite de routine avec le neurologue et d'autres sont venus suite à une prise de rendez-vous avec un membre de l'équipe de recherche. De ces 56 patients, 51 (91 %) ont accepté de participer à l'étude. Les patients étaient âgés entre 3 et 18 ans lors du recrutement. Nous avons également inclus 32 patients qui provenaient de la base de données génétiques sur l'épilepsie du Dr Cossette. L'échantillon total pour la partie génétique du projet de recherche est donc composé de 83 patients. De ces 83 patients, 72 étaient caucasiens et 11 étaient d'origines diverses (5 d'origine latino-américaine, 3 d'origine moire et 3 venant du arabe/asiatique occidental<sup>†</sup>).

Trente-sept des 83 participants étaient non-répondants à l'AV. Les caractéristiques de l'échantillon sont présentées au tableau IV. Nous pouvons constater que les répondants étaient en moyenne 16 mois plus âgés que les non-répondants au début des crises. Le groupe des non-répondants comptait également une proportion plus élevée de patients qui présentaient une fréquence élevée des crises avant le traitement (= 10/jour).

---

<sup>†</sup> Les catégories sont reprises telles que définies par Statistique Canada dans le recensement de 2006.

**Tableau IV. Comparaisons entre les répondants et les non-répondants**

Facteurs	Répondants - Non-répondants		P
	(n=46)	(n=37)	
Mâles (%)	50,0	37,8	0,268
Origine caucasienne (%)	89,1	83,8	0,528
Prématurité (%)	8,7	16,2	0,329
Complications prénatales (%)	8,7	10,8	1,000
Histoire familiale d'épilepsie (%)	45,7	54,1	0,447
Convulsions fébriles (%)	15,2	10,8	0,747
Trouble d'apprentissage (%)	39,1	51,4	0,266
TDA ou TDAH (%)	39,1	43,2	0,705
Présence d'autres types de crises (%)			
GTCS	13,0	27,0	0,108*
Myoclonies	8,7	8,1	0,924
GTCS ou myoclonies	21,7	29,7	0,405
GTCS et myoclonies	0,0	5,4	0,196
Fréquence élevée des crises avant le traitement (= 10/jour) (%)	28,3	45,9	0,096*
Age au début des crises (années ; é-t)	6,4 (3,0)	5,1 (2,5)	0,034*
Age au diagnostic (années ; é-t)	7,2 (3,1)	5,8 (2,3)	0,020*
Délai entre le début des crises et le début du traitement (mois ; é-t)	9,5 (16,1)	9,1 (11,8)	0,893

TDA, trouble de déficit d'attention ; TDAH, trouble de déficit d'attention avec hyperactivité ; GTCS, crises généralisées tonico-cloniques ; é-t, écart-type.

\* Variables qui ont été testées dans le modèle de régression logistique.

## 6.2 Génotypage

Nous avons effectué l'analyse de multiples polymorphismes de deux enzymes du CYP soit les CYP2C9 et CYP2C19. Aucun patient n'a présenté les formes \*3, \*4, \*5 et \*6 pour le CYP2C19 et les données ne sont donc pas présentées pour ces polymorphismes. De plus, aucun patient n'était homozygote pour les divers polymorphismes. Les distributions des génotypes pour les CYP2C9 et 2C19 sont présentées au tableau V.

**Tableau V.** Fréquences des génotypes des CYP2C9 et CYP2C19 présents dans chaque groupe

Génotype	N	Répondants	Non-répondants	OR	IC <sub>95%</sub>	p
<b>CYP2C9</b>						
*1/*1	60	31 (67,4 %)	29 (78,4 %)	1	-	-
*1/*2	15	9 (19,6 %)	6 (16,2 %)	0,796	0,26-2,48	0,693
*1/*3	8	6 (13,0 %)	2 (5,4 %)	0,381	0,07-2,01	0,241
*2/*2	0	0	0	N/A	N/A	N/A
*3/*3	0	0	0	N/A	N/A	N/A
*2 ou *3	23	15 (32,6 %)	8 (21,6 %)	0,482	0,17-1,35	0,160
<b>CYP2C19</b>						
*1/*1	59	38 (82,6 %)	21 (56,8 %)	1	-	-
*1/*2	24	8 (17,4 %)	16 (43,2 %)	3,619	1,33-9,86	0,010*
*2/*2	0	0	0	N/A	N/A	N/A

IC, intervalle de confiance; OR, odds ratio; N/A, non applicable car OR ne peut être calculé.

\* Variables qui ont été testées dans le modèle de régression logistique.

Comme nous nous y attendions, la majorité de nos patients étaient homozygotes pour les CYP2C9\*1 et CYP2C19\*1 (72,3 % et 71,1 % respectivement). Nous n'avons retrouvé aucune différence significative dans la distribution des génotypes du CYP2C9 entre les répondants et les non-répondants. Par contre, nous avons pu identifier une différence significative entre ces deux groupes concernant le CYP2C19. Les individus qui présentaient une copie de l'allèle \*2 de ce gène étaient plus susceptibles de ne pas répondre à l'AV (43,2 % comparativement à 17,4 % chez les répondants,  $p=0,01$ ). Nous pouvons donc dire que le génotype du CYP2C19 est associé à la non-réponse à l'AV avec un rapport de cotes de 3,6 ( $IC_{95\%}=1,3-9,9$ ).

Nous avons vu que l'ethnie peut affecter la fréquence des polymorphismes dans une population et cela peut avoir biaisé nos résultats. Nous avons donc refait l'analyse en n'incluant que les 71 caucasiens afin d'éliminer l'ethnie comme facteur confondant. Dans cette nouvelle analyse, nous avons obtenu un nouveau rapport de cotes de 3,8 ( $IC_{95\%}=1,3-10,7$ ) donc la relation entre la présence du CYP2C19\*2 et la réponse à l'AV est encore existante (20,0 % dans le groupe de répondants comparativement à 48,4 % dans le groupe de non-répondants,  $p=0,01$ ). Les résultats

des ces deux analyses étant similaires nous avons décidé de garder le groupe entier pour les analyses subséquentes.

Les mesures de concentrations plasmatiques d'AV ont été retrouvées dans les dossiers de 77 patients. Il n'y avait pas de données concernant le dosage sanguin chez 6 patients donc ils n'ont pu être inclus dans cette analyse. Nous avons pris les premiers dosages effectués chez nos patients afin d'évaluer l'influence des polymorphismes sur les concentrations sanguines d'AV et pour voir si cela influençait la réponse. Les résultats concernant les concentrations sanguines ont été ajustés selon le poids et la dose prise au moment du prélèvement sanguin et sont présentés au tableau VI. Nous n'avons pas vu de différences significatives concernant les concentrations sanguines entre les divers groupes. Cela nous montre donc que les polymorphismes testés ici n'ont pas eu d'influences majeures sur le taux sérique de l'AV.

**Tableau VI.** Lien entre polymorphismes et concentrations sanguines en fonction de la réponse à l'AV

Génotype	Concentrations sanguines moyennes		p
	Répondants µmol/L (é-t)	Non-répondants µmol/L (é-t)	
<b>CYP2C9</b>			
*1/*1 (n=56)	29,4 (11,7)	30,6 (16,7)	0,758
*1/*2 (n=15)	20,8 (7,0)	23,8 (9,3)	0,482
*1/*3 (n=6)	35,1 (11,5)	27,4 (0,0)	0,576
*2 ou *3 (n=21)	25,9 (11,0)	24,4 (8,6)	0,749
<b>CYP2C19</b>			
*1/*1 (n=56)	27,9 (12,5)	27,6 (8,3)	0,924
*1/*2 (n=21)	30,0 (5,3)	31,9 (23,2)	0,819
<b>Présence de polymorphisme</b>			
Oui (n=41)	27,1 (9,5)	29,1 (19,2)	0,665
Non (n=36)	29,4 (13,1)	29,4 (7,8)	0,996

é-t : écart-type

Finalement, nous avons effectué une analyse de régression logistique multiple afin d'évaluer l'effet combiné du génotype et des variables cliniques et socio-

démographiques sur la réponse à l'AV. Nous avons inclus dans cette analyse toutes les variables pour lesquelles la valeur p était inférieure à 0,15 lors des analyses bivariées (variables marquées d'une étoile dans les tableaux IV et V). Par la suite, nous avons procédé à une élimination à rebours (backward) manuelle afin d'obtenir un modèle de régression logistique multiple simplifié.

Selon le modèle final, l'âge au diagnostic ainsi que le génotype du CYP2C19 sont les variables qui influencent le plus la réponse à l'AV dans notre échantillon car ce sont les seules variables qui sont demeurées significatives au seuil de signification de 5 % (Tableau VII). Nous avons choisi de conserver l'âge au diagnostic comme seule variable temporelle car toutes les variables reliées à l'âge étaient inter-reliées et un biais de mémoire peut affecter l'évaluation de l'âge du début des crises tel que rapporté par les parents du patient. Nous pouvons donc dire que la présence du CYP2C19\*2 ainsi qu'un plus jeune âge au diagnostic (ou au début des crises) sont associés à un plus haut risque de non-réponse à l'AV.

**Tableau VII.** Modèle de régression logistique multiple

Variable	Coefficients	P	OR ajusté (OR <sub>A</sub> )*	IC <sub>95%</sub> autour de OR <sub>A</sub>
Age au diagnostic	-0,10	0,008	0,907**	0,84-0,98
Génotype du CYP2C19	1,24	0,011	3,463	1,34-8,97

OR, odds ratio; IC, intervalle de confiance.

\* Risque associé à la variable lorsque l'autre variable est tenue constante.

\*\* Rapport de cotes associé à 1 année supplémentaire.

### **6.3 Influence du génotype sur la réponse aux traitements alternatifs**

Au total, 24 patients présentaient la forme polymorphique \*2 du CYP2C19. De ceux-ci, 16 (66,7 %) n'ont pas répondu à l'AV. En regardant à plus long terme dans les dossiers des patients, nous avons pu voir que 10 de ces 16 patients (62,5 %) ont répondu soit à un autre agent anti-épileptique où à une combinaison d'anti-épileptiques. Les réponses de ces patients aux divers traitements sont présentées au tableau VIII. Le fait que deux tiers des patients qui présentent l'allèle CYP2C19\*2 répondent à un traitement suggère que la présence de cet allèle n'influence pas la réponse à tous les traitements mais uniquement à l'AV. Donc, nous pourrions suggérer que si un patient présente cet allèle, il pourrait être plus bénéfique que son médecin le traite avec un agent autre que l'AV. D'un autre côté, huit patients (33,3 %) qui présentent cet allèle n'ont répondu à aucun autre traitement anti-épileptique et ils continuent à subir des crises. De plus, malgré l'absence de l'allèle CYP2C19\*2, certains patients ne répondent tout de même pas à l'AV. Ceci met l'accent sur le fait que la résistance aux traitements est un phénomène multifactoriel et il faudrait donc plusieurs autres variables afin de prédire avec plus de certitude les patients qui ne répondront pas à l'AV.

**Tableau VIII.** Réponse aux autres anti-épileptiques chez les patients présentant le CYP2C19\*2 et qui n'ont pas répondu à l'AV

AE	N essayé*	N qui ont répondu	
		Monothérapie**	Polythérapie***
Ethosuximide	15	2	2
Lamotrigine	12	1	3
Clobazam	3	1	2
Cabamazepine	2	0	0
Topiramate	1	0	0
Clonazepam	4	1	0
Acetazolamide	2	0	0
Levitiracetam	4	0	0

AE, agent anti-épileptique.

\*Ce chiffre représente le nombre total de patients qui ont essayé ce traitement peu importe le résultat. Par exemple, un patient qui a tenté un traitement au topiramate et qui n'y a pas répondu est présenté dans la colonne N essayé. Si par la suite il a tenté et répondu au traitement à l'ethosuximide, il est présenté comme une des 15 personnes dans la colonne N essayé et est l'un des 2 patients qui y ont répondu en monothérapie.

\*\*Représente le nombre de patients qui ont répondu à cet agent anti-épileptique seul.

\*\*\*Représente le nombre de patients qui ont répondu à ce traitement en combinaison avec un ou plusieurs autres. Cinq patients ont répondu à une combinaison d'agents. Deux ont répondu au lamotrigine et ethosuximide, deux ont répondu au clobazam et à l'AV et un à répondu à une combinaison de lamotrigine et AV.

## Chapitre 7. Discussion

### 7.1 Discussion des résultats cliniques

L'objectif premier de l'étude était d'identifier les variables cliniques associées à la non-réponse à l'AV chez des enfants présentant un diagnostic d'EIGA. Dans notre échantillon, nous avons un taux de non-réponse à l'AV de 32,2 %, ce qui est légèrement plus élevé que le taux dans la population générale qui est de 25% (Duncan, 1997 ; Wirrell et al., 2001) mais comparable à celui rapporté dans d'autres études effectuées en milieu hospitalier (Collaborative Group for the Study of Epilepsy, 1992; Kwan & Brodie, 2000; Wirrell et al., 2001; Wolf & Inoue, 1984).

Cette étude nous a permis d'identifier trois facteurs cliniques liés à la non-réponse à l'AV. Ces facteurs comprennent la présence de GTCS, une fréquence élevée des crises avant le traitement (=10/jour) et l'âge au moment du diagnostic. Ces facteurs sont fréquemment retrouvés dans la littérature comme étant des facteurs qui influencent le pronostic de l'EIGA (Loiseau et al., 1995; Wirrell et al., 2001). La présence de GTCS est reconnue pour diminuer les chances de rémission chez les patients qui présentent des absences (Loiseau et al., 1995; Wolf & Inoue, 1984). Un plus jeune âge au début des crises a également été considéré comme un facteur pouvant affecter la réponse aux agents anti-épileptiques (Kwong et al., 2003). Une étude a démontré que les patients qui répondent au premier traitement sont en moyenne 17 mois plus vieux lors du début de crises que les non-répondants (Camfield et al., 1997). Dans cette étude, les patients étaient en moyenne 17,3 mois plus vieux au moment du diagnostic et 14,6 mois plus vieux au début du traitement. Nous avons choisi de ne conserver que l'âge au diagnostic comme variable temporelle car elle est

moins biaisée que l'âge au début du traitement qui repose sur la mémoire des parents. L'étude de Wirrell et coll. (Wirrell et al., 2001), une des études majeures sur la réponse au premier traitement chez les enfants avec EIGA, n'a pas démontré de lien entre l'âge au début des crises et la réponse au premier traitement. Par contre cette étude incluait trois traitements différents (AV, CBZ ou ESM) et nous pensons que cela a peut-être masqué l'effet de certaines variables qui pourraient être significatives pour un traitement mais pas pour un autre. Dans notre cas, 90,6 % (163/180) de nos patients ont été traités à l'AV comme premier traitement et l'âge au début du traitement demeure prédictif de la réponse à l'AV chez ce sous-groupe de patients ( $p=0,012$ ). Finalement, certaines études (Collaborative Group for the Study of Epilepsy, 1992; Kwan & Brodie, 2000) ont déjà corrélé le nombre de crises avant le début du traitement à une plus faible réponse aux agents antiépileptiques. Ces études étaient en mesure de compter le nombre exact de crises avant le traitement car les patients présentaient d'autres types de crises épileptiques (GTCS, myoclonies ou crises partielles complexes) qui pouvaient ne pas être remarquées par l'entourage de la personne. Par contre, les crises d'absences sont très brèves et, dans la majorité des cas, ne présentent pas de signes évidents et peuvent très bien passer inaperçues. De plus, il est difficile de savoir avec exactitude le moment précis où les crises ont débuté donc nous ne pouvons pas compter le nombre total de crises avant le traitement. Voilà pourquoi nous avons décidé de catégoriser la variable ( $\geq 10/\text{jour}$  et  $< 10/\text{jour}$ ). Nous sommes conscients que cette variable comporte ses limites car elle est rapportée par les parents et donc un possible biais de mémoire peut être introduit en plus du biais d'information lié au fait que toutes les crises d'absences ne peuvent être documentées. Cette méthode a tout de même déjà été utilisée et associée à un mauvais pronostic (Berg et al., 2001).

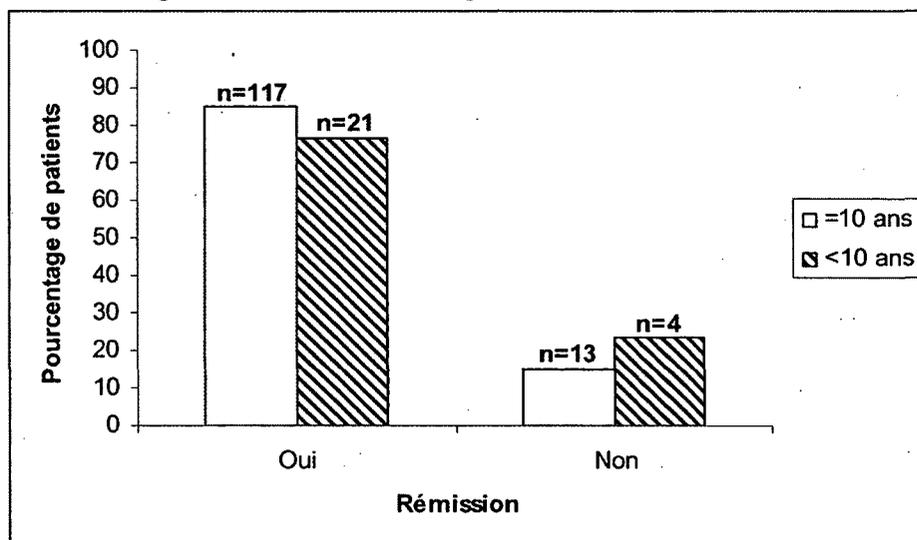
Nous avons pu obtenir des informations sur l'évolution de l'épilepsie chez 155 de nos 180 patients. Ces informations comportaient l'utilisation d'autres agents anti-épileptiques chez les non-répondants, la durée totale de la prise de l'AV ou des autres agents, l'arrêt des traitements et le pronostic final. Pour les 25 autres patients, toute l'information n'était pas disponible car le traitement était trop récent pour pouvoir parler du pronostic à long terme. Normalement, pour pouvoir désigner un patient comme étant en rémission, le neurologue doit avoir suivi le patient pendant au moins deux ans après l'arrêt complet du traitement. Par contre, au CHUSJ, les neurologues suivent leurs patients pendant quelques mois suivant l'arrêt du traitement puis leur demande de revenir les voir uniquement si les crises recommencent. Donc si un patient n'est pas revenu, nous pouvons supposer que les crises ne se sont pas manifestées à nouveau. Ceci n'est toutefois pas une certitude car ils ont pu aller voir un autre neurologue sans que nous le sachions. Les termes communément utilisés dans la littérature (rémission de 2 ou 5 ans (Arts et al., 2004)) ne pouvaient donc pas être applicables à notre étude et nous avons décidé de parler de patients sans crises. Nous avons ensuite subdivisé ce groupe en deux : les patients qui ne présentaient plus de crises et ne prenaient plus d'agent anti-épileptique et les patients sans crise mais encore sous traitement.

Dans notre échantillon, nous remarquons que la réponse à l'AV est grandement associée à un bon pronostic à long terme car 98 % (97/99) des répondants à l'AV ont arrêté les crises d'absences. Les deux patients restants ont répondu à l'AV mais les crises ont recommencé une fois le traitement arrêté. Les crises ont disparu de nouveau avec la reprise de l'AV et ces patients demeurent donc répondants à l'AV. Des 97 patients qui ont répondu à l'AV et qui ne présentaient plus de crises, 58,6 % n'étaient plus sous traitement à l'AV lors de la collecte des données. Les 39 autres patients

continuaient à prendre l'AV malgré la disparition totale des crises. Cette poursuite du traitement s'explique soit par le fait que deux ans ne s'étaient pas écoulés depuis l'arrêt des crises ou par le choix du médecin de poursuivre le traitement au-delà de deux ans pour diminuer le risque de récurrence. Chez les patients qui n'ont pas répondu à l'AV, seulement 59,6 % (34/57) ont vu leurs crises disparaître. Lors de la collecte des données, douze de ces patients (35,3 %) avaient arrêté leur traitement et 22 (64,4 %) continuaient à prendre des agents anti-épileptiques autres que l'AV. Les 23 autres patients du groupe des non-répondants continuaient à subir des crises d'absences malgré l'essai de plusieurs agents anti-épileptiques en monothérapie ou même en polythérapie. Nous voyons donc que la réponse à l'AV est un facteur qui semble prédire un meilleur pronostic à long terme. Par contre, il est possible que les patients qui n'ont pas répondu à l'AV et pour qui les absences ont débuté après l'âge de 10 ans aient une forme différente d'épilepsie telle que les absences idiopathiques juvéniles qui sont reconnues pour avoir un moins bon pronostic à long terme (Bartolomei et al., 1997; Loiseau et al., 1995). La figure 2 démontre que les patients pour lesquels l'épilepsie a débuté après l'âge de 10 ans présentent un moins haut taux de rémission que les patients pour lesquels l'épilepsie a débutée avant l'âge de 10 ans.

Nous avons pu identifier trois facteurs en lien avec la disparition des crises soit l'absence de GTCS, la réponse à l'AV et l'utilisation d'un faible nombre de divers agents anti-épileptiques. L'influence de ces facteurs doit quand même être prise avec un certain recul car ces données ne sont pas disponibles au moment du diagnostic. Par contre, les cliniciens peuvent utiliser ces variables pour conseiller leurs patients à propos des issues possibles à long terme de leur épilepsie.

Figure 2. Pourcentage de rémission selon l'âge au début des crises



## 7.2 Discussion des résultats génétiques

Nous avons effectué l'analyse des polymorphismes les plus communs des gènes codants pour les enzymes du CYP2C9 et CYP2C19. Les fréquences des allèles mineurs chez les caucasiens dans notre étude sont comparables à celles qui ont été précédemment rapportées dans des cohortes européennes (Anderson, 2004; Bertrand-Thiebault et al., 2008; Lee et al., 2002; Piper, 2004; Scordo et al., 2001).

Le taux de réponse à l'AV se situe généralement aux alentours de 75 % dans la population générale (Hauser, 1994). Dans notre échantillon de l'étude génétique, ce taux était de 55,4 % ce qui est légèrement inférieur mais qui peut être attendu d'une étude effectuée en milieu hospitalier surspécialisé. L'échantillon ici représente un sous-échantillon de l'échantillon global de l'étude clinique. Nous y retrouvons une plus grande proportion de non-répondants mais cette différence n'est pas statistiquement significative. Lorsque nous comparons les patients qui ont été inclus dans l'analyse génétique à ceux qui ont été exclus de cette analyse (tableau IX), nous

ne remarquons aucune différence significative quant aux variables cliniques et socio-démographiques.

Nous avons trouvé un lien positif entre la présence du CYP2C19\*2 et la non-réponse à l'AV. Cette corrélation demeure à élucider. Comme nous l'avons déjà mentionné, la présence de ce polymorphisme induit une diminution de la capacité enzymatique donc une réduction du métabolisme de l'AV. Nous aurions donc pu croire que la présence de cet allèle causerait une diminution du métabolisme de l'AV et donc une augmentation de la fraction en circulation et par conséquent du taux sérique. Ceci devrait donc avoir pour effet d'augmenter la réponse et non de la réduire.

**Tableau IX.** Comparaison des deux sous-échantillons du projet

Facteurs	Échantillon	Échantillon	p
	inclus (n=83)	non inclus (n=97)	
Réponse à l'AV (%)	55,4	67,1	0,111
Mâles (%)	44,6	43,3	0,862
Prématurité (%)	12,0	5,2	0,095
Complications prénatales (%)	9,6	8,2	0,744
Histoire familiale d'épilepsie (%)	49,4	42,3	0,338
Convulsions fébriles (%)	13,3	12,4	0,860
Trouble d'apprentissage (%)	44,6	33,0	0,110
TDA ou TDAH (%)	41,0	38,1	0,699
Présence d'autres types de crises (%)			
GTCS	19,3	23,7	0,472
Myoclonies	8,4	4,1	0,229
GTCS ou myoclonies	25,3	27,8	0,701
GTCS et myoclonies	2,4	0,0	0,994
Fréquence élevée des crises avant le traitement (= 10/jour) (%)	36,1	36,0	1,000
Age au début des crises (années ; é-t)	5,85 (2,88)	6,48 (2,93)	0,232
Age au diagnostic (années ; é-t)	6,61 (2,85)	7,26 (2,98)	0,193
Délai entre le début des crises et le début du traitement (mois ; é-t)	9,38 (14,26)	9,72 (13,81)	0,837

AV, acide valproïque ; TDA, trouble de déficit d'attention ; TDAH, trouble de déficit d'attention avec hyperactivité ; GTCS, crises généralisées tonico-cloniques ; é-t, écart-type.

Le rôle exact des enzymes du CYP sur le métabolisme de l'AV n'est pas très bien connu. Certains suggèrent que ces enzymes ne jouent qu'un rôle mineur dans l'élimination de l'AV (Perucca, 2002; Rettie, Rettenmeier, Howald, & Baillie, 1987). Dans notre étude, nous avons vu que la présence de polymorphismes n'a pas eu d'influences majeures sur les concentrations sanguines d'AV. Cela pourrait donc suggérer l'influence mineure des CYP sur le métabolisme de l'AV tel que décrit dans la littérature. Par contre, nous avons trouvé un lien entre la présence de CYP2C19 \*2 et la non-réponse à l'AV avec un rapport de cotes plutôt élevé (OR=3,6). Donc si la présence de l'allèle n'affecte pas la concentration d'AV qui circule dans le sang et qu'on voit une influence sur la réponse, nous pourrions penser que le sous-groupe de patients qui présentent cet allèle a un phénotype particulier qui le rend plus susceptible de ne pas répondre à l'AV. Le polymorphisme serait donc une variable intermédiaire ou un marqueur de la vraie variable qui influence directement la réponse à l'AV.

Plusieurs possibilités de phénotype particulier de ce sous-groupe qui présente l'allèle CYP2C19\*2 pourraient expliquer leur plus faible taux de réponse à l'AV. Premièrement, une des voies majeures d'élimination de l'AV se fait par l'enzyme Uridine 5'-diphospho-glucuronosyltransferase (UGT). Ces patients pourraient donc avoir un génotype particulier pour cet enzyme qui pourrait influencer la concentration sanguine de l'AV. Deuxièmement, ces patients pourraient avoir certaines mutations au niveau des transporteurs de l'AV au cerveau. Les mutations des transporteurs pourraient expliquer le fait que les concentrations sanguines soient les mêmes dans les divers groupes mais que les concentrations au niveau du cerveau pourraient possiblement être diminuées, entraînant donc une plus faible réponse. Troisièmement, il se peut que les patients qui ne répondent pas à l'AV présentent des mutations au

niveau des récepteurs ciblés par l'AV empêchant la molécule de se lier à sa cible pour induire une réponse.

Lors du calcul de la taille de l'échantillon requise pour l'étude génétique nous avons déterminé qu'il nous faudrait recruter 219 patients, soit 55 non-répondants et 164 répondants, pour détecter un rapport de cotes de 2,5 ou plus avec un niveau de signification fixé à 5 % et une puissance de 80 %. Malheureusement, malgré tous nos efforts, nous n'avons recruté que 46 répondants et 37 non-répondants. Nous avons tout de même pu détecter un rapport de cotes de 3,6 pour le CYP2C19\*2, une valeur très supérieure à ce que nous voulions être en mesure de détecter. Nous admettons toutefois que notre puissance statistique était beaucoup plus faible pour la détection des relations plus faibles entre les polymorphismes du CYP2C9 et la non-réponse à l'AV. Ces relations devraient être étudiées de nouveau avec un plus grand échantillon.

En conclusion, cette étude démontre pour la première fois le lien entre le polymorphisme \*2 du CYP2C19 et la non-réponse à l'AV chez les enfants atteints d'EIGA. Par contre, la réponse aux agents anti-épileptiques est un phénomène multifactoriel et il faudrait d'autres variables pour donner un aperçu plus global du phénomène. Parmi ces autres variables pourraient se retrouver des facteurs cliniques, socio-démographiques ainsi que d'autres variables génétiques telles que des mutations des transporteurs ou des cibles thérapeutiques au niveau du cerveau.

### **7.3 Forces et limites de l'ensemble de l'étude**

Dans notre étude, nous avons trouvé un taux de non-réponse à l'AV de 62,2 % pour l'échantillon global et de 55,4 % pour le sous-échantillon génétique. Ces taux sont plus élevés que ceux retrouvés dans la littérature. Il y a trois possibilités qui

peuvent expliquer ce résultat. Premièrement, il a été démontré que les taux de réponse au traitement dans des études effectuées dans les hôpitaux sont généralement inférieurs à ceux obtenus dans les études effectuées dans la population générale car les patients qui sont bien contrôlés ne sont généralement pas vus dans les cliniques hospitalières (Collaborative Group for the Study of Epilepsy, 1992; Kwan & Brodie, 2000; Wirrell et al., 2001; Wolf & Inoue, 1984). Deuxièmement, certaines études considèrent que le traitement est efficace si le patient démontre uniquement une diminution des crises (Kwong et al., 2003; Sillanpaa & Schmidt, 2006). Dans notre étude, notre plus haut taux de non-réponse pourrait être expliqué par nos critères plus stricts car si le patient continuait à subir des crises (soit spontanées ou au moment de l'hyperventilation) ou que son EEG demeurait anormal il était automatiquement considéré comme non-répondant. Troisièmement, les patients qui sont moins bien contrôlés sont vus plus souvent par leurs neurologues et sont plus enclins à participer à un projet de recherche qui tente d'expliquer pourquoi ils ne répondent pas au traitement. Ceci aurait donc pu causer un biais d'auto-sélection dans notre étude.

Au départ, nous avions comme objectif de recruter 219 patients soit 55 non-répondants et 164 répondants. Pour l'échantillon clinique, nous avons obtenu 180 patients (68 non-répondants et 112 répondants). Malgré le fait que l'objectif global de recrutement n'ait pas été atteint, nous avons tout de même réussi à recruter plus de non-répondants que ce qui était prévu au départ. C'est donc au niveau des répondants qu'il y a une lacune car nous n'avons recruté que 112 des 164 projetés. De plus, tout l'échantillon clinique n'a malheureusement pas pu être inclus dans l'analyse des polymorphismes car nous n'avons réussi à recruter que 83 patients pour l'étude génétique (37 non-répondants et 46 répondants). Ce chiffre est bien loin de ce que

nous avons estimé au départ malgré le fait que de nombreuses stratégies aient été mises en place pour améliorer le taux de recrutement.

Au départ, le recrutement se faisait via les neurologues du CHU qui suggéraient à l'équipe de recherche des patients potentiels. Par la suite, un membre de l'équipe de recherche allait voir le dossier du patient afin de vérifier que celui-ci répondait bien à nos critères de sélection. Par la suite, le patient était vu lors de son prochain rendez-vous afin d'obtenir son consentement et la collecte du matériel biologique. Par contre, les patients pour qui l'épilepsie est sous contrôle ne sont vus qu'une fois par année à la clinique de neurologie du CHUSJ. Il se peut donc que nous ayons raté le rendez-vous annuel de certains patients. Une méthode complémentaire de recrutement constituait à faire la revue des rapports d'EEG des dernières années afin d'identifier des patients qui présentaient des pointes-ondes de 3 Hz, ce qui est cohérent avec un diagnostic d'EIGA. Ce procédé était tout de même discriminatoire car nous avions plus de chances de trouver des non-répondants qui continuaient à présenter un EEG anormal. En effet, un traitement efficace entraîne généralement une normalisation de l'EEG, donc moins d'EEG anormaux pour les répondants. Ces méthodes de recrutement expliquent donc pourquoi nous avons un nombre presque égal de répondants et de non-répondants dans notre échantillon pour l'étude des facteurs génétiques comparativement au taux de réponse à l'AV d'environ 75 % retrouvé dans la littérature (Duncan, 1997). Il est néanmoins important de noter que puisque nous n'avions pas comme objectif d'estimer la prévalence de non-réponse à l'AV mais plutôt d'en identifier les facteurs associés, la différence entre notre ratio répondants/non-répondants et les valeurs retrouvées dans la littérature ne constitue pas un biais en soi.

Nous avons tout de même tenté de recruter plus de répondants en passant en revue les dossiers des patients qui, cette fois, présentaient un EEG normal afin de voir s'ils présentaient auparavant des pointes-ondes de 3 Hz et rencontraient nos critères de sélection. La majorité des patients qui présentaient un EEG normal avaient reçu leur congé et n'avaient plus de rencontres avec leurs neurologues. Nous avons obtenu l'approbation du CÉR du CHUSJ afin de contacter directement ces patients par téléphone et cédule une rencontre avec l'équipe de recherche pour leur participation à l'étude. Ceci nous a permis de recruter environ une quinzaine de patients supplémentaires. Nous avons également procédé à une méthode plus directe de recrutement qui consistait à se rendre à la clinique de neurologie du CHUSJ les jours où les neurologues voient leurs patients. Un membre de l'équipe de recherche passait en revue les dossiers des patients qui allaient être vus cette journée là afin d'identifier les patients qui répondaient à nos critères de sélection. Le participant potentiel était donc vu la journée même pour le recrutement. Finalement, comme dernière tentative de recrutement nous avons contacté le Dr Patrick Cossette, qui possède une banque de données génétiques sur l'épilepsie dans son laboratoire au CHUM Notre-Dame. Il a accepté de nous fournir directement l'ADN de patients qui répondaient à nos critères de sélection. Ceci nous a permis d'ajouter une vingtaine de patients à notre échantillon mais ceux-ci étaient surtout des patients difficiles à traiter. En somme, malgré tous nos efforts, nous avons recruté moins de la moitié des patients que nous voulions ce qui diminue la puissance statistique de notre étude.

Ce projet de recherche utilisait un devis rétrospectif via l'étude des dossiers. Ceci pourrait amener un biais d'information puisque les dossiers ne sont pas toujours complets et certaines données peuvent être manquantes. De plus, une de nos variables potentiellement prédictive de la non-réponse est la fréquence des crises avant le

traitement. Cette donnée peut comporter une double erreur car elle est basée uniquement sur une information dont les parents doivent se souvenir (biais de rappel) puis l'information est notée dans le dossier du patient (biais d'information). Nous nous sommes également basés uniquement sur les données recueillies dans les dossiers pour classer nos sujets selon leur réponse à l'AV. Il pourrait y avoir ici une erreur de classification des sujets car il se peut que le médecin traitant n'ait pas laissé assez de temps au patient pour répondre à l'AV avant de changer son traitement. Nous avons tout de même essayé de minimiser ce biais en ne prenant que les patients qui avaient été traités pendant au moins deux mois à l'AV. En général, ce délai est suffisant pour obtenir une concentration plasmatique constante et laisser agir la drogue dans le cerveau. Finalement, il pourrait y avoir un biais de confusion car il se peut qu'un facteur que nous n'avons pas pris en compte lors de l'analyse des données vienne influencer la réponse à l'AV. Ce serait très certainement le cas pour l'analyse génétique car nous ne pouvons pas expliquer la forte relation en le génotype du CYP2C19 et la non-réponse à l'AV puisque le résultat que nous avons obtenu est contraire à celui auquel nous nous attendions. Nous croyions que le fait d'avoir cet allèle augmenterait la réponse mais en fait il la diminue. Il se peut donc que les patients ayant ce polymorphisme aient en fait un profil différent de ceux qui ne présentent pas cet allèle ce qui les rend plus susceptibles de ne pas répondre à l'AV. Tous ces biais possibles viennent influencer la validité interne de l'étude.

En ce qui concerne la validité externe, cette étude a été effectuée dans un milieu clinique surspécialisé. Le bassin de population desservie n'est donc pas forcément représentatif de tous les patients de l'ensemble du Québec. De plus, ce ne sont pas tous les enfants avec EIGA qui sont vus dans les centres hospitaliers car ils sont parfois suivis par leurs médecins de famille. Dans plusieurs cas, ceux qui sont

suivis par leur médecin de famille ont une épilepsie qui est facilement contrôlée avec un seul agent anti-épileptique ce qui n'est souvent pas le cas dans les centres hospitaliers. Ces deux facteurs viennent donc affecter la validité externe de cette étude car notre échantillon n'est pas forcément représentatif de la population générale des enfants atteints d'EIGA à travers le Québec et encore moins si on se compare au reste du Canada.

Malgré la présence de plusieurs biais possibles dus à la nature du devis choisi, une des forces majeures de l'étude est que nous avons tenté de sélectionner un groupe de patients le plus homogène possible. Tous les patients avaient été diagnostiqués du même type d'épilepsie et avaient reçus le même médicament comme traitement. L'EIGA est considéré comme un type d'épilepsie avec une étiologie très similaire entre les patients et le fait de regarder la réponse à un seul traitement limite les possibles biais de confusion qu'aurait pu entraîner l'inclusion de plusieurs traitements. Une autre force réside également dans la sélection très stricte de la variable dépendante, soit la réponse au traitement. Nous considérons un patient comme répondant uniquement s'il ne présentait plus de crises ni spontanées ni lors de l'hyperventilation et que son EEG était normal. Plusieurs études considèrent uniquement une diminution des crises comme une réponse au traitement (Kwong et al., 2003; Sillanpaa & Schmidt, 2006). Également, nous avons examiné le problème de la non-réponse à l'AV sous divers angles : cliniques, génétiques et sociodémographiques. Pour chaque facette, nous utilisons plusieurs variables de prédiction. Nous avons donc essayé d'inclure le plus de variables possibles afin de maximiser nos chances de trouver des facteurs qui expliqueraient la non-réponse à l'AV.

## Chapitre 8. Conclusion

Cette étude nous a donc permis d'identifier certains facteurs qui sont associés à la non-réponse à l'AV chez une population d'enfants atteints d'EIGA. Ces facteurs sont une fréquence des crises élevées avant le traitement (=10/jour), la présence de GTCS, un plus jeune âge au moment du diagnostic et finalement la présence de l'allèle \*2 du gène du CYP2C19. Cette identification de facteurs pourrait nous permettre, à long terme, d'individualiser le traitement des enfants se présentant avec un nouveau diagnostic d'EIGA en distinguant, a priori, les patients qui ne répondront probablement pas de ceux qui seront bien contrôlés à l'AV.

La non-réponse aux agents anti-épileptiques est un problème multifactoriel et très complexe donc, malgré le fait que nous avons réussi à identifier certaines variables associées à la non-réponse à l'AV, il serait important d'approfondir l'étude de ce problème afin de trouver d'autres variables qui nous permettraient de prédire avec plus d'exactitude les patients qui ne répondront pas à l'AV. Dans le futur, il serait donc intéressant d'étudier l'influence d'autres gènes impliqués dans la biodisponibilité au niveau du cerveau, le mode d'action, le métabolisme et l'élimination de l'AV.

## Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier les patients et leurs familles pour leur participation car, sans eux, cette étude n'aurait pas été possible. J'aimerais également remercier mes co-directeurs, les docteurs Marie-France Dubois, Lionel Carmant et Maja Krajinovic pour leur soutien incommensurable tout au long de mon cheminement. Il est important de souligner l'appui du Dr Patrick Cossette dans la collecte des échantillons d'ADN des patients ainsi que des neurologues du CHU Sainte-Justine pour l'identification des patients. J'ai pu bénéficier d'un soutien financier de la Fondation Savoy, de la Fondation de l'Hôpital Sainte-Justine ainsi que de la Fondation de la recherche sur les maladies infantiles. Ces apports ont été essentiels pour la réalisation de cette étude. Enfin, je tiens à remercier ma famille pour son soutien et son appui inconditionnel.

## Bibliographie

- Anderson, G. D. (2002). Children versus adults: Pharmacokinetic and adverse-effect differences. *Epilepsia*, 43 Suppl 3, 53-59.
- Anderson, G. D. (2004). Pharmacogenetics and enzyme induction/inhibition properties of antiepileptic drugs. *Neurology*, 63(10 Suppl 4), S3-8.
- Ansari, M., & Krajcinovic, M. (2007). Pharmacogenomics of acute leukemia. *Pharmacogenomics*, 8(7), 817-834.
- Arts, W. F., Brouwer, O. F., Peters, A. C., Stroink, H., Peeters, E. A., Schmitz, P. I., et al. (2004). Course and prognosis of childhood epilepsy: 5-year follow-up of the dutch study of epilepsy in childhood. *Brain : A Journal of Neurology*, 127(Pt 8), 1774-1784.
- Avanzini, G., de Curtis, M., Franceschetti, S., Sancini, G., & Spreafico, R. (1996). Cortical versus thalamic mechanisms underlying spike and wave discharges in GAERS. *Epilepsy Research*, 26(1), 37-44.
- Bartolomei, F., Roger, J., Bureau, M., Genton, P., Dravet, C., Viallat, D., et al. (1997). Prognostic factors for childhood and juvenile absence epilepsies. *European Neurology*, 37(3), 169-175.
- Berg, A. T., Shinnar, S., Levy, S. R., Testa, F. M., Smith-Rapaport, S., & Beckerman, B. (2001). Early development of intractable epilepsy in children: A prospective study. *Neurology*, 56(11), 1445-1452.
- Bertrand-Thiebault, C., Berrahmoune, H., Thompson, A., Marie, B., Droesch, S., Siest, G., et al. (2008). Genetic polymorphism of CYP2C19 gene in the stanislas cohort. A link with inflammation. *Annals of Human Genetics*, 72(Pt 2), 178-183.  
doi:10.1111/j.1469-1809.2007.00417.x

- Biton, V. (2003). Effect of antiepileptic drugs on bodyweight: Overview and clinical implications for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs*, 17(11), 781-791.
- Bourgeois, S., & Labuda, D. (2004). Dynamic allele-specific oligonucleotide hybridization on solid support. *Analytical Biochemistry*, 324(2), 309-311.
- Brodie, M. J. (2005). Diagnosing and predicting refractory epilepsy. *Acta Neurol Scand Suppl*, 181, 36-9.
- Brodie, M. J., & Dichter, M. A. (1996). Antiepileptic drugs. *The New England Journal of Medicine*, 334(3), 168-175.
- Buck, M. L. (1997). Valproic acid in the treatment of pediatric seizures. *Pediatric Pharmacotherapy*, 3(3)
- Burneo, J. G., & McLachlan, R. S. (2007). Treating newly diagnosed epilepsy: The canadian choice. *The Canadian Journal of Neurological Sciences. Le Journal Canadien Des Sciences Neurologiques*, 34(2), 230-236.
- Burton, B. S. (1882). On the propyl derivatives and decomposition products of ethylacetoacetate. *Journal of American Chemistry*, 3, 385-395.
- Camfield, P. R., Camfield, C. S., Gordon, K., & Dooley, J. M. (1997). If a first antiepileptic drug fails to control a child's epilepsy, what are the chances of success with the next drug? *The Journal of Pediatrics*, 131(6), 821-824.
- Carraz, G., Fau, R., Chateau, R., & Bonnin, J. (1964). Communication concerning 1st clinical tests of the anticonvulsive activity of N-dipropylacetic acid (sodium salt). [COMMUNICATION 'A PROPOS DES PREMIERS ESSAIS CLINIQUES SUR L'ACTIVITE ANTI-'EPILEPTIQUE DE L'ACIDE N-DIPROPYLAC'ETIQUE (SEL DE NA)] *Annales Medico-Psychologiques*, 122, 577-585.

- Collaborative Group for the Study of Epilepsy. (1992). Prognosis of epilepsy in newly referred patients: A multicenter prospective study of the effects of monotherapy on the long-term course of epilepsy. *Epilepsia*, 33(1), 45-51.
- Coppola, G., Auricchio, G., Federico, R., Carotenuto, M., & Pascotto, A. (2004). Lamotrigine versus valproic acid as first-line monotherapy in newly diagnosed typical absence seizures: An open-label, randomized, parallel-group study. *Epilepsia*, 45(9), 1049-53.
- Covanis, A., Skiadas, K., Loli, N., Lada, C., & Theodorou, V. (1992). Absence epilepsy: Early prognostic signs. *Seizure : The Journal of the British Epilepsy Association*, 1(4), 281-289.
- Crunelli, V., & Leresche, N. (2002). Childhood absence epilepsy: Genes, channels, neurons and networks. *Nat Rev Neurosci*, 3(5), 371-82.
- Davies, J. A. (1995). Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Seizure : The Journal of the British Epilepsy Association*, 4(4), 267-271.
- De Morais, S. M., Wilkinson, G. R., Blaisdell, J., Meyer, U. A., Nakamura, K., & Goldstein, J. A. (1994). Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (S)-mephenytoin metabolism in japanese. *Molecular Pharmacology*, 46(4), 594-598.
- de Morais, S. M., Wilkinson, G. R., Blaisdell, J., Nakamura, K., Meyer, U. A., & Goldstein, J. A. (1994). The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(22), 15419-15422.
- Depakene. valproic acid*

- Depondt, C. (2006). The potential of pharmacogenetics in the treatment of epilepsy. *European Journal of Paediatric Neurology : EJPN : Official Journal of the European Paediatric Neurology Society*, 10(2), 57-65.
- Duncan, J. S. (1997). Idiopathic generalized epilepsies with typical absences. *Journal of Neurology*, 244(7), 403-411.
- Duron, R. M., Medina, M. T., Martinez-Juarez, I. E., Bailey, J. N., Perez-Gosiengfiao, K. T., Ramos-Ramirez, R., et al. (2005). Seizures of idiopathic generalized epilepsies. *Epilepsia*, 46 Suppl 9, 34-47.
- Engel, J. J. (2001). A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: Report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia*, 42(6), 796-803.
- Épilepsie Canada. (2007). *Épidémiologie*. Retrieved 11/18, 2008, from <http://epilepsy.ca/fran/mainSetFR.html>
- Genton, P., & Bureau, M. (2006). Epilepsy with myoclonic absences. *CNS Drugs*, 20(11), 911-916.
- Gläuser, T., Ben-Menachem, E., Bourgeois, B., Cnaan, A., Chadwick, D., Guerreiro, C., et al. (2006). ILAE treatment guidelines: Evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia*, 47(7), 1094-1120.
- Glue, P., & Clement, R. P. (1999). Cytochrome P450 enzymes and drug metabolism-- basic concepts and methods of assessment. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 19(3), 309-323.
- Goldstein, J. A., & de Morais, S. M. (1994). Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily. *Pharmacogenetics*, 4(6), 285-299.

- Grosso, S., Galimberti, D., Vezzosi, P., Farnetani, M., Di Bartolo, R. M., Bazzotti, S., et al. (2005). Childhood absence epilepsy: Evolution and prognostic factors. *Epilepsia*, 46(11), 1796-801.
- Hamandi, K., Salek-Haddadi, A., Laufs, H., Liston, A., Friston, K., Fish, D. R., et al. (2006). EEG-fMRI of idiopathic and secondarily generalized epilepsies. *NeuroImage*, 31(4), 1700-1710. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.02.016
- Hashimoto, Y., Otsuki, Y., Odani, A., Takano, M., Hattori, H., Furusho, K., et al. (1996). Effect of CYP2C polymorphisms on the pharmacokinetics of phenytoin in Japanese patients with epilepsy. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 19(8), 1103-1105.
- Hauser, W. A. (1994). The prevalence and incidence of convulsive disorders in children. *Epilepsia*, 35 Suppl 2, S1-6.
- Hitiris, N., & Brodie, M. J. (2005). Evidence-based treatment of idiopathic generalized epilepsies with older antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 46 Suppl 9, 149-53.
- ILAE. (1989). Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. commission on classification and terminology of the international league against epilepsy. *Epilepsia*, 30(4), 389-399.
- Kerb, R., Aynacioglu, A. S., Brockmoller, J., Schlagenhauser, R., Bauer, S., Szekeres, T., et al. (2001). The predictive value of MDR1, CYP2C9, and CYP2C19 polymorphisms for phenytoin plasma levels. *The Pharmacogenomics Journal*, 1(3), 204-210.
- Kiang, T. K., Ho, P. C., Anari, M. R., Tong, V., Abbott, F. S., & Chang, T. K. (2006). Contribution of CYP2C9, CYP2A6, and CYP2B6 to valproic acid metabolism in hepatic microsomes from individuals with the CYP2C9\*1/\*1 genotype.

*Toxicological Sciences : An Official Journal of the Society of Toxicology*, 94(2),  
261-271. doi:10.1093/toxsci/kfl096

- Kimura, M., Ieiri, I., Mamiya, K., Urae, A., & Higuchi, S. (1998). Genetic polymorphism of cytochrome P450s, CYP2C19, and CYP2C9 in a Japanese population. *Ther Drug Monit*, 20(3), 243-7.
- Krajinovic, M., & Moghrabi, A. (2004). Pharmacogenetics of methotrexate. *Pharmacogenomics*, 5(7), 819-834.
- Krishna, D. R., & Klotz, U. (1994). Extrahepatic metabolism of drugs in humans. *Clinical Pharmacokinetics*, 26(2), 144-160.
- Kwan, P., & Brodie, M. J. (2000). Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med*, 342(5), 314-9.
- Kwong, K. L., Sung, W. Y., Wong, S. N., & So, K. T. (2003). Early predictors of medical intractability in childhood epilepsy. *Pediatr Neurol*, 29(1), 46-52.
- LEBRETON, S., CARRAZ, G., MEUNIER, H., & BERIEL, H. (1964). Pharmacodynamic properties of 2,2-dipropylacetic acid. 2nd report on its anti-epileptic properties. [PROPRIETES PHARMACODYNAMIQUES DE L'ACIDE N-DIPROPYLAC'ETIQUE. DEUXI'EME M'EMOIRE SUR LES PROPRIETES ANTI'EPILEPTIQUES] *Therapie*, 19, 451-456.
- Lee, C. R., Goldstein, J. A., & Pieper, J. A. (2002). Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: A comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics*, 12(3), 251-263.
- Linder, M. W., Looney, S., Adams, J. E., 3rd, Johnson, N., Antonino-Green, D., Lacefield, N., et al. (2002). Warfarin dose adjustments based on CYP2C9 genetic polymorphisms. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 14(3), 227-232.

- Loiseau, P., Duche, B., & Pedespan, J. M. (1995). Absence epilepsies. *Epilepsia*, 36(12), 1182-6.
- Loscher, W. (1993). Effects of the antiepileptic drug valproate on metabolism and function of inhibitory and excitatory amino acids in the brain. *Neurochemical Research*, 18(4), 485-502.
- Loscher, W. (1999). Valproate: A reappraisal of its pharmacodynamic properties and mechanisms of action. *Progress in Neurobiology*, 58(1), 31-59.
- Loscher, W. (2002). Basic pharmacology of valproate: A review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs*, 16(10), 669-694.
- Luo, H. R., Poland, R. E., Lin, K. M., & Wan, Y. J. (2006). Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C19 in mexican americans: A cross-ethnic comparative study. *Clin Pharmacol Ther*, 80(1), 33-40.
- MacDonald, B. K., Johnson, A. L., Goodridge, D. M., Cockerell, O. C., Sander, J. W., & Shorvon, S. D. (2000). Factors predicting prognosis of epilepsy after presentation with seizures. *Annals of Neurology*, 48(6), 833-841.
- Mamiya, K., Ieiri, I., Shimamoto, J., Yukawa, E., Imai, J., Ninomiya, H., et al. (1998). The effects of genetic polymorphisms of CYP2C9 and CYP2C19 on phenytoin metabolism in japanese adult patients with epilepsy: Studies in stereoselective hydroxylation and population pharmacokinetics. *Epilepsia*, 39(12), 1317-23.
- McLean, M. J., & Macdonald, R. L. (1986). Sodium valproate, but not ethosuximide, produces use- and voltage-dependent limitation of high frequency repetitive firing of action potentials of mouse central neurons in cell culture. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 237(3), 1001-1011.
- Meunier, H., Carraz, G., Meunier, Y., Eymard, P., & Aimard, M. (1963). Pharmacodynamic properties of N-dipropylacetic acid. *Therapie*, 18, 435-438.

- Nadler, B., & Shevell, M. I. (2008). Childhood absence epilepsy requiring more than one medication for seizure control. *The Canadian Journal of Neurological Sciences. Le Journal Canadien Des Sciences Neurologiques*, 35(3), 297-300.
- Odani, A., Hashimoto, Y., Otsuki, Y., Uwai, Y., Hattori, H., Furusho, K., et al. (1997). Genetic polymorphism of the CYP2C subfamily and its effect on the pharmacokinetics of phenytoin in Japanese patients with epilepsy. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 62(3), 287-292.
- Olson, B. (2004). Treatment of refractory epilepsy. *Adv Stud Med*, 5(5B), S470-S473.
- Organisation mondiale de la Santé. (2001). *Epilepsie: étiologie, épidémiologie et pronostic*. Retrieved 11/18, 2008, from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs165/fr/>
- Panayiotopoulos, C. P. (1997). A comprehensive clinical review of absence epilepsies. In J. J. & P. Engel T.A. (Ed.), *Epilepsy: A comprehensive textbook* (pp. 2327-2346). Philadelphia: Lippincott-Raven.
- Panayiotopoulos, C. P. (2001). Treatment of typical absence seizures and related epileptic syndromes. *Paediatric Drugs*, 3(5), 379-403.
- Panayiotopoulos, C. P. (2005). Idiopathic generalized epilepsies: A review and modern approach. *Epilepsia*, 46 Suppl 9, 1-6.
- Perucca, E. (2001). The management of refractory idiopathic epilepsies. *Epilepsia*, 42 Suppl 3, 31-5.
- Perucca, E. (2002). Pharmacological and therapeutic properties of valproate: A summary after 35 years of clinical experience. *CNS Drugs*, 16(10), 695-714.
- Peterson, G. M., & Naunton, M. (2005). Valproate: A simple chemical with so much to offer. *J Clin Pharm Ther*, 30(5), 417-21.

- Pijl, H., & Meinders, A. E. (1996). Bodyweight change as an adverse effect of drug treatment. mechanisms and management. *Drug Safety : An International Journal of Medical Toxicology and Drug Experience*, 14(5), 329-342.
- Piper, M. A. (2004). *Special report: Genotyping for cytochrome P450 polymorphisms to determine drug-metabolizer status* No. 19)
- Rettiè, A. E., Rettenmeier, A. W., Howald, W. N., & Baillie, T. A. (1987). Cytochrome P-450--catalyzed formation of delta 4-VPA, a toxic metabolite of valproic acid. *Science (New York, N.Y.)*, 235(4791), 890-893.
- Rosemary, J., Surendiran, A., Rajan, S., Shashindran, C. H., & Adithan, C. (2006). Influence of the CYP2C9 AND CYP2C19 polymorphisms on phenytoin hydroxylation in healthy individuals from south india. *Indian J Med Res*, 123(5), 665-70.
- Samardzija, M., Topic, E., Stefanovic, M., Zibar, L., Samardzija, G., Balen, S., et al. (2008). Association of CYP2C9 gene polymorphism with bleeding as a complication of warfarin therapy. *Collegium Antropologicum*, 32(2), 557-564.
- Scordo, M. G., Aklillu, E., Yasar, U., Dahl, M. L., Spina, E., & Ingelman-Sundberg, M. (2001). Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C9 in a caucasian and a black african population. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 52(4), 447-450.
- Semah, F., & Ryvlin, P. (2005). Can we predict refractory epilepsy at the time of diagnosis? *Epileptic Disord*, 7 Suppl 1, 10-3.
- Sillanpaa, M., & Schmidt, D. (2006). Natural history of treated childhood-onset epilepsy: Prospective, long-term population-based study. *Brain : A Journal of Neurology*, 129(Pt 3), 617-624.

- Silva, M. F., Aires, C. C., Luis, P. B., Ruiten, J. P., Ijlst, L., Duran, M., et al. (2008). Valproic acid metabolism and its effects on mitochondrial fatty acid oxidation: A review. *Journal of Inherited Metabolic Disease*,
- Steriade, M. (2005). Sleep, epilepsy and thalamic reticular inhibitory neurons. *Trends in Neurosciences*, 28(6), 317-324.
- Steriade, M., & Amzica, F. (2003). Sleep oscillations developing into seizures in corticothalamic systems. *Epilepsia*, 44 Suppl 12, 9-20.
- Szoeke, C. E., Newton, M., Wood, J. M., Goldstein, D., Berkovic, S. F., O'Brien, T. J., et al. (2006). Update on pharmacogenetics in epilepsy: A brief review. *Lancet Neurology*, 5(2), 189-196.
- Taguchi, M., Hongou, K., Yagi, S., Miyawaki, T., Takizawa, M., Aiba, T., et al. (2005). Evaluation of phenytoin dosage regimens based on genotyping of CYP2C subfamily in routinely treated Japanese patients. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 20(2), 107-112.
- Valentin, A., Hindocha, N., Osei-Lah, A., Fisniku, L., McCormick, D., Asherson, P., et al. (2007). Idiopathic generalized epilepsy with absences: Syndrome classification. *Epilepsia*, 48(11), 2187-2190.
- van der Weide, J., & Steijns, L. S. (1999). Cytochrome P450 enzyme system: Genetic polymorphisms and impact on clinical pharmacology. *Ann Clin Biochem*, 36 ( Pt 6), 722-9.
- van der Weide, J., Steijns, L. S., van Weelden, M. J., & de Haan, K. (2001). The effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement. *Pharmacogenetics*, 11(4), 287-291.

- Wirrell, E., Camfield, C., Camfield, P., & Dooley, J. (2001). Prognostic significance of failure of the initial antiepileptic drug in children with absence epilepsy. *Epilepsia*, 42(6), 760-3.
- Wiwanitkit, V. (2006). Pharmacogenomic effect of cytochrome P450 2C9 polymorphisms in different populations. *Clin Appl Thromb Hemost*, 12(2), 219-22.
- Wolf, P., & Inoue, Y. (1984). Therapeutic response of absence seizures in patients of an epilepsy clinic for adolescents and adults. *Journal of Neurology*, 231(4), 225-229.
- Zaccara, G., Messori, A., & Moroni, F. (1988). Clinical pharmacokinetics of valproic acid--1988. *Clinical Pharmacokinetics*, 15(6), 367-389.

## **Annexe 1**

## Formulaire d'informations et de consentement



CHU Sainte-Justine  
Le centre hospitalier  
universitaire mère-enfant

*Pour l'amour des enfants*

Université   
de Montréal

**Titre :** La pharmacogénomique des absences épileptiques réfractaires (AER) chez l'enfant.

**Chercheur principal :** Dr Lionel Carmant, Neurologue

**Chercheurs associés :** Dre Maya Krajinovic, Chercheure  
Dr Patrick Cossette, Chercheur

**Collaborateurs internes :** May Lissa Ollivier, étudiante à la maîtrise

**Source de financement :** Ce projet est financé par la Fondation Savoy

### **Sollicitation de la participation :**

Le département de neurologie participe à des projets de recherche dans le but d'améliorer les traitements chez les enfants souffrant d'épilepsie. Nous sollicitons aujourd'hui la participation de votre enfant qui est atteint d'épilepsie idiopathique généralisée avec absence et qui a été traité à l'acide valproïque pendant au moins 2 mois. Nous vous invitons à lire ce formulaire d'information afin de décider si vous êtes intéressé(e) à ce que votre enfant participe à cette étude.

### **1. Description du projet de recherche**

L'épilepsie idiopathique généralisée avec absence (EIGA) est une des formes les plus fréquentes d'épilepsie chez l'enfant. Les crises d'absences sont contrôlées par un médicament, l'acide valproïque (AV) chez 75% des enfants. Pour les autres enfants, le médicament est inefficace ou entraîne des effets secondaires qui limitent son utilisation. Ce projet de recherche vise à comprendre pourquoi certains enfants ne répondent pas bien ou pas du tout à l'AV. Nous allons étudier si des facteurs cliniques, génétiques et sociodémographiques influencent la réponse au médicament. Environ 218 enfants suivis au CHU Sainte Justine participeront à cette recherche.

## **2. Déroulement du projet de recherche**

### **2.1 Nature de votre participation**

Cette étude nécessitera un prélèvement sanguin qui s'effectuera lors de la visite de routine de votre enfant et en même temps que les prises de sang requises pour le suivi de votre enfant. La quantité de sang nécessaire pour cette étude est de 5 ml. Si aucune prise sanguine n'est prévue, nous effectuerons un prélèvement de salive. Les autres informations pertinentes à l'étude (cliniques et sociodémographiques) seront tirées directement du dossier médical de votre enfant.

### **2.2 Durée du projet de recherche**

Le projet nécessitera la participation de votre enfant pour une seule rencontre d'une durée de 15 à 20 minutes.

### **2.3 Envergure du projet de recherche**

Cette étude est une étude locale qui ne vise que l'hôpital Ste Justine de Montréal.

### **2.4 Accès à votre dossier médical**

L'équipe de recherche consultera le dossier médical complet de votre enfant afin d'obtenir les informations pertinentes au projet de recherche (données cliniques et sociodémographiques). L'investigateur nécessitera l'accès au dossier médical pendant un an suivant son entrée dans l'étude.

### **2.5 Analyses génétiques**

Certaines analyses génétiques seront effectuées à partir des échantillons sanguins de votre enfant. L'ADN possède toutes les informations nécessaires pour fabriquer les outils indispensables au maintien, à la croissance et la multiplication de cellules. Les gènes sont des morceaux d'ADN qui permettent de fabriquer des protéines (ou enzymes). Les protéines sont nécessaires à la transformation de molécules y compris les médicaments. L'ADN sera donc extraite et des tests seront effectués afin de déceler certains changements dans les gènes qui pourraient affecter l'efficacité des protéines qui transforment l'acide valproïque. Les tests sont spécifiques à 2 gènes codant pour les enzymes UGT et CYP450. Ceux-ci sont spécifiques et ne permettront donc pas d'identifier d'autres mutations ni des maladies génétiques.

### **3. Conservation des échantillons d'ADN**

#### **3.1 Identification de l'échantillon**

Nous protégerons la confidentialité des échantillons en leur assignant un code spécifique. L'échantillon d'ADN de votre enfant ne sera pas identifié mais un code permettra de le lier à l'échantillon. Le décodage ne peut cependant être fait que par le chercheur principal ou par une personne déléguée par ce dernier.

#### **3.2 Durée de conservation**

Des échantillons d'ADN de votre enfant seront conservés à l'hôpital Ste Justine de Montréal, sous la responsabilité du Dr Lionel Carmant, jusqu'à 5 ans après la fin du projet de recherche. Après cette période, tous les échantillons seront détruits.

#### **3.3 Banque d'ADN**

Une fois l'ADN de votre enfant extrait, nous souhaiterions l'inclure dans une banque d'ADN. Cette banque permettra d'effectuer d'autres recherches dans le domaine de l'épilepsie et des maladies associées. Vous ne serez pas contactés pour redemander votre consentement pour les nouvelles études. Toutefois ces études devront être approuvées par le Comité d'Éthique de la Recherche. Les échantillons seront codés et seul le personnel de recherche pourra déchiffrer ce code. Ils seront conservés pour une durée de 15 ans. Nous permettez-vous d'inclure l'ADN de votre enfant dans cette banque?

Oui ou Non (encerclez votre réponse)      initiales \_\_\_\_\_

### **4. Bénéfices**

Vous et votre enfant ne retirerez aucun bénéfice personnel en participant au projet de recherche. Cependant, nous espérons que les résultats obtenus nous permettront d'améliorer le traitement des nouveaux patients avec diagnostic d'épilepsie idiopathique généralisée avec absences en permettant de personnaliser le traitement et de prescrire le médicament approprié au profil de l'enfant.

## **5. Risques**

### **5.1 Risques physiques**

Bien que les prises de sang ne causent pas de problèmes graves pour la plupart des gens, elles peuvent entraîner des saignements, des ecchymoses (bleus), une douleur au point de piqûre, des infections, des malaises, et/ou des étourdissements. Par contre, les prélèvements seront effectués lors d'une visite de routine au cours de laquelle des prises de sang sont déjà prévues.

### **5.2 Risques socio-économiques**

Un des risques associés au projet de recherche est lié à la divulgation des résultats ou de la participation de votre enfant, à des tiers. Le simple fait de participer à des projets de recherche en génétique pourrait, dans certains cas, compromettre ou diminuer les chances d'assurabilité de votre enfant (assurance-vie, invalidité ou santé) ou ses chances d'obtenir certains emplois, de même que celles de votre famille.

## **6. Confidentialité**

### **6.1 Sécurité des données**

Tous les renseignements obtenus sur votre enfant et les résultats de la recherche seront traités de façon confidentielle. Ces renseignements seront codés et placés en sécurité. Les dossiers sous étude seront conservés à l'hôpital Ste Justine de Montréal pendant 5 ans. De plus, toutes les données prélevées dans les dossiers médicaux ainsi que les résultats des analyses sanguines seront conservés, dans un dossier de recherche, également à l'hôpital Ste Justine sous la responsabilité du Dr Lionel Carmant. Les résultats de cette étude pourront être publiés ou communiqués lors de conférences mais aucune information pouvant identifier votre enfant ne sera alors révélée. Finalement, tous les renseignements obtenus sur votre enfant au cours de cette étude resteront confidentiels à moins d'une autorisation de votre part ou d'une exception de la loi.

### **6.2 Accès de tiers aux résultats**

À moins d'une autorisation de votre part, d'une ordonnance de la Cour ou de la loi, les résultats personnels de votre enfant ne seront pas accessibles à des tiers tels qu'un employeur, un organisme gouvernemental, un assureur ou une institution d'enseignement. Il en sera de même pour les autres membres de votre famille et votre médecin. Par

ailleurs, aux fins de vérifier la saine gestion de la recherche, il est possible qu'un membre du comité d'éthique ou qu'un représentant de Santé Canada consulte les données de recherche de votre enfant ainsi que son dossier médical.

### **6.3 Possibilité de commercialisation**

L'analyse de votre spécimen de sang ainsi que vos données pourrait contribuer à la création de produits commerciaux dont vous ne pourrez retirer aucun avantage financier.

### **7. Communication des résultats**

Vous pourrez communiquer avec l'équipe de recherche afin d'obtenir de l'information sur l'avancement des travaux ou sur les résultats généraux du projet de recherche. Les résultats de nos travaux vous seront communiqués par la poste, à la fin du projet de recherche. Cependant, nous ne vous communiquerons aucun résultat spécifique relatif à la condition génétique de votre enfant.

### **8. Service de conseil génétique**

Si vous le désirez, vous pourrez rencontrer un conseiller en génétique.

### **9. Liberté de participation et période de réflexion**

La participation de votre enfant est tout à fait libre et volontaire. Votre décision n'affectera pas la qualité des services de santé qui lui seront offerts. Vous pouvez prendre le temps de réfléchir et discuter de la participation à ce projet avec votre enfant et vos proches avant de nous donner une réponse. Par ailleurs, vous êtes libre de retirer votre enfant du projet de recherche en tout temps. Si tel est le cas, son échantillon d'ADN sera retracé et détruit.

### **10. Compensation pour dépenses encourues et inconvénients**

Les frais encourus en raison de votre participation ne vous seront pas remboursés.

### **11. Responsabilité civile**

En signant ce formulaire de consentement, vous ne renoncez pas à vos droits prévus par la loi ni à ceux de votre enfant. Par ailleurs, si vous

### 13. Consentement et assentiment

On m'a expliqué la nature et le déroulement du projet de recherche. J'ai pris connaissance du formulaire de consentement et on m'en a remis un exemplaire. J'ai eu l'occasion de poser des questions auxquelles on a répondu. Après réflexion, j'accepte que mon enfant participe à ce projet de recherche. J'autorise l'équipe de recherche à consulter le dossier médical de mon enfant pour obtenir les informations pertinentes à ce projet de recherche.

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Nom du parent ou tuteur légal

Prénom

Lien avec l'enfant : \_\_\_\_\_

Adresse : \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Tél. (maison) : \_\_\_\_\_

Tél. (travail) : \_\_\_\_\_

poste : \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Signature du parent ou du tuteur de l'enfant

Date

\_\_\_\_\_

Nom de l'enfant

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Signature de l'enfant

Date

(Si capable de comprendre la nature du projet)

Assentiment verbal de l'enfant incapable de signer mais capable de comprendre la nature du projet : oui \_\_\_\_ non \_\_\_\_

### 14. Traduction verbale

J'étais présent lors de la rencontre entre le membre de l'équipe de recherche et le participant et son parent (ou tuteur). J'ai traduit, pour le participant, le formulaire de consentement et les informations qui lui ont été transmises à propos du projet de recherche.

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Nom

Signature

Date

## 15. Engagement du chercheur

Le projet de recherche doit être décrit au participant et/ou à son parent/tuteur ainsi que les modalités de la participation. Un membre de l'équipe de recherche doit répondre à leurs questions et doit leur expliquer que la participation au projet de recherche est libre et volontaire. L'équipe de recherche s'engage à respecter ce qui a été convenu dans le formulaire de consentement.

\_\_\_\_\_  
Signature du chercheur

\_\_\_\_\_  
Date

\_\_\_\_\_  
Nom du chercheur (Lettres moulées)

\_\_\_\_\_  
Date

\_\_\_\_\_  
Signature de la personne qui a obtenu le consentement

\_\_\_\_\_  
Date

\_\_\_\_\_  
Nom de la personne qui a obtenu le consentement  
(Lettres moulées)

\_\_\_\_\_  
Date

Initiales parent \_\_\_\_\_

## **Annexe 2**

## Fiche Clinique

**No du patient :**

Date de Naissance	
Sexe	
Éthnie	
Prématurité	
Âge au début des crises	
Âge au diagnostic	
Âge au début du traitement	
Fréquence des crises	Avant traitement : Après traitement :
Autres types de crises	
Date de l'arrêt des crises	
Premier médicament donné	
Autre médication anti-épileptique	
Réponse à l'AV	
Taux sérique d'AV	
Poids et dose d'AV lors de prise de sang pour le taux sérique	
Rémission	
Antécédents familiaux d'épilepsie	
Convulsions fébriles	
Convulsions néonatales	
Histoire prénatale	
Histoire périnatale	
Trouvailles à l'EEG	
Niveau cognitif	
Examen neurologique	
Fonctions rénales	
Fonctions hépatiques	
Statut nutritionnel	
Co-morbidités	
Anomalies structurales	
Autres médicaments non reliées à l'épilepsie	

