UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

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

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

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

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

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE LORRAINE
2020

---

# FACULTE DE PHARMACIE

# THESE

Présentée et soutenue publiquement

le 29 septembre 2020 , sur un sujet dédié à :

## ANTI-EPILEPTIQUES ET GROSSESSE : ETUDE *EX-VIVO* DU PASSAGE TRANSPLACENTAIRE DE LA LAMOTRIGINE ET DU LEVETIRACETAM

pour obtenir

**le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

par Dalal MESSAOUDI

née le 28 décembre 1992

## Membres du Jury

**Président :** **Mme Brigitte LENINGER-MULLER**, Professeur des universités
**Directeur de thèse :** **Mme Déborah HIRT,** Maître de Conférences
**Co-directeur de thèse :** **Mme Caroline PERRIN-SARRADO**, Maître de conférences
**Juge :** **Mme Gabrielle LUI**, Ingénieur de recherche

# UNIVERSITE DE LORRAINE

**FACULTÉ DE PHARMACIE**

**Année universitaire 2019-2020**

***DOYEN***

Raphaël DUVAL

***Vice-Doyen***

Julien PERRIN

***Directrice des études***

Marie SOCHA

***Conseil de la Pédagogie***

Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER

Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT

***Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier***

Présidente, Béatrice DEMORE

***Commission Prospective Facultaire***

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

***Commission de la Recherche***

Présidente, Caroline GAUCHER

***Chargés de Mission***

| | |
|---|---|
| ***Communication*** | Aline BONTEMPS |
| ***Innovation pédagogique*** | Alexandrine LAMBERT |
| ***Référente ADE*** | Virginie PICHON |
| ***Référente dotation sur projet (DSP)*** | Marie-Paule SAUDER |
| ***Référent vie associative*** | Arnaud PALLOTTA |

***Responsabilités***

| | |
|---|---|
| ***Filière Officine*** | Caroline PERRIN-SARRADO<br>Julien GRAVOULET |
| ***Filière Industrie*** | Isabelle LARTAUD,<br>Jean-Bernard REGNOUF de VAINS |
| ***Filière Hôpital*** | Béatrice DEMORE<br>Marie SOCHA |
| ***Pharma Plus ENSIC*** | Jean-Bernard REGNOUF de VAINS |
| ***Pharma Plus ENSAIA*** | Xavier BELLANGER |
| ***Pharma Plus ENSGSI*** | Igor CLAROT |
| ***Cellule de Formation Continue et Individuelle*** | Luc FERRARI |
| ***Commission d'agrément des maîtres de stage*** | François DUPUIS |
| ***ERASMUS*** | Mihayl VARBANOV |

***DOYENS HONORAIRES***

Chantal FINANCE
Francine PAULUS
Claude VIGNERON

***PROFESSEURS EMERITES***

Jeffrey ATKINSON
Max HENRY
Pierre LEROY
Philippe MAINCENT
Claude VIGNERON

***PROFESSEURS HONORAIRES***

***MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES***

Jean-Claude BLOCK
Pierre DIXNEUF
Chantal FINANCE
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Pierre LABRUDE
Vincent LOPPINET
Alain NICOLAS
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

Monique ALBERT
Mariette BEAUD
François BONNEAUX
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Blandine MOREAU
Dominique NOTTER
Francine PAULUS
Christine PERDICAKIS
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Gabriel TROCKLE
Maria WELLMAN-ROUSSEAU
Colette ZINUTTI

***ASSISTANTS HONORAIRES***

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

| ***ENSEIGNANTS*** | *Section CNU** | *Discipline d'enseignement* |
|---|---|---|

***PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS***

| | | |
|---|---|---|
| Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ | *82* | *Thérapie cellulaire* |
| Béatrice DEMORE | *81* | *Pharmacie clinique* |
| Jean-Louis MERLIN | *82* | *Biologie cellulaire* |
| Jean-Michel SIMON | *81* | *Economie de la santé, Législation pharmaceutique* |
| Nathalie THILLY | *81* | *Santé publique et Epidémiologie* |

***PROFESSEURS DES UNIVERSITES***

| | | |
|---|---|---|
| Ariane BOUDIER | *85* | *Chimie Physique* |
| Christine CAPDEVILLE-ATKINSON | *86* | *Pharmacologie* |
| Igor CLAROT | *85* | *Chimie analytique* |
| Joël DUCOURNEAU | *85* | *Biophysique, Acoustique, Audioprothèse* |
| Raphaël DUVAL | *87* | *Microbiologie clinique* |
| Béatrice FAIVRE | *87* | *Hématologie, Biologie cellulaire* |
| Luc FERRARI | *86* | *Toxicologie* |
| Pascale FRIANT-MICHEL | *85* | *Mathématiques, Physique* |
| Christophe GANTZER | *87* | *Microbiologie* |
| Frédéric JORAND | *87* | *Eau, Santé, Environnement* |
| Isabelle LARTAUD | *86* | *Pharmacologie* |
| Dominique LAURAIN-MATTAR | *86* | *Pharmacognosie* |
| Brigitte LEININGER-MULLER | *87* | *Biochimie* |
| Patrick MENU | *86* | *Physiologie* |
| Jean-Bernard REGNOUF de VAINS | *86* | *Chimie thérapeutique* |
| Bertrand RIHN | *87* | *Biochimie, Biologie moléculaire* |

***MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS***

| | | |
|---|---|---|
| Alexandre HARLE | *82* | *Biologie cellulaire oncologique* |
| Julien PERRIN | *82* | *Hématologie biologique* |
| Loïc REPPEL | *82* | *Biothérapie* |
| Marie SOCHA | *81* | *Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique* |

***MAITRES DE CONFÉRENCES***

| | | |
|---|---|---|
| Xavier BELLANGER ᴴ | *87* | *Parasitologie, Mycologie médicale* |
| Emmanuelle BENOIT ᴴ | *86* | *Communication et Santé* |
| Isabelle BERTRAND ᴴ | *87* | *Microbiologie* |
| Michel BOISBRUN ᴴ | *86* | *Chimie thérapeutique* |
| Cédric BOURA ᴴ | *86* | *Physiologie* |
| Sandrine CAPIZZI | *87* | *Parasitologie* |
| Antoine CAROF | *85* | *Informatique* |
| Sébastien DADE | *85* | *Bio-informatique* |
| Dominique DECOLIN | *85* | *Chimie analytique* |
| Natacha DREUMONT ᴴ | *87* | *Biochimie générale, Biochimie clinique* |
| Florence DUMARCAY ᴴ | *86* | *Chimie thérapeutique* |
| François DUPUIS ᴴ | *86* | *Pharmacologie* |
| Reine EL OMAR | *86* | *Physiologie* |
| Adil FAIZ | *85* | *Biophysique, Acoustique* |
| Anthony GANDIN | *87* | *Mycologie, Botanique* |
| Caroline GAUCHER ᴴ | *86* | *Chimie physique, Pharmacologie* |
| Stéphane GIBAUD ᴴ | *86* | *Pharmacie clinique* |
| Thierry HUMBERT | *86* | *Chimie organique* |
| Olivier JOUBERT ᴴ | *86* | *Toxicologie, Sécurité sanitaire* |

| ***ENSEIGNANTS (suite)*** | *Section CNU** | *Discipline d'enseignement* |
|---|---|---|
| Alexandrine LAMBERT | *85* | *Informatique, Biostatistiques* |
| Julie LEONHARD | *86/01* | *Droit en Santé* |
| Christophe MERLIN ᴴ | *87* | *Microbiologie environnementale* |
| Maxime MOURER ᴴ | *86* | *Chimie organique* |
| Coumba NDIAYE | *86* | *Epidémiologie et Santé publique* |
| Arnaud PALLOTTA | *85* | *Bioanalyse du médicament* |
| Marianne PARENT | *85* | *Pharmacie galénique* |
| Caroline PERRIN-SARRADO | *86* | *Pharmacologie* |
| Virginie PICHON | *85* | *Biophysique* |
| Sophie PINEL ᴴ | *85* | *Informatique en Santé (e-santé)* |
| Anne SAPIN-MINET ᴴ | *85* | *Pharmacie galénique* |
| Marie-Paule SAUDER | *87* | *Mycologie, Botanique* |
| Guillaume SAUTREY | *85* | *Chimie analytique* |
| Rosella SPINA | *86* | *Pharmacognosie* |
| Sabrina TOUCHET | *86* | *Pharmacochimie* |
| Mihayl VARBANOV | *87* | *Immuno-Virologie* |
| Marie-Noëlle VAULTIER | *87* | *Mycologie, Botanique* |
| Emilie VELOT ᴴ | *86* | *Physiologie-Physiopathologie humaines* |
| Mohamed ZAIOU ᴴ | *87* | *Biochimie et Biologie moléculaire* |

***PROFESSEUR ASSOCIE***

| | | |
|---|---|---|
| Julien GRAVOULET | *86* | *Pharmacie clinique* |

***PROFESSEUR AGREGE***

| | | |
|---|---|---|
| Christophe COCHAUD | *11* | *Anglais* |

**H** *Maître de conférences titulaire HDR*

***** *<u>Disciplines du Conseil National des Universités</u> :*
*80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé*
*81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé*
*82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques*
*85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé*
*86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé*
*87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques*

*11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes*

# Serment de Galien

**En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :**

**D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances**

**D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;**

**De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité**

**En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession**

**De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens**

**De coopérer avec les autres professionnels de santé**

**Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.**

**Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.**

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

# Remerciements


## A ma présidente de Jury, madame Brigitte LENINGER-MULLER

Je vous exprime toute ma reconnaissance et un profond respect de m'avoir fait le grand honneur de présider ce jury de thèse

## A ma directrice de thèse, madame Déborah HIRT,

Je vous exprime une grande gratitude d'avoir dirigé cette thèse et vous remercie infiniment pour tout le temps que vous avez consacré à ce travail, pour tout ce que vous m'avez appris et pour le soutien et les conseils que vous m'avez apportés

## A ma co-directrice de thèse, madame Caroline SARRADO,

Je vous remercie sincèrement pour le temps que vous m'avez consacré et vos conseils avisés

## A toute l'équipe de l'EA7323

***Au Professeur Jean Marc TRELUYER,***

De m'avoir accueilli au sein de votre laboratoire

***A madame Gabrielle LUI,***

Merci beaucoup pour votre aide, votre encadrement, votre joie et bonne humeur car sans vous je n'aurai pas pu réaliser ce travail

***A Naïm, Frantz, Yi, Ines , Sana et Sihem,***

Je tiens à vous remercier pour votre esprit d'équipe et de m'avoir aidé à réaliser ce travail

## A toute l'équipe du CIC Port-Royal,

***Pauline, Jade, Sarah, Jane, Céline, Sabine, Victoria, Cindy et Laurence***,

Un grand merci pour votre précieuse aide à réaliser l'expérimentation *ex-vivo*

**A mes parents Louisa et Othmane,**

Parce que c'est grâce à vous que j'ai pu réussir. Merci beaucoup pour votre bienveillance, votre confiance, votre amour, votre éducation et tous les sacrifices que vous avez faits pour que je réussisse.

**A mes sœurs Imen et Nahla, à mes frères Djamel et Mohamed,**

Pour votre encouragement, votre soutien et votre accompagnement tout au long de ce travail

**A mes neveux Akram, Ines, Ilyana, Yannis, Rami, Fadi, Iyad, Wassim**

Vous êtes mon rayon de soleil et le plus beau cadeau que vos parents m'ont fait

**A ma cousine Sassou,**

Malgré la distance qui nous sépare, tu restes un grand soutien pour moi, merci beaucoup pour tes conseils, ta présence et tous les moments passés ensemble

**A toute ma famille,**

***Et en particulier ma grand-mère Oma,***

Merci pour la belle enfance que vous m'avez accordé, d'avoir toujours été là pour moi, pour votre sagesse et pour l'amour que vous m'avez donné

**A mes amis,**

**A Sarah, Wissam, Ilhem, Ilhame, Imen, Leila, Oumayma, Taghla, Afaf, Insafe,**

A tous nos pires moments de galère, de révisions, nos journées à la bibliothèque mais surtout à nos fous rires, à nos ballades et à nos soirées improvisées

**A ma team Basket, Yousra, Yous, Wafa,**

A nos trois points réussis, à nos matchs gagnés ou perdus et à notre bonne ambiance

**A Anne-Sophie, Cécile et au groupe 5,**

A toutes nos nuits blanches à rédiger les rapports et à toutes les barres de rires en TP

**A tous mes amis d'Algérie,**

Pour tous ces bons moments passés ensemble, d'avoir fait partie de ma vie et de l'avoir égayée pendant 13 ans

**A mes amis d'ERASMUS,**

**Et en particulier Camille, Sandra, Marta, Léo, Maty,**

A nos voyages, nos aventures et tous les bons moments de cette année exceptionnelle

## A mes enseignants de l'école primaire à la fac,

Je tiens à vous présenter toute ma reconnaissance pour tout ce que vous m'avez appris, vos conseils et votre accompagnement pédagogique

## A tout ceux que je n'ai pas pu citer mais qui compte pour moi

Merci beaucoup

# Table des matières


REMERCIEMENTS 8

TABLE DES MATIERES 11

LISTE DES ABREVIATIONS 14

LISTE DES FIGURES 15

LISTE DES TABLEAUX 16

PARTIE I : GROSSESSE ET EPILEPSIE 17

I. EPILEPSIE 18

A. DEFINITION 18
B. HISTORIQUE 18
C. EPIDEMIOLOGIE 18
D. CLASSIFICATION 19
E. ETIOLOGIE 19
F. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'EPILEPSIE 20
1. LA TRANSMISSION NEURONALE 20
2. EQUILIBRE NEURONAL 20
3. MECANISMES CELLULAIRES/BIOCHIMIQUES IMPLIQUES DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DE L'EPILEPSIE 21

II. LES TRAITEMENTS DE L'EPILEPSIE 24

A. TRAITEMENT MEDICAMENTEUX 24
1. PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES DES ANTIEPILEPTIQUES 25
2. PHARMACOCINETIQUE DES ANTIEPILEPTIQUES 28
3. EFFETS INDESIRABLES 30
4. INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES 31
5. SURVEILLANCE ET SUIVI PARACLINIQUE 33
B. TRAITEMENT NON MEDICAMENTEUX 34

III. GROSSESSE ET EPILEPSIE 36

A. PHARMACOCINETIQUES DE LA FEMME ENCEINTE 36

**B. TRAITEMENT DE L'EPILEPSIE CHEZ LA FEMME ENCEINTE 37**

**IV. PASSAGE TRANSPLACENTAIRE DES MEDICAMENTS 39**

**A. STRUCTURE ET ROLE DU PLACENTA 39**

**B. TRANSPORT DES MEDICAMENTS AU NIVEAU DU PLACENTA 41**

1. LES TRANSPORTEURS 41

2. EXEMPLES D'ANTIEPILEPTIQUES TRANSPORTES 43

**C. METABOLISME PLACENTAIRE 43**

**D. PRINCIPAUX MODELES EXPERIMENTAUX D'ETUDE DU PASSAGE TRANSPLACENTAIRE DES MEDICAMENTS 44**

**V. TERATOGENICITE DES ANTIEPILEPTIQUES 46**

**EURAP : ETUDE DE COHORTE PROSPECTIVE SUR LE RISQUE DE MALFORMATIONS CONGENITALES MAJEURES AVEC HUIT ANTIEPILEPTIQUES DIFFERENTS 46**

**PARTIE 02 : ETUDE EXPERIMENTALE DU PASSAGE TRANSPLACENTAIRE DE LA LAMOTRIGINE ET DU LEVETIRACETAM 50**

**I. INTRODUCTION 51**

**A. CHOIX THERAPEUTIQUE 51**

**B. ETUDE DU PASSAGE TRANSPLACENTAIRE DE LA LAMOTRIGINE ET DU LEVETIRACETAM 51**

**C. PHARMACOLOGIE DU LEVETIRACETAM ET DE LA LAMOTRIGINE 52**

1. PHARMACOLOGIE DU LEVETIRACETAM 52

2. PHARMACOLOGIE DE LA LAMOTRIGINE 53

**D. REFORMULATION DU SUJET 54**

1. QUESTION POSEE ET STRATEGIE MISE EN PLACE 54

2. OBJECTIFS A ATTEINDRE 55

**II. MATERIELS ET METHODES 55**

**A. PROCEDURES 55**

1. RECUEIL DES PLACENTAS 55

2. MISE EN PLACE DE LA PERFUSION *EX-VIVO* DU COTYLEDON 55

3. DOSAGE 56

4. MODELISATION DE L'EXPERIMENTATION *EX-VIVO* 57

**III. RESULTATS 60**

A. DOSAGE DE L'ANTIPYRINE ET VALIDATION DES PLACENTAS 60
B. EVALUATION DU PASSAGE TRANSPLACENTAIRE DU LEVETIRACETAM 62
C. EVALUATION DU PASSAGE TRANSPLACENTAIRE DE LA LAMOTRIGINE 63
D. RESULTATS DE LA MODELISATION SUR MONOLIX 64

IV. DISCUSSION 68

V. CONCLUSION 70

BIBLIOGRAPHIE 71

ANNEXES 77

ANNEXE 01 : PROTOCOLE DE PERFUSION 77

ANNEXE 02 : PROTOCOLE DE DOSAGE DE L'ANTIPYRINE 79

ANNEXE 03 : PROTOCOLE DE DOSAGE DU LEVETIRACETAM 80

ANNEXE 04 : PROTOCOLE DE DOSAGE DE LA LAMOTRIGINE MASSTOX 82

RESUME

## Liste des abréviations

| | |
|---|---|
| **AMM** | autorisation de mise sur le marché |
| **AMPA** | alpha -amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate |
| **ATP** | adénosine triphosphate |
| **BCRP** | breast cancer resistant protein |
| **CYP** | cytochrome |
| **EURAP** | european registry of antiepileptic drugs and pregnancy |
| **F/M** | fœto-maternel |
| **GABA** | gamma-aminobutyric acid |
| **GABA-T** | gamma-aminobutyric acid transporter |
| **GAT** | gamma-aminobutyric acid transporters |
| **HPLC** | high performance liquid chromatography |
| **K** | potassium |
| **MONOLIX** | modèles non linéaires à effets mixte |
| **NA** | sodium |
| **NMDA** | N-méthyl-D-aspartate |
| **OMS** | organisation mondiale de la santé et des produits de santé |
| **PBPK** | physiologic based pharmacokinetic |
| **PgP** | glycoprotéine P |
| **SLC** | solute carrier |
| **SV2A** | synaptic vesicle glycoprotein 2A |
| **TTF** | taux de transfert |
| **UDP** | urine diphosphate glucose |
| **UGT** | UDP-Glucuronosyltransférase |
| **VHB** | virus d'hépatite B |
| **VHC** | virus d'hépatite C |
| **VIH** | virus d'immunodéficience humaine |

# Liste des figures

*Figure 1: classification internationale des crises épileptiques. ..... 19*
*Figure 2: la transmission d'un message électrique entre deux neurones. ..... 21*
*Figure 3: arbre de décision thérapeutique dans l'épilepsie débutante de l'adulte..... 25*
*Figure 4: principaux mécanismes d'action des antiépileptiques. ..... 27*
*Figure 5: les antiépileptiques les plus utilisés dans le registre de grossesses en Australie. ..... 37*
*Figure 6: vue d'ensemble sur le risque global de malformations. ..... 38*
*Figure 7: structure du placenta humain. ..... 39*
*Figure 8: structure du placenta humain. ..... 40*
*Figure 9: différents transporteurs SLC (a) et ABC (b) impliqués dans le transport des xénobiotiques et de médicaments. ..... 42*
*Figure 10: structure du placenta humain à terme. (A) microstructure de la barrière placentaire. (B) principaux transporteurs exprimés dans le placenta humain..... 43*
*Figure 11: structure chimique du lévétiracétam. ..... 52*
*Figure 12: structure chimique de la lamotrigne..... 53*
*Figure 13: schéma de perfusion ex-vivo du cotylédon humain en circuit fermé. ..... 56*
*Figure 14: représentation schématique de la modélisation ex-vivo. ..... 58*
*Figure 15: équations décrivant le passage transplacentaire. ..... 59*
*Figure 16: évolution des concentrations d'antipyrine au cours du temps dans les 5 placentas validés et perfusés à une concentration initiale d'antipyrine de 25 µg/ml. ..... 60*
*Figure 17: évolution des concentrations d'antipyrine au cours du temps dans les 6 placentas validés et perfusés à une concentration initiale d'antipyrine de 25 µg/ml. ..... 61*
*Figure 18: évolution des concentrations du lévétiracétam au cours du temps dans les 5 placentas validés et perfusés à une concentration initiale de 30 µg/ml..... 62*
*Figure 19: évolution des ratios de concentrations F/M du lévétiracétam au cours du temps lors de la perfusion ex-vivo des placentas humains et à une concentration initiale de 30 µg/ml. ..... 62*
*Figure 20: évolution des concentrations de la lamotrigine au cours du temps dans les 6 placentas validés et perfusés à une concentration initiale de 5 µg/ml..... 63*
*Figure 21: évolution des ratios de concentrations F/M de la lamotrigine au cours du temps lors de la perfusion ex-vivo des placentas humains à une concentration initiale de 5 µg/ml. ..... 63*
*Figure 22: présentation de l'évolution des concentrations du lévétiracétam au cours du temps lors de la perfusion ex-vivo des placentas humains et à une concentration initiale de 30 µg/ml..... 64*
*Figure 23: présentation de l'évolution des concentrations de la lamotrigine au cours du temps lors de la perfusion ex-vivo des placentas humains et à une concentration initiale de 5 µg/ml..... 65*
*Figure 24: matériels utilisés pour la perfusion ex-vivo. ..... 77*

# Liste des tableaux

*Tableau I: différentes cibles pharmacologiques des antiépileptiques, *le lévétiracétam agit par l'intermédiaire de la protéine vésiculaire SV2A. ..... 27*

*Tableau II: principales caractéristiques pharmacocinétiques des antiépileptiques ; 'a' paramètres variables doses dépendantes ; A adulte E enfant. ..... 28*

*Tableau III: effets indésirables fréquents et très fréquents des antiépileptiques. ..... 30*

*Tableau IV: exemples d'interactions médicamenteuses de niveau 1 et 2..... 32*

*Tableau V: prévalence des malformations congénitales majeures chez le bébés exposés avant la naissance à l'un des huit antiépileptiques en monothérapie ( données de l'étude EURAP)..... 48*

*Tableau VI: malformations congénitales majeures associées à huit antiépileptiques en monothérapie. ..... 49*

*Tableau VII: caractéristiques chromatographiques de l'antipyrine et du paracétamol..... 56*

*Tableau VIII: caractéristiques chromatographiques du lévétiracétam et de la lamivudine..... 57*

*Tableau IX: ratios et TTF obtenus à 180 min et 240 min des placentas perfusés et validés..... 60*

*Tableau X : ratios et TTF à 180 min et 240 min des placentas perfusés et validés..... 61*

*Tableau XI: différents paramètres estimés sur MONOLIX à partir de la base de données du lévétiracétam..... 66*

*Tableau XII: différents paramètres estimés sur MONOLIX à partir de la base de données de la lamotrigine..... 66*

# Partie I : Grossesse et épilepsie

# I. Epilepsie

## A. Définition

Le terme épilepsie du grec *epilepsia « crise surprise »* se définit comme une affection neurologique chronique du cerveau, qui se caractérise par des crises récurrentes. Elle se manifeste par de brefs épisodes de tremblements involontaires touchant une partie du corps (épilepsie focale) ou l'ensemble du corps (épilepsie généralisée).

Ces crises résultent de décharges électriques excessives qui peuvent se produire dans différentes parties du cerveau et qui varient en intensité allant de brèves secousses musculaires et une perte d'attention à des convulsions sévères et une perte de conscience. [1]

## B. Historique

A l'époque de l'antiquité, les épileptiques n'étaient pas considérés comme des infortunés à secourir mais comme des maudits à séquestrer car une idée de contagion s'attachait à leur infirmité et c'était une coutume de cracher sur eux quand ils passaient, cela s'appelait cracher l'épilepsie.

Au V$^{e}$ siècle av. J.-C, Hippocrate écrit son fameux traité, la Maladie sacrée, dans lequel il parle de l'épilepsie comme une maladie du cerveau et qui, si elle devient chronique, se révèle incurable.

Plusieurs autres scientifiques grecs ont écrit aussi sur l'épilepsie comme Galien et Arétée, puis des latins comme Coelius Aurélianus, un de ceux qui ont parlé le plus savamment de cette affection.

La médecine arabe s'est également intéressée à l'épilepsie, Avicenne a longuement insisté sur l'existence de différentes espèces épileptiques. Quant au traitement, Avicenne en expose en détails des particularités comme l'abstinence du vin et la sobriété.

Nombreux sont les éminents savants qui se sont intéressés à l'épilepsie mais ce n'est qu'au 19$^{ème}$ siècle que le bromure de potassium premier médicament efficace contre l'épilepsie est découvert puis le phénobarbital en 1912, la phénytoine en 1937, la primidone en 1954, l'ethosuximide en 1960, la carbamazépine en 1974, le clonazepam en 1975 et le valproate en 1978.

Depuis 1994 plus d'une dizaine d'antiépileptiques ont été commercialisés, appelés molécules de nouvelle génération, démontrant une efficacité comparable aux molécules d'ancienne génération mais un meilleur profil pharmaceutique et une meilleure tolérance que ces dernières. [2] [3]

## C. Epidémiologie

L'épilepsie est un grand problème de santé publique affectant 50 millions de personnes dans le monde de tout âge. Quatre-vingt pourcent d'épileptiques vivent dans des pays à revenu faible ou intermédiaire et près de trois quarts ne bénéficient pas de traitement.

En Europe, c'est l'une des affections neurologiques les plus répandues, elle atteint 6 millions de la population et est responsable d'une surmortalité importante de 33 000 patients tous les ans.

Il s'agit le plus souvent de morts subites et inattendues, affectant le plus souvent de jeunes adultes. Cette mortalité peut être évitée dans un tiers des cas avec une meilleure prise en charge et une meilleure organisation des soins. C'est pour cette raison que depuis 1997 l'organisation mondiale de la santé et des produits de santé (OMS), la ligue internationale contre l'épilepsie

et le bureau international de l'épilepsie mènent une compagne mondiale pour faire connaitre cette maladie et améliorer sa prise en charge. [4] [1]

### D. Classification

Les manifestations cliniques de l'épilepsie sont très variées, c'est pour cette raison qu'en 1981 une première classification a été mise en place et sur laquelle s'est basée la ligue internationale contre l'épilepsie pour mettre en place une nouvelle classification en 2017.
Cette classification distingue principalement trois groupes de types de crises (figure 1):

- ***Crises généralisées :*** sont des décharges neuronales excessives survenant dans l'ensemble du cortex cérébral
- ***Crises focales :*** ce sont des crises restant limitées, ou impliquant une région plus large, ou des réseaux limités à un hémisphère.
- ***Inconnues :*** peu de données pour pouvoir les classer dans une des catégories.

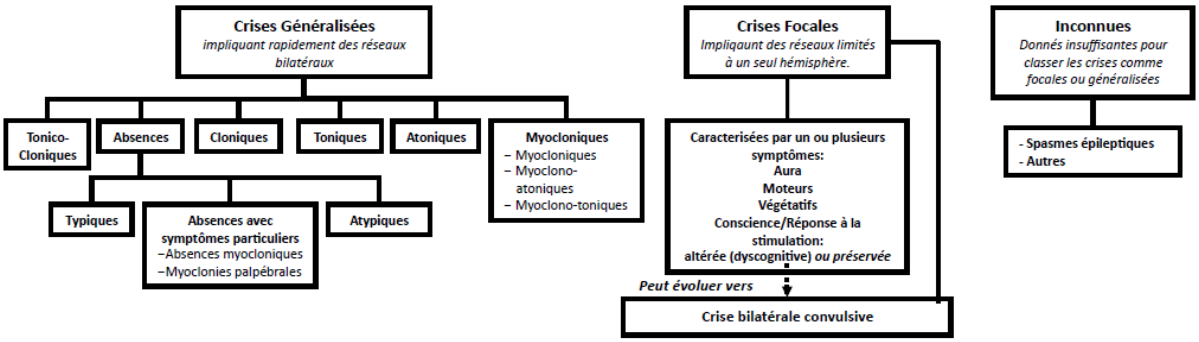


*Figure 1: classification internationale des crises épileptiques. [5]*

### E. Etiologie

Les causes de l'épilepsie sont nombreuses :

- Génétique : des études génétiques moléculaires ont démontré que certains défauts génétiques peuvent se manifester par l'apparition de crises.
- Structurelle/métabolique : existence d'une association entre une maladie structurelle ou métabolique et la survenue d'épilepsie.
- Cause inconnue : peut être d'origine génétique, structurelle et métabolique mais qui n'est pas encore identifiée. [5]

## F. Physiopathologie de l'épilepsie

### 1. La transmission neuronale

Le cerveau humain contient au moins 100 milliards de neurones qui permettent de transmettre des messages sous forme d'influx nerveux.

Ces influx électriques circulent tout au long de cette cellule pour arriver à la synapse, zone d'échange entre neurones. A ce niveau, l'information électrique s'échange en message chimique grâce à l'échange d'ions et la libération de neurotransmetteurs qui vont se fixer sur les récepteurs localisés sur le second neurone et induire une modification de l'activité électrique du neurone post-synaptique. [6]

Il existe de nombreux neurotransmetteurs au niveau central ; parmi eux, le glutamate et le GABA qui représentent des voies importantes dont le fonctionnement est perturbé dans l'épilepsie:

- Le GABA (acide γ-aminobutyrique) : est le principal neurotransmetteur inhibiteur du système nerveux central, il contribue au contrôle moteur, à la vision et à plusieurs fonctions corticales.
- Le glutamate : est un neurotransmetteur excitateur important, il est impliqué dans les fonctions cérébrales d'apprentissage et de mémorisation.

Le calcium joue un rôle important dans la libération des neurotransmetteurs. Lors de la dépolarisation d'une terminaison nerveuse par un potentiel d'action les canaux calciques voltage dépendants s'ouvrent, les ions calciums entrent dans la cellule d'où l'augmentation de sa concentration intracellulaire.

Ceci provoque la fusion des vésicules présynaptiques qui contiennent les neurotransmetteurs avec la membrane plasmique et induit l'exocytose du médiateur dans la fente synaptique, ces molécules qui assurent la transmission neuronale vont aller se fixer par la suite sur des récepteurs de la membrane postsynaptique.

En fonction du type de médiateur, il en résultera une dépolarisation ou une hyperpolarisation de la cellule cible. [7]

### 2. Équilibre neuronal

#### *a) Le potentiel membranaire au repos*

Grâce à la perméabilité sélective des membranes, les ions potassium et sodium peuvent se déplacer des milieux de plus fortes concentrations vers les milieux de plus faibles concentrations principalement par des canaux ioniques (diffusion passive). Lorsque les ions $K^+$ se déplacent de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule via le gradient chimique, ces ions positifs se déposent à l'extérieur de la membrane, créant un potentiel électrique transmembranaire avec une charge positive à l'extérieur de la membrane et une charge négative à l'intérieur de la membrane. Ce potentiel transmembranaire crée le gradient électrique de la membrane cellulaire dans lequel tout ce qui a une charge positive tentera de se déplacer de manière intracellulaire. Le potassium étant le plus perméable au repos, il a la plus grande influence sur le potentiel membranaire au repos.

Cette différence de concentrations est ensuite maintenue par les pompes $Na^+/K^+$ , transporteurs actifs permettant le déplacement de ces ions à l'encontre du gradient de concentrations, trois ions $Na^+$ à l'extérieur de la cellule et deux ions $K^+$ à l'intérieur de la cellule.

### *b) Le potentiel d'action*

Les neurones sont des cellules excitables qui assurent la transmission de l'influx nerveux (figure 2). Ils disposent d'ions qui leur permettent de varier leurs potentiels et donc de créer ces influx ou potentiels d'action.

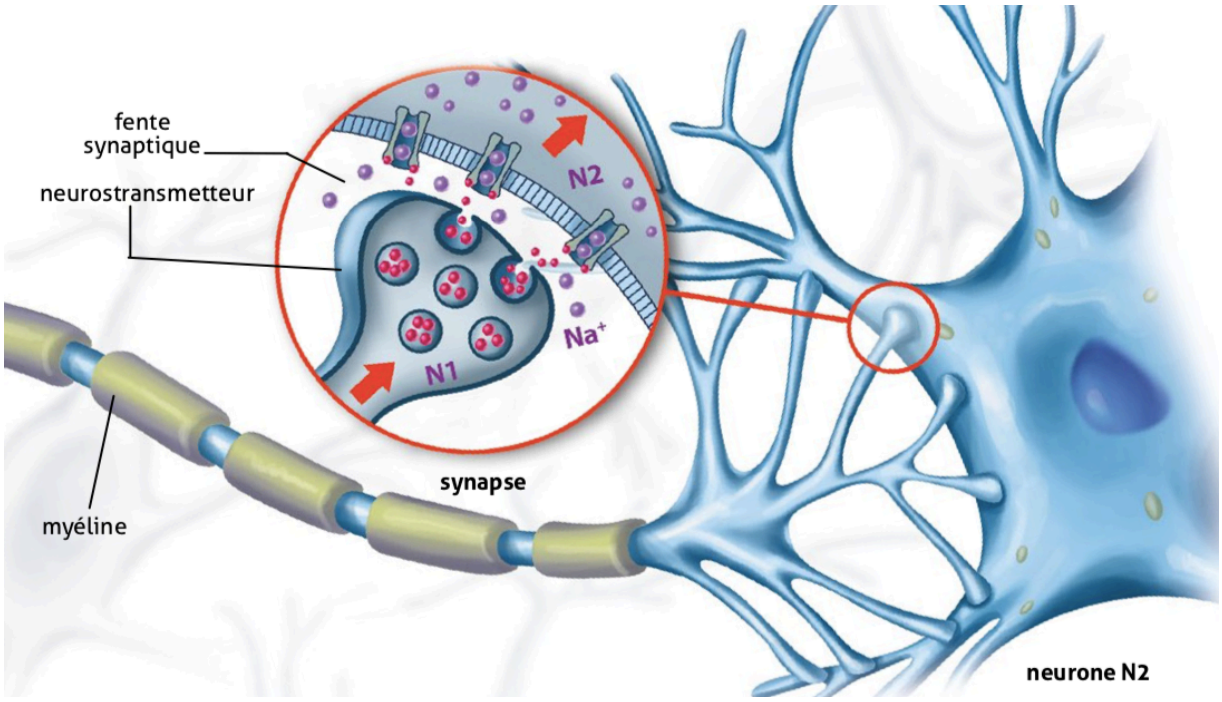


*Figure 2: la transmission d'un message électrique entre deux neurones. [8]*

Le potentiel membranaire du neurone au repos est de -70 millivolts. Dans les neurones, lorsque les neurotransmetteurs excitateurs sont libérés ils peuvent induire une dépolarisation et si le seuil de cette dernière atteint 55 millivolts, les canaux $Na^+$ voltage-dépendants s'ouvrent. Ceci va permettre l'entrée des ions $Na^+$ dans la cellule ce qui va créer un potentiel d'action. Ce dernier va se propager tout au long de la membrane et va induire l'ouverture de plus de canaux $Na^+$.

Le potentiel de membrane passe alors de -70 à +30 millivolts ce qui déclenche l'ouverture des canaux $K^+$ voltage-dépendants, une sortie des ions potassiques, induisant ainsi une repolarisation et un retour du potentiel membranaire au repos. [9]

## 3. Mécanismes cellulaires/biochimiques impliqués dans la physiopathologie de l'épilepsie

Une crise d'épilepsie se produit lorsqu'un déséquilibre entre l'excitation et l'inhibition neuronale dans le cerveau se produit. Ce déséquilibre peut être génétique ou acquis.

Les problèmes génétiques peuvent atteindre différents niveaux comme :

- Le circuit neuronal dans le cerveau (connexion synaptique anormale, dysplasie corticale)
- Les récepteurs :
    - Atteinte des sous-unités du récepteur de l'acide γ-aminobutyrique [GABA] dans le syndrome d'Angelman.

    - Suractivation des récepteurs N-methyl-D-aspartate [NMDA] par le glutamate neurotransmetteur excitateur. Ces récepteurs interviennent dans la transmission synaptique, la mémoire, l'apprentissage et les fonctions cognitives. [10]
- Ou les canaux ioniques (mutations des canaux potassiques dans l'épilepsie néonatale familiale bénigne). [11]

- ***Système gabaergique***

L'acide gamma-aminobutyrique (GABA) est le principal neurotransmetteur inhibiteur du cortex cérébral et contrebalance l'excitation neuronale. Lorsque cet équilibre (inhibition/excitation neuronal) est perturbé, des crises peuvent survenir. Il existe deux types de récepteurs sur lesquels il peut se fixer : le GABA-A, un récepteur-canal, qui permet l'entrée des ions chlorure dans la cellule et le GABA-B, un récepteur couplé à une protéine $G_i$, qui augmente la conductance du potassium, diminue l'entrée du calcium et inhibe la sécrétion de neurotransmetteurs.
Ce système a un rôle très important dans l'épilepsie, des études ont démontrées que des agonistes du GABA suppriment les convulsions alors que des antagonistes induisent des convulsions. [11]

- ***Système glumatergique***

Le glutamate est un neurotransmetteur excitateur prédominant dans le cerveau de mammifères adultes et est essentiel dans l'exécution de nombreux processus.

Il existe plusieurs types de récepteurs ionotropes ou métabotropes sur lesquels se fixent le glutamate : Parmi les récepteurs ionotropes postsynaptiques du glutamate :

- Les récepteurs de l'acide α-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA) et qui sont essentiels à la neurotransmission excitatrice rapide.
- Les récepteurs N-méthyl-d-aspartate (NMDA) quant à eux servent de médiateurs dans les potentiels excitateurs lents postsynaptiques et sont essentiels au traitement global de l'information.

Les récepteurs métabotropes pré et postsynaptiques du glutamate (mGluR) ont aussi un rôle important dans la régulation du système glutamatergique. Ils sont divisés en trois groupes :

- Groupe 1 : mGluR1 présynaptique (renforce la libération de glutamate) et mGluR5 postsynaptique (module l'action des récepteurs ionotropes postsynaptiques)
- Groupe 2 : mGluR2/3, ils renforcent l'excitabilité de plus le mGluR3 est présent au niveau des astrocytes et régule l'activité de transporteurs responsables de la recapture du glutamate.
- Groupe 3 : mGluR4,6,7,8 (récepteurs présynaptiques inhibiteurs), compensent l'augmentation de l'excitabilité.

De nombreuses études ont démontré qu'une libération excessive de glutamate dans la synapse est associée à des crises épileptiques et entraine à long terme l'altération de la connectivité neuronale.

De études précliniques et cliniques ont mis en évidence le rôle important du système glutamatergique dans le contrôle des crises épileptiques ce qui a permis de développer de nombreux antiépileptiques ciblant ce système. De plus, de nouvelles cibles comme les astrocytes pourraient offrir un moyen de moduler ce système et de développer de nouvelles thérapies. [12]

# II. Les Traitements de l'épilepsie

## A. Traitement médicamenteux

Les antiépileptiques sont des molécules qui permettent de contrôler les crises dans environ 70 à 80% des cas, ils sont utilisés en mono ou polythérapie et le plus souvent à vie d'où la nécessité d'une observance rigoureuse et d'une bonne hygiène de vie.

Ils sont classés en ancienne et nouvelle génération. L'ancienne génération comporte principalement quatre molécules : le phénobarbital, la phénytoïne, la carbamazépine et le valproate de sodium.

La mise sur le marché de molécules de nouvelle génération a permis une meilleure prise en charge des patients épileptiques car elles sont mieux tolérées et induisent moins d'effets secondaires. Cependant, peu de molécules de deuxième génération ont démontré une meilleure efficacité par rapport à la première génération. [7]

Parmi les nouveaux antiépileptiques on retrouve : la gabapentine, le vigabatrin, la lamotrigine, le topiramate, l'oxcarbazépine, le lévétiracétam, le zonisamide, le lacosamide, la tiagabine, le felbamate, le stiripentol…etc

Le choix de l'antiépileptique tient compte de plusieurs facteurs : le Syndrome, l'Age, le Genre l'Etiologie et les comorbidités résumés par l'acronyme « SAGE.com ». [13]

Après avoir identifié le type d'épilepsie du patient, une monothérapie est instaurée en suivant les recommandations de l'AMM pour choisir la molécule la plus adaptée pour la prise en charge du syndrome épileptique et dont la posologie est augmentée progressivement jusqu'à la dose minimale efficace afin de limiter la survenue d'effets indésirables. Si le diagnostic du syndrome est incertain, il est recommandé de choisir une molécule à large spectre thérapeutique (figure 3).

En cas d'échec d'une monothérapie, une seconde est mise en place. En cas d'un autre échec, une polythérapie est préconisée. [14]

Selon les recommandations de la haute autorité de santé chez une patiente épileptique susceptible d'être enceinte le risque lié à l'exposition aux antiépileptiques est à considérer dès l'instauration du traitement.

Ce risque et en particulier le risque malformatif est hiérarchisé selon l'antiépileptique utilisé (détails dans la partie III. Grossesse et épilepsie). [15] [16]

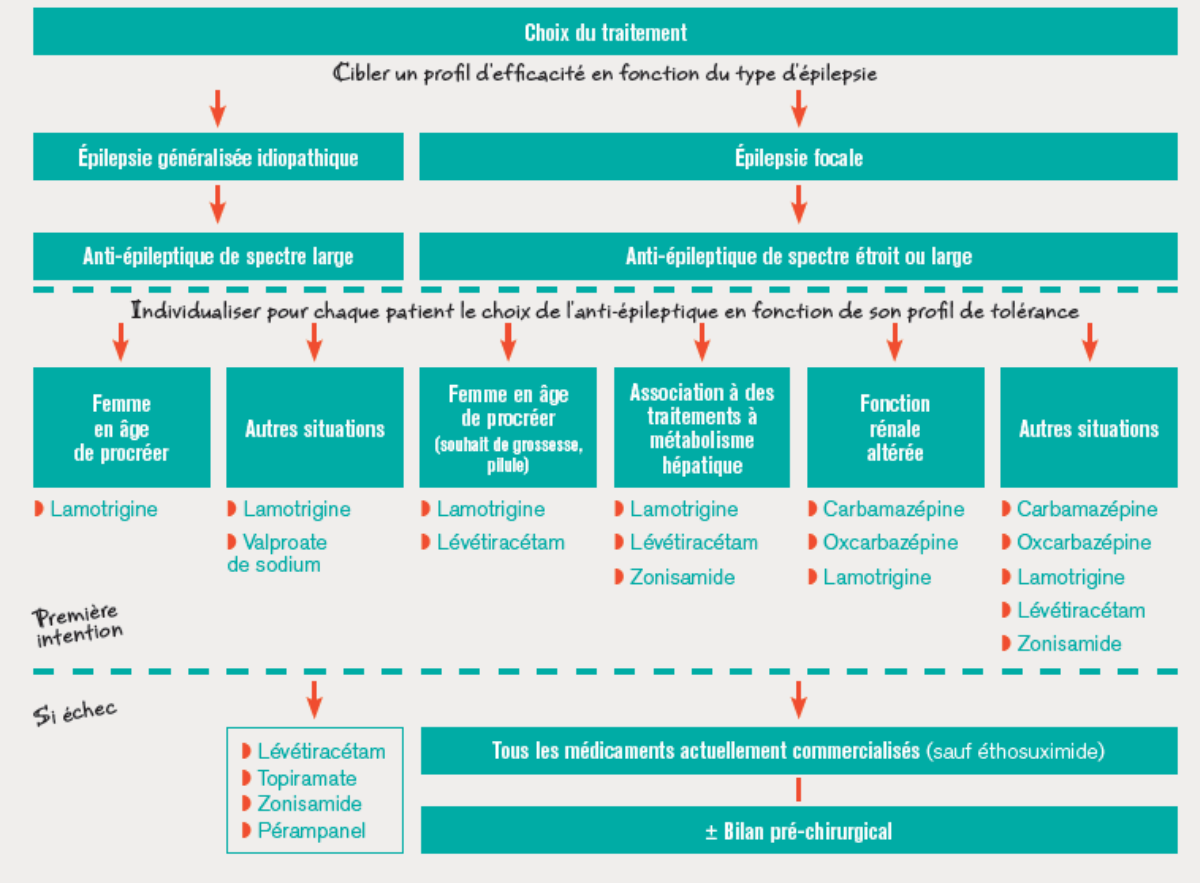


*Figure 3: arbre de décision thérapeutique dans l'épilepsie débutante de l'adulte.[17]*

## 1. Propriétés pharmacologiques des antiépileptiques

En thérapeutique, les mécanismes d'action des antiépileptiques peuvent être regroupés en trois mécanismes de base:

### *a) La Modulation des canaux ioniques*

#### (1) Canaux sodiques potentiel dépendants

Les canaux sodiques neuronaux sont composés de plusieurs sous-unités, la sous-unité alpha étant la plus importante car forme le canal et lui confère ses propriétés potentiel-dépendantes. Une mutation de cette sous-unité est retrouvée dans différents syndromes, notamment dans l'épilepsie généralisée.

Le blocage de ces canaux empêche l'entrée du flux d'ions ce qui ralentit la propagation du potentiel d'action le long de la membrane et favorise la stabilisation de la membrane neuronale. Ces canaux sont l'une des principales cibles des antiépileptiques comme la phénytoïne, la carbamazépine et la lamotrigine qui agissent en se liant aux canaux sodiques à l'état inactivé et empêchent les décharges électriques répétitives de haute fréquence.

#### (2) Canaux potassiques

Les canaux potassiques sont des complexes protéiques qui ont un rôle important dans la repolarisation et le retour au potentiel membranaire de repos. C'est pour cette raison que des activateurs de ces canaux présentent des propriétés anti-convulsivantes tandis que des inhibiteurs favorisent les crises d'épilepsie. Ils sont par ailleurs associés à différentes pathologies génétiques telles que l'épilepsie infantile.

(3) Canaux calciques potentiel dépendants

Ces canaux partagent des caractéristiques structurales avec les canaux sodiques. La sous-unité alpha 1 des canaux calciques est équivalente à la sous unité alpha des canaux sodiques car elle forme le canal calcique et lui confère ses propriétés potentiel dépendantes.

Ces canaux calciques sont associés à différentes pathologies génétiques comme l'épilepsie de l'enfance (absence).

Plusieurs antiépileptiques bloquent ces canaux calciques potentiel-dépendants comme la lamotrigine ou la gabapentine, induisant une diminution de libération de neurotransmetteurs excitateurs.

### *b) L'Augmentation de la transmission gabaergique*

La facilitation de la transmission gabaergique a un effet anticonvulsivant, le GABA étant le principal neuromédiateur inhibiteur du SNC, plusieurs antiépileptiques exercent leurs effets en augmentant la transmission gabaergique centrale. Ainsi, la vigabatrine inhibe la GABA aminotransférase, enzyme qui catalyse la dégradation du GABA, la tiagabine bloque la recapture du GABA par les cellules gliales et neuronales via le transporteur GAT1, tandis que les benzodiazépines et le phénobarbital activent les récepteurs GABA-A et potentialise l'activité de ce neurotransmetteur.

### *c) La diminution de la neurotransmission excitatrice (Glutamate)*

Le glutamate, principal neurotransmetteur excitateur dans le cerveau des mammifères, exerce ses propriétés pharmacologiques sur différents récepteurs : ionotropiques (AMPA, NMDA, kaïnate) et métabotropiques.

Le blocage des récepteurs ionotropiques du glutamate est reconnue pour contribuer à l'activité antiépileptique induite par différentes molécules comme le felbamate et le topiramate.

Ce blocage va diminuer la perméabilité neuronale au sodium et au calcium et va empêcher la neurotransmission excitatrice rapide.

### *d) Molécules à modes d'action multiples*

Certains antiépileptiques ont un large profil anti-convulsivant en agissant sur plusieurs sites pharmacologiques (tableau I) (figure 4) et vont donc avoir des indications dans différents types d'épilepsies.

*Tableau I: différentes cibles pharmacologiques des antiépileptiques, *le lévétiracétam agit par l'intermédiaire de la protéine vésiculaire SV2A.*

| Composés | ↓activ. canaux Na | ↓activ. canaux Ca | ↑activ. canaux K | ↑activ. récept. GABA | ↓activ. récept. GLU |
|---|---|---|---|---|---|
| **Carbamazépine** | +++ | | | | |
| **Clobazam** | | | | +++ | |
| **Clonazépam** | | | | +++ | |
| **Diazépam** | | | | +++ | |
| **Ethosuximide** | | +++ | | | |
| **Felbamate** | +++ | ++ | | ++ | ++ |
| **Gabapentine** | | +++ | | + | |
| **Lamotrigine** | +++ | ++ | | | |
| **Lévétiracétam*** | | + | | | |
| **Oxcarbazépine** | +++ | + | + | | |
| **Phénobarbital** | | + | | +++ | + |
| **Phénytoïne** | +++ | | | | |
| **Prégabaline** | | +++ | | | |
| **Primidone** | | + | | +++ | + |
| **Stiripentol** | | | | ++ | |
| **Tiagabine** | | | | +++ | |
| **Topiramate** | ++ | ++ | + | ++ | ++ |
| **Valproate Na** | +++ | ++ | | ++ | + |
| **Vigabatrine** | | | | +++ | |
| **Zonisamide** | +++ | +++ | | + | + |

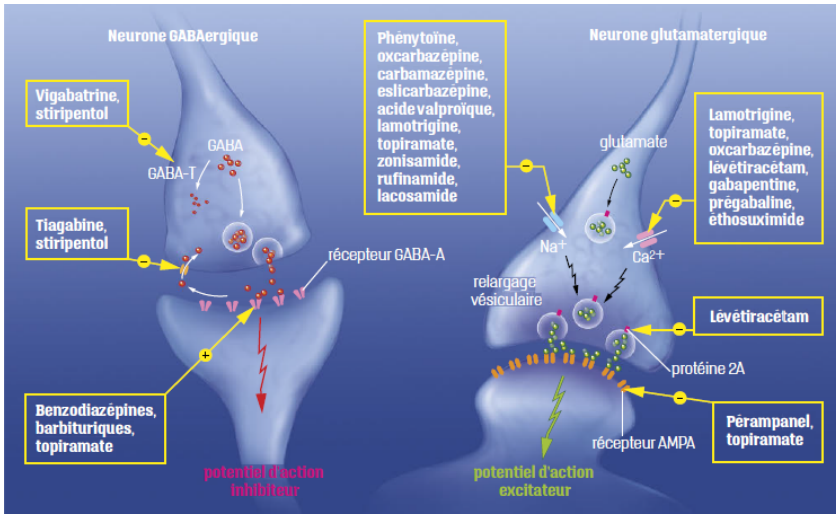


*Figure 4: principaux mécanismes d'action des antiépileptiques. GABA : gamma-aminobutyric acid ; GABA-T: gamma-aminobutyric acid transportor ; AMPA : alpha -amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate.*

## 2. Pharmacocinétique des antiépileptiques

Lors de la mise en place et du choix du traitement antiépileptique, il est important de connaitre les paramètres pharmacocinétiques du médicament comme la biodisponibilité, quantité du principe actif atteignant la circulation générale, le Tmax, temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale, le pourcentage de liaison protéique pour connaitre la fraction libre active, l'effet inducteur enzymatique pour adapter les doses et éviter certaines interactions médicamenteuses ainsi que la voie de métabolisation et d'élimination ( tableau II).

*Tableau II: principales caractéristiques pharmacocinétiques des antiépileptiques ; 'a' paramètres variables doses dépendantes ; A adulte E enfant. [18] [19]*

| DCI | Absorption (%) | Tmax (heures) | Liaison protéique (%) | Effet inducteur enzymatique | Demi-vie (heures) | Fraction Métabolisée (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Phénobarbital** | 90 | 4-18 | 45-60 | Oui | 20-40[A]<br>40-70[E] | 30-50 |
| **Primidone** | 100 | 6-8 | 0-20 | Oui | 6-22 | 95-100 |
| **Phénytoïne** | 90[a] | 4-8[a] | 90 | Oui | 13-95 | 95 |
| **Ethosuximide** | 100 | 3-7 | 10 | Non | 60[A]<br>30[E] | 80-90 |
| **Carbamazépine** | 80 | 4-8[a] | 80 | Oui | 5-16 | 98 |
| **Valproate** | 100 | 3-8 | 90[a] | Non (inhibition) | 8-16 | 90 |
| **Vigabatrine** | 100 | 1-2 | 0 | Non | 5-7 | <5 |
| **Felbamate** | 90 | 2-6 | 25 | Non (inhibition) | 13-20 | 50 |
| **Gabapentine** | 35-65 | 2-3 | 0 | Non | 5-7 | 0 |
| **Lamotrigine** | 100 | 3 | 55 | Non | 30 | 70-93 |
| **Tiagabine** | 100 | 2 | 95 | Non | 7-9 | 98 |
| **Topiramate** | 90 | 3-4 | 13-17 | Non | 20 | 20-30 |
| **Oxcarbazépine** | 100 | 4-5 | 40 | Oui | 8-10 | >97 |
| **Lévétiracétam** | 100 | 1-3 | 10 | Non | 6-8 | 34 |

La biodisponibilité des antiépileptiques est généralement bonne avec une résorption rapide pour certains, lente pour d'autres. La majorité des antiépileptiques subissent un métabolisme hépatique ce qui explique les nombreuses interactions médicamenteuses. Ces dernières sont renforcées par l'effet inducteur ou inhibiteur de certains antiépileptiques. Seuls quelques antiépileptiques ne font pas l'objet d'interactions médicamenteuses cliniquement significatives (lévétiracétam, vigabatrine, prégabaline, gabapentine).

Le métabolisme hépatique comporte le plus souvent deux phases distinctes [20]:

- Phase I : réactions cataboliques ou de fonctionnalisation, mettent principalement en jeu des réactions d'oxydation (cytochrome P450), de réduction ou d'hydrolyse des médicaments. Cette phase induit généralement une perte d'activité pharmacologique ou parfois leur activation comme pour les promédicaments.
- Phase II : anabolique ou de conjugaison, il s'agit de greffer par covalence un groupe polaire (ionisé ; glucuronate, glutathion, sulfate, méthyle, acétyle, glycine, etc.) sur le médicament pour augmenter son hydrosolubilité et faciliter son excrétion.

Ce métabolisme hépatique peut être influencé par différents facteurs innés (génétiques) et acquis (pathologies hépatiques, interactions médicamenteuses inductrices ou inhibitrices). [21]

### 3. Effets indésirables

Les antiépileptiques ont de nombreux effets indésirables touchant différents systèmes. Les effets les plus fréquents sont :

- **Neurologiques** : somnolence, troubles de l'élocution, ataxie, céphalées, convulsions, hyperkinésie, dépression, anxiété, agressivité, confusion, vertiges d'où la nécessité de mettre en place certaines précautions comme éviter de conduire et de consommer de l'alcool.
- **Digestifs** : douleurs abdominales, nausées et vomissements, sécheresse de la bouche, dyspepsie, stomatite, diarrhée, constipation.
- **Cardio-vasculaires** : hypertension artérielle, vasodilatation,
- **Hépatiques** : augmentation de la gamma-glutamyltranspeptidase, hépatopathies,
- **Sanguins et lymphatiques** : leucopénie, anémie, thrombopénie, hémorragie, neutropénie, épistaxis.
- **Rénaux et génito-urinaires** : impuissance, irrégularités menstruelles, oligoménorrhée, acidose métabolique, lithiase, pollakiurie, dysurie.
- **Cutanés et troubles des appendices** : prurit, ecchymoses, rash cutané, dermatite allergique, éruption cutanée, acné, alopécie, urticaire, chute des cheveux, troubles de l'ongle et du lit de l'ongle, œdème facial.
- **Visuels** : diplopie, troubles de l'accommodation.
- **Immunitaires** : infection virale, rhinopharyngite, hypersensibilité.
- **Musculo-squelettiques** : spasmes, arthralgie, myalgie, dorsalgie.
- **Respiratoires** : dyspnée, bronchite, pharyngite, toux, épistaxis.

Cependant, les molécules de nouvelle génération semblent induire moins d'effets secondaires et être mieux tolérées. Le tableau ci-dessous résume les effets indésirables fréquents et très fréquents des antiépileptiques (Très fréquent (> ou = 1/10), fréquent (> ou = 1/100, <1/10). [22] [23]

*Tableau III: effets indésirables fréquents et très fréquents des antiépileptiques. [22][23]*

*ETX : ethosuximide ; PB : phénobarbital ; PHT : phénytoïne ; CBZ : carbamazépine ; VPA : acide valproïque ; FEL : felbamate ; GBP : gabapentine ; LCM : lacosamide ; LVT : lévétiracétam ; LAM : lamotrigine ; OXC : oxcarbazépine ; RFN : rufinamide ; STP : stiripentol ; TGB : tiagabine ; TPM : topiramate ; VGV : vigabatrine ; ZNS : zonisamide.*

| Effets | ETX | PB | PHT | CBZ | VPA | FEL | GBP | LCM | LVT | LAM | OXC | RFN | STP | TGB | TPM | VGV | ZNS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nerveux | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Cardio-vasculaires | | | X | | | | X | | | | | | | | | | |
| Gastro-intestinaux | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Hépatiques | | X | | X | X | | | | | | | | X | | | | |
| Sanguins et lymphatiques | | | | X | X | | | | | | | | X | | X | X | X |
| Rénaux et génito-urinaires | | | | | X | | X | | | | | X | X | | X | | X |
| Cutanés et appendices | X | X | X | X | X | | X | X | | | X | X | | X | X | | X |
| Visuels | | | X | X | | X | X | X | | | X | X | | | X | X | X |
| Immunitaires | | | | | | | X | | X | | | | | | X | | X |
| Musculo-squelettiques | | X | | | | | X | X | | | | X | | | X | X | |

Les effets indésirables sont nombreux et fréquents, dans certaines situations à risque, un arrêt du traitement en urgence peut être obligatoire comme pour certaines réactions d'hypersensibilité cutanées, des troubles de la vision ou respiratoires.

### 4. Interactions médicamenteuses

Les antiépileptiques constituent un groupe de médicaments extrêmement susceptible d'interactions et le plus souvent pharmacocinétiques. Ces dernières peuvent modifier l'absorption, la liaison aux protéines, le métabolisme ainsi que l'élimination des médicaments. De nombreuses études précliniques ont démontré une altération du métabolisme due à l'effet inducteur ou inhibiteur d'enzymes.

L'induction enzymatique entraîne une augmentation du métabolisme et donc une diminution des concentrations sériques et un effet pharmacologique moins important (si aucun métabolite actif n'est présent) avec une éventuelle perte de contrôle des crises épileptiques. Ce processus est inversé lorsqu'on arrête l'inducteur, entraînant ainsi une augmentation des concentrations sériques et un potentiel effet secondaire toxique.

L'inhibition enzymatique quant à elle résulte de la compétition de deux substrats pour un même site actif d'une enzyme, la molécule qui a le plus d'affinité se fixe et empêche la métabolisation du médicament associé . Il s'en suit une élévation des concentrations plasmatiques de ce médicament avec un risque accru de survenue d'effets indésirables.

Une fois que l'inhibiteur est retiré, le médicament associé se fixe sur le site actif de l'enzyme du métabolisme. Ceci entraine une diminution de la concentration du médicament avec un risque important de convulsions.

L'effet inducteur (carbamazépine, phénytoïne, phénobarbital, primidone, topiramate) ou inhibiteur (acide valproïque) des antiépileptiques peut induire une diminution ou une augmentation des concentrations sériques des autres antiépileptiques utilisés en polythérapie ou avec d'autres classes de médicaments comme les anticoagulants, les antipsychotiques, les antibiotiques, antinéoplasiques et les immunosuppresseurs. En fonction des conséquences cliniques, ces interactions peuvent être classées en trois niveaux :

- Niveau 1 : implique des conséquences cliniques graves et la combinaison doit être évitée
- Niveau 2 : implique généralement une prudence et un ajustement de la posologie
- Niveau 3 : concerne généralement les interactions pour lesquelles un ajustement de posologie n'est pas nécessaire

Le tableau IV ci-dessous représente des interactions induites par l'association d'antiépileptiques ou d'antiépileptiques avec d'autres classes de médicaments.

*Tableau IV: exemples d'interactions médicamenteuses de niveau 1 et 2. [24]*

| Antiépileptiques | Médicament affecté | Conséquences cliniques | Niveau d'interaction |
|---|---|---|---|
| **Carbamazépine, phénobarbital, phénytoïne, primidone Topiramate** | Contraceptifs oraux | Induction du métabolisme oestrogénique et diminution de l'effet du contraceptif | Niveau 1 : doit être évitée |
| **Carbamazépine** | Antibiotiques : clarythromycine, érythromycine | Inhibition du métabolisme de la carbamazépine et potentialisation de sa toxicité | Niveau 1 : doit être évitée |
| **Lamotrigine** | Contraceptifs oraux | Induction du métabolisme de la lamotrigine avec diminution de 50% de sa concentration sérique | Niveau 1 : doit être évitée |
| **Acide valproïque** | Lamotrigine | Inhibition du métabolisme de la lamotrigine et augmentation de sa neurotoxicité | Niveau 2 : prudence et ajustement de la posologie |
| **Acide valproïque** | Phénobarbital | Inhibition du métabolisme du phénobarbital et risque d'intoxication | Niveau 2 : prudence et ajustement de la posologie |
| **Carbamazépine, phénobarbital, phénytoïne, primidone** | Antivitamine K: warfarine | Induction du métabolisme de la warfarine et augmentation du risque de coagulation | Niveau 2 : prudence et ajustement de la posologie |
| **Carbamazépine, phénobarbital, phénytoïne, primidone** | Immunosuppresseurs : ciclosporine, tacrolimus | Induction du métabolisme de l'immunosuppresseurs et échec thérapeutique | Niveau 2 : prudence et ajustement de la posologie |

Les antiépileptiques de nouvelle génération présentent peu d'interactions pharmacocinétiques par rapport aux antiépileptiques d'ancienne génération qui ont un effet inducteur ou inhibiteur enzymatique affectant ainsi les concentrations sériques des autres antiépileptiques ainsi que d'autres médicaments.

Il existe d'autres types d'interactions à prendre en considération lors de l'instauration d'un nouvel antiépileptique comme :

- La prise d'antacides qui réduit de 24% l'absorption de la gabapentine.
- L'association de deux antiépileptiques fortement liés aux protéines plasmatiques qui peut engendrer une modification de leur fraction libre et donc une diminution de l'efficacité du traitement
- Ou l'association de médicaments agissant sur le même site d'action qui peut entraîner un antagonisme et une altération de l'efficacité du traitement. [24]

### 5. Surveillance et suivi paraclinique

Lors de l'instauration d'un traitement antiépileptique, il est important de mettre en place un suivi paraclinique afin d'évaluer l'efficacité du traitement, d'ajuster les doses et de prévenir les effets indésirables et iatrogènes.

#### *a) Examens biologiques*

Le dosage de plusieurs antiépileptiques est disponible [25] et peut être utile en début de traitement afin de l'équilibrer. Sa prescription dépend du contexte : comorbidités type insuffisance hépatique ou rénale, apparition d'effets indésirables, ajustement thérapeutique en cas de réapparition ou aggravation des crises et autres situations cliniques comme la grossesse.
Certains antiépileptiques nécessitent une surveillance biologique systématique (numération formule sanguine, dosage des enzymes hépatiques, natrémie, taux de prothrombine).

#### *b) Imagerie*

Dans certaines situations, l'imagerie par résonnance magnétique (IRM), si elle est réalisée en début de traitement pourra être réalisée à nouveau suite à la demande du spécialiste.

#### *c) Autres examens*

- Un électroencéphalogramme (EEG) est effectué sur demande d'avis spécialisé si les crises se modifient ou s'aggravent sinon un EEG est réalisé tous les deux ans.
- Un examen du champ visuel en cas de traitement avec du vigabatrine.
- Une ostéodensitométrie chez certains patients traités par plusieurs antiépileptiques et à mobilité restreinte. [26]

### B. Traitement non médicamenteux

Le recours à la chirurgie se produit principalement lors de l'échec du traitement médicamenteux et au développement de résistances à plusieurs molécules ayant des mécanismes d'action différents.

Le traitement chirurgical est un traitement curatif, il est possible de l'effectuer si les crises sont partielles, localisées et si l'exérèse de cette partie n'entraine pas un déficit neurologique.

Il existe plusieurs types de chirurgies, le choix dépend du type d'épilepsie et de la localisation du foyer épileptique :

- La résection d'un lobe : l'épilepsie du lobe temporale est la plus fréquente. La résection de ce lobe consiste à couper le tissu cérébral dans cette zone pour supprimer le foyer des crises
- La lésionectomie : consiste à retirer des lésions cérébrales comme une tumeur ou un vaisseau sanguin malformé qui induisent des convulsions.
- L'hémisphèrectomie : indiquée dans les épilepsies pharmaco-résistantes secondaires à des pathologies congénitales ou acquises touchant la majeure partie d'un hémisphère cérébral et consiste à effectuer plusieurs plans de coupe dans la substance blanche et qui vont déconnecter l'hémisphère de ses liaisons intra et inter-hémisphériques ainsi que ses efférences vers le tronc cérébral.
- La callosotomie : résection partielle ou totale du corps calleux afin d'arrêter la communication entre les hémisphères et empêcher la propagation des crises épileptiques.
- Les transsections sous-piales : consiste à interrompre sélectivement les fibres horizontales dans une zone corticale définie en respectant les fibres verticales et les structures vasculaires. Les fibres horizontales seraient responsables de la propagation des crises.
- La stimulation du nerf vague : un générateur d'influx est implanté sous la peau et est programmé pour transmettre de manière intermittente des courants électriques au nerf vague. Ceci permet de réduire les crises.

Cependant, la chirurgie n'est pas toujours sans conséquences néfastes. Il existe certains risques comme :

- Le risque de complication de l'intervention (infection, hémorragie) qui se situe aux alentours de 2%.
- Une aggravation des problèmes existants ou apparition de nouveaux problèmes neurologiques.
- Une perte de la vision, de la parole, de la mémoire ou du mouvement.
- La réapparition des crises épileptiques. [27]

D'autres moyens existent aussi, comme le recours au régime cétogène. Il consiste à mettre en place un régime à base de graisses, pauvre en protéines et hydrates de carbone. Les graisses seront utilisées comme source d'énergie par béta-oxydation ce qui entraine la production de corps cétoniques qui seront utilisés comme carburant du cerveau. Plusieurs chercheurs se sont intéressés à ce régime et ont démontré que les corps cétoniques réduisent les crises via différents mécanismes :

- Quand le taux de glucose est faible dans le sang l'organisme utilise les corps cétoniques afin de produire de l'énergie.
- Ce métabolisme anaérobique ralentit la disponibilité de l'énergie et réduit les crises. De plus, la cétose chronique augmente l'énergie cérébrale via la stabilisation et la réduction de l'excitabilité des synapses.
- Les corps cétoniques peuvent exercer un effet inhibiteur sur le transporteur vésiculaire du glutamate.
- Les corps cétoniques augmentent la synthèse du GABA dans le liquide céphalorachidien.

Cependant, les résultats positifs de l'effet de ce régime sont encore à confirmer car seulement huit études de qualité ont été faites. [28] [17] [29]

## III. Grossesse et Epilepsie

En France, l'épilepsie affecte environ 100000 femmes en âge de procréer soit une femme sur 200. Nombreuses sont celles qui souhaitent avoir des enfants et qui s'interrogent sur l'impact qu'auront la maladie, la survenue de complications, la transmission génétique et le traitement médicamenteux sur le développement du fœtus. [30]

C'est pour cette raison que la grossesse chez une femme épileptique doit se programmer plusieurs mois à l'avance pour une meilleure prise en charge thérapeutique et afin d'éviter les effets tératogènes de certains antiépileptiques. Malgré le fait que les risques de malformations peuvent être 2 à 5 fois plus importants chez la femme enceinte épileptique, le traitement ne peut être arrêté car les crises épileptiques peuvent être délétères pour la mère et le fœtus. [31]

### A. Pharmacocinétiques de la femme enceinte

La grossesse s'accompagne de changements physiologiques importants dont il faut tenir compte chez une patiente épileptique. Ces changements peuvent affecter la pharmacocinétique du médicament à toutes les étapes [32] :

- *L'absorption* : par la diminution de la motilité gastro-intestinale, les vomissements, l'augmentation du pH gastrique qui va favoriser l'absorption des médicaments bases faibles comme la caféine et diminuer la biodisponibilité d'acides faibles comme l'aspirine.

- *La distribution* : par l'augmentation du volume plasmatique (42%) atteignant un volume de 3.5L à la semaine 38 de gestation ainsi que l'augmentation du volume d'eau corporel. Tout ceci va favoriser la distribution des substances hydrophiles et diminuer les concentrations plasmatiques.
  La distribution tissulaire peut aussi être favorisée par l'augmentation de la fraction libre des médicaments à cause de la diminution des concentrations de protéines sériques (albumine et alpha-glycoprotéine).

- *Le métabolisme* : par l'augmentation de l'activité de certains cytochromes comme le CYP3A4, CYP2A6, CYP2D6, CYP2C9 et la diminution de l'activité du CYP1A2 et CYP2C19. La grossesse affecte aussi le métabolisme de phase II avec une augmentation de l'activité de l'UGT1A4 jusqu'à 200% durant le premier et deuxième trimestre et à 300% au troisième trimestre, cette enzyme de la glucurono-conjugaison permet la solubilisation de certaines molécules afin de les éliminer dans les fèces ou l'urine . Ces variations peuvent différer en fonction du génotype maternel et ont un impact important sur le dosage des médicaments.

- *L'élimination :* par l'augmentation de 50% du taux de filtration glomérulaire au premier trimestre et qui continue d'augmenter jusqu'à la fin de la grossesse.

## B. Traitement de l'épilepsie chez la femme enceinte

Sans traitement efficace, une femme enceinte épileptique s'expose à la réapparition de crises, qui peuvent avoir un impact délétère sur elle et le fœtus, provoquant un accouchement prématuré ou même la mort des deux.

Certains antiépileptiques sont contre-indiqués chez la femme enceinte comme l'acide valproïque en raison du risque élevé de malformations du fœtus (10 % des cas) et de troubles graves du comportement dans 30 % des cas chez les enfants. [33]

De plus ces effets comme les malformations cardiaques, la fente palatine, les anomalies du tube urogénital et neural augmentent avec la dose et la polythérapie. [34]

Plusieurs études ont démontré que non seulement l'association de l'acide valproïque à un autre antiépileptique mais l'association de plusieurs antiépileptiques en général multiplie par 3 ou 4 le risque de malformations congénitales. C'est pour cette raison que la monothérapie en évitant l'utilisation de valproate de sodium est recommandée chez les femmes enceintes épileptiques.

A ce jour, pour certains antiépileptiques, on ne dispose pas assez d'informations sur le potentiel tératogène. Pour d'autres, on dispose de données rassurantes mais que sur de faibles effectifs de grossesse en monothérapie comme pour la gabapentine ou l'oxcarbazépine.

Le topiramate quant à lui fait partie des antiépileptiques à potentiel tératogène intermédiaire car il a été associé à un taux élevé de fentes labio-palatines ou d'hypospadias.

D'autres études suggèrent que le valproate de sodium, la phénytoïne, les barbituriques et la polythérapie pourraient être associés à des troubles du développement cognitif, cet effet n'a pas été observé avec la lamotrigine et le lévétiracétam. Le risque autistique semble à ce jour être spécifique du valproate de sodium.

C'est pour cette raison qu'il faut substituer avec des molécules de nouvelle génération. Ces dernières n'ont pas démontré une meilleure efficacité mais une meilleure tolérance et très peu ou pas d'effets tératogènes. Le graphique ci-dessous (figure 5) montre que depuis 1998 l'utilisation des antiépileptiques de première génération est en régression et est remplacée par des molécules de nouvelle génération avec la lamotrigine en première ligne.

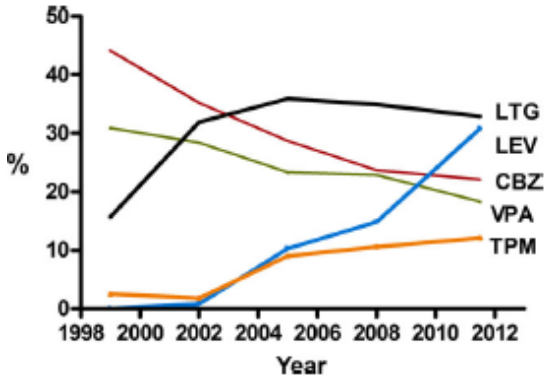


*Figure 5: les antiépileptiques les plus utilisés dans le registre de grossesses en Australie; LTG :lamotrigine ; LEV :lévétiracétam ; CBZ :carbamazépine ; VPA : valproate de sodium ; TPM :topiramate.[35]*

Selon le centre de référence sur les agents tératogènes et le rapport de l'ANSM « Antiépileptiques : état actuel des connaissances sur le risque de malformations et de troubles neuro-développementaux » l'antiépileptique qui soulève le moins d'inquiétude à ce jour est la lamotrigine, viennent ensuite le lévétiracétam et l'oxcarbazépine.
La carbamazépine, la gabapentine, la phénytoïne et la prégabaline peuvent être prescrites en cours de grossesse mais sont proposées après la lamotrigine, le lévétiracétam et l'oxcarbazépine. (figure 6)
Selon ces recommandations, la lamotrigine est à privilégier dans le traitement de l'épilepsie focale puis le lévetiracétam et l'oxcarbazépine.
Et pour le traitement de l'épilepsie généralisée il faut privilégier la lamotrigine.[36] [16]

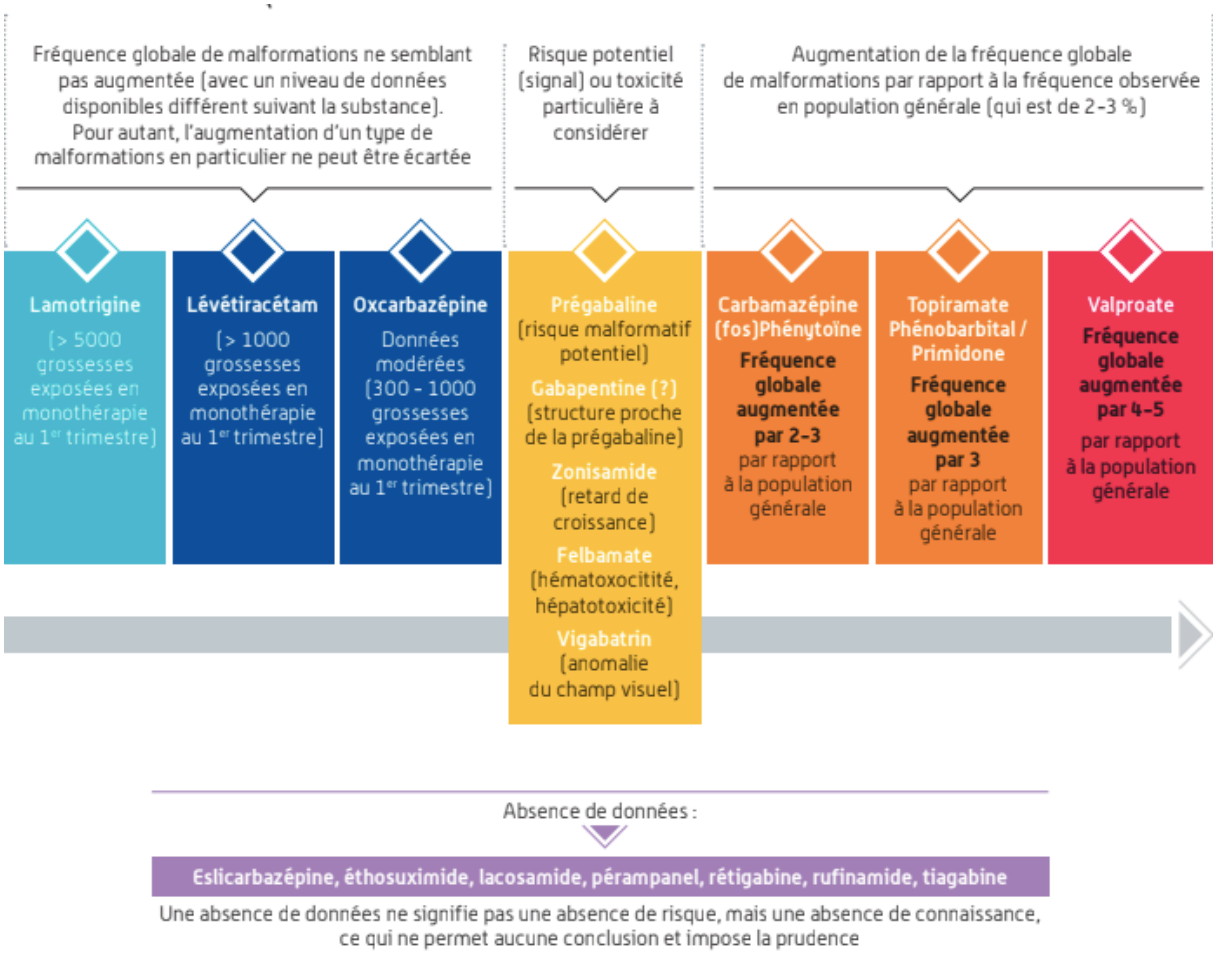

*Figure 6: vue d'ensemble sur le risque global de malformations. [16]*

La grossesse nécessite une prise en charge concertée et coordonnée multidisciplinaire (neurologue, obstétricien, anesthésiste) car les modifications pharmacocinétiques imposent des dosages plasmatiques réguliers des antiépileptiques et un ajustement de doses par le neurologue si besoin. [37]

# IV. Passage transplacentaire des médicaments

## A. Structure et rôle du placenta

Le placenta, appelé « arbre de la vie » est le premier organe formé pendant la grossesse et qui connecte physiquement et physiologiquement l'embryon à la paroi utérine.
Structurellement, c'est un organe villositaire hémochorial. Fonctionnellement, c'est un organe très complexe qui assure différents rôles : le rôle de système respiratoire grâce aux échanges de dioxygène et d'oxyde de carbone, de système digestif en absorbant les nutriments nécessaires à la survie et au développement du fœtus et de système immunitaire en mettant en place une barrière protégeant ainsi le fœtus d'une grande partie de toxiques et de pathogènes. ( figure 7)

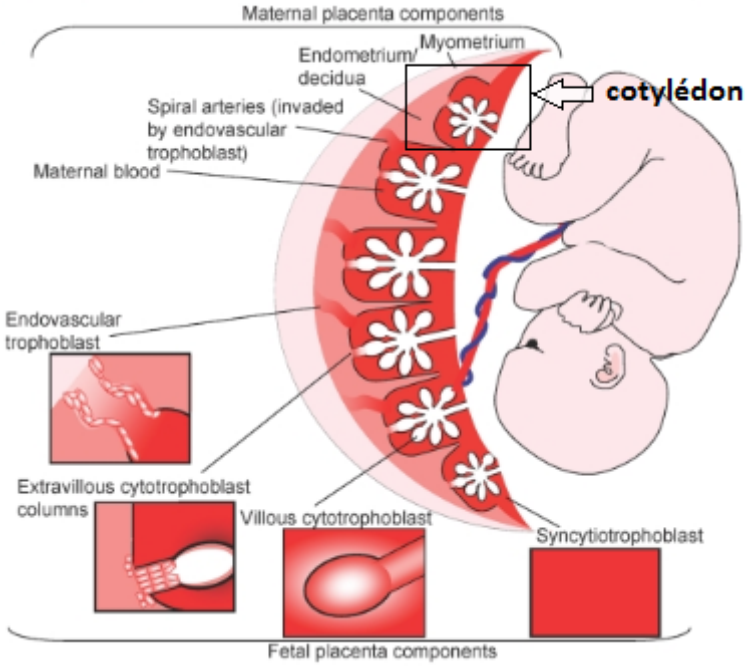


*Figure 7: structure du placenta humain. [38]*

Le placenta joue aussi le rôle d'organe endocrinien en produisant de nombreuses hormones et des facteurs de croissance qui favorisent la croissance du fœtus.
La villosité choriale est l'unité fonctionnelle du placenta qui contient les couches de syncytiotrophoblastes / cytotrophoblastes, de stroma villeux et d'endothélium vasculaire fœtal qui séparent le sang maternel de la circulation fœtale. Ces villosités forment un certain nombre de structures circulaires séparées (cotylédon) et qui sont répartis sur la surface du sac chorionique.
( figure 8)

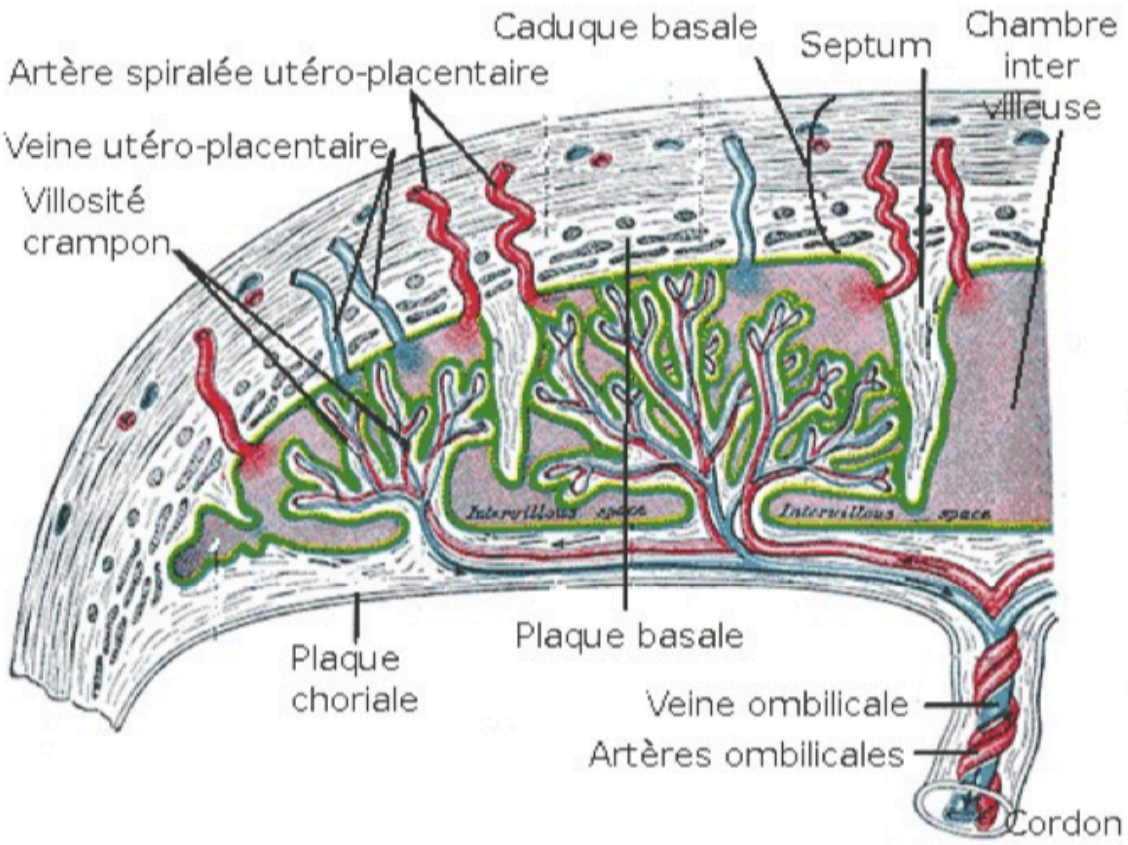


*Figure 8: structure du placenta humain.[39]*

Le placenta est composé de 15 à 28 cotylédons formés par des troncs de villosités. Chaque tronc et ses branches flottent dans un espace cloisonné par des septums formant des lobes. Ces lobes sont limités par une plaque basale côté maternel et une chorionique côté fœtal. [40]
Le placenta est un organe vasculaire qui reçoit le sang du milieu maternel et fœtal et donc a deux systèmes circulatoires distincts :

- *La circulation materno-placentaire (utéroplacentaire)*

Elle n'est complétement établie qu'à la fin du premier trimestre de grossesse et va de la circulation maternelle jusqu'à l'espace intervilleux où se font les échanges de gaz et de nutriments via les artères spirales. Puis le sang désoxygéné retourne à la circulation maternelle par les veines de l'endomètre puis de l'utérus.

- *La circulation foeto-placentaire*

Le sang désoxygéné est transporté par l'artère ombilicale alors que les nutriments et l'oxygène sont transportés par la veine ombilicale, l'échange se fait au niveau de l'espace intervilleux. [41]

## B. Transport des médicaments au niveau du placenta

### 1. Les transporteurs

Chez l'homme il existe différents types de transporteurs. Certains transporteurs sont présents au niveau du placenta lui permettant ainsi de jouer son rôle de barrière sélective du passage des molécules endogènes ou exogènes comme les xénobiotiques.
Ce passage peut se faire par différents mécanismes :

- *Diffusion passive :* Le transfert est soit transcellulaire à travers la couche de syncytiotrophoblastes, soit paracellulaire à travers un espace intercellulaire. Ce mode de transport n'exige pas d'apport énergétique, mais dépend d'un gradient de concentration. Seules les molécules de faible poids moléculaire, non ionisées et lipophiles peuvent traverser le placenta par ce mécanisme.
- *Diffusion facilitée* : passage par des transporteurs qui ne nécessite pas d'énergie et qui se fait selon le gradient de concentration.
- *Transport actif* : ce mécanisme nécessite de l'énergie et se fait contre le gradient de concentration. [42]

Deux grandes familles de transporteurs sont impliquées dans le passage transplacentaire des médicaments :

- La famille « ATP-binding cassette (ABC) » et qui représente la principale classe de transporteurs actifs primaires dans le placenta et joue un rôle important dans le transport d'efflux des médicaments.
- La famille « SLC solute carrier » ne consomme pas directement d'énergie et est plus impliquée dans l'absorption de molécules. Cette famille comporte :
    - Le transport par diffusion facilitée : les molécules traversent la membrane selon le gradient électrochimique.
    - Le transport actif secondaire : couple le passage de la molécule avec celui d'un ion. Les ions se déplacent selon le gradient électrochimique et la molécule contre son gradient de concentration. [43]

Ces transporteurs sont présents dans le placenta mais aussi fortement exprimés dans presque toutes les cellules épithéliales qui séparent les différents compartiments fluides du corps humain et ont un rôle important dans l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination des médicaments.
Ces familles comportent différents membres (figure 9).
Il est important de connaitre les différents moyens qu'utilisent les xénobiotiques pour traverser la barrière placentaire afin de prédire l'exposition du fœtus et le potentiel tératogène. [44]

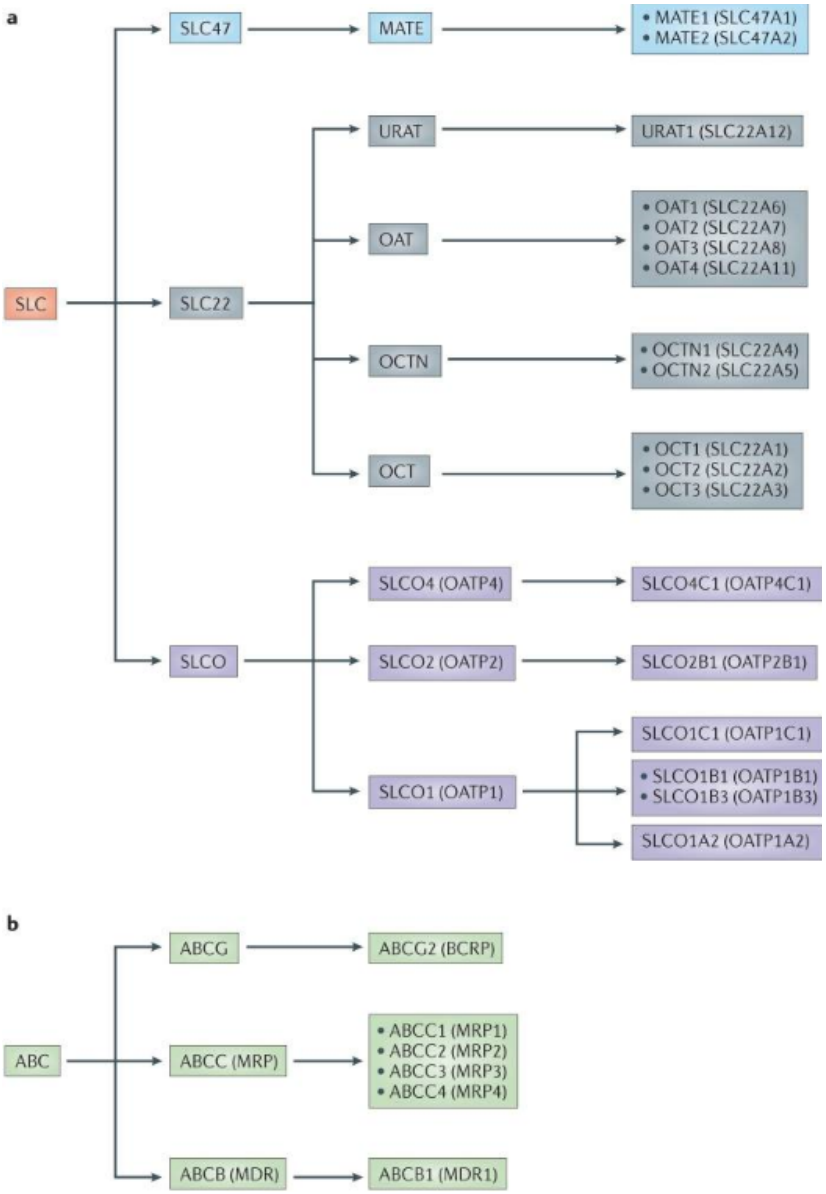


*Figure 9: différents transporteurs SLC (a) et ABC (b) impliqués dans le transport des xénobiotiques et de médicaments. [44]*

Au niveau du passage transplacentaire, deux systèmes de transport appartenant à la famille des transporteurs ABC jouent un rôle majeur : la P-gP (gène ABCB1) et la BCRP (gène ABCG2). Ce sont deux protéines majoritairement exprimées dans le syncytiotrophoblaste et assurant le rôle de transport d'efflux afin d'empêcher le passage placentaire des xénobiotiques et protéger ainsi le fœtus (figure 10).

L'expression de ces transporteurs varie selon le stade de la grossesse, il a été démontré que l'expression de la P-gP diminue en fin de gestation, ce qui rend le fœtus plus vulnérable à l'exposition aux médicaments. Il a été aussi démontré que l'expression des transporteurs de médicaments peut être altérée dans les grossesses pathologiques (pré-éclampsie, infection, grossesse prématurée). [45]

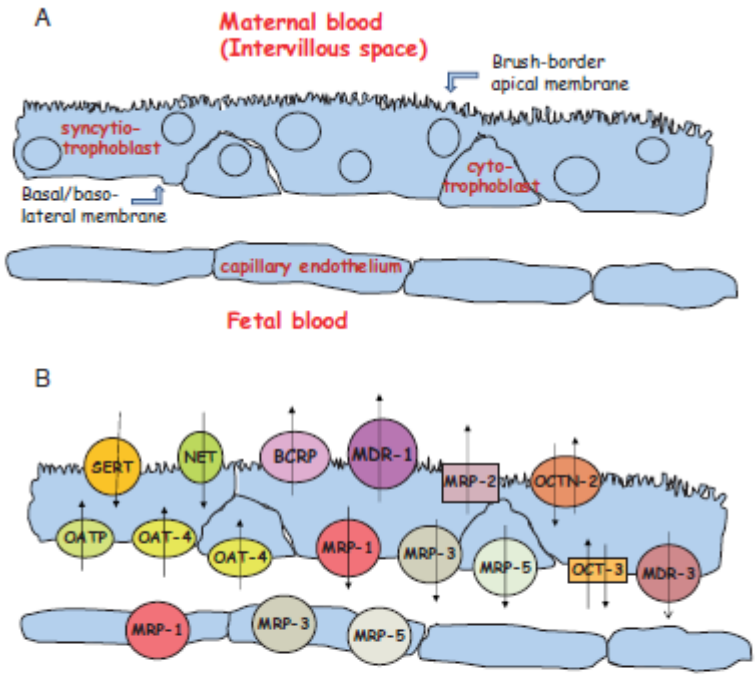


*Figure 10: structure du placenta humain à terme. (A) microstructure de la barrière placentaire. (B) principaux transporteurs exprimés dans le placenta humain. [46]*

*BCRP, breast cancer resistance protein; MDR, multidrug resistance protein, MRP, multidrug resistance-associated protein; NET, noradrenalin transporter; OAT, organic anion transporter; OATP, organic anion-transporting polypeptide; OCTN, organic cation transporter; SER, serotonin transporter.*

### 2. Exemples d'antiépileptiques transportés

En déterminant les ratios ombilico-maternels à l'accouchement, l'étude de Bank et al. portant sur les antiépileptiques les plus couramment prescrits (lamotrigine, lévétiracétam, topiramate, carbamazépine, acide valproïque, phénytoïne, oxcarbazépine) a permis de mettre en évidence leur passage transplacentaire [47]. Mais selon quel mécanisme, peu de chercheurs se sont intéressés à la question ou ont réussi à déterminer les transporteurs.

L'étude de Romermann a également mis en évidence l'implication de la BCRP et de la PgP dans le transport placentaire de la lamotrigine alors que Tortos et al. ont démontré que la PgP était très peu impliquée dans le transport du lévétiracétam. [48] [49]

## C. Métabolisme placentaire

Le placenta contient une machinerie enzymatique du métabolisme responsable de réactions de phase I et II, cependant il existe très peu de données sur la biotransformation placentaire des xénobiotiques en métabolites actifs toxiques. Ce métabolisme semble être mineur comparé au métabolisme hépatique, plusieurs cytochromes P450 ont été isolés et qui sont en grande partie responsables de la détoxification. L'expression de ces molécules varie selon le stade de grossesse, l'état de santé et la durée de gestation.

Le placenta contient aussi quelques enzymes de phase II comme la gluthation-S-transférase, l'époxyde hydrolase, la N-acétyl-transférase et des isoformes de sulfotransférases. [50]

## D. Principaux modèles expérimentaux d'étude du passage transplacentaire des médicaments

### *a) Modèles ex vivo*

#### (1) Modèle de la perfusion ex-vivo du cotylédon humain

La structure du placenta humain est particulière et aucun modèle animal à ce jour n'y est strictement comparable. Le passage des médicaments à travers cette structure dépend de ses propriétés physico-chimiques, du stade de la grossesse, et des paramètres placentaires qui changent selon le stade de la grossesse.

Le modèle de perfusion *ex-vivo* du cotylédon humain a été développé en 1970. C'est le seul modèle à ce jour qui reproduit la structure de la double circulation materno-fœtale. Cette technique pose peu de problèmes éthiques car souvent cet organe est considéré comme un déchet et est détruit. En pratique, l'accord écrit de la patiente est le minimum requis pour récupérer son placenta après lui avoir soumis une fiche explicative et informative du protocole de recherche. Cette technique nécessite la présence d'une maternité à proximité afin de débuter la perfusion le plus rapidement possible avant que le sang ne coagule dans le placenta.

Elle consiste à isoler une unité fonctionnelle du placenta :le cotylédon.

La circulation fœtale est maintenue en insérant les cathéters dans une artère et une veine qui irriguent un cotylédon. La circulation maternelle quant à elle est réalisée en insérant des cathéters de l'autre côté du cotylédon au niveau de l'espace intervilleux.

Le cotylédon sera maintenu par la suite dans une chambre de perfusion au plus proche des conditions physiologique : pH, température, composition du milieu et débits de perfusion.

La solution perfusée du côté maternel comprend généralement le ou les médicaments étudiés, le plus souvent à la concentration thérapeutique ou maximale.

L'étape suivante consiste à recueillir à intervalle régulier de fractions de la solution perfusée maternelle et fœtale. La durée de perfusion varie de 60 à 240 minutes.

A partir des différentes fractions maternelles et fœtales prélevées , les médicaments sont dosés et les résultats sont souvent présentés en calculant des ratios de concentrations fœto-maternels. Ces données sont intégrées par lui suite dans un modèle mathématique qui permet de prédire l'exposition fœtale au médicament.

Le bon déroulement de la perfusion est évalué grâce à une molécule témoin dont on connaît le mécanisme et le taux de diffusion.

La principale limite de cette technique c'est qu'elle ne permet pas d'étudier le passage transplacentaire au premier trimestre de grossesse alors que c'est une période critique du développement fœtal. Cependant, c'est la seule technique qui permet d'étudier le passage transplacentaire dans un tissu humain organisé.

Cette technique peut se faire en circuit ouvert ou fermé.

L'avantage du circuit fermé est de pouvoir rétablir un circuit comparable au circuit materno-fœtal physiologique alors que le circuit ouvert permet d'étudier la clairance placentaire. [51] [52]

### *b) Préparations tissulaires*

#### (1) Les explants placentaires humains

Le tissu placentaire humain peut être isolé puis mis en culture comme explant tissulaire et permet d'évaluer la fonction enzymatique et le métabolisme des nutriments et des xénobiotiques.
Les explants placentaires peuvent être obtenu à partir d'un placenta issu de grossesse avec ou sans complications.
Cette technique permet de mettre des tissus en culture dans une variété de conditions afin de mimer les différents stades de la gestation.
Elle permet aussi de garder une microarchitecture intacte avec une durée de vie allant jusqu'à 11 jours.
Par contre, les cellules du syncytiotrophoblaste sont extrêmement sensibles aux conditions environnementales et nécessitent une surveillance attentive.

#### (2) Les microsomes

Le placenta est connu pour posséder une activité enzymatique relativement étendue. Il contient plusieurs enzymes du cytochrome P450 dans les mitochondries et le réticulum endoplasmique des cellules trophoblastiques.
Les microsomes placentaires sont de petites vésicules dérivées d'un réticulum endoplasmique lisse fragmenté. Ils sont produits à partir d'un petit fragment de placenta prélevé, lavé, séché et broyé.
Les microsomes contiennent les enzymes du cytochrome P450 qui sont impliquées dans le métabolisme oxydatif.
Ce modèle permet de fournir principalement des informations concernant le métabolisme des médicaments par le placenta.

#### (3) Les vésicules membranaires des microvillosités

Les vésicules membranaires sont préparées à partir des microvillosités de la surface du placenta humain à terme et qui sont exfoliées à partir des cellules syncytiotrophoblastes.
La préparation des vésicules de la membrane plasmique peut être isolée du bord de la brosse et de la surface basale du trophoblaste, ce qui nous permet d'étudier séparément leur fonction et permet d'étudier individuellement la fonction de chaque transporteur distinct.
Cette préparation est utile pour étudier les effets de médicaments ou de produits chimiques sur les mécanismes de transport à travers la membrane plasmique.
Le principal inconvénient de cette méthode est que l'exploration de l'activité des transporteurs membranaires se fait en l'absence de facteurs régulateurs et donc elle ne représente pas exactement les conditions *in vivo*.

### *c) Les cultures cellulaires primaires*

Une grande variété de lignées cellulaires primaires peut être produite à partir du placenta humain.
Une culture de cellules primaires trophoblastiques permet d'étudier l'influx ou l'efflux de molécules.
Il existe trois principaux types de lignées cellulaires dérivées du placenta humain :

- Les lignées cellulaires spontanées : elles proviennent spontanément de la culture *in vitro* du cytotrophoblaste, elles peuvent être utilisées pour étudier différents

aspects de la fonction trophoblastique comme l'immunologie ou l'absorption et la libération des xénobiotiques.

- Les cellules transfectées : il s'agit de lignées cellulaires générées par transfection spécifique avec des gènes viraux
- Les cellules du choriocarcinome : les lignées cellulaires dérivées du choriocarcinome humain présentent de nombreuses caractéristiques biochimiques et morphologiques des cellules invasives du trophoblaste. [53]

## V. Tératogénicité des antiépileptiques

Une exposition chronique aux antiépileptiques peut avoir un impact néfaste sur le fœtus et engendrer des tératogénicités à la naissance.
Deux risques importants sont liés au traitement antiépileptique :

- Un risque malformatif : les données vont de quasiment inexistantes à très importantes selon l'antiépileptique. Le niveau de risque peut être hiérarchisé en risque avéré, potentiel ou inexistant.
  Parmi les malformations les plus fréquentes : les malformations cardiaques, les fentes orales, les hypospadias, la dysmorphie faciale, l'anomalie des extrémités (dont hypoplasie des doigts), la microcéphalie, l'anomalie de fermeture du tube neural. (tableau VI)
- Un risque neuro-développemental : les données sont très limitées par rapport aux données sur le risque malformatif et ne permettent pas une conclusion définitive en dehors du risque avéré du valproate.
  Les exemples de troubles développementaux cités sont : l'autisme infantile, l'autisme atypique, le syndrome de Rett et le syndrome d'Asperger.

La polythérapie augmente le risque de malformations fœtales de 3 à 4 par rapport à la population générale. En monothérapie, tous les antiépileptiques n'ont pas le même potentiel tératogène.
De nombreuses études ont mis en évidence la tératogénicité de certains antiépileptiques comme l'acide valproïque ou la carbamazépine.

### EURAP : Etude de cohorte prospective sur le risque de malformations congénitales majeures avec huit antiépileptiques différents

L'EURAP est une collaboration internationale qui a pour objectif principal de comparer l'innocuité de différents antiépileptiques pendant la grossesse par rapport au risque de malformations congénitales. [54]
Ils ont publié en 2018 une étude de cohorte qui avait pour objectif de comparer la survenue de malformations congénitales majeures suite à une exposition prénatale aux huit médicaments antiépileptiques les plus couramment utilisés en monothérapie.
Le risque de malformations congénitales majeures a été évalué à 1 an après la naissance chez des bébés exposés avant la naissance à l'un des huit médicaments antiépileptiques couramment utilisés (carbamazépine, lamotrigine, lévétiracétam, oxcarbazépine, phénobarbital, phénytoïne, topiramate et valproate).

Sur les 21875 grossesses enregistrées dans la base de données EURAP du 20 juin 1999 au 20 mai 2016, 9089 grossesses ont été identifiées de femmes qui avaient été exposées à un antiépileptique en monothérapie et qui avaient des données de suivi complètes jusqu'à 1 an. De ces grossesses, 7555 répondaient aux critères d'éligibilité.
Les grossesses exclues sont : les grossesses identifiées rétrospectivement, celles survenant chez des femmes sans épilepsie, celles pour lesquelles les médecins n'ont pas soumis de rapport dans les délais prédéfinis, sans suivi complet ou avec un traitement interrompu au premier trimestre. Elles ont aussi été exclues les femmes enceintes sous plusieurs antiépileptiques, présentant des comorbidités et les grossesses interrompues à cause d'une malformation congénitale.
Les résultats sont présentés dans le tableau V ci-dessous :

*Tableau V: prévalence des malformations congénitales majeures chez le bébés exposés avant la naissance à l'un des huit antiépileptiques en monothérapie ( données de l'étude EURAP). [55]*

| | **Dose (mg/jour)** | **Taux de grossesses exposées** | **Taux de malformations congénitales majeures survenues** | **Prévalence des malformations congénitales majeures survenues ( IC : 95%)** |
|---|---|---|---|---|
| **Lamotrigine** | 25-1300 | 2514 | 74 | 2,9 (2,3-3,7) |
| **Carbamazépine** | 50-2400 | 1957 | 107 | 5,5 (4,5-6,6) |
| **Valproate** | 100-3000 | 1381 | 142 | 10,3(8,8-12) |
| **Lévétiracétam** | 250-4000 | 599 | 17 | 2,8 (1,7-4,5) |
| **Oxcarbazépine** | 75-4500 | 333 | 10 | 3,0 (1,4-5,4) |
| **Phénobarbital** | 15-300 | 294 | 19 | 6,5 (4,2-9,9) |
| **Topiramate** | 25-500 | 152 | 6 | 3,9 (1,5-8,4) |
| **Phénytoïne** | 30-730 | 125 | 8 | 6,4 (2,8-12,2) |

Les médecins ont soumis des rapports sur les résultats fœtaux anormaux potentiels dans 752 grossesses, 383 (5%) des 7355 grossesses totales ont été classées comme malformations congénitales majeures par le comité.
Selon les données de l'EURAP, le valproate de sodium est l'antiépileptique qui engendre le plus de malformations congénitales majeures suivi du phénobarbital et de la carbamazépine.
La lamotrigine et le lévétiracétam semblent engendrés moins de malformations congénitales. [55]
Une dépendance à la dose dans la prévalence des malformations congénitales majeures a été identifiée pour la carbamazépine, la lamotrigine, le phénobarbital et le valproate.

Les malformations congénitales majeures observées sont résumées dans le tableau VI ci-dessous :

*Tableau VI: malformations congénitales majeures associées à huit antiépileptiques en monothérapie. [55]*

| | **Carbamazépine (n=1957)** | **Lamotrigine (n=2514)** | **Lévétiracétam (n=599)** | **Oxcarbazépine (n=333)** | **Phénobarbital (n=294)** | **Phénytoïne (n=125)** | **Topiramate (n=152)** | **Valproate (n=1381)** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Cardiaque** | 28(1%) | 15(1%) | 5(1%) | 4(1%) | 8(3%) | 5(4%) | 3(2%) | 34(2%) |
| **Hypospadias** | 10(1%) | 6(< 1%) | 1 (<1%) | 0 | 1(<1%) | 0 | 1(<1%) | 22(2%) |
| **Anomalies du tube neural** | 7(<1%) | 1(<1%) | 0 | 0 | 2(1%) | 1(1%) | 0 | 16(1%) |
| **Fente palatine** | 2(<1%) | 3(<1%) | 1(<1%) | 1(<1%) | 1(<1%) | 0 | 0 | 6(<1%) |
| **Polydactylie** | 2(<1%) | 0 | 0 | 1(<1%) | 2(1%) | 0 | 0 | 8(1%) |
| **Gastro-intestinal** | 7(<1%) | 8(<1%) | 1(<1%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 2(<1%) |
| **Rénal** | 12(1%) | 8(<1%) | 1(<1%) | 0 | 1(<1%) | 0 | 0 | 7(1%) |
| **Autres malformations congénitales majeures** | 31(2%) | 27(1%) | 8(1%) | 4(1%) | 4(1%) | 2(2%) | 2(1%) | 30(2%) |
| **Multiples malformations congénitales majeures** | 8(<1%) | 6(<1%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 17(1%) |
| **Total** | **107(5%)** | **74(3%)** | **17(3%)** | **10(3%)** | **19(6%)** | **8(6%)** | **6(4%)** | **142(10%)** |

Le niveau de risque malformatif diffère selon l'antiépileptique utilisé.
Les données du tableau ci-dessus montrent que le vaproate de sodium est l'antiépileptique qui engendre le plus de malformations alors que la lamotrigine, le lévétiracétém et l'oxcarbazépine en engendrent beaucoup moins.
C'est pour cette raison que le valproate de sodium est contre-indiqué pendant la grossesse et sont à privilégier la lamotrigine et lévétiracétam. [56]

Ces données sont en constante évolution et nécessite une mise à jour régulière qui se fait à partir des déclarations de pharmacovigilance, des différents registres « épilepsie et grossesse » et des études pharmaco-épidémiologiques. [16]

# Partie 02 : Etude expérimentale du passage transplacentaire de la lamotrigine et du lévétiracétam

# I. Introduction

## A. Choix thérapeutique

L'acide valproïque a longtemps été utilisé dans le traitement de l'épilepsie de la femme enceinte. Il s'est révélé responsable de malformations congénitales majeures de l'ordre de 4 fois plus élevé en cas d'exposition *in utero*, que ce soit en comparaison aux grossesses non ayant arrêté l'acide valproïque avant la grossesse, d'un effet dose ou d'un risque plus marqué pour une exposition en polythérapie. Le nombre total d'enfants exposés *in utero* à l'acide valproïque atteints d'au moins une malformation congénitale majeure en France sur l'ensemble de la période depuis la commercialisation de l'acide valproïque (1967 à 2016) se situe entre 2150 et 4 100. Compte tenu de tous ces risques, les spécialités qui contiennent de l'acide valproïque (Dépakine®, Micropakine®, Dépakote®, Dépamide® et génériques) ne doivent plus être prescrites chez les femmes en âge de procréer, sauf en cas d'inefficacité ou d'intolérance aux alternatives médicamenteuses existantes.[57]

Le valproate de sodium a été remplacé par d'autres antiépileptiques comme la lamotrigine et le lévétiracétam (antiépileptiques de 2ème génération) dans la prise en charge de l'épilepsie chez la femme enceinte. Ces deux médicaments ont démontré une efficacité comparable à celle du valproate de sodium dans la gestion de crises épileptiques [58] et une tératogénicité moindre [34].

Cependant, très peu d'études sont faites sur le passage transplacentaire de ces médicaments. C'est pour cette raison qu'il est important d'évaluer et de contrôler les risques tératogènes qui pourraient être liés aux antiépileptiques de nouvelle génération ou à un dosage inapproprié (surdosage ou sous dosage à cause des changements pharmacocinétiques de la grossesse).

## B. Etude du passage transplacentaire de la lamotrigine et du lévétiracétam

L'étude du passage transplacentaire est difficile à réaliser *in vivo*. Ce type d'étude ne peut être effectué qu'au jour de l'accouchement, et nécessite un prélèvement chez la mère et un prélèvement de sang de cordon (que l'on assimile au fœtus). Ainsi, le passage transplacentaire *in vivo* n'est étudié qu'au travers d'un ratio de concentrations fœtale sur concentration maternelle. Cependant, les cinétiques maternelles et fœtales ne sont pas parallèles, c'est-à-dire que pour un même couple mère-fœtus le ratio de concentrations sera variable selon le délai entre la prise de médicaments et les prélèvements (moment de l'accouchement). Cette mesure est donc largement variable et peu représentative de l'exposition fœtale.

Quelques études ont été réalisées mais les résultats sont très variables. Pour le lévétiracétam, Johannessen et al. évaluent un ratio, du sang de cordon sur sang maternel variant de 0,97 à 1,45 chez 4 couples mère-fœtus [59]. Une autre étude de Tomson et al. évaluent un ratio variant de 0,56 à 2 ( n=12) [60]. Pour la lamotrigine, Paulzen et al. évaluent un ratio allant de 0.48 à 1.27 chez 6 couples [61] , un ratio de 0,6- 1,3 pour l'étude de Ohlman et al ( n=9) et un ratio de 1,2 démontré par Tomson et al (n=1) [62].

Dans ce contexte, j'ai participé à une étude *ex-vivo* du passage transplacentaire de la lamotrigine et du lévétiracétam afin de préciser les données cinétiques de ces deux molécules au niveau placentaire. , Cette étude basée sur la perfusion de cotylédon humain permet de rétablir en *ex-vivo* le double circuit fœto-maternel et est le modèle qui représente le mieux les échanges fœto-maternels à ce jour.

Les expérimentations se sont déroulées au sein de l'hôpital Cochin dans le laboratoire de pharmacologie EA7323 sous la direction du Professeur Jean-Marc TRELUYER, Madame Gabrielle LUI et Madame Déborah HIRT.

## C. Pharmacologie du lévétiracétam et de la lamotrigine

Ces deux molécules sont des antiépileptiques de deuxième génération et ont des caractéristiques pharmacologiques différentes.

### 1. Pharmacologie du lévétiracétam

#### *a) Propriétés pharmacodynamiques*

Le lévétiracétam est un dérivé de la pyrrolidone (figure 11) chimiquement non apparenté aux substances actives anticomitiales existantes. Son mécanisme d'action n'est pas complétement élucidé, certaines études suggèrent qu'il ne modifie pas les caractéristiques cellulaires de base ni la neurotransmission normale et ont démontré qu'il inhibe partiellement les canaux calciques N réduisant ainsi la libération de calcium intraneuronal ce qui empêche l'exocytose du glutamate diminuant ainsi le potentiel excitateur et l'excitabilité neuronale . De plus, il inverse partiellement l'effet inhibiteur du zinc et des bêtacarbolines sur les récepteurs GABAergiques et GLYCINergiques potentialisant ainsi les effets inhibiteurs du GABA et de la glycine, et diminuant l'excitabilité neuronale.

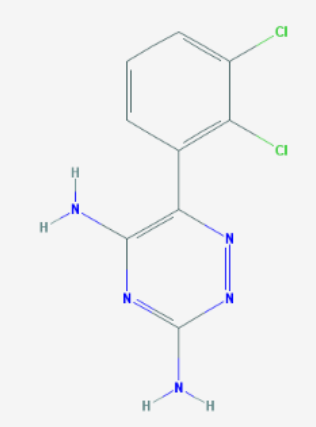


*Figure 11: structure chimique du lévétiracétam.*

Par ailleurs, des études *in vitro* réalisés sur des cerveaux de rongeurs ont montré que le lévétiracétam se fixait également sur la protéine SV2A, protéine qui semble être impliquée dans la fusion vésiculaire et l'excrétion cellulaire des neurotransmetteurs et en particulier du glutamate . [63] [64]

Ce mécanisme pourrait participer également à ses effets anti-épileptiques.

#### *b) Propriétés pharmacocinétiques*

Le lévétiracétam est rapidement absorbé avec une biodisponibilité de 100% et une concentration maximale atteinte environ une heure après la prise par voie orale.

Il existe peu de données sur la distribution tissulaire, certaines études ont démontré que le lévétiracétam diffuse de manière passive et est peu transporté par la PgP. [49]

Il est très peu lié aux protéines plasmatiques (<10%) et est très peu métabolisé chez l'homme, principalement par hydrolyse enzymatique (24%).

L'ucb L057 est le métabolite principal du lévétiracétam produit par hydrolyse indépendamment des isoformes du cytochrome P450 hépatique et est pharmacologiquement inactif. Ce dernier avec le lévétiracétam sont éliminés par voie rénale (95%). [65] [66] [67]

## 2. Pharmacologie de la lamotrigine

### *a) Propriétés pharmacodynamiques*

La lamotrigine bloque préférentiellement les canaux sodiques voltage dépendants activés ce qui stabilise la membrane neuronale et inhibe l'activation répétitive des neurones. ( figure 12)

De plus, en inhibant l'entrée du sodium via les canaux sodiques dans la cellule présynaptique, la dépolarisation membranaire est plus faible ce qui entraine une moindre activation des canaux calciques voltage dépendants membranaires. Au niveau des terminaisons nerveuses glutamatergiques, cela se traduira par une diminution de l'exocytose de glutamate et une diminution de l'excitabilité neuronale.

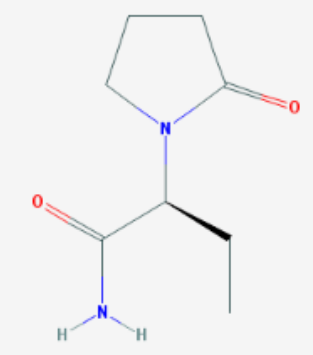


*Figure 12: structure chimique de la lamotrigine.*

### *b) Propriétés pharmacocinétiques*

La lamotrigine est rapidement et complétement absorbée au niveau de l'intestin. Elle atteint sa concentration maximale deux heures et demi après une prise par voie orale.

Une étude a démontré que cette molécule est substrat de la PgP et d'un transporteur d'efflux la BCRP. [48]

Elle a un taux de liaison aux protéines plasmatiques de 55% et est métabolisée par l'UDP-glucuronyltransférase (UGT), enzyme de métabolisme de phase II et plus précisément l'UGT1A4 qui en plus d'être exprimée au niveau hépatique, serait aussi présente au niveau du placenta ce qui implique une métabolisation possible de la lamotrigine de manière plus importante au cours de la grossesse. [68] [69]

## D. Reformulation du sujet

### 1. Question posée et stratégie mise en place

Actuellement le traitement de première intention chez la femme en âge de procréer est la lamotrigine dans le cas d'une épilepsie focale ou généralisée, d'autres molécules peuvent être utilisées dans la prise en charge de l'épilepsie focale comme le lévétiracétam [70]. Cependant, il existe peu de données sur le taux de passage de ces deux molécules ou qui prédisent l'exposition fœtale.

C'est pour cette raison que nous allons étudier plus précisément le passage transplacentaire et calculer une constante de passage pour la lamotrigine et le lévétiracétam.

C'est une étude non interventionnelle qui ne change en aucun cas la prise en charge des patientes et nécessite la présence d'une maternité à proximité afin de débuter la perfusion dans l'heure qui suit l'accouchement avant que le sang ne coagule. Le passage transplacentaire est évalué grâce au modèle *ex-vivo* de perfusion du cotylédon humain en circuit fermé. [71]

### 2. Objectifs à atteindre

#### *a) Objectif principal*

L'objectif principal de cette recherche est d'évaluer le ratio de concentrations de la lamotrigine et du lévétiracétam du milieu maternel et du milieu fœtal : ratio F/M.

#### *b) Objectifs secondaires*

- Calculer une constante de passage et prédire une exposition fœtale.
- Comparer les deux molécules entre elles et voir laquelle passe le plus la barrière placentaire

## II. Matériels et méthodes

### A. Procédures

#### 1. Recueil des placentas

Les placentas sont recueillis au centre d'investigation clinique de la maternité de Port-Royal à Paris, et perfusés dans l'heure suivant la délivrance après obtention du consentement écrit des patientes sélectionnées selon les critères suivants :

- ***Critères d'inclusion***
  - Patiente majeure
  - Grossesse non pathologique
  - Terme de la grossesse compris entre 37 et 41 semaines d'aménorrhées
  - Grossesse unique
- ***Critères de non inclusion***
  - Maladies vasculaires de type diabète, pré-éclampsie, retard de croissance in utero (pouvant altérer la circulation placentaire)
  - Sérologies maternelles VIH+, VHB +, VHC +
  - Patiente sous traitements au long cours

#### 2. Mise en place de la perfusion *ex-vivo* du cotylédon

Après récupération du placenta, la circulation *ex-vivo* fœto-maternelle est établie en double circuit fermé. Les cathéters sont implantés en premier dans la veine et l'artère fœtales. Une fois que le cotylédon commence à blanchir, le placenta est retourné afin d'implanter les cathéters du versant maternel.

La solution de perfusion est une solution d'Earle. Il s'agit d'une solution tampon isotonique contenant des sels inorganiques et un hydrate de carbone comme source d'énergie (6.80g NaCl, 0.40g KCl, 0.125g $NaH_2PO_4$& H2O, 0.20g $MgSO_4$& $7H_2O$, 1.00g Glucose, 0.20g $CaCl_2$ anhydre, 2.20g $NaHCO_3$, rouge de phénol 1000 ml eau distillée qsp)[72] et remplace la circulation sanguine. Ce circuit est maintenu à un débit de 12ml/min du côté maternel et 6ml/min du côté fœtal grâce à des pompes péristaltiques.

La perfusion est réalisée dans des conditions physiologiques à pH 7,4 côté maternel et 7,2 côté fœtal, et à une température constante de 37°C en plaçant le placenta dans la chambre de perfusion et les erlenmeyers représentant le compartiment maternel et fœtal dans un bain marie. (Figure 13)

La lamotrigine (5 mg/l) [73] ou le lévétiracétam (30 mg/l) [74] sont perfusés en association avec l'antipyrine (20 mg/l), une molécule contrôle de référence qui passe très bien la barrière placentaire par diffusion passive.

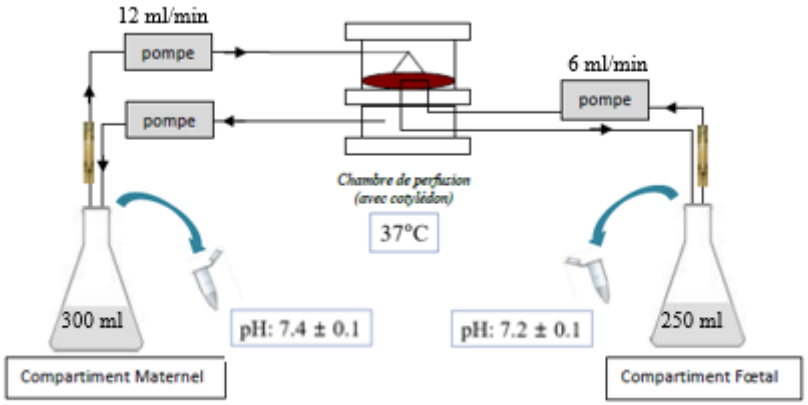


*Figure 13: schéma de perfusion ex-vivo du cotylédon humain en circuit fermé.*

Quand le système est mis en place et après introduction à $t_0$ de la molécule témoin (antipyrine) et d'un des deux antiépileptiques (lamotrigine ou lévétiracétam), un volume de 1 ml d'échantillon est prélevé des compartiments maternel et fœtal à différents temps t 0, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150, 180 minutes afin d'obtenir une cinétique de passage transplacentaire et pouvoir calculer le ratio F/M.
Pour le lévétiracétam certaines perfusions vont durer quatre heures afin de voir si l'équilibre est déjà atteint au bout de trois heures ou pas.

### 3. Dosage

#### *a) Validation de la viabilité des placentas*

L'antipyrine est une petite molécule qui passe très bien la barrière placentaire par diffusion passive, elle reflète le bon déroulement de la perfusion et donc l'intégrité du placenta en atteignant un ratio foeto-maternel de 0,75 au minimum au bout de 150 minutes. Elle est administrée en une seule fois à $t_0$ et est dosée grâce à une méthode déjà validée en chromatographie phase liquide à haute performance (HPLC) avec le paracétamol comme étalon interne. (Annexe 02)
Elle est séparée sur une colonne C8 en phase inverse à détection UV, un volume de 20µl est injecté à chaque fois et analysé en 16 minutes. Les caractéristiques de détection de l'étalon interne et de l'antipyrine sont indiquées dans le tableau VII ci-dessous :

*Tableau VII: caractéristiques chromatographiques de l'antipyrine et du paracétamol.*

| Molécule | Formule chimique | Temps de rétention (min) | Longueur d'onde de détection (nm) |
|---|---|---|---|
| Antipyrine | $C_{11}H_{12}N_2O$ | 5.82 | 270 |
| Paracétamol | $C_8H_9NO_2$ | 2,49 | 270 |

Afin de valider la viabilité du placenta et le bon déroulement de la perfusion, deux paramètres doivent être pris en compte [51] :

- Le taux de transfert (TTF) de l'antipyrine du milieu maternel au milieu fœtal qui doit être supérieur à 20%. Il se calcule grâce à la formule suivante :

$$TTF = \frac{C_f \times V_f}{C_m \times V_m + C_f \times V_f} \times 100$$

*Cf :concentration dans le compartiment fœtal, Cm : concentration dans le compartiment maternel, Vf :Volume du compartiment fœtal, Vm : Volume du compartiment maternel*

- Le ratio de concentrations d'antipyrine fœto-maternel à la fin de la perfusion. Si le ratio est supérieur à 75% on considère que la perfusion est réussie. Le calcul se fait en utilisant la formule suivante :

$$Ratio\ F/M\ = \frac{Cf}{Cm} \times 100$$

*Cf :concentration dans le compartiment fœtal, Cm : concentration dans le compartiment maternel*

### *b) Méthode de dosage du lévétiracétam*

Le lévétiracétam est dosé en HPLC en utilisant la lamivudine comme étalon interne. (Annexe 03)

Le lévétiracétam est séparé sur une colonne C18 en phase inverse en chromatographie liquide à détection UV, un volume de 10 µl est injecté de chaque ampoule avec un temps d'analyse de cinq minutes.

Les caractéristiques de détection de l'étalon interne et du lévétiracétam sont indiquées dans le tableau VIII ci-dessous :

*Tableau VIII: caractéristiques chromatographiques du lévétiracétam et de la lamivudine..*

| Molécule | Formule chimique | Temps de rétention (min) | Longueur d'onde de détection (nm) |
|---|---|---|---|
| Lévétiracétam | $C_8H_{14}N_2O_2$ | 3,70 | 270 |
| Lamivudine | $C_8H_{11}N_3O_3S$ | 2,41 | 270 |

### *c) Méthode de dosage de la lamotrigine*

La lamotrigine est dosée en chromatographie phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) avec le kit *Masstox* TDM BASIC KIT A.

La préparation des échantillons repose sur une simple précipitation de protéines et l'utilisation d'un étalon interne stable avec marquage isotopique (deutérés) qui garantit une quantification reproductible et fiable des molécules. (Annexe 04)

## 4. Modélisation de l'expérimentation *ex-vivo*

Ce modèle a été développé sur MONOLIX (MOdèles NOn LInéaires à effets miXtes) qui est un outil pour l'estimation de paramètres et la modélisation en pharmacologie de population en utilisant les algorithmes les plus avancés. [75]

Son utilisation a pour but de décrire les données expérimentales tout en permettant l'estimation du passage transplacentaire. La structure choisie était la plus physiologique possible et mimait l'expérience *ex-vivo* (figure 14), elle comprend :

- Le compartiment maternel où sont administrées les molécules à t = 0, compartiment caractérisé par son volume Vm et les débits de perfusion (du compartiment maternel vers le cotylédon Qm).
- Le cotylédon, qui est séparé en deux parties maternelle et fœtale. Ce cotylédon a un volume moyen de 58 ml et le côté maternel (Vmp) est supposé de 23 ml. [74]
- Le compartiment fœtal caractérisé par son volume Vf et le débit de perfusion entre ce compartiment et le cotylédon Qf.

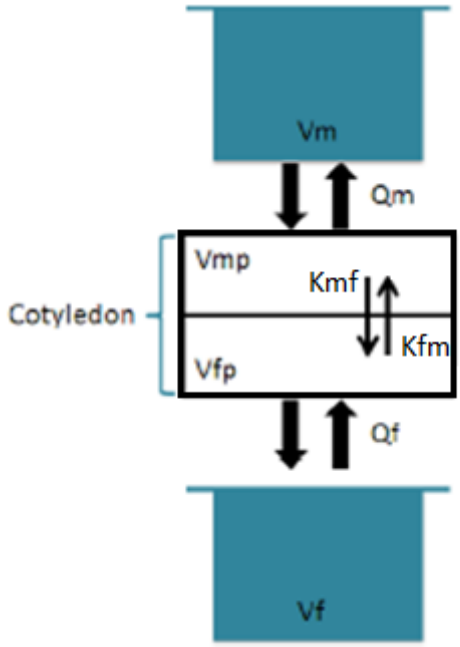


*Figure 14: représentation schématique de la modélisation ex-vivo.*

*Vm : volume du compartiment maternel, Vf : volume de compartiment fœtal, Vmp : volume du côté maternel du cotylédon, Vfp : volume du côté fœtal du cotylédon, Kmf : constante de passage materno-fœtale, Kfm : constante de passage fœto-maternel, Qm : débit de perfusion entre le compartiment maternel et le cotylédon, Qf : débit de perfusion entre le compartiment fœtal et le cotylédon.*

Le modèle structural comprend les variables dépendantes de l'expérience comme la quantité de produit administrée, les débits de perfusion ou encore les volumes des différents compartiments. Il comprend également les paramètres pharmacocinétiques de diffusion qu'on estime grâce aux concentrations expérimentales.
Le modèle utilisé est issu d'un long travail de thèse d'une doctorante en pharmacie qui a développé quatre équations différentielles permettant d'étudier le passage et les échanges d'un xénobiotique entre les différents compartiments maternel et fœtal. L'équation (31) décrit l'évolution des concentrations dans le compartiment maternel, l'équation (32) décrit l'évolution des concentrations dans la partie maternelle du cotylédon, l'équation (33) décrit l'évolution des concentrations dans la partie fœtale du cotylédon et enfin l'équation (34) décrit l'évolution des concentrations dans le compartiment fœtal. [76] (figure 15)

Équation 31

$$\frac{dC_m}{dt} = \frac{Q_m}{V_m} * \left(\frac{C_{mp}}{Kp_{pl}} - C_m\right)$$

Équation 32

$$\frac{dC_{mp}}{dt} = \frac{\left(Q_m * \left(C_m - \frac{C_{mp}}{Kp_{pl}}\right) - (k1 * C_{mp} - k2 * C_{fp})\right)}{V_{mp}}$$

Équation 33

$$\frac{dC_{fp}}{dt} = \frac{\left(Q_f * \left(C_f - \frac{C_{fp}}{Kp_{pl}}\right) + (k1 * C_{mp} - k2 * C_{fp})\right)}{V_{fp}}$$

Équation 34

$$\frac{dC_f}{dt} = \frac{Q_f}{V_f} * \left(\frac{C_{fp}}{Kp_{pl}} - C_f\right)$$

*$C_f$ : concentration fœtale, $C_{fp}$ : concentration placentaire fœtale, $C_m$ : concentration maternelle, $C_{mp}$ : concentration placentaire maternelle, k1 :constante de transfert placentaire 1, k2 :constante de transfert placentaire 2, $k_{PE}$ : élimination placentaire, $Kp_{pl}$ : coefficient de partition du placenta $Q_f$ : débit de perfusion entre le compartiment foetal et le cotylédon, $Q_m$ : débit de perfusion entre le compartiment maternel et le cotylédon, $V_m$ : volume du compartiment maternel, $V_{mp}$ : volume du côté maternel du cotyledon, $V_f$ : volume de compartiment fœtal, $V_{fp}$ : volume du côté fœtal du cotyledon*

*Figure 15: équations décrivant le passage transplacentaire.*

Les modélisateurs de l'équipe de pharmacologie à l'hôpital Cochin EA7323 ont utilisé ces équations en intégrant les données de la perfusion *ex-vivo* afin de calculer sur MONOLIX deux constantes de diffusion pour chaque molécule :

- **Kmf**, constante de diffusion du cotylédon côté maternel vers le côté fœtal.
- **Kfm**, constante de diffusion côté fœtal vers le côté maternel.

L'égalité de ces deux constantes (Kmf=Kfm) veut dire que la molécule passe de la même façon la barrière placentaire dans les deux sens fœto-maternel et materno-fœtal. (i.e., diffusion passive).

# III. Résultats

## A. Dosage de l'antipyrine et validation des placentas

### 1. Expériences avec le lévétiracétam

Parmi les 40 placentas perfusés avec le lévétiracétam, seulement 12 placentas ont montré une intégrité pendant au moins trois heures.
Avec les autres placentas, des fuites importantes ont été mises en évidence
Les échantillons issus des expériences réalisées à partir des 12 placentas ont été dosés en HPLC.
Les ratios obtenus et les TTF sont calculés à partir des concentrations obtenues et des volumes restants dans les deux béchers « maternel » et « fœtal » à la fin de la perfusion. (tableau IX)
En calculant le ratio de concentrations fœto-maternel et le taux de transfert fœtal de l'antipyrine cinq placentas ont été validés avec un ratio > 75% et un TTF> 20%, ce qui reflète l'intégrité du placenta et le bon déroulement de l'expérience.

*Tableau IX: ratios et TTF obtenus à 180 min et 240 min des placentas perfusés et validés*

| | Placenta 1 | Placenta 2 | Placenta 3 | Placenta 4 | Placenta 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| Ratio F/M (t180 min) | 80% | 83% | 71% | 83% | 85% |
| Ratio F/M (t240 min) | 150% | 93% | 86% | / | / |
| TTF (t180min) | / | / | / | 40% | 24% |
| TTF (t240min) | 28% | 42% | 40% | / | / |

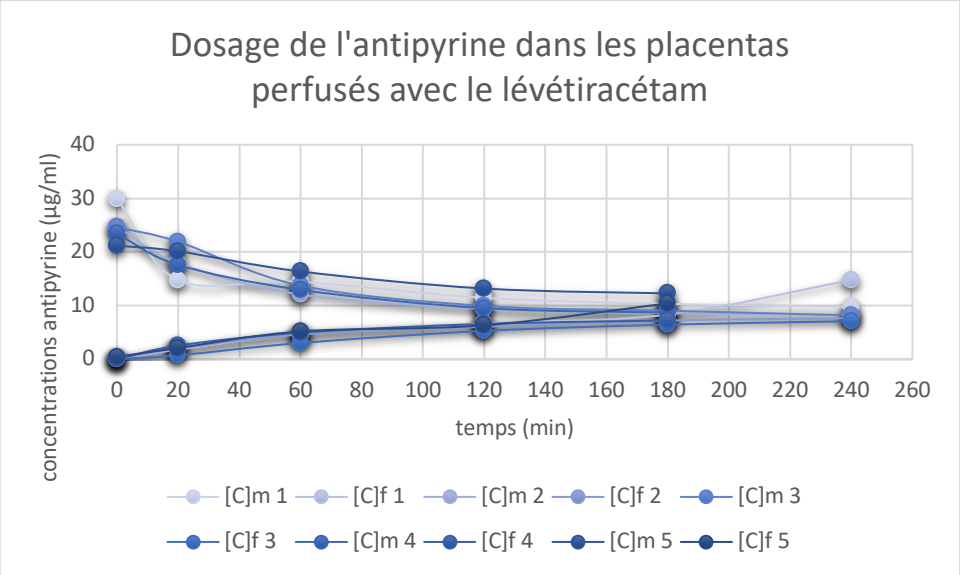


*Figure 16 : évolution des concentrations d'antipyrine au cours du temps dans les 5 placentas validés et perfusés à une concentration initiale d'antipyrine de 25 µg/ml.*

*[C]m1 : concentration de l'antipyrine dans le compartiment maternel à un temps t ; [C]f= concentration de l'antipyrine dans le compartiment fœtal à temps t.*

Sur la figure 16 les concentrations de l'antipyrine diminuent du compartiment maternel et augmentent dans le compartiment fœtal pour atteindre un plateau à t 180 minutes et ce de manière similaire pour les 5 placentas.

## 2. Expériences avec la lamotrigine

Parmi les sept placentas perfusés avec la lamotrigine, six ont été validés selon les critères cités précédemment avec des TTF qui varient de 34 à 44% et des ratios entre 79 et 100%. (Tableau X)

*Tableau X : ratios et TTF à 180 min et 240 min des placentas perfusés et validés.*

| | Placenta 1 | Placenta 2 | Placenta 3 | Placenta 4 | Placenta 5 | Placenta 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ratio F/M (t180 min) | 81% | 79% | 102% | 82% | 78% | 88% |
| Ratio F/M (t240 min) | 88% | / | / | / | / | / |
| TTF (t180min) | / | 37% | 44% | 31% | 33% | 44% |
| TTF (t240min) | 34% | / | / | / | / | / |

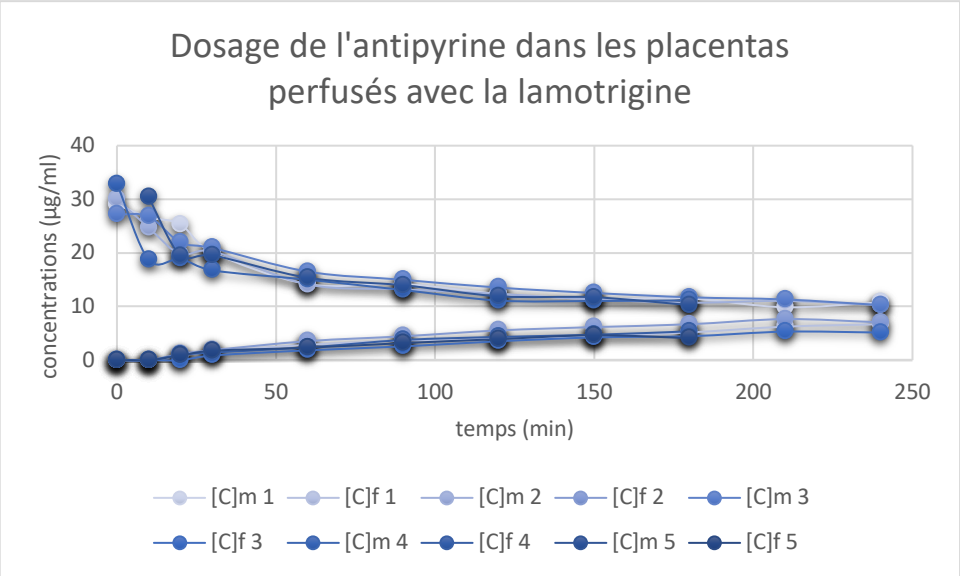


*Figure 17: évolution des concentrations d'antipyrine au cours du temps dans les 6 placentas validés et perfusés à une concentration initiale d'antipyrine de 25 µg/ml.*

*[C]m1 : concentration de l'antipyrine dans le compartiment maternel à un temps t ; [C]f= concentration de l'antipyrine dans le compartiment fœtal à un temps t.*

Les concentrations d'antipyrine diminuent du compartiment maternel et augmentent dans le compartiment fœtal avec le temps pour les 6 placentas (figure 17) comme dans les résultats précédents. Cependant, L'évolution des courbes et des concentrations d'antipyrine dans ces placentas est faite de manière plus similaire.
Dans les 11 placentas validés, la concentration initiale d'antipyrine ne démarre pas toujours de 25 µg/ml ce qui est probablement dû à une imprécision dans le pipetage.

En conclusion, dans les deux groupes d'expériences (lamotrigine et lévétiracétam), respectivement, 6 et 5 placentas, les résultats montrent que l'antipyrine, molécule de référence, est bien passée du côté maternel au côté fœtal, avec des ratios et TFFs démontrant l'intégrité de nos préparations.

### B. Evaluation du passage transplacentaire du lévétiracétam

Après dosage et évaluation du passage transplacentaire (ratios F/M et TTF) de la molécule de référence (antipyrine), les dosages par chromatographie liquide du lévétiracétam ont été effectués à partir des échantillons des cinq placentas validés.
Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 18.

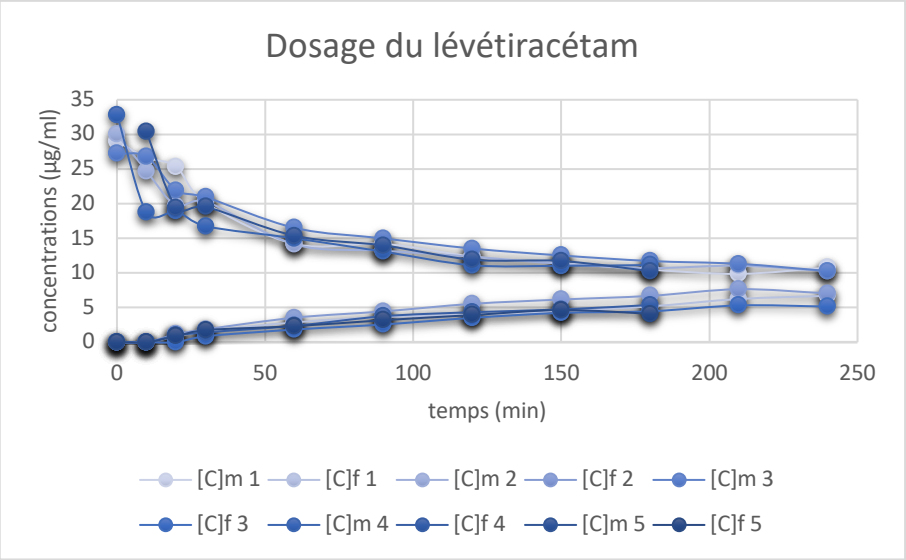


*Figure 18: évolution des concentrations du lévétiracétam au cours du temps dans les 5 placentas validés et perfusés à une concentration initiale de 30 µg/ml.*

On observe une diminution des concentrations maternels et une augmentation des concentrations fœtales au cours du temps. L'évolution des concentrations est presque identique dans les cinq placentas.

Ces résultats démontrent que le lévétiracétam passe la barrière placentaire. Un plateau semble être atteint entre le milieu maternel et fœtal entre t 180 et t 240 minutes avec des ratios de concentrations allant de 39,96 à 68,78% (figure 19).

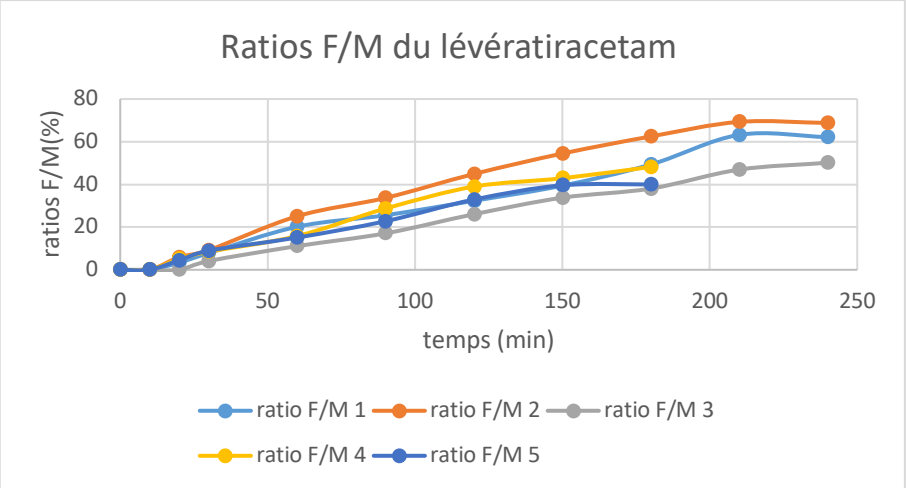


*Figure 19: évolution des ratios de concentrations F/M du lévétiracétam au cours du temps lors de la perfusion ex-vivo des placentas humains et à une concentration initiale de 30 µg/ml.*

### C. Evaluation du passage transplacentaire de la lamotrigine

On a dosé le lamotrigine dans les échantillons des six placentas validés en HPLC. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 20.

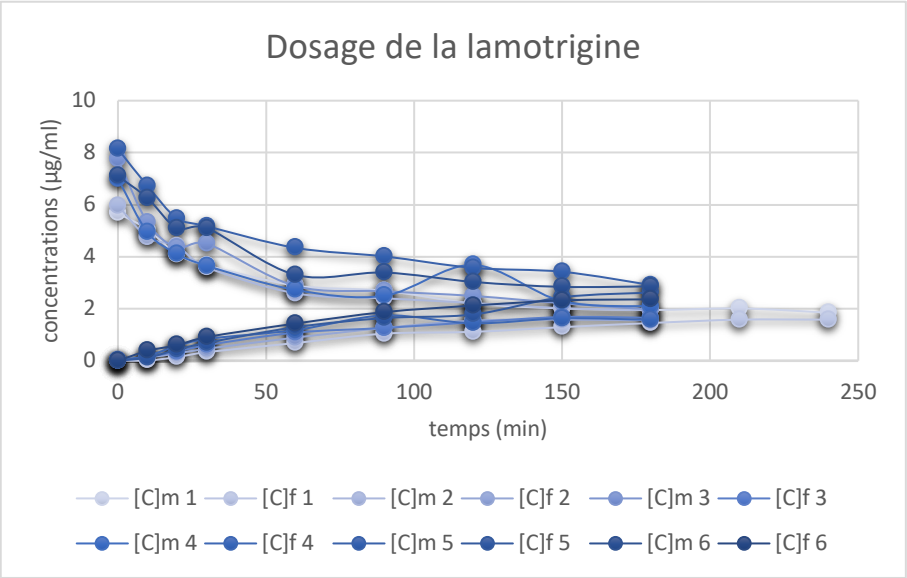


*Figure 20: évolution des concentrations de la lamotrigine au cours du temps dans les 6 placentas validés et perfusés à une concentration initiale de 5 µg/ml.*

Selon la figure 20, les concentrations de lamotrigine diminuent du compartiment maternel et augmentent dans le compartiment fœtal de manière plus rapide que le lévétiracétam.
La concentration initiale de la lamotrigine n'est pas la même dans tous les placentas ce qui est probablement dû à une erreur de manipulation.
Les courbes permettent de dire que la lamotrigine passe la barrière placentaire, au bout de trois heures on a des ratios F/M de 75 à 90%. (figure 21)
Cependant, le point de la courbe p4 à 120 minutes semble aberrant cela peut s'expliquer par un problème de dilution lors du dosage HPLC.

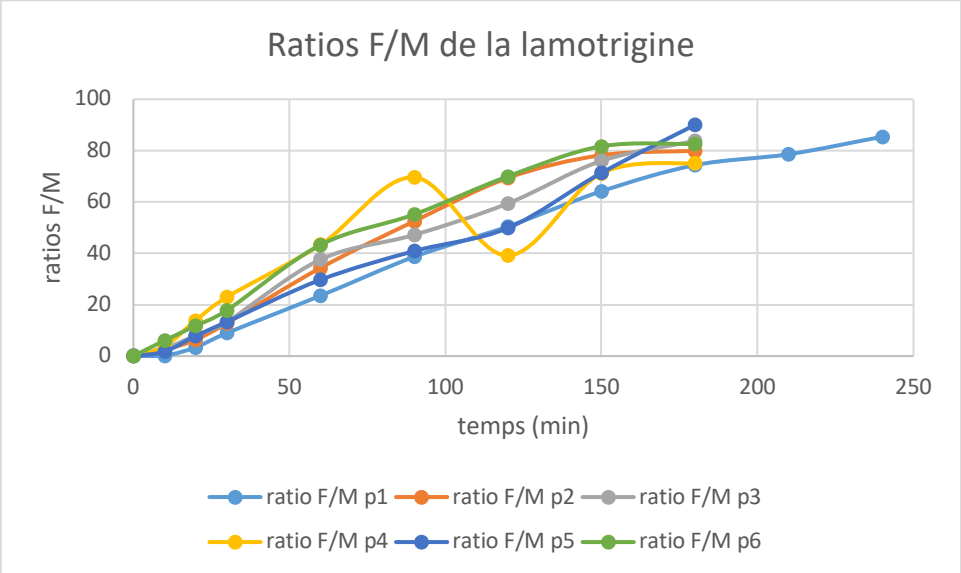


*Figure 21: évolution des ratios de concentrations F/M de la lamotrigine au cours du temps lors de la perfusion ex-vivo des placentas humains à une concentration initiale de 5 µg/ml.*

### D. Résultats de la modélisation sur MONOLIX

En combinant les résultats d'une étudiante en M2 qui a travaillé sur le même sujet à mes résultats, on a pu mettre en place une base de données pour le lévétiracétam avec dix placentas (192 concentrations) et une pour la lamotrigine (112 concentrations).

Ces bases de données ont été analysées dans MONOLIX en utilisant un modèle qui est composé de quatre équations citées dans matériels et méthodes, afin d'estimer les constantes Kfm et Kmf. Le modèle permet de calculer la courbe individuelle de chaque placenta (courbe en violet des figures 22 et 23).

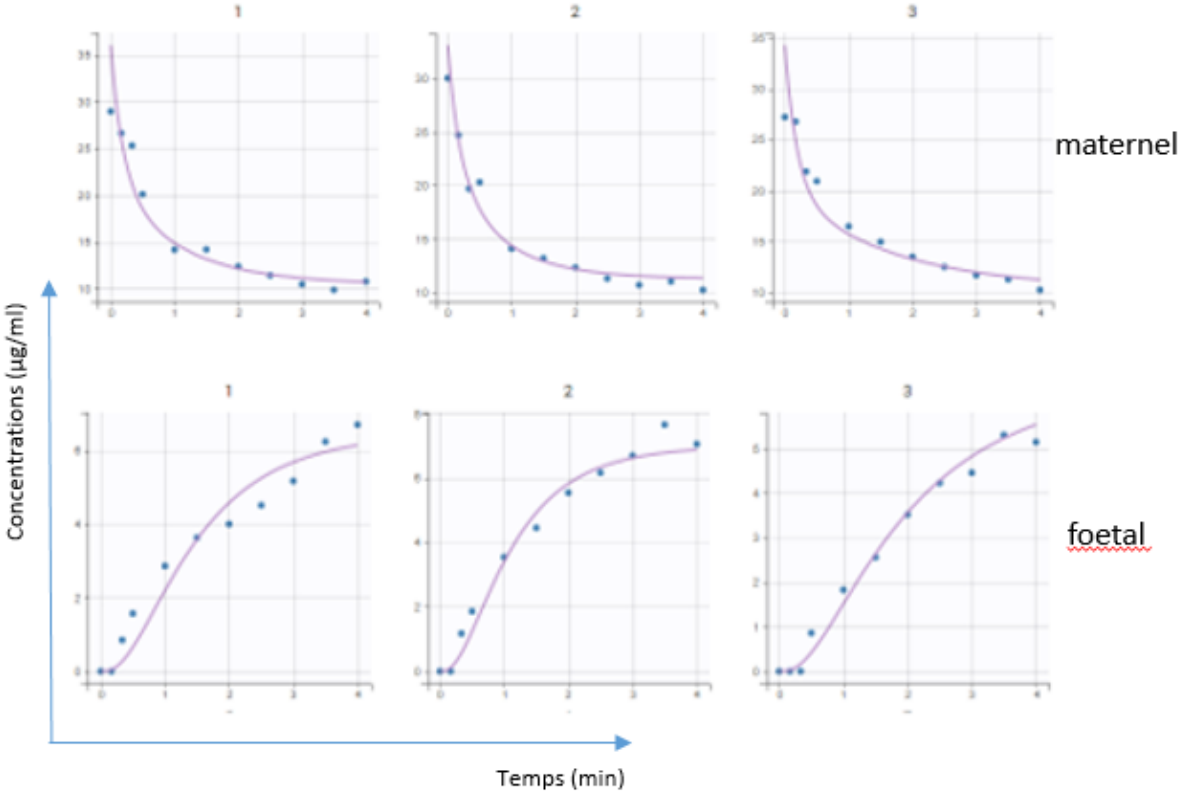


*Figure 22: présentation de l'évolution des concentrations du lévétiracétam au cours du temps lors de la perfusion ex-vivo des placentas humains et à une concentration initiale de 30 µg/ml.*

*(1, 2, 3 correspondent aux trois premiers placentas validés : les points correspondent aux concentrations provenant de nos résultats expérimentaux et la courbe violette représente la prédiction individuelle obtenue pour chaque placenta par le modèle)*

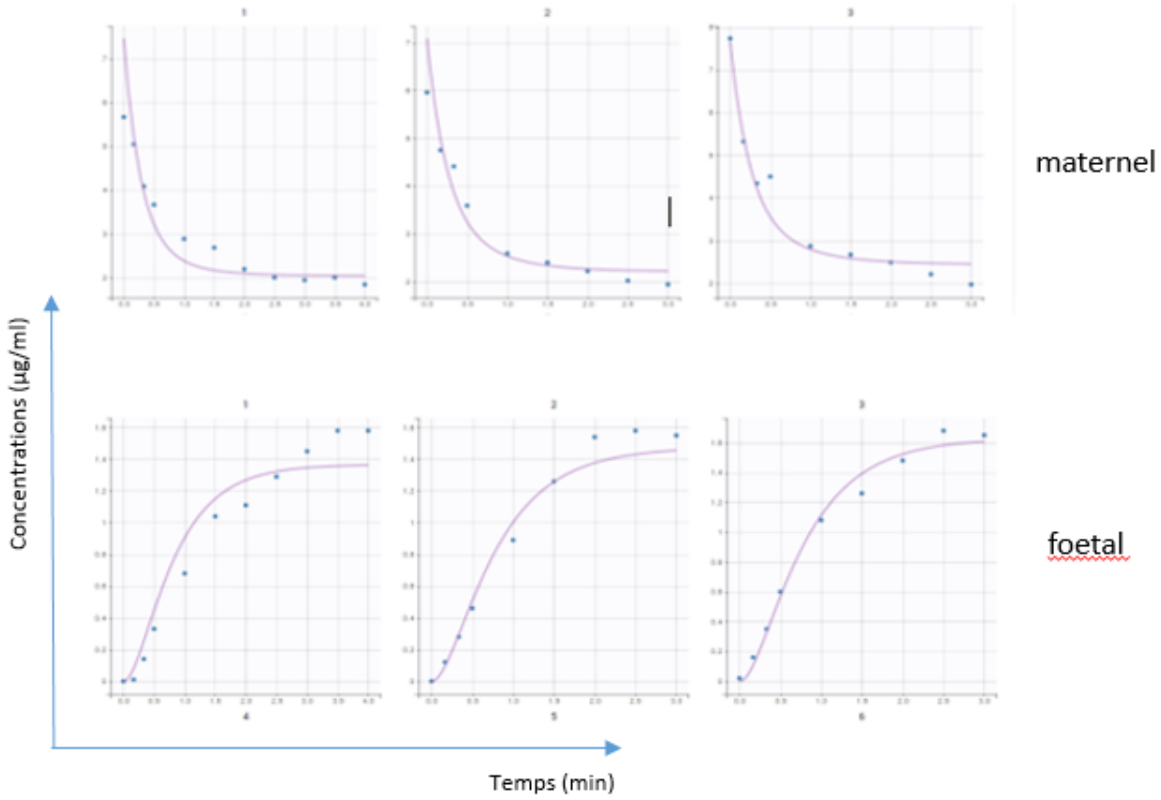


*Figure 23: présentation de l'évolution des concentrations de la lamotrigine au cours du temps lors de la perfusion ex-vivo des placentas humains et à une concentration initiale de 5 µg/ml.*

*(1, 2, 3 correspondent aux trois premiers placentas validés : les points correspondent aux concentrations provenant de nos résultats expérimentaux et la courbe violette représente la prédiction individuelle obtenue pour chaque placenta par le modèle)*

En analysant les courbes de la figure 22 et 23, on remarque une différence entre le passage transplacentaire du lévétiracétam et de la lamotrigine. Les courbes du lévétiracétam ont une décroissance lente du côté maternel et remontent progressivement du côté fœtal alors que les courbes de la lamotrigine décroissent plus rapidement et atteignent l'état d'équilibre beaucoup plus vite.

Les deux tableaux ci-dessous rapportent les paramètres du modèle estimés pour le lévétiracetam (tableau XI) et pour la lamotrigine (tableau XII).

*Tableau XI différents paramètres estimés sur MONOLIX à partir de la base de données du lévétiracétam.*

*D0= concentration de départ estimée (µg/mL) ; KP= coefficient de partage ; Kmf=constante de vitesse ($h^{-1}$) du compartiment maternel au compartiment fœtal ; Kfm= Kmf x coeffKfm ; Omega_D0=variabilité interindividuelle sur D0 ; Omega_Kmf=variabilité interindividuelle sur Kmf ; Omega_KP=variabilité interindividuelle sur KP ; b1= erreur proportionnelle côté maternel ; a2= erreur constante côté fœtus ; S.E.= standard error ; R.S.E =relative standard error*

| | | | **STOCH.APPROX.** |
|---|---|---|---|
| | Values | S.E. | R.S.E (%) |
| **D0 (µg/mL)** | 35.9 | 1.19 | 3.33 |
| **Kmf ($h^{-1}$)** | **1.54** | 0.252 | 16.3 |
| **CoeffKfm** | 1.01 | 0.00186 | 0.185 |
| **KP** | 7.03 | 1.23 | 17.5 |
| **Standard deviation of the ramdom Effects** | | | |
| **Omega_D0** | 0.0924 | 0.0266 | 28.8 |
| **Omega_Kmf** | 0.498 | 0.118 | 23.7 |
| **Omega_KP** | 0.526 | 0.123 | 23.4 |
| **Error Model parameters** | | | |
| **b1** | 0.07227 | 0.00598 | 8.23 |
| **a2** | 0.479 | 0.0369 | 7.71 |

*Tableau XII : différents paramètres estimés sur MONOLIX à partir de la base de données de la lamotrigine.*

*D0= concentration de départ estimée (µg/mL) ; KP= coefficient de partage ; Kmf=constante de vitesse ($h^{-1}$) du compartiment maternel au compartiment fœtal ; Kfm= Kmf x coeffKfm;Omega_D0=variabilité interindividuelle sur D0 ; Omega_KP=variabilité interindividuelle sur KP ; b1= erreur proportionnelle côté maternel ; a2= erreur constante côté fœtus ;b2 = erreur proportionnelle côté fœtus ;S.E.= standard error ; R.S.E=: relative standard error ;*

| | | | **STOCH.APPROX.** |
|---|---|---|---|
| | Values | S.E. | R.S.E (%) |
| **D0 (µg/mL)** | 7.49 | 0.414 | 5.53 |
| **Kmf ($h^{-1}$)** | **98.9** | 2.92 | 2.95 |
| **CoeffKfm** | 0.932 | 0.00558 | 0.598 |
| **KP** | 7.81 | 1.53 | 19.5 |
| **Standard deviation of the ramdom Effects** | | | |
| **Omega_D0_lamo** | 0.105 | 0.0459 | 43.7 |
| **Omega_KP_lamo** | 0.419 | 0.16 | 38.2 |
| **Error Model parameters** | | | |
| **b1** | 0.13 | 0.0138 | 10.6 |
| **a2** | 0.0353 | 0.0175 | 49.7 |
| **b2** | 0.105 | 0.026 | 24.8 |

A partir des tableaux XI et XII, on peut voir que les paramètres du modèle ont pu être estimés avec précision (R.S.E% inférieurs à 50%). Dans ce modèle la constante Kfm est déterminée selon l'équation suivante Kfm = Coeff Kfm X Kmf, où Kmf et le Coeff Kfm sont estimés par MONOLIX.
Le CoeffKfm du lévétiracétam est de 1, ce qui signifie que le Kmf est égale au Kfm pour le lévétiracétam. Pour la lamotrigine ce CoeffKfm est de 0.932 et se rapproche donc de 1.
Cela veut dire que le lévétiracétam passe de la même façon la barrière placentaire dans les deux sens fœto-maternel et materno-fœtal. (i.e., diffusion passive).
Les constantes de passage de la lamotrigine (Kmf =98,9) sont 100 fois plus importantes que les constantes de passage du lévétiracétam (Kmf=1,51) ce qui confirme ce qu'on a observé sur les graphiques c'est-à-dire que la lamotrigine passe beaucoup plus vite la barrière placentaire et atteint un équilibre plus rapidement.

# IV. Discussion

Grâce à la technique de perfusion *ex-vivo* du cotylédon humain 19 placentas au total ont été perfusés pendant au moins trois heures (12 avec le lévétiracétam et 7 avec la lamotrigine). Beaucoup de perfusions se sont arrêtées en début ou au milieu de la manipulation en raison de fuites importantes dues soit : à la perte d'intégrité du tissu ou à la formation de caillots dans les vaisseaux. Cela est en partie imputable au délai plus ou moins important entre l'accouchement et la récupération du placenta.
Suite au dosage de l'antipyrine, cinq placentas ont été retenus pour le lévétiracétam et six pour la lamotrigine.

**Les résultats de dosage du lévétiracétam** ont montré que le ratio de passage fœto-maternel varie de 40 à 68%. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par une étudiante de M2 qui a travaillé sur le sujet l'année dernière et qui a aussi obtenu un ratio de 40 à 60% sur cinq placentas. A ce jour aucun autre modèle *ex-vivo* n'a évalué le passage transplacentaire du lévétiracétam et très peu d'études *in-vivo* ont été réalisées.
L'étude de Tomson et al. a évalué *in-vivo* le passage transplacentaire via un ratio de concentrations du lévétiracétam fœto-maternel au moment de l'accouchement à partir du sang de la mère et le sang du cordon ombilical. Ils ont obtenu comme résultats un ratio de 56 à 200% sur 12 patientes. Cette grande différence peut être due au délai entre la prise du médicament et l'accouchement dont ils n'ont pas tenu compte. [60]
D'après la figure 18, les deux courbes ne se rejoignent pas et le ratio de transfert fœto-maternel n'atteint pas 100% et ceci même en prolongeant la durée de perfusion à quatre heures. Cela peut s'expliquer soit par la non atteinte de l'équilibre de concentrations F/M ou par l'implication des transporteurs d'efflux comme la PgP qui peut refluer le lévétiracétam vers le compartiment maternel [49]. Cependant, les constantes Kfm et Kmf sont égales ce qui veut dire que le lévétiracétam passe librement par diffusion passive du côté maternel vers le côté fœtal et du côté fœtal vers le maternel et devrait atteindre un ratio de 100% à l'équilibre.

**Les résultats de dosage de la lamotrigine** ont montré que le ratio de concentrations fœto-maternel est de 75 à 90 %.
La non-atteinte du 100% pourrait s'expliquer par différentes hypothèses : soit par l'implication des transporteurs actifs présents au niveau du placenta comme la PgP ou le BCRP et qui ont comme substrat la lamotrigine ; soit par la non atteinte de l'équilibre, ou la présence de l'UGT1A4 au niveau du placenta et qui est impliquée dans le métabolisme de la lamotrigine.
Ces résultats concordent avec l'étude *ex-vivo* de Myllynen et al. qui a obtenu un ratio F/M au bout de deux heures et demi, autour de 83% à une concentration initiale de 2,5 µg/ml (n=4) et autour de 126% à une concentration initiale de 10µg/ml (n=4). [77]

Les ratios de concentrations F/M sont plus élevées pour la lamotrigine ( 75 à 90 %) que le lévétiracétam ( 40 à 68%) ce qui signifie que la quantité de lamotrigine qui passe la barrière placentaire est plus important.
Un passage transplacentaire plus important d'antiépileptique signifie une exposition fœtale et un risque plus important.

Cependant dans notre étude et l'étude de Myllynen, on ne tient pas compte de la liaison de la lamotrigine aux protéines plasmatiques qui est de 55%. Ceci aurait été possible en rajoutant de l'albumine ce qui aurait permis d'évaluer la fraction libre. Pour ce faire il faudrait développer des méthodes de dosage supplémentaires.

La modélisation sur MONOLIX nous a permis de calculer des constantes de passage pour chaque molécule et mettre en évidence une différence importante de leur vitesse de diffusion avec la lamotrigine qui passe beaucoup plus rapidement que le lévétiracétam. Ceci peut s'expliquer par la lipophilicité de la lamotrigine (log P= 2,5) qui facilite son passage par diffusion passive alors que le lévétiracétam est plus hydrophile (log P= - 0,6) donc passe moins bien la barrière placentaire.

# V. Conclusion

Le modèle *ex-vivo* de perfusion du cotylédon humain a l'avantage d'étudier le passage transplacentaire sans exposer la mère ou le fœtus au médicament.

Le passage transplacentaire de la lamotrigine et du lévétiracétam a pu être évalué grâce à cette méthode et mettre en évidence une différence de passage entre les deux molécules avec un passage plus rapide et plus important pour la lamotrigine.

Cependant, cette méthode de perfusion du cotylédon humain ne prend pas en compte le système biologique dans lequel est intégré le passage transplacentaire, ni les concentrations maternelles changeantes ou la distribution fœtale.

C'est pour cette raison que ces données seront exploitées pour prédire l'exposition fœtale grâce à un modèle PBPK (Physiologically based pharmacokinetic modelling), modèle mathématique validé chez la femme enceinte qui prend en compte la physiologie fœtale et maternelle ainsi que les connaissances sur la molécule. Ce qui permet de prédire la pharmacocinétique de la lamotrigine et du lévétiracém chez la femme enceinte.

Cette approche a un intérêt majeur car elle permettra d'anticiper la toxicité fœtale et de mettre en place de nouvelles recommandations pour la prise en charge des femmes enceintes épileptiques.

# Bibliographie


[1] OMS | Épilepsie. WHO n.d. Disponible sur: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/fr/ (consulté le 27 mars 2018).

[2] Bromfield, Edward B., José E. Cavazos, et Joseph I. Sirven. Neuropharmacology of Antiepileptic Drugs. American Epilepsy Society , West Hartford, 2006.

[3] Delasiauve. Traité de l'épilepsie Histoire. - Traitement. - Médécine légale : Ouvrage dont la partie thérapeutique a été couronnée par l'institut (Académie des Sciences). V. Masson Ed ; 1854.559p.

[4] FFRE | L'épilepsie, qu'est-ce que c'est ? FFRE n.d. Disponible sur: http://www.fondation-epilepsie.fr/comprendre-epilepsie/quest-ce-que-cest/ (consulté le 2 mai 2018).

[5] Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. Epilepsia 2017;58:522–30. https://doi.org/10.1111/epi.13670.

[6] Purves, Dale, George J. Augustine, David Fitzpatrick, Lawrence C. Katz, Anthony-Samuel LaMantia, James O. McNamara, et S. Mark Williams. «-Synaptic Transmission ». Neuroscience. Sinauer Associates Inc.,U.S. Ed. 2 ème Edition, 680 pages.

[7] Caire, Michael J., et Matthew Varacallo. « Physiology, Synapse ». In StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2019.

[8] Françoise Dupuy Maury. Epilepsies Vers la sortie des crises ? . Disponible sur: http://www.fondation-epilepsie.fr/wp-content/uploads/2015/10/SS27_dossier_epilepsie.pdf ( consulté le 23 septembre 2019).

[9] Herrmann, Tom, et Sandeep Sharma. Physiology, Membrane. StatPearls Publishing, 2019.

[10] Sibarov, Dmitry A., Nadine Bruneau, Sergei M. Antonov, Pierre Szepetowski, Nail Burnashev, et Rashid Giniatullin. « Functional Properties of Human NMDA Receptors Associated with Epilepsy-Related Mutations of GluN2A Subunit ». Frontiers in Cellular Neuroscience 11 (29 mai 2017). https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00155.

[11] Treiman DM. GABAergic mechanisms in epilepsy. Epilepsia 2001;42 Suppl 3:8–12. https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2001.042suppl.3008.x.

[12] Barker-Haliski M, White HS. Glutamatergic Mechanisms Associated with Seizures and Epilepsy. Cold Spring Harb Perspect Med 2015;5. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022863.

[13] Epilepsie de l'enfant et de l'adulte. Disponible sur: https://www.cen-neurologie.fr/deuxieme-cycle/epilepsies-lenfant-ladulte (Consulté le 30 juillet 2020.).

[14] FFRE. « FFRE | Les médicaments contre l'épilepsie ». Disponible sur: http://www.fondation-epilepsie.fr/comprendre-epilepsie/traitements/medicaments/ ( consulté le 2 mai 2018).

[15] Haute Autorité de Santé. Fiche mémo, alternatives à l'acide valproïque. Disponible sur: http://www.has-sante.fr (consulté le 5 mai 2018).

[16] ANSM. Antiépileptiques au cours de la grossesse : Etat actuel des connaissances sur le risque de malformations et de troubles neuro-développementaux, rapport avril 2019. Disponible sur: https://www.ansm.sante.fr (consulté le 30 juillet 2020).

[17] Arnaud Biraben, Anne Beauplet, Stratégie thérapeutique dans l'épilepsie, la revue du praticien. 2005 ; 55 : 271-83

[18] Thomas, P. « Traitement médical des épilepsies ». EMC - Neurologie 1, n° 4 (1 octobre 2004): 390-414. https://doi.org/10.1016/j.emcn.2004.06.001.

[19] VIDAL. « Antiépileptiques : Classification Vidal ». Disponible sur: https://www.vidal.fr/classifications/vidal/c:1829/n:Anti%25C3%25A9pileptiques/page:12/ (consulté le 2 mai 2018).

[20] Afect. Traité de chimie thérapeutique Volume 7: Médicaments actifs sur le système nerveux central. Lavoisier Ed. France, 2011, 902 pages.

[21] Le moniteur des pharmacies. « Métabolisme hépatique - Le Moniteur des Pharmacies n° 3111 du 16/01/2016 - Revues ». Disponible sur: https://www.lemoniteurdespharmacies.fr/revues/le-moniteur-des-pharmacies/article/n-3111/metabolisme-hepatique.html (consulté le 7 février 2020).

[22] Gélisse, Philippe, Arielle Crespel, et Pierre Genton. « Les médicaments de l'épilepsie ». Thérapie 63, n° 6 (novembre 2008): 425-51. https://doi.org/10.2515/therapie/2008069.

[23] « Thériaque ». Disponible sur: http://www.theriaque.org/apps/recherche/rch_simple.php# (consulté le 3 janvier 2020)

[24] I Johannessen, Svein, et Cecilie Johannessen Landmark. « Antiepileptic Drug Interactions - Principles and Clinical Implications ». Current Neuropharmacology 8, n° 3 (1 septembre 2010): 254-67. https://doi.org/10.2174/157015910792246254.

[25] St. Louis EK. Monitoring Antiepileptic Drugs: A Level-Headed Approach. Curr Neuropharmacol 2009;7:115–9. https://doi.org/10.2174/157015909788848938.

[26] Haute autorité de santé. « Epilepsies graves - Guide HAS 2007 ». Disponible sur: https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/ald_9__epilepsies_guide_medecin.pdf (consulté le 15 février 2019)

[27] Netgen. Chirurgie de l'épilepsie : l'approche curative. Rev Médicale Suisse n.d. Disponible sur: https://www.revmed.ch/RMS/2010/RMS-247/Chirurgie-de-l-epilepsie-l-approche-curative (consulté le 15 août 2020).

[28] WebMD. « Surgical Options for Epilepsy ». Disponible sur: https://www.webmd.com/epilepsy/surgical-options-epilepsy (consulté le 6 janvier 2020).

[29] D'Andrea Meira, Isabella, Tayla Taynan Romão, Henrique Jannuzzelli Pires do Prado, Lia Theophilo Krüger, Maria Elisa Paiva Pires, et Priscila Oliveira da Conceição. « Ketogenic Diet and Epilepsy: What We Know So Far ». Frontiers in Neuroscience 13 (29 janvier 2019). https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00005.

[30] Epilepsie France. « Epilepsie et grossesse ». Disponible sur: http://www.epilepsie-france.com/le-pilepsie/au-quotidien/epilepsie-et-grossesse.html (consulté le 27 mars 2018).

[31] « VIDAL - Épilepsie de l'adulte - Prise en charge ». https://www.vidal.fr/recommandations/1679/epilepsie_de_l_adulte/prise_en_charge/. Consulté le 3 mai 2018.

[32] Feghali, Maisa, Raman Venkataramanan, et Steve Caritis. « Pharmacokinetics of Drugs in Pregnancy ». Seminars in Perinatology 39, nº 7 (novembre 2015): 512-19. https://doi.org/10.1053/j.semperi.2015.08.003

[33] EurekaSanté par VIDAL . « Epilepsie ». Disponible sur: https://eurekasante.vidal.fr/maladies/systeme-nerveux/epilepsie.html (consulté le 27 mars 2018).

[34] Güveli, Betül Tekin, Rasim Özgür Rosti, Alper Güzeltaş, Elif Bahar Tuna, Dilek Ataklı, Serra Sencer, Ensar Yekeler, et al. « Teratogenicity of Antiepileptic Drugs ». Clinical Psychopharmacology and Neuroscience 15, nº 1 (février 2017): 19-27. https://doi.org/10.9758/cpn.2017.15.1.19.

[35] Vajda, Frank J. E., Terrence O'Brien, Cecilie Lander, Janet Graham, et Mervyn Eadie. « The Efficacy of the Newer Antiepileptic Drugs in Controlling Seizures in Pregnancy ». Epilepsia 55, nº 8 (août 2014): 1229-34. https://doi.org/10.1111/epi.12711.

[36] CRAT - Centre de référence sur les agents tératogènes chez la femme enceinte n.d. Disponible sur: https://www.lecrat.fr/ (consulté le 15 août 2020).

[37] Sophie Dupont. Grossesse et allaitement chez la femme épileptique. La revue du praticien. Vol. 67, 2017; 538:42.

[38] F Frost, Jennifer M., et Gudrun E. Moore. « The Importance of Imprinting in the Human Placenta ». PLoS Genetics 6, nº 7 (1 juillet 2010). https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001015.

[39] Herrick, Elizabeth J., et Bruno Bordoni. « Embryology, Placenta ». In StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.

[40] Yuping Wang and Shuang Zhao. Structure of the Placenta. Morgan & Claypool Life Sciences, 2010.

[41] Wang, Yuping, et Shuang Zhao. Placental Blood Circulation. Morgan & Claypool Life Sciences, 2010.

[42] Berveiller, P., S.A. Degrelle, N. Segond, H. Cohen, D. Evain-Brion, et S. Gil. « Drug Transporter Expression during in Vitro Differentiation of First-Trimester and Term Human Villous Trophoblasts ». Placenta 36, nº 1 (janvier 2015): 93-96. https://doi.org/10.1016/j.placenta.2014.11.001.

[43] Colas C, Ung PM-U, Schlessinger A. SLC Transporters: Structure, Function, and Drug Discovery. MedChemComm 2016;7:1069–81. https://doi.org/10.1039/C6MD00005C.

[44] Nigam, Sanjay K. « What Do Drug Transporters Really Do? » Nature Reviews Drug Discovery 14, nº 1 (janvier 2015): 29-44. https://doi.org/10.1038/nrd4461.

[45] Iqbal, M., M.C. Audette, S. Petropoulos, W. Gibb, et S.G. Matthews. « Placental Drug Transporters and Their Role in Fetal Protection ». Placenta 33, nº 3 (mars 2012): 137-42. https://doi.org/10.1016/j.placenta.2012.01.008.

[46] Vähäkangas K, Myllynen P. Drug transporters in the human blood-placental barrier. Br J Pharmacol 2009;158:665–78. https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00336.x.

[47] Bank AM, Stowe ZN, Newport DJ, Ritchie JC, Pennell PB. Placental passage of antiepileptic drugs at delivery and neonatal outcomes. Epilepsia 2017;58:e82–6. https://doi.org/10.1111/epi.13733.

[48] Römermann K, Helmer R, Löscher W. The antiepileptic drug lamotrigine is a substrate of mouse and human breast cancer resistance protein (ABCG2). Neuropharmacology 2015;93:7–14. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.01.015.

[49] Luna-Tortós C, Fedrowitz M, Löscher W. Several major antiepileptic drugs are substrates for human P-glycoprotein. Neuropharmacology 2008;55:1364–75. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.08.032.

[50] Prouillac C, Lecoeur S. The Role of the Placenta in Fetal Exposure to Xenobiotics: Importance of Membrane Transporters and Human Models for Transfer Studies. Drug Metab Dispos 2010;38:1623–35. https://doi.org/10.1124/dmd.110.033571.

[51] Conings S, Amant F, Annaert P, Van Calsteren K. Integration and validation of the ex vivo human placenta perfusion model. J Pharmacol Toxicol Methods 2017;88:25–31. https://doi.org/10.1016/j.vascn.2017.05.002.

[52] Evain-Brion D, Berveiller P, Gil S. Le passage transplacentaire des médicaments. Therapies 2014;69:3–11. https://doi.org/10.2515/therapie/2014002.

[53] Sastry BVR. Techniques to study human placental transport. Adv Drug Deliv Rev 1999;38:17–39. https://doi.org/10.1016/S0169-409X(99)00004-6.

[54] EURAP. « EURAP - International Registry of Antiepileptic Drugs and Pregnancy ». Disponible sur: https://eurapinternational.org/ (consulté le 25 avril 2020).

[55] Tomson T, Battino D, Bonizzoni E, Craig J, Lindhout D, Perucca E, et al. Comparative risk of major congenital malformations with eight different antiepileptic drugs: a prospective cohort study of the EURAP registry. Lancet Neurol 2018;17:530–8. https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30107-8.

[56] Arnaud Biraben, Anne Beauplet, Stratégie thérapeutique dans l'épilepsie, la revue du praticien. 2005 ; 55 : 271-83.

[57] ANSM. Exposition in utero à l'acide valproïque et aux autres traitements de l'épilepsies et des troubles bipolaires et risque de malformations congénitales majeures (MCM) en France, rapport juillet 2017. Disponible sur: https://www.ansm.sante.fr (consulté le 12 mai 2018).

[58] Tomson T, Landmark CJ, Battino D. Antiepileptic drug treatment in pregnancy: changes in drug disposition and their clinical implications. Epilepsia 2013;54:405–14. https://doi.org/10.1111/epi.12109.

[59] Johannessen SI, Helde G, Brodtkorb E. Levetiracetam concentrations in serum and in breast milk at birth and during lactation. Epilepsia 2005;46:775–7. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.54804.x.

[60] Tomson T, Palm R, Källén K, Ben-Menachem E, Söderfeldt B, Danielsson B, et al. Pharmacokinetics of levetiracetam during pregnancy, delivery, in the neonatal period, and lactation. Epilepsia 2007;48:1111–6. https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01032.x.

[61] Paulzen M, Lammertz SE, Veselinovic T, Goecke TW, Hiemke C, Gründer G. Lamotrigine in pregnancy - therapeutic drug monitoring in maternal blood, amniotic fluid, and cord blood. Int Clin Psychopharmacol 2015;30:249–54. https://doi.org/10.1097/YIC.0000000000000088.

[62] Tomson T, Ohman I, Vitols S. Lamotrigine in Pregnancy and Lactation: A Case Report. Epilepsia 1997;38:1039–41. https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1997.tb01489.x.

[63] Pubchem. « Levetiracetam ». Disponible sur: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5284583 (consulté le 28 mars 2018)

[64] Madeo M, Kovács AD, Pearce DA. The Human Synaptic Vesicle Protein, SV2A, Functions as a Galactose Transporter in Saccharomyces cerevisiae. J Biol Chem 2014;289:33066–71. https://doi.org/10.1074/jbc.C114.584516.

[65] VIDAL. « KEPPRA 1000 mg cp pellic - Pharmacocinétique ». Disponible sur: https://www.vidal.fr/Medicament/keppra_1000_mg_cp_pellic-18342-pharmacocinetique.htm (consulté le 28 mars 2018)

[66] Lyseng-Williamson KA. Levetiracetam: a review of its use in epilepsy. Drugs 2011;71:489–514. https://doi.org/10.2165/11204490-000000000-00000.

[67] Le moniteur des pharmacies « Les antiépileptiques - Le Moniteur des Pharmacies n° 3204 du 16/12/2017 - Revues ». Disponible sur: https://www.lemoniteurdespharmacies.fr/revues/le-moniteur-des-pharmacies/article/n-3204/les-antiepileptiques.html (consulté le 28 mars 2018).

[68] Reimers A, Østby L, Stuen I, Sundby E. Expression of UDP-glucuronosyltransferase 1A4 in human placenta at term. Eur J Drug Metab Pharmacokinet 2011;35:79–82. https://doi.org/10.1007/s13318-010-0021-x.

[69] « VIDAL - LAMICTAL 100 mg cp à croquer/dispers - Pharmacocinétique ». Disponible sur; https://www.vidal.fr/Medicament/lamictal-9863-pharmacocinetique.htm (consulté le 28 mars 2018).

[70] Haute Autorité de Santé. Fiche mémo, alternatives à l'acide valproïque. Disponible sur http://www.has-sante.fr (consulté le 5 mai 2018).

[71] Ceccaldi P-F, Mandelbrot L, Farinotti R, Forestier F, Gil S. Apports de la perfusion ex vivo du cotylédon humain dans l'étude du passage placentaire des médicaments. J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod 2010;39:601–5. https://doi.org/10.1016/j.jgyn.2010.06.010.

[72] Thermofisher. « EBSS ». Disponible sur: http://www.thermofisher.com/order/catalog/product/24010043 (consulté le 1 mai 2020).

[73] Lj, Hirsch, Weintraub D, Du Y, Buchsbaum R, Spencer Ht, Hager M, Straka T, et al. « Correlating Lamotrigine Serum Concentrations With Tolerability in Patients With Epilepsy ». Neurology. Neurology, 28 septembre 2004. https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000138424.33979.0c.

[74] Aa, Westin, Reimers A, Helde G, Nakken Ko, et Brodtkorb E. « Serum Concentration/Dose Ratio of Levetiracetam Before, During and After Pregnancy ». Seizure, mars 2008. https://doi.org/10.1016/j.seizure.2007.11.027.

[75] Monolix. « Monolix Documentation ». Disponible sur: http://monolix.lixoft.com/ (consulté le 6 juin 2020).

[76] Mendes, Mailys De sousa. « Prédiction du passage transplacentaire des médicaments in vivo à partir de modèles ex-vivo. ». Thèse de doctorat d'université. Paris: université Paris Descartes, 2016,151p.

[77] Myllynen PK, Pienimäki PK, Vähäkangas KH. Transplacental passage of lamotrigine in a human placental perfusion system in vitro and in maternal and cord blood in vivo. Eur J Clin Pharmacol 2003;58:677–82. https://doi.org/10.1007/s00228-002-0544-4.

# Annexes

## Annexe 01 : Protocole de perfusion

Avant de commencer la perfusion, préparer 1 erlenmeyer (7,06g de Earle dans 800 ml d'eau MilliQ) puis ajuster le pH à 7,20. Préparer 2 erlenmeyers maternels (300mL) et ajuster le pH à 7,40 et fœtal (250mL) à pH 7,20

- Ajuster les solutions au pH à l'aide d'une solution de NaOH (5N) (pH = 7.4 côté maternel et 7.2 côté fœtal) et les mettre à 37°C dans un bain-marie sous agitation.
- Faire tourner le circuit fœtal et maternel pour remplir les tuyaux.
- Vérifier après récupération du placenta de l'état macroscopique des cotylédons afin de choisir celui qui semble le plus intact.
- Enlever la membrane qui recouvre la face fœtale (en s'aidant éventuellement d'une compresse)
- Une artère et une veine fœtales conjointes sans ramification distale sont perfusées avec les cathéters et la solution d'Earle.
- Dès que le cotylédon apparaît gonflé et blanchi (face maternelle), il est isolé du reste du placenta par une dissection à l'aide d'un bistouri.

*Figure 24: matériels utilisés pour la perfusion ex-vivo.*

- Retourner le placenta et le placer délicatement dans la chambre de perfusion (mis au préalable à 37°C grâce à un flux d'eau continu dans la chambre de perfusion).
- Afin de mettre en place la circulation maternelle, 2 cathéters sont introduits au niveau de la face maternelle du cotylédon blanchi.
- Commencer la perfusion avec la solution d'Earle contenant l'antipyrine (molécule témoin) + médicament testé (réservoir maternel)
- Prélèvement de 1 ml du milieu fœtal et maternel selon le schéma défini.
- Les informations suivantes sont récupérées durant la manip :
    - $Q_A$ : débit de l'artère fœtale (théorie = 5.5)
    - $Q_V$ : débit de la veine fœtale (théorie = 5.5)
    - $Q_M$ : débit de la mère (théorie = 12)
    - pH de la solution maternelle
    - pH de la solution fœtale

- Tous les eppendorfs sont ensuite stockés et congelés à -20°C dans l'attente d'être dosés.
- Après la perfusion :
    - Mesurer le volume de liquide dans le compartiment maternel et fœtal
    - Mesurer le cotylédon (diamètre, épaisseur)

**Annexe 02 : Protocole de dosage de l'antipyrine**

**Préparation des solutions mères (SM) :**

| |
|---|
| solution mère d'antipyrine 1mg/ml en MetOH |
| solution de paracétamol (étalon interne) 1 mg/ml en MetOH |

**Préparation des solutions filles :**

| | SF 1 100mg/L |
|---|---|
| SM 1mg/ml | 200µl |
| H2O | 1800µl |
| volume final | 2000 µl |

| | SF 2 10mg/L |
|---|---|
| SF1 à 100mg/L | 200 µl |
| H2O | 1800 µl |
| volume final | 2000 µl |

| | SF 3 1mg/L |
|---|---|
| SF2 à 10mg/L | 300 µl |
| H2O | 2700 µl |
| volume final | 3000 µl |

**Préparation de l'étalon interne (EI) :**

Dilution au 1/10 de la SM du paracétamol dans l'eau pour obtenir une concentration à 0.1 mg/ml.

**Préparation de la gamme étalon :**

| | G0 | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | G7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| concentration (mg/L) | | 0,1 | 0,2 | 0,5 | 1 | 5 | 10 | 20 |
| SF1 à 100mg/ml (µl) | | | | | | | 100 | 200 |
| SF 2 / 10mg/L (µl) | | | | | 100 | 500 | | |
| SF 3 / 1mg/L (µl) | | 100 | 200 | 500 | | | | |
| Solution Earl (µl) | 1000 | 900 | 800 | 500 | 900 | 500 | 900 | 800 |
| Volume final (µl) | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 |

**Préparation des contrôles :**

| | CQ1 | CQ2 | CQ3 |
|---|---|---|---|
| Concentration (mg/L) | 0,4 | 10 | 15 |
| SF1 à 100mg/ml (µl) | | 100 | 150 |
| SF 2 / 10mg/L (µl) | | | |
| SF 3 / 1mg/L (µl) | 400 | | |
| Solution Earl (µl) | 600 | 900 | 850 |
| Volume final (µl) | 1000 | 1000 | 1000 |

X2

- **Précipitation :**

Echantillons : Prendre 250µl de chaque échantillon (+ 250µl d'eau milliQ)
Gamme étalon et contrôles : prendre 500µl de chaque mélange.
Ajouter 100µl d'étalon interne (le blanc est composé de 500µl de Earle et de 100µl d'eau) pour obtenir un volume de 600µl
Ajouter 750µl d'acétonitrile dans chaque tube et agiter au vortex.
Centrifuger 10 minutes à 14000 rpm

- **Evaporation**

Récupérer le surnageant dans des tubes en verre de 5ml

Mettre à évaporation sous azote

- **Dosage en HPLC :**

Mettre 100 µl de phase mobile dans les tubes et les reprendre dans des ampoules afin de les analyser.
Composition de la phase mobile :
3,85g d'acétate d'ammonium pour 1 L, ajuster le pH à 5,07 avec de l'acide acétique
La phase mobile est composée de : 75% de tampon d'acétate d'ammonium, de 13% d'acétonitrile et de 12% de méthanol.
Le volume d'injection : 20µl , le temps d'analyse (run) : 12 minutes, le débit : 0,4 ml/min
Référence colonne : satisfaction C8 + 5µm MB35A5plus100 sans pré-colonne

**Annexe 03 : Protocole de dosage du lévétiracétam**

**Préparation des solutions mères (SM) :**

| |
|---|
| solution mère du lévétiracétam 1mg/ml en eau |
| solution de la lamivudine (3TC) (étalon interne) 1 mg/ml en MetOH |

**Préparation des solutions filles :**

| | SFG 40 mg/L | SFQ 40 mg/L |
|---|---|---|
| SM 1mg/ml | 40µl | 40µl |
| Earl | 960µl | 960µl |
| volume final | 1000µl | 1000µl |

**Préparation de l'étalon interne :**
Dilution au 1/10 de la SM du 3TC dans l'eau pour obtenir une concentration à 0.1 mg/ml.
**Préparation de la gamme étalon :**

| | Blanc | G0 | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | G7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| concentration (mg/L) | | 0 | 2 | 4 | 10 | 20 | 40 | 60 | 80 |
| SMG (µl) | | | | | | | | 30 | 40 |
| SFG (µl) | | | 25 | 50 | 125 | 250 | 500 | | |
| Solution Earl (µl) | 500 | 500 | 475 | 450 | 375 | 250 | | 470 | 460 |
| Volume final (µl) | | | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 |

**Préparation des contrôles :**

| | CQ1 | CQ2 | CQ3 |
|---|---|---|---|
| Concentration (ml/L) | 3 | 30 | 74 |
| SMQ (µl) | | | 37 |
| SFQ (µl) | 37,5 | 375 | |
| Solution Earl (µl) | 462,5 | 125 | 463 |
| Volume final (µl) | 500 | 500 | 500 |

X2

- **Extraction liquide/liquide dans de tubes de 1,5ml :**

Prendre 100 µl de chaque tube (gamme+ échantillons)
Ajouter 20 µl par tube d'EI (20 µL de MetOH pour le blanc)
Ajouter 280 µl de MetOH et agiter 5 minutes sur agitateur horizontal
Centrifuger 10 min à 14000 rpm

- **Dosage HPLC :**

Récupérer le surnageant 100 µl dans un Vial en plastique (volume d'injection 10µl)
Composition de la phase mobile : 90% tampon phosphate+ 10% acétonitrile
Tampon phosphate ($KH_2PO_4$) 10mM, pH=4,5
1,36 g de phosphate de monopotassium dans 1 L d'eau milliQ.
Colonne : C18 Kinetex®
Débit 1ml/min
Temps d'analyse 10 min

**Annexe 04 : Protocole de dosage de la lamotrigine MassTox**

- Prendre 50µl d'échantillon/calibrant/contrôle dans un eppendorf (la gamme est constituée de 4 points avec G1 = 0.5 µg/ml , et 3 contrôles)
- Ajouter 25µl de tampon d'extraction, passer au vortex, laisser pendant 2 minutes à température ambiante
- Ajouter 250µl de mélange étalon interne reconstitué (800 µl d'étalon interne dans 12 ml de réactif de précipitation)
- Centrifuger 5minutes à 15000 X g
- Prendre 20 µl de surnageant et compléter à 200µl avec le Buffer II dans un Vial
- Analyser

**N° d'identification :**

**TITRE**

# ANTI-EPILEPTIQUES ET GROSSESSE : ETUDE *EX-VIVO* DU PASSAGE TRANS-PLACENTAIRE DE LA LAMOTRIGINE ET DU LEVETIRACETAM

**Thèse soutenue le 29/09/2020**

**Par Dalal MESSAOUDI**

## RESUME

**Contexte :** **L'épilepsie est une affection neurologique chronique qui représente un enjeu majeur de santé publique. En France, elle affecte environ 100000 femmes en âge de procréer soit une femme sur 200.**
**Nombreuses études ont démontré que l'exposition *in utero* à certains antiépileptiques comme le valproate de sodium peut induire des malformations et des troubles cognitifs importants.**
**Cependant, peu d'études évaluent le passage de la lamotrigine et du lévétiracétam qui sont utilisés en première intention dans la prise en charge de la femme enceinte épileptique.**
**Notre objectif est d'étudier le passage transplacentaire de ces deux molécules grâce à la perfusion *ex-vivo* du cotylédon humain .**

**Méthode :** **Les placentas sont récupérés au centre d'investigation clinique de Port-Royal dans la demi-heure suivant la délivrance après obtention préalable du consentement des mères.**
**La double circulation fœto-maternelle est établie dans des conditions les plus proches de la physiologie, à $t_0$ l'antiépileptique est introduit dans le compartiment maternel. Ensuite plusieurs prélèvements du compartiment maternel et fœtal sont effectués à différents temps jusqu'à la fin de la perfusion qui dure trois heures.**
**Les échantillons de lévétiracétam et d'antipyrine sont dosés en chromatographie liquide haute performance et les échantillons de la lamotrigine sont dosés en chromatographie phase liquide couplée à la spectrométrie de masse.**

**Résultats :** **Ces prélèvements nous ont permis de construire une cinétique de passage, de calculer des ratios de concentrations fœto-maternels et des constantes de passage pour chaque molécule.**
**Nos résultats montrent que la lamotrigine passe la barrière placentaire avec une vitesse et un ratio plus importants que le lévétiracétam.**

**Conclusion :** **Ces résultats démontrent que le fœtus est potentiellement exposé à ces deux molécules. Cependant, d'autres études sont nécessaires, notamment l'analyse de ces données dans un modèle statistique PBPK, afin de prédire l'exposition fœtale et les éventuels effets sur le fœtus.**

**MOTS CLES : Grossesse, épilepsie, lamotrigine, lévétiracétam, passsage transplacentaire, perfusion ex-vivo du cotylédon humain**

| Directeur de thèse | Co-directeur de thèse | Intitulé du laboratoire | Nature | |
|---|---|---|---|---|
| Mme Déborah HIRT<br>Maitre de conférences | Mme Caroline PERRIN-SARRADO<br>Maitre de conférences | Laboratoire de pharmacologie à l'hôpital Cochin EA7323 | Expérimentale<br>Bibliographique<br>Thème | ✓<br>□<br>□ |

**Thèmes** **1 – Sciences fondamentales** **2 – Hygiène/Environnement**
**3 – Médicament** **4 – Alimentation – Nutrition**
**5 - Biologie** **6 – Pratique professionnelle**

**FACULTE DE PHARMACIE** **UNIVERSITE DE LORRAINE**

# DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 29/09/2020

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

présenté par : Dalal MESSAOUDI

Sujet : **ANTI-EPILEPTIQUES ET GROSSESSE : ETUDE *EX-VIVO* DU PASSAGE TRANSPLACENTAIRE DE LA LAMOTRIGINE ET DU LEVETIRACETAM**

Jury :

Président : Mme Brigitte LENINGER-MULLER, Professeur
Directeur : Mme Déborah Hirt, Maître de Conférences
Co-directeur : Mme Caroline PERRIN-SARRADO, Maître de conférences
Juge : Mme Gabrielle LUI, Ingénieur de recherche

Vu,
Nancy, le 02/09/2020.

**Co-directeur de thèse**
Mme Caroline PERRIN-SARRADO

**Le Président du Jury**
Mme Brigitte LENINGER-MULLER

**Directeur de Thèse**
Mme Déborah HIRT

Vu et approuvé,
Nancy, le 4.09.2020

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

*Pr. Raphaël DUVAL*

Vu,
Nancy, le 19.09.2020

Le Président de l'Université de Lorraine,

*Pierre MUTZENHARDT*

N° d'enregistrement : 11381 C