

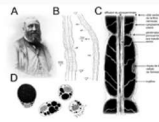
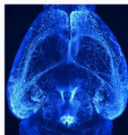
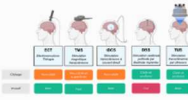

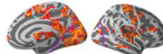



La Lettre des Neurosciences



La Lettre - Automne / Hiver 2025

Vol. 69 No 1 (2025) | Publié le 11 décembre 2025

Sommaire

| | | |
|---|---|--|
| HISTOIRE DES NEUROSCIENCES  <p>La neuroanatomie française a-t-elle eu un style dans la période entre 1850 et...</p> <p>Par Jean-Gaël Barbara</p> <p>Voir l'article PDF</p> | DOSSIER  <p>Neuroanatomie : dépasser les images, révéler les réseaux</p> <p>Lire le dossier</p> | NOUVEAUTÉS EN NEUROSCIENCES  <p>Stimulation ultrasonore transcrânienne : une avancée majeure pour la...</p> <p>Par Jean-François Aubry, Mohammed Bashaitheth</p> <p>Voir l'article PDF</p> |
| TRIBUNE LIBRE - QUESTION D'ACTUALITÉ  <p>Le cerveau reptilien ou les trois erreurs de Paul MacLean</p> <p>Par Sébastien Lemerle, Philippe Vernier</p> <p>Voir l'article PDF</p> | LECTURE ALFRED FESSARD  <p>Cerveau, cœur et estomac : des interactions inattendues</p> <p>Par Catherine Tallon-Baudry</p> <p>Voir l'article PDF</p> | CONFÉRENCE A ARVANITAKI  <p>Angélique Arvanitaki (1901-1983) une pionnière de la neurophysiologie cellulaire</p> <p>Par Jean-Gaël Barbara, Alcmène Chalazonitis</p> <p>Voir l'article PDF</p> |
| CONFÉRENCE A ARVANITAKI  <p>Neurosciences Cognitives dans un Cerveau Miniature: L'apprentissage d'ordre...</p> <p>Par Martin Giurfa</p> <p>Voir l'article PDF</p> | SEMAINE DU CERVEAU  <p>Edition 2025 : quand le cerveau nous rassemble</p> <p>Par Armelle Rancillac, François Tronche</p> <p>Voir l'article PDF</p> | |

Édito

Nous vous proposons un numéro de la Lettre largement consacré à la neuroanatomie, une discipline clé des neurosciences.

Si pour certains c'est une discipline annexe qui permet de confirmer la position des sites d'injection, de stimulation ou d'enregistrement, au mieux de situer une population neuronale, pour d'autres dont plusieurs membres du Comité éditorial font partie, c'est le prérequis indispensable aux études de neurophysiologie : connaître l'organisation du cerveau, la localisation et l'identification des populations de neurones, les trajets des fibres nerveuses, les interactions entre les cellules nerveuses pour comprendre le fonctionnement du cerveau. Il faut commencer par situer, caractériser les acteurs des régulations que nous étudions.



PAR YVES TILLET ET JEREMY DANNA

Tout commence avec l'Histoire des Neurosciences où Jean-Gaël Barbara nous rappelle l'importance de la neuroanatomie à la Française à travers les travaux de Louis Ranvier « soucieux des détails anatomiques des organes », ceux de Jules Luys, moins connu mais dont l'étude des structures du système nerveux s'inscrivaient déjà dans une perspective fonctionnelle, et enfin de René Couteaux pour qui l'approche cytologique des relations entre les nerfs et les muscles avait d'emblée une perspective fonctionnelle. Ces personnages ont marqué durablement la neuroanatomie et influencé son développement.

La neuroanatomie est en pleine évolution et dans le Dossier nous avons souhaité faire le point sur les dernières avancées dans ce domaine, résultats de l'apport d'autres disciplines comme la physique pour le développement des microscopes et l'IRM, ou la chimie pour les traceurs et la génétique pour la création de constructions moléculaires spécifiques. Sans prétendre être exhaustifs, le sujet est bien trop vaste, nous présentons les avancées dont l'impact nous a semblé majeur. Une discipline qui va bien au-delà de la description des structures, la neuroanatomie et ses

concepts évoluent. Vous lirez comment les marquages immunohistochimiques se sont enrichis de nouveaux traceurs pour la caractérisation neurochimique des neurones et leur niveau d'activation et comment ils sont complétés par la détection des ARNm avec des méthodes de plus en plus sensibles. Les outils pour tracer les voies nerveuses évoluent également et gagnent aussi en spécificité et en sensibilité. Toutes ces méthodes peuvent être combinées afin de disséquer très précisément les sites de projection à l'échelle du neurone et visualiser les acteurs de co-transmission. D'autres approches bénéficient également du développement technologique des microscopes, notamment quand il s'agit d'observer des marquages *in toto* sur des échantillons transparents. La neuroanatomie fait aussi appel aux nouvelles modalités d'imagerie comme l'IRM, et la caractérisation neurochimique des structures observées comme celle du glutamate devient possible grâce aux apports de la physique et des mathématiques. Que vous soyez curieux de ces nouveaux outils ou sensibles à la beauté des images, ne ratez pas ce dossier.

La neuroanatomie et la connaissance de l'organisation des réseaux neuronaux est également indispensable dès qu'il est question d'intervenir précisément sur une zone spécifique du cerveau, comme nous le montrent Jean-François Aubry et Mohammed Bashaiweth dans la rubrique Nouveautés en neurosciences. Leur article est consacré à la stimulation ultrasonore transcrânienne, une méthode qui nécessite un repérage parfait des différentes zones du cerveau. Cette technique de neuromodulation non invasive permet de cibler avec une précision millimétrique les circuits cérébraux, y compris ceux situés en profondeur. Elle ouvre des perspectives thérapeutiques inédites pour certaines pathologies psychiatriques ou encore certains troubles neurologiques. Elle apporte déjà des résultats probants dans le domaine de la psychiatrie.

Dans la Tribune Libre, Sébastien Lemerle et Philippe Vernier reviennent sur le cerveau reptilien, un concept abandonné depuis longtemps par les neurosciences mais encore bien présent dans certains domaines comme le développement personnel. Qui n'a pas entendu parler du cerveau reptilien, venu tout droit de la théorie du cerveau triunique de MacLean, cette partie de notre cerveau qui serait responsable de nos plus bas instincts ? Découvrez sans attendre cet article passionnant sur cette erreur scientifique, mais qui résiste bien en dehors des neurosciences.

Dans ce numéro vous découvrirez également qui était Angélique Arvanitaki, une pionnière en neurophysiologie cellulaire et dont le nom est maintenant associé à une conférence plénière des colloques NeuroFrance (<https://www.neurosciences.asso.fr/nos-colloques/>).

L'édition 2025 de cette conférence a piqué notre attention et nous a permis de découvrir le domaine passionnant de la cognition chez les abeilles sous la plume de Martin Giurfa.

La Lecture Alfred Fessard, donnée cette année par Catherine Tallon-Baudry, est également à l'honneur. Elle nous présente un autre aspect de la conscience de soi à partir de la coordination de l'activité cérébrale par les signaux intéroceptifs issus du cœur ou de l'estomac, un domaine en émergence qui n'a pas fini de nous interroger.

Enfin, au moment où nous sommes en train de préparer la prochaine Semaine du Cerveau en 2026, vous découvrirez le bilan de l'édition 2025 et les moments forts à Bordeaux, Tours et Orléans. N'hésitez pas à vous impliquer dans cette aventure passionnante et enrichissante qui nous apporte un autre regard sur notre métier. Deux mille vingt-six sera aussi le rendez-vous des Journées Thématiques à Toulouse sur la cognition animale et humaine, ne manquez pas ces Journées de rencontres où nous ne doutons pas vous y retrouver nombreux.

Nous espérons que vous aurez beaucoup de plaisir à lire cette Lettre, et nous terminerons en vous souhaitant de très belles fêtes de fin d'année et une excellente année 2026 autour des neurosciences bien sûr, mais aussi pour tous vos projets.

Bonne lecture.

La neuroanatomie française a-t-elle eu un *style* dans la période entre 1850 et 1950 ?

JEAN-GAËL BARBARA

Sorbonne université, UPMC université Paris 06, Institut de biologie Paris Seine (IBPS), Centre de Neurosciences Sorbonne Université (NeuroSU) & Sorbonne Paris Cité, Paris Diderot, Science, Philosophie, Histoire, SPHERE, CNRS UMR7219

Les études historiques sur les neurosciences françaises, consacrées à la neuroanatomie entre 1850 et 1950, mettent en évidence une certaine tendance épistémologique consistant à étudier les structures, y compris les structures microscopiques, en se souciant toujours de leurs fonctions. Cette attention perdure dans les sciences de la vie jusqu'à aujourd'hui, et elle a été au fondement même de toute médecine depuis l'antiquité. Cependant, elle n'a pas toujours été placée au centre des préoccupations scientifiques, en laissant parfois la place à des études anatomiques excessivement descriptives. Cela n'a pas été le cas de la neuroanatomie française dans la période entre 1850 et 1950.

La neuroanatomie française, entre 1850 et 1950, semble montrer une certaine tendance épistémologique consistant à étudier les structures en se souciant toujours de leurs fonctions (1). Il est possible d'en trouver une origine dans l'œuvre de Claude Bernard (1813-1878). Au cours des années 1840, les découvertes de Bernard sur les fonctions des organes – foie, pancréas, poumons – combinent intimement anatomie et physiologie, par l'emploi d'analyses chimiques dont on réalise une topographie des résultats, grâce à la chirurgie qui permet de prélever sur l'animal vivant des échantillons dans des territoires précis. D'une certaine façon, cette perspective donne raison à la vision générale des années 1830 du philosophe Auguste Comte (1798-1857), au sujet de la subordination des sciences, anatomie, physiologie, chimie et physique : Comte envisage la physiologie comme devant surtout procéder de l'analyse chimique, en replaçant ses résultats secondairement dans une perspective anatomique. La raison de cette convergence Bernard-Comte réside dans le fait que l'application de la physique à la physiologie dans le cadre du mécanisme cartésien a cessé progressivement de donner de nouveaux modèles au cours du XVIII^e siècle. Et c'est au tour de la chimie de Lavoisier de procurer de nouveaux moyens d'analyse à l'étude du vivant, en cherchant à

comprendre les fonctions chimiques des organes, dans un cadre anatomique strict.

Dès les années 1850, la physiologie expérimentale de Bernard propose donc une nouvelle manière de combiner physiologie et anatomie qui sera appliquée à la neuroanatomie et deviendra la nouvelle neuronanatomie française d'esprit physiologique. On se propose alors d'analyser cet esprit physiologique, à partir de trois auteurs, en explicitant l'originalité de leurs travaux et leurs perspectives épistémologiques particulières tranchant souvent avec celles de leurs collègues contemporains d'autres pays.

Louis Ranvier et la structure fine des fibres nerveuses non fixées

Louis Ranvier (1835-1922), dont la famille est affiliée à celle de Claude Bernard, est un jeune médecin lyonnais lorsqu'il se rend à Paris pour son internat de médecine, dans le but de se spécialiser dans la discipline nouvelle de la microscopie médicale (2). Il entend développer en France les leçons du célèbre médecin berlinois Rudolf Virchow sur l'étiologie des maladies par l'analyse des cellules pathologiques. Parallèlement, en suivant les

leçons de Claude Bernard au Collège de France, Ranvier devient soucieux de son conseil d'étudier les « détails anatomiques » des organes, en considérant toujours les conditions de vie des éléments cellulaires. Par exemple dans ses cours et démonstrations, Claude Bernard observe pour ses élèves les globules rouges vivants en recommandant d'utiliser une solution saline pour conserver leur forme, ou encore la croissance de levures dans une goutte de sérum sucré pour assurer leur développement, ou les cellules de la muqueuse stomacale non marquées au bleu de Prusse car isolée de l'acide gastrique, et enfin des globules blancs aux formes changeantes dans un milieu chauffé. Cela tranche avec les études générales d'histologie réalisées dans d'autres pays où les cellules sont observées mortes dans des tissus fixés.

Bien entendu, les physiologistes et pathologistes allemands font au même moment usage du microscope et réalisent également certaines observations sur des cellules vivantes, mais c'est alors davantage dans une perspective uniquement physiologique, pour l'étude par

exemple des propriétés d'absorption des vaisseaux lymphatiques.

On pourrait dire dans un premier temps que Ranvier n'est en réalité pas si différent de ces physiologistes allemands, et son biographe Justin Jolly a pu en effet écrire que Ranvier se considérait lui-même comme physiologiste et élève à part entière de Claude Bernard. Mais ce qui a fait peut-être une spécificité de Ranvier, c'est qu'il utilise les méthodes expérimentales de physiologie associées au microscope pour répondre à des questions, non pas uniquement physiologique, mais à des problématiques structure-fonction à l'échelle cellulaire. Pour illustrer cela, il est possible de prendre comme premier exemple la découverte par Ranvier des « étranglements annulaires » des fibres nerveuses myélinisées, structure éponyme ensuite dénommée « nœud de Ranvier ». Une première observation fut réalisée lorsque Ranvier étudia la dissociation dans l'eau avec de fines aiguilles d'un petit nerf, extirpé d'un animal fraîchement sacrifié. Ce type d'expérience avait été déjà moult fois réalisé au XVIII^e siècle, notamment avec un certain succès par l'abbé de Florence Felipe Fontana.

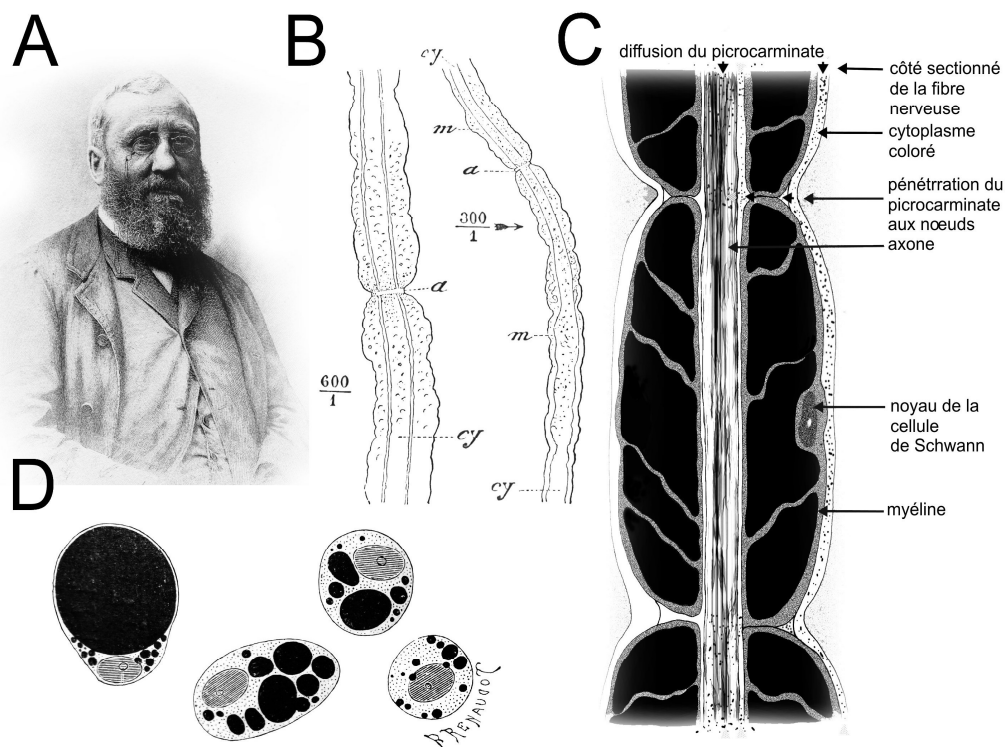


Figure 1. A, Louis Ranvier (1835-1922), B, Nerf sciatique dissocié dans une solution de picrocarminate (1%) dessiné après une incubation d'une heure. La diffusion du picrocarminate est indiquée par les pointillés. Le cylindre-axe est coloré en rouge près de la "constriction annulaire" (nœud de Ranvier). Adapté de Ranvier, *Traité technique d'histologie*, 1875. C, modèle de Ranvier réalisé par l'auteur pour montrer la diffusion du picrocarminate (pointillés et flèches courtes) observée par Ranvier au niveau des sections de la fibre nerveuse myélinisée, et au niveau des nœuds de Ranvier. D, adipocytes du tissu conjonctif sous-cutané d'un veau après injection d'acide osmique. Les inclusions lipidiques apparaissent en noir avec l'osmium. Ranvier considérait la cellule de Schwann avec sa myéline comme analogue à un adipocyte avec une grosse inclusion lipidique. Figure J.-G. Barbara, adaptée de Barbara et Foley (3).

Mais Ranvier utilisa du picrocarminate, avec lequel il put observer la pénétration du colorant dans des fibres nerveuses individuelles fraîches, ce qui permettait de les marquer (Figure 1). Avec une immense minutie et de la patience, Ranvier nota alors que la pénétration progressive du picrocarminate se réalisait par des points focaux précis, le long de la fibre, équidistants les uns des autres. Il nota alors un resserrement de la myéline à ces endroits qu'il dénomma « étranglements ». Ces structures avaient été dessinées par certains auteurs avant Ranvier, comme un détail anatomique, mais plutôt pris comme une bizarrerie non commentée. Pour Ranvier, son observation révélait plus qu'une simple structure particulière, mais lui permettait d'imaginer la présence de zones cellulaires d'échange, non myélinisées, impliquées possiblement dans la nutrition de la fibre nerveuse. Il s'agit là d'un premier exemple où l'investigation plutôt physiologique et microscopique d'« histologie expérimentale », selon la formule de Bernard, permet à Ranvier la caractérisation d'une nouvelle structure subcellulaire et de sa fonction.

Le second exemple représente la suite de cette première observation, mais dans un cadre beaucoup plus complexe. Ranvier observa plus précisément que le picrocarminate diffusait en réalité autour de la myéline, mais aussi selon un axe perpendiculaire à celui de la fibre, dans deux zones différentes (3). Il diffusait dans la mince couche de cytoplasme comprise entre la fibre nerveuse et la myéline (Figure 1). Mais il diffusait également jusque dans la zone externe de la myéline, dans une mince couche cytoplasmique l'entourant. Pour les contemporains de Ranvier, cette couche externe de cytoplasme représentait des cellules accessoires, tandis que la myéline était assez généralement considérée comme une production de la fibre nerveuse. La mince couche de cytoplasme interne était donc plutôt vue comme faisant partie de la fibre. L'histologiste espagnol Santiago Ramón y Cajal, prix Nobel de physiologie ou médecine de 1906, reconnu tardivement, au cours des années 1930, que Ranvier eut alors, à ce moment, c'est-à-dire au cours des années 1870, une intuition géniale, celle du concept de « cellule de Schwann », admise quelques décennies plus tard.

Ranvier arriva en effet à la conclusion que, entre deux étranglements, les deux couches de cytoplasme marquées et la myéline constituaient une seule entité cellulaire, une « cellule de Schwann ». Pour parvenir à cette conclusion, il observa méticuleusement ces deux couches de cytoplasme, il en étudia les granulosités et se fit une idée de leur granulométrie, c'est-à-dire du profil de répartition statistique de chaque taille de grain, de

manière intuitive et non quantifiée. Ranvier avait l'habitude de réaliser de très nombreuses observations, puis d'aller au coin du feu, pour se reposer, et surtout pour faire émerger dans son esprit, par une sorte de synthèse inconsciente, une image issue entièrement de son imagination.

C'est ainsi qu'il put se convaincre que les deux couches de cytoplasme qu'il observait de part et d'autre de la myéline étaient similaires, avec une granulométrie identique, mais différente de celle du cytoplasme de la fibre nerveuse. Ranvier interpréta alors ses observations en considérant que la myéline était contenue entièrement à l'intérieur d'une même cellule, interrompue de chaque côté par un étranglement annulaire. Il proposa alors une analogie entre cette cellule, la cellule de Schwann, et l'adipocyte (Figure 1D), en considérant la myéline comme une sorte de grande inclusion lipidique formant un tube autour de la fibre nerveuse. Il faut noter que le terme de « cellule de Schwann », qui préexistait, ne se rapportait alors qu'à un concept de cellule accessoire tapissant la myéline uniquement sur son bord extérieur. Dans cet exemple, on conclut qu'une observation microscopique minutieuse sur une fibre nerveuse fraîche permit ainsi à Ranvier de définir un nouveau concept anatomique dont la fonction physiologique lui semblait clair, l'isolation électrique de la fibre nerveuse.

Jules Luys et l'anatomie fonctionnelle du système nerveux

La figure de l'anatomo-pathologiste et aliéniste Jules Luys (1828-1897) est généralement très peu évoquée dans l'histoire des neurosciences. Et pourtant, le neuroanatomiste québécois André Parent a montré dans plusieurs études l'originalité et l'intérêt de ses travaux. Luys est en effet une figure à part, mais ses perspectives épistémologiques s'intègrent dans une certaine tradition d'étude des structures du système nerveux dans une perspective fonctionnelle (4). Selon Parent, Luys a été peut-être le seul médecin anatomiste à créer une œuvre à la Salpêtrière en marge de l'école de Charcot. Luys était, à partir de 1862, un médecin des hôpitaux de Paris du « petit service de neurologie » de la Salpêtrière, dirigé par Alfred Vulpian. Mais son œuvre anatomique débuta de manière indépendante, puisqu'il se forma à la microscopie avec le professeur d'histologie de la faculté de médecine de Paris, Charles Robin (1821-1885). En cela Luys peut être considéré comme l'un des pionniers de la microscopie médicale en France dans les années 1850.

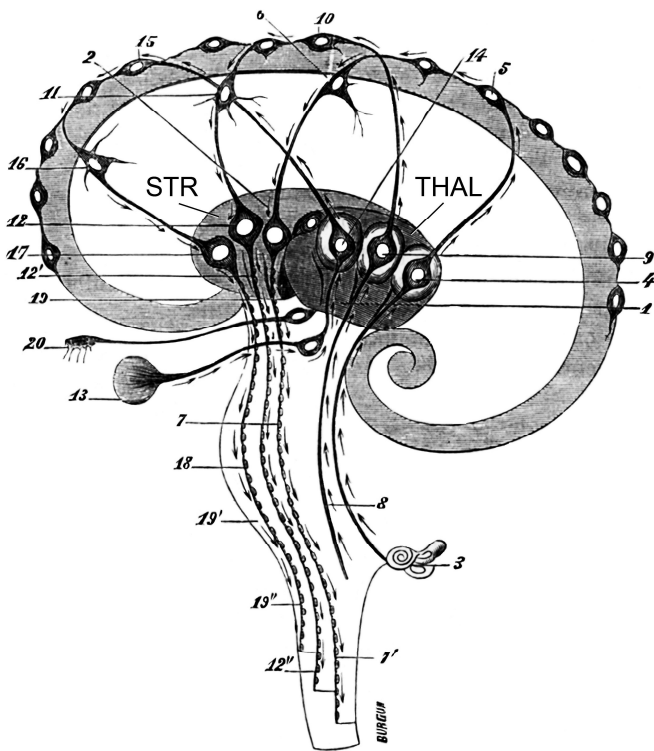


Figure 2. Schéma fonctionnel des noyaux opto-striés selon Luys. Luys schématise ces noyaux au centre d'une sphère délimitée par les « ondulations » de l'écorce cérébrale. Ce circuit fonctionnel est considéré comme un récepteur des influx sensoriels (visuels, auditifs, tactiles, olfactifs) se rendant (flèches ascendantes) vers leurs centres intégrateurs respectifs dans le thalamus (THAL), où ils ciblent les volumineuses cellules ganglionnaires et de là se projettent vers des régions spécifiques de l'écorce cérébrale (« sensorium commune »). En retour, l'information neuronale est réfléchiée sur les cellules volumineuses du corps strié (STR) avant de se propager (flèches descendantes) aux différents segments moteurs du névraxe. La vision réticulariste de Luys transparait dans ce schéma où les neurones thalamiques, corticaux et striataux sont dotés de longs prolongements qui se fusionnent. Les abréviations « STR » (striatum) et « THAL » (thalamus) ont été rajoutées sur le schéma original pour en faciliter la compréhension. J. Luys, *Le cerveau et ses fonctions*, Paris, Baillière, 1876, figure 6. Figure adaptée de Parent (4).

Esprit indépendant, Luys travailla comme anatomo-pathologiste principalement sur le système nerveux. Il mit au point ses propres techniques, comme Ranvier, mais en travaillant sur de grandes coupes et en essayant de suivre les trajets des fibres nerveuses dans le cerveau. Il utilisa des techniques simples, avec de l'acide chromique et du carmin, comme Ranvier, mais par des procédés adaptés d'abord à de petits blocs de cerveau, puis à des tranches très fines. Selon Parent, de telles techniques étaient encore très peu utilisées au milieu du XIX^e siècle.

C'est en 1865 que Luys publia un premier ouvrage majeur, ses *Recherches sur le système nerveux cérébro-spinal, sa structure, ses fonctions et ses maladies* (4), pour lequel il reçut un prix de l'Académie des sciences. Dans cet ouvrage, Luys présente une nouvelle description

du thalamus (qu'il dénomme les « couches optiques »), en distinguant des nouvelles entités comme le « noyau sous-thalamique » et le « centre médian ». Dans le rapport du Prix rédigé par le physiologiste François Longet, Luys est loué pour ses connaissances en pathologie et en physiologie, mises en œuvre pour attribuer de nouvelles fonctions à certaines régions cérébrales. Parent suggère que Luys a été l'un des rares anatomistes de son époque à distinguer le striatum de la couche optique en lui assignant un rôle dans le contrôle moteur, et en proposant des fonctions sensorielles pour le thalamus. Parent considère que Luys a proposé la première description cohérente de l'organisation fonctionnelle du thalamus qu'il illustra dans un atlas de 80 pages inclus dans son ouvrage de 660 pages. Pour Parent, Luys a mis en évidence, pour chacun des quatre centres thalamiques qu'il décrit, des faisceaux de fibres ascendantes se projetant sur des aires corticales différentes, en décrivant ainsi un concept de fibres cortico-thalamiques qu'il pensait important pour l'attention et la conscience.

René Couteaux et l'étude dynamique de la synapse

René Couteaux (1909-1999) débute ses recherches anatomiques au début des années 1930 dans le laboratoire de biologie expérimentale de la Sorbonne d'Étienne Rabaud (1868-1956). Il adopte d'emblée une perspective fonctionnelle dans l'étude des relations entre les nerfs et les muscles, par une approche cytologique. C'est aussi en côtoyant Jean Nageotte (1866-1948), professeur honoraire au Collège de France, que le jeune Couteaux prend conscience de l'esprit critique nécessaire pour l'étude des aspects dynamiques et fonctionnels des architectures cellulaires et moléculaires. Lorsqu'il débute ses travaux, Couteaux souhaite étudier, à l'échelle sub-cellulaire, les synapses, pour éclairer les débats qui séparent encore les adeptes de la théorie du neurone et ceux partisans d'une nouvelle théorie réticulariste, ou encore les adeptes de la neuro-transmission chimique et ceux partisans d'une neuro-transmission électrique.

Les travaux de Couteaux sur la synapse l'engagent dans cette perspective épistémologique d'anatomie fonctionnelle. Il débute en étudiant par imprégnation argentique la jonction neuromusculaire de vertébrés et son développement. Il s'intéresse en particulier à la mise en place de la « sole » de la plaque motrice qui reçoit l'arborisation terminale de la fibre nerveuse motrice. Ce premier travail constitue sa thèse de médecine de 1941 ; il y démontre des intrications étroites entre l'arborisation nerveuse associée à sa glie et le cytoplasme musculaire. Mais sa technique ne permet pas de marquer les membranes elles-mêmes, et il est difficile pour Couteaux

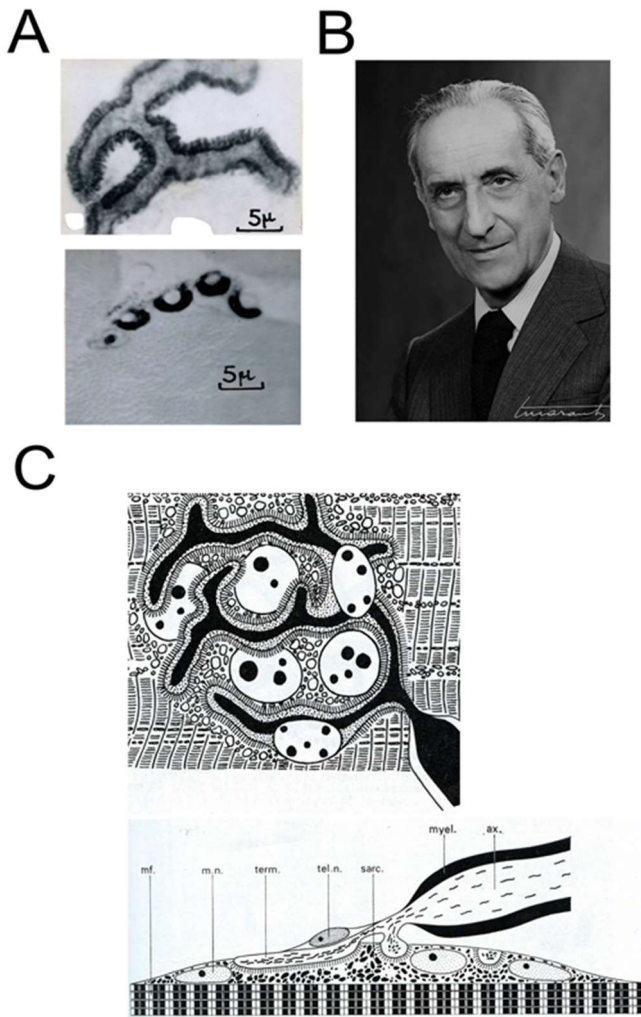


Figure 3. A, microphotographie d'une plaque motrice vue du dessus dans un muscle squelettique de souris (haut). La gouttière a ici une forme en H. Coupe transversale dévoilant les lamelles disposées autour de la gouttière (bas). La coloration dans cette préparation révèle une activité cholinestérasique. B, René Couteaux (1909-1999). C, schémas de la plaque motrice d'un mammifère selon Couteaux, vue d'en haut et vue latérale (1947). Le cytoplasme axonal figuré en noir occupe les gouttières synaptiques. Les lamelles de l'appareil sous-neural affleurent sur le bord de la gouttière synaptique. Les quatre noyaux à gros nucléoles sont des noyaux fondamentaux de la sole. Les deux autres sont des noyaux schwanniens. Coupe transversale ; ax. : axoplasme avec ses mitochondries allongées ; myel. : gaine de myéline de la fibre nerveuses ; tel.n. : noyau d'une cellule de Schwann terminale ; term. : terminaison de l'axone moteur dans sa gouttière synaptique ; les lamelles de l'appareil sous-neural coupées transversalement apparaissent comme des bâtonnets attachés à la membrane musculaire ; sarc. : sarcoplasme avec ses mitochondries ; m.n. : noyaux fondamentaux (musculaires) ; mf. : myofibrilles. Figure adaptée de Taxi et Barbara (5).

de différencier des régions sub-cellulaires distinctes qui permettraient de rejeter l'idée d'un continuum cytoplasmique entre le nerf et le muscle.

En 1942, Couteaux va chercher à marquer les plaques motrices adultes de vertébrés par tous les colorants qu'il a à sa disposition. Son choix se porte sur un colorant vital des mitochondries, le Vert Janus B, qui marque parfois la

sole de la plaque motrice (5). Comme Ranvier, Couteaux cherche alors à optimiser les conditions de coloration pour scruter les moindres détails des structures sur des tissus frais. Il réussit avec bonheur à établir les conditions très précises de coloration de la plaque motrice, ce qui est alors une avancée majeure à l'échelle internationale. Couteau peut alors démontrer que la plaque motrice est constituée de différentes régions partiellement invaginées dans le muscle, et qui ont la forme de gouttières (Figure 3). De part et d'autre, ces gouttières sont délimitées par une fine membrane portant une série de lamelles régulièrement espacées et disposées perpendiculairement à l'axe des gouttières. C'est dans ces gouttières que sont logés les rameaux de l'arborisation nerveuse. Les belles images qu'il obtient sur du tissu frais sont reproduites ensuite par Couteaux après une stabilisation du marquage par du molybdate d'ammonium et fixation au formol, pour l'inclusion dans la paraffine, ce qui permet des observations plus détaillées (Figure 3). Tout comme Ranvier, Couteaux est parti du tissu frais pour révéler des structures avec l'idée que ces dernières avaient plus de chances d'être réelles, dans ces premières conditions. De la même manière, mais inversement, on avait écarté l'idée que le marquage des neurones par la technique de Golgi était un artefact en utilisant le bleu de méthylène révélant les mêmes images dans des tissus frais.

Couteaux a pu ainsi décrire la cytologie sub-microscopique de la plaque motrice, d'abord chez la souris et le lézard, comme une architecture qu'il dénomma l'« appareil sous-neural » (6). Sa nature musculaire fut démontrée par sa persistance après section et dégénérescence wallérienne du nerf moteur. Comme pour le bleu de méthylène par rapport à la coloration de Golgi, le marquage au Vert de Janus B ne fut admis que lorsqu'un marquage similaire par une technique très différente permit d'obtenir des images identiques par marquage d'une activité cholinestérasique (Figure 1). La technique de localisation histochimique des activités cholinestérasiques publiée en 1949, par le pharmacologue George Koelle (1919-1997) et le chimiste Jonas Friedenwald, était basée sur l'utilisation d'un substrat synthétique, l'acétylthiocholine, produisant un précipité de cuprothiocholine d'abord sur du tissu frais. Ce marquage permettait aussi de démontrer que l'appareil sous-neural est le lieu d'une forte concentration de cholinestérase. Pour Jacques Taxi, qui participa à ces travaux, ce fut le moment où la conception réticulariste fut mise presque définitivement « hors-jeu », avec un dernier coup de grâce avec l'avènement de la microscopie électronique. La synapse était déjà à ce moment-là éclairée d'un nouveau jour en précisant sa physiologie chimique.

La nouvelle technique de microscopie électronique fut apprise et adoptée par René Couteaux et son élève Jacques Taxi pour poursuivre son approche de cytologie fonctionnelle (7). Les progrès immenses qui furent réalisés en quelques années avec cette technique dépendaient selon Jacques Taxi de l'utilisation de résines polymérisables et du développement de nouveaux ultramicrotomes, pour réaliser des coupes de quelques dixièmes de micron. Après les premiers travaux du début des années 1950, de Palade et Palay, et de Reger et Robertson, montrant les limites membranaires de la fente synaptique et les vésicules, Couteaux et Pécot-Dechavassine publièrent des travaux à partir des années 1960 sur l'ultrastructure des synapses. Ils utilisèrent le muscle strié de grenouille dans lequel les rameaux nerveux rectilignes et parallèles permettent de multiples observations, une fois l'orientation des coupes bien établie. En particulier, dès 1961, Couteaux put ainsi décrire l'organisation spatiale des différenciations présynaptiques, décrites par Palay en 1956, en proposant le terme de « zones actives », alors purement hypothétique. Il s'agissait pour lui de la zone d'ancrage des vésicules, comportant le site de libération par exocytose. Couteaux montra en effet que ces différenciations présynaptiques se retrouvent très régulièrement en face de l'ouverture de chaque pli de l'appareil sous-neural dans l'espace synaptique. Il prend la forme d'un ruban triangulaire dense, collé par sa base à la face interne de la membrane présynaptique. Il s'étend d'un bord à l'autre de la gouttière synaptique et il est flanqué de chaque côté d'une rangée régulière de vésicules synaptiques. Ces données confirmaient la théorie « quantique » de la libération de l'acétylcholine à la synapse neuromusculaire par la découverte des potentiels synaptiques, nommés potentiels miniatures de plaque par Fatt et Katz en 1952, et la théorie vésiculaire ou théorie des vésicules synaptiques, selon laquelle un quantum d'acétylcholine correspond au contenu d'une vésicule synaptique libéré par exocytose dans l'espace synaptique, selon Del Castillo et Katz en 1955.

Un nouvel argument en faveur de la théorie vésiculaire fut apporté par Couteaux et Pécot-Dechavassine en 1972 par la démonstration d'une corrélation entre l'existence de potentiels miniatures « géants », correspondant à la présence dans les terminaisons de vésicules synaptiques géantes disséminées au sein de la population de vésicules.

Plus tard, Couteaux et Pécot-Dechavassine apportèrent une autre importante contribution en faveur de l'hypothèse vésiculaire, en 1970 et en 1974, par l'observation, sur des muscles fixés aux aldéhydes, d'images d'ouverture de vésicules dans la fente synaptique au niveau des « zones actives ». Ces images

justifiaient ainsi l'appellation « zones actives » adoptée par les neurophysiologistes dont John C. Eccles, prix Nobel de 1963, à la suite de Couteaux.

Conclusion

Ces exemples historiques montrent chez les neuroanatomistes français une certaine filiation dans la perspective de réaliser des observations anatomiques et histologiques dans une perspective physiologique. Un ancien débat d'histoire des sciences des années 2000 demandait s'il était possible de définir dans les sciences des « styles nationaux » de recherche. La question longuement débattue ne fut pas tranchée nettement, mais beaucoup d'historiens estimèrent que même si ce concept était trompeur, en ce sens qu'il ne peut être défini nettement sur la longue durée, il est possible de considérer des tendances et des perspectives épistémologiques définies pour certaines écoles et traditions durant certaines périodes. La question est alors de savoir comment, et sur quelle période, définir cette perspective.

Si l'on prend l'exemple des questionnements sur les structures externes et internes de la boîte crânienne et leurs fonctions, on peut dire d'une manière générale qu'ils furent au fondement de toute connaissance médicale relative au cerveau, peut-être depuis le néolithique. Déjà, la médecine et la philosophie grecques théorisèrent des liens entre l'existence et la localisation des « ventricules » du cerveau et leurs fonctions, chez Aristote, Érasistrate et Hérophile. On retrouve cette tendance chez les médecins du Moyen-Âge et par exemple chez Léonard de Vinci. Jusque-là rien ne paraît distinguer ce qui peut se passer en France ou ailleurs.

L'un des premiers discours d'un médecin français, personnel et original, sur les liens qui doivent exister selon lui entre anatomie et physiologie est de Félix Vicq d'Azyr (1748-1794) (8). Esprit encyclopédique, Vicq d'Azyr fut attentif à l'école du physiologiste Suisse Albrecht von Haller (1708-1777) et à son « anatomie animée » (*anatomia animata*). Haller considérait que la méthode physiologique d'excitation des organes, par des acides ou de l'électricité, devait permettre de mettre en évidence leurs propriétés physiologiques pour expliquer les mouvements et les sensations du corps humain. En ce sens, Haller considérait la physiologie comme donnant une image dynamique des structures, et comme un moyen d'« animer » les connaissances anatomiques. Mais la philosophe des sciences Anne-Lyse Rey a montré combien cette entreprise reposait aussi bien sur des expérimentations systématiques que sur des hypothèses solides considérées comme parfois arbitraires mais

heuristiques (9), permettant d'associer l'anatomie, l'expérimentation et la conjecture physiologique.

Vicq d'Azyr comprit la leçon quand il mêla l'observation anatomique par dissections à la formulation d'hypothèses sur la fonction des parties du cerveau, tout en tenant compte des données de physiologie. Cultivant surtout les arts de l'anatomie, il publia dans le *Dictionnaire de médecine de l'Encyclopédie méthodique* le plan d'un cours d'anatomie et de physiologie qu'il fit à la Faculté de médecine de Paris en 1780 (10). Et dans les trois années qui suivirent, Vicq d'Azyr mit en application ses préceptes dans quatre mémoires sur l'anatomie du cerveau présentés à l'Académie royale des sciences et qui, comme pour Luys, marque déjà des progrès dans la distinction de certaines régions tout en faisant de nouvelles hypothèses sur leurs fonctions.

Les idées de Vicq d'Azyr furent étendues et précisées par le médecin français Xavier Bichat qui fonda une nouvelle médecine sur la définition des différents tissus du corps humains, inspectés par la vue et les sens, tout en tentant des corrélations de structures et de fonctions combinant les données anatomiques, physiologiques et pathologiques (11). Cette nouvelle étude des tissus, ou histologie [mais non au sens actuel d'histologie microscopique] marqua une révolution médicale au tournant du XIX^e siècle dans le monde entier. Elle aboutit à définir deux disciplines et deux perspectives corrélatives, l'anatomie générale descriptive et l'« anatomie physiologique » s'intéressant aux fonctions.

Cette nouvelle tradition médicale fut alors développée par le philosophe Auguste Comte pour théoriser les liens indispensables que doivent avoir selon lui la physiologie et l'anatomie. Dans sa hiérarchie des sciences, Comte place la physique et la chimie comme les sciences supérieures permettant de découvrir les fonctions des organes resituées ensuite dans le corps humain.

Entre Vicq d'Azyr, Bichat et Comte, on voit donc un renversement progressif de ce qu'on nomme un régime disciplinaire, c'est-à-dire l'ensemble des rapports de subordination ou de dépendance des sciences entre elles, les unes étant considérées comme plus générales et servant aux autres, progressivement plus spécialisées. Vicq d'Azyr place en premier l'anatomie dont dérive selon lui, par déduction, la physiologie des organes. Alors que Bichat tente des corrélations qui mettent sur le même plan ces deux sciences. Comte, enfin, place les méthodes physico-chimiques dans les sciences supérieures générales, appliquées à l'étude des organes, dont les fonctions sont secondairement corrélées à la connaissance de leurs structures.

Claude Bernard fera toute sa carrière en réalisant des travaux importants qui aboutissent à des découvertes selon les préceptes de Comte. En réalité, bien sûr, chaque régime disciplinaire fonctionne selon l'état d'avancement des sciences et des possibilités de découvertes. Bernard lui-même disait que la déduction anatomique avait par le passé abouti à des découvertes physiologiques, mais qu'après 1850, la physique et la chimie des organes étaient la nouvelle voie vers de nouvelles connaissances. Louis Ranvier, avec l'usage du microscope, renversera encore ce régime disciplinaire en démontrant que l'anatomie microscopique pouvait aboutir à des découvertes, y compris en physiologie, en découvrant la fonction de certaines cellules.

On comprend dès lors mieux comment, en France, cette réflexion qui débute dans le contexte des Lumières, puis dans celui du positivisme, se développe ensuite comme l'expression théorique de programmes de recherche d'histologie microscopique dans le contexte de l'école de Claude Bernard. En ce sens, les travaux ultérieurs comme ceux de Couteaux, se rattachent encore à cette tradition, même si à partir du XX^e siècle, on ne peut plus parler d'une perspective surtout française, tant la microscopie devient de manière internationale alors une science autant physiologique qu'anatomique, et tant l'usage du microscope se développe autant pour étudier les détails intimes des tissus fixés que pour la biologie des cellules vivantes. Mais pour la période entre 1850 et 1950, il semble bien qu'on puisse parler d'un style physiologique de la neuroanatomie française.

jean-gael.barbara @sorbonne-universite.fr

Références

- (1) J.G. Barbara, F. Clarac (éds.), *Le cerveau au microscope : la neuroanatomie française aux XIX^e et XX^e siècles*, Paris, Hermann, 2017, ISBN 9782705695132, 536 pages.
- (2) J.G. Barbara, 2007, Louis Ranvier (1835-1922): the contribution of microscopy to physiology, and the renewal of French general anatomy, *Journal of the History of the Neurosciences*, 16, 413-431.
- (3) J.-G. Barbara, Paul Foley, 2025, The concept of the Schwann cell by Louis Ranvier and his school: the "interannular segment" as a cell unit, *Journal of the History of the Neurosciences*, 34, 64-95.
- (4) André Parent, Jules Bernard Luys, de l'analyse factuelle à une vision systémique de l'axe cérébro-spinal, in J.G. Barbara, F. Clarac (éds.), *Le cerveau au microscope : la neuroanatomie française aux XIX^e et XX^e siècles*, Paris, Hermann, 2017, p. 127-175.
- (5) J. Taxi, J.G. Barbara, 2016, René Couteaux & la cytologie de la synapse neuromusculaire, *Lettre des Neurosciences*, 51, p. 4-9.
- (6) J.G. Barbara, S. Tsuji, 2017. René Couteaux et l'étude de la synapse, in J.G. Barbara, F. Clarac (éds.), *Le cerveau au microscope : la neuroanatomie française aux XIX^e et XX^e siècles*, Paris, Hermann, 2017, p. 283-296.

(7) J.G. Barbara, J. Taxi, 2017. L'apport de la microscopie électronique à la neuroanatomie, in J.G. Barbara, F. Clarac (éds.), *Le cerveau au microscope : la neuroanatomie française aux XIX^e et XX^e siècles*, Paris, Hermann, 2017, p. 357-367.

(8) Mandressi Rafael, *Le regard de l'anatomiste*, Paris, Seuil, 2003, 352 pages.

(9) Anne-Lise Rey, L'épistémologie de Haller : entre expériences et conjectures ? *Littératures Classiques*, 81, 2013, 227-242.

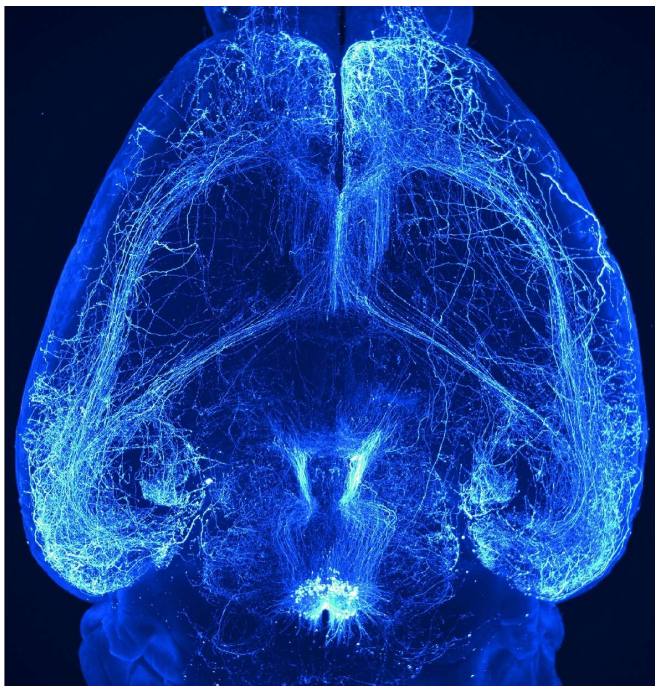
(10) Mandressi Rafael, « Félix Vicq d'Azyr : l'anatomie, l'État, la médecine. Une carrière scientifique entre Ancien régime et Révolution », Site de la bibliothèque interuniversitaire de médecine, coll. Medic@, 2004. [En ligne], <https://www.biusante.parisdescartes.fr/histoire/medica/vicq.php> (19 décembre 2019).

(11) J.G. Barbara, 2016. Biological generality and general anatomy from Xavier Bichat to Louis Antoine Ranvier, in K. Chemla, R. Chorlay, D. Rabouin, (éds.), *The Oxford Handbook of Generality in Mathematics and the Sciences*, Oxford UP, 2016.

Neuroanatomie : dépasser les images, révéler les réseaux

PAR PIERRE-YVES RISOLD, ANNABELLE REAUX-LE GOAZIGO ET YVES TILLET

Longtemps perçue comme un ensemble de techniques permettant uniquement de « voir » le cerveau, au détriment de sa dimension conceptuelle et fonctionnelle, elle est devenue une science intégrée, où l'anatomie, la chimie, la physiologie et la modélisation convergent pour dévoiler la structure intime des réseaux neuronaux et leurs fonctions. La neuroanatomie connaît aujourd'hui une profonde transformation.



Neurones à Relaxin3 du nucleus incertus, avec leurs projections visibles dans l'ensemble du cerveau. L'échantillon a été transparaïsé puis observé en microscopie à feuille de lumière. **Crédit photo :** Thibault Dhellemmes (Institut des Maladies Neurodégénératives (IMN) - CNRS UMR 5293, Bordeaux) et Jérémie Teillon (Bordeaux Imaging Center - UAR 3420 CNRS - Université Bordeaux - US4 INSERM).

Voir l'article de Chloé Chaumeton, Jérémie Teillon et David Godefroy dans ce Dossier

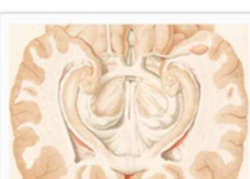
Ce dossier entend illustrer la vitalité, l'évolution de la neuroanatomie contemporaine à travers les contributions de plusieurs chercheurs issus de différents laboratoires. Evidemment, même si nous avons mis l'accent sur certaines avancées technologiques parmi les plus significatives, le domaine reste très vaste. D'autres thématiques et méthodologies auraient également pu faire partie de ce dossier, qui n'a d'ailleurs pas la prétention d'être exhaustif. Pierre-Yves Risold commence par une réflexion sur l'évolution historique de la discipline et son statut actuel. Marie Barbier montre ensuite comment les approches anatomiques et fonctionnelles modernes permettent de disséquer des circuits spécifiques. L'auteure prend pour exemple le noyau parasousthalamique du rongeur, une structure complexe récemment identifiée dans l'hypothalamus et impliquée dans la prise alimentaire, mais probablement aussi dans d'autres réponses. Les traçages transsynaptiques présentés par Julien Bouvier et Alexis D'Humières, et les marqueurs d'activation précoce décrits par Amarine Chancel et ses collaborateurs illustrent la diversité des outils actuellement disponibles pour cartographier les réseaux neuronaux et leur dynamique fonctionnelle. La neuroanatomie chimique et sa complexité, notamment dans la co-transmission, sont abordés par Monique Esclapez en prenant comme exemple la co-transmission GABA/Glutamatergique entre le noyau supramammillaire et l'hippocampe. Enfin,

Emma Perrot et ses collaborateurs explorent les liens entre données anatomiques et organisation des réseaux avec l'étude d'un nouveau circuit dopaminergique issu du raphé dorsal et impliqué dans les comportements défensifs.

Le dossier fait également la part belle aux innovations technologiques récentes. Chloé Chaumeton et collaborateurs présentent les apports de la transparençisation tissulaire et de l'imagerie tridimensionnelle. Avec l'IRM, Julien Flament introduit l'identification neurochimique des réseaux neuronaux

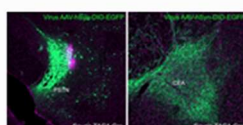
avec les agents CEST en prenant l'exemple du glutamate et Olivier Coulon examine, toujours en IRM, comment l'analyse des surfaces corticales révèle des asymétries anatomiques cérébrales.

En rassemblant ces avancées, ce dossier de La Lettre des Neurosciences met en lumière une neuroanatomie en pleine mutation : bien au-delà d'un simple outil de visualisation, elle s'impose désormais comme une véritable clé pour décrypter avec une grande précision la dynamique, l'organisation et la complexité du cerveau.



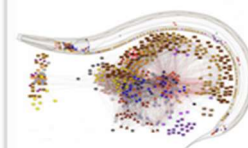
De la macroscopie, à la microscopie jusqu'au connectome : 3500 ans de neuroanatomie
Par Pierre-Yves Risold

Voir l'article



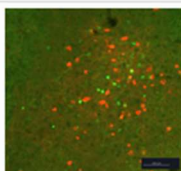
De la cartographie classique au traçage génétique : révolution dans l'étude des réseaux...
Par Marie Barbier

Voir l'article



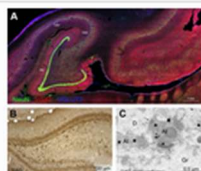
Traçages trans-synaptiques : promesses et défis pour l'étude du connectome
Par Julien Bouvier, Alexis D'Humières

Voir l'article



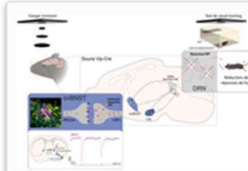
Utilisation des marqueurs d'activation précoce, avantages et contraintes
Par Amarine Chancel, Justin Malcey, Pierre-Hervé Luppi

Voir l'article



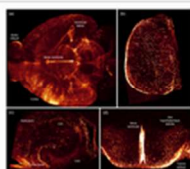
Neuroanatomie chimique révèle le phénotype de co-transmission GABA/ Glutamate des neurones du...
Par Monique Esclapez

Voir l'article



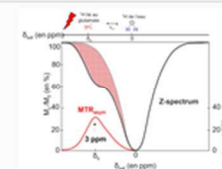
Identification d'un nouveau circuit dopaminergique du raphé dorsal impliqué dans les...
Par Emma Perrot, François Georges, Adriane Guillaumin

Voir l'article



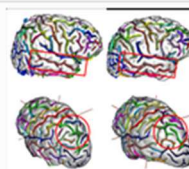
L'imagerie tridimensionnelle, une observation « transparente » du système nerveux central
Par Chloé Chaumeton, Jérémie Teillon, David Godefroy

Voir l'article



Utilisation de l'imagerie CEST du glutamate pour l'étude des maladies neurodégénératives par...
Par Julien Flament

Voir l'article



Comprendre le plissement cortical : la piste développementale
Par Olivier Coulon, Julien Lefèvre, Aurélie Manchon, Nadine Girard, Guillaume Auzias

Voir l'article

De la macroscopie, à la microscopie jusqu'au connectome : 3500 ans de neuroanatomie

PIERRE-YVES RISOLD

Université Marie et Louis Pasteur, UMR 1322 INSERM, UFR Santé, Besançon

Introduction

La neuroanatomie est une discipline fondamentale dédiée à l'étude de l'architecture cérébrale, incluant l'agencement des neurones, des cellules gliales et des réseaux neuronaux ([voir aussi l'article de J.-G. Barbara dans ce numéro](#)). Au-delà de la simple description des structures cérébrales, elle cherche également à comprendre l'organisation fonctionnelle du cerveau. Le terme « neuroanatomie » apparaît pour la première fois dans des écrits entre 1820 et 1830 (*Neuroanatomy*, [Google Books Ngram viewer](#)), c'est à dire bien après les premiers textes traitant du cerveau (Figure 1). Larry W. Swanson (1) décrit deux étapes majeures dans l'histoire de l'étude de l'architecture cérébrale et l'émergence de sa nomenclature : la première, dite « classique », concerne les observations macroscopiques fondées sur la dissection de cadavres d'animaux ou humains. La

seconde, « moderne », apparaît progressivement au cours du XIXe siècle avec l'avènement des théories cellulaire et neuronale, concomitamment au développement de la microscopie.

Je défends ici l'existence d'une troisième période « contemporaine », caractérisée par le développement, au cours des dernières décennies, des approches les plus récentes de la biologie cellulaire et moléculaire (génomique, transcriptomique, protéomique), ainsi qu'au développement des techniques de traçage de voies neuronales (connectomique) et d'imagerie cérébrale.

Epoque Classique (1700 av J.C.-1840)

Depuis les origines de l'humanité, l'homme s'est efforcé de combattre les maux qui l'affligent, tels que les maladies et blessures. Face à ces épreuves, très tôt s'est manifesté le besoin d'une approche rationnelle et rigoureuse de l'étude du corps humain. Le premier texte médico-scientifique, sous la forme d'un papyrus égyptien datant de plus de 3500 ans et découvert par Smith au XIXe siècle, est un traité chirurgical décrivant, entre autres, 48 affections de la tête et de la moelle épinière, détaillant symptômes, pronostics et traitements (2, 3). Il contient la première mention du cerveau dans l'histoire (Figure 1), et décrit les méninges, les circonvolutions cérébrales, la pulsativité de l'encéphale et le liquide céphalorachidien. Il établit en outre que les traumatismes crâniens provoquent des symptômes périphériques, exposant le lien entre cerveau et contrôle moteur.

Cependant, les premières approches scientifiques du fonctionnement cérébral émergent de la philosophie antique (3, 4). L'école d'Alexandrie marque un tournant décisif avec Hérophile de Chalcédoine (335-280 av J.C.) et Érasistrate de Kéos (310-250 av J.C.), qui développent la théorie pneumatique : l'air inhalé se transforme après

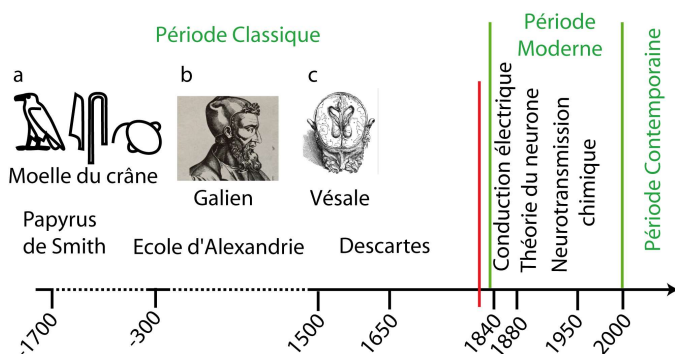


Figure 1: La neuroanatomie au cours des siècles. Le terme 'neuroanatomie' est né au début du XIXe siècle (ligne rouge) mais l'étude du cerveau a commencé bien avant. Trois périodes peuvent être identifiées : la période classique – macroscopique – avant 1840, puis la période moderne -microscopique- entre 1840 et 2000, et enfin la période contemporaine après 2000. (a) Hiéroglyphe du Papyrus de E. Smith qui fait pour la première fois mention du cerveau ('moelle du crâne') dans un texte, (b) Portrait de Galien dont la théorie pneumatique va influencer la science et la médecine pendant 1000 ans. (c) Illustration d'une coupe de cerveau par Vésale, le père de l'anatomie

passage dans les viscères et en particulier le cœur en *pneuma psychikon* dans les ventricules cérébraux qui sont alors décrits. Ces médecins établissent le cerveau comme siège de l'intelligence et identifient deux types de nerfs : sensoriels et moteurs. Galien (131-200) hérite de cette tradition et perfectionne la théorie pneumatique, créant un modèle "pneumatique-ventriculaire" où le cerveau fonctionne comme une pompe distribuant le *spiritus animalis* via les nerfs (3, 4). Cette théorie, constituant la première approche historique du concept de neurotransmission (3), dominera la pensée médicale pendant plus de quinze siècles jusqu'au XVIII^e siècle. André Vésale (1514-1564) décrit de nombreuses structures cérébrales, mais est surtout connu pour ses illustrations fines remarquables de coupes anatomiques du cerveau (Figure 1). Le philosophe Descartes (1596-1650) marquera la période précédant le XIX^e siècle par une vision plus mécanistique et moins philosophique de la théorie pneumatique (2-4). Une nombreuse nomenclature est issue de cette période classique, avec par exemple le terme 'système nerveux' par A. Monro (1733-1817) (1) et certains termes comme par exemple 'hippocampe' dont l'origine remonte au XVI^e siècle. Il est à noter que ce terme aura dominé la concurrence d'autres tels que 'dauphin' ou 'vers à soie' suivant l'imagination picturale des auteurs de l'époque (5). Nous devons une des plus jolies et fidèles représentations de l'hippocampe de cette période à l'anatomiste français Félix Vic d'Azyr (Figure 2) (2, 5). La période classique s'achève vers 1830/1840, elle a fourni plus de 80% de la nomenclature du système nerveux (central et périphérique) utilisée aujourd'hui notamment grâce à des auteurs prolifiques comme Galien et Vésale mais aussi K.F. Burdach (1776-1847) qui sera à l'origine de la standardisation d'une partie importante de cette terminologie (1).



Figure 2 : Illustration de l'encéphale disséqué et exposant l'hippocampe par Vic d'Azyr (1786).

Epoque Moderne (1840-2000)

L'époque moderne émerge de la théorie cellulaire et de l'utilisation effective du microscope (1). Cette période moderne qui d'après moi se termine avec le XX^e siècle, est caractérisée par une évolution exponentielle des progrès technologiques et scientifiques. Elle débute avec le développement de l'histologie, et la première illustration en 1836 d'une cellule nerveuse par G.G. Valentin (1810-1863), un peu avant que J.E. Purkinje (1787-1869) ne décrive les cellules qui portent son nom dans le cervelet (1837) (3). Le développement de l'histologie favorisera l'utilisation de petits animaux comme modèles, plus pratiques, initiant la création des premières souches de rongeurs de laboratoire et qui serviront de modèles à de nombreuses disciplines. Evidemment un nouveau vocabulaire apparaît, H.W. Waldeyer (1836–1921), invente le mot neurone ; A. von Kölliker (1817-1905) celui d'axone qui va remplacer celui de 'cylindre axe' ; W. His (1831–1904) introduit celui de dendrite. S. Ramón y Cajal (1852-1936) sera un ardent défenseur de la théorie du neurone contre la théorie réticulariste (basée sur la continuité des neurones). Ramon y Cajal est considéré comme un des pères des neurosciences modernes par la qualité et l'importance de ses découvertes. Il reconnaîtra la polarité du neurone et décrira de nombreux trajets intracérébraux. D'ailleurs, au XIX^e siècle la conduction du message nerveux n'est plus attribuée à 'l'esprit animal' mais à l'électricité. L'œuvre 'La Fée Electricité' de R. Dufy exposée au Musée d'Art Moderne à Paris, rend hommage à L. Galvani (1737-1798) qui a montré à la toute fin du XVIII^e siècle que l'électricité entraîne une contraction musculaire. La communication chimique des neurones sera une découverte du XX^e siècle et bénéficiera du concept de synapse que nous devons à C. S. Sherrington (1857-1952). A la fin de ce siècle, la plupart des neurones sont caractérisés par leur phénotype chimique en plus de leur forme et localisation.

De nombreuses théories émergent pendant cette période moderne. Le cerveau se développe en cinq vésicules autour des ventricules, dont les trois premières (les deux vésicules télencéphaliques et le diencephale) dérivent du prosencéphale embryonnaire. Le télencéphale est compris comme constitué d'un cortex coiffant dorsalement le striatum, le pallidum, les tubercules olfactifs, l'amygdale et le septum en position sous-corticale. La division du diencephale en thalamus, épithalamus et hypothalamus (terme introduit par His en 1893) constitue une avancée majeure, formalisée par C.J. Herrick (1868-1960) (6). Parmi d'autres progrès, la localisation corticale de certaines fonctions marque une étape cruciale, notamment avec la première localisation corticale d'une fonction par Paul Broca qui identifie l'aire du langage dans le cerveau humain (2). Cette

parcellisation du cortex en aires fonctionnelles mènera à l'identification des 52 aires par K. Brodmann (1868-1918) en 1909, qui influencera les neurosciences cognitives, neurologiques et psychiatriques du XXe siècle à nos jours. L'identification de la communication chimique contribue à l'émergence de la neuroendocrinologie, couronnée par le prix Nobel de R. Guillemin (1924-2024) en 1977 pour ses travaux sur les neurohormones et la découverte de la TRH (thyrotropin-releasing hormone), de la GnRH (gonadotropin-releasing hormone) et la somatostatine (prix qu'il partage avec R. Schally et R.S. Yalow).

La théorie du cerveau triunique de P. McLean (1917-2007) constitue l'une des théories les plus marquantes de cette période moderne. Cette théorie de neuroanatomie évolutive divise le cerveau en trois composantes : un cerveau ancien « reptilien » régulant les comportements instinctifs, des aires néocorticales apparues avec les mammifères et responsables des fonctions cognitives supérieures (langage, conscience, planification), et entre les deux, un système limbique contrôlant les émotions. Ce dernier s'articule autour du circuit de J. Papez (1883-1958) mais inclut également l'amygdale, le septum et certaines régions hypothalamiques (Figure 3) (7). Cette conception de l'organisation fonctionnelle du cerveau a marqué l'opinion publique et conserve encore aujourd'hui de nombreux adeptes.

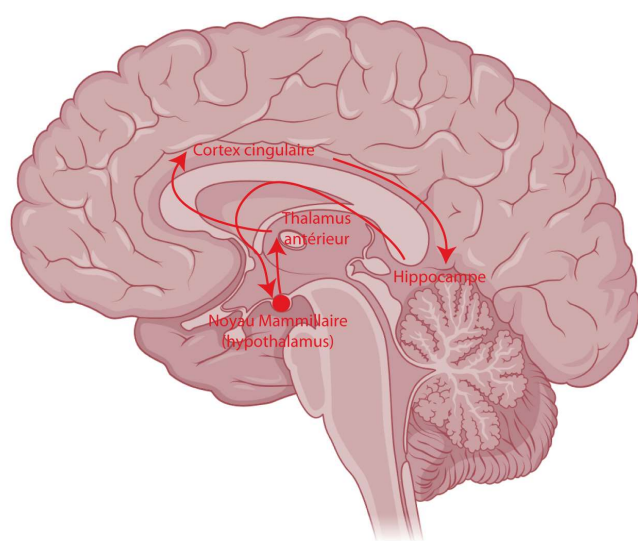


Figure 3 : Représentation schématique du circuit de Papez connectant les noyaux mammillaires de l'hypothalamus, au cortex cingulaire par le thalamus. Le circuit forme une boucle par les projections du cortex cingulaire sur l'hippocampe qui innervent les noyaux mammillaires.

Epoque Contemporaine (2000-)

L'avènement des techniques de biologie moléculaire a bouleversé tous les domaines des sciences biologiques et médicales. Ces approches et les avancées dans le domaine de la génomique et des mécanismes moléculaires sous-tendant de nombreux processus

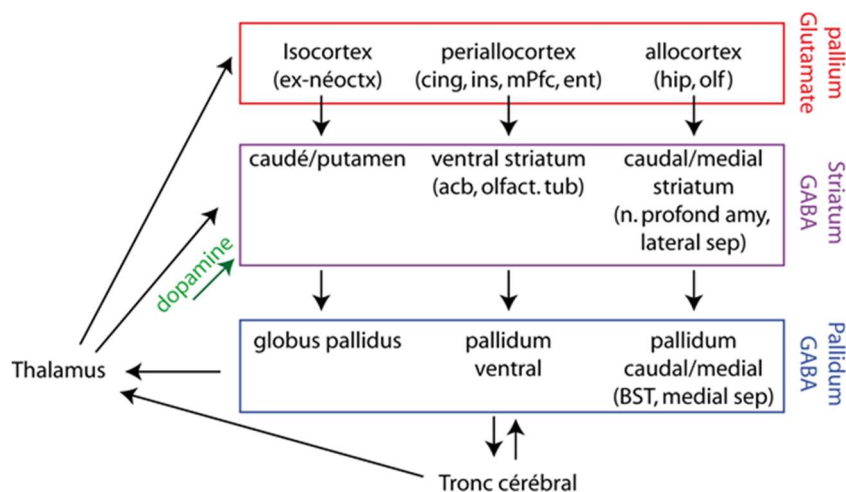
biologiques, ont suscité d'énormes espoirs pour le traitement de diverses maladies incurables et mortelles. Inévitablement, ces approches ont imposé une concurrence difficile aux sciences morphologiques vis-à-vis des journaux, des financeurs et des instances scientifiques, reléguant temporairement la neuroanatomie au second plan.

Grâce à l'émergence des techniques d'imagerie, notamment l'IRM, qui permet chez l'Homme des études fonctionnelles et la cartographie du connectome – domaines jusqu'alors réservés à l'expérimentation animale –, la neuroanatomie connaît un second souffle. Elle s'est également intégrée aux neurosciences computationnelles qui, outre les avancées dans la compréhension des fonctions cérébrales, permettent des progrès majeurs dans le développement des interfaces homme-machine et inspirent les travaux sur l'intelligence artificielle. Enfin, le développement des microscopes les plus modernes, associé à celui d'approches nouvelles comme la transposition ou permettant l'étude combinée de neurones définis par un phénotype chimique spécifique (traçage génétique, pharmac- et optogénétique), a grandement bénéficié à la compréhension de mécanismes neuronaux associés aux réponses comportementales.

La plupart de ces domaines utilisent l'outil neuroanatomique sous forme d'atlas. Cependant, cette période contemporaine dans laquelle nous nous trouvons produit aussi des avancées conceptuelles qui remettent en cause bien des théories que le XXe siècle semblait pourtant avoir fermement établies.

Tout d'abord, le principe de neurotransmission chimique est maintenant perçu comme faisant partie d'un processus d'intégration de signaux multi-transmetteurs/neuromodulateurs impliquant également les cellules gliales (3). Des changements majeurs émergent aussi à l'échelle de l'organe « cerveau » : par exemple, les données issues de l'expression de gènes spécifiques rendent possible l'identification d'une signature moléculaire conservée et d'identifier les structures cérébrales dans l'embryon ou d'en faire l'étude comparée. Ces données, associées à l'analyse fine des réseaux neuronaux, modifient notre perception de l'architecture cérébrale. La notion d'un néocortex apparu avec les mammifères n'est plus d'actualité, et c'est en fait toute la théorie du cerveau triunique de MacLean qui est remise en cause (7, voir dans ce numéro l'article de S. Lemerle et P. Vernier sur le cerveau reptilien). Certaines structures télencéphaliques ne constituent plus des entités neurologiques en elles-mêmes. L'amygdale en est le parfait exemple : si certains ont avancé l'hypothèse d'une amygdale étendue dans les années 1990-2000, L.W. Swanson, dans son article « *What is the*

Figure 4 : Représentation schématique de l'organisation du télencéphale en réseaux parallèles depuis les différentes aires corticales. Ces réseaux forment des boucles grâce aux thalamus. Le compartiment striatal se distingue par des afférences dopaminergiques depuis le mésencéphale.



amygdala ? », explique comment cette structure se compose de territoires corticaux et de structures sous-corticales apparentées au striatum (8). L'analyse des signatures moléculaires à la fois chez l'embryon mais aussi chez des espèces de vertébrés autres que les mammifères (de la lamproie aux oiseaux en passant par les poissons, batraciens et reptiles) permet de confirmer que le cortex naît d'un pallium divisé en régions médiale, dorsale, latérale et ventrale qui vont donner les différentes aires corticales qu'il est préférable d'appeler isocorticales (ex-néocortex), allocorticales (hippocampe, cortico-amygdalien) ou periallocorticales (insulaire agranulaire, entorhinale, médiale préfrontale ventrale). Il n'y a pas de cortex récent ou ancien. En revanche, le cortex se projette de manière topographiquement organisée sur des noyaux cérébraux GABAergiques (striatum) eux-mêmes connectés à d'autres noyaux également GABAergiques (pallidum), intégrant les régions olfactives, amygdaliennes profondes et septales (Figure 4, et voir le schéma du phylotype cérébral des vertébrés dans l'article de S. Lemerle et P. Vernier dans ce numéro). Le télencéphale est donc perçu comme organisé en une série de réseaux parallèles, similaires dans leur structure mais non identiques, qui se coordonnent pour gouverner l'expression des comportements (9). Dans le diencéphale, certains auteurs, dont votre serviteur (10) mais aussi d'autres, questionnent l'existence de l'hypothalamus en tant qu'entité neurologique (l'hypothalamus manque de cohérence tant sur le plan anatomique (cytoarchitecture, connectome) que génétique (chémoarchitecture, développement), remettant en question un statut d'entité fonctionnelle unitaire et intégrée et donc son existence même en tant qu'entité neurologique). Ainsi donc, à ce jour, la période contemporaine se caractérise par une évolution très rapide des connaissances et des capacités d'investigation scientifique. Même si leur rôle est plus effacé que pendant la période moderne, les neuroanatomistes continuent d'intégrer les données et approches récentes, et il ne fait aucun doute qu'émergera

de cette période un schéma de l'organisation architecturale et fonctionnelle du cerveau très différent de celui de la période précédente.

Conclusions

La neuroanatomie est une discipline qui a évolué au cours des âges, utilisant les dernières avancées technologiques au profit de la connaissance de l'organisation architecturale et fonctionnelle du cerveau. Si la nomenclature a été largement mise en place très précocement, les théories successives ont tenté d'expliquer le rôle et fonctionnement du système nerveux. Au début du XXI^e siècle, cette discipline reste indispensable par les outils (nomenclature, atlas, connectome) qu'elle met à la disposition du monde scientifique et du grand public. Mais c'est aussi une discipline qui continue d'évoluer et de faire évoluer ses concepts.

pierre-yves.risold@inserm.fr

Références

- (1) Swanson L.W. (2015) Oxford University Press; 1054p.
- (2) Finger S. (1994) Oxford University Press; 462p.
- (3) Lopez-Muñoz F. & Alamo C. (2009) J Neural Transm 116: 515–533
- (4) Barbara J.-G. & Clarac F. (2011) Brain Res 1409 ; 3-22.
- (5) Duvernoy H., et al. (2013) Springer-Verlag ; 237p.
- (6) C.J. Herrick (1910) J. Comp. Neurol. 20: 413-547.
- (7) Risold P.Y. (2008), Cerveau & Psycho 29 ; 66-70
- (8) Swanson L.W. & Petrovich G. (1998) Trends in Neurosci 2;323-331
- (9) Swanson L.W. (2012) Oxford University Press; 352p.
- (10) Croizier S. et al. (2015) Front Neuroanat 8; 161.

De la cartographie classique au traçage génétique : révolution dans l'étude des réseaux neuronaux et de leurs fonctions

MARIE BARBIER

Département des Neurosciences Fondamentales, Bugnon 9, Lausanne, Suisse

La neuroanatomie d'hier à aujourd'hui : du noyau entier au neurone spécifique

L'invention de la technique de Golgi en 1873, popularisée par Ramon y Cajal, a marqué le début des neurosciences modernes en permettant de dessiner les premières cartes détaillées de l'architecture neuronale, montrant que le système nerveux est composé d'unités cellulaires distinctes connectées entre elles et formant des réseaux. Comprendre l'organisation de ces réseaux est ainsi devenu un enjeu majeur pour élucider le fonctionnement cérébral. Les premières approches notamment par injection d'acides aminés radioactifs ont apporté des résultats significatifs dans les années 1960-1970, mais c'est pendant les décennies de 1970 à 1990 que des traceurs performants sont apparus. Ces traceurs, souvent sous la forme de lectines comme le *Phaseolus vulgaris leucoagglutinin* (PHA-L), de toxine comme la sous-unité β de la toxine cholérique, ou encore de petites molécules fluorées (Fluorogold) peuvent être facilement combinés pour analyser les projections de structures cérébrale (1-3). Leur association avec l'immunohistochimie permet une caractérisation morphofonctionnelle efficace des circuits. Ces méthodes restent actuellement essentielles pour leur robustesse, facilité d'emploi et compatibilité histologique. Cependant, depuis une vingtaine d'années, une nouvelle révolution est en marche grâce aux approches de traçage génétique. Celles-ci sont rendues possibles par l'ingénierie des modèles de rongeurs transgéniques qui permettent le ciblage de neurones spécifiques. Grâce à des outils comme les vecteurs viraux conditionnels ou les lignées de souris génétiquement modifiées, il est désormais possible de marquer et de suivre des populations neuronales définies par leur identité génétique. Cette précision du traçage génétique ouvre la voie à une analyse fine des circuits, en révélant comment

des sous-ensembles de neurones contribuent à des fonctions cérébrales particulières.

Le traçage génétique : révolution des outils viraux pour une neuroanatomie fonctionnelle

Alors que les traceurs classiques ont permis des avancées majeures en cartographiant les projections neuronales à l'échelle de noyaux ou de régions entières, les approches de traçage génétique basées sur des vecteurs viraux ont ouvert une nouvelle ère en neuroanatomie. Ces outils offrent une spécificité cellulaire et circuit-dépendante sans précédent. Cette précision repose sur l'utilisation de promoteurs spécifiques (séquences d'ADN activant l'expression de gènes dans des types cellulaires définis), ainsi que sur des systèmes enzymatiques comme Cre et Flp. Ces enzymes, appelées recombinaisons, agissent comme des 'ciseaux moléculaires' : elles permettent d'activer ou de désactiver des gènes de manière ciblée, uniquement dans les populations neuronales d'intérêt. Par exemple, la recombinaison Cre (issue d'un bactériophage) ou Flp (issue de levure) peut être exprimée sous le contrôle d'un promoteur spécifique à un type de neurone, ce qui permet de marquer ou de manipuler uniquement ces cellules, tout en laissant les autres intactes. Associées à des cassettes génétiques conditionnelles (fragments d'ADN conçus pour répondre à la présence de Cre ou Flp), ces recombinaisons rendent possible une dissection fine des circuits neuronaux, neurone par neurone. Contrairement aux méthodes histologiques traditionnelles, qui ciblent des populations neuronales de manière globale, les vecteurs viraux permettent de disséquer des sous-types cellulaires définis par leur identité moléculaire, leur connectivité ou leur activité fonctionnelle. Un autre avantage majeur réside dans leur capacité à contrôler la

direction et l'étendue du transport axonal : antérograde, rétrograde, ou trans-synaptique, avec une résolution mono- ou multisynaptique (Figure 1). De plus, ces vecteurs peuvent être couplés à des effecteurs fonctionnels (optogénétiques, chimiogénétiques, sondes calciques ou outils d'édition génétique (CRISPR)) permettant ainsi d'étudier simultanément la structure des circuits et leur dynamique fonctionnelle. Cette intégration entre anatomie et fonction représente une avancée majeure pour l'étude des réseaux neuronaux *in vivo*, en particulier chez les modèles rongeurs, où ces techniques sont largement déployées.

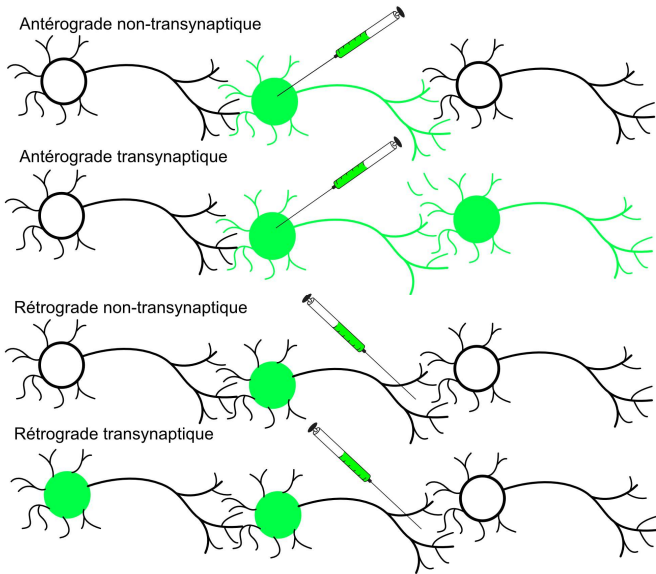


Figure 1. Modes de propagation antérograde ou rétrograde des outils viraux, selon qu'ils franchissent les synapses (transsynaptiques, mono- ou multi-synaptiques) ou non (non transsynaptiques).

Les vecteurs viraux utilisés en traçage génétique se distinguent par leur tropisme, leur directionnalité et leur compatibilité avec les outils de manipulation fonctionnelle (4). Leur choix dépend étroitement de la question biologique posée et des contraintes expérimentales. Les adénovirus associés (AAV) sont parmi les vecteurs les plus répandus, en raison de leur sécurité, de leur faible immunogénicité et de leur capacité à induire une expression génique stable et prolongée. Les différents sérotypes et variants présentent des profils de transport distincts : certains permettent une propagation trans-synaptique antérograde, tandis que d'autres sont optimisés pour un transport rétrograde après internalisation par les terminaisons axonales. Par exemple, le virus de la pseudorabie (PRV), notamment sa souche Bartha, est largement utilisé pour le traçage rétrograde multisynaptique. Des versions modifiées du PRV ont été développées pour réduire sa toxicité, amplifier l'intensité du signal fluorescent ou restreindre son infection à des sous-populations neuronales spécifiques, via des approches Cre-dépendantes. Le

virus rabique (RV) est un outil particulièrement efficace pour le traçage rétrograde monosynaptique (Figure 1). Pour ce faire, son gène codant pour la glycoprotéine, une protéine virale essentielle à sa propagation, est délété (on parle alors de virus 'delta-G'). Cette glycoprotéine est ensuite apportée séparément ('en trans') par un autre vecteur viral ou une lignée cellulaire génétiquement modifiée, ce qui permet de contrôler précisément quels neurones seront infectés.

Les lentivirus, quant à eux, ne se propagent pas naturellement d'un neurone à l'autre via les synapses. Cependant, leur enveloppe virale peut être modifiée, un processus appelé pseudotypage, par exemple en y intégrant la glycoprotéine RV-G (dérivée du virus de la rage). Cette modification leur confère un tropisme rétrograde accru et une spécificité neuronale renforcée. L'adénovirus canin de type 2 (CAV-2) se distingue par son transport rétrograde efficace, médié par le récepteur CAR (coxsackievirus and adenovirus receptor), ainsi que par sa grande capacité de clonage et son expression génique durable. Enfin, les alphavirus comme le virus Sindbis (SINV) et le virus de la forêt de Semliki (SFV) sont particulièrement utiles pour des études nécessitant une expression génique rapide et intense. Cette propriété les rend idéaux pour des analyses morphologiques détaillées des neurones, par exemple pour visualiser finement leur structure ou leurs connexions en un temps limité.

L'un des atouts majeurs des vecteurs viraux réside dans leur potentiel de combinaison. Cependant, leur utilisation nécessite une adaptation rigoureuse aux objectifs de l'étude. Plusieurs critères doivent être pris en compte : la direction du transport souhaitée, le nombre de synapses à franchir, la cible cellulaire, la durée d'expression requise, et la compatibilité avec des mesures fonctionnelles, telles que l'imagerie calcique ou l'optogénétique. Ces outils ne sont pas exempts de limites. La toxicité varie selon les vecteurs, avec des risques accrus pour les virus trans-synaptiques. Par ailleurs, le tropisme des vecteurs viraux peut varier significativement selon l'espèce considérée. Par exemple, un vecteur viral optimisé pour cibler les neurones corticaux chez la souris peut s'avérer moins efficace ou spécifique chez le rat, le primate non humain, voire l'humain, en raison de différences dans l'expression des récepteurs cellulaires ou des mécanismes de défense immunitaire. De même, une région cérébrale donnée ou même l'âge de l'animal peuvent influencer l'efficacité du traçage. Ces variations imposent donc une validation systématique des outils dans chaque contexte expérimental, mais elles ouvrent aussi la voie à leur adaptation pour l'étude de cerveaux plus complexes, au-delà des modèles rongeurs classiques. Cette flexibilité est essentielle pour étendre l'application de ces méthodes à des espèces plus proches de l'homme, comme les

primates, où la cartographie des circuits neuronaux reste un défi majeur en neurosciences translationnelles. Enfin, les contraintes de biosécurité, notamment pour les virus comme le PRV, nécessitent des précautions spécifiques. Les perspectives futures incluent l'amélioration de la sécurité et de la spécificité des vecteurs, leur adaptation à l'étude de cerveaux plus complexes (comme ceux des primates), et leur intégration avec d'autres technologies émergentes, telles que les approches « omiques » (comme la transcriptomique, qui analyse l'ensemble des ARN d'une cellule, ou la protéomique, qui étudie ses protéines) ou l'imagerie haute résolution. Cette synergie permettrait de lier la connectivité anatomique des circuits à leur identité moléculaire, ouvrant la voie à une compréhension plus fine des bases cellulaires et fonctionnelles du cerveau. L'objectif est de développer des traceurs moins toxiques, plus sélectifs et compatibles avec une analyse multimodale, combinant structure, fonction et dynamique des circuits. Les avancées par ces approches ouvriront la voie à une compréhension toujours plus fine de la connectivité cérébrale, depuis les mécanismes moléculaires jusqu'à l'organisation des réseaux à grande échelle, en passant par leur dynamique fonctionnelle *in vivo*.

Le noyau parasousthalamique (PSTN) : un modèle illustrant l'évolution des approches de traçage, des méthodes classiques aux outils génétiques

Le noyau parasousthalamique (PSTN), défini par sa chémoarchitecture et ses connexions, illustre parfaitement l'importance d'une approche intégrée pour décrypter la complexité des circuits neuronaux. Identifié chez le rat en 2004 par Goto et Swanson (5), cette structure s'est rapidement imposée comme un carrefour neuroanatomique et fonctionnel, caractérisé par une signature neurochimique distincte : expression du peptide lié au gène de la calcitonine (CGRP), de la calbindine, de la calrétinine, et une nature majoritairement glutamatergique. Son rôle central dans l'interface entre les systèmes autonomes et les structures limbiques, notamment via des projections bidirectionnelles avec le noyau central de l'amygdale et des afférences issues de l'insula, en fait un acteur clé dans la régulation de l'alimentation, des fonctions cardiovasculaires, et des réponses émotionnelles. Cependant, sa découverte tardive et sa petite taille ont rendu son étude particulièrement dépendante des progrès méthodologiques en traçage neuronal, illustrant comment les approches classiques et modernes se complètent pour en révéler la connectivité et la fonction.

Les premières investigations sur le PSTN ont reposé sur des techniques de traçage classique, comme l'injection

de PHA-L pour cartographier ses projections axonales. Ces méthodes ont permis de situer le PSTN au sein des réseaux des noyaux de la base en combinant traçage antérograde (pour visualiser ses efférences) et rétrograde (pour identifier ses afférences) (5–7). Par exemple, les travaux initiaux ont révélé ses connexions avec des régions impliquées dans la régulation autonome et motivationnelle, suggérant un rôle dans l'intégration des signaux intéroceptifs et émotionnels. Cependant, ces approches, bien qu'indispensables pour établir une cartographie globale, présentaient des limites majeures : elles ne permettaient pas de distinguer les sous-populations neuronales au sein du PSTN, ni de corrélérer précisément leur connectivité avec des fonctions comportementales spécifiques. Ainsi, bien que le PSTN ait été identifié comme une structure glutamatergique mais aussi tachykininergique ou encore calrétininergique, les traceurs classiques ne pouvaient isoler les contributions respectives de ces neurones dans les circuits qu'ils innervent.

L'avènement du traçage génétique a révolutionné notre compréhension du PSTN en permettant le ciblage des populations neuronales spécifiques. Par exemple, l'utilisation de souris transgéniques TAC1-Cre (exprimant la Cre recombinase sous le promoteur de la tachykinine 1) a révélé que les neurones Tac1+ du PSTN projettent de manière différentielle vers des cibles impliquées dans la néophobie et la prise alimentaire en condition de maladie (8) (Figure 2). Plus récemment, l'étude des neurones à calrétinine du PSTN a illustré comment les approches modernes permettent de décortiquer la diversité fonctionnelle au sein d'un même noyau. Ainsi l'activation optogénétique des projections des neurones à calrétinine du PSTN vers l'aire tegmentale ventrale (VTA) régule directement la vigilance liée aux comportements exploratoires (9). Via l'utilisation de sondes calciques (GCaMP) chez des souris mâles, il a aussi été montré que l'activité de ces neurones augmente lors des transitions du sommeil profond vers l'éveil ou le sommeil paradoxal ainsi qu'au cours des comportements exploratoires.

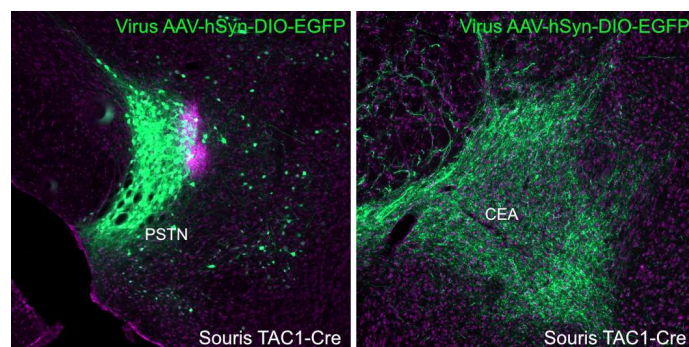


Figure 2. Illustration d'un site d'injection de virus Cre-dépendant AAV-hSyn-DIO-EGFP dans le PSTN de souris TAC1-Cre et de ses projections dans le noyau central de l'amygdale.

L'exemple du PSTN souligne donc la complémentarité des méthodes classiques et génétiques. Les premières ont permis d'identifier le noyau et ses connexions, tandis que les secondes ont révélé l'hétérogénéité fonctionnelle de ses sous-types neuronaux. Aujourd'hui, l'intégration de ces approches, couplée à des outils comme l'imagerie calcique, l'optogénétique, et le traçage trans-synaptique, offre une vision dynamique et spécifique des circuits du PSTN, depuis leur organisation anatomique jusqu'à leur rôle dans des fonctions aussi variées que l'autonomie viscérale, l'appétit ou les émotions. Ces avancées ouvrent la voie à une compréhension plus fine des dysfonctions des réseaux intéroceptifs, avec des implications potentielles pour les troubles anxieux, les désordres alimentaires, et les pathologies cardiovasculaires liées au stress.

Conclusion

Les techniques de traçage des voies nerveuses ont révolutionné notre compréhension de l'organisation du système nerveux, devenant des outils toujours plus précis et sophistiqués. Ces approches permettent non seulement de visualiser les réseaux neuronaux avec une précision sans précédent, mais aussi de les manipuler et de les étudier de manière dynamique. Si les méthodes classiques et génétiques sont souvent perçues comme distinctes, elles sont en réalité complémentaires : les premières offrent une cartographie globale et robuste des circuits, rapides et faciles à mettre en œuvre, tandis que les secondes autorisent une dissection fine et fonctionnelle des sous-populations neuronales. Leur synergie a déjà transformé notre connaissance du cerveau, notamment chez les rongeurs, modèles de choix

en neurosciences. Cependant, leur adaptation à d'autres espèces, comme les primates non humains, voire à terme l'humain, représente un enjeu majeur pour les années à venir. En surmontant les défis liés aux différences inter-espèces (tropisme viral, réponses immunitaires, complexité cérébrale), ces outils pourraient élargir leur portée bien au-delà des modèles murins, ouvrant la voie à des avancées en neurosciences translationnelles et à de nouvelles perspectives thérapeutiques pour les maladies neurologiques et psychiatriques chez l'homme. Grâce à ces progrès, notre compréhension des circuits neuronaux, de leur développement et de leurs dysfonctionnements, ne cesse de s'affiner, posant les bases d'une médecine plus ciblée et personnalisée.

marie.barbier@unil.ch

Références

- (1) Kristensson K, Olsson Y. (1971) *Acta Neuropathol (Berl)*, 19(1):1-9.
- (2) Gerfen CR, Sawchenko PE. (1984). *Brain Res*, 290(2):219-38.
- (3) Brandt HM, Apkarian AV. (1992). *J Neurosci Methods*, 45(1-2):35-40.
- (4) Liu Q, et al. (2022). *Neurosci Bull*. 38(12):1508-18.
- (5) Goto M, Swanson LW. (2004). *J Comp Neurol.*, 469(4):581-607.
- (6) Barbier M, et al. (2017). *Brain Struct Funct.*, 222(7):2961-91.
- (7) Chometton S, et al. (2016). *Brain Struct Funct*, 221(4):2183-208.
- (8) Barbier M, et al. (2020). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 117(27):15967-76.
- (9) Guo H, et al. (2023). *Nat Commun*, 14(1):2346.

Traçages trans-synaptiques : promesses et défis pour l'étude du connectome

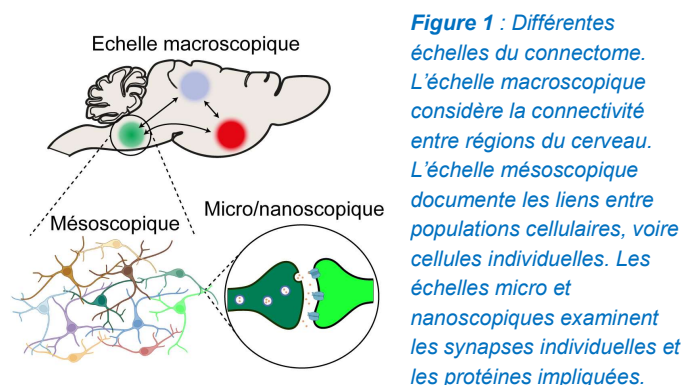
JULIEN BOUVIER & ALEXIS D'HUMIÈRES

Université Paris-Saclay, CNRS, Institut des Neurosciences Paris-Saclay, France

Introduction : cartographier la connectivité cérébrale

Le fonctionnement optimal du système nerveux repose autant sur les propriétés des neurones individuels que sur la spécificité de leurs connexions. En particulier, les informations doivent circuler et se coordonner entre régions cérébrales et types cellulaires pertinents, ce qui explique sans doute la faible capacité régénérative du système nerveux : l'absence de repousse est préférable à une régénération vers des cibles aberrantes. Ainsi, cartographier le connectome complet, c'est-à-dire établir le plan des connexions entre territoires cérébraux et entre neurones individuels, constitue un enjeu majeur. Cela permettrait de mieux comprendre le fonctionnement cérébral et de développer des thérapies ciblées, notamment face aux lésions du système nerveux. A l'échelle macroscopique (Figure 1), les circuits cérébraux sont déjà bien cartographiés. Par exemple, la rétine détecte un signal visuel et envoie l'information à des relais, comme le colliculus supérieur, capables d'interpréter ce type de message nerveux. Ces relais transmettent une commande à d'autres structures, comme la formation réticulée du tronc cérébral, elles-mêmes connectées à des neurones moteurs capables de déclencher un comportement, comme la fuite. Cependant, la plupart de ces régions ne se limitent ni à une unique fonction, ni à un

seul type cellulaire. La formation réticulée, par exemple, est un réseau diffus de neurones qui reçoit des informations de multiples zones et contrôle de nombreuses fonctions telles que la respiration, la motricité ou le cycle circadien. Elle abrite plusieurs types cellulaires souvent peu organisés spatialement. Pour autant, à cette échelle des populations cellulaires (ou mésoscopique), le connectome reste mal connu. Au-delà de la quête ambitieuse d'une cartographie exhaustive, l'étude des connectivités neuronales à l'échelle des types cellulaires est également une étape clé pour le chercheur en neurosciences. En effet, identifier les partenaires d'entrées et de sorties d'une population d'intérêt permet de formuler des hypothèses sur sa fonction. Y parvenir chez l'humain, avec ses 86 milliards de neurones possédant chacun des milliers de connexions, est encore impensable. En revanche, des connectomes complets à l'échelle mésoscopique ont été établis chez des organismes plus simples, comme le nématode *C. elegans* (1), dont les quelques 300 neurones ont facilité les traçages de connectivité (Figure 2). Les rongeurs, et principalement la souris, offrent un compromis idéal pour l'étude du connectome : leur cerveau est suffisamment complexe pour modéliser des circuits mammaliens, et est manipulable génétiquement par des outils de plus en plus sélectifs.



Les traçages de connectivité neuronale

L'étude de la connectivité neuronale repose principalement sur deux grandes approches : les traçages conventionnels, limités à un élément neuronal, et les traçages trans-neuronaux ou trans-synaptiques, capables de franchir une ou plusieurs synapses (Figure 3).

Les traçages conventionnels permettent de rendre visible l'architecture cellulaire complète d'une ou de plusieurs cellules d'intérêt, y compris les somas, axones, et boutons

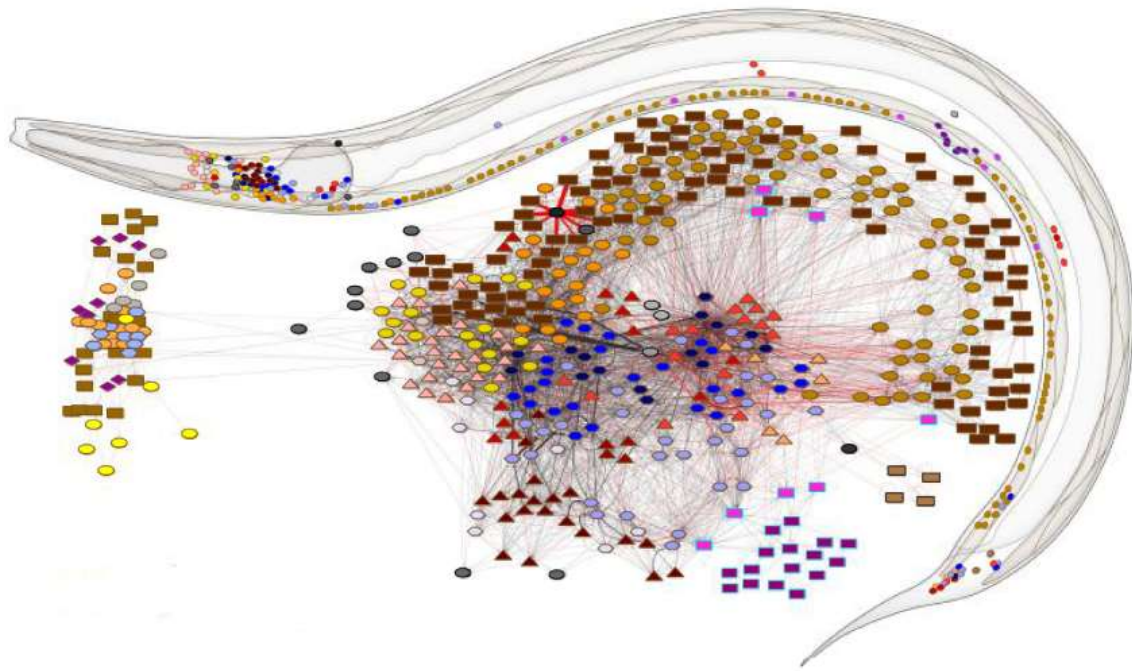


Figure 2 : Connectome neuronal complet de *C. Elegans*. Le schéma du haut représente la morphologie du ver et la localisation de ses neurones tandis que la carte interne représente toutes les connexions entre eux. Chaque type neuronal y est représenté par une forme unique. Les traits noirs ou transparents représentent les synapses chimiques et les traits rouges les jonctions communicantes. D'après Cook et al. (1)

synaptiques, et ainsi de cartographier leur distribution dans différentes régions. Historiquement, ils étaient réalisés à l'aide de molécules biologiques qui, après injection dans une zone du cerveau, sont capturées et transportées le long de l'axone de manière antérograde (dans le sens du message nerveux, comme la lectine végétale PHA-L ou les dextrans à haut poids moléculaire, Figure 3A) et/ou rétrograde (dans le sens inverse du message nerveux, tels que la sous-unité B de la toxine cholérique (CTB) ou le fluorogold, Figure 3B) (2). Ces molécules ont été progressivement supplantées par des vecteurs viraux recombinants, modifiés ou naturellement non pathogènes et présentant une capacité préférentielle à infecter les neurones (neurotropisme). Les plus utilisés sont les virus rabiques, adéno-associés (AAVs) et dérivés de l'herpès (HSV). Ces vecteurs sont plus efficaces, plus stables, et plus polyvalents, car ils peuvent coder pour diverses protéines fluorescentes capables de « remplir » l'intégralité de la cellule ou d'être adressées à différents compartiments cellulaires tels que les boutons synaptiques. Cela permet de discriminer les fibres de passages des contacts synaptiques dans les traçages antérogrades. Certains virus imposent même un transport exclusivement rétrograde. Enfin, leur expression peut être conditionnée génétiquement (système Cre/Lox et/ou Flp/Frt), permettant de sélectionner l'identité des cellules impliquées (2).

Ces traceurs permettent ainsi d'identifier les *régions* ciblées par une *région* d'intérêt (traçage antérograde), ou

bien les *cellules* ciblant une *région* d'intérêt (traçage rétrograde). Ils ne permettent néanmoins pas de répondre, du moins pas directement, à une question essentielle : *qui* sont les partenaires post- et pré-synaptiques ? Cela requiert des outils capables d'étendre l'adressage des marqueurs au-delà du neurone initial, donc dotés de transport trans-neuronal ou trans-synaptique. L'enjeu est ainsi de marquer directement la cellule connectée (pré- ou post-synaptique), et de la révéler par microscopie optique (par exemple en épifluorescence) sans recourir à la microscopie électronique des synapses. A notre connaissance, peu de molécules biologiques disposent d'une capacité de transport trans-synaptique fiable (voir Figure 3). Ainsi, nous focaliserons cet article sur les vecteurs viraux, qui offrent en outre l'avantage de pouvoir adresser des protéines capables de moduler l'activité des neurones transfectés.

Traçages trans-synaptiques rétrogrades

Dès la fin du XX^e siècle, les neuroscientifiques ont exploité les virus rabiques et pseudorabiques sauvages en raison i) de leur neurotropisme, ii) de leur transport rétrograde vers le soma, iii) de leur réplication massive et, surtout, iv) de la capacité des virions produits dans les cellules infectées à être relargués dans l'espace extracellulaire et à se transférer vers un élément neuronal voisin, principalement au niveau des synapses (3). Le virus rabique sauvage se propage ainsi progressivement et indéfiniment le long d'une chaîne polysynaptique

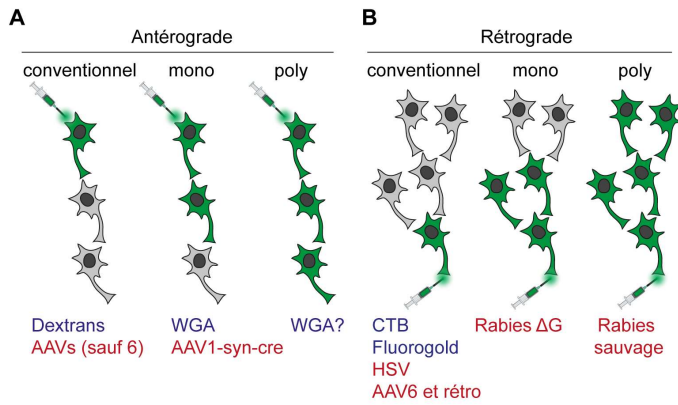


Figure 3 : Différents types et directions de tracages conventionnels ou trans-synaptiques. Des exemples de molécules biologiques (en violet) ou de vecteurs viraux (en rouge) sont donnés pour chaque approche. WGA : agglutinine du germe de blé.

(Figure 3). En réalisant des injections de virus rabiques suivies d'observations histologiques à des temps précis, il est possible d'assigner un ordre approximatif aux neurones infectés. Par exemple, après injection du virus de la rage dans les muscles de la langue sur des rats ou souris, on décèle entre 24 et 48 h post-injection les motoneurones du nerf hypoglosse. Entre 48 et 54 h, les interneurones prémoteurs, donc situés une synapse au-dessus des motoneurones, sont également marqués et détectés dans des noyaux de la formation réticulée. Enfin, au-delà de quatre jours, des neurones du cortex moteur et des régions sous-corticales sont révélées. Ainsi, cette approche a mis en évidence l'organisation hiérarchique du contrôle des muscles de la langue (3) : les motoneurones hypoglosses sont régulés par des interneurones prémoteurs du tronc cérébral, eux-mêmes contrôlés par des neurones corticaux. Néanmoins, cette propagation non-contrôlée rend l'attribution de l'ordre synaptique approximative et s'accompagne d'une forte toxicité. Pour contourner ces limites, des versions modifiées du virus rabique ont été développées au début

des années 2000. Une protéine essentielle à l'internalisation et au transfert trans-neuronal du virus est la glycoprotéine G de l'enveloppe virale. Une première modification consiste à supprimer le gène codant G du génome viral, puis à l'incorporer à la surface des particules virales (4). Ces virus rabiques ΔG , codant également une protéine fluorescente (par exemple la GFP) pour être détectés *a posteriori*, peuvent ainsi infecter les neurones grâce à la présence de G à leur surface, mais ne peuvent pas se propager entre cellules car les virions produits dans la cellule infectée ne possèdent pas G. Cette déficience peut être complétée de manière exogène, pour autoriser une propagation strictement monosynaptique, en délivrant G aux neurones primo-infectés (Figure 4A). Ces neurones primo-infectés produisent alors des virions porteurs de G à leur surface, capables de bourgeonner et de se transférer aux neurones pré-synaptiques. Dans ces derniers en revanche, l'absence de G empêche tout nouveau transfert, révélant uniquement les neurones situés une, et une seule synapse, au-dessus des neurones d'intérêt primo-infectés. Une sélectivité additionnelle peut être obtenue par la production de virus rabiques ΔG et pseudotypés, c'est-à-dire portant une autre glycoprotéine d'enveloppe, typiquement EnvA, qui reconnaît uniquement son récepteur TVA. Cela restreint la primo-infection à des neurones d'intérêt exprimant TVA (via le système Cre/Lox par exemple, Figure 4B). La combinaison de ces deux stratégies permet de cibler sélectivement des types cellulaires définis moléculairement tout en analysant uniquement leurs afférences monosynaptiques.

Un exemple d'application concerne la formation réticulée où très peu de populations neuronales ont été caractérisées. Une population de neurones appelée V2a, définie par l'expression du facteur de transcription Chx10, était connue pour être impliquée dans la locomotion, sans que l'on sache précisément dans quel contexte. Grâce à

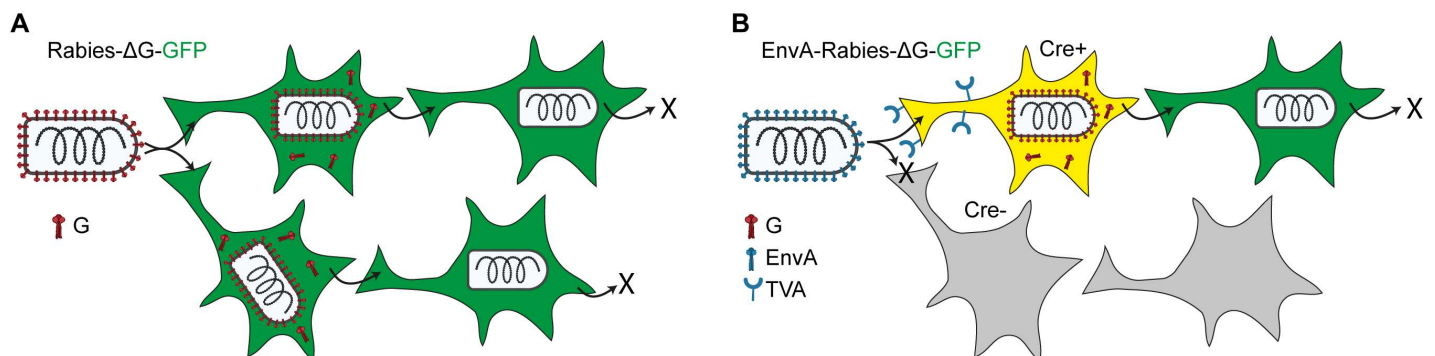


Figure 4 : Mécanismes d'infection et transfert trans-synaptique du virus rabique modifié. (A) Le virus rabique ΔG , grâce à la glycoprotéine qu'il porte à sa surface, peut infecter les neurones du site d'injection. Un apport de G à ces mêmes neurones (ex : injection préalable d'un AAV-G, non trans-synaptique), autorise le transfert aux neurones pré-synaptiques. Par contre, en l'absence de G dans ces derniers, tout nouveau transfert est impossible. (B) le virus rabique ΔG pseudotypé avec EnvA ne peut infecter que les neurones exprimant le récepteur TVA. Le transfert trans-synaptique n'est donc initié que depuis les neurones qui expriment à la fois TVA et G. Cette condition peut être sous contrôle du système Cre/Lox.

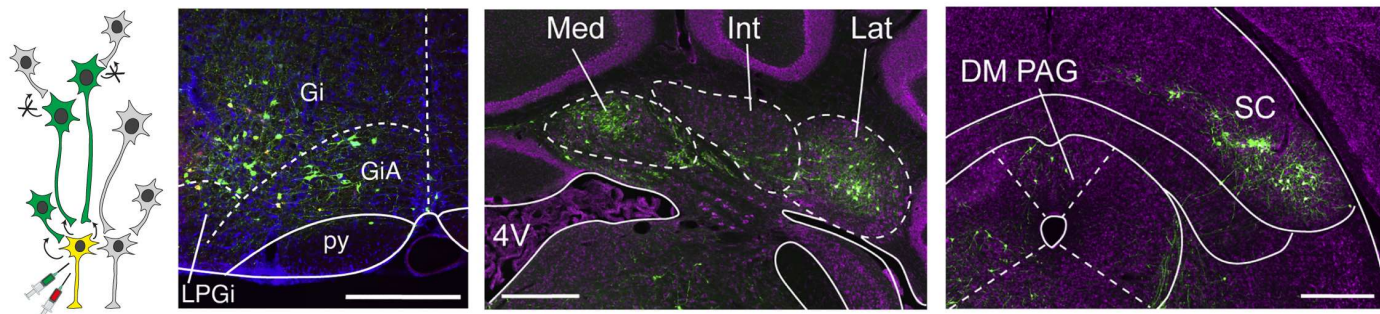


Figure 5 : Exemple d'application d'un traçage trans-synaptique rétrograde chez la souris. Les neurones V2a, exprimant *Chx10* et majoritairement localisés dans le noyau Gigantocellulaire (Gi) et le noyau paragigantocellulaire latéral (LPGi) du tronc cérébral, furent infectés par un AAV codant G, TVA et mCherry, puis par un Rabies-ΔG-EnvA-GFP, et apparaissent en jaune (image de gauche). Trois semaines plus tard, leurs partenaires neuronaux pré-synaptiques, exprimant uniquement la GFP, sont détectés dans les noyaux cérébelleux profonds comprenant le noyau fastigial (Med), interposé (Int) et dentelé (Lat, image du milieu) mais aussi au niveau du colliculus supérieur (SC, à droite) et de la substance grise périaqueducal (PAG, à droite). Adapté de Usseglio et al. (5).

ce type de traçage, nous avons établi le connectome pré-synaptique des neurones V2a, révélant que le colliculus supérieur, structure clé de l'orientation, constitue une source majeure d'entrée (Figure 5). Ces résultats ont contribué à démontrer que les neurones V2a jouent un rôle essentiel dans le contrôle des changements de trajectoire locomotrice (5).

Traçages trans-synaptiques antérogrades

Comparativement, les outils trans-synaptiques antérogrades sont encore à leurs débuts. Néanmoins, l'utilisation de l'AAV de sérotype 1 semble progressivement se généraliser. Le sérotype désigne la composition protéique de la capsid entourant le génome viral qui détermine son tropisme et son mode de transport. Récemment, il a été démontré que l'AAV1, en outre d'un transport antérograde, a aussi la capacité de transférer une fraction de virions depuis la cellule primo-infectée vers la cellule post-synaptique (6). En réalité, cette propriété est probablement partagée par d'autres sérotypes d'AAVs mais serait exacerbée pour l'AAV1, en particulier lorsqu'il est injecté à un titre élevé ($>10^{13}$ copies génomiques par mL). En pratique, l'efficacité du transfert reste souvent trop faible pour permettre la détection des cellules post-synaptiques par la seule expression d'un fluorophore. C'est d'ailleurs certainement cette faible efficacité qui confère à l'AAV1 un statut de traceur a priori uniquement monosynaptique, et non polysynaptique. Une stratégie courante consiste donc à injecter, dans une région cérébrale donnée, un AAV1 codant la recombinaise Cre (typiquement AAV1-hSyn-Cre) chez une lignée exprimant un fluorophore sous le contrôle de Cre. Ainsi, même un transfert limité de recombinaise suffit à déclencher l'expression et l'amplification du fluorophore dans les neurones post-synaptiques.

Cet outil a déjà permis des avancées importantes. Par exemple, l'injection de l'AAV1-hSyn-cre dans le noyau

parvocellulaire du tronc cérébral de souris a révélé des neurones post-synaptiques au sein d'un relais thalamique, le noyau ventro-postéromédial. Par contre, une injection dans le noyau prétectal antérieur a mis en évidence des cibles dans un relais thalamique distinct, le noyau postérieur (7). Ces deux noyaux ont des fonctions très différentes, respectivement dans la transmission de l'information sensorielle et dans l'intégration de signaux multimodaux, notamment moteurs. Ainsi, le traçage trans-synaptique antérograde ne décrit pas seulement les connexions ; il permet aussi de relier la connectivité d'une structure à sa fonction, et donc de mieux comprendre le rôle de régions cérébrales encore mal définies.

Néanmoins, cet outil ne permet pas d'initier le transfert trans-synaptique depuis une population neuronale spécifique : tous les neurones du site d'injection peuvent être source de transfert. De même, tous les neurones post-synaptiques sont marqués, quelle que soit leur nature. Il est possible de raffiner ce point en utilisant un AAV1 codant une Cre dont l'expression dépend de la recombinaise Flp. Ainsi, seuls les neurones post-synaptiques exprimant Flp (apportée par exemple par un autre AAV ou une lignée transgénique) sont révélés.

Limites et perspectives

Malgré ces avancées, plusieurs défis restent à relever. Tout d'abord, la quantification et la cartographie des cellules marquées reste complexe, surtout à l'échelle du cerveau entier. Plusieurs méthodes semi-automatisées (comme l'application Cuisto (8), Figure 6), basées sur la reconnaissance d'images et, plus récemment, sur l'intelligence artificielle, se mettent en place pour une détection robuste et standardisée des cellules marquées sur coupes. Les techniques de transparençation et d'imagerie volumétrique (9) sont également très prometteuses pour une cartographie et une reconstruction géométrique du connectome (voir l'article

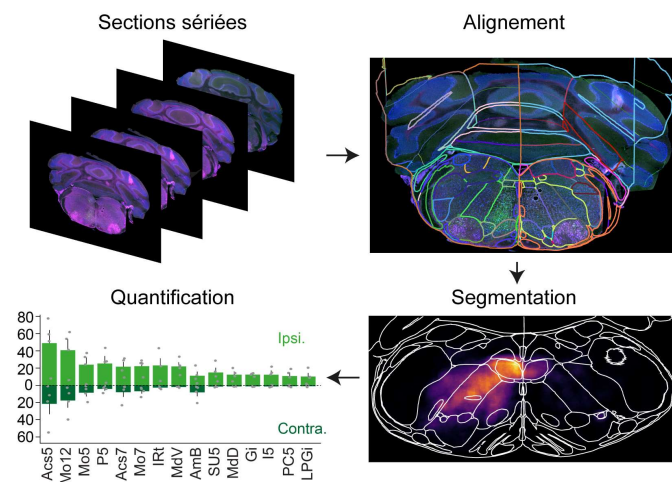


Figure 6 : Un exemple de quantification semi-automatique. Des coupes histologiques successives sont réalisées, et les cellules marquées révélées par immunohistochimie. Chaque coupe est alignée sur un atlas de référence pour annoter chaque région. Une segmentation détecte chaque élément marqué (ici des boutons synaptiques), aboutissant à une quantification précise, ici une densité de boutons synaptiques, dans chaque région cérébrale du côté ipsilatéral et contralatéral à l'injection. d'Humières et Bouvier, non-publié.

de C Chaumeton et coll dans ce numéro). Une autre limite importante concerne les caractéristiques intrinsèques des virus. Le virus rabique en particulier, même modifié, entraîne une cytopathologie progressive (3). Cela rend encore difficile son utilisation pour des expériences fonctionnelles ciblant les neurones pré-synaptiques. Pour le traçage viral antérograde, le nombre limité de cellules post-synaptiques marquées peut également restreindre l'efficacité des interventions fonctionnelles. De plus, il est vraisemblable que différents types cellulaires, ou différentes synapses, présentent une permissivité variable au transfert trans-neuronal. Cela peut conduire à une sous-représentation de certaines populations ; une absence de marquage ne garantit souvent pas l'absence de connectivité. Des efforts constants visent ainsi à développer des vecteurs viraux plus performants. Les virus rabiques de troisième génération (2) se distinguent

par leur plus faible toxicité et par un meilleur tropisme, permettant ainsi de marquer *in vivo* un nombre plus important de neurones et ouvrant la voie à leur manipulation fonctionnelle. Si ces avancées constituent un progrès majeur pour la recherche fondamentale, peut-on les envisager dans un cadre thérapeutique ? A ce jour, aucune application clinique ne repose directement sur le traçage trans-synaptique, mais la porosité entre outils d'expérimentation animale et applications cliniques est bien réelle. Des approches de thérapie générique à base virale, inspirées de l'expérimentation animale, sont progressivement utilisées (10). L'optimisation de la diffusion et de la toxicité des outils trans-synaptiques leur conf rera peut-être, à terme, une place en thérapeutique. De nombreuses pathologies neurologiques, telles que l'épilepsie ou la sclérose latérale amyotrophique, affectent en effet l'ensemble d'un circuit. Ces techniques pourraient donc permettre de comprendre comment des altérations locales se propagent dans un réseau, et d'imaginer des interventions ciblées sur des circuits entiers plutôt que sur des populations neuronales isolées.

julien.bouvier@cns.fr
alexis.dhumieres@cns.fr

Références

- (1) Cook, S.J., et al. (2019) *Nature*, 571(7763): p. 63-71.
- (2) Saleeba, C., et al. (2019) *Front Neurosci*, 2019. 13: p. 897.
- (3) Ugolini, G., (1995) *J Comp Neurol*, 356(3): p. 457-80.
- (4) Wickersham, I.R., et al. (2007) *Neuron*, 2007. 53(5): p. 639-47.
- (5) Usseglio, G., et al. (2020) *Curr Biol*, 2020. 30(23): p. 4665-4681 e6.
- (6) Zingg, B., et al. (2017) *Neuron*, 2017. 93(1): p. 33-47.
- (7) Zingg, B., et al. (2022) *Curr Protoc*, 2022. 2(1): p. e339.
- (8) Le Gog, G., et al (2025) *Journal of Open Source Software*, 2025. 10(111), 7906,.
- (9) Ueda, H.R., et al. (2020) *Nat Rev Neurosci*, 2020. 21(2): p. 61-79.
- (10) Dunbar, C.E., et al. (2018) *Science*, 2018. 359(6372).

Utilisation des marqueurs d'activation précoce, avantages et contraintes

AMARINE CHANCEL, JUSTIN MALCEY, PIERRE-HERVÉ LUPPI

INSERM, U1028; CNRS, UMR5292; Lyon Neuroscience Research Center, Team "Physiopathologie des réseaux neuronaux responsables du cycle veille-sommeil", Lyon, France, University Lyon 1, Lyon, France.

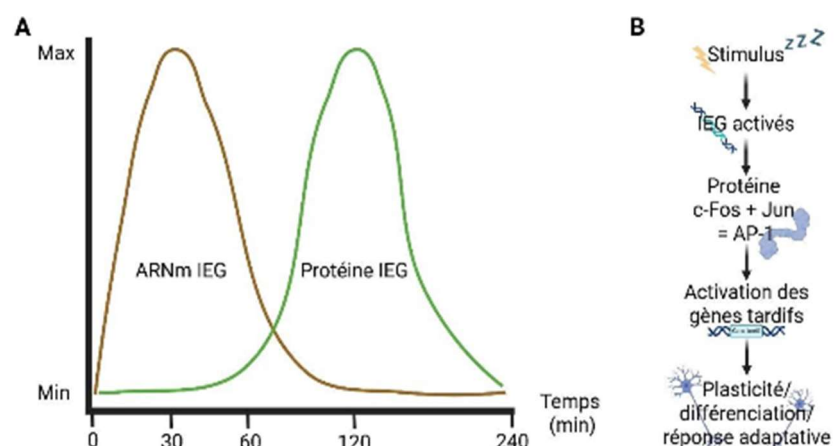
c-Fos, un marqueur de l'activation neuronale

Le gène viral v-fos et son homologue cellulaire c-fos ont été découverts dans les années 1980 (1). En 1984, il est montré que le gène c-fos est un gène à réponse précoce (IEG, immediate early gene) dont la transcription est activée en quelques minutes par des facteurs de croissance (1). La transcription du c-fos est pilotée par l'élément de réponse au Ca^{2+} /AMPc (Ca^{2+} /cAMP response element) de son promoteur, lequel est activé par l'afflux intracellulaire de Ca^{2+} via des kinases dépendantes du Ca^{2+} ainsi que par le facteur de transcription CREB (cAMP response element-binding protein). La protéine c-Fos est un facteur de transcription qui va activer l'expression de gènes tardifs par exemple des récepteurs synaptiques (1).

Les premières utilisations majeures en Neurosciences sont publiées avec la cartographie de neurones exprimant dans leurs noyaux la protéine c-Fos (1). A la suite d'un stimulus, l'expression de l'ARN messager atteint son pic après 30 minutes et celle de la protéine après 120 minutes

(2) (Figure 1). La demi-vie de la protéine Fos est d'environ 40 minutes et moins de 5 % de la protéine subsiste 3 heures après stimulation (2). Depuis ses premières applications expérimentales (2), la protéine c-Fos est devenu le marqueur neuroanatomique fonctionnel le plus utilisé pour identifier les neurones activés, et ce pour plusieurs raisons : 1) il est exprimé à de faibles niveaux dans le cerveau en condition basale (nous reviendrons sur ce concept de condition basale plus bas), 2) son expression neuronale est induite de manière stéréotypique en réponse à plusieurs signaux extracellulaires, notamment l'entrée de calcium, la libération de neurotransmetteurs, la sécrétion de facteurs de croissance et l'effet de substances pharmacologiques. De même, sa réponse est transitoire, sa détection est simple par immunohistochimie et elle peut être facilement combinée à celle d'autres marqueurs, notamment celle de neurotransmetteurs ou de leurs enzymes de synthèse, de neuropeptides par immunohistochimie ou par hybridation *in situ*. Le marquage c-Fos peut aussi être combinée avec celui de traceurs rétrogrades et d'autres marqueurs

Figure 1 : Courbe de production de l'ARNm et de la protéine c-Fos. A. Le graphique présente le profil temporel d'expression du gène c-fos précoce (IEG), avec une expression maximale de l'ARNm 30 minutes après le début du stimulus et une expression maximale de la protéine 120 minutes après le début de la stimulation. B. Cascade d'activation transcriptionnelle du c-fos. Induction d'une stimulation neuronale (ex. activité synaptique, neurotransmetteur, facteur de croissance) qui active les voies de signalisation intracellulaires Ca^{2+} , MAPK/ERK, CREB... Ce qui induit les IEG comme c-Jun, Egr1, Arc, Npas4, c-Fos (ARNm produit rapidement, en 5–15 min) se traduisant en protéine qui va agir comme un facteur de transcription. c-Fos s'associe avec c-Jun pour former le complexe AP-1. Celui-ci se fixe sur l'ADN (séquences promotrices TRE/CRE) ce qui va activer les gènes tardifs comme le BDNF, la tyrosine hydroxylase, les récepteurs synaptiques, la prodynorphine... Enfin, cela induit la plasticité synaptique, la mémoire, la différenciation, l'adaptation cellulaire.



d'activité (3, 4). Il constitue un outil unique pour identifier sans apriori dans l'ensemble du cerveau les neurones activés en réponse à des stimuli pharmacologiques et physiologiques ponctuels.

Il existe d'autres IEG pour imager l'activation neuronale tel que Arc/Arg3.1 jouant un rôle clé dans la modification synaptique dépendante de l'activité, dans la potentialisation à long terme et la formation de la mémoire (2), mais son expression est limitée aux zones télencéphaliques du cerveau et n'existe pas dans les neurones de l'hypothalamus dans des conditions basales ou en réponse à différents facteurs de stress. Homer1a reflète davantage la plasticité synaptique que l'activation neuronale, Egr-1/Zif268 est associé à la plasticité synaptique et à la mémoire à long terme, JunB, c-Jun, Fra-1, Fra-2 sont des membres de la famille AP-1 souvent coexprimés avec c-Fos, mais ils ont des cinétiques différentes (3). Ainsi, c-Fos est le marqueur fonctionnel le plus adapté à l'identification de neurones activés par un stimulus. Plus récemment, le développement de transgènes avec un promoteur c-Fos a permis l'émergence de nouvelles stratégies pour étudier les neurones qui expriment c-Fos. Par exemple, le modèle de souris transgéniques (TRAP2-red) exprime CRE-ERT2 sous le promoteur c-Fos (ERT2, deux gènes du récepteur des œstrogènes T2). L'administration de tamoxifène permet au CRE-ERT2 de rentrer dans le noyau des neurones et d'enlever le codon stop d'un autre transgène qui peut être un gène rapporteur comme le tdTomato [5]. (Tous les détails de cette technique sont décrits dans la Lettre n° 60, page 36).

Dans l'équipe, nous avons utilisé de façon extensive l'analyse de l'expression du c-Fos depuis plus de trente ans (6). Depuis ce papier, nous avons utilisé le méthode c-Fos dans de très nombreuses études. Notre principal objectif au cours de ces trois décennies a été d'identifier les réseaux neuronaux activés pendant le sommeil paradoxal à l'origine de sa genèse et de ses fonctions. Dans cette optique, nous avons couplé le marquage c-Fos avec 1) le traçage rétrograde avec la sous-unité B de la toxine cholérique (4), 2) l'immunohistochimie de neurotransmetteurs ou de leur enzymes (7) 3) l'hybridation *in situ* de marqueurs des neurones GABAergiques (transporteur vésiculaire du GABA, vGAT) ou glutamatergiques (transporteur vésiculaire du glutamate, vGlut2) (8, 4) la lésion, l'activation ou l'inactivation pharmacologique locale (4, 9 et 5), le marquage TdTomato chez la souris TRAP2 (Figure 2) (5, 10). Ce qui fait la force de la méthode c-Fos c'est qu'il permet l'exploration initiale du rôle potentiel de neurones dans une fonction donnée. Il ouvre la porte à l'identification de la fonction de ces neurones mais afin d'apporter une preuve définitive, il doit être couplé avec

des méthodes d'enregistrement électrophysiologique unitaire couplées à l'optogénétique ou à la chémogénétique pour prouver l'implication des neurones identifiés dans une fonction donnée.

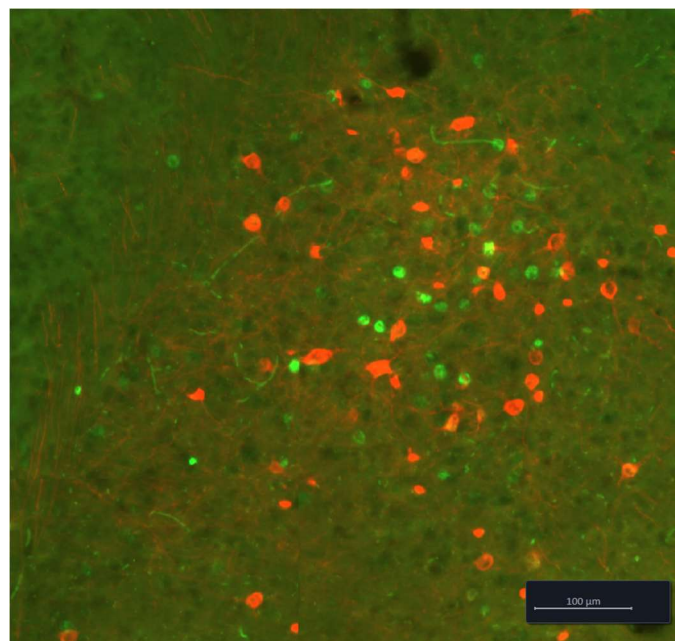


Figure 2 : Microphotographie montrant des neurones du claustrum immunofluorescents au c-Fos (noyaux verts) et exprimant le gène rapporteur TdTomato (cytoplasme rouge) sur la souris TRAP2. La souris a été exposée à une période de deux heures d'éveil puis une semaine après, à un rebond de sommeil paradoxal de deux heures après 48h de privation sélective automatique. La plupart des neurones ne sont pas doublement marqués (de couleur jaune) ce qui indique que différents neurones sont actifs pendant l'éveil et le sommeil paradoxal. Notez également le marquage des neurones c-Fos qui montre un spectre de marquage progressif du très faible au très fort.

Les multiples pièges à éviter avec le c-Fos

La technique c-Fos est donc la méthode de choix pour révéler le rôle de neurones dans une fonction mais pour ce faire de nombreux pièges doivent être évités. Le premier piège est la nécessité de définir une condition basale et une condition expérimentale. L'erreur classique est de penser qu'il existe une condition basale ou l'expression du c-Fos est quasi inexistante. Une telle condition n'existe tout simplement pas puisque prélever le cerveau d'un rongeur pendant la journée (période de travail des expérimentateurs) c'est le faire dans la phase de repos et donc la période de sommeil majoritaire de l'animal de laboratoire. Or, même si l'expression du c-Fos est inférieure pendant le sommeil à celle observée pendant l'éveil, elle n'est pas négligeable. De plus, une demi-heure d'éveil pendant cette période est suffisante pour induire une activation de c-Fos très importante dans tout le cerveau. En théorie, un enregistrement des états de vigilance devrait donc être réalisé pour toute expérience de c-Fos. La deuxième difficulté est la variabilité interindividuelle du marquage c-Fos couplée à

l'intensité du marquage chez un même animal qui s'étend d'un marquage très faible à un marquage intense. Cette caractéristique rend assez subjective la sélection des neurones marqués lors de l'analyse.

A notre connaissance, il n'y a pas de méthodes miracles pour résoudre ce problème et sélectionner de façon objective les neurones marqués chez les animaux d'un même groupe. En effet, réaliser les expériences aux mêmes moments ne permet malheureusement pas d'éliminer cette variabilité. Une possibilité est d'effectuer un grand nombre de marquages sur un grand nombre d'animaux mais on se heurte alors à la difficulté de réaliser une analyse de qualité dans un temps acceptable (comme une thèse par exemple) d'autant plus si on fait une étude du cerveau entier. Une autre caractéristique jamais mise en avant et que nous avons constaté à de multiples reprises sur différents types neuronaux comme les neurones à MCH et à Oréxine, est qu'une population connue pour être active dans un état donné n'exprime jamais à 100% le gène c-fos. On est plutôt en moyenne autour de 40% des neurones. De même en utilisant le double-marquage c-Fos-Tdtomato chez des souris TRAP, soumis à une semaine d'intervalle à la même condition, aucune population ne dépasse 60% de réactivation. A notre connaissance, aucune explication n'a été apportée à ce jour sur la raison sous-jacente à cette absence de marquage d'une partie des neurones. Il est possible que ces neurones n'expriment pas assez de protéine pour qu'elle soit détectable à l'aide de l'immunohistochimie. La troisième difficulté est l'analyse des données. De grands progrès ont été réalisés avec l'introduction de logiciels libres (Qpath et ABBA par exemple) ou payants (Neuroinfo, MBF) permettant une analyse automatique des neurones exprimant le c-Fos et l'alignement automatique des structures avec l'atlas de l'Allen Institute. Ce type d'analyse a également été rendu possible par l'utilisation de l'immunofluorescence à la place de la diaminobenzidine (DAB) pour réaliser des marquages combinés avec d'autres marqueurs. En effet, dans nos études précédentes utilisant l'immunohistochimie, le double marquage était réalisé avec la DAB-nickel pour le premier marquage et la DAB pour le deuxième marqueur. L'addition de nickel permet l'obtention d'un précipité de couleur noire au lieu de marron. L'analyse de ces doubles marquages n'était possible que parce que les marqueurs étaient dans des compartiments cellulaires différents : le c-Fos est nucléaire à l'opposé du marquage cytoplasmique des neurotransmetteurs ou des traceurs. De plus, les logiciels d'analyse automatique ne sont pas encore assez performants pour distinguer simultanément les marquages marrons et noirs. En revanche, l'analyse en fluorescence se fait sur chaque canal fluorescent de façon indépendante et avec l'apparition du deep learning

la reconnaissance automatique est assez performante même si se pose la question des seuils fixés vu la variabilité interindividuelle notée plus haut. En revanche, aucun logiciel ne réalise un recalage automatique des structures satisfaisant. En effet, les méthodes d'immunohistochimie sur coupes individuelles ou sur cerveau entier après clarification induisent toutes des déformations du cerveau ([voir Chloé Chaumeton et collaborateurs dans ce numéro](#)) et donc des erreurs de positionnement des structures en particulier celles de petites tailles ou dans le cas des cortex, des différentes couches. Une correction manuelle est donc obligatoire et elle ne peut être faite correctement que par un expert en neuroanatomie avec une connaissance très complète dans le cas d'analyse du cerveau entier. Dans la littérature scientifique, nous avons constaté à de nombreuses reprises, quelle que soit la qualité des journaux, des problèmes d'erreurs de dénominations des structures. Enfin, la dernière difficulté est l'analyse des données obtenues. Le développement de Python permet aujourd'hui de réaliser des analyses sur des centaines de structures mais il requiert une expertise sur le langage et les statistiques. Malheureusement, il n'existe à notre connaissance aucun logiciel d'analyse utilisable par tous les chercheurs qui réalisent ce type d'étude.

En conclusion, la méthode c-Fos est toujours indétrônée 40 ans après sa découverte pour étudier l'implication de populations de neurones dans une fonction donnée. Cette longévité atteste de la qualité de cette méthode face à la diversité et à la multiplicité des méthodologies d'exploration du cerveau. Elle nécessite cependant une connaissance approfondie de ses limites et de la neuroanatomie pour être utilisée avec discernement. Sur ce, longue vie au c-Fos et longue vie à la neuroanatomie de qualité !

chancelamarine@yahoo.fr

justin.malcey@gmail.com

luppi@sommeil.univ-lyon1.fr

Références

- (1) Sheng, M. and M.E. Greenberg (1990) *Neuron* 4(4): p. 477-85.
- (2) Kovacs, K.J. (1998) *Neurochem Int.* 33(4): p. 287-97.
- (3) Cullinan, W.E., et al. (1995) *Neuroscience* 64(2): p. 477-505.
- (4) Boissard, R., et al. (2002) *Eur J Neurosci.* 16(10): p. 1959-73.
- (5) Lee, H.S., et al. (2020) *J Sleep Res.* p. e12976.
- (6) Ledoux, L., et al. (1996) *Brain Res.* 735(1): p. 108-18.
- (7) Verret, L., et al. (2003) *BMC Neurosci.* 4(1): p. 19.
- (8) Sapin, E., et al. (2009) *PLoS ONE* 4(1): p. e4272.
- (9) Renouard, L., et al. (2015) *Science Advances* 1(3).
- (10) Maciel, R., et al. (2021) *Biochem Pharmacol.* 191: p. 114514.

Neuroanatomie chimique révèle le phénotype de co-transmission GABA/Glutamate des neurones du noyau supramammilaire latéral projetant au gyrus denté

MONIQUE ESCLAPEZ

Institut de neurobiologie de la Méditerranée (Inmed), Inserm/amU UMR1249, Parc scientifique et technologique de Luminy, 163 av de Luminy 13273 Marseille France

Neuroanatomie chimique

La neuroanatomie chimique, ou anatomie neurochimique, est une branche des neurosciences qui vise à identifier et localiser les différents types neuronaux ou gliaux en fonction des substances chimiques exprimées (neurotransmetteurs, neuromodulateurs, enzymes, récepteurs, ARNm, etc.) permettant ainsi de cartographier les différentes voies neurochimiques au sein des structures anatomiques du système nerveux. Elle permet également d'étudier la régulation de l'expression de ces composés chimiques en lien avec l'activité neuronale en conditions physiologiques (par exemple, différents états de vigilance) ou pathologiques (épilepsies, Parkinson, Alzheimer, etc.), et de comprendre les bases chimiques des fonctions cérébrales (mémoire, motricité, etc.).

Dans cet article, nous décrivons les trois grandes familles d'approches méthodologiques principalement utilisées en anatomie neurochimique, suivies d'un exemple de leur application.

1. Immunohistochimie (IHC) / Immunohistofluorescence (IHF) (1)

C'est une technique qui permet d'identifier des protéines ou des peptides spécifiques sur des coupes de tissus. Elle repose sur la capacité d'un anticorps à se lier spécifiquement à son antigène dans les tissus biologiques. Elle consiste à révéler les déterminants antigéniques (protéines, peptides, acides aminés) présents au sein d'une structure tissulaire ou cellulaire, en appliquant des anticorps spécifiques sur les tissus. Les anticorps peuvent être polyclonaux (reconnaissent plusieurs sites antigéniques ou épitopes) ou

monoclonaux (spécifiques à un seul épitope). Le complexe anticorps-antigène peut être visualisé de différentes manières, soit par un marquage direct de l'anticorps primaire, soit par un marquage indirect au moyen d'un anticorps secondaire portant le marqueur. Ces méthodes de marquage indirect ont été développées pour augmenter la sensibilité de détection par amplification du marquage. Différents marqueurs permettent de visualiser l'antigène en microscopie optique,

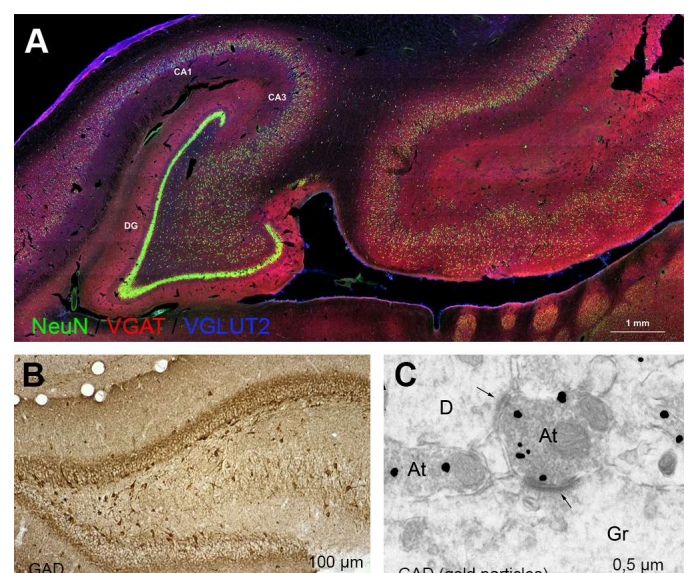


Figure 1 : (A) Marquage multiple en immunohistofluorescence sur coupe d'hippocampe humain. (B) Marquage immunohistochimique (DAB) sur coupe de gyrus denté (DG) de rat. (C) Marquage immunohistochimique (particules d'or colloïdal) pour détection en microscopie électronique.

At, terminaisons axonales ; CA1, CA3, corne d'Ammon, champs 1 et 2 ; GAD : Glutamate décarboxylase ; Gr, cellule Granulaire ; NeuN, antigène Neuronal nucleus ; VGAT transporteur vésiculaire du GABA ; VGLUT2 transporteur vésiculaire du glutamate de type2.

confocale ou électronique. Les marqueurs utilisés sont des fluorochromes (Figure 1A) ou des enzymes (comme la peroxydase) qui induisent une réaction chromogène en présence de leur substrat (formation d'un précipité brun en présence de diaminobenzidine (DAB) + H₂O₂ ; Figure 1B).

En microscopie électronique, des composés denses aux électrons, tels que des particules d'or colloïdal ou le chromogène brun induit par la peroxydase en présence de DAB, sont utilisés pour marquer les anticorps secondaires (Figure 1C).

2. Hybridation in situ (HIS) (2)

L'objectif de ces techniques est la détection d'une séquence spécifique d'acide nucléique dans des cellules, sur des coupes de tissus. L'hybridation in situ permet de visualiser les transcrits d'un gène, et donc de localiser le site potentiel de synthèse de la protéine ou du peptide codé. Elle permet d'identifier les neurones exprimant un

gène codant un neurotransmetteur, une enzyme de synthèse ou de dégradation, ou encore un récepteur.

L'HIS repose sur l'appariement spécifique (hybridation) d'une sonde nucléique (ADN simple brin, ARN ou oligonucléotide) avec une séquence cible, le plus souvent un ARNm. Marquée par un traceur radioactif (³⁵S) ou non radioactif (biotine, digoxigénine), la sonde permet de visualiser le complexe formé par autoradiographie (Figure 2A) ou immunohistochimie (Figure 2B).

La technologie *RNAscope* est une méthode récente et puissante d'HIS permettant la visualisation et la quantification précise de l'ARN cible dans n'importe quel tissu, avec une spécificité et une sensibilité, exceptionnelles. Elle repose sur un système de sondes dites « double Z », nécessitant l'hybridation tandem de deux sondes indépendantes sur l'ARN cible pour que l'amplification du signal se produise. Cette conception évite les faux positifs, car la probabilité que deux sondes se fixent côte à côte sur une séquence non spécifique est

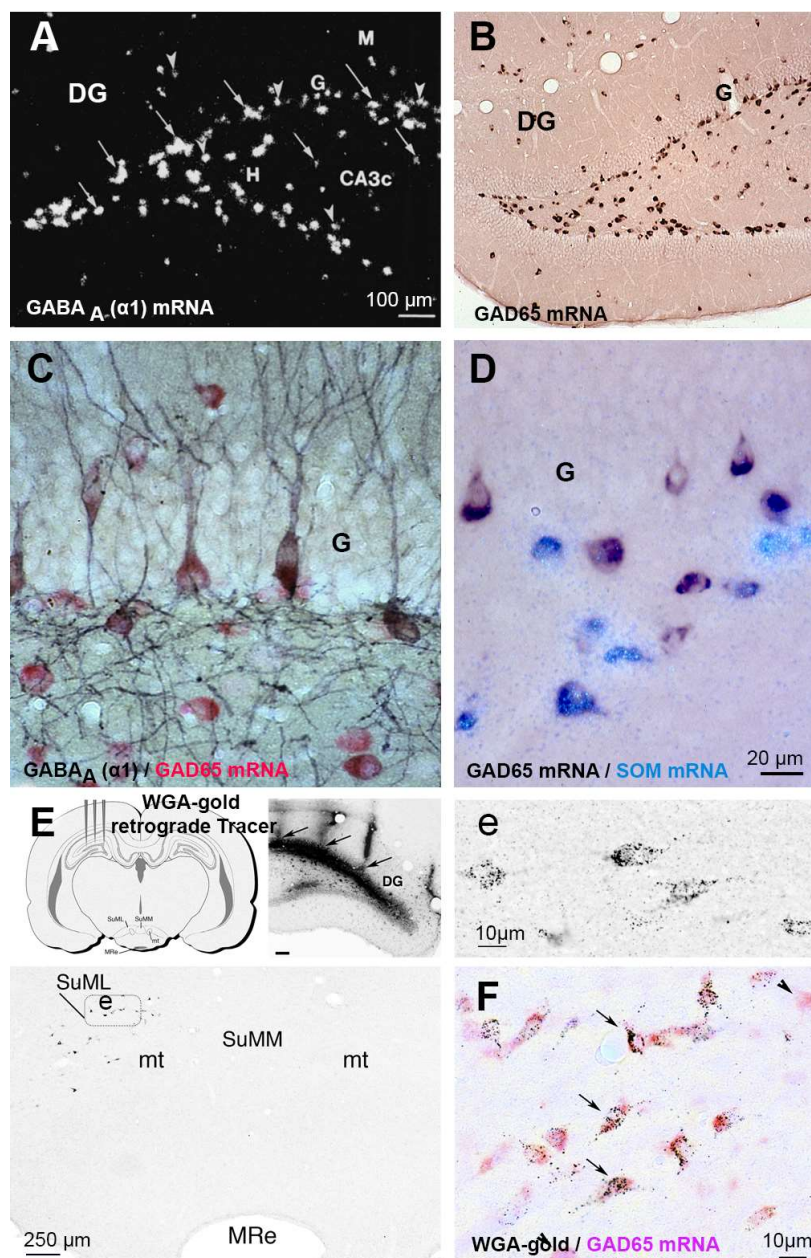


Figure 2 : (A-B) Hybridation in situ (HIS) avec détection en sondes ARN, (A) radioactive (³⁵S), (B) froide (digoxigénine) sur coupe DG de rat. (D) Double marquage associant sondes froide et radioactive. (C) Double marquage associant HIS avec détection en sonde froide et IHC. (E, e, F) Marquage rétrograde (WGA-gold) des neurones du SuML (F) associé au marquage en HIS pour détection de l'ARNm de la GAD.

CA3c, corne d'Ammon, champs 3, sous-région c ; DG, gyrus denté ; G, couche granulaire ; GAD65, glutamate décarboxylase 65 ; H, hile ; M, couche moléculaire ; mre, récessus mamillaire ; mt, tractus mamillothalamique ; SuML, noyau supramammilaire latéral ; SuMM, noyau supramammilaire médian ; SOM, somatostatine ; WGA, wheat germ agglutinine

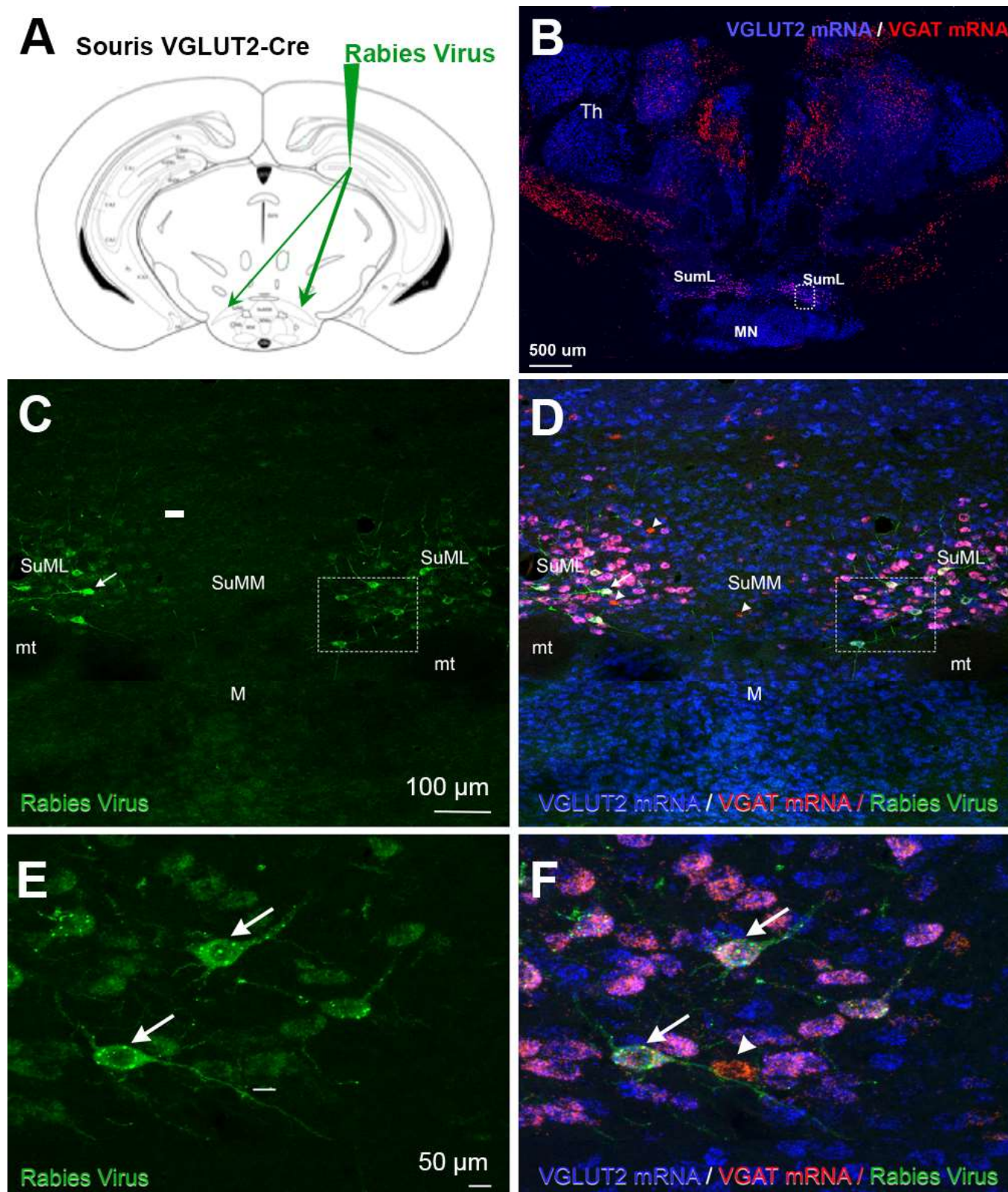


Figure 3 : (A, C, E) Marquage rétrograde des neurones du SuML réalisé avec le virus de la rage chez une souris transgénique VGLUT2-Cre. (B) Double marquage en HIS (technologie RNAScope) pour détection des ARNm de VGAT et VGLUT2. (D-F) Marquage multiple associant IHF pour détection du virus de la rage et HIS (RNAScope) pour détection des ARNm de VGAT et VGLUT2.

GAD : Glutamate décarboxylase ; M, noyau mamillaire médial ; MN, noyau mamillaire médial, partie médiane ; mt, tractus mamillothalamique ; SuML, noyau supramammillaire latéral ; SuMM, noyau supramammillaire médian ; VGAT, transporteur vésiculaire du GABA ; VGLUT2, transporteur vésiculaire du glutamate de type 2 ; Th, thalamus.

très faible. Après fixation des sondes « double Z » sur l'ARN, une cascade d'hybridations permet d'amplifier le signal, la dernière étape d'hybridation utilisant des sondes couplées à un chromogène ou un fluorophore. Ce

processus permet de visualiser chaque molécule d'ARN sous forme de points distincts, visibles au microscope à fond clair, à fluorescence ou confocal, selon le type de marqueur utilisé. Cette technologie permet une

cartographie spatiale d'un ARN unique à l'échelle cellulaire et, surtout, la détection simultanée de plusieurs ARNm dans un même tissu grâce à des fluorochromes distincts (Figure 3B, D), les techniques précédentes d'HIS limitant la détection à deux ARNm (Figure 2D). Ces approches d'HIS peuvent être combinées aux techniques d'IHC et d'IHF pour révéler à la fois les ARNm et les protéines dans le même échantillon (Figure 2C). Enfin, ces approches peuvent être combinées aux techniques de connectivité structurale qui permettent de cartographier les circuits neuronaux, c'est-à-dire les connexions physiques entre les populations neuronales des différentes régions cérébrales (Figure 2E, F ; Figure 3D, F).

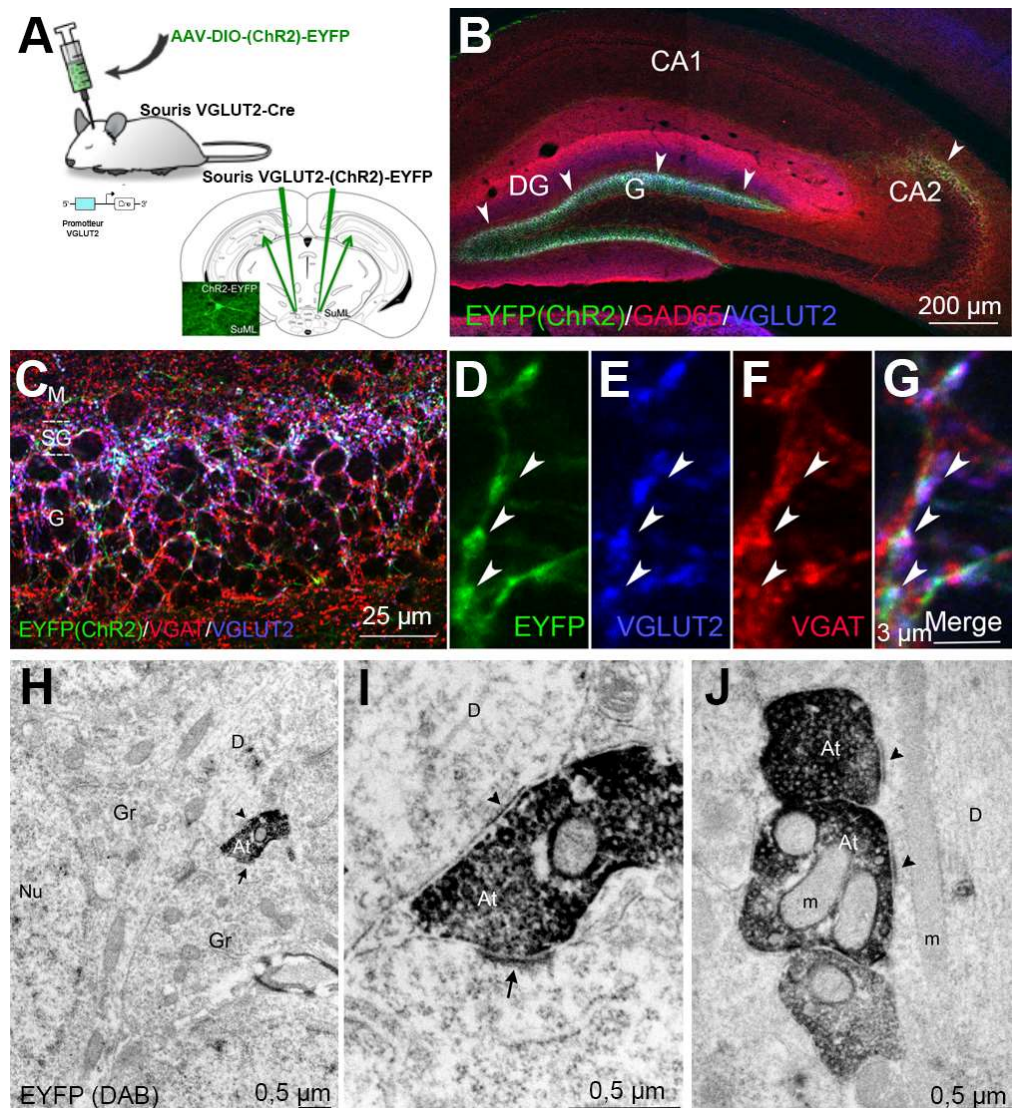
3. Les techniques de connectivité structurale

Plusieurs approches permettent aujourd'hui de cartographier ces circuits, allant des méthodes classiques aux outils moléculaires les plus modernes. Les premières techniques utilisaient des traceurs chimiques non viraux, capables de voyager le long des neurones. Injectés dans une région du cerveau, ils peuvent être transportés de façon rétrograde – des terminaisons vers les corps

cellulaires – pour identifier les régions qui envoient des connexions vers cette zone (Figure 2E), ou antérograde – du soma vers les terminaisons – pour visualiser les régions cibles d'une population neuronale. Ces méthodes offrent une vue d'ensemble des connexions, mais manquent de spécificité, car elles marquent tous les neurones de la zone injectée, sans distinction de type cellulaire. L'avènement de la biologie moléculaire et génétique a introduit l'usage de vecteurs viraux neurotropes et de souris transgéniques. Ces outils permettent de restreindre l'expression des traceurs viraux à un sous-groupe précis de neurones, offrant un niveau de sélectivité et de contrôle inégalé pour cartographier les circuits ([voir l'article de M. Barbier dans ce numéro](#)).

La combinaison de ces approches, permettant un ciblage cellulaire précis jusqu'au niveau synaptique, a profondément transformé les neurosciences en reliant structure et fonction. Elle a notamment révélé des circuits neuronaux uniques, capables de co-transmettre GABA (inhibiteur) et glutamate (excitateur) par une même terminaison axonale (comme décrit ci-dessous).

Figure 4 : (A-G) Marquage antérograde des terminaisons axonales des neurones du SuML innervant la couche supragranulaire (SG) du DG réalisé avec AAV-5 Cre-dépendant avec le gène codant pour la protéine fluorescente EYFP (vert) associé à un double marquage en IHC pour la détection de VGAT (rouge) et VGLUT2 (bleu). (H-J) Détection en microscopie électronique des terminaisons axonales en provenance du SuML formant des synapses symétriques (têtes de flèche) et asymétriques (Flèche) sur les cellules granulaires (Gr) du DG. At, terminaison axonale CA1, CA2, corne d'Ammon, champs 1 et 2 ; D, dendrite ; DG, gyrus denté ; G, couche granulaire ; GAD65, glutamate décarboxylase 65 ; Gr, cellule granulaire ; M, couche moléculaire ; m, mitochondrie ; Nu, noyau ; VGAT transporteur vésiculaire du GABA ; VGLUT2 transporteur vésiculaire du glutamate de type2.;



Co-transmission GABA / Glutamate des neurones du noyau supramammillaire latéral (SuML) projetant sur le gyrus denté de l'hippocampe dorsal (dDG)

Le SuM est une région de l'hypothalamus postérieur située dorsalement aux corps mammillaires. Il comprend une population hétérogène de neurones qui projettent vers de nombreuses régions du système limbique, y compris la formation hippocampique (FH). Bien que l'implication de ce noyau dans la régulation du rythme thêta hippocampique et des fonctions cognitives associées, telles que l'éveil actif et le sommeil paradoxal, ait été rapportée, le substrat anatomo-fonctionnel soutenant cette régulation a longtemps été mal compris.

Chez les rongeurs, les afférences de la FH en provenance du SuM sont principalement issues de la partie latérale de ce noyau (SuML) et innervent le gyrus denté dorsal et latéral (dDG). Les neurones de la partie médiane du SuM (SuMM) projettent exclusivement sur le gyrus denté ventral (vDG) et la région CA2/CA3a.

Nos travaux réalisés chez le rat (3) comme chez la souris (4) montrent que si les neurones du SuMM innervant le vDG et CA2/CA3a sont glutamatergiques les neurones du SuML innervant la couche supragranulaire (SG) du dDG présentent eux un phénotype neurochimique original, exprimant simultanément les marqueurs de la transmission GABAergique (GAD65, VGAT) et de la transmission glutamatergique (VGLUT2). Les corps cellulaires de ces neurones identifiés par l'injection dans le dDG de traceurs rétrogrades classiques (WGA-Gold) chez le rat (Figure 2 E, F) ou du virus de la rage chez la souris transgénique VGLUT2-cre (Figure 3A, C, E) expriment les ARNm de l'enzyme de synthèse du GABA (GAD65) et du transporteur vésiculaire du GABA (VGAT) ainsi que l'ARNm du transporteur vésiculaire du glutamate VGLUT2 (Figure 2F, Figure 3D, F). Leurs terminaisons axonales, localisées dans la couche SG du dDG révélées par l'injection de traceurs antérogrades classiques (la biotine-dextran amine, BDA) chez le rat ou du vecteur viral (AAV5-Cre dépendant exprimant la protéine fluorescente EYFP) chez la souris VGLUT2-Cre, contiennent à la fois les protéines GAD65 et VGAT, mais aussi le transporteur vésiculaire du glutamate VGLUT2 (Figure 4A-G).

Sur le plan ultrastructural, ces terminaisons axonales établissent à la fois des contacts synaptiques symétriques (Figure 4H-J, têtes de flèche ; synapses inhibitrices GABAergiques) et des contacts synaptiques asymétriques (Figure 4H, I, flèche ; synapses excitatrices

glutamatergiques) sur les cellules granulaires (GC). Ces synapses présentent sur le versant post-synaptique un marquage de récepteurs GABAA-1 et GluN1 respectivement (5). Ce phénotype suggère qu'une seule terminaison axonale est capable de co-transmettre le GABA et le glutamate et que cette co-transmission glutamatergique et GABAergique se produit à des sites de libération fonctionnellement distincts. Une propriété que nous avons démontrée sur le plan fonctionnel combinant stimulation optogénétique et enregistrements électrophysiologiques *in vitro* et *in vivo* (4). Cette co-transmission a été confirmée par plusieurs groupes, y compris une étude récente (5), qui montrent de plus que les transmissions synaptiques glutamatergiques et GABAergiques présentant des propriétés distinctes, conduisent ces synapses SuML-GC à se comporter comme un « filtre passe-bas ». À de faibles fréquences de décharge (5 Hz, dans la gamme thêta), ces afférences GABA/GLU issues du SuML agissent comme des signaux excitateurs, tandis qu'à des fréquences élevées, l'effet excitateur sur les cellules granulaires est éliminé par la libération de GABA.

Ce double phénotype et cette organisation synaptique originale font du SuML un acteur clé dans la régulation de l'excitabilité de l'hippocampe dorsal, permettant le filtrage des informations qui y parviennent aux fréquences thêta (5) participant à l'encodage de la mémoire contextuelle (6), à sa consolidation durant le sommeil paradoxal (4, 7), ainsi qu'aux mécanismes de navigation spatiale (8,9).

monique.esclapez@univ-amu.fr

Références

- (1) Esclapez M. (2001). In Hammond C. Cellular and Molecular Neurobiology – Ed Academic Press, London (Fourth edition)
- (2) Esclapez M. (2023). In Hammond C. Cellular and Molecular Neurophysiology – Ed Academic Press, London (Fifth edition)
- (3) Soussi R., et al. (2010). Eur J Neurosci 32, 771-785
- (4) Billwiller F, et al. (2020) Brain Struct Funct 225, 2643-2668
- (5) Hirai, H., et al. (2024) eLife, 13, 1-27
- (6) Chen S, et al. (2020) Nature 586, 270-274
- (7) Qin, H. et al. (2022) Neuron 110, 4000-4014
- (8) Li, Y.D. (2020) eLife 9, e53129
- (9) Farrell, J.S., et al. (2021) Science, 374, 1492-1496

Identification d'un nouveau circuit dopaminergique du raphé dorsal impliqué dans les comportements défensifs

EMMA PERROT, FRANÇOIS GEORGES, ADRIANE GUILLAUMIN

Univ. de Bordeaux, CNRS, IMN, UMR 5293, Bordeaux, France.

Introduction

L'identification d'un circuit neuronal requiert l'utilisation d'outils variés notamment le traçage neuronal et l'électrophysiologie. Dans les années 1990, de nombreuses études anatomiques sur l'utilisation de traceurs neuronaux rétrogrades ont été réalisées. C'est notamment le cas de la sous-unité bêta de la toxine cholérique (CTb) et du Fluorogold qui sont incorporés par les terminaisons synaptiques et remontent le long de l'axone jusqu'au corps cellulaire. Des études ont également été menées sur des traceurs neuronaux antérogrades tel que la leucoagglutinine (PHAL) du *Phaseolus vulgaris* qui, à l'inverse, est captée par les corps cellulaires et transportée vers les terminaisons synaptiques.

Aujourd'hui, de nombreuses équipes recourent aux vecteurs viraux Cre dépendants qui permettent d'induire l'expression de gènes dans des sous-populations neuronales spécifiques grâce à l'utilisation de souris transgéniques exprimant la Cre-recombinase dans les populations neuronales d'intérêts. Les vecteurs viraux utilisés, le plus souvent des virus adéno-associés (AAV), contiennent un promoteur ciblant un type cellulaire particulier, c'est l'exemple de hSyn (human synapsin 1), des gènes rapporteurs fluorescents (mCherry, eYFP, etc...) ainsi que des séquences lox (abrégées DIO ou Flex) qui encadrent les gènes rapporteurs. Ces dernières sont reconnues par l'enzyme Cre recombinase permettant l'adressage et l'expression spécifique des gènes rapporteurs dans les neurones exprimant cette enzyme. A cette structure de base du vecteur viral peuvent s'ajouter d'autres gènes permettant d'activer ou d'inhiber les neurones, d'induire leur mort cellulaire, de surexprimer des gènes et bien d'autres possibilités ([voir l'article de](#)

[Marie Barbier dans ce numéro](#)). Nous avons utilisé l'ensemble de ces méthodes pour caractériser un nouveau circuit impliqué dans les comportements défensifs.

Les comportements défensifs sont essentiels à la survie, car ils reposent sur une évaluation fine des risques pour détecter les menaces et y répondre de manière adaptée. Le noyau du raphé dorsal (DRN), une région cérébrale impliquée notamment dans la régulation de l'éveil et du sommeil, contient des neurones dopaminergiques (DRN_{DA}) dont le rôle dans l'évaluation des menaces reste mal caractérisé. Des travaux récents ont mis en évidence un sous-ensemble de ces neurones exprimant le peptide intestinal vasoactif (VIP). Ces neurones, appelés DRN_{VIP}, projettent notamment vers l'amygdale centrale (CeA) et le noyau ovale du lit de la strie terminale (ovBNST). Ces deux régions forment l'amygdale étendue, essentielle pour les réponses adaptatives aux menaces. Le CeA et l'ovBNST partagent une origine développementale commune, une organisation de type striatal et sont majoritairement constitués de neurones inhibiteurs GABAergiques présentant des caractéristiques morphologiques et neurochimiques similaires (1). Les premiers travaux de Davis et ses collègues suggèrent que la connexion anatomique entre l'ovBNST et le CeA est à la base de leur interaction fonctionnelle (2, 3). Cette interaction fonctionnelle devient particulièrement importante à l'approche d'une menace, provoquant la transition d'un état d'hypervigilance et d'anxiété régi par le BNST à un état de peur médié par l'amygdale (4, 5). Toutefois, plutôt que de fonctionner de manière strictement séquentielle, des découvertes plus récentes suggèrent que le BNST et l'amygdale peuvent être recrutés simultanément, ce qui indique l'implication d'un

circuit neuronal capable de synchroniser l'activité de ces deux structures (6). Ces résultats nous ont conduit à formuler l'hypothèse selon laquelle les neurones DRN_{VIP} constitueraient une population homogène occupant une position stratégique. Grâce à leurs projections vers l'ovBNST et le CeA, ils pourraient assurer la coordination de l'activité de ces régions, jouant ainsi un rôle central dans l'évaluation des risques et la mise en œuvre des comportements défensifs.

1 - Quelle est l'origine des innervations dopaminergiques de l'amygdale étendue ?

Une des premières études identifiant l'origine de l'innervation dopaminergique de l'amygdale étendue localise les sources dans le mésencéphale, principalement l'aire tegmentale ventrale (VTA), la substance grise périaqueducale (PAG) et le noyau dorsal du raphé (DRN) (7).

Pour confirmer ces observations, nous avons utilisé des traceurs neuronaux tels que le CTb et le Fluorogold, permettant d'identifier tous les neurones projetant vers la structure ciblée. Ces traceurs présentent deux avantages : une absence de tropisme pour des populations neuronales et une vitesse de transport rapide (7 à 10 jours), ce qui en font des outils de choix pour identifier les neurones afférents. Par la suite, des analyses immunohistochimiques sur coupes de cerveau ont permis d'identifier le phénotype des neurones marqués par CTb ou Fluorogold, grâce à la détection d'enzymes spécifiques telle que la tyrosine hydroxylase (TH), enzyme clé de la synthèse de dopamine. Après injections de CTb dans le noyau ovale du BNST chez le rat, aucun neurone mésencéphalique ventral n'exprimait simultanément CTb et TH. En revanche, une population de neurones située dans le DRN et sous l'aqueduc de Sylvius dans le PAG coexprimait la TH, identifiant le mésencéphale dorsal (DRN/PAG) comme la source unique de dopamine pour le noyau ovale du BNST et le CeA.

2 - Quels sont ces neurones dopaminergiques se projetant dans l'amygdale étendue ?

Pendant longtemps les structures dopaminergiques du cerveau ont été perçues comme homogènes. Cependant depuis le début des années 2000, de nombreuses études ont révélé une grande hétérogénéité, notamment au sein des deux structures dopaminergiques les plus connues, l'aire tegmentale ventrale et la substance noire compacte. Ces neurones dopaminergiques diffèrent par leurs projections vers diverses structures, leur activité électrophysiologique, l'expression de récepteurs variés ainsi que la co-libération d'autres neurotransmetteurs.

Toutes ces différences permettent de mettre en lumière l'existence de sous-populations dopaminergiques ayant chacune des rôles spécifiques. L'hétérogénéité des neurones dopaminergiques du DRN a été très peu explorée mais la littérature scientifique décrit plusieurs sous-populations dont l'une exprime le peptide intestinal vasoactif (VIP) (8). Cette sous-population dopaminergique semble innerver l'amygdale étendue, qui contient des fibres VIP très denses, bien qu'aucune étude n'ait ciblé spécifiquement ces neurones DA/VIP du DRN.

Dans une première expérience d'hybridation *in situ* réalisée chez des souris sauvages (C57BL/6J), nous avons identifié les neurones du DRN exprimant l'ARNm *Vip*, dont environ 85 % expriment celui de la tyrosine hydroxylase (TH), confirmant ainsi leur nature dopaminergique. Une seconde expérience menée sur des souris transgénique *Vip-Cre* a confirmé que 100% des neurones exprimant la *Cre* recombinase expriment également *Vip* et qu'environ 50% des neurones dopaminergiques du DRN expriment *Vip*. La lignée de souris *Vip-Cre* constitue donc un outil idéal pour cibler cette sous-population de neurones dopaminergique du DRN.

Grâce à cette lignée de souris *Vip-Cre*, il est possible de cibler spécifiquement les neurones VIP du DRN via des injections locales de vecteurs viraux *Cre* dépendants. Par exemple, l'injection d'un virus antérograde adéno-associé (AAV) codant pour un rapporteur fluorescent permet de marquer les corps cellulaires et les axones des neurones VIP rendant ainsi visible leur trajet depuis le DRN jusqu'aux noyaux de l'amygdale étendue (Figure 1A). Ces fibres descendent vers le mésencéphale ventral, empruntent le faisceau de fibre médian jusqu'au noyau ovale du BNST puis atteignent l'amygdale via la strie terminale.

Nous avons par la suite utilisé une stratégie virale qui consiste à injecter un AAV dans le DRN permettant l'expression d'un rapporteur fluorescent associé à la synaptophysine, une glycoprotéine localisée spécifiquement dans les vésicules synaptiques au niveau des terminaisons synaptiques. Cette méthode permet d'identifier les sites de libération synaptique et d'exclure les fibres passantes (Figure 1B).

Enfin, pour savoir si un même neurone VIP du DRN projette simultanément vers l'ovBNST et le CeA — autrement dit s'il possède des projections collatérales — nous avons utilisé un virus modifié de la rage combiné à un AAV *Cre*-dépendant. Le virus modifié de la rage est transporté efficacement dans les neurones, sautant de façon rétrograde les synapses pour atteindre les neurones pré-synaptiques. Cette méthode repose d'abord sur l'injection, dans le DRN, d'un « virus helper »

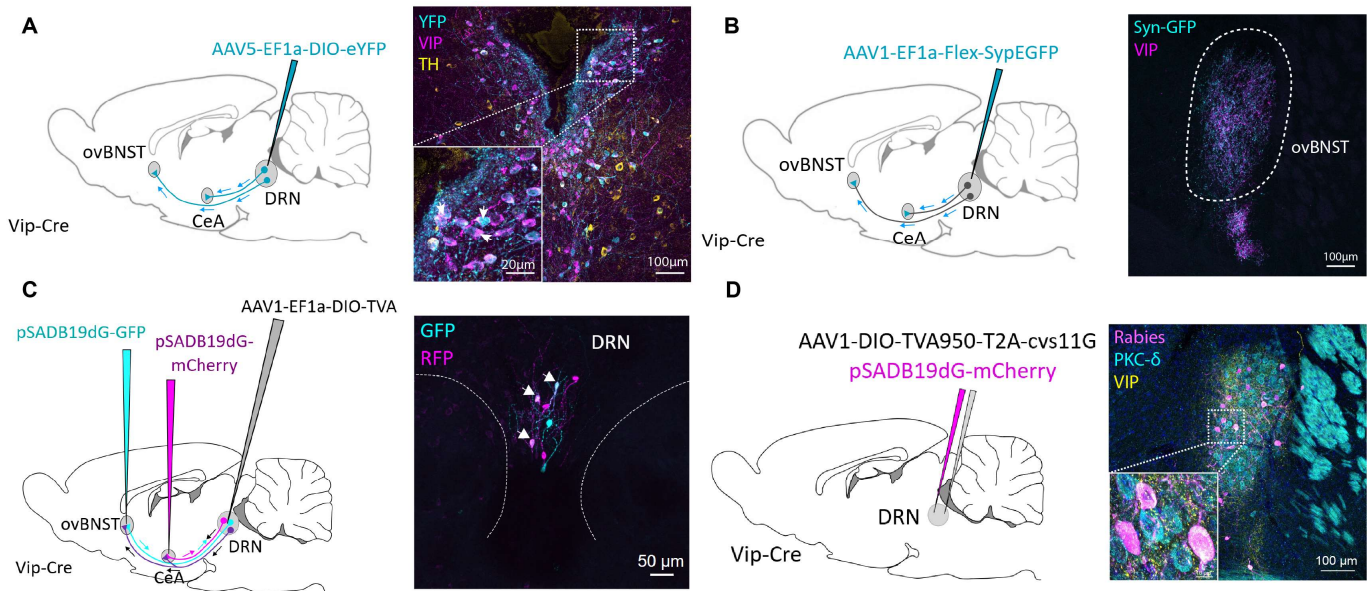


Figure 1. Approches virales et anatomiques pour cartographier le circuit dopaminergique du raphé dorsal impliqué dans les comportements défensifs.

(A–D) Schémas et images représentatives illustrant les différentes stratégies d'injection virale utilisées chez les souris Vip-Cre. (A) Injection d'un vecteur viral antérograde (AAV5-EF1a-DIO-eYFP) dans le raphé dorsal (DRN) afin de marquer les neurones Vip. À droite, image confocale montrant des neurones du DRN exprimant le marqueur fluorescent YFP (cyan) et le peptide VIP (magenta), colocalisés (flèches). (B) Injection d'un virus exprimant la synaptophysine-GFP dans le DRN pour visualiser les sites de libération synaptique. À droite, image confocale de l'ovBNST montrant les terminaisons synaptiques DRN marquées par la synaptophysine (bleu) et les fibres VIP locales (magenta). (C) Traçage rétrograde monosynaptique à l'aide du virus de la rage modifié (pSADB19dG-mCherry/GFP) injecté dans l'amygdale étendue (CeA), combiné à un virus helper (AAV1-EF1a-DIO-TVA) injecté dans le DRN. À droite, colocalisation dans le DRN entre GFP et mCherry (flèches), indiquant que certains neurones VIP du DRN projettent simultanément vers l'ovBNST et le CeA. (D) Injection combinée du virus de la rage (pSADB19dG-mCherry), du helper et de la glycoprotéine (AAV1-EF1a-DIO-TVA950-T2A-cvs11G) dans le DRN. À droite, image confocale de l'ovBNST montrant la colocalisation entre PKC-δ (bleu) et les neurones infectés par le virus de la rage (magenta), entourés de fibres VIP, suggérant que des neurones de l'ovBNST et du CeA établissent des connexions réciproques avec les neurones VIP du DRN.

contenant deux éléments clés : un récepteur appelé TVA, qui permet l'entrée d'un virus de la rage modifié dans les neurones ciblés, et une glycoprotéine (ΔG), nécessaire à sa propagation. Lorsque cette glycoprotéine est retirée du virus helper, le virus de la rage modifié ne peut plus être transporté d'un neurone à l'autre : il agit alors simplement comme un vecteur rétrograde, c'est-à-dire qu'il remonte les connexions neuronales jusqu'à leur origine. Le virus helper est injecté en premier dans le DRN, suivi de l'injection du virus modifié de la rage dans les terminaisons synaptiques (ovBNST et CeA) avec des marqueurs fluorescents distincts (Figure 1C). Cette approche a démontré l'existence de neurones VIP du DRN projetant simultanément vers l'ovBNST et le CeA, suggérant qu'ils pourraient jouer un rôle clé dans la synchronisation de l'activité de ces deux structures lors de leur activation.

3 - Quelles sous-populations de l'amygdale étendue sont ciblées par les neurones DA du DRN ?

Nous avons montré qu'une sous-population de neurones dopaminergiques du DRN exprimant le VIP projette vers les deux noyaux principaux de l'amygdale étendue. L'ovBNST et le CeA sont tous deux des noyaux

GABAergiques composés de multiples sous-populations neuronales exprimant divers neuropeptides tels que la somatostatine, la neurotensine, la corticotropin-releasing hormone (CRH) ainsi que des protéines spécifiques comme la protéine kinase C delta (PKC-δ) (1).

Pour déterminer quelles sous-populations sont ciblées par les neurones VIP du DRN nous avons utilisé une lignée de souris Vip-Cre/COP4 dans laquelle les neurones VIP expriment une opsine excitatrice, un récepteur membranaire activé par la lumière induisant l'excitation neuronale. Combiné à la technique d'électrophysiologie *ex vivo*, le patch clamp, cela permet d'enregistrer l'activité électrique des neurones sur des tranches de cerveau contenant l'ovBNST ou le CeA. La stimulation lumineuse des terminaisons synaptiques des neurones VIP du DRN induit des courants électriques dans le neurone post-synaptique. Les neurones enregistrés sont marqués à la biocytine afin de déterminer leur phénotype *a posteriori*. Cette approche permet ainsi de savoir si les neurones VIP libèrent du glutamate ou du GABA via l'observation de courants post-synaptiques excitateurs ou inhibiteurs (EPSC ou IPSC). Les résultats montrent que les neurones VIP du DRN libèrent majoritairement du glutamate et projettent

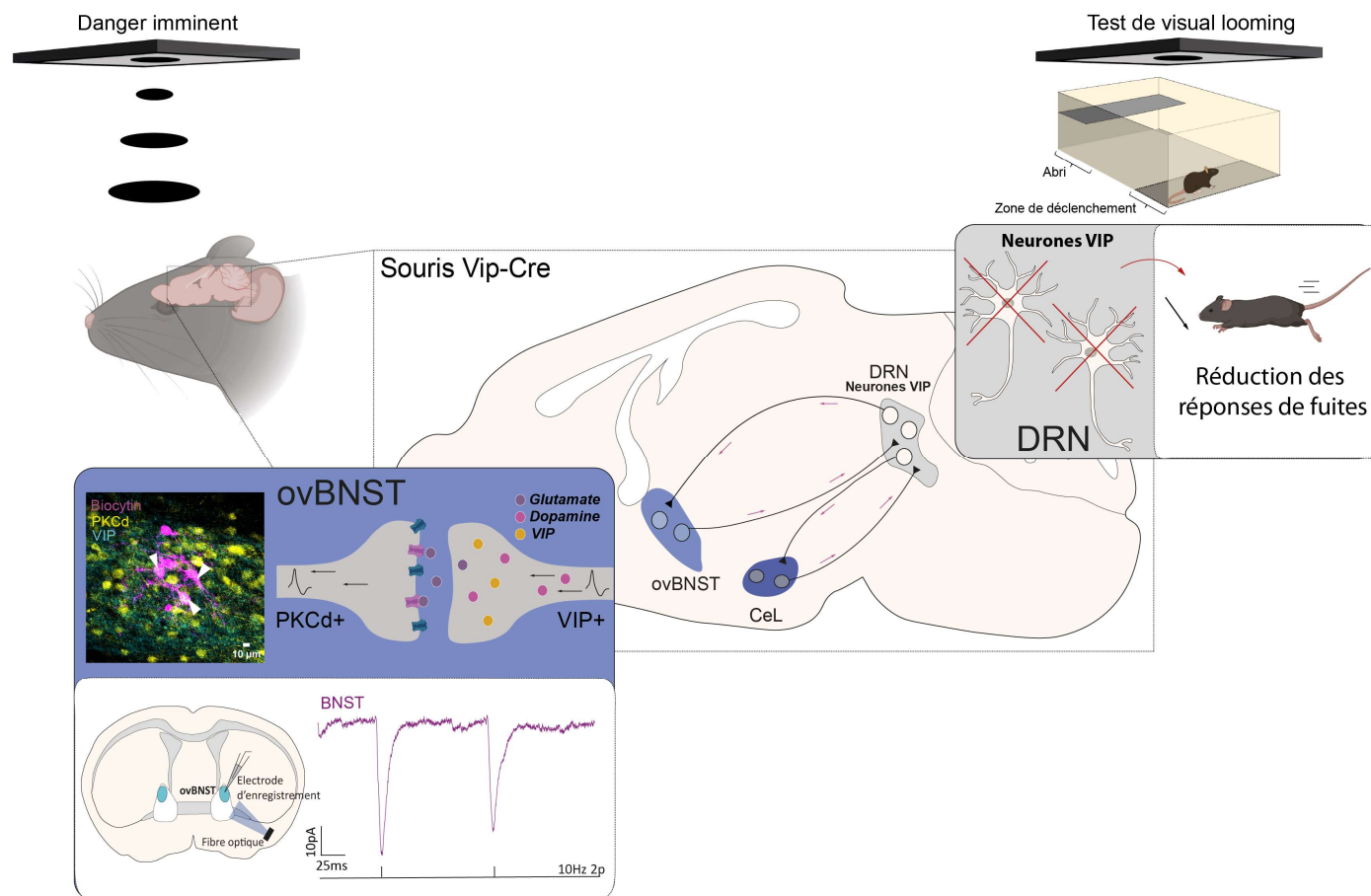


Figure 2. Schéma récapitulatif de l'étude d'un nouveau circuit dopaminergique du raphé dorsal.

Schéma synthétique du circuit proposé : les neurones DRNVip connectent l'amygdale étendue et participent à la mise en œuvre de comportements défensifs, comme démontré par des approches virales, électrophysiologiques *ex vivo* et comportementales (tâche de visual looming).

préférentiellement vers des neurones exprimant la protéine PKC- δ dans l'ovBNST et le CeA (Figure 2).

4 - Quelles sont les afférences des neurones dopaminergiques du DRN ?

Nous avons caractérisé la voie des neurones VIP du DRN innervant les neurones PKC- δ de l'ovBNST et du CeA. Cependant, aucune étude n'a montré les afférences des neurones VIP du DRN. Pinto et collègues ont montré, grâce à un virus modifié de la rage, que les neurones dopaminergiques du DRN reçoivent des projections de multiples structures cérébrales, notamment le noyau accumbens, le BNST, le pallidum ventral, l'hypothalamus latéral et la substance grise périaqueducale (9).

Nous avons donc reproduit cette expérience en utilisant des souris Vip-Cre afin de cartographier l'ensemble des afférences des neurones VIP du DRN. À l'aide d'un virus « helper » Cre-dépendant contenant la glycoprotéine facilitant le transport présynaptique, suivi de l'injection du virus modifié de la rage dans le DRN, nous avons identifié deux structures projetant massivement vers ces neurones VIP : l'ovBNST et le CeA (Figure 1D). Après un marquage immunohistochimique, nous avons caractérisé le

phénotype majoritairement PKC- δ des neurones de l'ovBNST et du CeA qui projettent aux neurones VIP du DRN. Ainsi, le circuit entre le DRN et l'amygdale étendue forme deux boucles distinctes, l'une entre le DRN et l'ovBNST et l'autre entre le DRN et le CeA. Des investigations supplémentaires sont nécessaires pour déterminer si les neurones PKC- δ recevant l'innervation du DRN et projetant vers ce dernier correspondent à la même population cellulaire.

5 - Quel est le rôle fonctionnel de la voie DRNDA/VIP vers l'amygdale étendue ?

Nous avons identifié une sous-population de neurones dopaminergiques du DRN exprimant le VIP qui innerve les neurones PKC- δ de l'amygdale étendue. Comme évoqué en introduction, l'ovBNST et le CeA jouent un rôle crucial dans l'anxiété et les réponses adaptatives aux menaces. Afin d'étudier le rôle fonctionnel de cette voie dans les comportements défensifs nous avons réalisé une ablation génétique des neurones VIP du DRN via une stratégie virale. Plus précisément, un vecteur viral codant pour la caspase 3 — une enzyme initiant l'apoptose — a été injecté dans le DRN de souris Vip-Cre. Ainsi, les neurones VIP transfectés entrent en apoptose, supprimant la source

dopaminergique vers l'amygdale étendue chez ces souris (désignées comme souris Casp3).

Le test comportemental du *visual looming* permet d'observer la réaction d'une souris face à la simulation d'un prédateur aérien qui s'approche rapidement reflétant un danger imminent. Il consiste en une arène rectangulaire divisé en trois zones : un abri, une zone intermédiaire et une zone de déclenchement. Après 3 jours d'habituation, le test consiste à déclencher un stimulus visuel (rond noir grossissant imitant l'arrivée d'un prédateur) sur un écran placé au-dessus de l'arène lorsque la souris entre dans la « trigger zone ». Le test est terminé lorsque la souris a réalisé 10 entrées dans la « trigger zone ». De nombreux comportements peuvent être mesurés dont l'un est le pourcentage de fuite, 0% si la souris ne fuit pas et 100% si la souris fuit à chaque déclenchement du stimulus visuel (Figure 2).

Les souris contrôles présentent environ 70 % de probabilité de fuite, tandis que les souris Casp3 montrent une diminution significative, à environ 40 %, indiquant un déficit dans les réponses défensives face à la menace lorsque les neurones VIP du DRN sont supprimés.

Conclusion

Les nouvelles techniques d'analyse neuroanatomiques nous ont permis d'identifier et de caractériser une sous-population de neurones dopaminergiques du noyau du raphé dorsal (DRN) exprimant le peptide intestinal vasoactif (VIP), grâce à l'utilisation combinée de souris transgéniques *Vip-Cre*, de vecteurs viraux *Cre*-dépendants et de techniques d'hybridation *in situ*. À l'aide de traçages neuronaux antérogrades et rétrogrades, nous avons montré que ces neurones projettent simultanément

vers le noyau ovale du lit de la strie terminale (ovBNST) et l'amygdale centrale (CeA) où ils ciblent majoritairement des neurones PKC- δ . L'électrophysiologie *ex vivo* a révélé que ces projections sont glutamatergiques et établissent des connexions fonctionnelles directes. En parallèle, une cartographie virale des afférences a mis en évidence des boucles réciproques entre le DRN et les deux structures de l'amygdale étendue. Enfin, l'ablation sélective des neurones DRN_{VIP} via l'expression virale de la caspase3 a induit une réduction des réponses de fuite dans le test de *visual looming*, soulignant leur rôle fonctionnel dans la mise en œuvre de comportements défensifs. Cette étude met en lumière un circuit dopaminergique distinct, capable de coordonner l'activité de l'amygdale étendue dans un contexte de menace.

emma.perrot@u-bordeaux.fr

francois.georges@u-bordeaux.fr

adriane.guillaumin@u-bordeaux.fr

Références

- (1) Beyeler, A. & Dabrowska, J. (2020) Handbook of Behavioral Neuroscience vol. 26 63–100 (Elsevier).
- (2) Davis, M. et al. (1993) Behav. Brain Res. 58, 175–198.
- (3) Davis, M. et al. (1997), Annals of the New York Academy of Sciences 821, 305–331.
- (4) Avery, S. N. et al. (2016) Neuropsychopharmacology 41, 126–141.
- (5) Shackman, A. J. & Fox, A. S. (2016) J Neurosci 36, 8050–8063.
- (6) Mobbs, D. et al. (2020) Trends in Cognitive Sciences 24, 228–241.
- (7) Hasue, R. H. & Shammah-Lagnado, S. J. (2002) J Comp. Neurol. 454, 15–33.
- (8) Poulin, J.-F. et al. (2018) Nat Neurosci 21, 1260–1271.
- (9) Cardozo Pinto, D. F. et al. (2019) Nat Commun 10, 4633.

L'imagerie tridimensionnelle, une observation « transparente » du système nerveux central

CHLOE CHAUMETON¹, JEREMIE TEILLON², DAVID GODEFROY³

1-Sorbonne Université, CNRS, Inserm, UAR 3631, IBPS, I2PS, Paris France

2-Univ. Bordeaux, CNRS, INSERM, BIC, US4, UAR 3420, Bordeaux, France

3-Univ Rouen Normandie, Inserm, Normandie Univ, NorDiC UMR 1239, Rouen, France

La transparisation ou comment s'affranchir de l'opacité du cerveau.

À la fin du 19^{ème} siècle, Werner Spalteholz, anatomiste allemand, souhaitait observer l'organisation des organes sans avoir à disséquer les spécimens étudiés. Afin de réaliser ces observations et créer des atlas anatomiques de différentes espèces, il mit au point un protocole à base de solvants organiques permettant de rendre transparent ses échantillons, cette approche scientifique marque le début de la transparisation.

Un siècle après cette découverte technique, des chercheurs se sont réintéressés à celle-ci pour « voir » à

travers les échantillons biologiques. Trois familles regroupent la majorité des protocoles de transparisation, avec pour chacune d'elle son protocole phare, iDISCO+ pour les méthodes hydrophobes utilisant les solvants organiques, CUBIC pour les méthodes hydrophiles à base de solutions aqueuses, ou encore CLARITY avec le maillage par hydrogel des échantillons (1). Toutes ces approches sont basées sur le même principe optique, l'homogénéisation de l'indice de réfraction de l'échantillon, homogénéisation permettant de réduire très fortement la dispersion de la lumière et rendant ainsi transparent l'organe observé (Figure 1).

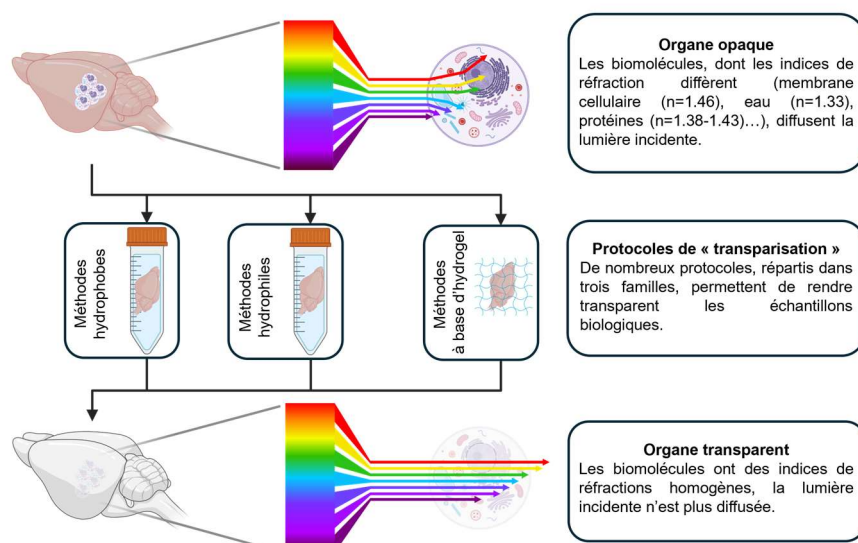


Figure 1 : Illustration du principe de la « transparisation » d'organe biologique. La lumière incidente traverse les échantillons biologiques sans être dispersée lorsque l'indice de réfraction de l'organe est homogénéisé. Créé avec Biorender.com

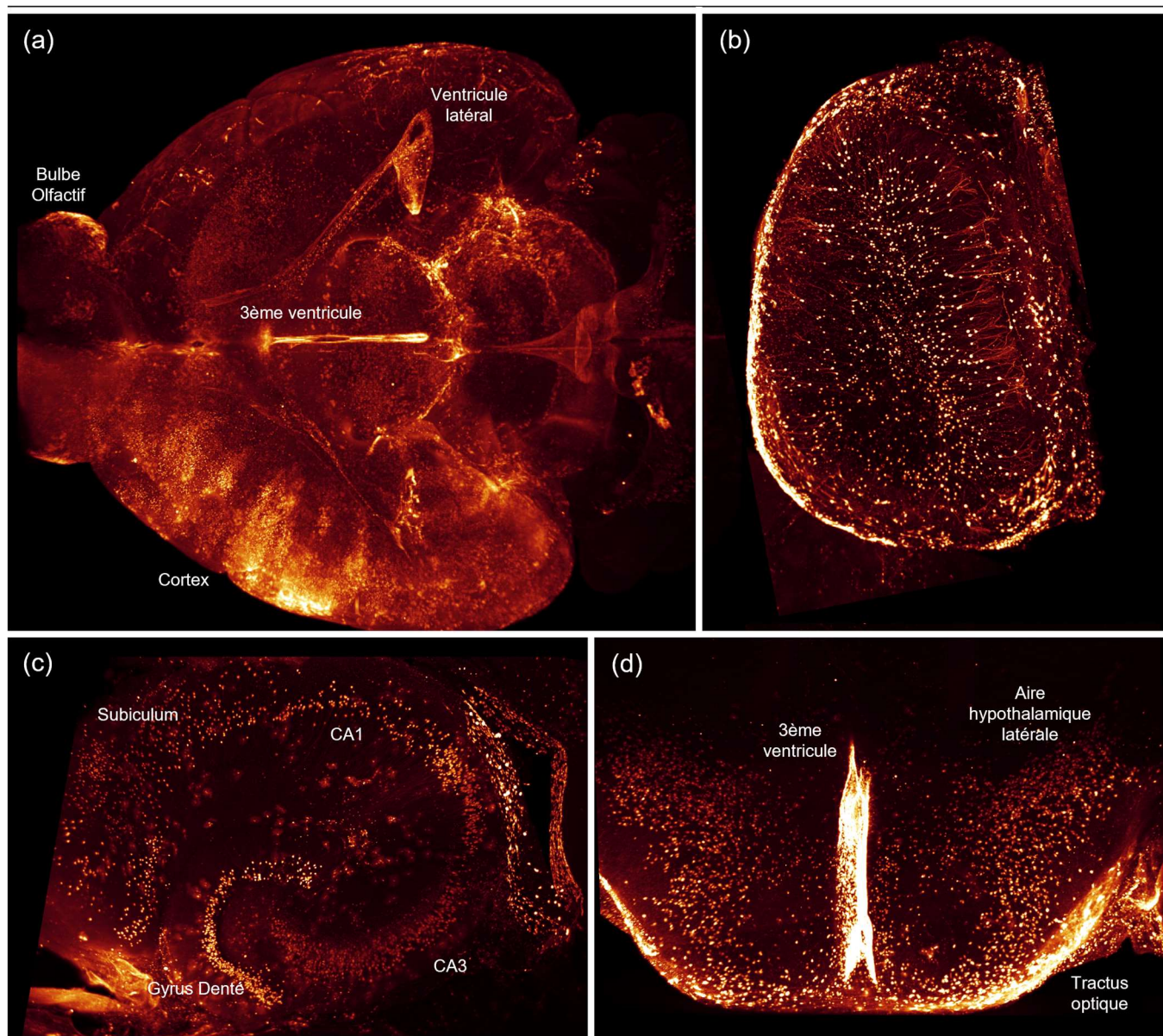


Figure 2 : Cartographie tridimensionnelle des cellules exprimant le peptide 26Rfa dans (a) le système nerveux central de souris, (b) le bulbe olfactif, (c) l'hippocampe, (d) l'hypothalamus. L'atlas de la distribution des cellules exprimant le peptide est réalisé avec la méthode iDISCO+ [Peptide] (Picot et al.) copyright (2025).

La transparisation est une étape indispensable à l'imagerie tridimensionnelle, les récentes innovations en microscopie, décrits ci-dessous, permettent une imagerie 3D de plus en plus performantes. Pour observer les différentes unités biologiques structurales, comme les cellules, les fibres nerveuses ou encore les vaisseaux sanguins, plusieurs stratégies de marquages sont possibles : utilisation de modèles génétiquement modifiés exprimant des protéines fluorescentes, injection de traceurs fluorescents, marquage de protéine cibles par immunomarquages *in toto* ou encore marquage d'ARN avec des sondes fluorescentes.

L'immunomarquage *in toto*, développé par Adrian Aitken en 1987, consiste à marquer un échantillon sans effectuer de coupe préalable. Cette approche a connu des évolutions majeures pour réaliser l'imagerie 3D. Le pré-

traitement des échantillons avec des étapes de déshydratation, délipidation et la modification des conditions classiques d'immunomarquage permettent une pénétration des anticorps dans les organes entiers dont le cerveau (Figure 2) (2). Les protocoles d'immunomarquage *in toto* utilisent classiquement une dispersion passive des anticorps, avec pour conséquence un traitement non homogène des épitopes ciblés dans le tissu. En effet, la perturbation spatiale de l'environnement chimique entourant les épitopes dû à divers facteurs comme la lenteur du transport et la rapidité des réactions chimiques, entraîne des gradients de marquage avec au centre de l'échantillon un marquage moins prononcé qu'aux pourtours. De récents travaux montrent une nouvelle approche visant à éliminer ces perturbations spatiales de l'environnement chimique entourant les cibles, CuRVE (Continuous Redisposition of Volumetric

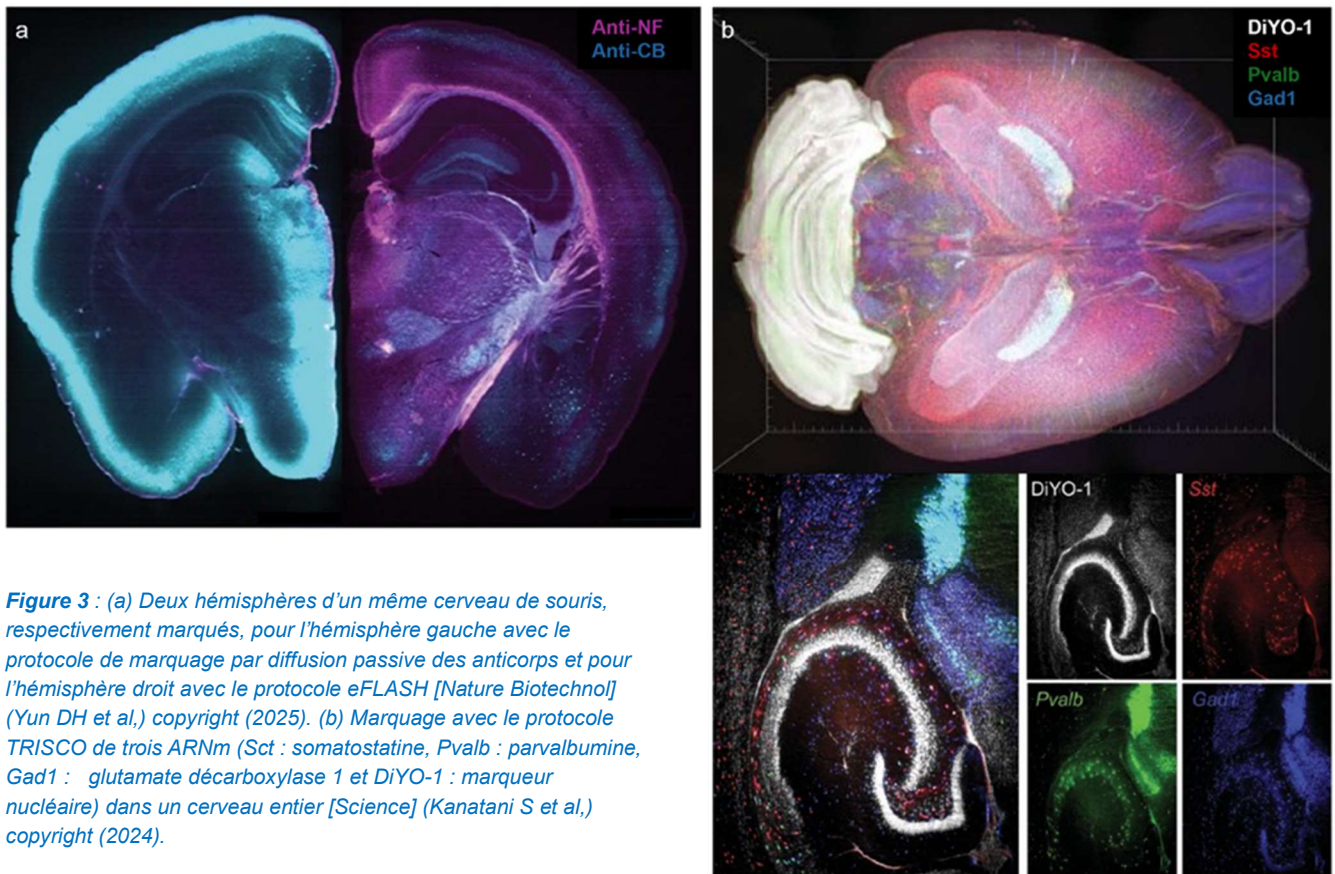


Figure 3 : (a) Deux hémisphères d'un même cerveau de souris, respectivement marqués, pour l'hémisphère gauche avec le protocole de marquage par diffusion passive des anticorps et pour l'hémisphère droit avec le protocole eFLASH [Nature Biotechnol] (Yun DH et al.,) copyright (2025). (b) Marquage avec le protocole TRISCO de trois ARNm (Sct : somatostatine, Pvalb : parvalbumine, Gad1 : glutamate décarboxylase 1 et DiYO-1 : marqueur nucléaire) dans un cerveau entier [Science] (Kanatani S et al.,) copyright (2024).

Equilibrium), associé à un immunomarquage électrophorétique rapide (eFLASH), le marquage de l'organe est uniforme, sans gradient (Figure 3, a). En opposition aux méthodes de marquage passives, cette méthode dite active est une amélioration majeure pour l'imagerie tridimensionnelle (3).

Pour avoir une compréhension approfondie de l'état cellulaire des tissus, de récents progrès dans la détection de l'ARN ont été développés avec une limite concernant les données spatiales, ceci à cause de la stabilité de cette molécule et son marquage difficile dans un organe entier. Une nouvelle méthode permet de s'affranchir de ces difficultés de marquage, le protocole TRISCO (Tris buffer-mediated retention of in situ hybridization chain reaction signal in cleared organs), contourne ces problèmes d'intégrité et de marquage uniforme de l'ARN et permet d'obtenir des marquages tridimensionnels d'ARN de cellules sur des organes entiers (Figure 3, b) (4), augmentant ainsi la pertinence des données biologiques.

La microscopie pour l'imagerie 3D, de multiples solutions existent.

Pour faire suite aux marquages et à la transparence des échantillons épais et opaques, plusieurs techniques de microscopie à fluorescence peuvent être utilisées pour l'imagerie tridimensionnelle, ceci grâce à des objectifs ayant de grandes distances de travail permettant de

collecter du signal fluorescent à des profondeurs de plusieurs centimètres.

La microscopie plein champ permet d'obtenir rapidement des images de l'échantillon. Cependant, cette technique présente un inconvénient majeur pour la 3D. Le signal fluorescent émis par le plan focal est capté, ainsi que celui provenant des différentes profondeurs de l'échantillon, ces signaux se superposent, entraînant un flou optique de l'image. Pour corriger cet effet, la microscopie confocale utilise un diaphragme, appelé *pinhole*, afin de rejeter la lumière issue des plans non focaux. On obtient ainsi une coupe optique. En déplaçant l'échantillon il devient possible de réaliser des acquisitions volumétriques. En revanche, cette méthode endommage rapidement la fluorescence de l'échantillon et nécessite des temps d'acquisition plus longs.

La microscopie multi-photonique, ou à excitation à deux photons, produit une qualité d'image avec un rapport signal/bruit meilleur que celle du confocal car le diaphragme n'est plus présent ce qui permet de collecter plus de photons. Elle utilise un rayonnement infrarouge moins diffus et plus absorbé par les tissus non transparents que ceux du domaine visible ou UV, ce qui permet une meilleure pénétration de la lumière dans les tissus.

Enfin, la microscopie à feuillet de lumière (Light Sheet Fluorescence Microscopy, LSFM) ou SPIM (Selective Plane Illumination Microscopy) permet d'imager des

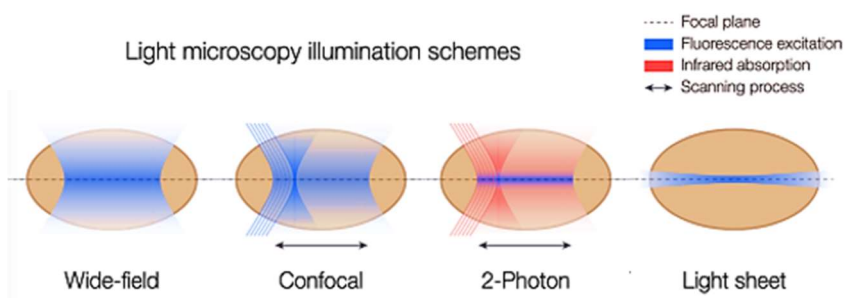


Figure 4 : Illustrations schématiques des techniques d'imagerie par fluorescence : - champ large (wide-field), tout le signal fluorescent de l'échantillon est collecté - microscopie confocale à balayage laser uniquement le signal fluorescent issu du plan focal est collecté - microscopie multi-photonique, le volume d'excitation est réduit - microscopie à feuille de lumière, le sectionnement optique a lieu pendant l'excitation et la lumière émise par l'ensemble du champ de vision est capturée avec une caméra. [BioEssays] (Icha et al.) copyright (2017).

échantillons volumineux comme des cerveaux, des embryons de souris, des poissons ou des organoïdes, de manière très rapide grâce à l'emploi d'une caméra à champ large capable de collecter efficacement le signal fluorescent (Figure 4). Cette technique de microscopie consiste à éclairer l'échantillon avec une nappe lumineuse perpendiculaire à l'axe de détection, limitant ainsi l'exposition à la lumière. Sa résolution spatiale varie de 500 nm à une dizaine de micromètres, selon l'épaisseur de la feuille et l'objectif de détection utilisée. Néanmoins, cette approche souffre d'une illumination asymétrique qui peut générer des ombres et une perte d'uniformité du signal dans la profondeur de l'échantillon. Pour pallier à cette limitation, la microscopie multivue (mSPIM) combine plusieurs faisceaux d'illumination et de détection disposés selon différents angles, permettant la fusion des images et la reconstitution d'un volume 3D isotrope, à résolution améliorée et sans zones d'ombre (5). Certaines entreprises comme Bruker, Miltenyi-Biotec, PhaseView ou Zeiss développent des microscopes à feuillet de lumière en intégrant différentes technologies permettant d'imager des échantillons de 500 µm à plusieurs centimètres. Une autre alternative, la microscopie DSLM (Digital Scanned Light Sheet Microscopy), génère le feuillet lumineux par le balayage rapide d'un faisceau gaussien dans le plan vertical à l'aide de miroirs galvanométriques, ce qui offre une illumination plus homogène et une réduction des ombres sur l'image. Il y a une dizaine d'années, cette technologie a été mise en place sur le projet du microscope à feuillet de lumière mesoSPIM (6), développé par des équipes de recherche suisse. Plus spécifique pour les échantillons de grande taille avec des feuillets lumineux plus épais, des optiques à grand champ et une réduction de la phototoxicité, le mesoSPIM offre une solution à grande échelle où la documentation matérielle et logicielle sont disponibles gratuitement pour la communauté scientifique (<https://github.com/mesoSPIM>).

Depuis la technique fondatrice SPIM (*Selective Plane Illumination Microscopy*), de nombreuses variantes ont été développées afin d'améliorer la résolution, la pénétration optique, la vitesse d'imagerie et la compatibilité avec différents types d'échantillons transparisés ou pas.

Des outils d'analyse pour une cartographie fonctionnelle 3D du cerveau entier.

La transparisation des tissus, combinée à la microscopie à feuille de lumière, a profondément transformé l'imagerie cérébrale en permettant d'observer un cerveau de souris entier.

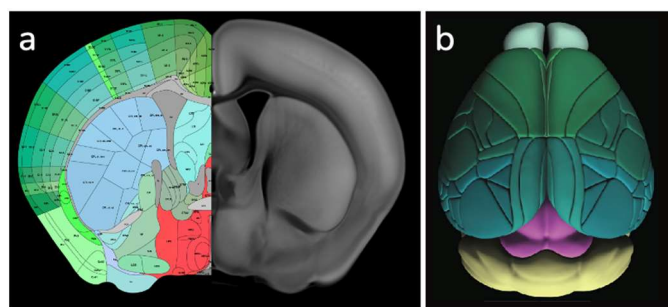
De plus, l'alignement des acquisitions sur un atlas de référence tel que l'Allen Brain Atlas (Figure 5 a–b–c–d), a véritablement transformé ces acquisitions en un outil d'analyse quantitative. Par cette standardisation, il est possible de comparer et quantifier les signaux dans l'ensemble des structures cérébrales (Figure 5 e). Aujourd'hui, différents logiciels répondent à ce besoin. Par exemple Brainreg permet un alignement sur des atlas de souris adulte ou en développement, mais également de travailler avec d'autres espèces (rat, poisson zèbre, etc...)

Ces avancées ont ouvert la voie à de nouvelles applications qui offrent une vision systémique du cerveau, unifiant activité, connectivité, vascularisation et pathologie dans une même approche anatomique et fonctionnelle.

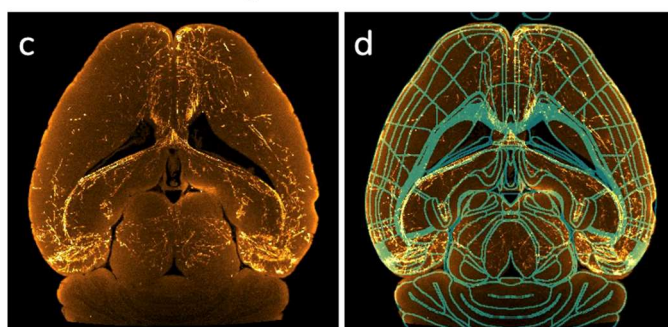
L'une des applications majeures concerne la cartographie de l'activité neuronale par visualisation de la protéine c-Fos, exprimée après activation des neurones (voir l'article de A Chancel et coll dans ce numéro). La transparisation associée à un immunomarquage c-Fos permet de visualiser et de quantifier l'ensemble des neurones activés dans un cerveau de souris entier (7). L'analyse automatisée et l'alignement sur un atlas offrent une représentation complète des réseaux fonctionnels impliqués dans des comportements spécifiques, tels que l'apprentissage, la réponse aux drogues, ou l'addiction. Les logiciels ClearMap (<https://github.com/ClearAnatomics/ClearMap>) ou DelivR (<https://discotechnologies.org/DELiVR/>) assurent l'ensemble de la procédure d'analyse.

Ces approches facilitent également l'étude de la connectivité anatomique cérébrale, grâce au suivi des projections axonales entre régions. On peut révéler la trajectoire continue des fibres et la topologie des circuits neuronaux, depuis leur origine jusqu'aux zones cibles. Alignées sur l'atlas de référence, ces cartes de

Atlas de cerveau de souris Allen CCFv3



Alignement sur atlas



Quantifications

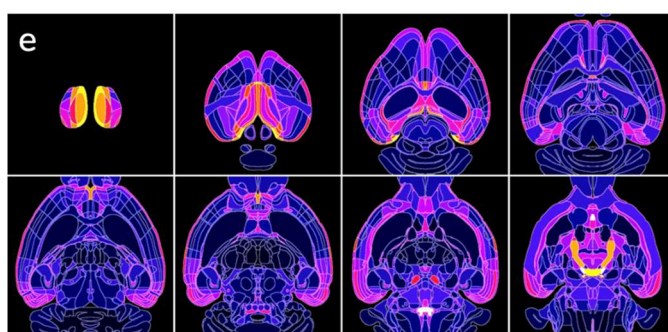


Figure 5 : atlas de cerveau et analyses quantitatives. (a) Exemple de régions du Allen brain atlas sur coupe 2D. (b) Représentation 3D de l'atlas. (c) Image d'un plan en microscopie à feuille de lumière (d) Alignement de l'image sur l'atlas. (e) Représentation des moyennes d'intensité par régions.

connectivité contribuent à la compréhension des réseaux et à la mise en relation de structure et fonction (8).

Le réseau vasculaire cérébral bénéficie aussi de ces avancées : il est possible de reconstruire le système capillaire et artériel dans son intégralité chez la souris. Ces cartes 3D facilitent l'étude du couplage neurovasculaire, des altérations ischémiques ou des remaniements liés au vieillissement et aux maladies neurodégénératives (9). Les solutions open source ClearMap ou Vessap (<https://www.discotechnologies.org/VesSAP/>) permettent ces analyses.

Enfin, la transparence s'impose dans l'exploration pathologique, pour la détection des plaques amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer, la présence de la protéine Spike du SARS-CoV-2 ou de tumeurs cérébrales. Ces approches permettent une analyse spatiale précise des lésions à l'échelle du cerveau entier et leur corrélation avec les réseaux neuronaux et vasculaires environnants.

Conclusion

Les techniques d'analyse unicellulaire ont révolutionné la compréhension de l'hétérogénéité cellulaire et la diversité fonctionnelle des tissus. Ces techniques telle que la cytométrie, le séquençage d'ARN unicellulaire, l'électrophysiologie, permettent de comprendre des processus biologiques complexes, en intégrant des données quantitatives sur ces systèmes biologiques. Associées à l'imagerie 3D, toutes ces approches vont permettre de comprendre de plus en plus précisément le fonctionnement du système nerveux, ces pathologies, et ouvriront de nouvelles voies thérapeutiques.

Cet article est un résumé non exhaustif des méthodes existantes d'imagerie tridimensionnelle. Dans l'objectif d'aider la communauté scientifique voulant utiliser ces approches d'imagerie, un groupe d'expert du réseau d'imagerie du RTmf du CNRS a mis à disposition plusieurs outils regroupés sur le site du RTmf (<https://rtmf.cnrs.fr/gt/gt-transparence/>)

chloe.chaumeton@sorbonne-universite.fr

jeremie.teillon@u-bordeaux.fr

david.godefroy@univ-rouen.fr

Références

- (1) Ueda HR, et al. (2020) Nat Rev Neurosci, 61-79.
- (2) Picot M, et al. (2025) Peptides, 190 :171417.
- (3) Yun DH, et al. (2025) Nat Biotechnol, Online ahead of print.
- (4) Kanatani S, et al. (2024) Science : 386, 907-915.
- (5) Adams MW, et al. (2015) Curr Protoc Cytom. ;71:12.37.1-12.37.15.
- (6) Vladimirov N, et al. (2024) Nat Commun 15(1):2679.
- (7) Renier N, et al. (2016) Cell, 1789-1802.
- (8) Friedmann D, (2020) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A, 117 (20) 11068-11075.
- (9) Kirst C, (2020) Cell, 180: 780-795.

Utilisation de l'imagerie CEST du glutamate pour l'étude des maladies neurodégénératives par IRM

JULIEN FLAMENT

CEA-MIRCen, 18 route du Panorama, 92260 Fontenay-aux-Roses, France

Intérêt de l'imagerie métabolique pour l'étude des maladies neurodégénératives

Parmi toutes les modalités d'imagerie, l'IRM est l'une des techniques les plus prometteuses pour suivre les maladies neurodégénératives chez les patients. En effet, la disponibilité croissante d'IRM à champ élevé permet d'acquérir des images à haute résolution du cerveau. De plus, l'IRM est capable de quantifier l'atrophie cérébrale ou les modifications des paramètres de relaxation qui sont à l'origine du contraste dans les images, ce qui aide beaucoup les cliniciens à établir un diagnostic avec une mesure objective et quantitative. Un bon exemple est la maladie de Huntington qui est caractérisée par une atrophie du striatum chez les patients. Cependant, de telles mesures macroscopiques sont peu spécifiques de la maladie car elles reflètent les conséquences à long terme de la pathologie. De plus, elles fournissent peu d'informations sur la voie biologique impliquée dans la pathologie. D'autres modalités telles que la spectroscopie RMN du ^1H sont capables de fournir des mesures plus spécifiques des processus biologiques relatifs à une population spécifique de cellules cérébrales. Toutefois, cette technique souffre d'une faible résolution spatiale dû à une sensibilité de détection très limitée. Par ailleurs, le temps d'acquisition des spectres *in vivo* étant relativement long, l'expérimentateur doit choisir en amont le positionnement du voxel dans lequel la mesure est réalisée, ce qui limite l'exploration de différentes zones du cerveau lors du même examen.

L'intérêt de l'IRM-CEST (pour *Chemical Exchange Saturation Transfer*) est de combiner les avantages de l'imagerie anatomique et de la spectroscopie RMN. On parle alors d'imagerie métabolique par IRM-CEST. Cette modalité d'imagerie par IRM propose la détection d'un panel relativement large de molécules impliquées dans le

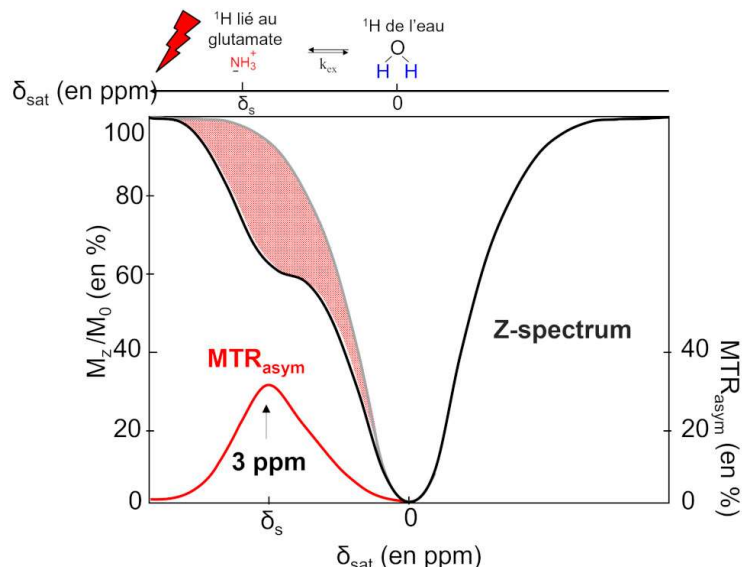
métabolisme cérébral. On peut notamment citer des molécules comme le glutamate, le glucose et la créatine, ou de façon plus anecdotique le lactate et le myo-inositol, même si pour ces deux derniers exemples, la sensibilité de détection et la faible spécificité de leur signal CEST limite leur intérêt *in vivo*. La possibilité de détecter ces molécules avec de très bonnes résolutions temporelle et spatiale permet d'imager de façon non-invasive l'évolution des différents taux métaboliques, ce qui est particulièrement important dans le cadre de maladies neurodégénératives où les concentrations de ces différents métabolites peuvent être impactées. En plus de l'intérêt indéniable que revêt cette mesure dans un cas pathologique, l'accès à ces informations permet également de mieux comprendre le fonctionnement des processus métaboliques dans le cerveau sain.

Par ailleurs, l'imagerie CEST est une méthode translationnelle. En effet, elle ne nécessite pas d'équipement particulier et peut être appliquée sur n'importe quel IRM. L'IRM-CEST des glioblastomes par exemple est particulièrement efficace, y compris sur des IRM 3T qui équipent la plupart des services hospitaliers. On notera toutefois que la détection de certaines molécules en IRM-CEST dépend du champ magnétique. Cependant, grâce à l'avènement des hauts champs magnétiques ($\geq 7\text{T}$), y compris pour les systèmes cliniques, la plupart des molécules citées précédemment peuvent être détectées *in vivo* dans des sujets allant de la souris à l'homme.

Principe de la méthode CEST

Le CEST est une modalité récente de contraste en IRM qui a été proposé pour détecter de manière indirecte des molécules diluées, classiquement indétectables en IRM

Figure 1 : Représentation schématique d'un Z-spectrum et d'un MTR_{asym} dans un cas simple à 2 groupes de protons en échange. L'éclair rouge représente l'irradiation radiofréquence. La zone en rosé représente le rapport asymétrique CEST attestant la spécificité de l'effet CEST observé (détail dans le texte).



conventionnelle (1). Certaines molécules possèdent des protons échangeables, tels que les groupes amine ($-NH_2$), amide ($-NH$) ou hydroxyle ($-OH$) qui sont en échange avec l'eau libre environnante. Ces protons, se trouvant dans un environnement chimique différent, présentent une fréquence de résonance décalée par rapport à celle des protons de l'eau libre. Ainsi, ces protons échangeables peuvent être saturés de manière sélective à l'aide d'une irradiation radiofréquence. La saturation permet de déphaser spécifiquement l'aimantation de ces protons, ce qui annule leur contribution au signal. La saturation est ensuite transférée à l'eau libre grâce à l'échange entre les protons du soluté et ceux de l'eau. Étant donné que la concentration de l'eau est bien plus élevée que celle du soluté (environ 110 M pour l'eau contre quelques mM pour le soluté), chaque proton saturé est remplacé par un « nouveau proton non saturé », qui est ensuite saturé à son tour, ce qui conduit à une amplification de la saturation. Par conséquent, une diminution du signal de l'eau libre (qui est à l'origine du signal mesuré en IRM) est observée lorsque la saturation est appliquée, créant ainsi un contraste par rapport au signal de référence sans saturation.

Dans une expérience CEST classique, plusieurs images sont acquises avec une irradiation radiofréquence (Figure 1, éclair rouge) appliquée à différentes fréquences de résonance. L'évolution du signal de l'eau libre (M_z), normalisé par le signal de référence (M_0) est tracée en fonction de la fréquence de saturation ; c'est ce que l'on appelle un Z-spectrum (Figure 1). Afin d'isoler l'effet CEST spécifique d'une molécule donnée, un rapport asymétrique CEST (MTR_{asym}, Figure 1, zone colorée) est calculé en soustrayant l'aimantation mesurée à une fréquence de saturation $M_z(\delta_{\text{sat}})$ de celle mesurée à la fréquence opposée $M_z(-\delta_{\text{sat}})$, le tout normalisé par M_0 :

$$\text{MTR}_{\text{asym}} = 100 \times (M_z(-\delta_{\text{sat}}) - M_z(\delta_{\text{sat}})) / M_0.$$

Par exemple, il a été démontré que le glutamate présente un effet CEST en raison d'un échange favorable entre les protons amine $-NH_3^+$ et ceux de l'eau libre à 3 ppm (2). On parle alors d'imagerie gluCEST.

Le glutamate comme biomarqueur précoce des maladies neurodégénératives

Le gluCEST est une technique très prometteuse, et de nombreuses applications ont été proposées depuis l'étude pionnière qui a permis d'établir pour la première fois la faisabilité de la mesure *in vivo* sur un modèle rongeur d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne et sur des sujets sains (2). En particulier, plusieurs travaux ont démontré la possibilité de détecter spécifiquement le glutamate par imagerie CEST, et de cartographier ses concentrations à haut champ magnétique (≥ 7 T), aussi bien chez l'homme que chez le rongeur (2,3), ainsi que dans la moelle épinière humaine. Cette technique a également été utilisée pour étudier les altérations du glutamate dans la maladie d'Alzheimer (4), chez des patients atteints d'épilepsie du lobe temporal (5), ou encore dans un contexte de réactivité astrocytaire induite par la transfection d'un vecteur lentiviral (6).

Dans la majorité de ces études, des variations concordantes du contraste gluCEST et des concentrations en glutamate mesurées par spectroscopie RMN du proton ont été rapportées, suggérant que les deux méthodes détectent le glutamate présent dans le même compartiment, à savoir le glutamate métabolique (le glutamate servant à la neurotransmission étant trop faiblement concentré pour être détectable). De plus, ces variations en glutamate étaient souvent associées à une diminution du N-acétyl-aspartate (NAA), un autre métabolite principalement localisé dans le compartiment neuronal. Ces observations renforcent l'hypothèse d'une

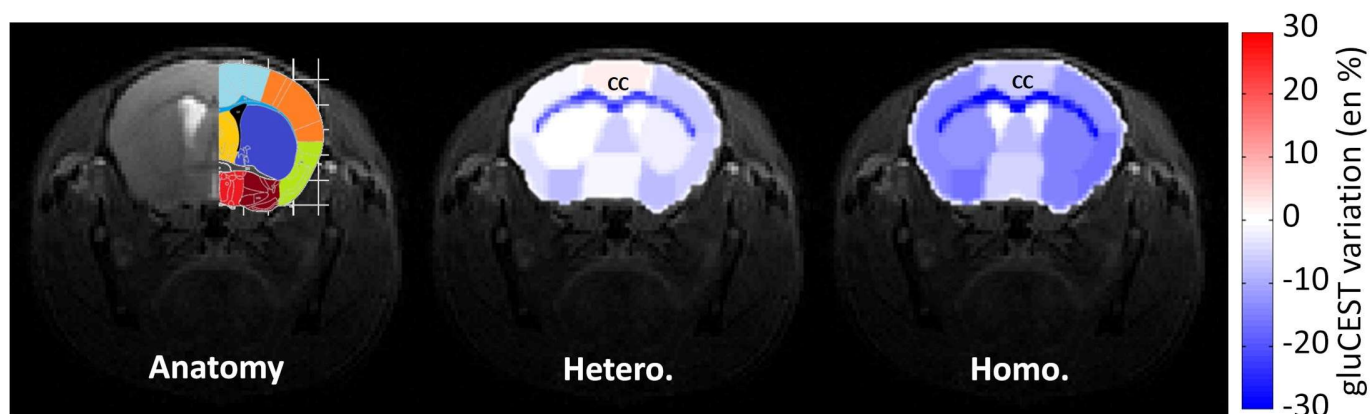


Figure 2 : Cartes de variations d'effet gluCEST mesurées dans le cerveau de souris Ki140CAG hétérozygotes (« Hetero » image du milieu) et homozygotes (« Homo » image de droite) pour le gène codant pour la huntingtine. Les régions d'intérêt sont représentées sur l'image de gauche « Anatomy ». CC corps calleux.

altération de l'intégrité ou du fonctionnement neuronal dans la plupart des pathologies étudiées.

Le principal avantage de l'imagerie gluCEST par rapport à la ^1H -MRS réside dans sa meilleure résolution spatiale, typiquement du même ordre de grandeur que les IRM classiques (environ 200 μm), permettant d'évaluer les altérations du glutamate dans l'ensemble du cerveau, y compris dans des structures de petite taille. Cet avantage a été particulièrement mis en évidence dans une étude récente ayant exploré l'imagerie gluCEST comme biomarqueur potentiel de la maladie de Huntington (7). Dans cette étude, un modèle murin knock-in de la maladie (Ki140CAG) a été utilisé pour évaluer les altérations du glutamate cérébral, non seulement dans le striatum — région classiquement atteinte dans la maladie de Huntington — mais aussi dans d'autres structures cérébrales. Ce modèle, caractérisé par une progression lente des symptômes, incluait des souris hétérozygotes et homozygotes pour le gène muté codant la huntingtine, la protéine à l'origine de la maladie de Huntington, comparées à leurs congénères non-transgéniques, afin d'évaluer l'influence du génotype sur les variations du glutamate.

Dans les deux groupes mutés, les niveaux de gluCEST étaient globalement plus faibles que chez les animaux témoins, dans la majorité des régions. Cependant, grâce à la bonne résolution spatiale, le cerveau a pu être segmenté en différentes régions d'intérêt (Figure 2, image de gauche). Afin d'évaluer l'imagerie gluCEST comme biomarqueur potentiel dans la maladie de Huntington, les contrastes gluCEST ont été comparés entre souris contrôles et hétérozygotes (Figure 2, image centrale), puis entre souris contrôles et homozygotes (Figure 2, image de droite). En plus d'une diminution globale du contraste gluCEST dans l'ensemble du cerveau, le résultat le plus marquant fut la baisse forte et significative des niveaux de glutamate dans le corps calleux, observée

à la fois chez les souris homozygotes et hétérozygotes. Un tel résultat, inattendu, suggère que le corps calleux, structure reliant les deux hémisphères cérébraux, pourrait être particulièrement vulnérable dans la maladie de Huntington. Ces travaux ont ensuite été confirmés par une autre étude menée sur une autre cohorte de souris Ki140CAG et ont également mis en évidence que le signal gluCEST était même un biomarqueur plus précoce de modifications liées à la maladie de Huntington que des biomarqueurs traditionnellement utilisés comme l'atrophie du striatum (8).

Vers un outil d'imagerie quantitatif

L'imagerie gluCEST offre un fort potentiel comme outil de diagnostic, et sa capacité de quantification peut être optimisée en tenant compte de différents paramètres, particulièrement *in vivo*. Par exemple, les contributions d'autres groupes de protons ou de molécules comme la créatine, enrichissent le signal global et peuvent être intégrées dans l'analyse pour isoler plus précisément l'effet CEST spécifique du glutamate.

Un outil de quantification reposant sur l'ajustement des Z-spectra expérimentaux à l'aide d'un modèle d'échange de protons a été proposé récemment (9). Il permet de prendre en compte ces effets concomitants et d'obtenir une carte quantitative de distribution du glutamate dans le cerveau. Comparée au contraste gluCEST conventionnel, cette cartographie quantitative de glutamate permet une identification plus fiable de la répartition du glutamate dans plusieurs régions cérébrales et fournit une mesure plus universelle que le MTRasym. Ainsi, cela ouvre de nombreuses perspectives à l'imagerie gluCEST comme modalité d'imagerie moléculaire quantitative utilisable pour le suivi des maladies neurodégénératives, pour la compréhension des mécanismes pathologiques impliqués dans ces maladies ou encore comme

biomarqueur pertinent pour tester l'efficacité thérapeutique de futurs traitements.

julien.flament@cea.fr

Références

- (1) Ward K.M. et al. (2000). JMR 143 (1):79-87
- (2) Cai K. et al. (2012). Nat Med 18 (2):302-306
- (3) Cai K. et al. (2013). NMR Biomed 26 (10):1278-1284
- (4) Crescenzi R. et al. (2014). Neuroimage 101:185-192
- (5) Davis K.A. et al. (2015). Sci Transl Med 7 (309):309ra161
- (6) Carrillo-de Sauvage M.A. et al. (2015). JCBFM 35 (6):917-921
- (7) Pepin J. et al. (2016). Neurolmage 139:53-64
- (8) Pérot J.B. et al. (2022). Hum Mol Genet 31(21):3581–3596
- (9) Maguin C. et al. (2025). MRM 93 (3): 1394-1410

Comprendre le plissement cortical : la piste développementale

OLIVIER COULON, JULIEN LEFEVRE, AURELIE MANCHON, NADINE GIRARD, GUILLAUME AUZIAS

Institut de Neurosciences de la Timone, Aix-Marseille Université, CNRS UMR 7289, Marseille

Le plissement cortical : complexe et variable

Le cortex cérébral, qui constitue la couche externe des hémisphères cérébraux, présente une géométrie très convoluée constituée de sillons, en creux, séparés par des gyri, en relief. Ce plissement est constitué de motifs extrêmement variables au sein de la population. Les sillons corticaux présentent une variabilité géométrique, dans leur forme, mais aussi topologique : un sillon peut être continu en un seul morceau chez un individu, mais subdivisé en plusieurs morceaux chez d'autres individus. Les sillons ont parfois des branches latérales, variables en nombre et forme, et leur relation avec les sillons environnants est elle-même variable (figure 1).

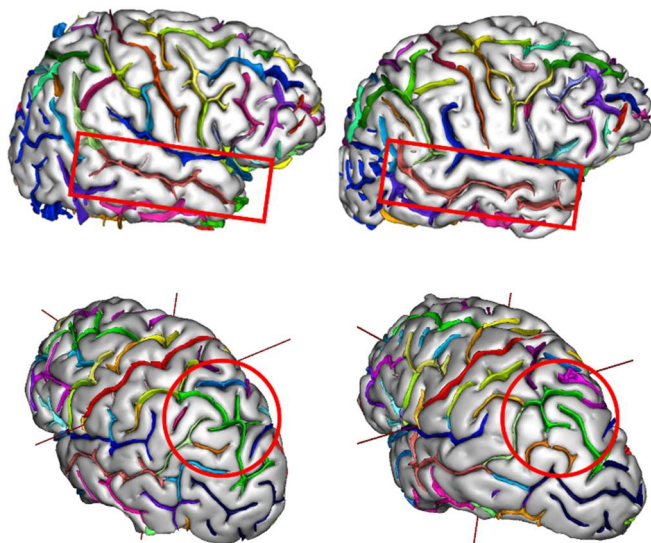


Figure 1 : variabilité corticale. Le sillon temporal supérieur (haut) varie en forme et topologie. La fissure intra-pariétale (bas) varie également en termes de motif et de relations avec les plis voisins.

Cette très forte variabilité inter-individuelle pose nombre de questions. La valeur de ces plis a été débattue : ne sont-ils que le fruit du hasard de la mécanique développementale ou peuvent-ils être des marqueurs délimitant des aires cytoarchitectoniques ou fonctionnelles ? Comment caractériser un intervalle de variabilité 'normale' pour pouvoir détecter des motifs considérés comme anormaux ? De manière générale, que nous dit le plissement cortical sur l'organisation anatomo-fonctionnelle cérébrale ? Comment nommer ces plis de manière cohérente à travers des groupes d'individus, et avec quel niveau de détail ?

Les neurosciences ont répondu partiellement à ces questions. Il est établi qu'il existe des liens entre la morphologie de certains sillons, et les motifs qu'ils forment, et des spécificités fonctionnelles ou pathologies. Par exemple, la forme du sillon central est liée à la latéralité manuelle, la morphologie du sillon cingulaire antérieur et du sillon occipito-temporal sont liées à la capacité d'apprentissage de l'écriture et de la lecture chez les enfants, et des motifs inhabituels de plissement ont été associés à des pathologies comme l'autisme ou la schizophrénie. Derrière ces quelques exemples se trouve une littérature de plus en plus fournie démontrant l'intérêt du plissement cortical comme moyen d'accès aux fonctions, à la connectivité de la matière blanche, ou à certaines pathologies (1). Par ailleurs, il a également été proposé que derrière la forte variabilité apparente des motifs de plis corticaux se cache une organisation non aléatoire et commune à tous les individus, un schéma général autour duquel s'organise la variabilité (2).

Comprendre l'origine et la signification de ces variations est un axe de recherche central en neurosciences, avec de fortes retombées médicales.

Le plissement comme marqueur du développement cérébral fœtal

Une approche pour répondre à ces questions consiste à étudier la formation des plis du cortex aux premiers stades du développement cérébral, lorsque la géométrie du cortex passe d'une surface lisse, semblable entre les individus autour de la 20ème semaine de grossesse, à une surface très convoluée et variable à la 40ème semaine, terme de la grossesse. Ce phénomène est désigné par le terme de *gyrification*. A la naissance, les motifs formés par les plis corticaux sont déjà très similaires à ceux observés à l'âge adulte. La maturation cérébrale postnatale induit des changements importants dans l'organisation fonctionnelle mais ces changements n'affectent pas vraiment la géométrie du cortex. Notamment, la forme générale et les positions relatives des sillons corticaux ne changent pas après la naissance (3).

Ainsi, une anomalie de plissement pourrait être le marqueur d'un problème développemental prénatal (comme le sont par exemple certaines dysplasies corticales), et une meilleure compréhension du processus de gyrification pourrait aider à déterminer la fenêtre temporelle pendant laquelle le problème a eu lieu.

Par ailleurs, si l'on veut comprendre la variabilité inter-individuelle du plissement cortical et qualifier les formes qu'elle prend, il est important d'une part d'observer le cerveau pendant que cette variabilité émerge, c'est-à-dire pendant la deuxième moitié de la grossesse, d'autre part de déterminer quels sont les facteurs mécaniques, génétiques, ou physiologiques qui gouvernent le processus de gyrification. A cette fin, l'imagerie cérébrale fœtale devient essentielle.

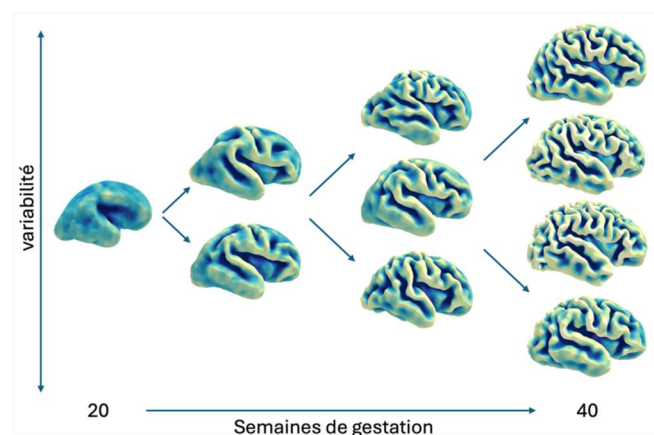


Figure 2 : Surfaces corticales reconstruites à partir d'IRM fœtales. La gyrification se complexifie et les variations inter-individuelles émergent entre la 20ème et la 40ème semaine.

Observer le développement fœtal avec l'imagerie par résonance magnétique

Si l'échographie est de loin la technique d'observation *in utero* la plus répandue et utilisée en routine clinique depuis de nombreuses années, elle reste limitée dans sa capacité à caractériser subtilement les tissus cérébraux. L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), moins courante, permet d'imager les tissus cérébraux dans tout le cerveau avec une meilleure précision, et autorise l'observation de paramètres variés tels que l'anatomie des tissus mais aussi leur microstructure et la connectivité cérébrale avec l'IRM de diffusion, les fluctuations spontanées d'activité avec l'IRM fonctionnelle, ou la composition chimique des tissus avec la spectroscopie par résonance magnétique. Une IRM peut donc être proposée en complément de l'échographie lorsque les signes d'une malformation cérébrale sont détectés. L'IRM fœtale est complexe et soumise à de fortes contraintes techniques liées aux mouvements du fœtus et à la taille de son cerveau, mais grâce à l'utilisation jointe de techniques d'acquisitions rapides et de méthodes de reconstruction dédiées, il est possible de produire des images tri-dimensionnelles du cerveau fœtal avec une résolution inférieure au millimètre.

Ainsi, il existe maintenant des bases de données d'images cérébrales acquises à des fins de recherche, comme par exemple le *developmental Human Connectome Project*, qui propose une base de données fœtales (N=273) et néonatales (N=783) (dHCP, <https://www.developingconnectome.org/>), mais aussi acquises dans un cadre clinique, comme la base *MarsFet*, construite à partir de 2500 IRM acquises entre 2008 et 2022 dans les hôpitaux de Marseille (4).

Caractériser la géométrie des plis corticaux

Comme illustré en figure 2, des outils d'analyse d'image permettent d'extraire la surface du cortex à partir de l'IRM de chaque sujet. Cette surface peut alors être utilisée pour quantifier le plissement et évaluer son développement.

Dans un premier temps, le plissement cortical peut être caractérisé via des mesures locales et fréquentielles. On peut mobiliser des notions de courbure mathématique ou de profondeur pour extraire une description en tout point de l'intensité du plissement mais également de sa forme. La forme locale de la géométrie a un lien assez étroit avec des observations empiriques, par exemple les points les plus profonds s'apparentent au concept de "sulcal pits" ou "racines sulcales" qui correspondraient à des endroits spécifiques à partir duquel le développement cérébral s'organise (2). Il est possible aussi d'obtenir une décomposition fréquentielle du plissement, à l'instar de la

décomposition d'un signal audio ou EEG en bandes de fréquences. Cette analogie est à la fois bien fondée mathématiquement et féconde pour caractériser l'apparition de différentes vagues de plissement (5).

A côté de cette description fixe dans le temps, existent aussi des outils statistiques qui rendent compte de l'évolution temporelle des caractéristiques du plissement cortical. En statistique, les modèles normatifs permettent de construire des trajectoires développementales dans une population contrôle, et en particulier d'accéder à la variabilité "normale", semblables aux courbes de taille ou de poids des carnets de santé. A l'aide de grandes bases de données développementales il est possible de construire différentes courbes normatives pour des descripteurs globaux (volume ou aire du cortex, indice de gyrification quantifiant le plissement), locaux ou fréquentiels (4). La figure 3 montre ainsi des courbes normatives de l'indice de gyrification. L'intérêt de tels modèles se situe dans leur pouvoir prédictif avec des perspectives cliniques évidentes. En revanche, le pouvoir explicatif de ces modèles est plus limité et si on veut comprendre le phénomène de plissement, d'autres outils sont à mobiliser.

Modéliser le processus de gyrification

La gyrification est un exemple frappant de phénomène de morphogénèse qui pose la question de l'origine des formes, au sein d'un individu ou au travers des espèces et de leur évolution. Distinguer la part purement génétique et celle qui relève de contraintes physiques remonte au moins jusqu'à Darcy Thompson (On Growth and Form, 1917). Pour ce qui concerne l'apparition rapide des plis du cerveau, les hypothèses proposées ont été nombreuses et peuvent être regroupées en 3 catégories : le plissement serait le résultat de contraintes mécaniques dues à la croissance globale du cerveau (6) ; il serait génétiquement déterminé par une carte spatiale (7) ; il surviendrait au travers de tensions exercées le long des connexions axonales entre neurones (8). La littérature

scientifique montre des positionnements tranchés mais aussi des tentatives de conciliation des différentes hypothèses (8). Pour aller plus loin dans cette exploration, le développement de modèles computationnels a gagné en popularité, en particulier en testant les hypothèses sous-jacentes à l'aide de données réelles obtenues en IRM (6) (Figure 3) ou en histologie. Les principaux défis pour la suite concernent : le choix de métriques/descripteurs du plissement pertinents pour la validation ; la prise en compte de différentes échelles dans les simulations numériques ; et l'incorporation de données multimodales permettant l'accès à différents niveaux de résolution. Le développement de ces modèles pose aussi en creux la question de la finalité recherchée : s'agit-il d'avoir une compréhension sur les mécanismes fondamentaux ou de prédire l'évolution future d'une anatomie cérébrale, avec des visées cliniques ?

Perspectives

Si la compréhension du processus de gyrification progresse, un grand nombre de questions et perspectives restent ouvertes.

Les bases de données disponibles actuellement échantillonnent essentiellement les 20 dernières semaines de gestation avec un grand nombre d'individus ayant été imagés une seule fois, parfois deux. Par nature, deux phénomènes sont indissociables dans ces bases de données : le développement individuel, et l'émergence des variations inter-individuelles. Pour séparer ces deux phénomènes et améliorer leur compréhension, il faudrait idéalement des bases de données longitudinales pour lesquelles chaque individu est imagé de manière répétée, si possible fréquemment pour décrire au mieux les phénomènes développementaux individuels. Si la construction d'une telle base de données est difficile chez l'humain pour des raisons pratiques et éthiques, le primate non-humain est une voie de plus en plus explorée. On peut citer par exemple le projet BaboFet (<https://anr.fr/Projet-ANR-23-CE37-0009>) dont un des

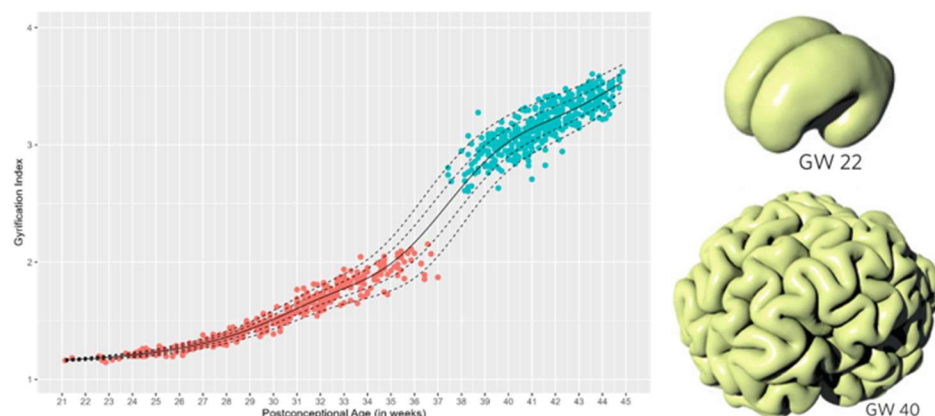


Figure 3 : A gauche : index de gyrification corticale en fonction de l'âge (rouge : prénatal ; bleu : postnatal), avec courbes normatives. A droite : simulation d'un cortex de 40 semaines à partir d'un cortex initial de 22 semaines.

objectifs est la constitution d'une base longitudinale chez le babouin, pour laquelle 10 fœtus sont scannés une fois par semaine pendant toute la deuxième moitié de gestation. Une telle base pourra permettre de décrire finement le développement cortical individuel, de comparer les trajectoires individuelles pour caractériser l'émergence de la variabilité, mais aussi de valider des modèles de développement ou d'inférer les paramètres de tels modèles.

La question de l'organisation corticale et de la mise en place d'un schéma de plissement commun à tous les individus autour duquel la variabilité inter-individuelle viendrait s'installer reste ouverte. La modélisation explicite des sillons corticaux et de leurs relations spatiales à tous les stades de développement, par exemple sous forme de graphes, associée à des techniques d'apprentissage statistique, est une voie prometteuse pour avancer sur ce sujet.

La nature multimodale de l'IRM en fait une technique de choix pour étudier non seulement le versant anatomique des phénomènes développementaux mais aussi son interaction avec d'autres aspects tels que l'émergence de l'activité fonctionnelle spontanée avec l'IRM fonctionnelle, la maturation de la matière blanche et la mise en place des grands réseaux de connectivité structurelle avec l'IRM de diffusion.

L'ensemble des questions et recherches abordées ici ont des implications cliniques plus ou moins directes. D'abord la modélisation 'normative' de l'évolution d'un certain nombre de paramètres liés au développement du cerveau peut aider au diagnostic précoce de certaines pathologies (e.g. agénésies du corps calleux, polymicrogyries, retard de croissance intra-utérin). Ceci ne pourra être fait qu'en complément de toutes les autres mesures cliniques obtenues par échographie ou après analyses biologiques.

Par ailleurs, ces recherches sont potentiellement importantes pour mieux comprendre un certain nombre de pathologies psychiatriques et neurodéveloppementales dont on sait qu'elles sont associées à des anomalies de plissement, comme par exemple certaines formes de schizophrénie.

Enfin, ces recherches doivent nous aider à mieux définir la notion de développement normal, avec les enjeux éthiques qui en découlent.

olivier.coulon@univ-amu.fr
julien.LEFEVRE@univ-amu.fr
Aurelie.MANCHON@ap-hm.fr
nadine.girard@ap-hm.fr
Guillaume.AUZIAS@univ-amu.fr

Références

- (1) Mangin, J.-F., et al (2010). *Current Opinion in Neurology*, 23(4), 359–367. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32833a0afc>
- (2) Régis, J. et al. (2005). *Neurologia Medico-Chirurgica*, 45(1), 1–17. <https://doi.org/10.2176/nmc.45.1>
- (3) Dubois, J. et al. (2008). *Brain*, 131(8), 2028–2041. <https://doi.org/10.1093/brain/awn137>
- (4) Mihailov, A et al. (2025). *Communications Biology*, 8(1), 805. <https://doi.org/10.1038/s42003-025-08155-z>
- (5) Dubois, J. et al. (2019). *NeuroImage*, 185, 934–946. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.03.005>
- (6) Tallinen, T. et al. (2016). *Nature Physics*. <https://doi.org/10.1038/nphys3632>
- (7) Rakic, P. (1988). *Science*, 241, 170–176.
- (8) van Essen, D. C. (2023). *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 140, 90–104. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.06.007>

Stimulation ultrasonore transcrânienne : une avancée majeure pour la neuromodulation ciblée en psychiatrie et en neurologie

JEAN-FRANÇOIS AUBRY, MOHAMMED BASHAIWETH

*Institute Physics for Medicine Paris, Inserm U1273, ESPCI Paris,
PSL University, CNRS UMR 8063, 75015 Paris, France*



La stimulation ultrasonore transcrânienne, ou TUS pour l'acronyme anglais, est une technique de neuromodulation non invasive qui permet de cibler avec une précision millimétrique les circuits cérébraux, y compris ceux situés en profondeur. Cette approche ouvre des perspectives thérapeutiques inédites pour des pathologies psychiatriques résistantes aux traitements conventionnels ou encore certains troubles neurologiques. Les études cliniques récentes montrent des résultats encourageants, mais soulignent également l'importance cruciale de corriger les aberrations induites par le crâne pour garantir une précision et une efficacité optimales. Cet article explore les fondements technologiques de la TUS et ses applications cliniques émergentes.

Les techniques de neurostimulation : état des lieux et limites

Les pathologies résistantes aux médicaments, qu'il s'agisse de dépression sévère, d'épilepsie réfractaire ou de maladies neurodégénératives comme Parkinson, représentent un enjeu majeur de santé publique. Plusieurs techniques de neurostimulation ont été développées pour répondre à ces résistances médicamenteuses, mais chacune présente des limites spécifiques (Figure 1).

La stimulation cérébrale profonde (DBS) est la référence pour les troubles moteurs sévères comme le tremblement Parkinsonien ou le tremblement essentiel. Cette technique, qui consiste à implanter des électrodes

dans des noyaux cérébraux profonds, permet une modulation ciblée et ajustable des circuits neuronaux. Les résultats cliniques sont souvent spectaculaires, avec une amélioration durable des symptômes moteurs (1). Cependant, la DBS reste une intervention invasive, associée à des risques de complications chirurgicales certes rares, mais non négligeables comme des infections ou des hémorragies cérébrales. L'électroconvulsivothérapie (ECT), reste l'une des méthodes les plus efficaces pour les dépressions sévères, avec des taux de rémission pouvant atteindre 80 %. Cependant, ses effets secondaires cognitifs, notamment les troubles de la mémoire rétrograde, ainsi

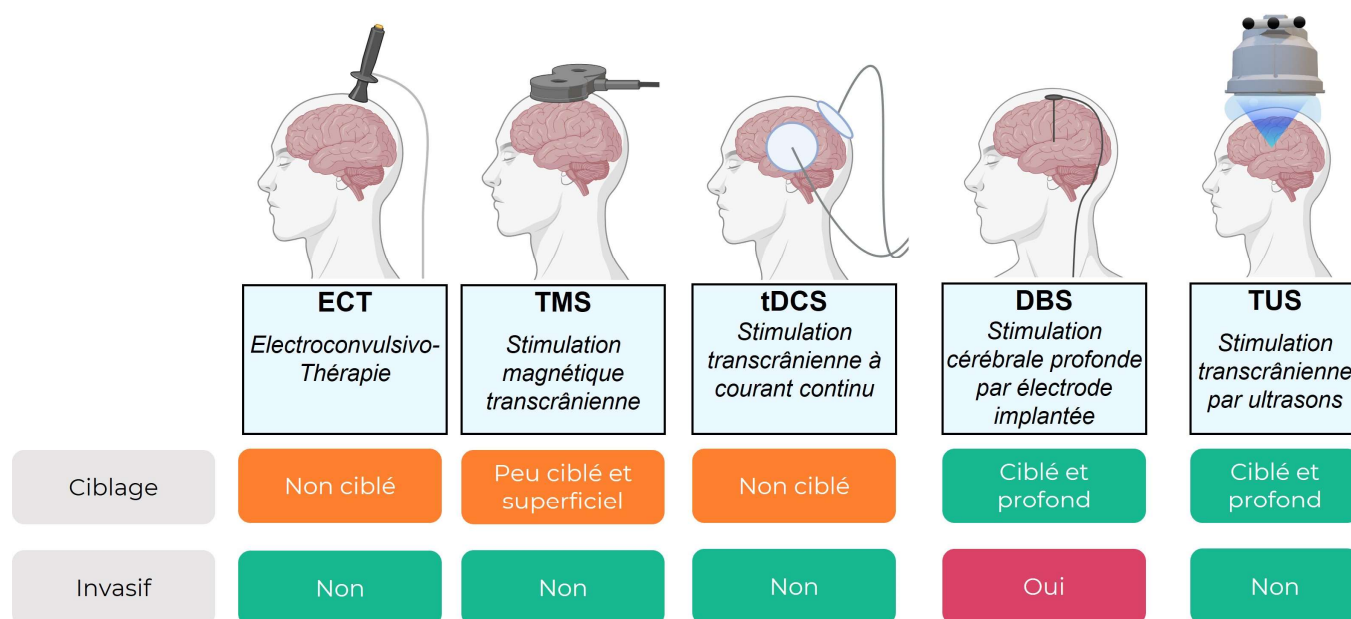


Figure 1: Les différentes techniques de neurostimulation (images réalisées avec Biorender)

que la nécessité d'une anesthésie générale à chaque séance, en limitant l'acceptabilité et l'usage répété. La stimulation magnétique transcrânienne répétitive (TMS), offre une alternative non invasive et mieux tolérée, mais comme la longueur d'ondes des impulsions électromagnétiques est supérieure aux dimensions de la tête humaine, cette technique reste intrinsèquement limitée aux cibles corticales et avec une résolution spatiale de quelques centimètres carrés (2). La stimulation transcrânienne à courant continu (tDCS), bien que simple à mettre en place et peu coûteuse, souffre également d'un manque de résolution et d'une pénétration superficielle, ne permettant pas d'atteindre les structures profondes impliquées dans de nombreuses pathologies (3).

Face à ces limites, la stimulation ultrasonore transcrânienne (TUS) émerge comme une alternative prometteuse. Cette technique combine en effet une précision de ciblage millimétrique, comparable à celle de la DBS, avec une approche non invasive et réversible. Les ondes ultrasonores peuvent être focalisées sur des structures cérébrales profondes avec une limite de résolution égale à la longueur d'onde, soit 1.5 mm à une fréquence typique de 1MHz, ouvrant ainsi la voie à des applications thérapeutiques inédites.

La neurostimulation ultrasonore : principes et preuves précliniques

Les travaux pionniers des frères Franck et William Fry dans les années 1950 ont démontré qu'une exposition focalisée d'ultrasons sur le noyau géniculé latéral

pouvait moduler transitoirement l'activité neuronale dans le cortex visuel primaire (4). Les preuves précliniques de l'efficacité thérapeutique de la TUS se sont accumulées au fil des années. Chez le rongeur, des protocoles de stimulation ultrasonore ont permis de réduire les comportements anxieux dans des modèles de stress chronique. Chez le primate non humain, des études ont démontré la possibilité de moduler sélectivement l'activité de régions cérébrales spécifiques, comme le cortex moteur ou l'amygdale (5), avec une précision comparable à celle obtenue par des méthodes invasives. Des décennies de recherche préclinique ont permis de mieux comprendre les mécanismes d'action de cette technologie. Les ultrasons agissent principalement par des effets mécaniques sur les membranes neuronales. Les ondes acoustiques induisent une déformation mécanique qui active des canaux ioniques mécanosensibles comme Piezo1 et Piezo2 (6). Cette activation déclenche alors des potentiels d'action. Malheureusement, le transfert chez l'homme de ces avancées précliniques a longtemps buté sur l'élément clef qui protège le cerveau humain des chocs mécaniques : le crâne.

La stimulation ultrasonore transcrânienne : défis technologiques et solutions

Le crâne humain réfléchit, réfracte et atténue profondément les ondes ultrasonores (7), principalement en raison du fait que la vitesse de propagation des ultrasons est deux fois plus importante dans l'os que dans les tissus mous. Selon les zones de

crânes traversées, les ultrasons sont plus ou moins accélérés, et les déphasages correspondants décalent le foyer acoustique par rapport à la cible visée. Des études ont montré que ce décalage pouvait atteindre jusqu'à 28 millimètres (8), ce qui est supérieur à la taille de nombreuses structures cérébrales d'intérêt thérapeutique. Cet effet est moindre chez les rongeurs et les primates non humain dont l'épaisseur de crâne est moindre (et en particulier inférieure à la longueur d'onde).

Pour surmonter ce défi chez l'homme, plusieurs stratégies de correction des aberrations crâniennes ont été développées. Elles reposent toutes sur la modélisation de la propagation des ultrasons à travers le crâne à partir d'images médicales : soit à partir de scanner tomodensitométrique, soit d'IRM à court temps d'écho qui permettent de remonter à une estimation de la densité osseuse. Ces modélisations permettent d'anticiper l'effet du crâne et de mettre en forme les ondes ultrasonores pour contrebalancer cet effet. Pour compenser l'accélération de l'onde par le crâne, plusieurs approches ont été proposées pour imposer des retards de phase appropriés. Historiquement, la première approche a consisté à fabriquer des réseaux de transducteurs composés de plusieurs centaines, voire milliers d'éléments, afin d'imposer des retards temporels sur chacun des éléments (9) (Figure 2, gauche). Ces réseaux de transducteurs offrent un contrôle fin du faisceau ultrasonore, mais leur complexité technique et leur coût en limitent encore l'accessibilité. Une alternative émergente repose sur l'utilisation de lentilles acoustiques personnalisées, fabriquées par impression 3D à partir des caractéristiques anatomiques individuelles du crâne du patient. Ces lentilles, placées devant un transducteur

mono-élément corrigent les distorsions de phase et permettent d'atteindre la même précision de ciblage que systèmes multi-éléments (10) (Figure 2, droite).

Applications cliniques en psychiatrie : des résultats prometteurs

Les troubles psychiatriques, et en particulier les formes résistantes aux traitements médicamenteux, représentent un domaine d'application privilégié pour la TUS. Plusieurs essais cliniques ont ainsi évalué son efficacité dans la dépression sévère, les troubles anxieux et la schizophrénie, avec des résultats encourageants (8).

Dans le domaine de la dépression résistante, une étude publiée en 2025 a montré qu'une stimulation ciblant le cortex cingulaire sous-callosal permettait de réduire de 61% les scores de dépression évalués par l'échelle MADRS¹, avec une rémission complète chez certains patients, après cinq jours de traitement, et à raison de 5 séances de TUS par jour (8). La durée de réduction des symptômes était de 15 jours. La limitation dans la durée était attendue puisqu'il s'agissait d'une première cure. Au fur et à mesure du développement de la technique, des séances de consolidation seront à envisagées, tout comme cela est actuellement le cas à la suite des traitements par ECT.

Pour les troubles anxieux, une étude pilote menée en 2023 a évalué l'effet d'une stimulation de l'amygdale droite chez vingt-cinq patients souffrant d'un trouble anxieux généralisé résistant, à raison d'une séance de 10 min de TUS par semaine pendant 8 semaines. Les résultats ont montré une diminution significative de 38% des scores d'anxiété, avec huit patients atteignant une rémission complète des symptômes à la fin du traitement, mais aucun suivi après traitement n'a été rapporté (8). Dans la schizophrénie, une approche similaire ciblant le cortex dorsolatéral préfrontal a permis d'améliorer les symptômes négatifs (8), souvent les plus difficiles à traiter avec les antipsychotiques classiques.

Ces résultats, bien que préliminaires, suggèrent que la TUS pourrait devenir une option thérapeutique majeure pour les patients ne répondant pas aux traitements conventionnels. Ils soulignent également l'importance de personnaliser les cibles de stimulation en fonction des profils symptomatiques individuels, une approche

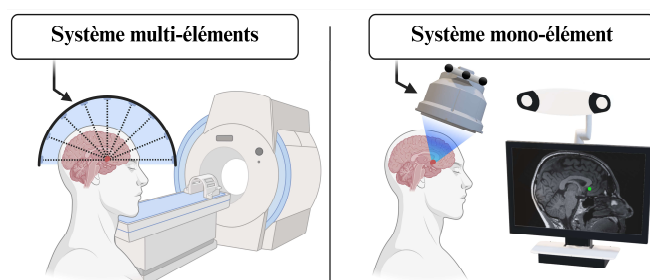


Figure 2 : Les deux principales approches pour corriger les aberrations induites par le crâne. Gauche : système multi-éléments, généralement guidés par IRM. Droite : système mono-élément avec lentille acoustique, généralement guidés par neuronavigateur (images réalisées avec Biorender).

¹ Évaluant la tristesse apparente, la tristesse décrite, la tension intérieure, le sommeil, l'appétit, la concentration, la lassitude, la capacité à ressentir, les pensées pessimistes et les idées de suicide.

rendue possible par la précision millimétrique de cette technique.

Applications dans les troubles neurologiques : vers une alternative à la DBS ?

Les troubles moteurs, et en particulier le tremblement essentiel et le tremblement parkinsonien, représentent un autre domaine d'intérêt pour la TUS. Trois essais cliniques publiés entre 2024 et 2025 ont spécifiquement étudié l'effet de la TUS sur le tremblement essentiel, une pathologie caractérisée par des tremblements involontaires des membres supérieurs, souvent résistante aux médicaments. Dans la première de ces études, neuf patients présentant un tremblement essentiel sévère ont reçu une session unique de stimulation ultrasonore dans le thalamus. Les résultats ont montré une réduction supérieure à 89 % de l'intensité du tremblement, avec un effet durable observé jusqu'à 30 minutes après la stimulation (11). D'autres études ont depuis reproduit ces résultats et de nouveaux essais cliniques cherchent maintenant à prolonger les effets dans le temps par des stimulations répétées, dans le but, à terme, de proposer une alternative à la DBS.

Dans le domaine de l'épilepsie pharmacorésistante, des résultats prometteurs ont été obtenus avec une réduction de 50 % de la fréquence des crises chez cinq patients sur six après 6 stimulations de l'hippocampe, à raison de 2 stimulations par semaine pendant 3 semaines. Ces effets étaient associés à des modifications du réseau du mode par défaut identifié sur les IRM fonctionnelle au repos avant et après traitement, suggérant que l'imagerie IRM fonctionnelle au repos pourrait fournir une signature de l'efficacité du traitement par TUS.

Conclusion : la TUS, un nouvel outil pour une médecine de précision

La stimulation ultrasonore transcrânienne représente une avancée majeure dans le domaine de la neuromodulation thérapeutique. Ses caractéristiques uniques, à savoir une précision de ciblage millimétrique et une capacité à atteindre des structures cérébrales profondes de manière non invasive en font un outil particulièrement adapté aux défis posés par les troubles psychiatriques et neurologiques résistants. Les résultats cliniques obtenus jusqu'à présent, bien que préliminaires, sont extrêmement encourageants, notamment dans le tremblement essentiel et la dépression.

Cependant, plusieurs défis doivent encore être relevés pour permettre une adoption large de cette technologie en émergence. Le premier concerne la standardisation des protocoles de stimulation. Un consortium international ITRUSST (International Transcranial Ultrasonic Stimulation Safety and Standards) a récemment publié des consensus sur la standardisation des paramètres acoustiques et sur la sécurité biophysique de la TUS pour harmoniser les pratiques, faciliter les comparaisons entre études, et fixer des limites de sécurité.

Le second défi majeur réside dans la généralisation des techniques de correction des aberrations crâniennes, qui doivent assurer la précision du ciblage tout en gardant une grande facilité d'utilisation. Enfin, des essais cliniques multicentriques, randomisés et contrôlés par placebo, en double aveugle, seront nécessaires pour confirmer l'efficacité de la TUS dans différentes indications. Plusieurs de ces essais sont actuellement en cours, notamment dans la dépression résistante, et leurs résultats devraient fournir des données plus robustes sur le rapport bénéfice-risque de cette approche.

jean-francois.aubry@espci.fr
mohammed.bashaiweth@espci.fr

Références

- (1) Lozano AM, Lipsman N, Bergman H, Brown P, Chabardes S, Chang JW, et al. Deep brain stimulation: current challenges and future directions. *Nat Rev Neurol* 2019;15:148–60. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0128-2>.
- (2) Heller L, van Hulsteyn DB. Brain stimulation using electromagnetic sources: theoretical aspects. *Biophys J* 1992;63:129–38. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(92\)81587-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(92)81587-4).
- (3) Brunoni AR, Nitsche MA, Bolognini N, Bikson M, Wagner T, Merabet L, et al. Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): Challenges and future directions. *Brain Stimulat* 2012;5:175–95. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2011.03.002>.
- (4) Fry FJ, Ades HW, Fry WJ. Production of Reversible Changes in the Central Nervous System by Ultrasound. *Science* 1958;127:83–4. <https://doi.org/10.1126/science.127.3289.83>.
- (5) Folloni D, Verhagen L, Mars RB, Fouragnan E, Constans C, Aubry J-F, et al. Manipulation of Subcortical and Deep Cortical Activity in the Primate Brain Using Transcranial Focused Ultrasound Stimulation. *Neuron* 2019;101:1109–1116.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.01.019>.
- (6) Qiu Z, Guo J, Kala S, Zhu J, Xian Q, Qiu W, et al. The Mechanosensitive Ion Channel Piezo1 Significantly Mediates In Vitro Ultrasonic Stimulation of Neurons. *iScience* 2019;21:448–57. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.10.037>.
- (7) Fry FJ, Barger JE. Acoustical properties of the human skull. *J Acoust Soc Am* 1978;63:1576–90. <https://doi.org/10.1121/1.381852>.

(8) Attali D, Daniel M, Plaze M, Aubry J-F. Strengths and weaknesses of transcranial ultrasound stimulation and its promise in psychiatry: an overview of the technology and a systematic review of the clinical applications. *Int J Hyperthermia* 2025;42:2539986. <https://doi.org/10.1080/02656736.2025.2539986>.

(9) Elias WJ, Lipsman N, Ondo WG, Ghanouni P, Kim YG, Lee W, et al. A Randomized Trial of Focused Ultrasound Thalamotomy for Essential Tremor. *N Engl J Med* 2016;375:730–9. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1600159>.

(10) Maimbourg G, Houdouin A, Deffieux T, Tanter M, Aubry J-F. 3D-printed adaptive acoustic lens as a disruptive technology for transcranial ultrasound therapy using single-element transducers. *Phys Med Biol* 2018;63:025026. <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aaa037>.

(11) Bancel T, Béranger B, Daniel M, Didier M, Santin M, Rachmilevitch I, et al. Sustained reduction of essential tremor with low-power non-thermal transcranial focused ultrasound stimulations in humans. *Brain Stimulat* 2024;17:636–47. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2024.05.003>.

Le cerveau reptilien ou les trois erreurs de Paul MacLean.

SEBASTIEN LEMERLE¹ et PHILIPPE VERNIER²

1- Université Paris-Nanterre, CNRS, Cresppa, Paris.

2- Université Paris-Saclay, CNRS, Institut des Neurosciences Paris-Saclay, Saclay.



Le cerveau reptilien continue de hanter l'imaginaire collectif. Pourquoi cette métaphore erronée a-t-elle autant de succès ?

L'origine du cerveau « triunique ».

L'expression « cerveau reptilien » est familièrement utilisée pour qualifier l'origine cérébrale de comportements que l'on considère comme primaires, impulsifs, souvent violents et qui défient la raison. Cette idée d'un « cerveau reptilien », considéré comme primitif, et qui témoignerait de notre animalité ancestrale, a été originellement proposée par le Dr Paul MacLean, neurologue américain (1913-2007). Paul MacLean a été responsable du Laboratory of Brain Evolution and Behavior affilié au National Institute of Mental Health, à Poolsville (Maryland) de 1971 à sa retraite en 1985. Mais c'est beaucoup plus tôt, au tournant des années 1950-1960 qu'il a élaboré la théorie qui l'a rendu célèbre, celle du « cerveau triunique » (triune brain), dont le cerveau reptilien est l'un des composants. Cette théorie est fondée sur une interprétation biaisée de la théorie de l'évolution et sur une présentation erronée de l'organisation et du fonctionnement du cerveau humain.

Pour MacLean, le cerveau exceptionnel de l'espèce humaine serait composé de trois parties emboîtées les unes dans les autres (voir la figure 1A). La partie la plus

profonde serait donc le cerveau « reptilien », le plus ancien, siège des pulsions primaires, celles de l'assouvissement des besoins élémentaires de l'espèce (se nourrir, se reproduire, défendre son territoire en particulier) et de l'égoïsme (instinct de survie, de conservation). Il serait surmonté du cerveau limbique ou « paléomammalien », qui serait hérité de mammifères qualifiés d'"inférieurs" (le cheval par exemple) et serait responsable des émotions et de la mémoire, autres fonctions vitales pour la préservation de l'individu, lui-même contrôlé par le cerveau « néomammalien », celui de la raison, du langage, de la créativité, largement spécifique de l'Homme (1).

Dès sa conception initiale, dans les années 1960, ce cerveau « triunique » (trois cerveaux en un seul), sera critiqué et délaissé par les spécialistes de l'anatomie comparée du cerveau, qui n'y reconnaîtront pas l'organisation des structures cérébrales qu'ils étudient chez les différentes espèces d'animaux. Pourtant, hors de ce champ de spécialistes, cette image d'un cerveau en trois parties superposées sera reçue avec intérêt, et même enthousiasme, par beaucoup de médecins,

neurologues et psychiatres en particulier, tels Lawrence Kubie aux États-Unis ou Henri Laborit et Pierre Karli en France, mais aussi par nombre d'intellectuels de renom, comme Arthur Koestler ou Edgar Morin (2).

Plus tard, cette métaphore sera largement diffusée dans le grand public et connaîtra un succès médiatique jamais démenti depuis. Elle a poursuivi sa vie autonome, alors même que de nombreuses critiques contre cette conception erronée mais populaire n'ont eu de cesse d'être formulées par des scientifiques, des philosophes, des journalistes. Les raisons du succès du cerveau reptilien sont nombreuses, d'abord sans doute parce que cette image – pourtant tellement fausse dans sa conception – est simple et parle pour elle-même. Mais son succès doit beaucoup à sa rencontre avec des présupposés ancrés dans une sorte de fond culturel général, empruntant tant aux mythes qu'à la symbolique religieuse, aux théories psychanalytiques, à l'imagerie populaire ou à certains préjugés idéologiques, souvent pessimistes, relatifs à la « nature humaine » (3).

La nécessaire déconstruction du cerveau reptilien propose d'utiliser trois groupes d'arguments complémentaires pour démontrer les erreurs conceptuelles faites par MacLean.

Première erreur : échelle de la nature et récapitulation.

La proposition d'un cerveau humain fait de trois parties emboîtées les unes dans les autres, la plus externe étant la plus « moderne » et la plus profonde la plus « ancienne », est directement inspirée du principe de « récapitulation », mis en avant par les embryologistes du 19^{ème} siècle, en particulier par Ernst Hæckel. Elle-même est héritée de la notion d'« échelle de la nature » qui sévit depuis l'Antiquité et qui place les espèces vivantes à différents niveaux de complexité, du plus simple au bas de l'échelle au plus complexe, l'Homme, placé en général en haut de l'échelle. L'échelle de la nature n'a pas besoin de la notion d'évolution pour exister, loin de là. Originellement, elle n'est qu'une représentation de la complexité des êtres vivants sans préjuger de la façon dont ces derniers ont été générés. Mais cette vision scalaire de l'organisation du vivant a aussi été utilisée dans une conception de l'évolution selon laquelle les espèces les plus anciennes sont aussi les plus simples, pour former une « grande chaîne des êtres ». Cette chaîne ou échelle déroule une histoire dans laquelle des éléments nouveaux sont ajoutés à des organismes pour les complexifier au cours du temps, en même temps qu'ils montent l'échelle. Le principe de récapitulation pose que, au cours du développement embryonnaire d'un animal donné, le chien par exemple, l'embryon prend

successivement la forme des espèces que l'on postule être plus anciennes. Dans cette acception, l'embryon de chien prend successivement la forme d'un poisson, puis d'un amphibien, puis d'une tortue, puis d'un oiseau avant de disposer de toutes les caractéristiques qui en font un chien (4). Le cerveau humain, selon MacLean, récapitule donc les étapes « reptiliennes » et « mammaliennes anciennes » qui sont censées avoir précédé l'avènement de l'espèce humaine.

Il s'agit là d'une vision fausse du processus de l'évolution des espèces. Au lieu d'une image plus conforme à la conception de l'évolution selon Charles Darwin, celle d'un arbre où, à partir d'espèces ancestrales, les groupes d'espèces et les espèces modernes divergent dans leur morphologie et leur physiologie (la « descendance avec modification »), Paul MacLean utilise donc la métaphore de l'échelle de la nature et le principe de récapitulation pour concevoir le « cerveau triunique ». Cette conception des relations entre espèces du monde vivant reste également prégnante aujourd'hui malgré son inexactitude fondamentale (5). En quoi un mammifère, que ce soit une souris, un macaque, une chauve-souris, un kangourou ou une baleine, serait-il plus « moderne » qu'une tortue, un lézard des murailles, une grenouille ou une daurade, qui tous sont nos contemporains et vivent en même temps que nous sur la même planète ?

Deuxième erreur : une vision biaisée de l'organisation cérébrale des vertébrés.

La deuxième erreur majeure qui conduit MacLean à sa conception dévoyée de l'organisation cérébrale est une interprétation fortement biaisée de l'agencement et de la nature des régions cérébrales. Elle est en désaccord profond avec les données anatomo-physiologiques, y compris avec les connaissances acquises à l'époque où il propose sa théorie. En effet, plus d'un siècle d'études anatomiques et embryologiques ont montré que les cerveaux appartenant à un même grand groupe d'espèces, par exemple les arthropodes ou les vertébrés, présentent en réalité une même organisation archétypique (voir la figure 1B). L'organisation du cerveau typique d'un groupe d'espèces (on parle alors de phylotype cérébral) est le plus facilement visible à un stade précoce du développement appelé stade phylotypique. Ainsi, le cerveau de tous les vertébrés est-il composé de grands domaines morphogénétiques organisés selon l'axe antéropostérieur et l'axe dorso-ventral qui se mettent en place lors du développement embryonnaire du cerveau des animaux qui appartiennent à ce groupe. La mise en place de ces domaines morphogénétiques conservés est indispensable pour la

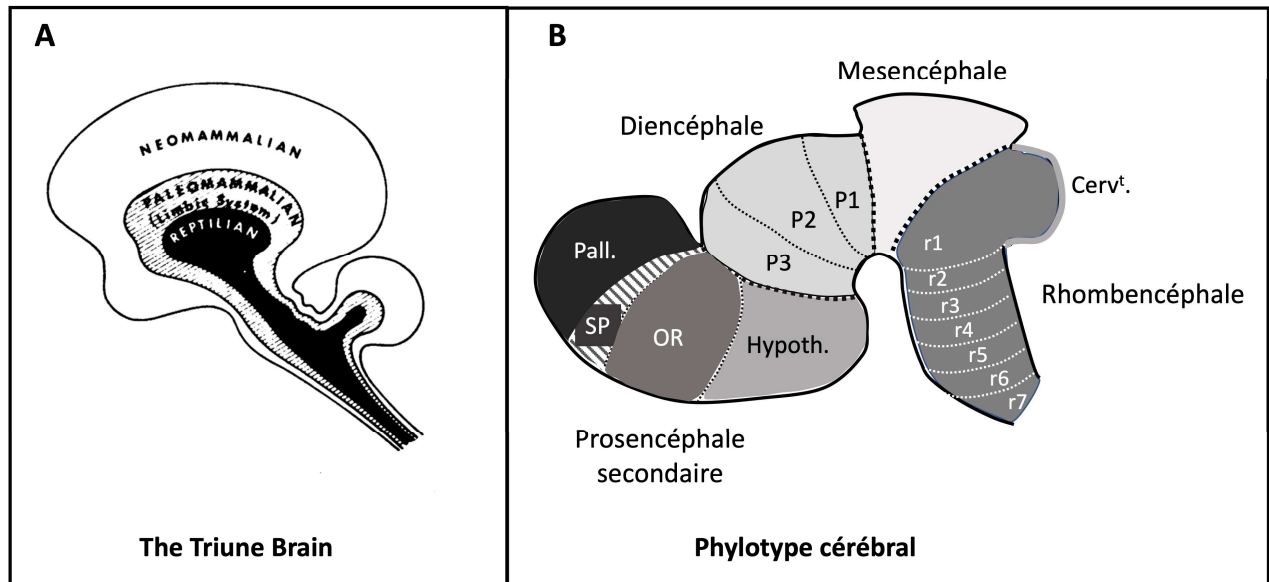


Figure 1: Le cerveau triunique (the triune brain) de Paul MacLean (A) et le phylotype du cerveau des vertébrés (B). A : Selon MacLean, le cerveau triunique est composé de trois parties superposées, reptilienne, paléomammalienne et néomammalienne, de l'intérieur vers l'extérieur. B : La conception phylotypique moderne pose que le cerveau des vertébrés est formé de différents domaines différenciés selon les axes dorso-ventral et antéro-postérieur du tube neural au cours du développement embryonnaire. Ces domaines sont présents dans toutes les espèces de vertébrés. Seuls les domaines antéro-postérieurs sont figurés ici de façon simplifiée, d'arrière en avant, le rhombencéphale composé de rhombomères (8 dans l'espèce humaine (r1, r2... etc), le cervelet (cervt.) dérivé de la lèvre rhombique, le mésencéphale, le diencephale composé de 3 prosomères (P1, prétectal, P2, thalamique dorsal, P3, thalamique ventral) et le prosencéphale secondaire composé de l'hypothalamus (hypoth.), de la région optique (OR), du sous-pallium (SP, les noyaux gris centraux chez les mammifères) et du pallium (le cortex chez les mammifères).

détermination de l'identité des différents types de neurones et de cellules qui formeront les principales régions du cerveau et l'établissement des connexions cérébrales (6).

En conséquence de l'existence de cet archétype de la formation du cerveau, tous les vertébrés possèdent les mêmes grands domaines de l'organisation de leur cerveau. Ces domaines sont représentés sur la figure 1B. Sur la base de ce plan cérébral commun à tous les vertébrés, chaque groupe d'espèces voit la forme adulte du cerveau modifiée par des changements anatomiques et fonctionnels qui les distinguent les uns des autres. Ainsi, les cerveaux des groupes de vertébrés modernes, par exemple ceux des poissons à nageoires rayonnées, des amphibiens, des tortues, ou des oiseaux, divergent, chacun à sa façon, de la forme archétypique commune aux cerveaux de tous les vertébrés. Puisque ces formes divergent indépendamment les unes des autres au cours du temps de leur évolution (plusieurs dizaines ou

centaines de millions d'années les séparent, selon les cas), aucune « récapitulation » n'est possible, par principe. Aucune récapitulation morphologique n'est d'ailleurs observée au cours du développement du cerveau des différents groupes d'espèces de vertébrés. Le cerveau des reptiles, n'est ni plus simple, ni contenu à l'intérieur du cerveau des mammifères. Il est juste différent.

Troisième erreur : la moralisation anthropocentrique des régions cérébrales.

La troisième erreur de Paul MacLean est sans doute plus subtile. Elle provient de l'utilisation d'une corrélation, trop directe et rigide, entre anatomie et fonctions cérébrales. Elle procède d'une vision très localisationniste de l'anatomie fonctionnelle. Elle est aussi entachée d'une moralisation anthropocentrique des fondements anatomo-fonctionnels des comportements animaux. La conception du fonctionnement cérébral élaborée par MacLean doit beaucoup au circuit initialement décrit par James Papez (1883-1958) en 1937. Ce grand circuit cérébral associe les corps mammillaires de l'hypothalamus au noyau antérieur du thalamus, qui lui-même projette sur le cortex cingulaire puis sur le cortex entorhinal. Un autre faisceau relie ce dernier au subiculum et à l'hippocampe, et le dernier faisceau retourne à l'hypothalamus mammillaire via le fornix. Ce circuit complexe sous-tend, selon Papez et ses zélés, la formation des émotions et de la mémoire. Le succès du circuit de Papez tient beaucoup au fait que les neurologues cliniciens s'en sont emparés parce qu'il semble bien rendre compte de syndromes cliniques, comme l'amnésie antérograde avec confusion (syndrome de Korsakoff) observée chez les alcooliques chroniques ou d'observations comportementales comme la salivation

sous l'effet de certaines odeurs. Il ne reste pas grand-chose des éléments du circuit de Papez dans la neurobiologie des émotions contemporaine (7). Aujourd'hui ce sont les différents composants des noyaux gris centraux, de l'amygdale, de l'hippocampe et du cortex préfrontal et leurs connexions qui jouent les premiers rôles (8). Mais ce modèle a été très influent en son temps.

Initialement inspiré par Papez et son circuit, MacLean va dériver de cette conception en interprétant les observations qu'il fait à partir de lézards (du genre *Anolis*) et de singes-écureuils (du genre *Saimiri*). Il va redéfinir le cerveau limbique à partir de la terminologie proposée par Paul Broca, mais en le divisant en deux composants qui diffèrent, selon lui, par leur origine évolutive reflétée dans un ensemble de caractéristiques neurochimiques. C'est ainsi qu'il construit le R-complex (ou cerveau reptilien), qui inclut divers composants sensori-moteurs et végétatifs du tronc cérébral, le cervelet, le mésencéphale, le striato-pallidum dorsal et le bulbe olfactif. Il le distingue du système limbique paléomammalien. Il associe à chacun des trois composants du « cerveau triunique » des caractéristiques comportementales ainsi que des symptômes cliniques¹. Cette conception très globale et intégrée de l'anatomie fonctionnelle du cerveau humain sera reçue avec admiration et enthousiasme par un grand nombre de neurologues et surtout de psychiatres cliniciens. A l'instar du circuit de Papez, le cerveau triunique semblait rendre compte d'une grande partie des comportements humains et de la pathologie psychiatrique. Mais il n'était qu'un modèle approximatif et trop rigide pour expliquer les comportements générés de façon beaucoup plus distribuée dans l'encéphale.

Rien de ces conceptions, qu'elles soient anatomiques, évolutionnistes ou fonctionnelles, ne résiste à un examen même superficiel de leurs fondements. Pourtant, le « cerveau reptilien » reste très présent dans l'univers médiatique et para-scientifique, où les approximations conceptuelles sont légions. Il reste donc aux neurosciences modernes de proposer une vision moins anthropocentrique, moralisatrice et simplificatrice des bases neurobiologiques des comportements humains et des troubles pathologiques, et qui soit en même temps intelligible par le grand public. Un vrai défi aux enjeux non seulement scientifiques, mais politiques et culturels !

slemerle@parisnanterre.fr

philippe.vernier@cnrs.fr

Références

- (1) MacLean, P.D. (1990) *The Triune brain in Evolution. Role in Paleocerebral Functions*. New York, Plenum Press.
- (2) Lemerle S. (2024), *Le cerveau reptilien. Sur la popularité d'une erreur scientifique*, Paris, CNRS éd., p. 94-95, 139-155, 166, 174-191.
- (3) *Ibid*, p. 83-135
- (4) Duvernay Bolens J. (2001) La théorie de la récapitulation de Hæckel à Freud. *L'esprit du temps*, 75 : 13-34
- (5) Nee S. (2005) The great chain of being. *Nature*, 435 : 429.
- (6) Senovilla-Ganzo R, García-Moreno F. (2024) The Phylotypic Brain of Vertebrates, from Neural Tube Closure to Brain Diversification. *Brain Behav Evol.* 99: 45-68.
- (7) Aggleton JP, Nelson AJD, O'Mara SM. (2022) Time to retire the serial Papez circuit: Implications for space, memory, and attention. *Neurosci Biobehav Rev.* 140:104813.
- (8) Pessoa L., Medina L., Hof, P.R., Desfilis E. (2019) Neural architecture of the vertebrate brain: implications for the interaction between emotion and cognition. *Neurosci Biobehav Rev.*

Lecture Alfred Fessard

Cerveau, cœur et estomac : des interactions inattendues

CATHERINE TALLON-BAUDRY

Laboratoire de Neurosciences Cognitives et
Computationnelles, Ecole Normale Supérieure PSL,
Inserm, Paris



La Lecture Alfred Fessard a été donnée par Catherine Tallon-Baudry le 15 mai 2025 à Montpellier lors du colloque NeuroFrance 2025.

Catherine Tallon-Baudry est une neuroscientifique française, directrice de recherche au CNRS, dont les travaux se situent à l'interface entre neurosciences, psychologie et philosophie. Depuis son doctorat, elle s'est spécialisée dans l'exploration de questions difficiles en sciences cognitives comme celle des bases cérébrales de la conscience, contribuant à ouvrir plusieurs champs de recherche.

Après des études de biologie à l'ENS de Lyon, elle obtient en 1997 un doctorat en neurosciences à l'Université Lyon 1. Ses travaux de thèse sont les premiers à mettre en évidence, dans l'électroencéphalogramme humain, des oscillations cérébrales de haute fréquence dites gamma, liées à l'intégration des différentes parties d'un objet visuel perçu. Alors considérées comme du bruit, ces oscillations sont désormais reconnues comme des marqueurs importants de fonctions cognitives, notamment grâce à ses travaux. Elle poursuit ces recherches en post-doctorat à l'Université de Brême,

montrant l'implication de ces oscillations gamma dans la mémoire de travail. En 1999, elle intègre le CNRS et rejoint en 2002 le laboratoire de Neurosciences Cognitives et Imagerie Cérébrale à la Pitié-Salpêtrière. Elle y oriente ses recherches vers l'étude de la conscience. Alors que la majorité des travaux se concentrent à l'époque sur l'identification de corrélats cérébraux de la perception consciente, elle s'attaque à ce que la philosophie nomme le « problème difficile » : la dimension subjective de l'expérience consciente. Ses travaux révèlent notamment une dissociation entre les corrélats cérébraux de l'attention et ceux de la conscience, ouvrant un champ actif d'investigation sur la conscience comme expérience vécue. Elle est élue en 2017 présidente de l'Association for the Scientific Study of Consciousness (ASSC) et dirige le centre de magnétoencéphalographie de l'Institut du Cerveau, contribuant à développer cette technique d'imagerie non-invasive. Depuis 2012, Catherine Tallon-Baudry est directrice de recherche au Laboratoire de

Neurosciences Cognitives et Computationnelles (LNC2) de l'École normale supérieure, qu'elle dirige aujourd'hui. Elle a initié à son arrivée un nouveau programme de recherche sur les interactions cerveau-corps dans la conscience de soi, soutenu par une bourse de l'European Research Council (ERC). Ses recherches montrent que les signaux viscéraux, tels que les rythmes cardiaques et gastriques, influencent l'activité cérébrale et l'expérience consciente, stimulant le développement du champ de l'interoception. En 2021, elle reçoit la

médaille d'argent du CNRS pour l'originalité et l'impact de ses travaux.

Valentin Wyart

Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Computationnelles, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm), Paris, France

valentin.wyart@inserm.fr

La boucle perception – cognition – action est un des piliers centraux des neurosciences cognitives, chez la personne humaine comme chez l'animal : un organisme extrait des informations de l'environnement par la vision, l'audition, l'olfaction ou le toucher, analyse ces informations, et agit.

Il s'agit ici de la perception du monde extérieur, ou extéroception, et d'actions dirigées vers le monde extérieur, et le corps n'est guère présent que comme véhicule de l'action. Ce paradigme a été, et est toujours, extrêmement utile et fructueux. Mais il néglige l'importance pour tout organisme vivant de connaître son état interne, de l'analyser et d'agir en fonction - sur l'environnement extérieur ou sur l'organisme lui-même. L'interoception est la perception et le traitement des signaux en provenance de l'intérieur du corps, par exemple en provenance du cœur ou de l'estomac, par le cerveau. Historiquement, l'interoception a beaucoup été étudiée de façon relativement indépendante des avancées des neurosciences cognitives, avec des exceptions de taille notamment dans le domaine du comportement alimentaire ou des émotions. Le travail de mon équipe ces dernières années a permis de montrer à quel point l'interoception est intégrée à la boucle perception – cognition – action. Plus précisément, nous avons montré que les signaux intéroceptifs influencent la dynamique cérébrale, notamment dans des régions où cela est inattendu comme les cortex visuel ou auditif, et que les signaux intéroceptifs influencent la perception et la cognition « froides », c'est-à-dire qui n'impliquent ni challenge corporel, ni émotions. Avant d'expliquer ces travaux plus en détail, je reviens sur ce qu'est l'interoception : jusqu'à il y a une quinzaine d'années le terme était peu employé, même au sein de la communauté scientifique.

L'interoception est centrale pour la régulation des états corporels, et peut être conçue comme la branche ascendante d'une boucle où la perception et le traitement des signaux internes permet ensuite d'adapter l'activité d'un organe. On parle d'homéostasie quand cette régulation est réactive, par exemple l'adaptation du rythme cardiaque à l'effort fourni, et d'allostasie quand cette régulation est prédictive, par exemple lors par anticipation le rythme cardiaque est modifié avant même le début de l'effort. Pour la partie ascendante qui nous intéresse ici, les signaux en provenance des organes internes sont notamment relayés par différents noyaux sous-corticaux, le noyau du tractus solitaire et le noyau parabrachial. Les projections corticales concernant principalement l'insula granulaire, une aire spécifique qui chez la personne humaine est postérieure et dorsale au sein de la vaste zone appelée insula, le cortex somatosensoriel, et le cortex cingulaire – mais il reste beaucoup d'inconnues sur les voies antomo-fonctionnelles de l'interoception, et les règles établies pour l'extéroception ne seront peut-être pas valables. Par exemple, contrairement aux sens externes qui ont des sites de transduction dédiés comme la rétine ou la cochlée, des signaux intéroceptifs comme le battement cardiaque et son corollaire le pouls sanguin peuvent être détectés en de multiples endroits de l'organisme par des récepteurs différents.

Ces régulations qui sont essentielles pour l'organisme sont pour la plupart entièrement automatisées et non conscientes – ce qui, d'un point de vue cognitif, libère sans doute des ressources : en effet, qui voudrait être en permanence en train de réguler volontairement son rythme cardiaque ou sa glycémie ? Pour autant, certaines personnes peuvent avoir l'impression de percevoir consciemment leurs signaux intéroceptifs, impression renforcée par certaines pratiques de méditation ou de relaxation qui prônent de se concentrer sur les signaux corporels. Pourtant, cette intuition est plutôt trompeuse – même s'ils pensent en être capable, les êtres humains sont en fait assez mauvais pour

détecter leurs battements cardiaques (environ 1 battement par seconde, avec une grande irrégularité qui est physiologique) par exemple. Quant à percevoir consciemment le rythme généré en permanence par l'estomac, avec un cycle toutes les 20 secondes environ... Il semble donc que les êtres humains ne soient que peu, ou pas conscients de ces signaux. Pour autant, mes travaux montrent que le traitement inconscient des signaux intéroceptifs a des conséquences inattendues, à la fois sur l'activité du cerveau, mais aussi sur la perception que nous avons du monde extérieur ou de nous-mêmes.

Le rythme gastrique module l'activité des aires dédiées à la vision, au toucher ou à l'audition.

L'estomac produit, grâce à des cellules spécialisées situées dans sa paroi, un rythme électrique lent, où un cycle dure une vingtaine de secondes. Ce rythme est produit en permanence, que l'estomac soit connecté au cerveau ou non, que l'estomac soit plein ou vide. Des voies anatomiques existent pour que ce rythme gastrique soit transmis au cerveau. Nous nous sommes donc demandés si le rythme gastrique était transmis au cerveau humain, et si oui dans quelles régions et sous quelle forme. Nous avons enregistré à la fois le cerveau, en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle ou en magnétoencéphalographie, et le rythme de l'estomac, grâce à des électrodes placées sur l'abdomen. Grâce à la magnétoencéphalographie et à l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle, nous avons enregistré l'activité dite « de repos », chez de jeunes adultes sains qui fixaient un écran gris, en laissant leurs pensées vagabonder, à distance des repas car nous ne voulions pas étudier la digestion en tant que telle – en effet lorsque l'estomac se remplit, un réflexe local augmente l'amplitude du rythme gastrique ce qui entraîne la contraction coordonnée des muscles lisses de l'estomac pour la digestion.

De façon surprenante, nous avons trouvé que le rythme gastrique module l'activité cérébrale dans des régions qui ne sont pas particulièrement connues pour être liées à la régulation corporelle, notamment les cortex visuel, auditif, olfactif, somatosensoriel (Figure 1). Aussi surprenants que ces résultats puissent paraître, ils ont été répliqués depuis, par d'autres groupes, chez la personne humaine ainsi que chez le rat. Pourquoi le rythme de l'estomac est-il présent dans les cortex sensoriels primaires, dont la fonction principale est de nous permettre de voir, entendre, sentir, le monde extérieur ? Si nous travaillons à répondre à cette question, ces premiers résultats indiquent en tous cas

que les signaux en provenance du monde extérieur sont sans doute combinés aux signaux en provenance du monde intérieur, et ce dès le début du traitement des informations extérieures. Dans tous les cas, nos résultats prouvent d'ores et déjà qu'une partie de la variance spontanée de l'activité neuronale, que certains appelleraient du bruit, est en fait contrainte par l'activité de l'estomac. Ces résultats replacent donc le cerveau comme un organe au sein d'un organisme, et non plus comme un chef d'orchestre tout puissant agissant sur le corps, mais peu influencé par lui.

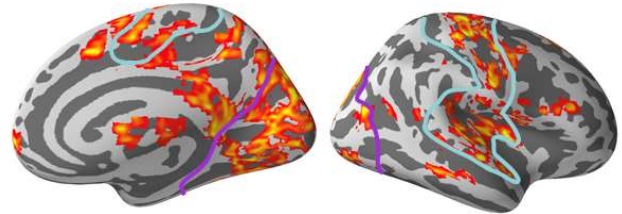


Figure 1. Le réseau gastrique (en orange) chez la personne humaine (vue médiane à gauche, latérale à droite), tel qu'observé en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle, chez des sujets qui fixaient un point sur un écran tout en laissant leurs pensées vagabonder. Les régions en orange sont celles dont le couplage avec le rythme gastrique excède significativement le niveau du hasard. Le contour bleu clair correspond au réseau somato-moteur-auditif, et le contour violet au réseau visuel. Les zones du réseau gastrique qui ne sont pas incluses dans ces 2 réseaux sensori-moteurs font presque toutes partie du réseau par défaut.

La réponse évoquée au battement cardiaque et la subjectivité de l'expérience et des pensées

Pour aborder la question du lien entre intéroception et cognition, nous avons utilisé une autre mesure : la réponse évoquée au battement cardiaque. A chaque battement cardiaque, une décharge neuronale transitoire se produit, que l'on peut mesurer en électro- ou magnéto-encéphalographie chez la personne humaine – et comme explicité plus haut, cette réponse évoquée au battement cardiaque ne donne pas lieu à la perception consciente du battement cardiaque, sauf circonstances particulières. Nous avons enregistré la réponse au battement cardiaque dans de nombreuses situations expérimentales distinctes, et nous montrons que la réponse au battement cardiaque permet toujours de caractériser un aspect subjectif de la cognition. La subjectivité est une notion complexe, qui fait appel à de nombreux concepts. Une définition opérationnelle de la subjectivité est la suivante : est subjectif tout aspect de la cognition ou de la perception rapporté par un participant, mais que l'expérimentatrice ou l'expérimentateur ne peut pas vérifier indépendamment. La notion de subjectivité est reliée à celle de sujet d'expérience, une forme très simple du soi.

Commençons par un exemple où la notion de subjectivité et de soi est patente : les pensées spontanées. Nous montrons que l'amplitude de la réponse évoquée au battement cardiaque dans des régions cérébrales connues pour être reliées aux pensées spontanées, le cortex cingulaire postérieur et le cortex préfrontal ventro-médian, permet de savoir si la personne pense à elle-même ou s'imaginer entre train de réaliser telle ou telle action. Mais la réponse au battement cardiaque nous permet aussi de prédire la perception consciente ou non d'un stimulus visuel au seuil de conscience, ou encore de déterminer le niveau de conscience de patients ayant émergé du coma mais ne communiquant pas avec le monde extérieur. Sans rentrer dans un catalogue exhaustif, nous avons maintenant une batterie de résultats montrant un lien fort en la réponse au battement cardiaque et subjectivité, ce qui constitue une base intéressante pour construire un modèle mécanistique de la conscience.

Vers un modèle de la conscience

Le modèle de conscience que mon équipe affine et teste est fondé sur l'idée que les signaux intéroceptifs, au-delà et potentiellement indépendamment de leur rôle de porteurs d'information sur l'état corporel, jouent un rôle de coordination de l'activité cérébrale, notamment dans les régions extéroceptives et le réseau par défaut¹.

Cette coordination serait à la base du sujet d'expérience, qui voit, pense, ressent. Plus précisément, je pars du constat que les référentiels de la perception (par exemple le référentiel centré sur le regard en vision, sur la surface corporelle pour le toucher) sont bien distincts, alors que l'expérience consciente est ressentie comme unifiée, et a comme point d'origine la personne qui ressent, avec son corps. Ma proposition est que les signaux cardiaques ou gastriques permettent de coordonner les référentiels dans lesquels les informations sensorielles visuelles, tactiles ou auditives sont encodées pour générer le référentiel unifié et centré sur notre corps qui est celui de notre perception consciente. Contrairement à la plupart des hypothèses existantes sur la conscience qui cherchent à expliquer la conscience par des traitements particuliers des informations externes, mon hypothèse porte donc sur ce qui rend possible l'existence même du sujet d'expérience : la coordination de l'activité cérébrale par les signaux intéroceptifs.

catherine.tallon-baudry@ens.psl.eu

Pour aller plus loin :

Engelen E, Solcà M, Tallon-Baudry C (2023) Interoceptive rhythms in the brain. *Nature Neuroscience* 26, 1670-1684 <https://doi.org/10.1038/s41593-023-01425-1>

Azzalini D, Rebollo I, Tallon-Baudry C. (2019) Visceral signals shape brain dynamics and cognition. *Trends in Cognitive Science*, 23 (6), 488-509. doi: 10.1016/j.tics.2019.03.007

¹ Le réseau par défaut est constitué des régions corticales plus actives lorsqu'une personne laisse son esprit vagabonder librement que lorsqu'une personne s'engage dans une tâche cognitive comme résoudre un problème, prendre une décision,

écouter une histoire... Le réseau par défaut est par contre très actif dans des tâches engageant le soi (mémoire autobiographique, description de personnalité par exemple).

Angélique Arvanitaki (1901–1983) une pionnière de la neurophysiologie cellulaireⁱ

JEAN-GAËL BARBARA¹ et ALCMÈNE CHALAZONITIS²

¹ Sorbonne université, UPMC université Paris 06, institut de biologie Paris Seine (IBPS), Neuroscience Paris Seine, UMR CNRS 8246, Inserm 1130 & Sorbonne Paris Cité, Paris Diderot, Philosophie, Histoire, SPHERE, CNRS UMR7219.

² Department of Pathology & Cell Biology, Columbia University, 630W 168th street, New York, NY 10032, USA

Angélique Arvanitaki, née au Caire le 11 juillet 1901 dans une famille grecque installée en Égypte, fut l'une des figures fondatrices de la neurophysiologie cellulaire française. Après une scolarité au lycée français du Caire, elle s'installa à Lyon pour préparer une licence de sciences exactes. Souhaitant d'abord faire de l'astronomie, c'est en cours de licence, et presque par hasard, en assistant à un cours de physiologie de Henri Cardot (Figure 1), qu'elle découvrit la biophysique. Cardot, titulaire de la chaire de physiologie générale et comparée à l'Université de Lyon et directeur de la Station maritime de biologie de Tamaris-sur-Mer, développait son école en marge de celle de Louis Lapicque en Sorbonne. Ce fut dans son laboratoire que la jeune physicienne fit ses premières armes, mettant au point des instruments de mesure d'une précision inédite, tel un voltmètre de haute sensibilité, financé par la fondation Rockefeller. Cette maîtrise technique allait devenir l'un de ses atouts majeurs et la conduire à renouveler l'étude du fonctionnement électrique des cellules nerveuses et musculaires.

Ses premiers travaux, réalisés entre 1931 et 1934, portèrent sur l'automatisme cardiaque chez les mollusques. En collaboration avec Cardot, elle démontra aussi que les battements du cœur d'escargot dépendaient de la composition ionique du milieu, révélant l'importance des échanges d'ions calcium et potassium dans la genèse de l'activité rythmique. Sa thèse, soutenue en 1938 et intitulée *Les variations graduées de la polarisation des systèmes excitables*, témoignait d'une volonté de



Figure 1. Angélique Arvanitaki et Henri Cardot, devant la Station maritime de biologie de Tamaris-sur-Mer

comprendre les fondements électrochimiques de l'excitabilité cellulaire.

À la même époque, elle rejoignit Alfred Fessard à Tamaris (Figure 2) pour des études sur les nerfs isolés de crustacés et de céphalopodes. Ensemble, ils observèrent que la réponse d'un nerf à une stimulation pouvait devenir rythmique en fonction de la concentration en ions du milieu. Ces travaux furent essentiels à l'élaboration de la théorie moderne du potentiel local et de la propagation de l'influx nerveux. Arvanitaki y apporta une contribution décisive en démontrant l'existence de prépotentiels, signaux électriques locaux précédant le déclenchement de la dépolarisation complète, et en reliant ces phénomènes à la dynamique ionique.



Figure 2. Station maritime de biologie de Tamaris-sur-Mer dans les années 1930, avec Henri Cardot (assis à gauche), Angélique Arvanitaki (debout à droite, au milieu de l'escalier) et Alfred Fessard (debout à droite, en bas de l'escalier).

C'est à la fin des années 1930 qu'elle orienta ses recherches vers les mollusques marins du genre *Aplysia*, connus sous le nom de lièvres de mer, dont les neurones géants étaient visibles à l'œil nu. Ce Mollusque Opisthobranchie marin est présent à Tamaris avec deux espèces, *Aplysia punctata* Cuvier, la plus courante, et *Aplysia depilans* L., assez abondante d'août à décembre. Ces espèces avaient été remarquées dans la rade de Toulon par Amédée Bonnet en 1927 et par Tchang Si en 1931. Un assistant de Cardot, Antoine Jullien, a étudié les caractéristiques du cœur en 1936, et Arvanitaki avait eu recours à cet animal dans certaines expériences relatées dans sa thèse publiée en 1938.

Cette découverte méthodologique, d'une portée considérable, permit pour la première fois d'étudier directement l'activité électrique d'un soma neuronal isolé. En 1940 et 1941, Arvanitaki, Cardot et leur jeune collaborateur chinois Tchou Si Ho décrivent les techniques d'isolement des corps cellulaires vivants des gastéropodes et enregistrèrent les premiers potentiels d'action des neurones d'*Aplysia*. Ces expériences, qu'elle évoquait plus tard avec enthousiasme — elle aurait passé « toute une nuit à enregistrer les potentiels d'action de ces cellules visibles à l'œil nu » —, inaugurèrent l'ère de la neurophysiologie cellulaire expérimentale.

En parallèle, Arvanitaki s'intéressa aux interactions électriques entre fibres nerveuses contiguës. En 1942, elle publia dans le *Journal of Neurophysiology* un article fondateur intitulé *Effects Evoked in an Axon by the Activity of a Contiguous One*, où elle démontrait qu'un axone pouvait influencer un autre par simple proximité électrique, sans contact synaptique (Figure 3). Ce dispositif, qu'elle nomma « éphapse », permettait de proposer une conception entièrement nouvelle de la communication intercellulaire, fondée sur les champs électriques locaux, plutôt que sur les synapses chimiques. Cette intuition visionnaire, longtemps controversée, anticipait la

redécouverte moderne des couplages éphaptiques dans les réseaux neuronaux. Le neurophysiologiste américain Ralph Gerard qui traduisit son article pour la revue américaine, souligna l'originalité d'un tel travail réalisé en pleine guerre, par une chercheuse isolée dans un laboratoire français.

La mort soudaine de Cardot en février 1942 et la fermeture de la station de Tamaris après l'occupation allemande contraignirent Arvanitaki à poursuivre seule.

EFFECTS EVOKED IN AN AXON BY THE ACTIVITY OF A CONTIGUOUS ONE*†

A. ARVANITAKI
Laboratoire de Physiologie, Université de Lyon, et Station
maritime de Biologie de Tamaris, France

(Received for publication June 3, 1941)

THERE IS no doubt that the activity of an element in the midst of a cell agglomeration can influence that of its neighbors, even when specialized contact surfaces for transmission, *i.e.* those loci traditionally known as synapses and which have been endowed with particular properties are lacking.

When the cell-units already are rhythmically active, their rhythm may synchronize more or less rigidly about that of one of the elements, which thus becomes the "pace-maker." Analysis of this is favorable in the agglomeration of cells of a nervous tissue, owing to the absence of mechanical factors which must enter into the synchronization of cardiac cells, of elementary muscular contractions (4) or of spermatozoa tails (60).

Amongst the phenomena of synchronization of nervous elements, that of cortical and ganglion cells (2, 3, 5, 5a, 59) are specially interesting. But although the vicinity interactions certainly play an important part in these phenomena, it is not always possible to eliminate that played by the specialized synapses. (See however experiments of Libet and Gerard, 51, 59). Synchronizations observed on isolated neural conductors do not suffer this difficulty.

Adrian (1) suggested that the synchronization of impulses in the isolated phrenic is possible because "an active fibre can cause a slight momentary increase in the stimulus to other fibres and that it can do so owing to the action current which it produces."

Certain conditions are required for the phenomenon to appear and be lasting. Arvanitaki and Fessard (19) showed that, for two spontaneous fibres of the crab nerve to interact, (i) their natural periods must be very close to one another, and (ii) the beats must be fairly well in phase. Also, the action potential of the pace-making element must be of sufficient amplitude. Thus, when several fibres with small action potentials and beating with similar rhythms do not synchronize, a large spike potential in a contiguous fibre may set them off together; but after a few beats in phase they again desynchronize (Arvanitaki, 10, p. 118, Fig. 63).

A rhythmically active element may progressively capture new quiescent

* Owing to the present circumstances this paper, finished since May 1940, could not be published earlier.

† Correspondence concerning this manuscript was prevented by war developments. It has been rewritten and shortened with every effort to retain the author's interpretations and references. For any misconstructions of her intent, I must assume responsibility. R.W.G.

Figure 3. Article d'Angélique Arvanitaki paru dans le *Journal of Neurophysiology* en 1942 et qui la fit connaître internationalement.



Figure 4. Angélique Arvanitaki et Nicolas Chalazonitis à l'Institut océanographique de Monaco au cours des années 1960.

Elle épousa la même année un étudiant vétérinaire, ingénieur chimiste, né en Grèce en 1918 et décédé en France en 2004, Nicolas Chalazonitis, avec lequel elle fonda un laboratoire d'électrophysiologie à Lyon, puis à Monaco (Figure 4). Ensemble, ils étudièrent les relations entre métabolisme oxydatif et activité électrique, esquissant une approche biochimique du potentiel de repos et du potentiel d'action. Ils avancèrent l'idée — audacieuse à l'époque — que le métabolisme respiratoire des cellules nerveuses pouvait agir comme une « pile biologique », où les réactions enzymatiques déterminaient les flux ioniques responsables de l'excitabilité. Bien avant la théorie ionique de Hodgkin et Huxley (1952), leurs travaux suggéraient un lien direct entre respiration cellulaire et électrogenèse.

À partir de 1949, Arvanitaki et Chalazonitis s'installèrent à l'Institut océanographique de Monaco, accueillis par le Commandant Rouch, et ensuite par son successeur le Commandant Cousteau, directeur de l'Institut, en raison de différends avec le professeur de physiologie de Lyon. Ils développèrent alors un programme de recherche centré sur les neurones géants d'*Aplysia* et mirent en évidence des cellules identifiables par leur taille, leur position et leur activité spécifique, identiques d'un animal à un autre. Leurs enregistrements intracellulaires, publiés dès 1955, constituaient une avancée majeure. Pour la première fois, on observait directement la dynamique électrique d'un neurone unique. Parallèlement, Arvanitaki explora les effets de la lumière sur l'activité neuronale. Ses travaux sur la photoactivation et la photoinhibition des cellules pigmentées d'*Aplysia* furent les premiers à établir un lien entre la nature chimique des pigments et la réponse électrique des neurones, ouvrant la voie à des approches modernes telles que la photostimulation optogénétique.

La reconnaissance internationale d'Angélique Arvanitaki s'affirma après la guerre. En 1959, elle fut invitée par Ichiji Tasaki au *National Institutes of Health* (NIH) où elle donna

une conférence qui impressionna profondément certains jeunes chercheurs présents, parmi lesquels Eric Kandel et Felix Strumwasser. Kandel, qui devait plus tard recevoir le prix Nobel pour ses travaux sur la mémoire en 2000, rapporta dans son ouvrage — *In Search of Memory* (2006) — combien les travaux d'Arvanitaki furent déterminants. Il reconnaitra à plusieurs reprises qu'Arvanitaki et Chalazonitis furent les premiers à montrer que les neurones d'*Aplysia* pouvaient être identifiés individuellement et étudiés comme des entités uniques. Ces propos témoignent de l'influence directe qu'exerça la chercheuse sur la génération des neurobiologistes américains qui allaient faire de l'*Aplysia* un modèle animal de référence des neurosciences comportementales.

Pour Arvanitaki et Chalazonitis, 1960 fut l'occasion d'une année sabbatique mémorable. D'abord ils rejoignent à Philadelphie le laboratoire du biophysicien Britton Chance à la *Johnson Foundation*, reconnu fondateur de la photonique biomédicale. Au printemps, ils participent à la conférence FASEB à Chicago, et sont ensuite invités par Ernest Florey, un pionnier autrichien neurophysiologiste des invertébrés, au symposium *International Symposium on Nervous Inhibition* à Friday Harbor sur l'île de San Juan au Puget Sound dans l'état de Washington. Enfin, ils passent l'été à l'autre laboratoire de Ichiji Tasaki au MBL à Woods Hole, sur le Cap Cod dans le Massachusetts avant de retourner en France en Octobre. Ils se réjouissent de l'unique occasion d'interagir avec les meilleurs chercheurs de l'époque en neurophysiologie tels que Ted Bullock, Robert Livingston, Harry Grundfest, Stephen Kuffler, Felix Strumwasser, Mike Fuortes, Michael Bennett, Karl Frank et d'autres.

En 1963, Angélique Arvanitaki et Nicolas Chalazonitis rejoignirent le tout nouvel Institut de Neurophysiologie et de Psychophysiologie (INP) du CNRS à Marseille, fondé par Georges Morin et Jacques Paillard. Étant promue Directeur de Recherche au CNRS elle y dirigea le département de neurophysiologie cellulaire, entourée de jeunes chercheurs et d'ingénieurs. Son équipe étudia la régulation des oscillations neuronales par les gaz respiratoires et les modulations pharmacologiques, tandis que Chalazonitis approfondissait la biochimie de la membrane neuronale. Leur laboratoire devint rapidement un centre de référence, prolongeant à Marseille la tradition lyonnaise et monégasque d'une physiologie expérimentale rigoureuse. En 1967, Arvanitaki reçut les Palmes Académiques du gouvernement Français et, au début des années 1980, le titre de Docteur Honoris Causa de l'Université d'Athènes.

Arvanitaki s'éteignit à Marseille le 6 octobre 1983, laissant derrière elle une œuvre d'une richesse et d'une profondeur remarquables. Son parcours illustre la rencontre entre la rigueur d'une physicienne et la curiosité

d'une biologiste, entre l'intuition expérimentale et la vision théorique. Elle fut la première à concevoir et à exploiter le neurone géant d'*Aplysia* comme un modèle intégratif, à définir le concept d'éphapse et à explorer la photosensibilité des neurones. Si son nom reste parfois éclipsé par ceux de Fessard, Hodgkin, Huxley ou Kandel, son influence souterraine est reconnue par les historiens des neurosciences (Ch. Bange, F. Clarac, S. Tyč-Dumont, C. Battini, J.-G. Barbara) comme décisive. En reliant la biophysique à la physiologie, en introduisant la rigueur instrumentale au cœur de l'étude du vivant, Angélique Arvanitaki a permis à la neurophysiologie cellulaire de devenir une science à part entière.

Eric Kandel lui porta une grande admiration toute sa vie de chercheur ; il aimait dire qu'elle avait influencé toute sa carrière et qu'une biographie devrait lui être consacrée. Arvanitaki appartient à cette lignée de chercheurs qui incarne la naissance de la neurobiologie moderne avec l'utilisation de modèles animaux invertébrés se généralisant dans les années 1950 avec par exemple les travaux de Steve Kuffler, puis Eric Kandel et Felix Strumwasser.

jean-gael.barbara@sorbonne-universite.fr
ac83@cumc.columbia.edu

Pour en savoir plus :

Bange Ch., Cardot et Arvanitaki, et les débuts des recherches électrophysiologiques sur les neurones géants d'Invertébrés marins, in Claude Debru, Jean-Gaël Barbara, Céline Chérici (éds.), *Essor des neurosciences en France dans le contexte international (1945-1975)*, Paris, Hermann, 2008.

Clarac F., Les Neurones géants d'Aplysie et les débuts de l'électrophysiologie cellulaire, in Claude Debru, Jean-Gaël Barbara, Céline Chérici (éds.), *Essor des neurosciences en France dans le contexte international (1945-1975)*, Paris, Hermann, 2008.

Tyč-Dumont S., Battini C., Horcholle-Bossavit G. An old hypothesis and new tools: Alfred Fessard's approach to the problem of consciousness. *J. Hist. Neurosci.*, 2012;21(2):170-88.

Barbara J.-G., *La naissance du neurone*, Paris, Vrin, Collection Mathe-sis, 2010.

ⁱ *Post scriptum* : La rédaction de cet article prend en considération les faits décrits par Alcmène Chalazonitis lors d'une interview de Rena Selya Ph.D de UCLA durant la conférence internationale de la SfN en 2013 à San Diego pour être inclus dans un projet d'accès en ligne sur l'histoire des Neurosciences. La transcription de l'interview est accessible par le lien: <https://web.archive.org/web/20190106205652/http://hss>

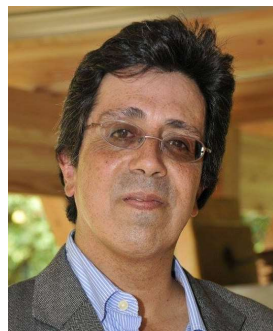
m.semel.ucla.edu/sites/default/files/Alcmene%20Chalazonitis%20Columbia.pdf. Ce lien est visible en le copiant sur un navigateur Internet. L'interview commence avec la carrière d'Alcmène en tant que membre de la SfN, puis continue avec celle d'Angélique Arvanitaki en p14 pour l'Histoire des Neurosciences.

Lecture Angélique Arvanitaki

Neurosciences Cognitives dans un Cerveau Miniature L'apprentissage d'ordre supérieur chez les abeilles

MARTIN GIURFA

*Sorbonne Université, CNRS, Inserm, Institut de
Biologie Paris-Seine, IBPS, et Centre de
Neuroscience Neuro-SU, Paris, France*



La Lecture Fessard a été donnée par Martin Giurfa le 14 mai 2025 à Montpellier lors du colloque NeuroFrance 2025.

Martin Giurfa est internationalement reconnu pour ses travaux en neuro-éthologie de l'abeille. Titulaire de la médaille d'argent du CNRS, membre sénior de l'Institut Universitaire de France, pour ne citer que quelques-unes de ses distinctions françaises, il dirige actuellement une équipe qui cherche à comprendre les mécanismes neurobiologiques de la cognition des abeilles. En 2023, il est invité par le Dalaï-lama à une conférence sur la conscience des animaux, démonstration particulièrement remarquée de sa position de leader international en cognition des insectes, issue d'un parcours exemplaire.

Martin a fait ses études en neurosciences en Argentine, à la fin des années 80, alors que le pays est sous le joug d'une dictature militaire. Sa force de caractère est déjà visible dans son choix, particulièrement risqué, de

mener des actions clandestines contre le régime à la tête d'un réseau d'étudiants. Il obtient son doctorat en 1990 à l'Université de Buenos Aires sur le comportement de butinage des abeilles, sous la direction de Josué Núñez. La qualité de son travail fut remarquée par Randolph Menzel, professeur allemand à l'Université libre de Berlin dominant la recherche mondiale en neurobiologie de l'abeille. Martin est ainsi resté une dizaine d'années à Berlin où il a pu développer une expertise de pointe en neurobiologie de l'insecte. Il devient alors, grâce à une approche audacieuse consistant à appliquer des concepts développés en psychologie expérimentale chez l'humain à un insecte, l'un des pionniers à l'origine d'une véritable révolution scientifique ayant permis d'attribuer des capacités cognitives sophistiquées inattendues pour un cerveau

d'insecte, telles que la faculté de catégorisation ou d'utilisation de concepts.

Martin est venu s'installer à Toulouse en 2001, où il a dirigé le Centre de Recherche sur la Cognition Animale jusqu'en 2017. Il a contribué à en faire un laboratoire-clé en éthologie et neurosciences cognitives grâce à une grande ambition scientifique associée à la promotion de recherches originales, mais d'une grande rigueur, qu'il a su insuffler au sein du CRCA et qui continuent d'inspirer les recherches actuelles. Au cours de ces années, il a dirigé de nombreux travaux sur les fonctions cognitives de l'abeille, en établissant des protocoles-clé, repris dans le monde entier pour l'étude des différentes formes d'apprentissage et de leurs bases neurobiologiques.

Depuis 2023, Martin a pris la direction du grand Institut de Biologie Paris-Seine, démontrant de nouveau sa capacité à relever les défis et son intérêt pour le management de la recherche.

Martin s'investit fortement dans la transmission du savoir auprès de tous publics ainsi que dans le soutien des jeunes chercheurs et chercheuses, leur faisant ainsi bénéficier de ses compétences et de son réseau basé sur son excellente réputation scientifique grâce à la rigueur et l'ambition de ses recherches ainsi que sur sa curiosité toujours maintenue pour les travaux en neuroéthologie dans toute leur diversité de modèles, de thématiques ou d'origine géographique.

Aurore Avarguès-Weber,

Centre de Recherches sur la Cognition Animale
(CRCA-CBI, CNRS/Université de Toulouse)

aurore.avargues-weber@utoulouse.fr

Au cours des dernières décennies, l'abeille domestique est devenue un modèle pour l'étude de l'apprentissage, de la mémoire et, plus récemment, des capacités cognitives complexes — longtemps attribuées à certains vertébrés (1). J'examinerai ici comment ces recherches ont façonné notre compréhension de la cognition et soulignent le potentiel de l'abeille comme modèle en neurosciences cognitives.

Les abeilles peuvent être entraînées à résoudre une grande variété de tâches de discrimination. Plusieurs protocoles expérimentaux ont été développés pour étudier l'apprentissage et la mémoire chez l'abeille de façon individuelle (contrairement à des pratiques anciennes où un groupe d'abeilles était entraîné, sans aucun contrôle de l'expérience individuelle). Cette approche est essentielle car l'apprentissage et la mémoire résultent de l'expérience propre à chaque individu. Elle permet également une analyse neurobiologique directement corrélée aux performances individuelles.

Deux protocoles principaux sont largement utilisés pour étudier l'apprentissage et la mémoire chez l'abeille :

1. Le conditionnement des vols d'approche vers des cibles visuelles chez les abeilles en vol libre, dans lequel une abeille marquée reçoit une récompense de solution de saccharose sur un stimulus visuel donné, ce qui la conduit à visiter de manière répétée le site expérimental à la recherche de cette récompense.

2. Le conditionnement olfactif du réflexe d'extension du proboscis (REP) chez les abeilles immobilisées, dans lequel une abeille apprend à associer un odorant à une récompense de saccharose en laboratoire, de sorte que l'odorant déclenche, après apprentissage, l'extension du proboscis, réponse appétitive à la nourriture (Figure 1a). Cet apprentissage constitue un cas de conditionnement pavlovien, où l'odeur agit comme stimulus conditionnel (SC) et le sucrose comme stimulus inconditionnel (SI). Le PER déclenché par l'odeur devient alors la réponse conditionnée (RC).

Bases neurales du conditionnement appétitif olfactif du REP

Le conditionnement olfactif du REP a été déterminant pour retracer les circuits neuronaux impliqués dans l'apprentissage associatif dans le cerveau des abeilles (2) (Figure 1b). Les odorants (SC) sont détectés par les neurones olfactifs des antennes et transmis aux lobes antennaires, où récepteurs olfactifs, interneurons locaux et neurones de projection interagissent au niveau d'environ 165 glomérules. Les neurones de projection relaient ensuite l'information traitée vers des centres supérieurs, dont le lobe latéral et les corps pédonculés,

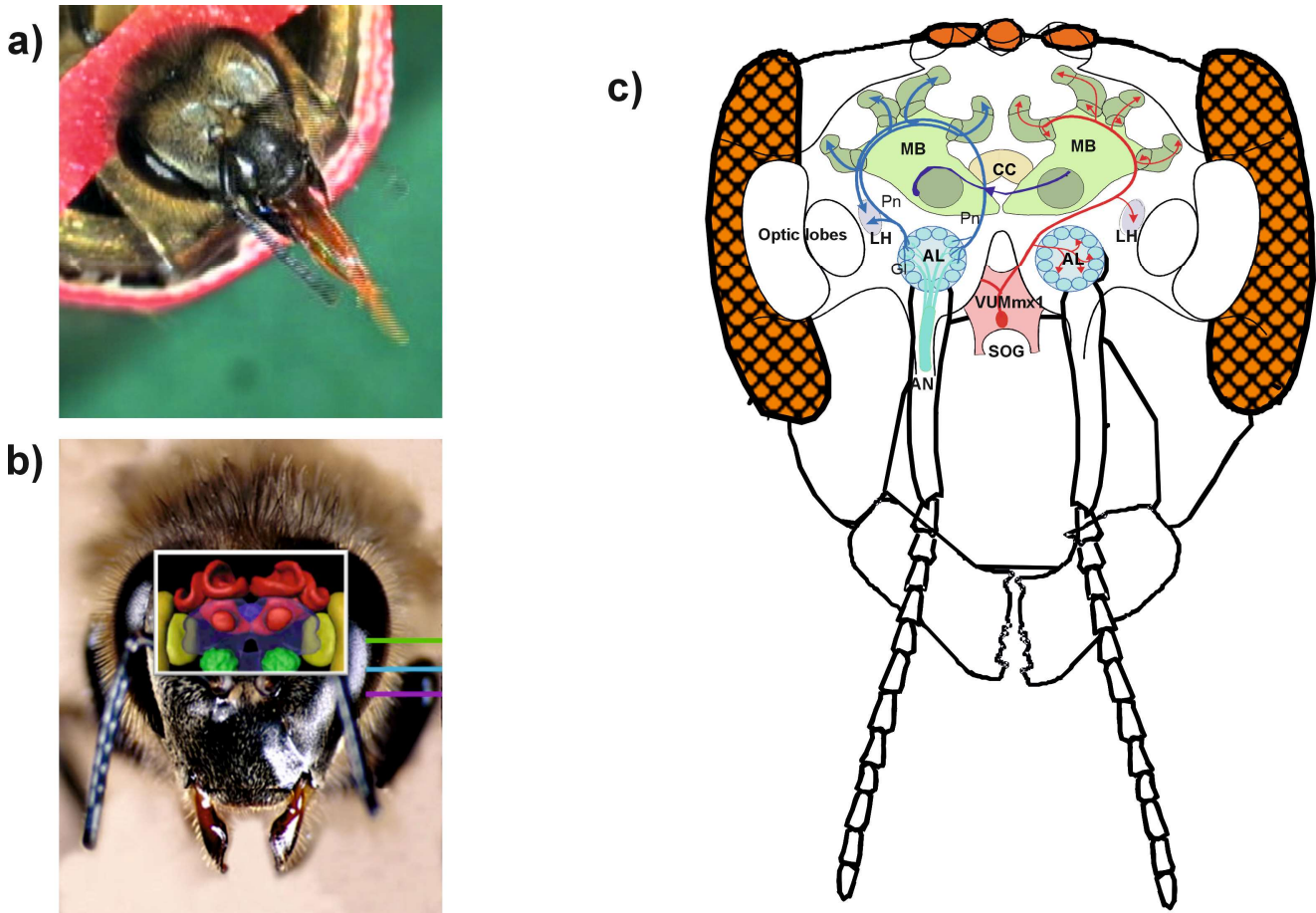


Figure 1 : a) Réponse d'extension du proboscis (REP) à une odeur apprise chez une abeille immobilisée. b) Vue du cerveau d'une abeille. c) Schéma d'une vue frontale du cerveau de l'abeille montrant les voies centrales olfactives (SC, en bleu à gauche) et de traitement du sucre (SI, en rouge à droite). **Voie SC :** les neurones sensoriels olfactifs transmettent l'information au cerveau via le nerf antennaire (AN). Dans le lobe antennaire (AL), ces neurones font synapse au niveau des glomérules (Gl) avec des interneurones locaux (non représentés) et avec des neurones de projection (Pn) véhiculant l'information olfactive vers des centres de traitement de plus haut niveau, la corne latérale (LH) et les corps pédonculés (MB, de l'anglais 'Mushroom Bodies'). Les corps pédonculés sont interconnectés par des tractus commissuraux. **Voie SI :** ce circuit est partiellement représenté par le neurone VUMmx1, dont le soma se situe dans la zone subœsophagienne (SOG) et qui converge avec la voie SC en trois sites principaux : le AL, le LH et les MBs. CC : complexe central.

ces derniers intégrant plusieurs modalités sensorielles et jouant un rôle essentiel dans le stockage et la récupération de la mémoire (Figure 1c).

L'activité neuronale le long de cette voie a été étudiée par électrophysiologie et imagerie calcique. Des études initiales utilisant l'amnésie rétrograde induite par refroidissement ont révélé une séquence temporelle de formation mnésique : les lobes antennaires sont essentiels pour la mémoire à court terme précoce, les corps pédonculés pour la consolidation ultérieure, tandis que le lobe latéral semble dispensable. Ces résultats ont inspiré des travaux similaires chez d'autres insectes.

Chez les abeilles naïves, les odeurs évoquent des motifs glomérulaires reproductibles et symétriques dans les lobes antennaires. Chaque odorant est codé par un

motif spatial unique d'activation glomérulaire, conservé entre individus. Ces codes spatiaux persistent dans les centres supérieurs, bien que les corps pédonculés présentent un codage parcellaire, notamment au niveau des calyces. L'apprentissage modifie ces représentations : le conditionnement différentiel (A+ vs. B-) augmente l'activation pour le SC+ et améliore la discrimination des odeurs via une décorrélation dans le lobe antennaire.

Au niveau des cellules de Kenyon (KCs)¹ les réponses aux odeurs sont parcellaires et modulées par des mécanismes synaptiques. L'apprentissage renforce les réponses des KCs au SC+ et supprime celles au SC-, tandis qu'une exposition répétée non renforcée conduit à une adaptation non associative. Les études

¹ Les cellules de Kenyon sont les neurones constitutifs des corps pédonculés (en anglais : 'mushroom bodies')

moléculaires confirment le rôle de la signalisation NMDA dans la mémoire : l'invalidation de la sous-unité NR1 par RNAi altère la mémoire à moyen terme et à long terme précoce, sans affecter la mémoire tardive.

La voie du SI reste moins bien connue. Le neurone VUMmx1, situé dans la zone sous-œsophagienne, répond au sucrose et projette vers les lobes antennaires, les corps pédonculés et les lobes latéraux — sites de convergence avec les voies du SC (Figure 1c). L'activation artificielle de VUMmx1 peut se substituer au sucrose lors du conditionnement, confirmant son rôle instructif en tant que SI (3). VUMmx1 est octopaminergique ; quand l'octopamine est injectée dans les centres olfactifs lors d'une stimulation olfactive, l'apprentissage olfactif a lieu comme en présence de sucre.

Ces résultats montrent que l'apprentissage olfactif élémentaire chez l'abeille mobilise des interactions distribuées mais localisées entre les voies SC et SI (Figure 1c). La convergence dans les lobes antennaires, les corps pédonculés et les lobes latéraux reflète un traitement parallèle, suggérant des rôles spécialisés pour chaque site selon les phases.

Apprentissage non-élémentaire chez l'abeille

L'apprentissage appétitif élémentaire repose sur des associations directes entre des événements clairement définis (par ex. SC → SI). En revanche, les formes associatives abordées ici impliquent des stimuli à valeur ambiguë, ce qui empêche une simple correspondance un-à-un avec un renforcement, imposant une exigence cognitive plus élevée. Ces problèmes offrent un moyen d'évaluer la capacité du cerveau miniature des abeilles à résoudre des tâches cognitives de haut niveau.

Un exemple clé est le 'negative patterning' (A+, B+, AB-), dans lequel l'abeille doit apprendre que le composé AB, bien qu'il soit formé d'éléments individuellement récompensés, ne prédit aucune récompense — exigeant ainsi la reconnaissance que AB n'est pas simplement A + B. Un animal apprenant que A et B sont chacun renforcés doit inhiber l'attente additive selon laquelle AB serait deux fois plus récompensé. Cette tâche est donc qualifiée de non linéaire. Bien que rarement étudié chez les invertébrés, il a été montré que les abeilles peuvent résoudre le 'negative patterning' dans les modalités visuelle et olfactive. Ceci a permis d'étudier les supports neuraux sous-jacents à cette capacité.

Bases cellulaires de l'apprentissage non-élémentaire

L'utilisation d'un protocole de 'negative patterning' dans la modalité olfactive a permis d'interroger les bases neuronales de cette forme de résolution non linéaire (4). Des abeilles témoins ayant reçu des injections de solution saline au niveau des corps pédonculés ont été capables de résoudre une discrimination de type 'negative patterning' (A+, B+, AB-). En revanche, lorsque l'activité des corps pédonculés était localement bloquée par des injections de procaine, un inhibiteur des canaux sodium et potassium, les abeilles étaient incapables d'apprendre cette tâche. Une expérience contrôle critique a consisté à bloquer à nouveau les corps pédonculés avec de la procaine, mais cette fois dans le cadre d'une discrimination élémentaire, bien que structurellement proche du 'negative patterning': A+, B+, CD- ; ici, chaque odorant est associé de manière univoque à la présence ou à l'absence de renforcement, sans ambiguïté. Les abeilles témoins, ainsi que celles avec corps pédonculés bloqués, ont résolu cette discrimination aussi efficacement, montrant ainsi que l'incapacité à résoudre le 'negative patterning' en l'absence des corps pédonculés était inhérente à la nature du problème entraîné (4). Ces résultats montrent donc un rôle spécifique des corps pédonculés dans l'apprentissage non-élémentaire.

Par ailleurs, des injections locales de picrotoxine, un inhibiteur GABAergique, dans les corps pédonculés ont permis de disséquer les contributions de deux voies de rétroaction GABAergiques : les neurones A3v — qui fournissent un retour GABAergique des lobes (région de sortie des corps pédonculés) vers les calyces des corps pédonculés (région d'entrée des corps pédonculés, i.e. sortie → entrée) — et les neurones A3d — qui projettent des lobes vers les lobes (i.e. sortie → sortie). Les injections de picrotoxine dans les calyces — mais non dans les lobes — ont perturbé la performance de 'negative patterning' en empêchant la suppression des réponses au composé non renforcé AB (4). Ce résultat souligne l'importance de l'inhibition GABAergique de rétroaction assurée par les neurones A3v au niveau de l'entrée des corps pédonculés pour la résolution de ce type de tâche non linéaire.

Apprentissage de règles

L'apprentissage de règles implique l'apprentissage de relations entre objets, et non des objets eux-mêmes. Le transfert positif se produit donc indépendamment de la nature physique des stimuli. Les exemples classiques incluent les règles de similarité et de différence, testées

via des tâches de 'delayed matching to sample' (DMTS) et 'delayed non-matching to sample' (DNMTS), respectivement.

Des abeilles en libre vol ont appris les deux règles dans un labyrinthe en Y (5). Elles étaient soumises à un problème DMTS dans lequel un échantillon non récompensé (par ex. l'un de deux disques colorés ou l'un de deux patterns noir et blanc — vertical ou horizontal) était présenté à l'entrée du labyrinthe. La récompense était donnée uniquement si l'abeille choisissait, à l'intérieur du labyrinthe, le stimulus identique à l'échantillon. Les abeilles entraînées avec des couleurs et testées avec des patterns jamais vus réussissaient à choisir le pattern correspondant à celui présenté à l'entrée du labyrinthe. Réciproquement, les abeilles entraînées avec des patterns et testées avec des couleurs jamais vues choisissaient la couleur correspondant à celle perçue à l'entrée. Le transfert ne se limitait pas à différents types de stimuli dans le domaine visuel (patterns achromatiques vs. couleurs), mais opérait également entre modalités très différentes comme l'olfaction et la vision, démontrant un transfert intermodal. Les abeilles ont également appris la règle de différence dans des tâches DNMTS (5).

Les abeilles peuvent aussi acquérir plusieurs concepts simultanément. Dans une étude, elles ont appris à la fois des concepts spatiaux (par ex. « au-dessus/dessous », « gauche/droite ») et des concepts de différence (6). Les stimuli présentaient deux images dans des relations spatiales précises, et les abeilles devaient sélectionner les configurations respectant à la fois une règle spatiale et le fait que les deux images présentes soient différentes. Elles ont par la suite généralisé ces concepts à des images nouvelles. Lors de tests de conflit, où un seul des deux concepts était respecté, les abeilles ne montraient pas de préférence, suggérant une pondération égale des deux concepts.

Cognition numérique

Les recherches sur la numérosité chez l'abeille ont révélé des capacités cognitives remarquables (7). À l'aide de protocoles de DMTS, des abeilles en libre vol entraînées à appairer des images avec deux ou trois éléments ont transféré cette règle à de nouveaux stimuli différant en forme, couleur et configuration mais présentant le même nombre d'items. Cependant, les performances diminuaient avec quatre éléments, suggérant une limite de leurs capacités numériques autour de cette valeur.

Les abeilles possèdent également le concept du zéro (8). Entraînées à choisir systématiquement la quantité la plus petite, elles préféraient un ensemble vide (jamais vu lors de l'entraînement) plutôt qu'une image contenant un élément, le traitant comme une quantité inférieure à un. Leurs performances s'amélioraient avec la distance numérique (par ex. 0 vs 6 > 0 vs 1), reflétant l'effet de distance numérique observé chez les vertébrés. Les abeilles sont aussi capables d'arithmétique simple. Dans une étude, deux indices colorés différents signalaient s'il fallait ajouter ou soustraire une unité à partir d'une image avec un certain nombre d'items montrée à l'entrée d'un labyrinthe. Les abeilles appliquaient correctement l'opération pour choisir entre deux quantités à l'intérieur du labyrinthe, démontrant des compétences arithmétiques élémentaires (9).

Parmi de nombreuses autres expériences sur la numérosité, une étude récente a montré que les abeilles semblent posséder une ligne numérique mentale. Entraînées sur un nombre de référence (par ex. 3), elles préféraient, lors d'un choix de numérosités nouvelles, des quantités plus petites à gauche et plus grandes à droite (10), quand la même numérosité était présentée à droite et à gauche lors du test. Ceci suggère une représentation spatiale des nombres, potentiellement conservée au cours de l'évolution.

Conclusion

Cette revue met en évidence la richesse des comportements dépendants de l'expérience chez l'abeille, et montre que diverses formes de traitement cognitif fondées sur l'apprentissage associatif, des plus simples aux plus complexes, peuvent être étudiées en laboratoire. L'adoption des cadres élémentaire et non-élémentaire offre une base utile pour évaluer jusqu'où les abeilles dépassent les processus associatifs simples. Les nombreux exemples présentés révèlent une sophistication cognitive qui remet en question la vision d'une intelligence limitée chez l'insecte. Les neurosciences cognitives chez l'abeille en font un modèle pertinent pour explorer des niveaux intermédiaires de complexité cognitive et leurs bases neuronales.

martin.giurfa@sorbonne-universite.fr

Références

- (1) Giurfa, M., *Trends Neurosci.* 2013. 36(5): p. 285-94.
- (2) Giurfa, M., *J Comp Physiol A - Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 2007. 193(8): p. 801-824.

- (3) Hammer, M., Nature, 1993. 366: p. 59-63.
- (4) Devaud, J.M., et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 2015. 112(43): p. E5854-62.
- (5) Giurfa, M., et al., Nature, 2001. 410(6831): p. 930-933.
- (6) Avargues-Weber, A., et al., Proc Natl Acad Sci USA, 2012. 109(19): p. 7481-7486.
- (7) Giurfa, M., Trends Cogn Sci, 2019. 23(9): p. 720-722.
- (8) Howard, S.R., et al., Science, 2018. 360(6393): p. 1124-1126.
- (9) Howard, S.R., et al., Sci Adv, 2019. 5(2): p. eaav0961.
- (10) Giurfa, M., et al., Proc Natl Acad Sci U.S.A., 2022. 119(44): p. e2203584119.

Edition 2025 : quand le cerveau nous rassemble

ARMELLE RANCILLAC et FRANCOIS TRONCHE

L'édition 2025 de la Semaine du Cerveau a été une nouvelle démonstration de l'enthousiasme et de la créativité de notre communauté. Avec plus de 750 événements organisés par 29 comités locaux et plus de 80 000 participants en présentiel et 45 000 en ligne, cette manifestation, lancée il y a plus de vingt-cinq ans, est désormais un rendez-vous incontournable de la culture scientifique.

La *Semaine du Cerveau* 2025 s'est ouverte avec une conférence inaugurale à l'Hôtel de Ville de Paris, intitulée *La folle histoire de l'évolution du cerveau humain*. Ce rendez-vous a plongé le public au cœur de questions fascinantes. Comment notre espèce, *Homo sapiens*, s'est-elle retrouvée dotée de ce cerveau complexe ? En quoi diffère-t-il de celui des autres primates et mammifères ? A cette occasion, Amélie Beaudet (Université de Poitiers, CNRS), Maëva Orliac (Université de Montpellier, CNRS), Roberto Toro et Katja Heuer

(Institut Pasteur), ont exploré les découvertes récentes en paléoneurologie, en biologie de l'évolution et en imagerie cérébrale. Ensemble, ils ont montré comment, malgré l'absence de fossiles de cerveaux, les chercheurs parviennent à retracer leur histoire à partir des crânes fossilisés, des modèles comparatifs et des reconstructions numériques. Sous la modération de Lionel Cavicchioli (journaliste à *The Conversation*), la conférence a mis en lumière à quel point l'étude du cerveau des ancêtres de l'humanité, mais aussi celui des



Intervenants de la conférence inaugurale.

De gauche à droite :
Katja Heuer et Roberto Toro (Institut Pasteur),
Amélie Beaudet
(Université de Poitiers, CNRS), Maëva Orliac
(Université de Montpellier, CNRS) et
Lionel Cavicchioli (*The Conversation*). Crédit
photo, Armelle Rancillac.

lignées aujourd'hui disparues et d'autres espèces animales, nous permettent de mieux comprendre l'émergence de la complexité du cerveau. Captée et montée par Clément Duquenne, cette soirée, organisée en partenariat avec *The Conversation*, a rassemblé un public captivé. Elle est à présent disponible en ligne (<https://www.semaineducerveau.fr/ressources/nos-conferences-en-replay-3/>).

Des Antilles aux régions de la France métropolitaine, les initiatives ont fleuri, du plus petit village aux capitales régionales. Dans les bibliothèques, dans les médiathèques, les théâtres, les cinémas, les cafés, les musées et les amphithéâtres universitaires, les chercheurs sont allés à la rencontre du public pour échanger et partager. Les ateliers scolaires ont, une fois encore, joué un rôle central, accueillant plus de 25 000 élèves du primaire, du collège et du lycée. Mais l'édition 2025 ne s'est pas limitée au présentiel : les conférences retransmises en direct ou en différé sur YouTube et sur les réseaux sociaux ont permis à un public encore plus large, parfois éloigné géographiquement ou dans l'impossibilité de se déplacer, de pouvoir tout de même participer. Cette complémentarité des formats élargit chaque année davantage notre audience et donne à la *Semaine du Cerveau* une dimension hybride qui continue de se développer.

Pour cette édition 2025, nous tenions à remercier tous les acteurs du monde de la recherche qui ont fait de cette *Semaine du Cerveau* un succès. Un grand merci aux **29 comités locaux**, aux bénévoles (1700 interventions) et au secrétariat de la *Société des Neurosciences*, Clémence Fouquet, Alice Lemaire et François Lafitte.

Merci également à nos partenaires nationaux, le Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Espace, établissements publics de recherche (Inserm, CNRS, INRAe, CEA, etc.), fondations, associations, journaux et à nos partenaires locaux pour leur soutien financier et logistique.

Vous n'avez pas pu assister à l'édition 2025, ou avez manqué certains événements ? N'hésitez pas à visionner les replays sur notre site : semaineducerveau.fr et n'oubliez pas d'utiliser le #SdC2026 sur les réseaux sociaux pour l'édition 2026, qui aura lieu du 16 au 22 mars. Retrouvons-nous y nombreux !

Parmi les temps forts qui ont marqué cette édition de la *Semaine du Cerveau 2025*, nous en avons sélectionné trois pour cette Lettre. À **Tours**, la pièce de théâtre *De A à Zèbre*, écrite et mise en scène par Ida Tesla et portée par la compagnie Pih-Poh, a proposé une plongée sensible et pleine d'humour dans la question de la neurodiversité. À **Bordeaux**, une conférence s'est penchée sur les conséquences de la malbouffe et des rythmes décalés sur la mémoire des adolescents. Enfin, à **Orléans**, l'initiative des « Petits cerveaux » a illustré la volonté de transmettre la science dès le plus jeune âge et la curiosité des enfants.

armelle.rancillac@college-de-france.fr

francois.tronche@sorbonne-universite.fr

Focus sur trois événements de la Semaine du Cerveau 2025

La pièce : De A à Zèbre

Cette année à Tours nous avons souhaité diversifier la programmation de la Semaine du Cerveau en présentant une pièce de théâtre intitulée de A à Zèbre. Cette pièce en cours de création a été écrite et mise en scène par Ida Tesla de la Compagnie Pih-Poh, une association dont le cœur est la création artistique (<https://pihpoh.jimdofree.com/>). Destinée à tous les publics à partir de 12 ans, la pièce raconte une histoire d'amour entre un adolescent et une adolescente atypiques lors de leur rentrée au lycée. L'héroïne débarque avec son frère dans un nouveau lycée où elle ne connaît personne. Dès le deuxième jour, un gars de terminale aux yeux verts l'interpelle de la manière la plus étrange qui soit. Après cette rencontre détonante, ils entament une relation pleine de malentendus et de

quiproquos jusqu'au jour où son drôle d'ami l'avertit que son frère va tomber dans un guet-apens... Au cours de 9 jours et 9 nuits, ils vont se découvrir dans leurs



Juliette Huppelshotten et Victor Poguet de la Compagnie Pih-Poh

sentiments et dans leurs particularités, mais parviendront-ils à se comprendre et à s'aimer malgré leur langage et leur façon d'être si décalés ? Le tout se déroule dans un lieu quasi unique : le self du lycée, car c'est au self qu'on se comprend le mieux soi-même.

Ce sujet inspiré de Marivaux est revisité à travers trois personnages « hors normes » très contemporains. Les trois personnages ont un point commun qui les différencie des autres : ils sont doublement "neuro-atypiques". Et cela les rend différents des « neurotypiques » mais aussi « différents » les uns des autres !

Cette pièce a été le prétexte pour aborder les différences et les variations de notre façon d'être, entre neurotypiques et neuro-atypiques pour lesquelles les apprentissages, la communication et les relations sociales sont plus difficiles. Le spectacle est particulièrement adapté au monde scolaire et universitaire. La pièce a été suivie d'une discussion avec le public sur « la neurodiversité ». Elle a réuni Cindy Gilles (Psychologue, PAVeA - EA 2114, Université de Tours et CRTLA - CHRU de Tours), spécialiste des troubles des apprentissages, Frédéric Laumonier (Chercheur, iBrain INSERM et Université de Tours) spécialiste de génétique humaine qui s'intéresse aux réseaux neuronaux impliqués dans le dysfonctionnement cognitif, et de l'autrice Ida Tesla, très engagée pour la reconnaissance des personnes avec des troubles du neuro-développement et une meilleure compréhension par tout un chacun de leur vécu.



Rencontre avec le public après la pièce (de gauche à droite : Ida Tesla, Frédéric Laumonier, Yves Tillet et Cindy Gilles).

La discussion a permis de faire le point sur l'avancement de la recherche dans ce domaine avec les apports de la génétique et de la psychologie. De nombreuses questions ont aussi été posées sur leur prise en charge en particulier en milieu scolaire. Plusieurs personnes concernées par ces troubles ont fait part de leur expérience et de leurs difficultés au quotidien. Le but de faire connaître au public les difficultés des personnes concernées a été atteint.

Le spectacle s'est joué à guichet fermé devant une centaine de personnes incluant de nombreux adolescents et jeunes adultes. Il a permis de toucher un public varié que le théâtre a attiré vers les neurosciences.

Yves Tillet et Ida Tesla

Malbouffe et horaires décalés chez l'adolescent : quels effets sur la mémoire ?

À Bordeaux, la Semaine du Cerveau 2025 s'est ouverte le lundi 10 mars avec la conférence "*Malbouffe et horaires décalés chez l'adolescent : quels effets sur la mémoire ?*", organisée par le service Science Avec et Pour la Société (SAPS) de l'université de Bordeaux. Cette conférence présentait le projet MAORI financé par l'ANR et coordonné par Marie-Pierre Moisan (INRAE, NutriNeuro, Bordeaux), en collaboration avec Etienne Challet (CNRS, INCI, Strasbourg), Freddy Jeanneteau (CNRS, IGF, Montpellier), Guillaume Ferreira (INRAE, NutriNeuro, Bordeaux) et Pascal Barat (CHU de Bordeaux).



50 personnes ont assisté à la conférence au Centre Broca Nouvelle-Aquitaine

Marie-Pierre Moisan a ouvert cette conférence en rappelant que, dans nos sociétés modernes, l'alimentation de la journée s'étale souvent sur 15 heures ou plus (de 7 heures à 22 heures), avec un apport calorique plus élevé le soir. Pourtant, nos rythmes circadiens recommandent de manger surtout le matin et de jeûner au moins 12 heures. Ce décalage perturbe le métabolisme, le sommeil, l'humeur et la mémoire, surtout chez les adolescents dont le mode de vie est souvent désynchronisé et riche en aliments gras et sucrés. La chrononutrition — manger sur une plage de moins de 12 heures, avec un dernier repas avant 20 heures — émerge comme une solution thérapeutique pour l'obésité, sans compter les calories. Etienne Challet a ensuite décrit la première partie des études sur l'animal : des souris

juvéniles soumises à un régime obésogène à volonté ont montré des rythmes biologiques altérés, à savoir une prise alimentaire diurne accrue et une dépense énergétique perturbée, sans altération de l'activité locomotrice. La chrononutrition — alimentation nocturne uniquement, phase active des souris — a rétabli ces rythmes. Freddy Jeanneteau a ensuite pris la parole pour expliquer la deuxième partie du projet : il a été observé que les altérations de mémoire induites par l'alimentation obésogène précoce est associée à une augmentation des épines dendritiques et de l'activité neuronale dans l'hippocampe, et une diminution dans le cortex pariétal. La chrononutrition a corrigé ces anomalies et restauré la mémoire. Enfin, Marie-Pierre Moisan a repris la parole pour présenter la troisième partie de l'étude, qui a révélé que le régime obésogène altère la signalisation circadienne des hormones thyroïdiennes dans l'hippocampe. La chrononutrition a rétabli ces rythmes, et l'infusion d'hormone thyroïdienne a inversé les déficits de mémoire, confirmant son rôle central.

Elle a clos cette conférence en présentant la partie clinique qui évalue l'impact de la chrononutrition sur des adolescents avec obésité lors d'un séjour de 4 semaines en clinique spécialisée, avec des repas alignés sur les rythmes biologiques. Les résultats préliminaires montrent que la chrononutrition réduit significativement la masse grasse et améliore certaines fonctions mnésiques. Ces données, à confirmer sur l'ensemble de la cohorte, suggèrent un potentiel thérapeutique prometteur.

Cette conférence a permis de montrer au public présent l'intérêt d'études chez l'animal pour disséquer les mécanismes mis en jeu et l'application clinique qui en découle.

Marie-Pierre Moisan

Les p'tits cerveaux à Orléans : les grandes questions des petits sur les cerveaux !

À l'occasion de la semaine du cerveau 2025, des enseignants-chercheurs et des étudiants en doctorat de neurosciences des laboratoires INEM (Immuno-Neuro Modulation) et P2E (Physiologie, Écologie, Environnement) ont répondu aux questions des enfants sur le fonctionnement du cerveau !

Pour cette première édition « *les p'tits cerveaux* », les enseignants de cinq écoles maternelles, primaires ou collèges de l'agglomération d'Orléans, ont enregistré les questions des élèves. Les chercheurs y ont répondu sous forme de vidéos réalisées avec le support du service audiovisuel du LLUO (Learning Lab Université Orléans).



Enregistrement des vidéos en studio au service audiovisuel de l'université d'Orléans (Romane, Amir et Philippine)

Ces capsules vidéo ont été diffusées dans les classes participantes.

Les enseignants et les élèves ont apprécié cette expérience qui fait écho aux thématiques abordées en classe : « *enregistrer les voix des élèves posant leur question fût un vrai bonheur pour eux, et regarder les réponses sous forme de petites vidéos, un véritable plaisir pour les classes. Les réponses théoriques scientifiques sous forme de petits films ont captivé les élèves. L'expérience est à refaire sans hésiter* » (Mme Lasnier, Mme Darcheville et M. Czech, École Jean Bonnet, Saint-Jean-le-Blanc).

Cette intervention auprès des scolaires a été une opportunité pour les étudiants en doctorat de se former à la vulgarisation scientifique. Ils sont prêts à réitérer l'expérience qui s'est avérée formatrice, enrichissante et valorisante... même si se retrouver devant une caméra a pu être un peu intimidant pour certains.

« *Les questions des élèves de maternelle et de primaire, parfois drôles, parfois profondes, m'ont rappelé à quel point la curiosité est le vrai moteur de la science et de la recherche* » (Amir Attallah, étudiant en thèse, laboratoire INEM).

« *En tant que doctorante, j'ai choisi de participer pour partager mon enthousiasme pour les neurosciences et transmettre la curiosité scientifique aux plus jeunes.* » (Philippine Chartier, étudiante en thèse, laboratoire P2E).

Si vous aussi vous souhaitez savoir si « *les insectes ont un cerveau ?* », « *Comment on perçoit les émotions ?* », « *Comment pouvons-nous entendre dans notre tête ?* », « *Est-ce que le cerveau fait rêver ?* » ou encore « *Peut-on vivre sans cerveau ?* ». Vous pouvez retrouver l'ensemble des vidéos sur la chaîne YouTube de l'Université d'Orléans dans la série « Dis-moi prof ? » https://www.youtube.com/playlist?list=PLqf_6xLwDy8r0yk0MBskcKCI4vsoiPzX.



Visionnage des vidéos par les élèves de moyenne et grande sections de l'école maternelle Jean Bonnet de Saint-Jean-le-Blanc.

Une expérience unique et un exercice de vulgarisation scientifique qui ouvrent les portes de la recherche en neurosciences auprès des plus jeunes et répondent aux questions que se posent les petits (et aussi les grands...) sur le fonctionnement des cerveaux !

Merci aux scientifiques de l'Université d'Orléans : A. Cartereau², C. Montécot-Dubourg¹, S. Mortaud¹, F. Reverchon¹, O. Richard¹, E. Taillebois²

Doctorants : A. Attallah¹, P. Chartier², R. De la Clergerie¹, A. Kaboré²
1 INEM UMR 7355 CNRS-Univ Orléans ; 2 P2E Univ Orléans

Emiliane Taillebois

