

La Lettre des Neurosciences



La Lettre - Printemps / Été 2024

Vol. 66 No 1 (2024) | Publié le 7 juin 2024

Sommaire

HISTOIRE DES NEUROSCIENCES

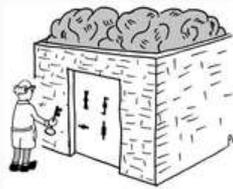


Découverte et fonction de
l'innervation viscérale chez
Galien

Par Armelle Debru

Voir l'article 

DOSSIER



La barrière hémato-
encéphalique dans tous ses
états

Lire le dossier 

NOUVEAUTÉS EN NEUROSCIENCES



Une nouvelle stratégie
thérapeutique pour une
restauration visuelle : la...

Par Fabrice Arcizet, Gregory Gauvain

Voir l'article 

TRIBUNE LIBRE - QUESTION D'ACTUALITÉ



L'éthique dans les sciences
de l'humain

Par Jacques Py

Voir l'article 

Edito

L'interdisciplinarité fait progresser la recherche et cela s'avère particulièrement vrai pour les neurosciences, tant le fonctionnement cérébral est complexe et l'accès au cerveau limité. Les avancées en physique dans le domaine des ultrasons, et leurs applications aux neurosciences, illustrent bien cette dynamique.



PAR YVES TILLET ET JEREMY DANNA

Grâce au récent développement des ultrasons à haute fréquence, l'imagerie ultrasonore à haute définition est devenue fonctionnelle, et nous nous en faisons un premier écho dans la Lettre 64. Dans ce numéro, c'est une autre approche technologique associant cette fois ultrasons et génétique, la sonogénétique, qui nous est présentée par Fabrice Arcizet et Grégory Gauvin dans la rubrique « Nouveautés en Neurosciences ». A l'instar de l'optogénétique, cette méthode consiste à insérer génétiquement une protéine mécano-sensible dans certains neurones afin de pouvoir les activer par une stimulation ultrasonore. Les auteurs nous présentent une preuve de concept sur la restauration de système visuel lorsque la protéine mécano-sensible est insérée dans les neurones de la rétine. Même si le chemin menant à l'application clinique est encore long, les résultats sont époustouffants et pleins d'espoir.

Des ultrasons, il est également question dans le Dossier coordonné par Bénédicte Dehouck sur « la Barrière HématoEncéphalique (BHE) dans tous ses états ». Vous apprendrez dans ce dossier comment ils permettent d'ouvrir cette barrière protectrice pour administrer des molécules thérapeutiques ou bien faciliter l'élimination de la protéine Tau en combinaison avec l'administration d'anticorps anti-Tau. Sans prétendre être exhaustif, ce dossier tente de faire le point sur l'état des lieux des connaissances sur la BHE. Cette barrière protectrice du système nerveux central n'est pas statique et ce dossier en présente différentes

facettes, avec sa mise en place au cours du développement et son évolution au fil du temps. Ce dossier aborde également le rôle de la BHE dans les échanges entre la périphérie et le cerveau, la régulation de nombreuses fonctions comme le métabolisme ou certaines pathologies. Vous lirez que la perméabilité de cette barrière est également affectée par les accidents vasculaires ou la formation d'œdème et qu'il est parfois nécessaire de l'ouvrir pour des aspects thérapeutiques, avec les ultrasons justement. Enfin ce dossier aborde les différentes méthodes d'étude en imagerie pour « ausculter » l'intégrité de la barrière et pour reproduire son fonctionnement sur des modèles in vitro. Un dossier riche à consulter sans attendre.

Tous ces développements nécessitent à un moment ou un autre des validations sur des modèles animaux et sur des sujets humains. Ces recherches fondamentales et appliquées doivent donc se conformer à des règles éthiques indispensables pour leur acceptation par la société. Dans la Tribune Libre, Jacques Py revient sur l'importance de l'éthique dans les sciences impliquant les sujets humains et rappelle les vertus des discussions au sein des CPP (Comité de Protection des Personnes) ou des CER (Comité d'Éthique de la Recherche). Ces comités composés respectivement de médecins ou auxiliaires médicaux, d'acteurs de la société civile qualifiée en matière juridique ou éthique, et de scientifiques de diverses disciplines, participent au respect d'une démarche scientifique de qualité,

nécessaire et indispensable à la confiance de la société dans la science, trop souvent mise à mal par la désinformation. L'éthique nous concerne tous, que nous participions ou non à la recherche. A lire absolument par celles et ceux que se prêtent à leurs recherches.

L'Histoire des Sciences nous propose un voyage sur les bords de la Méditerranée, avec un saut de quelques siècles pour atterrir au 3ème siècle. Armelle Debru nous fait découvrir les travaux de Claude Galien de Pergame sur les nombreuses ramifications nerveuses qu'il a observées et décrites à la surface des viscères. L'auteure nous rapporte comment, à partir des travaux de ses prédécesseurs et de ses propres observations Galien va formuler plusieurs hypothèses sur le rôle des

nerfs dans la transmission des informations depuis le cerveau vers les organes. Ses travaux ouvriront la voie aux découvertes sur la compréhension du fonctionnement du système nerveux sympathique.

Nous vous rappelons que cette Lettre est aussi la vôtre, aussi n'hésitez pas à nous faire part de vos suggestions et souhaits. Nous vous souhaitons un bel été à commencer par le colloque de la FENS (<https://fensforum.org/>) à Vienne à la fin du mois de juin, un colloque à ne pas manquer tant pour la qualité de son programme que pour la découverte des joyaux de cette capitale impériale.

Bonne lecture.

Découverte et fonction de l'innervation viscérale chez Galien

ARMELLE DEBRU

Professeur honoraire d'histoire de la médecine, Université Paris Cité

Étudiant l'anatomie et la physiologie du système nerveux, le médecin Galien du II^e siècle ap. J.C. s'intéresse aussi aux fines ramifications nerveuses qu'il discerne à la surface des viscères, y compris le cœur. Loin d'être négligeables, elles serviraient, selon lui, à donner aux organes une sensation "obscur" de ce qui peut leur nuire, une conception qui ouvre la porte aux découvertes sur le système nerveux sympathique.



Claude Galien (XIX^e siècle). Lithographie de Pierre Roch Vigneron (1829) © BIUS, Paris.

Introduction

Dans la connaissance du corps animal ou humain, les anciens Grecs, à qui l'on doit le début de cette science, ont progressé lentement. Longtemps absorbés par l'observation des malades et les spéculations sur les causes des maladies, les médecins de l'époque hippocratique (Ve s. – milieu du IV^e s. av. J.C.), n'ont que peu développé les connaissances anatomiques. Celles-ci restaient très imprécises, notamment en ce qui concernait le corps humain, protégé de toute dissection par les lois. C'est au cours de la période suivante, appelée période hellénistique ou alexandrine (milieu IV^e – I^{er} s. av. J.C.), où les savants avaient fait énormément progresser toutes sortes de champs de la connaissance scientifique et médicale, que l'anatomie a connu un surprenant développement. On connaît le nom des grands anatomistes qui formèrent une nouvelle génération de médecins, Hérophile et Érasistrate, puis ceux qui deviendraient les maîtres du plus célèbre d'entre eux, Galien de Pergame (129-216 ap. J.C.) (1). Non seulement la connaissance du système cardiovasculaire et celle du système nerveux, entre autres, ont bondi, mais la précision extrême des observations à l'œil nu, aidées par le recours systématique aux dissections, ont mené à beaucoup

d'interrogations sur l'identité et la fonction des structures découvertes.

L'avancée sur les nerfs moteurs et sensitifs

Parmi les questions à éclaircir, beaucoup concernaient les nerfs, pendant longtemps peu distingués d'autres structures comme les ligaments et les tendons. Du reste, le même mot *neuron* a pu désigner les trois indifféremment. Les Alexandrins et leurs successeurs avancent dans l'étude de leur origine, crânienne ou spinale, dans la distribution des différentes paires dans le corps. Ils distinguent nerfs moteurs et nerfs sensitifs, et établissent l'origine de sept paires de nerfs crâniens et des nerfs spinaux. Cependant, c'est plus tard, au I^{er} s. de notre ère, que des progrès déterminants ont été fait dans ce domaine. Il ne reste de leurs écrits que les témoignages, parfois très riches, qu'en fait Galien, et qu'il ne manque pas de critiquer. L'un d'entre eux, Archigène, avait beaucoup travaillé sur les types de douleurs et notamment celles qu'il attribuait aux affections des nerfs. Nous avons les extraordinaires récits de vivisections animales, événements publics et spectaculaires, pour démontrer en particulier le rôle des différents nerfs thoraciques dans la respiration (2).

Pour les nerfs, Galien hérite donc d'un savoir déjà développé, qu'il ne va pas cesser d'augmenter. En dehors d'un petit traité didactique, *Sur les nerfs pour les débutants*, ses études se trouvent surtout dans deux autres grands traités qui les exposent en détail, *Sur l'utilité des parties du corps* (Us. part.) et son ouvrage sur les *Procédures anatomiques* (Adm. anat.) qui est un manuel de dissection. C'est également dans le champ de la pathologie que Galien donne une grande importance aux nerfs (dans son traité des *Lieux affectés*). Toutefois l'explication de la transmission nerveuse reste extrêmement problématique, comme il le reconnaît par exemple dans son grand traité *Sur les Opinions d'Hippocrate et de Platon*. Et on le comprend... Dans ce dernier traité, il expose les hypothèses faites de son temps sur la physiologie des nerfs. Les ventricules du cerveau avaient été considérés comme des réceptacles de "pneuma", cette sorte d'air interne ou « souffle » (issu de l'air inspiré ou de la vapeur du sang). Le pneuma du cerveau, dit « psychique », animait les fonctions les plus élevées, motrices, sensibles ou cognitives, celles reliées à l'âme (psychè), responsable

du mouvement volontaire et de la sensation. Aussi, quand on n'assimilait pas les nerfs à des cordes ou des tendons, comme l'avait fait Aristote et ses successeurs, certains pouvaient penser, comme Érasistrate, qu'ils pouvaient transporter du pneuma, supposé présent dans les ventricules cérébraux, dans tout le corps et aux muscles en particulier.

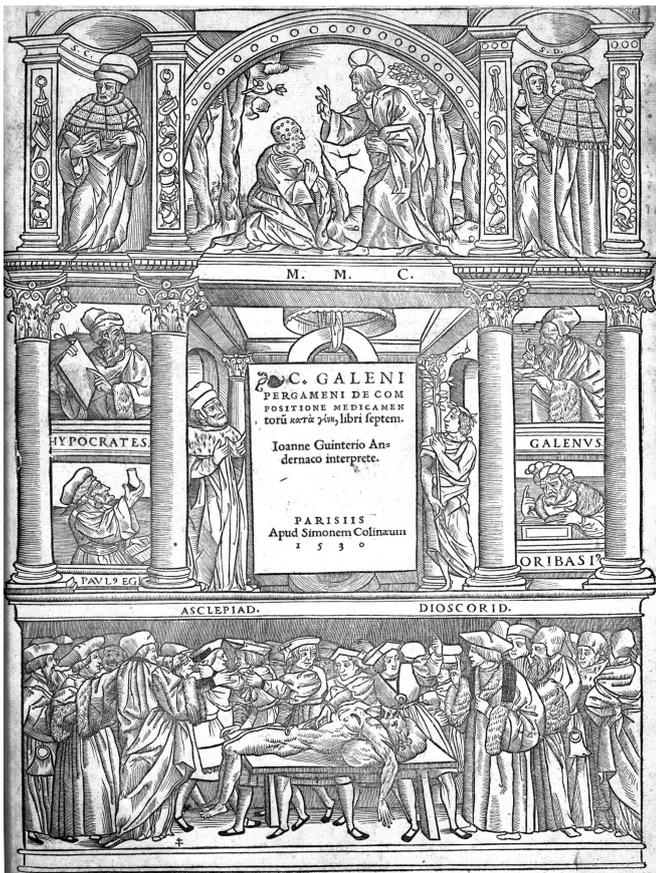
Questions sur la transmission nerveuse.

Galien hérite de ces conceptions. Mais, pratiquant de nombreuses expérimentations, il les reprend avec prudence et en avance une autre, troublante par sa hardiesse. « Serait-ce le cerveau qui enverrait instantanément dans les nerfs du pneuma au moment de la décision d'agir ? Ou bien seraient-ils creux, remplis à l'état naturel de pneuma, lequel serait seulement mis en branle au moment de l'action ? [...] Personnellement, je n'ai aucune réponse à ma disposition ». Arrive alors la troisième hypothèse, celle qui a sa préférence : « Proposons-nous donc d'examiner les deux possibilités que je viens d'énoncer, en y ajoutant une troisième, la modification qualitative des parties contiguës. C'est ce que semblent laisser entendre ceux qui disent que le flot qui s'écoule se produit selon une puissance sans substance. La transmission des qualités aux corps contigus par modification (altération), ils l'appellent flots de puissance comme, quand dans l'air environnant, une certaine transmission de qualité issue du rayon du soleil parvient à toutes les parties de l'air, alors que la substance du soleil demeure à sa place »¹.

La transmission qualitative est comparable à celle des venins dans le corps. À partir d'une piqûre infime, ou même d'un simple contact, un effet très puissant se propage immédiatement dans tout le corps. L'analogie avec la toxicologie ou la propagation de la lumière du soleil reste une hypothèse... (3).

La fonction principale de cette conduction, pourrait-on dire, est d'être à l'origine du mouvement de contraction des muscles. Une grande partie des travaux de Galien est consacrée au mouvement des muscles, mouvement volontaire par excellence puisque qu'il vient du cerveau, organe « hégémonique », par les nerfs. Il en parle souvent et y a consacré tout un traité (*Sur le mouvement des muscles*).

Ceci étant, anatomie et physiologie se rejoignent à propos de la nature des nerfs et de leur rôle. Comme ses prédécesseurs, Galien distingue nerfs durs et nerfs

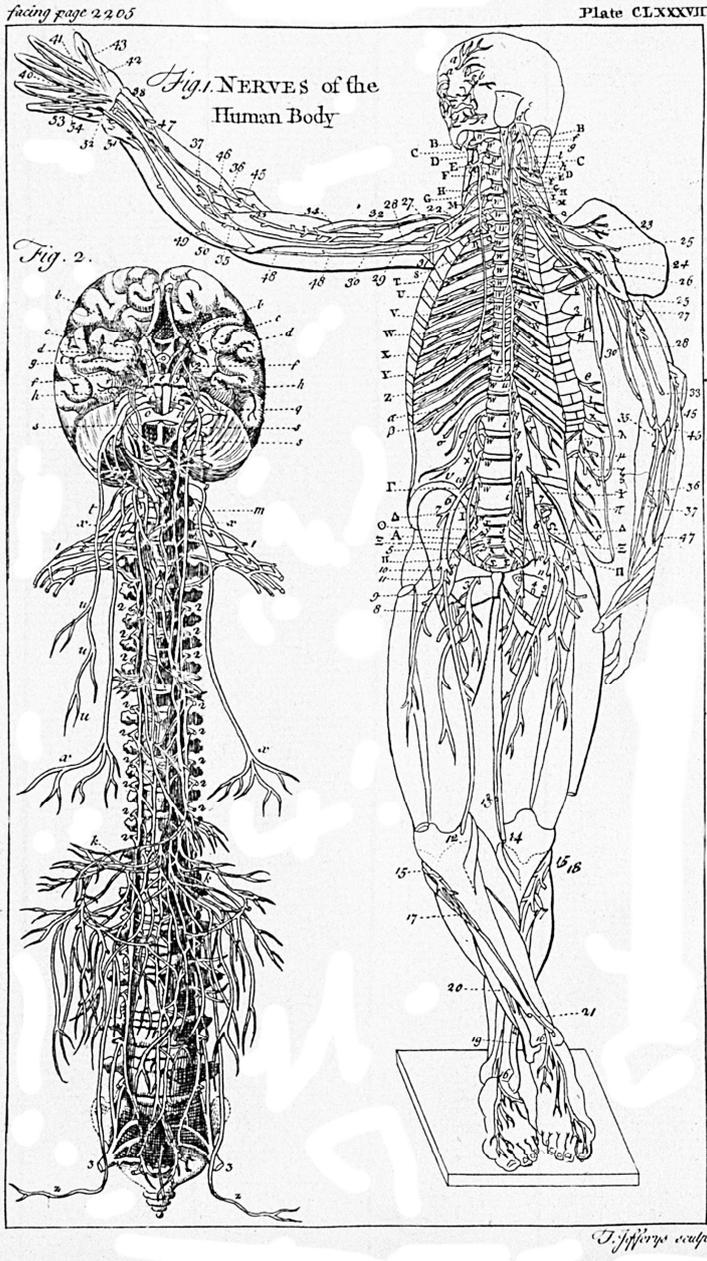


Frontispice de l'édition faite à Paris chez Simon Coline en 1530 du *De compositione medicamentorum ... libri septem* de Claude Galien, © BIUS, Paris.

¹ *De placitis Hippocratis et Platonis*, VII, 4, vol. II p.499 De Lacy

mous. Les premiers sont adaptés au mouvement, les autres à la sensation. Comme il l'explique plusieurs fois dans ses traités, les nerfs durs partent de la colonne vertébrale, et parmi eux, les plus durs sont situés au bas de la colonne vertébrale, tandis que les nerfs mous partent de l'encéphale, les plus mous sur l'avant, les

moins mous, c'est-à-dire moyens, de l'arrière. Il peut y avoir des degrés intermédiaires. Il peut aussi se produire un changement de nature. Ainsi pour divers rameaux de la troisième paire (vague), qui vont à la langue, à la mâchoire et aux dents. Ils sont mous ou deviennent durs et moteurs. Certains au contraire gardent longtemps leur nature, par exemple les nerfs qui descendent à l'estomac restent des nerfs mous et sensitifs.



Le cas des "mouvements obscurs"

À côté de ces études, un autre domaine n'a pas échappé à Galien, ni d'ailleurs à ses contemporains. Il existe tout un champ de mouvements involontaires ou non volontaires, où le lien entre les muscles et les nerfs moteurs est absent. Il y en a qui peuvent être considérés comme automatiques, mais qui étaient rangés, avant cela, dans la catégorie des mouvements non volontaires ou involontaires, comme le clignement des yeux, le fou rire et d'autres manifestations qui se propagent involontairement, selon Aristote. D'autres peuvent être mixtes, volontaires ou involontaires, comme la déglutition ou l'érection. C'est le domaine des mouvements obscurs ou problématiques, mouvements qui seront promis à une longue histoire.

Dans un traité dont l'original grec a disparu, mais qui a subsisté en arabe et dans deux traductions latines anciennes, l'une à partir de l'arabe l'autre du grec retrouvé puis perdu, Galien introduit son questionnement en notant que tous ces mouvements contredisent la règle des mouvements volontaires, à savoir qu'ils ne peuvent se faire sans l'intervention d'un muscle, et inversement, quand un mouvement involontaire implique un ou plusieurs muscles, deux situations théoriquement impossibles mais dont l'observation atteste l'existence². Dans un latin maladroit, le traité commence ainsi : « *Problématiques* est le nom donné par ceux qui s'occupent d'anatomie à certains mouvements chez les vivants où l'on voit clairement se produire un mouvement mais dont nous ignorons totalement la partie du corps qui le produit, soit, si nous la connaissons, nous ignorons comment il se produit » (4).

Découverte des nerfs viscéraux.

Dans ses travaux sur les nerfs, les observations de Galien ne se limitent pas à l'étude du trajet des nerfs, ni

Gravure d'une dissection de nerfs selon la tradition de Claude Galien, en passant par Vésale, de T. Jefferys, ca. 1763, 20.6 x 12.5 cm, intitulée *The nervous system: two figures showing the brain, spine and nerves, and an écorché*, tirée de l'ouvrage de T. Jefferys *A new and complete dictionary of arts and sciences: comprehending all branches of useful knowledge ... Illustrated with above three hundred copper-plates*, London: Printed for W. Owen, 1763-1764, © Wellcome Collection.

² Sur les mouvements problématiques, *On problematical movements* (*De motibus dubiis*) p. 123.

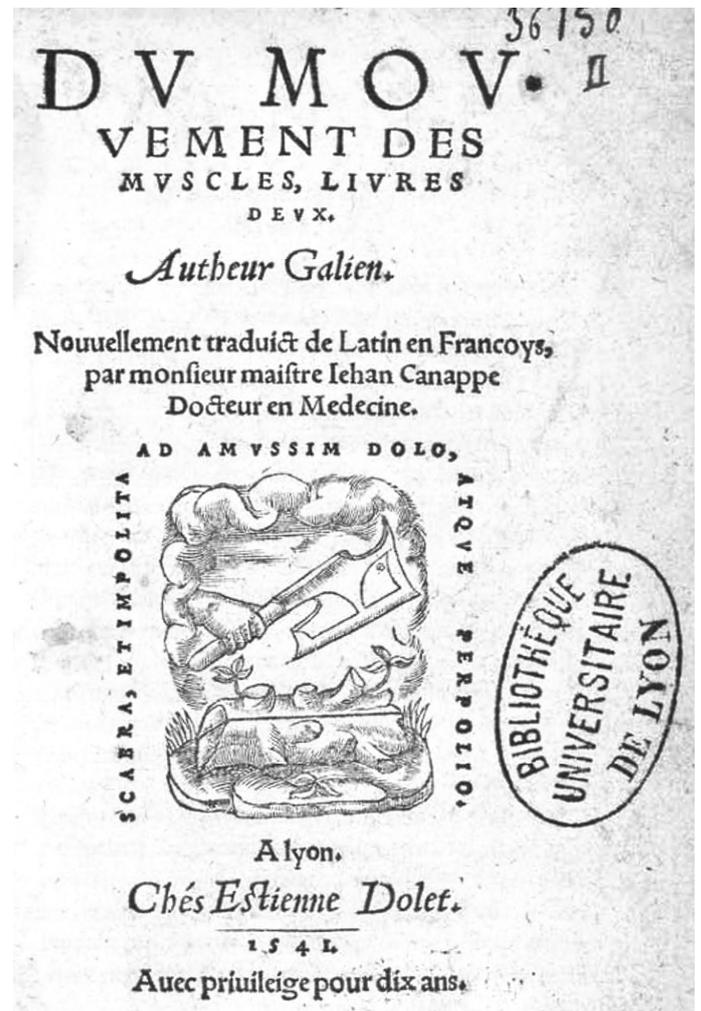
même aux nerfs dont les trajets sont les plus complexes. Ce qui l'intéressait aussi, c'étaient ces autres nerfs minuscules trouvés partout dans le corps, dans les organes, et qui ne semblaient servir à aucune fonction.

Il ne s'agissait pas de simples fibres nerveuses, auxquels il s'intéressait par ailleurs à l'intérieur des muscles ou dans les membranes, mais de véritables nerfs très fins. Pourtant, puisque Galien croit en l'idée que dans la Nature rien n'est inutile, il ne pouvait pas en négliger l'étude. Dès lors se pose la question : à quoi pouvaient-ils bien servir ? Question difficile puisque leur finesse et leur situation ne permettaient pas d'effectuer sur eux d'expérimentations perturbatrices, comme celles qu'il avait pratiquées sur des nerfs plus gros.

Mais, d'abord, ces nerfs fins servaient-ils tous à quelque chose ? Au contact des philosophes, diverses positions médicales s'étaient fortement affirmées selon les desseins qu'on attribuait ou pas à la Nature : entre l'idée que certains éléments du corps n'étaient en rien nécessaires, mais seulement le fruit du hasard, ou simplement décoratifs, et ceux pour qui « la Nature ne fait rien en vain ».

Pour sa part, Galien était inspiré par une philosophie qu'on nomme « finaliste », qui estimait qu'absolument tout, avait une utilité – nous dirions une fonction. Il fallait donc rechercher une explication de la présence de ces nerfs fins. Le doute à ce sujet n'était donc pas permis. C'était une formidable incitation à lier les connaissances d'anatomie et de physiologie ; d'où un travail gigantesque que reflète l'énormité de l'œuvre de Galien.

Comme l'ensemble de ces recherches ont mené, à terme, à ce que nous nommons aujourd'hui le système nerveux viscéral, cela vaut la peine d'en découvrir les débuts dans les travaux de Galien. Tout d'abord, il se demande si ces nerfs restent en surface ou s'ils pénètrent dans la chair des organes ? Certes l'examen visuel les reconnaît à leur surface, mais « il n'est pas encore possible de distinguer clairement par les sens comment ils se distribuent dans les viscères ». Pour le cœur, il est possible de voir des ramifications de petits nerfs dans le péricarde ; pourtant certains filets s'implantent manifestement dans le cœur même, du moins chez les grands animaux. Mais comme pour les autres viscères on les voit dans les tuniques qui les enveloppent. Cependant « il n'est pas non plus possible de les voir se ramifier plus avant dans la substance même des viscères ».



Claude Galien, Du mouvement des muscles, livres deux par Jean Canappe, traduction en français publiée en 1541 chez Estienne Dolet. © Fonds anciens BU Lyon. Cette édition est significative de cette période au cours laquelle la ville de Lyon privilégie les traductions en français dans ses entreprises éditoriales destinées à offrir au public les œuvres des savants de l'Antiquité.

Cependant Galien donne une description plus complète de leur trajet dans son ouvrage sur les Procédures anatomiques, ouvrage consacré à l'enseignement de la dissection, qui est toujours, ne l'oublions pas, animale. Un seul passage suffira à montrer sa position. Suivant le trajet du nerf vague, « il en arrive à la « bouche de l'estomac » (orifice de l'œsophage) qu'il entoure « de sorte que cette partie atteint un haut degré de sensibilité et de relation avec les composants du système nerveux, si bien qu'il domine les autres parties du corps sous cet aspect, et ainsi possède un très haut degré de sensibilité »³.

Si les nerfs viscéraux sont trop fins pour être vus, il existe un moyen pour approcher au plus près de leur distribution jusqu'à leur terminaison dans les tissus des

³ *Adm. anat XIV, 10 p. 220 Duckworth*

organes. C'est ainsi qu'il recommande d'enlever les intestins (« comme le font les bouchers ») et l'estomac. Alors, « vous verrez les branches des nerfs qui vont au foie et à la rate. Ces branches sont très fines. Après cela, on voit les branches qui vont au mésentère. Mais pour les branches qui vont aux deux reins, la plus grande partie provient du nerf qui va au thorax (tronc sympathique) Telle est la distribution des nerfs provenant du cerveau. À toutes les autres parties du corps arrivent des nerfs provenant de la moelle épinière ».

Quelle fonction?

Quant à leur fonction, Galien traite de cette question quand il arrive à l'étude des organes alimentaires dans les livres IV et V de *l'Utilité des Parties du corps*.

Il commence par la « chair du foie », à laquelle il reconnaît un rôle dans la « sanguinification » (production du sang). Puis il traite des canaux cystique et cholédoque, la membrane qui l'entoure, et les artères. Quant au nerf qui s'insère dans cette membrane, il se demande pourquoi elle contient un nerf et pourquoi il est si petit ?

Galien écrit : « La nature n'a donné au foie qu'un très petit nerf, car elle ne voulait pas en faire, pour l'animal, un principe ni de mouvement ni de sensation ». La réponse est curieuse puisqu'elle écarte les deux fonctions essentielles des nerfs (mouvement et sensation). Après tout, le foie étant l'organe nutritif (il est celui de la sanguinification), chargé de la fonction « végétative », qu'ont aussi les plantes. Cet organe pourrait donc se passer théoriquement de nerf. Mais il ne faudrait pas non plus « qu'une partie du corps soit alors assimilable à un végétal, étant dépourvu de mouvement et de sensation ». Or cela n'arrive pas, et cela grâce à ce nerf qui a pour rôle d'éviter que le viscère ne soit complètement dépourvu de sensibilité : « Cette assertion, difficile à prouver, paraîtra néanmoins plus probable et plus claire : ce sont les nerfs qui distinguent le règne animal de celui du végétal : si le foie ne devait pas éprouver la sensation que cause une inflammation, soit un abcès, soit une autre affection, il ne différerait aucunement d'un végétal »⁴. La présence de quelques filets nerveux dans un corps le fait donc participer quelque peu à la vie « psychique », puisqu'il y a ainsi communication avec le cerveau ou la moelle. Cela ne veut pas dire qu'il participe aux plus hautes fonctions,

volonté et mouvement, ni même sensation proprement dite. Mais la notion d'une certaine sensibilité d'intérêt local, si l'on peut dire, veillant par ses alertes et ses réactions à l'intégrité des organes, enrichit encore, quoique discrètement, la conception d'une nature providentielle et intelligente.

Pour une sensibilité spécifique des organes?

De quelle nature est cette « sensibilité » ? Le traducteur utilise ce mot spécial, tandis que le grec n'a que celui de « sensation ». Galien utilise alors un terme qui s'applique plutôt à la vue, à la reconnaissance des lettres ou des formes quand elle est difficile (*amudros*), d'où l'expression de « sensation obscure ». Si la sensation viscérale n'est pas distincte, c'est qu'elle-même dispose d'un outil trop faible qui ne perçoit pas les objets distinctement. Il se pourrait qu'ici Galien se souvienne de son lointain maître Platon, qui parle d'instruments imparfaits, troubles, pour apercevoir la Beauté ou la Sagesse (*Phèdre* 250 b). Ou encore d'Aristote dans ses études sur les animaux. Chaque fois il s'agit d'une mauvaise qualité de la vision, par opposition à celle qui sait distinguer clairement les choses. Les nerfs viscéraux seraient donc des instruments faibles, parce que très petits et superficiels, pour capter des sensations elles-mêmes confuses, de type viscéral, des douleurs vagues ou même fortes, toujours difficiles à décrire.

Le nerf situé sur la surface du foie correspond à ce rôle : « s'il ressent toutes ces affections d'une manière obscure et non pas vive comme les autres parties du corps, c'est que le nerf, étant petit, est distribué sur la tunique périnéale ou n'adhère pas du tout au viscère, ou ne pénètre pas dans la totalité. »⁵ Une telle sensation n'aboutit pas à une conscience claire ou même au seuil de la conscience, une notion qui n'a pas de terminologie propre en grec ancien.

Galien reprend un peu plus loin la question pour d'autres organes : pancréas, reins, rate, vessie, etc... en lui appliquant la même explication. « Tous ces corps ont des nerfs excessivement grêles, qu'on voit sur la face interne de leurs tuniques ; la nature a doué ces organes du degré de sensibilité convenable pour qu'ils se distinguent des végétaux et qu'ils constituent des parties d'animal. »⁶ Il reprend l'analyse de leur fonction : à côté du mouvement et de la sensation, des nerfs peuvent avoir pour fonction la sensibilité aux affections. Ainsi

⁴ Us. part. IV, 13, p. 313-314, Daremberg.

⁵ Us. part. IV, 13, p. 314-5, Daremberg.

⁶ Us. part. V, 9, p. 361, Daremberg.

s'explique leur finesse, car si les nerfs de ces organes sont très ténus, dit-il, c'est qu'ils n'ont pour but que de donner la sensation des lésions qu'ils peuvent éprouver.

Cela les distingue des plantes, dépourvues de système nerveux. Et il développe longuement l'idée du danger qui résulterait pour les viscères et en particulier pour les intestins, s'ils n'étaient pas avertis par les nerfs des affections morbides ou des matières nuisibles. Ils pourraient être ulcérés sans réaction de leur part ; de la même façon pour le foie, la vessie etc... chaque organe, même le moindre, est à même de réagir de manière appropriée, écarter une menace, et ainsi maintenir le corps en santé. Tout cela se fait sans que la conscience soit toujours alertée.

Cette idée lui est très utile pour développer la doctrine des « lieux affectés ». Contrairement à une vision de la pathologie globale (le chaud, le froid etc.) ou basée sur les humeurs, la cause de beaucoup de pathologies doit être localisée dans des parties spécifiques. C'est alors que les connaissances anatomiques s'avèrent indispensables, notamment lorsqu'elles affectent les nerfs. Toutefois il lui arrivera de prendre garde à ne pas attribuer à ces parties du corps une sorte de conscience, ou d'intelligence, une « âme » en quelque sorte, pour ne pas trop les rapprocher du monde animal, comme l'avait fait Platon dans le *Timée* à propos du foie ou d'autres de l'utérus. Les parties du corps n'ont pas d'autre sensation que celles qui les concernent immédiatement. Si elles sont incommodées ou souffrent, elles pourvoient elles-mêmes à leur amélioration, instinctivement pourrait-on dire, comme par le vomissement en cas de tension dans l'estomac, ou d'irritation, mais elles n'ont pas le souci des autres. Dans le fond, cette innervation sert à la conservation de l'organe, comme les vaisseaux assurent le maintien de la nourriture par le sang et de la chaleur.

Un cas particulier concerne le cœur. Ici il faut rappeler les efforts de Galien pour montrer que le cœur n'est pas un muscle, bien qu'il soit animé d'un mouvement incessant. Sa position, originale et difficile même pour ses contemporains, est que la chair du cœur ressemble en tous points à celle d'un muscle, par sa couleur et sa fermeté par exemple. Mais pour lui, contrairement à ce qui nous paraît être une évidence, il n'en est pas un. L'une des nombreuses raisons qu'il donne est qu'il possède des fibres multiples et non pas de direction unique, comme les muscles. Une autre est que son mouvement n'est pas volontaire. Si le cœur était un

muscle, il pourrait s'arrêter ou ralentir selon notre gré, ce qui n'est pas le cas. Sa pulsation, en quelque sorte autonome (il continue un certain temps à pulser même détaché du corps), vient pour Galien de sa texture propre, faite de chair et de fibres, en aucun cas de nerfs moteurs. Comme chaque substance corporelle il a sa propre activité. Toutefois, Galien est un excellent anatomiste, et il a observé mille fois non seulement les tendons mais aussi des nerfs qui se déploient sur sa surface. À quoi servent les nerfs du cœur, si ce dernier n'est pas un muscle ? Sûrement pas à sa motricité, car il a par lui-même une énorme « puissance attractive ». À la sensibilité donc, comme pour les autres viscères.⁷

Une autre idée est que cette sensation se transmet : « nous avons démontré encore que les facultés d'une partie se communiquent jusqu'à un certain point aux parties voisines. Aussi était-il superflu que le nerf s'insérât dans le viscère tout entier, car il devait lui communiquer son obscure sensation par transmission. »⁸ C'est une idée fréquente chez Galien que la communication d'une affection se fait aux parties adjacentes mais aussi à distance à partir d'une localisation primitive, par exemple que des troubles digestifs peuvent affecter la vue ou même le cerveau. Les termes d'idiopathie, protopathie et le concept de sympathie (*sympatheia*) étaient l'objet de discussions, mais aussi de controverses, comme on le lit par exemple dans le traité sur les *Lieux affectés*.

Le "troisième but" de la Nature par l'innervation viscérale.

Deux genres de considérations plus générales, de type, pourrait-on dire, philosophique, interviennent chez Galien. La première concerne l'adaptation des nerfs viscéraux à chaque organe, selon son fonctionnement et ses besoins. La seconde, les relations entre eux et à l'ensemble du corps. Pour la première, Galien, qui vénère la Nature, pourvue selon lui d'une intelligence et d'une prévoyance presque divines, a recours à la notion de justice, ou plutôt d'équité. Ainsi l'attribution des nerfs à chaque organe s'est faite à chacun selon ses besoins, comme elle l'a fait pour tout : « si l'office de la justice est d'examiner avec soin et d'attribuer à chacun selon son mérite, comment la nature ne serait-elle pas supérieure à tout en équité ».⁹ Cette adaptation concerne tous les éléments du corps. Elle est concomitante à leur

⁷ Us. part. VI, 18, p. 446-447, Daremberg.

⁸ Us. part. IV, 13 p. 315 Daremberg

⁹ Us. part., p. 362, Daremberg.

formation, et ne vient pas de leur usage, ni d'une sorte d'évolution, à laquelle les Atomistes avaient déjà pensé.

Quant à la communication des parties entre elles et au tout, s'il n'aborde pas clairement cette question dans ce cadre, il la développe ailleurs puissamment, comme il le fait au tout début du traité : le corps est un tout, traversé par une « unité de souffle et unité de flux », selon l'adage d'un traité un peu obscur, le *De alimento* pseudo-hippocratique, qui dit encore que « tout est en sympathie ». La perception de la douleur ou de la gêne, la communication par sympathie des parties entre elles, sont des fonctions du système nerveux, en particulier des nerfs viscéraux qui captent et transmettent des perceptions obscures des organes, veillant à leur intégrité. Avec les artères et les veines qui maintiennent la bonne chaleur du corps et le nourrissent, outre les nerfs moteurs et sensitifs, ces nerfs minuscules participent ainsi par les alertes qu'ils transmettent à l'unité du tout. Mais on ne trouve pas chez Galien une idée d'organisme liant les parties au tout, telle qu'elle a été formulée à la fin du dix-huitième et au début du dix-neuvième siècle. Cependant sur ce dernier aspect, certains auteurs ont pu appliquer, à tort ou à raison, le terme moderne d'« holisme ».

En somme, on pourrait dire à propos des nerfs viscéraux, que plus ces instruments sont fins et petits, plus leur distribution est incomplètement connue, moins on peut nier que leur rôle est d'accomplir des « sensations obscures ». Et donc, si l'on veut discerner la frontière entre le végétal et l'animal, plus il est essentiel de les reconnaître dans le corps animal.

Mais la vraie pensée de Galien se trouve dans ces lignes pleines d'admiration, où il invente un nouvel espace à explorer : « Le troisième but de la nature dans la distribution des nerfs est la perception de ce qui peut nuire. ... Considérant dans les dissections comment s'opère la distribution des nerfs et recherchant si la nature eut tort ou raison de distribuer, non pas des nerfs égaux à toutes les parties, mais de plus grands à celles-ci, de moindres à celles-là, vous répèterez malgré vous avec Hippocrate et dans les mêmes termes que lui que « la nature se montre pour les animaux pleine de savoir, de justice, d'habileté et de prévoyance. »¹⁰

Cette idée d'un « troisième but » de l'innervation viscérale, dans sa modestie ouvre alors un espace remarquable à la physiologie mais aussi à la pathologie. Ce champ fera l'objet de multiples dénominations, système nerveux autonome, végétatif, entérique et

d'approches vite renouvelées, pleines de questions et de promesses. Il n'est d'ailleurs pas indifférent de noter que des découvertes récentes, parmi d'autres, ont montré l'existence d'innervations viscérales dans certains cancers et que la fonction de ces innervations demeure obscure.

debru.armelle@gmail.com

Bibliographie

Sources de Galien

L'édition standard de Galien reste celle de Kühn (K.), *Galen Opera Omnia* 20 vol. Leipzig 1821-1833, grec avec trad. latine. Traduction française partielle par Charles Daremberg (*Œuvres anatomiques, physiologiques et médicales*, 2 vol., Paris 1854-1856 (Dar.)), numérisée sur le site de la BIU Santé. Rééd. partielle Gallimard, Tel, 2 vol. 1994. Des éditions et traductions plus récentes sont mentionnées. Parmi elles, quelques traités de Galien sont édités et traduits dans la collection des Universités de France, Paris, Les Belles Lettres. Traduction anglaise avec commentaires en cours dans la nouvelle collection Cambridge Galen translations (CUP).

Œuvres dans cet article

Galien, *De usu partium (De l'usage des parties du corps)* trad. fr. Ch. Daremberg, t. I, tr. angl. M.T. May, Ithaca 1968 (Us. part.)

Galien, *De anatomicis administrationibus (Procédures anatomiques)* (Part. anat). Les 8 premiers livres et une partie du 9^e ont été édités par Kühn, II (215-73), tr. angl. par C. Singer, *Galen on Anatomical Procedures*, London, 1956. La partie la plus intéressante pour le système nerveux se trouve dans les livres IX,6-XV perdus en grec mais conservés en arabe, tr. angl. par W.L.H., Duckworth, *Galen on Anatomical Procedures : the Later Books*, Cambridge 1962.

Galien, *De placitis Hippocratis et Platonis (Sur les doctrines d'Hippocrate et de Platon)* VII, 4 (ed. De Lacy, *On the doctrines of Hippocrates and Plato*, Berlin 1980 p. 449) (PHP).

Galien, *On problematical movements*. ed. tr. angl. comment. par V. Nutton, Cambridge University Press, 2011.

Références.

(1) Von Staden H., *Herophilus : The Art of Medicine in early Alexandria*, Cambridge 1989. Hankinson R.J. (ed.) *The Cambridge Companion to Galen*, Cambridge University Press, 2008. Boudon-Millot Véronique, *Galien de Pergame : un médecin grec à Rome*, Paris, Les Belles Lettres, 2012, La notice de Wikipedia sur Galien est fiable.

(2) Siegel Rudolf E., *Galen On Psychology, Psychopathology and Function and Diseases of the Nervous System*, S. Karger, Basel, 1973. Savage-Smith Emilie, Galen's Account of the Cranial Nerves and the Autonomic Nervous System, *Clio medica*, 6, pp. 77-98 et pp. 173-194, 1971. Debru A., *L'expérimentation chez Galien*, dans *Aufstieg und Niedergang der Römischen Welt*, de Gruyter, vol 37.2, 1994, 1718-1756. « *L'expérimentation sur le cerveau et le système nerveux dans l'antiquité* », *Lettre des neurosciences*, 32, 2007, p. 3-7.

(3) Debru A., *The power of torpedo fish as a pathological model to the understanding of nervous transmission in Antiquity*, C. R. Biologies 329 (2006) p. 298-302.

(4) Debru A., « *Galen on the Unclear Movements* » in Vivian Nutton (ed.), *The Unknown Galen*, University of London, 2002, *Bulletin of the Classical Studies*, Supplement, 77, 79-85.

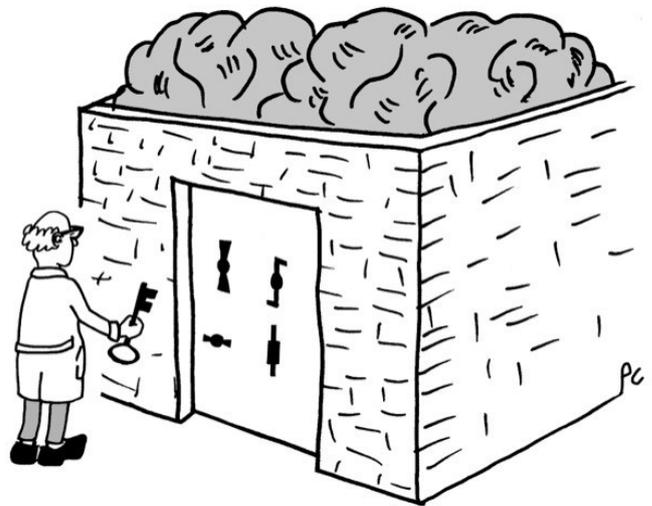
¹⁰ Us. part. V, 9 p. 362, Daremberg.

La barrière hémato-encéphalique dans tous ses états.

PAR BÉNÉDICTE DEHOUCK

Bien que découverte grâce à ses propriétés de barrière, le rôle de la barrière hémato-encéphalique, littéralement, la barrière entre le sang et le cerveau, ne peut se résumer à ses propriétés restrictives décrites pour protéger le SNC. Localisée au niveau des capillaires cérébraux, elle constitue une immense surface d'échanges au service du fonctionnement cérébral. Ce dossier aborde les aspects « barrière » et « échanges » qui, intimement liés, relatent des multiples facettes de la BHE.

La première partie de ce dossier met en avant les propriétés de « barrière » qui, comme décrit dans le premier article, se mettent en place lors du stade fœtal, illustrant leurs importances dès les premiers stades du développement cérébral. Jean-François Gherzi-Egea, Amel Amara, Nathalie Strazielle, décrivent le développement de la BHE et des plexus choroïdes (autre interface sang/cerveau) au regard du développement pré et post natal du SCN. Cet article met en exergue l'adaptation des interfaces sang/cerveau aux besoins spécifiques des cellules neurales aux différents stades de développement. Bien que mise en place très précocement, « l'étanchéité » de la BHE n'en est pas moins importante durant toute notre vie ; en témoignent les conséquences de son altération lors du vieillissement, mais aussi dans certains contextes pathologiques. Ainsi, Nicola Marchi, dans le deuxième article, nous décrit les modifications structurales et fonctionnelles de la BHE au fil du temps et leurs impacts sur le fonctionnement cérébral. Puis, dans le troisième article, Vincent Bérésowski aborde l'augmentation de la perméabilité de la BHE lors d'accidents vasculaires cérébraux et sa participation à la formation d'un œdème cérébral, replaçant la BHE dans un contexte pathologique général. Paradoxalement, si le maintien de l'intégrité de la BHE reste la préoccupation majeure des



différents axes de recherche, l'investigation des moyens d'augmenter la perméabilité de celle-ci est aussi indispensable ; ceci est le thème abordé par Benoît Delatour, Alexandre Carpentier et Amandine Géraudie qui décrivent le moyen « d'ouvrir » temporellement la BHE pour faire pénétrer des molécules à visée thérapeutique et ainsi améliorer la pharmacocinétique cérébrale des drogues dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Dans la deuxième partie du dossier, les articles se focalisent sur la surface d'échanges qu'offre la BHE pour permettre la communication entre la périphérie et

le SNC. Ils remettent au centre le rôle « vasculaire » de la BHE qui allie d'un côté l'apport des nutriments et des signaux périphériques aux cellules nerveuses et de l'autre l'élimination des déchets cérébraux. D'un point de vue physiologique, Bénédicte Dehouck décrit le rôle de l'endothélium cérébral et de l'unité glio-vasculaire qu'il forme avec les astrocytes et les tanocytes, dans le transport des signaux métaboliques jusqu'aux neurones impliqués dans la régulation du métabolisme énergétique. D'un point de vue pathologique, Lidia Cabeza, Guillaume Benhora-chabeaux, Adeline Etievant et Fanchon Bourasset, nous décrivent l'altération de l'unité neurovasculaire que forme la BHE avec les neurones qu'elle seconde, dans la maladie d'Alzheimer. Cet article montre l'importance des échanges bidirectionnels (influx et efflux) que permet la BHE, dans le maintien du fonctionnement cérébral.

L'étude de la BHE, de sa structure, de son rôle et de sa régulation a été permis grâce à des approches complémentaires effectuées *in vivo* et *in vitro*. Dans la

troisième partie de ce dossier, Audrey Chagnot et Axel Montagne décrivent une approche d'imagerie qui permet « l'auscultation » de la BHE et l'évaluation de son intégrité *in vivo*. Fait suite un article de Coraly Simoës Da Gama, Ambre Prouveau et Mélanie Morin-Brureau qui fait le point sur les différents modèles *in vitro*. Les auteurs décrivent l'évolution des modèles qui émane d'une incroyable inventivité pour reconstruire et donc étudier la complexité de la BHE. L'utilisation de ces modèles est ensuite illustrée dans le contexte de l'épilepsie où l'altération de la BHE est établie comme une conséquence mais aussi dans la récurrence des crises. L'épilepsie est associée à une modification de la perméabilité de l'endothélium cérébral, mais aussi à l'altération des échanges au travers de la BHE. Ce dernier article fait référence aux deux premières parties de ce dossier, qui, vous l'aurez compris n'est qu'un aperçu des multiples « états » de la BHE.

Bonne lecture...

Développement des interfaces sang-cerveau

JEAN-FRANÇOIS GHERSI-EGEA¹, AMEL AMARA¹, NATHALIE STRAZIELLE²

Eq FLUID1, Brain-i2, Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon

Introduction

Les interfaces sang-cerveau assurent une fonction importante de neuroprotection, tout en permettant l'approvisionnement du cerveau en nutriments, micronutriments et hormones (1). Elles participent également à la quiescence immunitaire du cerveau. Ces

portes d'entrée dans le cerveau regroupent principalement l'endothélium des microvaisseaux cérébraux et l'épithélium des plexus choroïdes. La membrane arachnoïdienne entourant notre cerveau forme également une frontière entre le système nerveux central (SNC) et la périphérie, mais ne sera pas discutée ici dans le contexte du développement cérébral. Bien que

des études historiques démontraient le contraire (Figure 1A), les interfaces sang-cerveau ont longtemps été considérées perméables chez le fœtus et le nourrisson. Nous savons maintenant qu'il n'en est rien, mais que les propriétés de ces interfaces changent en fonction du stade de développement considéré (2).

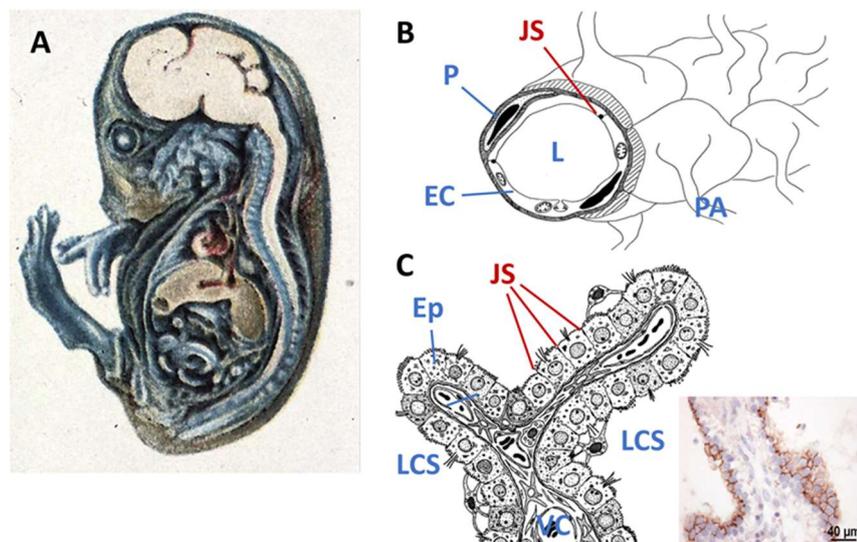


Figure 1 : Efficacité des Interfaces sang-cerveau au cours du développement

A. Démonstration historique de l'efficacité des interfaces sang-cerveau : Embryon de cochon d'Inde injecté par voie systémique avec du bleu trypan par George B. Wislocki en 1920. Noter l'absence de coloration du cerveau et de la moelle épinière, indiquant l'existence d'une « barrière » fonctionnelle entre le système nerveux central et le reste de l'embryon. **B.** La barrière hémato-encéphalique formée par l'endothélium cérébral (EC) se met en place tôt au cours du développement fœtal sous l'influence des péricytes (P). Après la naissance, les pieds astrocytaires entourant les vaisseaux (PA) jouent également un rôle. **C.** La barrière entre le sang et le liquide cébrospinal (LCS) est formée par l'épithélium des plexus choroïdes (Ep) dont les cellules sont jointes par des jonctions serrées (JS) très tôt au cours du développement. L'insert de droite illustre la localisation d'une des protéines formant les jonctions serrées à 8 semaines de gestation chez l'Homme. Le marquage immunohistochimique, en brun, est continu autour de chaque cellule épithéliale. Les vaisseaux choroïdiens (VC), fenêtrés, ne partagent pas le phénotype de barrière associé aux vaisseaux du parenchyme cérébral. Autres abréviations : JS : jonctions serrées. L : lumière vasculaire. Figure adaptée de Strazielle et Ghersi-Egea., *Rev Med Virol.* 2005;15:105-33, Kratzer et al., *Histochem Cell Biol.* 2012;138:861-79, Saunders et al., *Front Neurosci.* 2014; 8: 404.

Anatomie du développement cérébral

Pour comprendre comment les échanges entre le sang et le cerveau sont régulés durant le développement, il est nécessaire de rappeler quelques notions anatomiques du développement cérébral. Le système nerveux central (SNC) se développe à partir de la troisième semaine de gestation chez l'Homme. La neurulation primaire induit rapidement la fermeture du tube neural. Cela conduit à la formation des vésicules primitives qui donneront naissance aux différentes structures cérébrales, et d'un espace interne rempli de liquide qui deviendra le système ventriculaire du cerveau dans lequel circule le liquide cébrospinal (LCS). Le LCS embryonnaire puis fœtal, sécrété initialement par les cellules neuroépithéliales bordant la face interne du tube neural, influence fortement le

développement cérébral par les facteurs trophiques qu'il contient, et par la pression hydrostatique que sa sécrétion continue génère sur le tissu. À partir de la septième semaine de développement chez l'Humain (neuvième jour de gestation chez la souris), des cellules progénitrices spécialisées de différentes vésicules cérébrales donnent naissance aux plexus choroïdes qui s'invaginent dans les futurs ventricules et deviennent rapidement la source principale du LCS. Ces structures richement vascularisées par des vaisseaux perméables de type fenêtré sont bordées par un épithélium qui forme la frontière entre le sang et le LCS (Figure 1C).

Les structures cérébrales se développent et se différencient autour des ventricules dans lesquels circule le LCS. Elles se vascularisent à partir d'un plexus vasculaire qui se forme au huitième jour de gestation chez la souris autour du tube neural, au sein de l'espace qui deviendra les espaces méningés. L'angiogenèse est initiée au sein du tissu cérébral proprement dit à la quatorzième semaine de gestation chez l'homme (onzième jour chez la souris). La paroi des vaisseaux intracérébraux forme alors la frontière entre le sang et le parenchyme cérébral (Figure 1B). Lorsque l'on parle du développement des interfaces sang-cerveau, deux aspects sont à considérer séparément. Il s'agit d'une part de l'expansion de la vascularisation cérébrale et la croissance des plexus choroïdes, d'autre part de la mise en place du phénotype de barrière sélective proprement dit au niveau des assises cellulaires formant ces interfaces, qui permet de réguler les échanges entre le sang et le SNC.

Développement de la vascularisation cérébrale, et croissance des plexus choroïdes

La pénétration initiale des vaisseaux dans le parenchyme à partir des espaces méningés, puis le bourgeonnement de l'extrémité des cellules endothéliales pour produire les nouveaux segments vasculaires dans le tissu (angiogenèse) sont induits par le facteur de croissance VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) issu des cellules neurales. Des facteurs morphogéniques de la voie de signalisation Wnt produits par le neuroépithélium sont également impliqués. Dès leur apparition, les péricytes (cf. infra) participent également à l'angiogenèse (3). La vascularisation périventriculaire du cerveau antérieur a quant à elle pour origine un vaisseau localisé à la base du télencéphale, et se produit sous l'influence de facteurs de transcription endothéliaux de type boîte

homéotique¹. En pénétrant dans le tissu cérébral, les artères se divisent rapidement pour générer les artérioles et les capillaires sanguins où se produisent le couplage neurovasculaire et les échanges d'oxygène et de nutriments. Chez l'Humain comme chez le rongeur, le lit capillaire reste cependant incomplet à la fin de la gestation, et le débit sanguin cérébral reste faible. Une seconde vague d'angiogenèse se produit après la naissance, entre la première et seconde semaine de vie chez la souris. Elle se produit sous l'influence de molécules de signalisation dépendantes des voies Wnt, Notch et VEGF (3). La maturation postnatale des astrocytes se traduit par l'apparition d'extensions cellulaires autour des vaisseaux appelés pieds astrocytaires, lesquels contribuent à cette signalisation et ainsi participent à l'angiogenèse postnatale. Toutes les structures cérébrales ne se vascularisent pas de façon synchronisée. Le cervelet par exemple reste pauvrement vascularisé jusqu'à la première semaine de vie chez la souris.

Les mécanismes induisant le développement initial précoce des plexus choroïdes dans l'embryon sont encore mal compris. Des voies de signalisation liées à Notch, Shh (Sonic Hedgehog), et des facteurs de transcription tels que la neurogénine-2 sont impliqués (4,5). Les plexus choroïdes grossissent rapidement au cours du développement embryonnaire et fetal, au fur et à mesure du développement cérébral. Leur maturation est prénatale chez les mammifères. Ils présentent un réseau vasculaire dense de capillaires fenêtrés anastomosés, et un débit sanguin déjà élevé à la naissance, même s'ils continuent de croître après la naissance. Ceci leur confère un rôle particulier dans les échanges entre le sang et le SNC chez l'embryon et au cours de la période de développement postnatale précoce.

Régulation développementale des fonctions de barrière sélective des interfaces sang cerveau.

Les fonctions de frontière sélective entre le sang et le cerveau assurées par les interfaces sang-cerveau résultent d'une transcytose non spécifique faible, et de l'existence de jonctions intercellulaires serrées, de transporteurs d'influx et d'efflux, de récepteurs induisant une transcytose spécifique, et d'enzymes de métabolisme (Figure 2) (5). Ces interfaces participent également au privilège immunitaire du cerveau du fait de l'absence de molécules d'adhésion leucocytaire en condition physiologique, et de l'implication des plexus choroïdes

¹ Une boîte homéotique (*homeobox* en anglais) est une séquence d'ADN retrouvée dans certains gènes indispensables au développement embryonnaire,

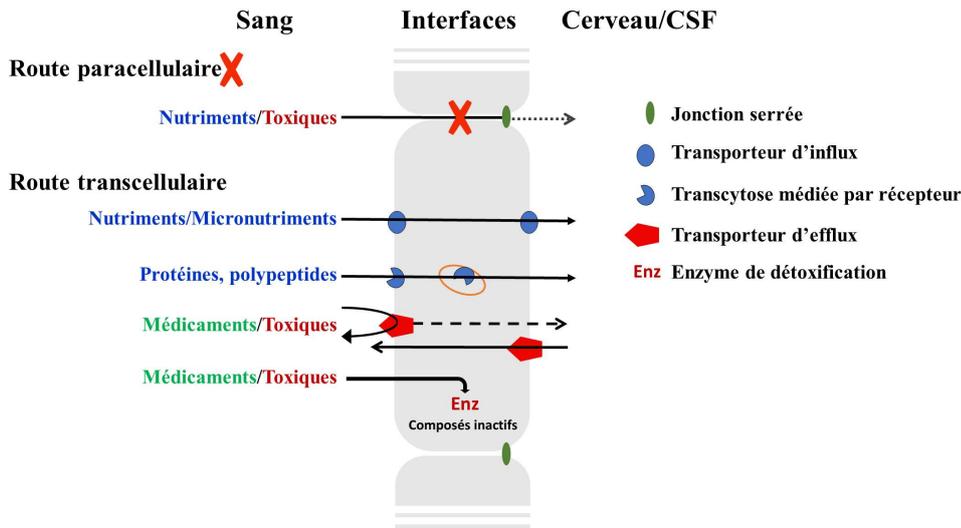


Figure 2 : Représentation schématique des mécanismes qui régulent les échanges de substances entre le sang et le système nerveux central au niveau de la barrière hématoencéphalique et de la barrière entre le sang et le liquide cébrospinal (LCR).

dans la surveillance neuroimmunitaire. Les mécanismes régissant les interactions neuroimmunitaires au niveau des interfaces sang-cerveau sont décrits en détail dans un autre numéro de cette revue (6).

Des jonctions serrées primitives sont déjà présentes entre les cellules endothéliales formant les néovaisseaux. Ces jonctions serrées se renforcent, à la douzième semaine de gestation chez l'Humain, (dix-douze jours chez le rongeur) sous l'influence des péricytes qui entrent en interaction proche avec les cellules endothéliales à ce stade. Les péricytes induisent également la disparition des vésicules intracellulaires non ciblées et donc de la transcytose non spécifique, ainsi que des molécules d'adhésion leucocytaire qui persistent dans les cellules endothéliales périphériques. Au niveau de la barrière sang-LCS choroïdienne, les jonctions serrées sont présentes dès la huitième semaine de gestation chez l'Humain (fin de la deuxième semaine de gestation chez la souris). Les différentes protéines composant les jonctions serrées sont détectées bien avant la naissance chez le rongeur, dans une proportion qui diffère de celle observée chez l'adulte. Des travaux réalisés chez le rongeur ont montré que ces jonctions serrées sont fonctionnellement efficaces bien avant la naissance au niveau de l'endothélium cérébral comme au niveau de l'épithélium choroïdien (2). Les cellules épithéliales choroïdiennes se distinguent des cellules endothéliales cérébrales par la présence de nombreuses vésicules intracellulaires, aussi bien au cours du développement que chez l'adulte. Ces vésicules ne reflètent pas pour autant des processus de transcytose non spécifique à travers la barrière sang-LCS. Elles sont sans doute liées à la fonction neuroendocrine des plexus choroïdes, qui est particulièrement significative durant le développement (5). L'épithélium choroïdien est en effet un site important de synthèse et/ou de transport par transcytose

dépendante de récepteurs spécifiques, pour des protéines de transport d'hormone (e.g. transthyréline), de facteurs de croissance (IGF-1, Insulin-like growth factor 1), et de molécules de guidage axonal. Il faut noter également l'existence d'une proportion significative de cellules épithéliales choroïdiennes spécialisées dans le transport de protéines plasmatiques telles l'alpha-fœtoprotéine, la fœtuine ou l'albumine aux stades pré- et postnataux de développement. Cela explique en partie la présence de concentrations plus élevées de ces protéines plasmatiques dans le LCS à ces stades, une observation qui avait été interprétée historiquement comme une évidence de l'immaturité des barrières sang-cerveau au cours du développement (2,5).

Les mécanismes de transport d'influx qui permettent l'apport au cerveau des facteurs nutritifs nécessaires à son développement et à sa fonction évoluent au cours du développement au sein des deux interfaces. Ceci reflète une adaptation de ces assises cellulaires aux besoins spécifiques du cerveau en développement par rapport au cerveau adulte (2, 7). Par exemple, le besoin en acides aminés du cerveau en développement est corrélé à une surexpression de transporteurs d'acides aminés au sein des plexus choroïdes, par comparaison aux niveaux d'expression chez l'adulte.

Les profils développementaux d'expression des transporteurs d'efflux qui limitent la pénétration de nombreuses substances potentiellement toxiques dans le cerveau sont plus complexes à interpréter. Ils varient selon l'interface et le transporteur considéré (8). Par exemple, chez le rongeur comme chez l'Humain, au niveau de l'endothélium cérébral, ABCG2 est une protéine d'efflux importante bien exprimée avant la naissance. *A contrario*, ABCB1, l'autre transporteur d'efflux majeur de cette barrière est faiblement exprimé aux stades postnataux précoces par comparaison au

stade adulte. L'augmentation de l'expression d'ABCB1 est peut-être liée à la maturation des pieds astrocytaires, ce qui suggère une immaturité de la protection assurée par l'endothélium cérébral vis à vis de certains toxiques environnementaux et médicaments. Les protéines d'efflux présentes dans l'épithélium des plexus choroïdes sont différentes de celles exprimées par les cellules endothéliales et semblent pour la plupart bien exprimées à la naissance à des taux proches des taux adultes. La raison pour laquelle les protéines d'efflux diffèrent entre les 2 interfaces n'est pas connue. Une hypothèse est que l'endothélium cérébral donne accès à un environnement plus lipidique (neuropile) que l'épithélium choroïdien (LCR), ce qui expliquerait que certains transporteurs d'efflux endothéliaux soient spécialisés dans la prise en charge de molécules très lipophiles, alors que les transporteurs choroïdiens se spécialisent dans la prise en charge de molécules amphiphiles.

Enfin des enzymes de détoxification telles les glutathion-S-transférases, les glutathion peroxydases et les époxyde hydrolases participent également à la protection cérébrale. Ces enzymes sont essentiellement localisées dans les plexus choroïdes et sont particulièrement actives au cours de la période postnatale précoce (9).

En conclusion de nos connaissances actuelles, il faut retenir que les échanges entre le sang et le cerveau sont régulés très précocement au cours du développement cérébral, et que les fonctions de transport des interfaces sang-cerveau semblent s'adapter aux besoins spécifiques des cellules neurales aux différents stades de développement. Les mécanismes de protection associés aux plexus choroïdes semblent particulièrement efficaces pendant la période périnatale par comparaison à l'adulte,

ce qui n'est pas forcément le cas au niveau des microvaisseaux cérébraux. L'exposition périnatale des cellules neurales à des composés toxiques d'origine endogène, environnementale, ou médicamenteuse peut induire des troubles du neurodéveloppement aux conséquences sociétales dramatiques. Il est donc nécessaire de collecter plus d'informations visant à apprécier l'implication des interfaces sang-cerveau dans le risque d'exposition du cerveau en développement à ce type de molécules. Enfin, les spécificités développementales des interactions neuroimmunitaires au niveau des interfaces sang-cerveau, et de l'invasion cérébrale par des agents pathogènes comme les streptocoques, sont encore peu documentées, ce qui est une lacune pour comprendre l'apparition de troubles du neurodéveloppement associés à certaines pathologies périnatales à composante inflammatoire ou infectieuse.

Jean-francois.ghersi-egea@inserm.fr

amel.amara@ucl.ac.uk

ns.brain.i@gmail.com

Références

- (1) Badaut J, et al. (2024) *Fluids Barriers CNS* 21(1):3.
- (2) Saunders N, et al. (2018) *J Physiol* 596(23):5723-5756.
- (3) Paredes I, et al. (2018) *Devl Cell* 45(1) : 10-32.
- (4) Lun M, et al. (2015) *Nat Rev Neurosci*, 16(8) : 445-457.
- (5) Gherzi-Egea J-F, et al. (2018) *Acta Neuropathol* 135:337–361.
- (6) Gherzi-Egea J-F & Strazielle N, (2019) *La lettre des Neurosciences* n°56, 17-20.
- (7) Saunders N, et al. (2015) *Front Neurosci* 9:123.
- (8) Strazielle N, et al. (2015) *Front Neurosci* 9:21.
- (9) Kratzer I, et al. (2018) *J Neurosci*. 38(14):3466-3479.

Altérations de la BHE dans un cerveau vieillissant.

NICOLA MARCHI

Institut de Génomique Fonctionnelle, Montpellier, France

Le vieillissement cérébral est directement lié aux détériorations de la BHE qui, à leur tour, permettent ou exacerbent des trajectoires neuro-physiopathologiques (1). Il n'est pas exagéré d'avancer l'hypothèse selon laquelle l'augmentation de la perméabilité de la BHE joue un rôle central dans le vieillissement cérébral pathologique (2). Avec l'âge, on observe d'importantes modifications des fonctions cellulaires et métaboliques de l'endothélium. Des preuves expérimentales indiquent des augmentations régionales de la perméabilité de la BHE, un facteur de risque pour le passage et l'accumulation dans le parenchyme cérébral des molécules circulantes (albumine, immunoglobuline, facteurs pro-inflammatoires en cas d'infection périphérique, xénobiotiques, toxines) véhiculées par le sang. Ce dysfonctionnement de la BHE a pour conséquence la perte du contrôle homéostatique cérébral (altération de la composition du liquide interstitiel (3)) qui est nécessaire pour une transmission synaptique et des fonctions neurologiques normales (Figure 1). Avec l'âge, on peut observer des changements morphologiques cellulaires (hypertrophie) ainsi qu'une variation du nombre d'astrocytes et de cellules microgliales dans l'hippocampe et le cortex, accompagnés de modifications transcriptomiques (4). Les changements morphologiques et l'activation cellulaire des populations d'astrocytes et des péricytes périvasculaires peuvent perturber le processus d'épuration du liquide interstitiel à travers le système glymphatique, affectant ainsi négativement la veille immunitaire (5). Cependant, la pertinence exacte de ces ajustements cellulaires et moléculaires n'a pas encore été entièrement clarifiée.

Une augmentation de la perméabilité liée à l'âge entraîne une activation gliale (astrocyte périvasculaire) par exemple dans les régions clés du cerveau comme l'hippocampe (6). L'entrée de substances telles que la fibrine et l'albumine sérique dans le parenchyme cérébral

témoignent de l'altération de la perméabilité de la BHE (7). Ces molécules s'accumulent dans les neurones et les astrocytes et entraînent des modifications d'expression des canaux ioniques (par exemple le canal potassique Kir4.1) et des transporteurs du glutamate (8), avec des conséquences néfastes pour les fonctions neurologiques concernées. En plus, avec l'âge, la membrane basale (formée par des collagènes, laminines, etc.) s'épaissit, entraînant un durcissement des microvaisseaux et une perte partielle de réponse aux stimuli de vasodilatation ou vasoconstriction. Des études ont montré que les vaisseaux cérébraux vieillissant répondent moins bien à

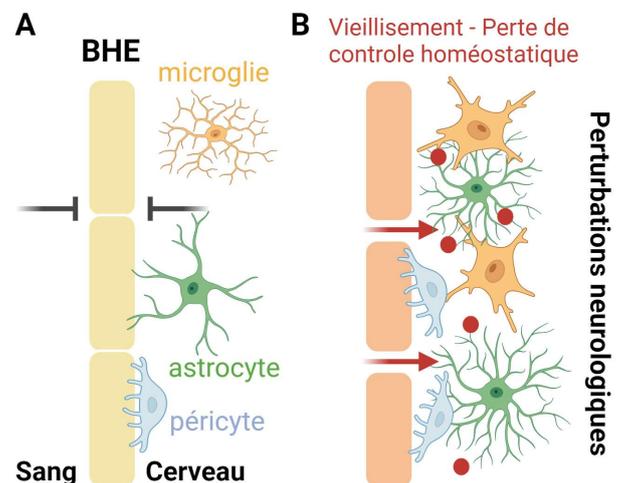


Figure : **A)** La BHE intacte maintient une ségrégation optimale entre le sang périphérique et le parenchyme cérébral (T horizontale noire : passage limité ou bloqué). **B)** Avec le vieillissement, la perméabilité de la BHE peut augmenter (flèches rouges) de manière régionale, entraînant l'entrée de composants sanguins (points rouges) dans le parenchyme, avec une perte de l'homéostasie et l'activation de cellules gliales. Ces événements peuvent altérer la transmission neuronale et représenter un facteur de risque pour une trajectoire neurologique négative. Fait avec Biorender.

la dilatation médiée par l'oxyde nitrique (NO), ils présentent également un stress oxydatif et une inflammation accrue (2). La capacité des cellules endothéliales à générer du NO diminue avec l'âge, même chez les sujets sains. La diminution de l'expression de la NO synthase (NOS) et l'augmentation de la production de radicaux libres de l'oxygène ou d'inhibiteurs endogènes de la NOS contribuent à réduire la disponibilité du NO dans les vaisseaux sanguins sénescents. Ces événements entraînent une diminution de l'efficacité et de la performance du couplage neurovasculaire, essentielles pour la transmission synaptique. D'un point de vue pharmacocinétique, l'efficacité des transporteurs (ATP-dépendent) situés sur les côtés luminaux et abluminaux des cellules endothéliales peut diminuer avec l'âge (9), entraînant une dérégulation du passage moléculaire dans le parenchyme, des réductions de l'entrée des nutriments dans le cerveau, et une détoxification diminuée (1).

L'interface astrocyte-péricyte offre l'opportunité d'explorer de nouvelles stratégies pharmacologiques pour améliorer la fonction de la BHE, avec un intérêt particulier pour les populations âgées (10). Dans diverses conditions pathologiques telles que les crises épileptiques, les AVC, les traumatismes crâniens et les infections, les péricytes et les astrocytes se détachent de l'endothélium des capillaires (8). Cette perte de couverture périvasculaire peut contribuer à des déficits de perfusion cérébrale, ce qui peut déclencher des altérations neurodégénératives secondaires à la pathologie et lors du vieillissement. Des travaux de recherche indiquent que le dysfonctionnement de la BHE non seulement accompagne, mais peut aussi précéder le déclin cognitif

chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer (7,8). Cette situation offre une opportunité pour le développement de biomarqueurs (mesurables en imagerie ou en biochimie) pour la détection des dysfonctionnements cérébrovasculaires à différents âges.

En résumé, dans l'interface astrocyte-péricyte, les changements liés à l'âge ont un impact négatif sur la perméabilité de la BHE et contribuent à l'inflammation péri-vasculaire et du parenchyme. De nouvelles pistes de recherche exigent des études approfondies afin d'élucider les mécanismes cellulaires et d'identifier les cibles pharmacologiques et les biomarqueurs adaptés à la gestion des pathologies cérébrovasculaires dans le contexte du vieillissement.

Nicola.Marchi@igf.cnrs.fr

Références

- (1) Banks WA, et al. (2021). *Nat Aging* 1: 243-254.
- (2) Zimmerman B, et al. (2021). *Psychophysiology* 58, e13796.
- (3) Carare RO, et al. (2020). *Alzheimers Dement (Amst)* 12 : e12053.
- (4) Matias I, et al. (2019). *Front Aging Neurosci* 11 : 59.
- (5) Escartin C, et al. (2021). *Nat Neurosci* 24 : 312-325.
- (6) Verheggen ICM, et al. (2020). *Geroscience* 42 : 1183-1193.
- (7) Petersen MA, et al. (2018). *Nat Rev Neurosci* 19 : 283-301.
- (8) van Vliet EA & Marchi N (2022) *Epilepsia* 63: 1297-1313.
- (9) Erdo F. & Krajcsi P (2019) *Front Aging Neurosci* 11: 196.
- (10) Sweeney MD, et al. (2019) *Physiol Rev* 99 : 21-78.

BHE et accidents vasculaires cérébraux

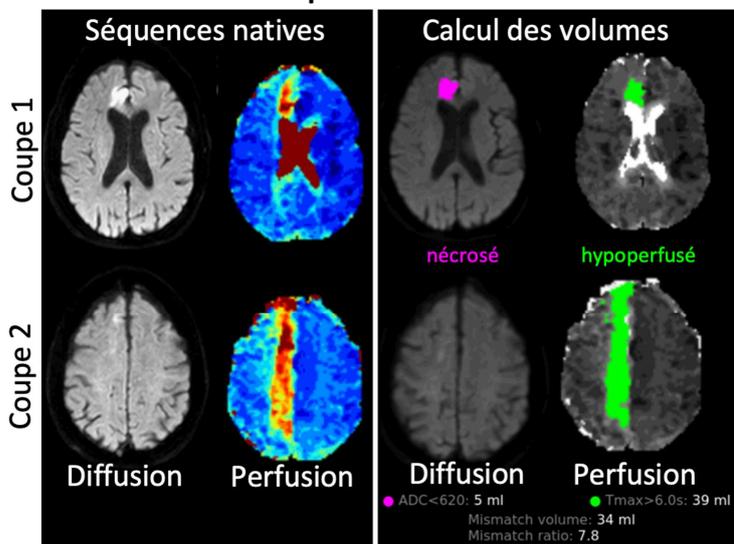
VINCENT BEREZOWSKI

Laboratoire Troubles Cognitifs Dégénératifs et Vasculaires, U1172 Inserm, Université de Lille, CHU Lille.

Depuis qu'ils suscitent l'intérêt des cliniciens qui les étudient par IRM (imagerie par résonance magnétique, Figure 1), les accidents vasculaires cérébraux (AVC) ischémiques représentent une manifestation claire de la fonction de BHE. Après avoir été privée de dioxygène et de nutriments par l'obstruction d'une artère cérébrale, les capillaires ischémisés de la BHE deviennent perméables au point de laisser entrer du plasma dans le cerveau et faire apparaître un œdème. Celui-ci accentue la lésion

nécrotique provoquée par la privation, et expose le patient à un risque de transformation hémorragique. Mais à partir de quel degré d'ouverture de la barrière le patient est-il en danger ? Dès sa simple fuite, ou seulement lors d'une rupture ? Le temps en est-il toujours le paramètre clé ? Si de nombreux mécanismes moléculaires ont décrit le phénomène, le brouillard persiste sur le plan de son histoire naturelle.

A. AVC ischémique



B. AVC hémorragique

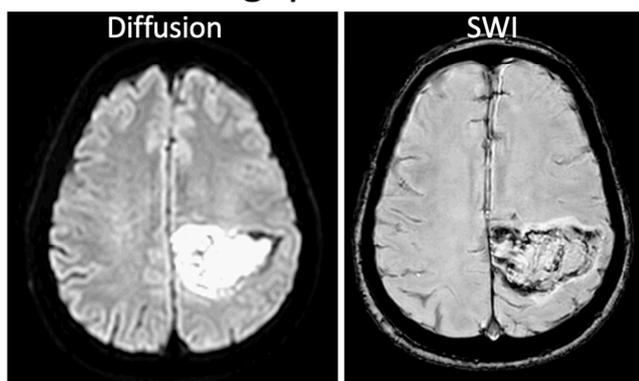


Figure 1: Image d'une lésion cérébrale ischémique (A), ou hémorragique (B). Le diagnostic de l'AVC est posé à l'arrivée du patient au service d'urgences neurovasculaires grâce à l'imagerie par résonance magnétique (IRM), qui revêt plusieurs modalités ou séquences. Les images sont ensuite créées et traitées numériquement. **La lésion ischémique (A)** est détectée grâce à une séquence de diffusion (qui révèle l'atteinte tissulaire nécrotique grâce à la mobilité aléatoire de l'eau dans le tissu cérébral), associée à une séquence de perfusion (qui révèle la perfusion sanguine). Les volumes des territoires cérébraux nécrosés et hypoperfusés sont calculés. Si tout le territoire hypoperfusé n'est pas atteint (mismatch, le cas présent), alors c'est qu'il n'est pas entièrement nécrosé et peut être partiellement récupéré sans danger en recanalisant l'artère occluse. Ici, sur 2 niveaux de coupe, le patient a un territoire atteint de 5 mL et un territoire hypoperfusé de 39 mL. On peut donc sauver 34 mL de territoire en souffrance mais non nécrosé. Si tout le territoire hypoperfusé est atteint, alors la recanalisation n'est pas réalisée car elle a trop de chances de provoquer une hémorragie. Dans l'AVC hémorragique (B), on associe la diffusion à la susceptibilité magnétique (SWI: susceptibility-weighted imaging) du fer présent dans l'hémoglobine du sang qui émet un signal fort dans l'hématome. Ceci permet de suivre avec précision l'expansion de l'hématome et les territoires cérébraux atteints, mais aucun traitement spécifique n'existe à ce jour. Toutes ces séquences ne révèlent pas l'état de la BHE. Une variante de la diffusion nommée D^* est à l'étude et permettrait de révéler la microcirculation et la fuite capillaires, mais n'est pas encore utilisée en routine clinique. ADC: Coefficient apparent de diffusion. Tmax: perfusion native (zone hypoperfusée en couleurs chaudes). Images aimablement fournies par le Dr François CAPARROS (Lille).

La BHE, toujours une cible thérapeutique dans les AVC ?

La BHE a été principalement étudiée dans le cadre des AVC ischémiques, c'est-à-dire des obstructions vasculaires, majoritairement par un caillot sanguin. Le traitement disponible consiste à retirer le thrombus pharmacologiquement à l'aide d'un agent fibrinolytique, ou mécaniquement par voie endovasculaire. Mais le temps est compté, 4h30 après le début des symptômes. Les progrès de la télémédecine et l'organisation des centres de soin ont permis de pousser la proportion de patients pris en charge au-delà de 5%. Depuis plus de 30 ans, la stratégie de neuroprotection vise à retarder les événements délétères pour laisser le temps à une recanalisation sécurisée de l'artère obstruée. Après des années de recherche concentrée sur la mort neuronale post-ischémique sans traitement protecteur permettant de la prévenir ou de la retarder (1), la BHE est devenue une cible thérapeutique. Sa dysfonction est en effet le siège des complications œdémateuses et hémorragiques de la reperfusion. La neuroprotection se voulait alors une stratégie thérapeutique indirecte : il fallait préserver la BHE pour sauver les neurones. De nombreux agents pharmacologiques devaient désormais montrer un effet protecteur sur l'endothélium cérébral. Les cibles moléculaires ne manquaient pas, du fait des nombreux mécanismes décrivant comment l'endothélium desserrait ou perdait ses protéines de jonctions serrées. Beaucoup

incriminaient des mouvements ioniques, le stress oxydant, le décollement des pieds astrocytaires par l'action de protéases, la perte des péricytes, le tout selon une organisation temporelle peu consensuelle car très différente selon les modèles expérimentaux (2). Après le ciblage de chaque mécanisme, des approches pléiotropes ont été évoquées. Pourtant aucun composé neuroprotecteur n'a montré de réel bénéfice en clinique. Le NXY-059 ou Cerovive, premier agent pharmacologique dont le développement pré-clinique a été mené selon des critères de recommandation spécifiques (STAIR : *Stroke Therapy Academic Industry Roundtable*), est l'exemple illustrant la complexité de ce défi de recherche médicale. Ce composé protégeait la BHE *in vitro* et *in vivo* dans la plupart des modèles expérimentaux connus, et il n'a pas prouvé de bénéfice en clinique. Outre les critiques de l'étude clinique, les modèles expérimentaux n'ont pas pris en compte la perfusion parmi les paramètres mesurés (3). Chez l'animal, il a fallu attendre 2014 pour qu'une étude s'intéresse au rôle initial, certes difficile à démontrer, des capillaires dans le couplage neurovasculaire, c'est-à-dire l'ajustement du débit sanguin cérébral aux besoins de l'activité cérébrale locale (4). La BHE est depuis devenue une structure active dans la microcirculation cérébrale, partie prenante de l'unité neurovasculaire, et non plus seulement une interface de transport transcapillaire. Cette même étude a aussi montré que, dans un contexte ischémique, les péricytes meurent plus vite que l'endothélium, et se contractent pour étrangler définitivement les capillaires. Ceci expliquerait l'échec observé chez certains patients, de la perfusion (*no-reflow*) du tissu après la recanalisation de l'artère obstruée. L'ouverture de la BHE est déclenchée par la nécrose ischémique du tissu neuroglial, mais aussi par de nombreux facteurs influençant l'intégrité vasculaire : l'âge, une maladie sous-jacente dégénérative (Angiopathie Amyloïde Cérébrale), métabolique (diabète),

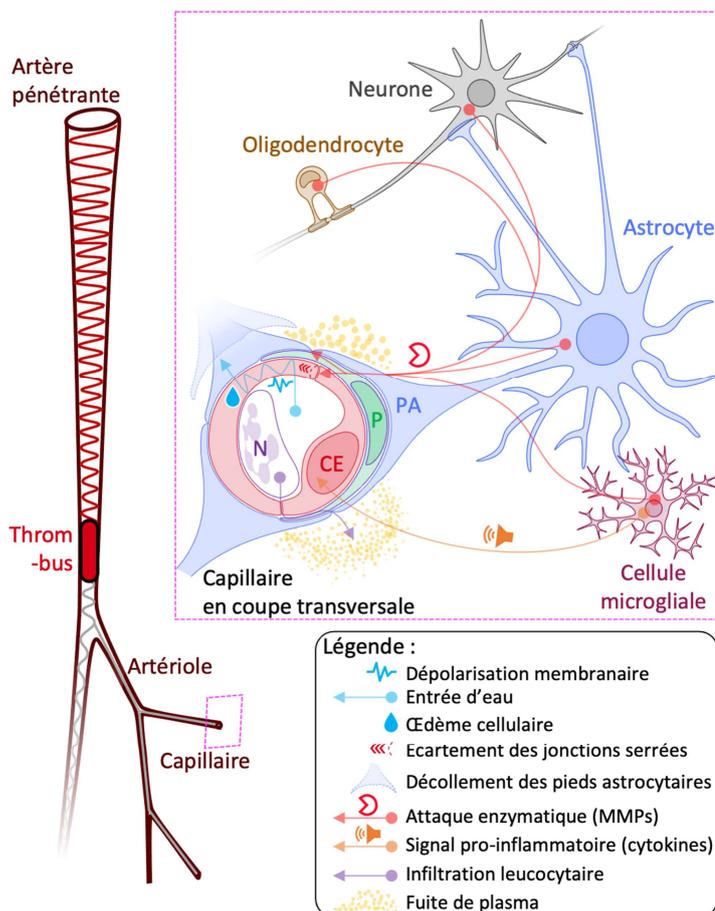


Figure 2: Résumé des mécanismes menant à la perméabilisation de la BHE au cours d'un AVC ischémique. Les mécanismes inducteurs sont représentés par des flèches indiquant l'origine (point) et la destination (pointe) des molécules impliquées. Brièvement, la chute d'ATP provoquée par l'occlusion artérielle affecte en premier lieu le potentiel de membrane et l'équilibre ionique de toutes les cellules, provoquant un œdème cellulaire qui peut notamment mener à l'écartement des jonctions serrées endothéliales capillaires, et au décollement des pieds astrocytaires. Ce dernier phénomène provoque une perte durable des propriétés de BHE. S'ajoute une attaque enzymatique touchant la membrane basale et les jonctions serrées endothéliales. Enfin, la sécrétion de molécules pro-inflammatoires provoque le recrutement exacerbé de leucocytes lors de la reperfusion, dont l'infiltration peut accentuer la rupture de la BHE et faire entrer davantage de plasma dans le cerveau. CE: Cellule endothéliale. P: Péricyte (indiqués dans le noyau). PA : Pied astrocytaire. MMPs: Métalloprotéases matricielles. N : Polynucléaire neutrophile.

hémodynamique (hypertension artérielle chronique) (5). Ainsi, la découverte de fuites de la BHE dans des maladies cérébrales plus chroniques comme la maladie d'Alzheimer et sa composante vasculaire, l'angiopathie amyloïde cérébrale, où se concentrent microlésions et problèmes de perfusion, ont ouvert un regard vers des hypothèses plus intégratives. Celles-ci impliquent que la BHE participe à la pathologie non plus uniquement dans sa fonction d'échange par perméabilité, mais aussi dans sa fonction microcirculatoire. Cette vision plus étendue et complexe est nécessaire pour améliorer notre compréhension des mécanismes pathologiques qui touchent la BHE, et des effets des molécules thérapeutiques dans le cadre des AVC. Curieusement, des revues et des travaux récents de la littérature sur la dysfonction de la BHE persistent dans une vision centrée sur la perméabilité, en décrivant les mêmes mécanismes cellulaires et moléculaires (Figure 2). Cependant, un phénomène commun aux situations pathologiques où la BHE est compromise, suscite un intérêt croissant et perturbe notre compréhension de ses mécanismes d'ouverture : la neuroinflammation.

La confusion de la neuroinflammation

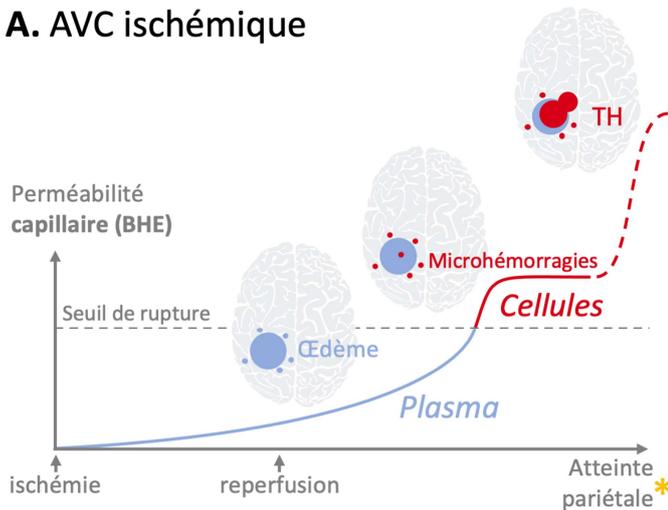
Les études biologiques sur la rupture microvasculaire post-ischémique se concentrent sur les mécanismes moléculaires, et n'accordent que peu d'importance à leur localisation capillaire, artériolaire, ou veinulaire. Le retentissement sur la fonction de ces différents segments vasculaires s'en retrouve mal connu. De même, il subsiste toujours une confusion entre rupture des capillaires de la BHE et inflammation, alors que celle-ci se déroule au niveau des veinules (6). Elle ne gagnerait les capillaires que lors d'une stimulation chronique, dérégulée de la phase pro-inflammatoire, en lien avec la taille de la lésion cérébrale et la difficulté éprouvée pour notre système immunitaire de la résorber. Une autre hypothèse repose sur le fait que les leucocytes traverseraient une BHE déjà perméabilisée par d'autres facteurs. Ainsi, les stratégies anti-inflammatoires consistent, dans le cerveau, à cibler le recrutement des leucocytes en même temps que l'ouverture de la BHE. Le défi est d'autant plus grand que le cerveau a une sensibilité particulière à l'inflammation du fait de la présence de la boîte crânienne qui entrave le gonflement du tissu. **L'œdème cérébral** est une complication fréquente et commune aux différents types d'AVC puisqu'il comprime le tissu et le fragilise, accentuant le risque de complication, dont la plus crainte est l'hémorragie. Le privilège immunitaire du cerveau accordé par la présence de la BHE qui limite l'infiltration des cellules sanguines, devient alors un désavantage dans l'AVC. Cependant, **le système glymphatique** assurerait un drainage périvasculaire continu de l'excès

de fluide cérébrospinal. Il implique la BHE et offre une nouvelle piste de recherche pour prendre en charge l'œdème et ses complications post-AVC (7). De nombreux travaux de recherche sont encore fondés sur l'inhibition de la neuroinflammation, alors que la difficulté consiste à la modérer pour qu'elle remplisse son rôle dans la résolution de la lésion sans les complications liées à la rupture de la BHE. Là aussi, la vision cellulaire et moléculaire devra s'accompagner d'une dimension plus intégrée et transversale pour aboutir à un traitement (8). Un éclairage possible entre inflammation et rupture de la BHE pourrait venir de la découverte de l'interconnexion entre l'hémostase et l'inflammation, qui conduirait non seulement à l'occlusion des vaisseaux cérébraux, mais aussi à des réponses inflammatoires associées aux lésions neuronales post-ischémiques. Cette **thrombo-inflammation** met en jeu une interaction entre l'endothélium de la BHE, les plaquettes, et les neutrophiles. Ces derniers entament alors un processus de mort cellulaire appelé NETose, qui aboutit à la libération de leur ADN nucléaire et de protéines en un réseau entrelacé nommé **NET (Neutrophil Extracellular Trap)**. Ces NETs piègent les micro-organismes, mais peuvent aussi, dans des situations lésionnelles encore mal comprises, déclencher l'hémostase, facilitant la thrombose, et entretenir l'inflammation, ce qui pourrait contribuer aux complications hémorragiques (9).

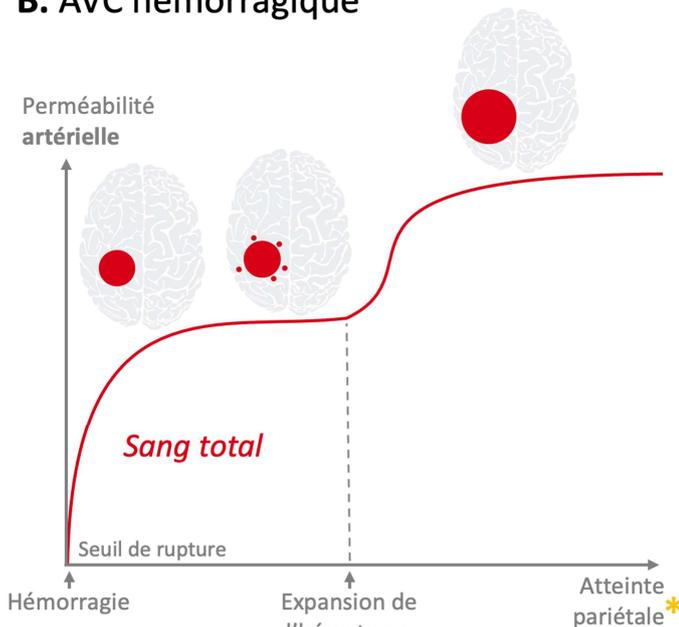
L'hémorragie, ou la rupture absolue

Même si les ischémies cérébrales représentent la forme d'AVC la plus fréquente dans le monde, les hémorragies spontanées en sont la forme la plus mortelle, tout aussi invalidante pour les survivants, et dénuée de traitement (10). Bien que les hémorragies soient décrites comme une rupture d'artères et non de capillaires, la BHE pourrait y contribuer. Son intervention demeure mal connue, mais l'intérêt croissant pour les **microhémorragies** cérébrales introduit la BHE dans la physiopathologie des AVC hémorragiques. Grâce aux progrès de l'IRM, les microhémorragies cérébrales sont de plus en plus détectées dans la population générale, et contribueraient au déclin cognitif. Elles sont aussi détectées dans le cerveau des patients atteints d'AVC ischémique comme hémorragique. Leur rôle prédictif dans la récurrence de ces AVC est à l'étude, et tente de dessiner un lien entre les capillaires de la BHE qui, rompus, formeraient des microhémorragies dont la coalescence mènerait à une hémorragie plus grande. Ces multiples ruptures capillaires pourraient expliquer la **transformation hémorragique** des AVC ischémiques, ou **l'expansion de l'hématome** après une hémorragie intracérébrale spontanée. Ces hypothèses n'ont pas été démontrées (Figure 3), mais demeurent pour argumenter le risque de

A. AVC ischémique



B. AVC hémorragique



* Degré d'altération de la paroi vasculaire en fonction du temps *post* AVC influencé par l'âge, une maladie cérébrovasculaire ou métabolique, une inflammation exacerbée ou chronique.

Figure 3: Hypothèses de la contribution de la BHE à l'histoire naturelle des AVC. Au cours d'un AVC ischémique (A), la fuite de la BHE provoque un œdème qui accélère la constitution de l'infarctus. Si sa paroi est suffisamment altérée, la BHE laisse passer les cellules sanguines, mais la faible pression autorise une hémostase rapide et produit une microhémorragie (petit point rouge). Les microhémorragies sont un signe de fragilité des microvaisseaux et peuvent mener à une transformation hémorragique (TH) de la lésion ischémique. Au cours d'un AVC hémorragique (B), la BHE peut se rompre dans la zone péri-hématome (microhémorragies) et faciliterait l'expansion de l'hématome.

récidive d'AVC dans une zone lésionnelle fragilisée par l'AVC primaire, mais aussi le risque d'apparition d'un premier AVC chez les personnes dont le cerveau est fortement chargé en microlésions. Considérer les microhémorragies cérébrales comme une forme de rupture de la BHE ouvre des pistes pour mieux comprendre l'étendue de l'importance de cette structure dans l'histoire naturelle des AVC.

Conclusion

Avec le rôle suspecté de sa rupture absolue dans les événements hémorragiques cérébraux, la BHE bénéficie toujours du statut de cible thérapeutique dans le cadre des AVC. Cependant, de nombreux travaux restent à réaliser pour qu'elle change le pronostic des patients atteints ou à haut risque d'AVC. Une recherche plus transversale, c'est-à-dire associée étroitement à la clinique, est nécessaire pour éviter de reproduire l'échec de la neuroprotection post-ischémique, et aboutir à une meilleure prise en charge des patients.

vincent.berezowski@univ-lille.fr

Références

- (1) Buchan AM & Pelz DM (2022) *Can J Neurol Sci* 49: 741–745.
- (2) Xue S, et al. (2023) *Front Neurol* 14, 10.3389/fneur.2023.1248970.
- (3) Savitz SI & Schabitz W-R (2008) *Stroke* 39: 1389–1391.
- (4) Hall CN, et al. (2014) *Nature* 508: 55–60.
- (5) Andjelkovic A V, et al. (2023) *Stroke* 54: 661–672.
- (6) Engelhardt B, et al. (2017) *Nat Immunol* 18: 123–131.
- (7) Das N, et al. (2023) *Metab Brain Dis* 10.1007/s11011-03-01327-y.
- (8) Candelario-Jalil E, et al. (2022) *Stroke* 53: 1473–1486.
- (9) De Meyer SF, et al. (2022) *Stroke* 53: 1487–1499.
- (10) Cordonnier C, et al. (2018) *Lancet* 392: 1257–1268.

Ouverture transitoire de la BHE par les ultrasons : un outil pour le traitement des lésions tau ?

BENOÎT DELATOUR¹, ALEXANDRE CARPENTIER², AMANDINE GÉRAUDIE¹

¹Institut du Cerveau, ICM, Inserm U1127, CNRS UMR 7225, Sorbonne Université, 75013 Paris, France. ²Service de Neurochirurgie, Sorbonne-Université, APHP, Hôpital La Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris, France. Faculté de Médecine, Sorbonne-Université, GRC 23, Interface Cerveau-Machine, APHP, Hôpital La Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris, France. LRTCA – Recherche en Technologies Chirurgicales Avancées, Sorbonne-Université, 75013 Paris, France.

Les thérapies actuelles dans la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurodégénérative du sujet âgé restant aujourd'hui encore incurable. La MA est caractérisée au niveau neuropathologique par des lésions extracellulaires, les plaques séniles principalement constituées de peptides β -amyloïde (A β), et des lésions intraneuronales, les dégénérescences neurofibrillaires formées par des agrégats cytoplasmiques de protéines tau hyperphosphorylées. Ces deux protéinopathies cérébrales constituent des cibles thérapeutiques essentielles. Pendant des décennies, les seuls médicaments approuvés par les autorités de santé présentaient une action essentiellement symptomatique (et limitée) par modulation des systèmes cholinergiques et glutamatergiques affectés dans la maladie. Ces drogues (déremboursées par décision de la HAS¹ en 2018 en raison du service médical rendu jugé faible) sont encore prescrites. Depuis le début des années 2000, des immunothérapies ciblées avec des effets clairement « modificateurs de maladie », ont été testées chez l'animal-modèle et plus récemment chez l'homme (1). L'immunothérapie passive (injection d'anticorps) anti-A β , miraculeuse chez la souris transgénique (clairance des lésions et récupération des fonctions cognitives) a permis la mise sur le marché de deux anticorps monoclonaux

(aducanumab, lecanemab) approuvés par la FDA² (mais pas par l'EMA³). S'il est clair que ces anticorps entraînent une régression des lésions amyloïdes chez les patients, leur efficacité clinique est toujours discutée (modeste ralentissement du déclin cognitif sans récupération) et la balance bénéfice-risque de ces nouvelles thérapies ainsi que leur coût exorbitant constituent des points de blocage indéniables. Alors que les lésions liées à la protéine tau sont connues pour être corrélées à l'atteinte cognitive et sont au cœur d'autres maladies neurodégénératives (tauopathies primaires), l'immunothérapie anti-tau est encore balbutiante avec, pour l'instant, des résultats d'études cliniques mitigés.

Améliorer la pharmacocinétique cérébrale des drogues

Les effets limités des thérapies anti-Alzheimer pourraient être liés à des éléments de pharmacocinétique cérébrale. En effet, la barrière hémato-encéphalique (BHE), de par son architecture (cellules endothéliales non fenestrées, jonctions serrées scellant l'espace intercellulaire, pompes à efflux) limite très fortement les échanges entre le compartiment sanguin et le parenchyme cérébral, avec une « finalité » biologique évidente (prévention de l'entrée de pathogènes ou toxines dans le tissu cérébral) et une

¹ Haute autorité de Santé

² Food and Drug Administration

³ Agence Européenne du Médicament

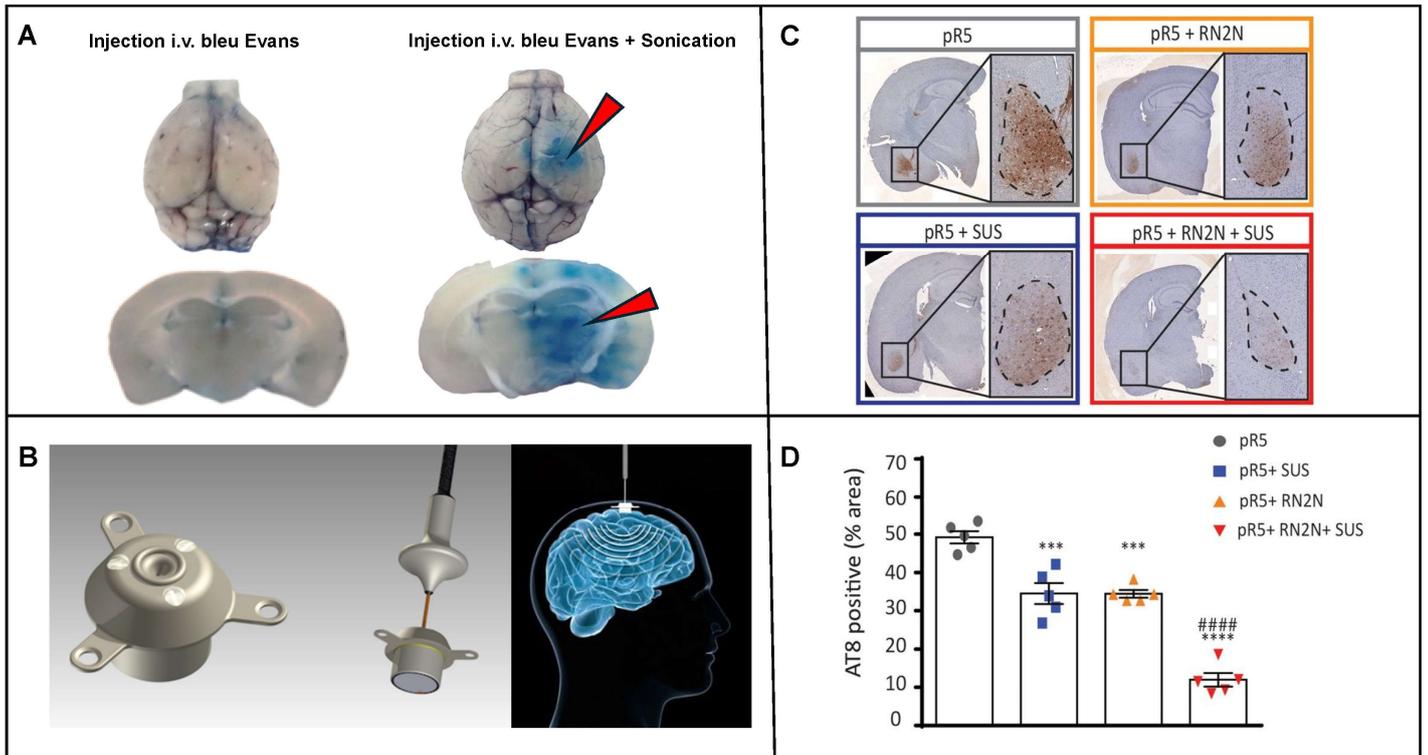


Figure 1 : Ouverture de la BHE par sonication et ses effets sur la pathologie tau chez l'animal et chez l'Homme

A. Ouverture de la BHE par sonication unilatérale chez la souris attestée par l'extravasation intraparenchymateuse de bleu d'Evans (pointes de flèches rouges) injecté en intraveineux (Thèse A. Géraudie, en préparation).

B. Dispositif SonoCloud Carthera utilisé chez l'Humain pour ouvrir la BHE de façon transitoire. Le dispositif est placé directement au contact des méninges pour faciliter le passage des ultrasons (Wikimedia Commons).

C-D. Pathologie tau (immunomarquage AT8) dans le modèle murin pR5. La pathologie est réduite par l'administration d'un anticorps anti-tau (RN2N) ainsi que par l'ouverture de la BHE par sonication (SUS) avec un effet maximisé du traitement combiné (RN2N+SUS). Les résultats quantitatifs sont représentés dans le graphe (D). (d'après Nisbet et collaborateurs (4) ; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5405237/>)

contrepartie non-moins évidente (limitation drastique de la pénétration de molécules thérapeutiques administrées en périphérie ; en particulier il est connu que <0.1% des immunoglobulines sanguines franchissent la BHE).

Différentes approches ont été développées pour « pirater » ou contourner la BHE et améliorer la pharmacocinétique cérébrale d'agents à tropisme cérébral : injections intracérébrales directes, intraventriculaires ou intrathécales, choc osmotique, polyamines, anticorps bivalents de type « brain shuttle » ciblant des récepteurs spécifiques de la BHE (transferrine, insuline) pour permettre le passage de cargos thérapeutiques par transcytose médiée par récepteurs. Certaines de ces stratégies présentent un caractère invasif et n'ont pas de réelles applications cliniques, d'autres sont encore activement explorées.

Ouvrir la barrière hémato-encéphalique grâce aux ultrasons

En 2001, Hynynen et collaborateurs (2) démontrent qu'une ouverture transitoire de la BHE peut être réalisée chez l'animal en couplant l'application cérébrale

d'ultrasons pulsés à l'injection intraveineuse de microbulles de gaz (utilisées classiquement comme agents de contraste échographique). Sous l'effet des ultrasons, les microbulles de gaz se contractent et s'expandent, créant un phénomène de cavitation et entraînant un stress mécanique sur les cellules endothéliales des capillaires cérébraux. Les jonctions serrées s'élargissent, la transcytose endothéliale est stimulée. L'ouverture de la BHE est transitoire (quelques heures, Figure 1A). Bien que des effets adverses aient été initialement observés (e.g. pétéchies), les protocoles ont été progressivement optimisés, rendant cette approche d'ouverture de BHE temporaire sûre (sans effet indésirable significatif) et désormais disponible en recherche clinique (e.g. dans le traitement du glioblastome).

Il y a dix ans, les premiers travaux précliniques applicatifs ont été réalisés dans des modèles murins de MA (souris transgéniques développant des dépôts parenchymateux de protéines A β) dans le but de potentialiser la pénétration cérébrale d'un anticorps anti-A β injecté en périphérie (3). Plusieurs études cliniques ont par la suite été menées chez les patients présentant une MA, avec

différentes techniques (sonicateur externe avec guidage IRM, dispositif implanté sur la dure-mère, figure 1B). L'ensemble de ces études a souligné l'innocuité de cette approche.

Ouverture BHE et tauopathies

La première étude préclinique couplant l'administration périphérique d'anticorps anti-tau à l'ouverture transitoire de la BHE par ultrasons a été réalisée par le groupe de Götz en Australie (4). L'anticorps utilisé était un fragment ScFv (Simple chaîne, Fragment variable) et les résultats présentés particulièrement encourageants (Figure 1C-D) : absence d'effet secondaire, réduction des charges lésionnelles après immunothérapie passive chez l'animal transgénique tau et potentialisation des effets par la combinaison de l'anticorps et de l'ouverture de la BHE. Une amélioration phénotypique (réduction des comportements d'anxiété) était également observée chez les animaux recevant le traitement combiné. De façon surprenante, le traitement d'ouverture de la BHE par sonication seule (sans administration d'anticorps) induisait également une régression des lésions, suggérant, tel que précédemment démontré dans des modèles d'amyloïdose cérébrale, que les ouvertures transitoires de la BHE induisent d'elles-mêmes un effet thérapeutique. L'origine d'un tel effet de l'ouverture de barrière reste encore explorée et débattue : clairance des lésions par pénétration de cellules immunes périphériques ? Stimulation de l'ubiquitination-dégradation des protéines tau mal conformées ? Modulation des kinases de tau (e.g. GSK3) ? Régulation des processus autophagiques (e.g. activité mTOR) etc.

Un an plus tard, une étude de Kovacs (5) vient refroidir l'enthousiasme soulevé par la publication de Götz. Cette étude indique des effets secondaires des ouvertures répétées de la BHE chez le rongeur (saignements, infiltrations de macrophages activés dans le parenchyme etc.) et, de façon notable, l'induction d'une hyperphosphorylation anormale de la protéine tau dans le cortex des animaux soniqués. Ces résultats contradictoires ont été cependant obtenus chez le rat non-transgénique, ne présentant pas de tauopathie endogène. L'essentiel des études thérapeutiques précliniques a, à ce jour, été réalisé chez la souris transgénique tau, indiquant, possiblement, un effet du modèle animal utilisé dans la nature des effets induits par l'ouverture transitoire et répétée de la BHE. Une revue systématique de la littérature que nous avons réalisée dénombre un total de dix publications décrivant les effets des sonications répétées sur la protéine tau. Sept travaux (incluant l'étude de Götz et Nisbet) plaident pour un effet « thérapeutique » de l'ouverture de barrière sur la protéine tau et son agrégation pathologique, avec parfois des discordances

entre analyses histologiques et biochimiques. Les trois autres études (incluant celle de Kovacs) plaident au contraire pour une absence d'effets sur tau, voire un effet opposé.

Conjointement aux effets « positifs » des ouvertures répétées de la BHE sur tau rapportés dans certaines études, l'état neurologique des animaux traités a pu être analysé (les souris transgéniques tau présentant souvent des altérations motrices et/ou mnésiques). Trois études soulignent une amélioration clinique notable, notamment au niveau des capacités d'apprentissage et de mémoire (e.g. (6)) avec parfois un effet différentiel du facteur sexe et l'observation concomitante que même des souris sauvages (sans lésions tau) pourraient bénéficier du traitement d'ouverture BHE pour améliorer leurs performances mnésiques (7).

Faisant suite à l'étude princeps de Götz montrant l'effet potentialisé d'un traitement (anticorps anti-tau) par l'ouverture BHE, très peu de travaux, à notre connaissance, sont venus confirmer l'intérêt de ces « thérapies augmentées » dans les modèles animaux de tauopathies. Une étude récente (8) montre au contraire que l'immunothérapie passive anti-tau n'a pas plus d'effet sur la pathologie tau et sur les atteintes phénotypiques quand elle est associée à l'ouverture de barrière que quand elle est administrée seule. Il est probable que les caractéristiques des anticorps (e.g. ScFv vs immunoglobuline classique) doivent être prises en compte pour l'optimisation et l'efficacité des traitements combinés (9).

Conclusions

L'histoire des recherches sur la maladie d'Alzheimer, en particulier dans le domaine thérapeutique, suit toujours le même chemin. L'hypothèse, encore prévalente, de la cascade amyloïde positionne les anomalies de la protéine A β comme une cible primaire. Dans la chronologie des travaux, des modèles animaux, des biomarqueurs et des essais (pré-)cliniques, l'intérêt initial est toujours A β . Tau est l'« éternel second » dans l'échéancier de la recherche. Les études sur l'intérêt thérapeutique des ouvertures transitoires et contrôlées de la barrière n'échappent pas à la règle. La découverte des effets des ultrasons et leur combinaison à une immunothérapie ont, pour la première fois, été décrits dans les modèles d'amyloïdose cérébrale. Ces recherches ont atteint leur acmé avec la publication récente de Rezai et collaborateurs (10) dans le *New England Journal of Medicine* montrant, chez des patients Alzheimer, que l'ouverture de la BHE par ultrasons potentialise de façon très significative les effets de l'anticorps anti-A β monoclonal Aducanumab (clairance des plaques détectée en imagerie TEP).

Le champ des recherches thérapeutiques développant les mêmes approches mais dirigées contre les tauopathies est encore dans une phase adolescente et instable. Les données de la littérature restent conflictuelles, vraisemblablement pour de multiples raisons : variété des modèles précliniques utilisés (nous avons dénombré sur une quinzaine de publications pertinentes pas moins de 9 modèles différents !), des protocoles (technique d'ultrasons utilisée, puissance, nombre de sonications etc.) et des anticorps injectés en thérapie adjointe. Les recherches se poursuivent activement car, même si la maladie d'Alzheimer est qualifiée de tauopathie secondaire, les lésions tau restent étroitement associées au déclin cognitif et doivent être considérées comme une cible primaire, d'autant plus qu'elles sont aussi constitutives d'autres tauopathies.

Remerciements

Cette revue de questions a été réalisée dans le cadre de travaux réalisés à l'ICM et financés par une bourse de thèse de l'Institut Universitaire d'Ingénierie en Santé de Sorbonne Université (AG), le Laboratoire de Recherche

en Technologies Chirurgicales Avancées (AC, BD) et le programme NeurATRIS (BD, AC).

benoit.delatour@upmc.fr
alexandre.carpentier@aphp.fr
amandine.geraudie@icm-institute.org

Références

- (1) Cummings J, et al. (2023) *Alzheimers Dement (N Y)* 9, e12385.
- (2) Hynynen K, et al. (2001) *Radiology* 220 : 640-646.
- (3) Jordao JF, et al. (2010) *PLoS One* 5, e10549.
- (4) Nisbet R. M, et al. (2017) *Brain* 140: 1220-1230.
- (5) Kovacs ZI, et al. (2018) *Theranostics* 8: 4837-4855.
- (6) Shen Y, et al. (2020) *Theranostics* 10: 11794-11819.
- (7) Karakatsani ME, et al. (2023) *Theranostics* 13 : 4102-4120.
- (8) Bajracharya R, et al. (2022) *J Control Release* 349: 634-648.
- (9) Janowicz PW, et al. (2019) *Sci Rep* 9: 9255.
- (10) Rezai AR, et al. (2024) *N Engl J Med* 390: 55-62.

BHE et métabolisme énergétique

BÉNÉDICTE DEHOUCK

Lille Neuroscience & Cognition ; Inserm UMR-S1172 – Université et CHRU de Lille ; Développement et Plasticité du Cerveau Neuroendocrine

Introduction

La barrière hémato-encéphalique (BHE) a d'abord été étudiée pour ses propriétés de « barrière » ; à savoir une structure empêchant la diffusion passive (non régulée) des molécules sanguines dans le tissu nerveux pour garantir l'homéostasie cérébrale. Au fil du temps et des différentes études, la BHE est peu à peu apparue comme une « interface », mettant l'accent sur la régulation des échanges entre le compartiment sanguin et cérébral. Dans l'étude du métabolisme énergétique, ces échanges permettent aux messages humoraux et hormonaux d'atteindre leurs cibles cérébrales pour y réguler entre autres la prise alimentaire et la dépense énergétique. Récemment la physiopathologie des troubles métaboliques, tels que l'obésité, a été associée à une altération du transport des messages périphériques à leur cible cérébrale, expliquant la dérégulation du métabolisme énergétique. Ces phénomènes dits de « résistances » aux signaux métaboliques (ex : résistance à la leptine) ont initié un regain d'intérêt de l'étude des mécanismes régulant la communication sang-cerveau. Cette nouvelle attention a permis d'élargir le champ d'investigation à d'autres interfaces, tels les organes circumventriculaires ¹ (OCV) complétant les études effectuées au niveau de la BHE. Dans cet article, une première partie est consacrée à la BHE de façon globale ; une deuxième se focalise sur la région médiobasale de l'hypothalamus où la BHE est associée à un OCV pour favoriser l'accès au noyau arqué hypothalamique, cible des principaux messages métaboliques régulant l'homéostasie énergétique.

BHE et signaux métaboliques

Les signaux périphériques régulant le métabolisme énergétique regroupent des hormones sécrétées par les tissus périphériques, principalement par le tissu adipeux (ex : leptine, adiponectine), le tractus gastro-intestinal (ex : ghréline, GLP-1) et le pancréas (ex : insuline), ou des nutriments issus de l'alimentation et des réserves énergétiques (glucose, acides gras libres et acides aminés). Pour accéder au parenchyme cérébral ces signaux périphériques doivent traverser la BHE.

Anatomiquement, la BHE se situe au niveau des cellules endothéliales formant la paroi vasculaire cérébrale. Cet endothélium de type continu est le siège des propriétés de barrière et du transport trans-endothélial des différentes molécules du compartiment sanguin au parenchyme cérébral. Les propriétés de barrière sont conférées par la présence de jonctions serrées qui scellent l'espace entre les cellules endothéliales et la rareté des vésicules de pinocytose au sein de ces cellules, empêchant respectivement, la diffusion paracellulaire et le transport aspécifique des molécules sanguines. Le transport d'une molécule va dépendre de la présence de son récepteur ou transporteur au niveau de l'endothélium cérébral. L'expression de ces nombreux récepteurs ou transporteurs est régulée par les cellules avoisinantes de l'endothélium ; à savoir les péricytes et les astrocytes. L'importance de ces cellules dans l'établissement des propriétés de l'endothélium a fait évoluer la description de la BHE qui est désormais considérée comme une unité neuro-glio-vasculaire. Ainsi l'accès des molécules

¹ Les organes circumventriculaires sont de petites régions cérébrales qui bordent les ventricules cérébraux et se trouvent à proximité des centres nerveux impliqués dans la régulation des grandes fonctions physiologiques. Leurs principales caractéristiques sont (1) l'absence de

BHE car les capillaires sont de type fenêtré, (2) la présence de tancytes : cellules épendymo-gliales qui anatomiquement relient le compartiment sanguin et le compartiment ventriculaire (4).

sanguines au parenchyme cérébral est étroitement régulé pour permettre la communication sang-cerveau tout en garantissant l'homéostasie cérébrale (1).

Les signaux périphériques régulant le métabolisme énergétique sont majoritairement des molécules hydrophiles qui ne peuvent pas diffuser librement au travers de la BHE. Le glucose et les acides aminés traversent l'endothélium cérébral grâce à divers transporteurs. Les hormones telles que la leptine, la ghréline et l'insuline accèdent au cerveau par un système de transport saturable, suggérant des mécanismes de transcytose² médiée par récepteur**. Seules les molécules lipophiles, tels que les acides gras libres, pénètrent dans le cerveau par simple diffusion dans la membrane plasmique des cellules endothéliales. Ces lipides peuvent aussi être véhiculés associés à des lipoprotéines dont le transport nécessite la présence de récepteurs au niveau des interfaces. Après avoir traversé l'endothélium, les signaux périphériques sont pris en charge par les pieds des astrocytes qui entourent les capillaires cérébraux. Les astrocytes, se trouvant à l'interface des vaisseaux sanguins et des neurones, intègrent et relayent les messages périphériques aux centres nerveux *via* la sécrétion de gliotransmetteurs (2) (Figure encart 1). Certains signaux périphériques ne traversent pas la BHE, mais stimulent la sécrétion de substances endothéliales. Par exemple, l'adiponectine provoque la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et

de monoxyde d'azote connus pour modifier l'activité neuronale (1). Ainsi la BHE présente toutes les caractéristiques pour médier la communication sang-cerveau nécessaire pour le maintien de l'homéostasie énergétique. La BHE se trouvant dans toutes les parties du cerveau, les approches expérimentales ont été, dans un premier temps, très globales. Il est cependant très vite apparu que la BHE pouvait être différente suivant les régions cérébrales et selon leur implication dans les grandes fonctions. Dans le cadre de la régulation du métabolisme énergétique, les études se sont focalisées sur l'hypothalamus médiobasal qui regroupe de nombreux noyaux impliqués dans la régulation de la prise alimentaire et la dépense énergétique.

La BHE au niveau de l'hypothalamus médiobasal

L'hypothalamus médiobasal regroupe le noyau dorsomédian (DMH), le noyau ventromédian (VMH) et le noyau arqué (NA), qui se répartissent le long du troisième ventricule (3V). Cette région comprend aussi un OCV : l'éminence médiane (EM) qui forme le plancher du 3V (3, 4). Dans la suite de cet article nous nous focaliserons d'abord sur la BHE au niveau du VMH et du DMH puis au niveau du NA qui présente d'autres caractéristiques de par sa proximité avec l'EM.

Au niveau du DMH et du VMH, les vaisseaux présentent les caractéristiques de la BHE. Cependant la plupart des

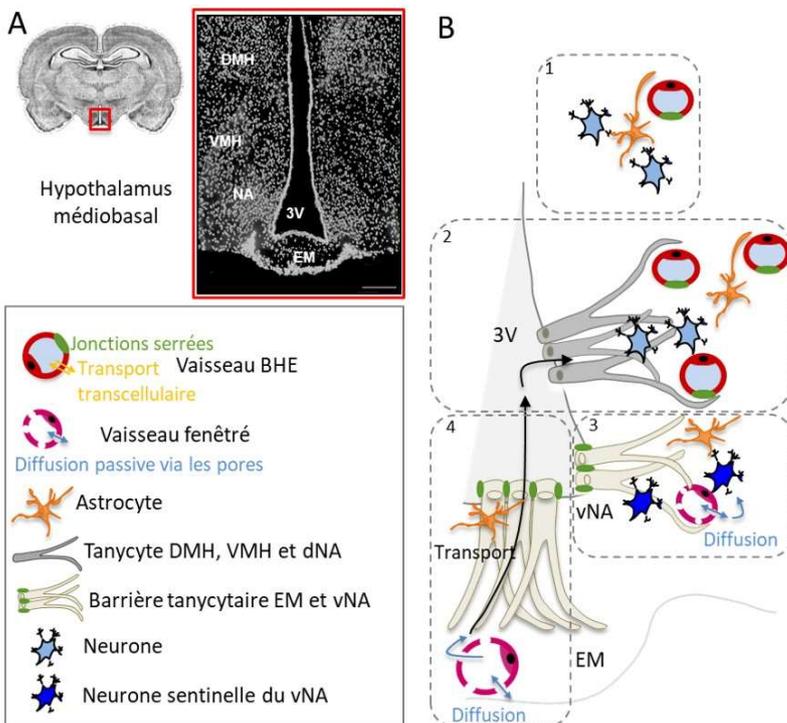


Figure : Interfaces au niveau de l'hypothalamus médiobasal

A. Coupe coronale (bregma -3,5mm) et agrandissement illustrant la localisation des noyaux hypothalamiques (marquage des noyaux cellulaires (Dapi, blanc)) autour du 3V et à proximité de l'EM, au niveau de l'hypothalamus médiobasal. **B.** (1) Dans l'ensemble du cerveau, les signaux métaboliques traversent la BHE et sont pris en charge par les astrocytes qui relayent les messages aux neurones. (2) Au niveau du VMH, du DMH et du dNA, les signaux métaboliques traversent la BHE et sont pris en charge par les tanocytes qui relayent les messages aux neurones. (3) Au niveau du vNA les signaux métaboliques diffusent au travers des pores des vaisseaux fenêtrés et se fixent sur les neurones à proximité ; (4) Au niveau de l'EM les signaux métaboliques diffusent au travers des pores des vaisseaux fenêtrés et sont pris en charge par les tanocytes pour être transportés jusqu'au liquide céphalorachidien ; Ils peuvent ensuite diffuser dans le parenchyme cérébral.
DMH : noyau dorsomédian ; VMH : noyau ventromédian ; NA : noyau arqué ; vNA : noyau arqué ventromédian ; dNA : noyau arqué dorsomédian ; 3V : 3ème ventricule ; EM : éminence médiane

² La transcytose se déroule en trois étapes : la fixation de la molécule à son récepteur, l'internalisation dans des vésicules

pour traverser le cytoplasme et l'exocytose au pôle opposé de la cellule.

capillaires sont entourés par des pieds tancytaires, remplaçant les pieds astrocytaires observés dans le reste du cerveau (Figure encart 2). Les tancytes sont des cellules épendymogiales, dont les corps cellulaires forment la paroi du 3V et dont les prolongements se projettent dans le parenchyme cérébral. Les tancytes relient ainsi anatomiquement les vaisseaux avec le compartiment ventriculaire. De plus sur leur parcours les prolongements tancytaires peuvent être en contact à la fois avec les vaisseaux de la BHE et les neurones du parenchyme cérébral (5). Cette région n'est cependant pas dépourvue d'astrocytes qu'on retrouve dans le parenchyme cérébral. Ainsi, l'environnement et les partenaires de la BHE sont différents dans cette partie de l'hypothalamus ce qui présume des mécanismes de régulation et intégration plus complexes (Figure encart 2); Tancytes et astrocytes sont stimulés par les signaux sanguins qu'ils intègrent et relayent aux réseaux neuronaux (2).

Le NA contient des neurones senseurs dits « neurones de premier ordre » car ils sont les premiers à être stimulés après une injection de leptine dans le sang. Deux catégories peuvent être distinguées : les neurones orexigènes (stimulant l'appétit) et les neurones anorexigènes (supprimant l'appétit). Les neurones du NA constituent également la population la mieux caractérisée de neurones sensibles au glucose impliqués dans la régulation centrale de l'équilibre énergétique (voir dossier de la lettre des neurosciences n°61). Les neurones du NA ont longtemps été décrits comme étant « en dehors de la BHE ». Cette description peut être en effet attribuée à la partie la plus ventrale du NA (vNA) qui est contiguë à l'EM, organe circumventriculaire ; la BHE de la partie dorsale du NA (dNA) ayant les caractéristiques décrites au niveau du DMH et du VMH. L'EM est richement irriguée par le réseau primaire du système porte hypothalamo-hypophysaire dont les capillaires ne présentent pas les caractéristiques de la BHE. L'endothélium de ces capillaires est de type fenêtré ; il présente des pores qui permettent à la fois le relargage des neuropeptides hypothalamiques (implication de l'EM dans les fonctions neuroendocriniennes) et la diffusion des molécules sanguines dans le parenchyme cérébral. Ces vaisseaux bordent la partie externe de l'EM mais certains d'entre eux forment des boucles s'étendant jusqu'au vNA, expliquant la présence dans cette partie du NA, de quelques vaisseaux fenêtrés parmi les vaisseaux de la BHE (6). Ces vaisseaux permettent la diffusion des signaux périphériques tels que la ghréline qui, injectée dans le compartiment sanguin, se fixe préférentiellement aux neurones à leur proximité (7). Les neurones du vNA proches des vaisseaux fenêtrés sont considérés comme des neurones sentinelles car ils sont en contact

permanent avec les signaux périphériques et pourraient avoir pour rôle de renseigner les autres noyaux hypothalamiques sur le statut énergétique de l'animal. Cependant, pour maintenir l'homéostasie cérébrale, qui pourrait être compromise par la présence de vaisseaux perméables au niveau du vNA ainsi qu'au niveau de l'EM, les propriétés de barrière sont transférées aux tancytes. En effet les tancytes dont les prolongements se projettent sur des vaisseaux perméables, s'organisent en barrière tancytaire imperméable ; ceci grâce à l'organisation de jonctions serrées autour des corps cellulaires des tancytes comme au niveau de l'endothélium de la BHE (Figure encart 3).

Plasticité de la BHE au niveau du noyau arqué

Il est important de mentionner que le nombre de vaisseaux fenêtrés dans le vNA augmente lors d'un jeûne faisant varier le nombre de neurones senseurs. Cependant, un retour aux conditions basales est observé lorsque l'animal est renourri. De manière intéressante, les tancytes qui se projettent sur les vaisseaux nouvellement perméables s'organisent en barrière. Ainsi les vaisseaux du vNA peuvent perdre leurs caractéristiques de BHE de façon transitoire suivant le statut énergétique sans compromettre l'homéostasie cérébrale (8). Cette plasticité vasculaire et tancytaire permet d'augmenter la communication entre les organes périphériques et le vNA pour enclencher la réponse au stress métabolique. Elle permet notamment d'augmenter l'accès de la ghréline au vNA pour induire la prise alimentaire (7). Cette adaptation est générée par l'hypoglycémie induite par le jeûne. Celle-ci provoque l'augmentation de la sécrétion du VEGFa (pour Vascular endothelial growth factor, facteur pouvant induire l'apparition de pores) par les tancytes au niveau des vaisseaux du vNA. Ainsi au niveau du vNA la BHE peut disparaître de façon transitoire et ponctuelle pour favoriser la communication sang-cerveau au service de la régulation du métabolisme énergétique. Cette régulation dépend des tancytes localisés dans cette région. Cependant l'implication de ces cellules dans l'accès des signaux périphériques aux neurones du vNA ne se résume pas à la régulation de la BHE. En effet, au niveau de l'EM, les tancytes transportent les signaux périphériques du sang au liquide céphalorachidien, instaurant une autre voie de communication sang-cerveau.

Transport des signaux périphériques au travers des tancytes

A l'instar de la BHE, les tancytes de l'EM formant la barrière tancytaire ont été décrits comme capables de

transporter les signaux périphériques. Suite à son injection en périphérie, la leptine fluorescente est observée dans les prolongements tanycytaires. Le parcours de la leptine peut être suivi : d'abord détectée dans l'éminence médiane, on la retrouve ensuite dans le NA. Ce même « timing » est observé pour la stimulation de son récepteur LepRb. De plus les tanycytes en culture sont capables d'internaliser la leptine, puis de la relarguer dans le milieu de culture. Pris ensemble ces résultats décrivent un mécanisme de transcytose médié par un récepteur au niveau de la barrière tanycytaire ; avec la capture de la leptine au niveau des pieds tanycytaires, le transport jusqu'au corps cellulaire et le relargage au pôle apical des tanycytes dans le liquide céphalorachidien. La leptine est ensuite retrouvée dans le parenchyme du NA (Figure encart 4). L'importance de ce transport est établie par des études faites chez des souris obèses suite à un régime riche en graisses qui montrent que la leptine injectée en périphérie reste « piégée » dans les tanycytes de l'éminence médiane (9). Ce transport tanycytaire est décrit pour d'autres signaux périphériques tels que la ghréline, le GLP1 et le glucose montrant l'importance de celui-ci dans la régulation du métabolisme énergétique (3, 10). Une fois dans le liquide céphalorachidien les molécules peuvent diffuser dans le parenchyme du NA pour atteindre les neurones cibles.

Conclusion

En régulant l'accès des signaux périphériques émanant des différents organes, les interfaces sang/cerveau jouent un rôle clé dans l'homéostasie énergétique. La BHE, les OCVs mais aussi les plexus choroïdes (non développés dans cet article) ont un rôle complémentaire dans le but de garantir la continuité de ce dialogue tout en étant capables d'augmenter cette communication pour s'adapter aux différents stress métaboliques.

benedicte.dehouck@inserm.fr

Références

- (1) Banks WA (2012) *Endocrinology* 153: 4111–4119.
- (2) Nampoothiri S, et al. (2022) *Nat Metab* 4: 813–825.
- (3) Prevot V, et al. (2018) *Endocr Rev* 10.1210.
- (4) Langlet F, et al. (2013) *J Comp Neurol* 521 : 3389–3405.
- (5) Rohrbach A, et al. (2021) *Mol Metab* 53 : 101311.
- (6) Ciofi P (2011) *Neurosci Lett* 487 : 187–190.
- (7) Schaeffer M, et al. (2013) *Proc Natl Acad Sci* 110 : 1512–1517.
- (8) Langlet F, et al. (2013) *Cell Metab* 17 : 607–617.
- (9) Duquenne M, et al. (2021) *Nat Metab* 3 : 1071–1090.
- (10) Imbernon M, et al. (2022) *Cell Metab* 34 : 1054-1063.

Rôle des barrières cérébrales dans la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer

LIDIA CABEZA[#], GUILLAUME BENCHORA-CHABEAUX[#], ADELINÉ ETIEVANT & FANCHON BOURASSET

Université de Franche-Comté, UMR INSERM 1322 LINC, F-25000 Besançon, France

[#] Co-premier auteur de l'article

1 Introduction

Couplage neurovasculaire

Le cerveau est un organe vital dont le fonctionnement est complexe et fait intervenir un ensemble de cellules comprenant bien sûr les neurones mais aussi les cellules avoisinantes, en particulier les cellules gliales (astrocytes et microglie). Pour fonctionner, ces cellules ont besoin d'énergie, d'oxygène et d'une composition ionique finement régulée. Ces besoins varient en fonction du niveau d'activité du cerveau, l'apport énergétique se fait donc à la demande, de manière dynamique et adaptative. Ainsi, pendant la période d'éveil le traitement de l'information et le comportement associé sont priorités, tandis que pendant le sommeil les fonctions à caractère homéostatique sont prédominantes. Le cerveau produit également des déchets métaboliques dont l'accumulation pourrait être délétère et qu'il est donc nécessaire d'éliminer. Cette balance entre l'apport et la clairance cérébrale de molécules est donc primordiale au bon fonctionnement du cerveau. Ce sont les microvaisseaux sanguins cérébraux qui, formant un réseau dense de capillaires à proximité immédiate des cellules neuronales et gliales, permettent d'assurer les échanges entre le sang et le cerveau. Le couplage fonctionnel entre les cellules neuronales et gliales et les microvaisseaux sanguins cérébraux est appelé couplage neurovasculaire (1) (Figure 1). On comprend alors aisément que toute perturbation anatomo-fonctionnelle de ces microvaisseaux sanguins cérébraux puisse directement impacter le fonctionnement du cerveau.

Les barrières cérébrales

Les barrières cérébrales permettent d'isoler le cerveau de la circulation sanguine, en restreignant fortement les

échanges moléculaires. Les deux principales barrières cérébrales sont la barrière hémato-encéphalique (BHE) et la barrière hémato-liquidienne (BHL). La BHE, qui est située au niveau des cellules endothéliales des capillaires cérébraux, régule les échanges entre le sang et le liquide extracellulaire cérébral (LECC) dans lequel baignent les cellules neuronales et gliales. La BHL est située d'une part au niveau des plexus choroïdes et d'autre part au niveau des cellules épithéliales arachnoïdiennes. La BHL régule les échanges entre le sang et le liquide céphalo-rachidien (LCR) (Figure 1). Le phénotype de barrière résulte d'une part de la présence de jonctions serrées (JS), que l'on retrouve au niveau des cellules endothéliales des capillaires cérébraux, de l'épithélium des plexus choroïdes et des cellules arachnoïdiennes, et d'autre part de l'expression de récepteurs et transporteurs membranaires qui participent à la distribution des molécules dans les différents espaces liquidiens cérébraux (sang, LCR, LECC et liquide intracellulaire cérébral – LICC) (Figure 1). Ces transporteurs appartiennent à deux superfamilles de protéines : les transporteurs SLC (*Solute Carriers*) et ABC (*ATP-binding Cassette*) (1). Ils peuvent jouer un rôle d'influx ou d'efflux, selon qu'ils transportent leurs substrats (endogènes ou exogènes) du sang vers le cerveau ou du cerveau vers le sang (1). Ainsi, les JS et les transporteurs agissent de manière complémentaire pour assurer un contrôle efficace des échanges moléculaires à travers les barrières cérébrales.

L'existence des barrières cérébrales pose la question de leur rôle dans le fonctionnement normal et pathologique du cerveau. D'un point de vue physiologique, ces barrières ont avant tout un rôle protecteur. En effet, elles permettent de restreindre l'accès au cerveau de

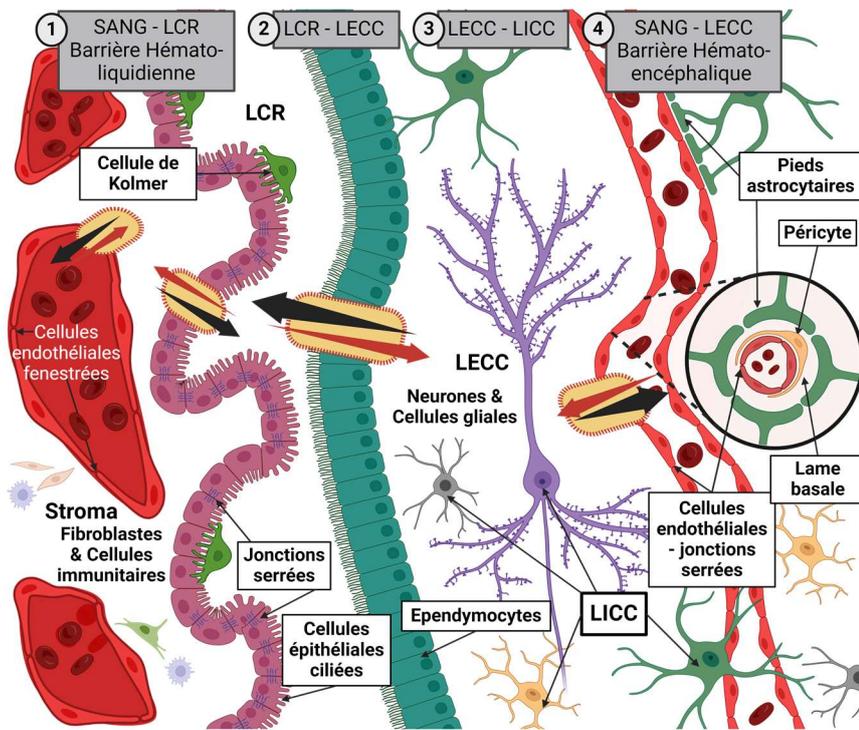


Figure 1 : Illustration schématique des quatre interfaces cérébrales.

Afin de ne pas alourdir le schéma, seule l'interface sang/LCR située au niveau des plexus choroïdes est représentée. Figure réalisée avec Biorender.

- ① Interface LCR/sang (BHL - plexus choroïdes)
- ② Interface LECC/LCR
- ③ Interface LECC/LICC (membranes des cellules neuronales et gliales)
- ④ Interface sang/LECC (BHE)

molécules endogènes ou exogènes potentiellement toxiques, de divers pathogènes, de molécules pro-inflammatoires, etc. Elles permettent également la clairance cérébrale des déchets, dont l'accumulation pourrait, à terme, devenir délétère. La fonction protectrice de ces barrières est donc double, permettant à la fois de limiter l'accès et de favoriser l'efflux cérébral, le tout de manière sélective. De ce fait, tout dysfonctionnement de ces barrières peut avoir un impact sur le fonctionnement du cerveau.

2 Barrières cérébrales et Maladie d'Alzheimer.

La maladie d'Alzheimer (MA) est la première cause de démence dans le monde. C'est une pathologie neurodégénérative conduisant à la mort de neurones dans plusieurs structures cérébrales en lien avec des fonctions émotionnelles et cognitives affectant principalement les personnes âgées de plus de 60 ans. Les principaux marqueurs physiopathologiques de la MA sont la présence de plaques extracellulaires constituées d'agrégats de peptide amyloïde- β ($A\beta$), coexistant avec des enchevêtrements neurofibrillaires de protéine Tau anormalement phosphorylées (pTau) (2). Depuis la découverte de ces deux lésions pathologiques par Aloïs Alzheimer en 1907, les recherches issues de travaux menés chez l'humain ou chez l'animal ont démontré la présence dans le cerveau pathologique d'une atrophie de la substance grise et de la substance blanche, de dégradation des synapses, d'anomalies métaboliques, d'une inflammation latente et de modifications du système vasculaire cérébral. Des perturbations du débit vasculaire cérébral apparaissent plusieurs années avant que ne se déclarent les troubles cognitifs classiquement observés

dans la MA. Ainsi, les modifications du débit et du volume vasculaire cérébral associés à des modifications structurales et/ou fonctionnelles des interfaces cérébrales, mettent en évidence l'importance d'un paradigme plaçant les barrières cérébrales au centre des dysfonctionnements ayant lieu dans la MA (2).

Intégrité physique (Jonctions serrées et perméabilité)

La question de l'intégrité de la BHE chez les patients atteints de MA est un débat controversé. Les différences de résultats observées entre les études pourraient être dues à plusieurs facteurs, notamment la méthode expérimentale utilisée pour explorer la BHE et le stade de la pathologie (3). Ces résultats contradictoires mettent en exergue la difficulté d'étudier l'intégrité et le fonctionnement des barrières cérébrales chez l'Homme. C'est pourquoi de nombreux modèles murins ont été développés, modélisant un ou plusieurs aspects de la MA.

Nos travaux pré-cliniques ont montré que l'intégrité physique, et donc la perméabilité de la BHE, n'était pas compromise chez trois modèles murins de MA présentant soit une accumulation cérébrale d' $A\beta$ (APP/PS1) soit de pTau (p25), soit à la fois d' $A\beta$ et de pTau (3xTg-AD) et ce, quel que soit le stade de la maladie (3,4). Ces résultats montrent que la BHE murine conserve ses propriétés de barrière, même à un stade avancé de la MA. Nos résultats sont cohérents avec la littérature et en particulier avec d'autres études menées chez plusieurs autres modèles murins de MA (4). Prises dans leur ensemble, les données obtenues sur sept modèles de souris transgéniques utilisés dans la recherche sur la MA suggèrent que la BHE est capable de maintenir son intégrité (en termes de perméabilité) même en présence de molécules toxiques telles $A\beta$, pTau, ou encore d'espèces pro-inflammatoires.

Nos données soutiennent le concept d'une perméabilité de la BHE préservée dans les modèles murins de MA (5).

Intégrité de transport

Le peptide A β et la protéine Tau sont deux protéines présentes dans le cerveau à l'état physiologique. Les mécanismes par lesquels ces protéines deviennent anormales et s'accumulent ne sont pas encore complètement élucidés. Cependant, il a été montré que l'accumulation des peptides A β résultait d'une défaillance de sa clairance cérébrale (6). Les mécanismes d'échange du peptide A β entre le sang et le cerveau sont multiples et bidirectionnels. Ils impliquent des mécanismes de transcytose cérébrale médiée par les récepteurs RAGE (*receptor for advanced glycation end-products*) pour leur influx du sang au cerveau, et LRP-1 (*low-density lipoprotein receptor-related protein 1*) pour leur efflux du cerveau vers le sang (7). Des transporteurs SLC et ABC participent également à l'influx (Slco1a4/Oatp1a4) (8) et à l'efflux cérébral du peptide A β . Son efflux est notamment médié par ABCB1 (P-glycoprotéine), ABCG2 (*Breast Cancer Resistant Protein*) et ABCG4 (9). Nos travaux montrent que l'ensemble de ces processus d'efflux fonctionne de manière concertée afin d'assurer une clairance efficace du peptide A β . De ce fait, d'un point de vue cinétique, la clairance cérébrale du peptide A β est la résultante de ses composantes d'efflux et d'influx. Nous avons évalué ces systèmes de transport chez les souris 3xTg-AD à différents stades de la pathologie et mis en évidence deux niveaux de régulation, l'un précoce (3 mois d'âge, soit environ 9 mois avant l'apparition de la MA chez ces souris) et l'autre tardif (12-18 mois) (10). Nos résultats montrent tout d'abord que l'expression du récepteur RAGE au niveau de la BHE augmente très précocement, dès l'âge de 3 mois chez les souris 3xTg-AD par rapport à leurs contrôles, ce qui devrait concourir à augmenter l'entrée cérébrale du peptide A β . Or nos résultats montrent une absence de modification de sa capture cérébrale chez les souris 3xTg-AD par rapport à leurs contrôles. Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'en parallèle de l'augmentation de RAGE, l'expression d'ABCG4, un transporteur d'efflux d'A β , est également augmentée, permettant de maintenir un niveau de clairance cérébrale identique chez les souris 3xTg-AD et contrôles, à un stade précoce de la MA (10). Au cours de l'évolution de la pathologie chez les souris 3xTg-AD, le récepteur RAGE maintient un niveau d'expression élevé dans les stades plus avancés de la pathologie, tandis que l'expression d'ABCG4 revient à des niveaux équivalents à ceux des souris contrôles à partir de l'âge de 6 mois (10). Nous avons également mis en évidence une diminution du volume vasculaire cérébral, d'abord dans l'hippocampe à l'âge de 6 mois, puis dans l'ensemble du cortex à partir de 12 mois (4). Enfin, des régulations

tardives apparaissent chez les souris 3xTg-AD à partir de 18 mois. A ce stade, deux autres transporteurs ABC, ABCB1 et ABCG2, sont régulés. L'augmentation de leur expression au niveau des cellules endothéliales des capillaires cérébraux des souris 3xTg-AD est associée à une augmentation significative de la clairance cérébrale d'A β (10). Nous voyons donc que, dans ce modèle murin de la MA, la BHE met en place des mécanismes protecteurs vis-à-vis de conditions toxiques afin de garantir un niveau de clairance d'A β optimal. Cependant, malgré ces adaptations, la pathologie progresse, ce qui montre qu'elles sont insuffisantes pour contrer l'accumulation cérébrale du peptide A β .

En clinique, les protéines pTau et A β sont retrouvées dans le LCR, témoignant du rôle de l'interface LECC/LCR et de la BHL dans l'efflux cérébral de ces molécules toxiques. Or, il a été montré chez l'Homme que l'expression de certains transporteurs impliqués dans la clairance cérébrale du peptide A β était modifiée au niveau des cellules épendymaires et/ou des plexus choroïdes, suggérant, *in fine*, une diminution de son efflux cérébral au niveau de la BHL (11).

Discussion

Nos données montrent que les premières régulations de la BHE apparaissent 9 mois avant l'apparition de la pathologie complète chez nos souris 3xTg-AD. Ces modifications pourraient correspondre à un événement précoce dans la physiopathologie de la MA chez nos modèles murins. De manière intéressante, nos travaux suggèrent que la présence de pTau est nécessaire pour permettre d'une part la régulation de l'expression des transporteurs et récepteurs situés au niveau de la BHE et d'autre part la diminution du volume vasculaire cérébral. Par ailleurs, il a été montré que l'apparition du phénotype anxio-dépressif chez des modèles murins de stress chronique était dépendante de pTau (12). Or l'anxiété et la dépression, chez l'Homme et chez les souris 3xTg-AD, précèdent l'apparition de la MA. Pris dans leur ensemble, ces données suggèrent un triangle physiopathologique prodromal à la MA, associant pTau, BHE et phénotype émotionnel qu'il serait intéressant d'investiguer.

3 Conclusion

L'état des barrières cérébrales dans la MA est une question qui dépasse largement la notion de barrière « ouverte » ou « fermée ». Si, bien sûr, l'intégrité physique joue un rôle important dans le phénotype de barrière et dans le maintien de l'homéostasie cérébrale, elle n'est pas le seul rempart capable de protéger le cerveau et donc pas le seul élément pouvant être perturbé en condition pathologique. Des régulations fonctionnelles

peuvent également avoir lieu par l'intermédiaire d'une modification d'expression et/ou de fonction des transporteurs d'influx et d'efflux, aussi bien au niveau de la BHE que de la BHL.

lidia.cabeza_alvarez@univ-fcomte.fr

guillaume.benhora-chabeaux@univ-fcomte.fr

adeline.etievant@univ-fcomte.fr

fanchon.bourasset@univ-fcomte.fr

Liste des abréviations

ABC	ATP-binding cassette
A β	Peptide amyloïde- β
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BHL	Barrière hémato-liquidienne
JS	Jonction serrée
LCR	Liquide céphalo-rachidien
LECC	Liquide extra-cellulaire cérébral
LICC	Liquide intra-cellulaire cérébral
LRP-1	Low-density lipoprotein receptor-related protein 1
MA	Maladie d'Alzheimer
P-gp	P-glycoprotéine
pTau	Protéine Tau hyperphosphorylée
RAGE	Receptor for advanced glycation end-products
SLC	Solute Carrier

Références

- (1) Abbott NJ, et al. (2010) *Neurobiol Dis.* 37(1): 13–25.
- (2) Nelson AR, et al. (2016) *Biochim biophys acta.* 1862(5): 887–900.
- (3) Taccola C, et al. (2021) *Neuropharmacology.* 191:108588.
- (4) Do TM, et al. (2014) *Neuropharmacology.* 2014/03/19 ed. 81:311–7.
- (5) Ulrich JD, et al. (2015) *Neuron.* 88(2):237–9.
- (6) Mawuenyega KG, et al. (2010). *Science.* 330(6012):1774.
- (7) Do TM, et al. (2012). *J Alzheimers Dis.* 30(1):155–66.
- (8) Do TM, et al. (2013) *J Alzheimers Dis.* 36(3):555–61.
- (9) Dodacki A, et al. (2017) *Sci rep.* 7(1):13393.
- (10) Do TM, et al. (2016) *J Alzheimers Dis.* 49(2):287–300.
- (11) Matsumoto K, et al. (2015) *Histochem cell boil.* 144(6):597–611.
- (12) Wen G, et al. (2019) *Front Psychiatry.* 2019;10:287.

Imagerie de la BHE : au-delà du concept d'une simple barrière.

AUDREY CHAGNOT, AXEL MONTAGNE

UK Dementia Research Institute - Centre for Clinical Brain Sciences, Université d'Edimbourg, Ecosse, Royaume Uni

Quand on évoque la barrière hémato-encéphalique, le nom de Paul Ehrlich revient systématiquement. En effet, ce médecin allemand est l'un des premiers qui, grâce à l'injection de nombreux traceurs, identifie fonctionnellement et fait l'hypothèse de cette nouvelle barrière anatomo-fonctionnelle. Pourtant, Ehrlich n'était pas prêt à tirer toutes les conséquences de sa découverte et d'en accepter l'ampleur, et attribua ses observations à un défaut de transporteurs dans le tissu nerveux. La compréhension des mécanismes en jeu revient à une longue suite de chercheurs, parmi lesquels Edwin Goldmann (Université de Fribourg), un des élèves de Ehrlich, mais aussi Raymond Gautier et Lisa Stern (Université de Genève).

Née en 1878 dans une famille juive de Lituanie, Lisa Solomonova Stern fera ses études à l'université de Genève, dont elle deviendra la première femme professeure. Poursuivant sa carrière en Russie soviétique où elle recevra de nombreux prix, ses origines et ses activités antifascistes lui vaudront emprisonnement et torture à l'âge de 71 ans. Libérée et réhabilitée à la mort de Staline, elle deviendra directrice du laboratoire de physiologie de l'URSS jusqu'à sa mort en 1968.

Elle et Gautier sont à l'origine du terme 'barrière hémato-encéphalique' (1) qui a donné entre autres le titre de ce dossier. Cependant, comme de nombreux pionniers, Stern et Gautier commirent une erreur d'interprétation. Pour eux, la barrière est infranchissable, et seuls quelques rares organes, dont les plexus choroïdes, permettent l'accès des nutriments au cerveau.

La question des contributions particulières de la BHE et des plexus choroïdes à une perméabilité sélective se pose également et encore de nos jours, avec les nouvelles techniques d'imagerie présentées ici. En effet, depuis les expériences de Paul Ehrlich, les méthodes d'observation de la BHE n'ont cessé de s'affiner. Ainsi,

dès l'aube du XXIème siècle, il est possible d'ausculter la barrière en imagerie par résonance magnétique (IRM).

Une terre rare comme témoin

Une première technique qui permettrait en principe d'étudier cette question est l'imagerie dynamique par rehaussement de contraste (*DCE-MRI* en anglais). Cette technique exploite un traceur comme témoin de l'imperméabilité supposée de la BHE. Les applications sont nombreuses, de la localisation de tumeurs à la mesure du flux sanguin cérébral, en passant par la détection des lésions silencieuses de la BHE précédant les maladies neurodégénératives (2). L'immense majorité des agents de contraste utilisés dans ces méthodes se basent sur les propriétés magnétiques d'un élément providentiel : le gadolinium.

Terre rare extraite d'une poignée de gisements dans le monde, le gadolinium possède l'un des plus puissants effets paramagnétiques du tableau périodique. Cette caractéristique lui permet d'amplifier grandement le signal émis par les molécules d'eau et donc de rehausser le signal IRM. Pour contrer les effets toxiques de sa forme libre, l'ion gadolinium est séquestré par des chélateurs, sortes de cages moléculaires dont les structures et propriétés diverses sont à l'origine de la variété d'agents commercialisés.

Malgré une toxicité comparable à celle des métaux lourds, révélée par des cas rarissimes de fibroses rénales, les agents à base de gadolinium sont sûrs chez la plupart des patients et sauvent de nombreuses vies en dépistant à temps tumeurs et lésions traumatiques. Une application plus ambitieuse encore est de dépister des altérations infimes, mais néanmoins lourdes de sens, puisqu'elles augurent des maladies neurodégénératives.

En effet, l'implication des vaisseaux sanguins cérébraux dans la genèse et la progression de ces maladies est établie par plusieurs études. Par exemple, Montagne *et al.* montrent l'apparition de lésions de la BHE dans l'hippocampe aux stades précoces de la maladie d'Alzheimer (3), Verheggen *et al.* observent que ces lésions vasculaires s'amplifient avec l'âge (4), ou encore Freeze *et al.* proposent que les dommages vasculaires sont un déclencheur de la maladie cérébrale des petits vaisseaux (5).

Dans ces protocoles, le cerveau des patients est imagé en continu tandis qu'ils reçoivent en intraveineuse une injection d'agent de contraste. Le passage de cet agent du sang au tissu est alors quantifié et traduit en termes de perméabilité de la BHE par un processus de modélisation se reposant sur des équations pharmacocinétiques, tels que le modèle à deux compartiments de Tofts ou celui de Patlak, plus simple car ne considérant que le passage du sang au cerveau. La constante de transfert K_{trans} , qui quantifie le passage de contraste du sang vers le cerveau, est l'un des paramètres de sortie de ces pipelines analytiques. Bien que l'imagerie avec agent de contraste soit la technique de prédilection pour étudier ces phénomènes, elle reste, telle Lisa Stern et l'ion gadolinium lui-même, contrainte par cette idée de barrière. La reproductibilité n'est pas le point fort de ces techniques qui se veulent pourtant quantitatives, comme constaté par Chagnot *et al.* (6). En effet, les choix de méthodologie tels que le type d'agent de contraste, le volume et le débit du bolus, ou encore la durée d'acquisition peuvent intervenir dans le calcul des constantes, sans compter les variations inhérentes aux caractéristiques des patients et des scanners.

Et si on faisait sans agent de contraste ?

Propulsée par des avancées physiques et mathématiques, une solution plus audacieuse se profile : ausculter la barrière sans gadolinium. Plus exactement, ces méthodes d'IRM se proposent de mesurer le transfert d'eau au travers de la BHE. Une variété de techniques a été développée pour atteindre cet objectif.

La plupart d'entre elles se basent sur la capacité de l'IRM à magnétiser les molécules d'eau, où plus précisément les protons de ces molécules. Cette propriété, de base puisqu'elle permet l'excitation de la matière préalable à la réception du signal, est dans ce cas détournée pour marquer spécifiquement les molécules d'eau en mouvement se trouvant dans le cou. Au même moment, le cerveau est imagé dans le but de localiser et quantifier ces molécules marquées. Ce marquage des spins d'origine artérielle (ASL en anglais) permet non seulement de mesurer le flux sanguin cérébral, mais aussi

de quantifier le volume d'eau marquée ayant diffusé dans le tissu au travers de la barrière (7).

Une autre technique se base au contraire sur la suppression du signal des molécules d'eau rapides, comprise dans le flux sanguin, et se concentre sur le signal de l'eau du tissu pour déterminer la fraction emportée par le sang (8).

Enfin, il existe des techniques hybrides, utilisant un agent de contraste afin d'amplifier le signal provenant des molécules d'eau et gagner en précision.

En tous les cas, ces techniques cherchent à déterminer une constante de diffusion de l'eau au travers de la BHE. Souvent notée K_w , celle-ci est plusieurs ordres de grandeur au-dessus de la K_{trans} , mesurée avec le gadolinium.

Passages dérobés

En effet, la BHE est loin d'être une barrière imperméable. L'architecture des vaisseaux cérébraux, composite de cellules endothéliales et musculaires, de péricytes, d'astrocytes et de microglie, voire d'axones neuronaux, le tout compris dans plusieurs couches de matrice extracellulaire, en fait l'un des filtres les plus précis de l'organisme. Loin d'être une grande muraille, c'est un portail gigantesque à la précision infinitésimale, bardé de récepteurs, de canaux et de pompes (9).

En conditions physiologiques, l'eau dispose de nombreuses voies de passage au travers de la BHE (Figure). Par exemple, les canaux aquaporines de type 11 facilitent directement le transfert d'eau au travers des membranes. L'eau fait partie du cargo pour de nombreux transporteurs, par exemple les GLUTs qui transfèrent les sucres du sang vers le tissu nerveux, ou les pompes Na^+/K^+ qui maintiennent les gradients ioniques des cellules. La valeur K_w reflète donc non seulement le passage d'eau au travers de lésions physiques, mais aussi via l'ensemble de ces phénomènes.

Avec une telle sensibilité, ces techniques sont capables de déceler les troubles de la BHE bien avant que celle-ci ne soit dégradée au point de laisser fuir une molécule cinquante fois plus large que les agents de contraste. Ainsi, si le transfert d'eau est augmenté de manière évidente dans les lésions d'accident vasculaire cérébral, il est aussi lié à des lésions à bas bruit telles que dans le diabète et l'hypercholestérolémie, qui sont associées à une inflammation vasculaire systémique chronique. S'il est tentant de rapprocher ces observations de celles de l'imagerie dynamique par rehaussement de contraste, les deux approches ne témoignent pas des mêmes phénomènes.

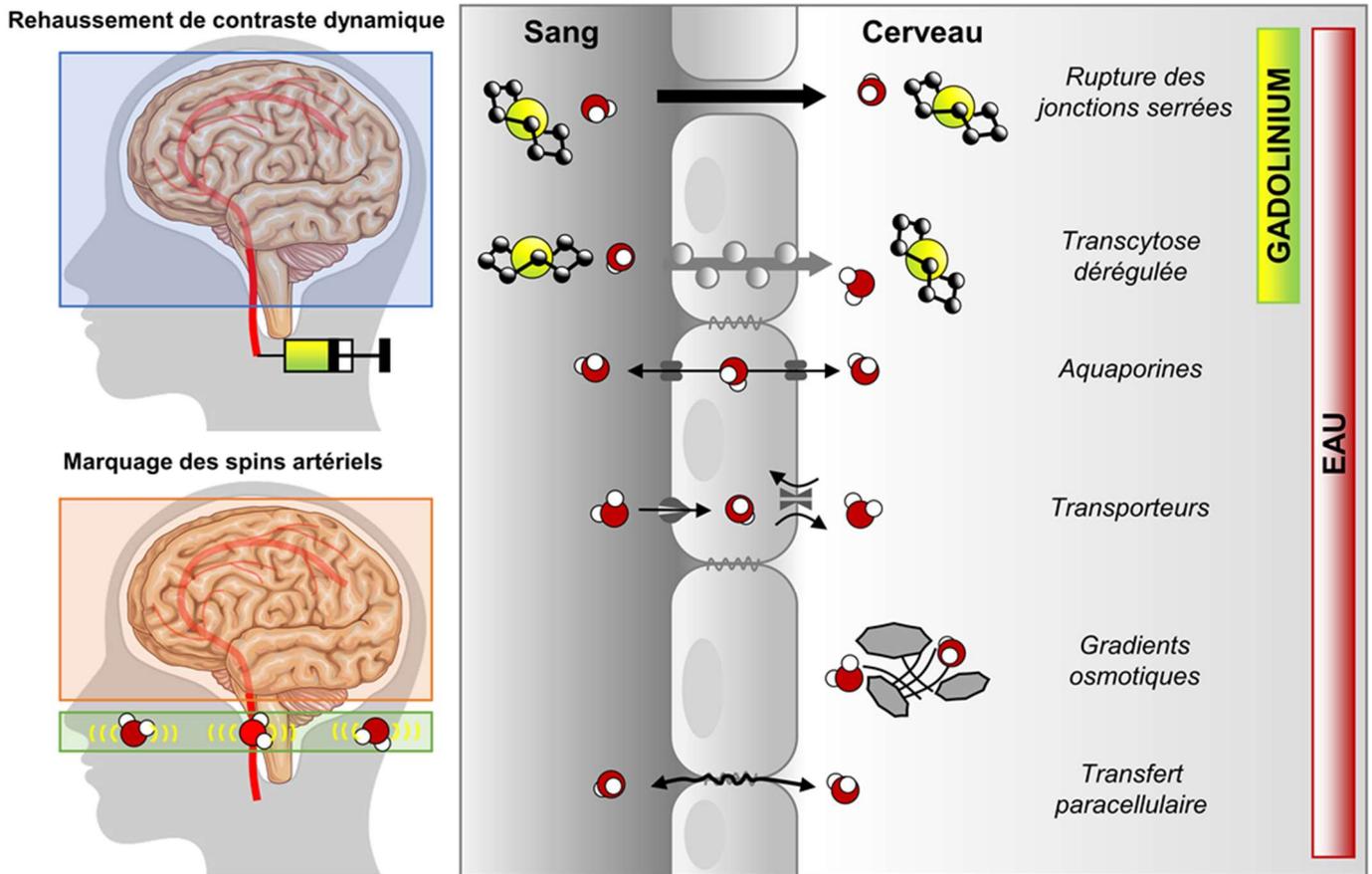


Figure : L'imagerie de la BHE, avec et sans gadolinium. Le rehaussement de contraste dynamique (en haut à gauche) se base sur l'injection d'un agent de contraste afin de calculer la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, alors que d'autres méthodes, basées sur le marquage des spins artériels (en bas à gauche), utilisent directement l'eau du sang comme contraste. Le passage des chélates de gadolinium (molécule jaune, à droite) est plus restreint que celui des molécules d'eau (molécule rouge, à droite) et ne peut compter que sur les voies paracellulaires au travers de jonctions serrées rompues ou par la dérégulation de la transcytose, alors que les molécules d'eau peuvent transiter via des canaux spécifiques comme les aquaporines ou accompagner d'autres molécules via des transporteurs. L'eau peut de plus être séquestrée par des groupements ioniques, ce qui amène à des dynamiques différentes de celles du gadolinium (de haut en bas, à droite).

L'importance du trafic d'eau au travers de la BHE a parfois mené, faussement, à la réinterprétation de ce filtre comme la source du liquide céphalo-rachidien. Il faut rappeler ici qu'un transfert d'eau n'est pas nécessairement un transfert de volume. En effet, ce sont les charges ioniques qui, en la séquestrant, maintiennent l'eau d'un côté ou de l'autre d'une membrane. Les transferts étant équilibrés de part et d'autre de la BHE, celle-ci n'est à l'origine que de quelques pourcents de la production du liquide céphalo-rachidien, l'essentiel étant le fait des plexus choroïdes.

Cette notion est critique lorsqu'il s'agit d'interpréter les résultats des imageries. Ainsi, une lésion qui permet le passage de gadolinium dans le tissu peut se traduire par une diminution du trafic d'eau, comme démontré par Rooney *et al.* Dans cette étude portant sur des tumeurs, les auteurs ont interprété leurs résultats comme la cause d'une perturbation des transporteurs d'eau au travers de la membrane, en particulier la pompe Na^+/K^+ (10). Cette

hypothèse, bien que séduisante, reste à confirmer par des méthodes plus précises.

Au-delà de la barrière

Malgré les limitations inhérentes à leur taille et à leur statut de composés exogènes, les agents de contraste à base de gadolinium permettent de rester sur un terrain connu et restent incontournables pour de nombreuses procédures.

Si la sensibilité des techniques basées sur l'eau est leur plus grande force, c'est aussi une faiblesse quand vient l'heure de l'interprétation. Car il ne s'agit pas de détecter un effet pour tirer une conclusion, aussi faut-il savoir en extraire la cause. La multiplicité des transporteurs et des voies que peut emprunter l'eau rend toute conclusion évasive, à moins de rester dans le cadre contrôlé du laboratoire. Pour ne rien arranger, ces techniques sont sensibles à de nombreux paramètres et les implémenter correctement n'est pas à la portée de n'importe quelle

équipe ou scanner. Mais si K_w doit encore faire ses preuves en tant que biomarqueur, elle nous montre qu'il est possible d'ausculter le filtre, au-delà de la barrière.

audrey.chagnot@ed.ac.uk
axel.montagne@ed.ac.uk

Références

- (1) Davson H (1989). Implications of the Blood-Brain Barrier and its Manipulation E A Neuwelt (ed.),© Plenum Publishing Corporation. pp 27-52.
- (2) Heye AK, et al. (2014) *NeuroImage Clin.* 10:6:262-74.
- (3) Montagne A et al. (2015) *Neuron* 85(2):296-302.
- (4) Verheggen ICM, et al. (2020) *Geroscience* 42(6):1751-1764.
- (5) Freeze WM, et al. (2020) *Neurobiol Aging* 85:113-122.
- (6) Chagnot A, et al. (2021) *Neuroscience* 474:14-29.
- (7) Dickie BR, et al. (2019) *Neuroimage* 184:349-358.
- (8) Ohene Y, et al. (2023) *Fluids and Barriers of the CNS* 20(1):25.
- (9) Sweeney MD, et al. (2019) *Physiol Rev* 99(1):21-78.
- (10) Rooney WD, et al. (2015) *NMR Biomed* (6):607-23.

Modèles *in vitro* humains de barrière hémato-encéphalique : exemple de l'épilepsie

CORALY SIMOËS DA GAMA, AMBRE POUVREAU & MELANIE MORIN-BRUREAU

Sorbonne Université, Inserm U938, Centre de Recherche Saint-Antoine, CRSA, Système immunitaire et neuroinflammation, Hôpital Saint-Antoine, F-75012, Paris, France.

Introduction

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est une barrière à la fois physique et métabolique séparant la circulation sanguine du système nerveux central (SNC). Celle-ci permet le maintien de l'homéostasie cérébrale en permettant l'entrée des nutriments essentiels au bon fonctionnement cérébral et en éliminant des déchets grâce à de nombreux transporteurs présents sur les cellules. Les cellules endothéliales constituent le siège anatomique de cette BHE dont la présence de protéines de jonctions entre elles lui confère cette capacité d'être imperméable. Mais ces cellules à elles seules ne sont pas suffisantes et sont donc soutenues par la membrane basale et de nombreuses autres cellules essentielles telles que les péricytes et les astrocytes. Cette imperméabilité rend le traitement pharmacologique des maladies neurologiques complexe. Il est donc souvent recherché les moyens de la traverser mais ces études sont entravées par sa complexité et la difficulté à la modéliser. Les premières études se sont faites sur des modèles murins, qui avaient pour avantage de garder l'architecture complète de la BHE ainsi que le flux sanguin. L'utilisation de ces modèles présente aussi de nombreux inconvénients comme un coût élevé, des expériences longues dans le cas du vieillissement, des problèmes éthiques mais surtout des différences moléculaires et transcriptomiques entre les animaux et l'homme. Tout ceci a donc poussé le développement de modèles *in vitro* humains de la BHE qui offrent la possibilité d'un contrôle facile et reproductible de l'environnement cellulaire, une accessibilité améliorée pour une analyse mécanistique, une réduction des préoccupations éthiques, et la possibilité de développer une médecine personnalisée. De plus les modèles cellulaires humains facilitent l'étude sur la dégradation de la BHE due à des facteurs extrinsèques, tels qu'une infection virale, un traumatisme

cérébral, ou en conséquence de maladies telles que le diabète et l'hypertension.

L'analyse comparative des avantages et inconvénients des études *in vivo* et *in vitro* de la BHE souligne l'absence d'un modèle parfait. Le choix du modèle approprié dépend des questions scientifiques posées. Cette revue explore l'évolution des modèles *in vitro* de la BHE. Puis un exemple sera donné avec l'utilisation de ces modèles dans l'épilepsie.

Les modèles *in vitro* de BHE humaine

Les premiers modèles *in vitro* de la BHE, émergeant dans les années 1980, utilisaient des monocouches de cellules endothéliales de rongeurs, mais un modèle basé sur les cellules endothéliales du cerveau humain (hBEC) a été introduit en 1985. Ces modèles ont depuis évolué pour intégrer des dimensions physiologiques, une géométrie réaliste et des flux sanguins simulés au-delà des cellules endothéliales (Fig.1A) (1).

L'objectif premier était d'améliorer la perméabilité de ces modèles, il a pour cela été développé le système de Transwell qui consiste à cultiver une monocouche de cellules hBEC sur des membranes semi-perméables. Ceci crée donc une compartimentation permettant l'étude de flux de traceurs fluorescents mais aussi de cellules immunitaires. Mais ce modèle ne reflétait pas la complexité de la BHE en raison notamment de l'absence des astrocytes et des péricytes, essentiels au maintien et au développement des propriétés de la BHE. Ce problème fut résolu par la réalisation de co-cultures avec tous les types cellulaires. Par convention, la partie supérieure représente le compartiment vasculaire avec les cellules endothéliales au contact de la membrane et sur la partie inférieure sont cultivés les péricytes et les

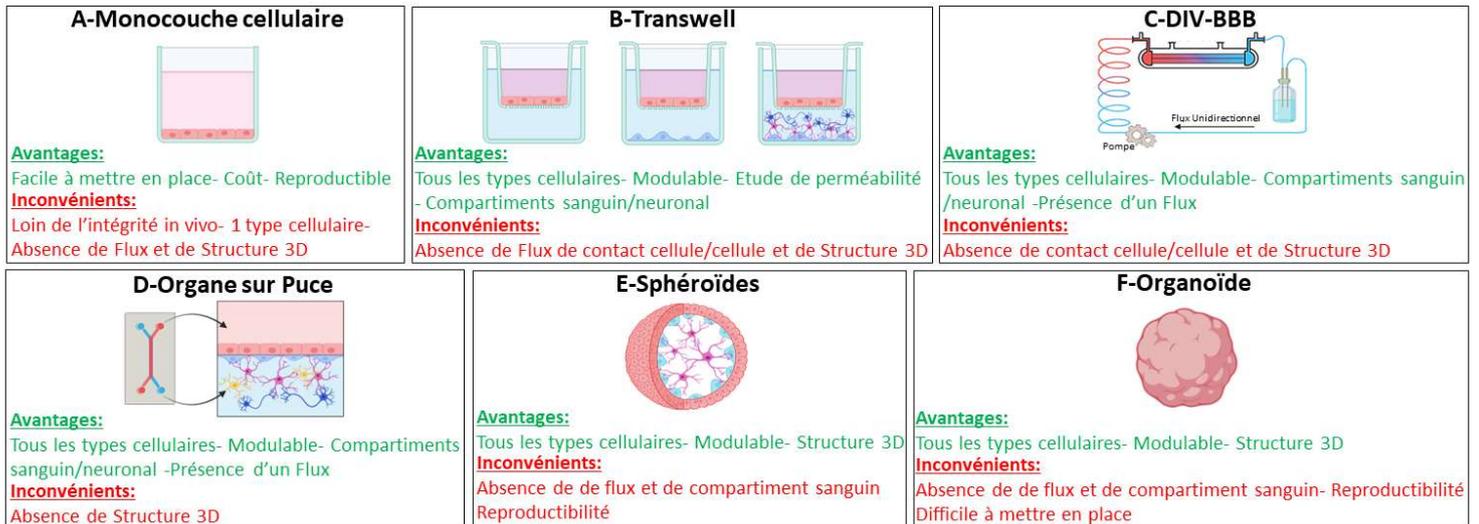


Figure 1: Les différents modèles humains in vitro de BHE

Les modèles in vitro de BHE se sont complexifiés au cours du temps passant de simple monocouche (A) à des modèles de co-culture 2D (B). Pour recréer les effets du flux sanguin le modèle DIV-BBB (C) et organe sur puce (D) dans lequel les contacts cellulaires sont présents. La structure 3D de la BHE est retrouvée dans les modèles de sphéroïdes (E) et organoïde (F).

astrocytes. Puis, les neurones dont l'impact sur les propriétés de la BHE a été montré, ont été introduits. Ce modèle permet de faire des études moléculaires par des techniques d'immunohistochimie, de protéomique et de génomique sur des cellules détachées des membranes. La culture sur Transwell a donc pour avantages d'être facile à configurer, reproductible et évolutive. Cependant, il manque des aspects essentiels dans la modélisation de la BHE tels que le contact cellule-cellule en 3D, le flux sanguin et la contrainte de cisaillement en découlant, impactant les propriétés des cellules endothéliales (Fig.1B).

Il a donc été créé artificiellement des capillaires en fibres de polycarbonate pré-enduites de fibronectine, de collagène de rat ou de poly-D-lysine qui permettaient d'allier structure 3D et flux. Ces modèles dynamiques de BHE in vitro (DIV-BBB) présentent du côté intra-laminaux les cellules endothéliales, et du côté extra-laminaux les péricytes et astrocytes avec un flux généré par une pompe reproduisant un flux pulsatile. Cette modélisation a permis d'améliorer de nombreux paramètres avec des valeurs de résistance électrique transépithéliale / transendothéliale (TEER), reflet de l'imperméabilité, à des niveaux similaires à ceux retrouvés in vivo. Des ajustements ultérieurs ont été apportés, par l'utilisation de fibres séparées pour les capillaires et les veinules ainsi que le remplacement des astrocytes par des cellules musculaires lisses humaines (Fig.1C).

Malgré le progrès qu'a pu apporter le modèle DIV-BBB, il fut rapidement remplacé par des modèles de puces basés sur des techniques de nano-fabrication et microfluidiques. Des évolutions ont vu le jour au sein même du modèle avec une complexification par l'ajout au fur et à mesure

des différents types cellulaires passant de la monocouche de cellules endothéliales seule (BBB-on-chip) à des co-cultures avec des péricytes et astrocytes (NVU-on-chip). Différents matériaux de puces, biologiques (collagène), synthétique (le PDMS (Poly-DI-Méthyl-Siloxane)) et des matériaux hybrides, ont été utilisés pour créer des canaux microfluidiques biocompatibles, prenant en compte la biocompatibilité des composants naturels et les propriétés physicochimiques des composants synthétiques. Malgré des avancées comme le SyM-BBB (Synthetic Microvasculature model of the Blood-Brain Barrier) avec des structures trapézoïdales, des tentatives de reproduction de vaisseaux sanguins circulaires avec une imprimante 3D, et des modèles de puce utilisant la vasculogénèse, ces modèles prometteurs nécessitent encore des travaux supplémentaires pour améliorer la reproductibilité du modèle (Fig.1D-E).

Les modèles organoïdes de la BHE ont évolué simultanément. Ils sont composés d'agrégats de cellules sphéroïdes in vitro, présentant souvent une similitude significative avec la structure 3D in vivo. Les premiers organoïdes de la BHE étaient constitués de cellules endothéliales humaines, d'astrocytes et de péricytes s'auto-assemblant dans des conditions de faible adhérence. Bien que dépourvus de microglies et de neurones, qui jouent également un rôle dans la formation et le maintien de la BHE, ces organoïdes renforcent leur pertinence en permettant un contact direct entre ces trois types cellulaires. Des tentatives ont été faites pour générer des organoïdes cérébraux humains vascularisés en revêtant des organoïdes avec des cellules endothéliales dérivées de cellules souches induites (iPSC) du même individu. De plus, des modèles BHE 3D récents

ont intégré six types de cellules corticales, démontrant des réponses fonctionnelles à l'hypoxie et à la neurotoxicité. Bien que des tests et une validation plus approfondie soient nécessaires, ces modèles organoïdes BHE semblent prometteurs pour la recherche sur les neuropathologies (Fig.1F).

A côté de tout ceci, les cultures organotypiques de tissus cérébraux sont également employées pour examiner l'activité neuronale et les interactions cellulaires, bénéficiant de l'avantage de préserver les relations spatiales entre les différents types de cellules. La découverte dans ces cultures du rôle des vaisseaux sanguins répondant aux stimuli angiogéniques, a conduit à leur adoption en tant que modèles de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Les cellules endothéliales expriment des protéines de jonction serrée ainsi que des molécules de transport, notamment la P-gp (glycoprotéine P) et GLUT1 (transporteur du glucose de type 1). Des co-cultures de tissus cérébraux organotypiques superposées à des cellules endothéliales ont facilité des expériences de microdialyse et des mesures de la TEER. Bien que la majorité de la recherche sur les cultures organotypiques ait été réalisée sur des tissus de rongeurs, l'utilisation de cultures organotypiques de tissus humains, obtenues après des interventions chirurgicales sur des patients épileptiques, s'est avérée utile pour étudier l'activité neuronale et les crises d'épilepsie, ouvrant la voie à des investigations sur le rôle de la BHE.

Altération de la BHE dans l'épilepsie et utilisation des modèles *in vitro*

L'épilepsie est une maladie chronique caractérisée par des crises récurrentes et spontanées en conséquence d'une hyperexcitabilité neuronale. L'altération de la BHE est établie à la fois comme une conséquence de ces crises mais est reconnue comme participant à l'épileptogénèse suite à l'entrée de protéines sanguines en conséquence d'une perméabilité accrue de la BHE mais aussi une augmentation de la pharmacorésistance des patients en conséquence d'une augmentation du nombre des pompes à efflux (Fig.2). Une boucle s'installe alors, dans laquelle crises et rupture de la BHE se renforcent continuellement. Comprendre l'altération de la BHE est alors important pour couper ce cercle de renforcement.

Les études concernant la perméabilité vasculaire dans l'épilepsie ont démontré une forte dérégulation de la barrière cellulaire. Concernant les péricytes, il a été noté une diminution de leur nombre à la suite d'une crise d'épilepsie, associée à leur détachement de la membrane basale et à un réarrangement spatial incluant une interaction microglies-péricytes proche des vaisseaux. Une diminution de la réactivité vasculaire par perte du couplage neurovasculaire a été associée à une dépolarisation mitochondriale dans les péricytes. Quant aux astrocytes, ils ont été très peu étudiés dans le cadre de la perméabilité de la BHE. On note cependant, que

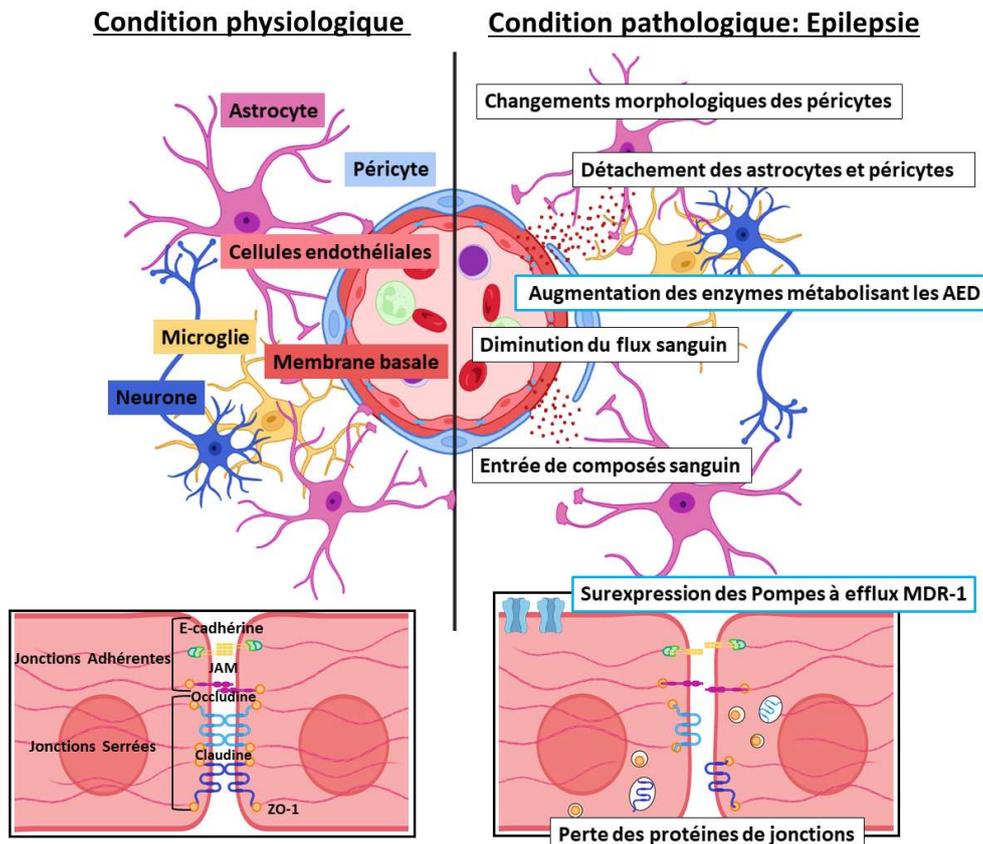


Figure 2: Représentation de la Barrière hémato-encéphalique en condition physiologique et pathologiques

En condition physiologique, les cellules endothéliales sont associées aux péricytes et aux astrocytes formant la barrière cellulaire de la BHE. Les cellules endothéliales sont connectées entre elles par des jonctions serrées et adhérentes qui assurent l'imperméabilité et forme la barrière physique. En condition pathologique, la structure de la BHE est affectée conduisant notamment à un détachement des péricytes et des astrocytes et une perte des jonctions serrées conduisant à une diminution du flux sanguin et à l'infiltration de molécules toxiques dans le parenchyme.

suite à une crise, une astrogliose réactive a lieu au niveau de la BHE, en réponse à l'activation des cellules microgliales, et se traduit par des astrocytes « activés », avec une morphologie allongée, pouvant aboutir à la formation de cicatrices gliales, et à une altération des processus permettant le maintien de l'homéostasie par une perte des jonctions GAP. Les cellules endothéliales, montrent une perte de la protéine jonctionnelle ZO-1, suite à la sécrétion du facteur de croissance vasculaire (VEGF) par les neurones et astrocytes, induisant une activation de la tyrosine kinase src suite à l'activation de VEGFR2. De plus, il a été noté une augmentation de l'expression des Métalloprotéases Matricielles (MMPs) au niveau de la barrière, notamment des MMP-2 et MMP-9, qui cause la dégradation de la membrane basale et des protéines jonctionnelles comme la claudine ou l'occludine (2). Toutes ces études ont été réalisées sur des modèles rongeurs d'épilepsie *in vivo* ou *ex vivo*. Très peu d'études utilisent les modèles humains pour comprendre les mécanismes de perméabilité. On note l'utilisation de culture simple de lignées cellulaires de péricytes humains, d'astrocytes ou de cellules endothéliales dans le but d'étudier les réponses cellulaires morphologiques ou sécrétoires suite à des traitements inflammatoires (3) ou d'inhibiteurs de MMPs (4).

La pharmacorésistance aux anti-épileptiques (AEDs) est elle aussi associée à des changements au niveau de la barrière cellulaire. On retrouve notamment une augmentation des enzymes capables de métaboliser les AEDs ; une affinité de certains AEDs avec les protéines sériques diminuant ainsi leur distribution notamment dans les zones de haute imperméabilité de la BHE et enfin une surexpression des pompes à efflux chez les patients, notamment dans les zones de rupture de la BHE (5). Des modèles simples de monocouche de cellules endothéliales humaines ont été utilisés pour identifier les transporteurs des AEDs (6), les mécanismes de surexpression (7) ou encore les différences entre patients répondeurs ou non aux AEDs (8). Ces monocouches de cellules humaines endothéliales ont permis d'étudier la capacité de certaines nanoparticules recouvertes de l'AED (par exemple le valproate) à traverser les cellules endothéliales (9). Concernant la barrière métabolique, le modèle *in vitro* dynamique (DIV) a permis d'observer que l'expression des enzymes métaboliques de la famille des CYP par les cellules endothéliales dépend des paramètres hémodynamiques, que l'on connaît perturbés chez les patients épileptiques (10).

Dans de nombreuses maladies neurologiques, les altérations de la BHE sont étroitement liées à des changements dans le microenvironnement neuronal. Les interactions complexes entre les neurones et les cellules endothéliales vasculaires jouent un rôle central dans le maintien de l'intégrité de la BHE. Et bien que plusieurs modèles *in vitro* de la BHE existent, peu d'entre eux intègrent de manière adéquate les composantes neuronales et vasculaires. Notre revue met en évidence les récents développements dans la création de modèles plus complets, intégrant des cellules neuronales et endothéliales dans une architecture simple tridimensionnelle. Ces avancées permettent une meilleure représentation des interactions dynamiques entre les neurones et les cellules endothéliales, offrant ainsi une modélisation plus réaliste pour étudier les altérations de la BHE. Ces modèles améliorés pourraient également servir de plateformes de criblage pour le développement de thérapies ciblées visant à restaurer l'intégrité de la BHE dans des contextes pathologiques spécifiques.

melanie.morin-brureau@sorbonne-universite.fr

ambrepouvreau@gmail.com

coraly.simoies-da-gama@inserm.fr

Références

- (1) Coraly Simoes Da Gama et al. (2022). *Front Cell Neurosci* e-collection.
- (2) Reiss Y et al. (2023) *Brain Pathol* 33(2):e13147.
- (3) Klement W et al. (2018) *Neurobiol Dis*113:70-81.
- (4) Diede W M et al. (2022) *Biomedecines* 29;10(9):2117.
- (5) Van Vliet EA et al. (2014) *Neuroscience* 26:277:455-73.
- (6) David D et al. (2013) *Biochem Pharmacol* 85(11):1672-83.
- (7) Kukul S et al. (2023) *Mol Pharmacol* 103(3):145-157.
- (8) Rawat C et al. (2020) *Sci Rep* 13;10(1):2546.
- (9) Lopalco A et al (2015). *Int J Nanomedicine* 11:10:1985-96.
- (10) Gosch C et al (2010) *Epilepsia*, 51(8):1408-17.

Une nouvelle stratégie thérapeutique pour une restauration visuelle : la sonogénétique

FABRICE ARCIZET, GREGORY GAUVAIN

Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Institut de la Vision, 17 rue Moreau 75012 Paris, France.



Une récente étude décrit la preuve de concept d'une approche thérapeutique associant génétique et ultrasons pour restaurer la vision. Cette thérapie dite sonogénétique consiste à modifier génétiquement certains neurones de la rétine ou du cortex visuel afin de pouvoir les activer à distance par des ultrasons pour permettre une perception visuelle.

La stimulation corticale, élément clef pour le développement d'interface cerveau-machine

La conceptualisation de l'artificialisation du corps est quelque chose qui pré-date le fait scientifique. En effet, dès 1928 l'auteur de science-fiction Edmond Hamilton décrivait l'invention d'un cerveau biologique contrôlant un corps mécanique. Seulement quelques années plus tard, un autre auteur de science-fiction, Howard Phillips Lovecraft développe le concept du cerveau dans une jarre, survivant isolé de son corps et ressentant des expériences sensorielles grâce à des stimulations, questionnant la réalité de notre expérience subjective.

Ce n'est que dans les années 70 que les travaux du professeur en informatique de UCLA (1), Jacques Vidal le mène à formuler le terme «interface cerveau-machine» qui englobe les approches permettant une communication directe entre l'activité électrique du cerveau et un appareil électronique externe. Cependant les avancées concrètes dans le domaine biomédical ont

longtemps été absentes. L'appareil initialement décrit par le Dr. Vidal reposait sur l'interprétation des données d'électroencéphalogramme (des potentiels évoqués visuels pour être précis) pour contrôler un curseur sur un écran d'ordinateur. Or ces premières technologies n'étaient pas capables de générer des stimulations, mais utilisaient des activités stéréotypées du cerveau pour, après classification, servir de déclencheur pour des réponses électroniques ou informatiques. Pour être une vraie interface, il faut à la fois enregistrer l'activité du cerveau (i.e. ElectroEncephalo-Gramme), pour comprendre le souhait du patient, mais également stimuler le cerveau pour faire un retour sensoriel, évoquer une sensation ou créer une perception. C'est le champ des neuroprothèses, des appareils visant à remplacer ou modifier une fonction dans un système neuronal diminué ou perturbé.

Le système visuel est une cible particulièrement intéressante pour le développement de prothèses, que

ce soit directement au niveau de la rétine, ou dans les structures du cerveau dévolues au traitement de l'information reçue comme le cortex visuel.

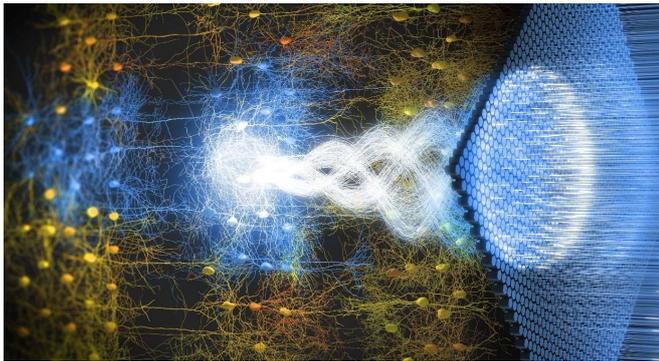


Figure 1: La thérapie sonogénétique consiste à modifier génétiquement certains neurones afin de les activer à distance par ultrasons. © Alexandre Dizeux/Physics for Medicine Paris

La restauration visuelle, un espoir pour de nombreux patients

Actuellement, 39 millions de personnes souffrent de troubles visuels dans le monde et ce nombre pourrait doubler d'ici 2050, en raison de l'allongement de la durée de vie et de la prévalence de maladies visuelles associées au vieillissement (2). Ces déficits visuels entraînent une perte majeure d'autonomie des patients atteints de maladies de la rétine associées à une dégénérescence des photorécepteurs ou des cellules ganglionnaires. Si plusieurs approches prometteuses de restauration visuelle sont actuellement à l'état clinique pour les patients atteints de dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), les stratégies thérapeutiques pour une restauration de la vision pour des patients atteints au niveau du nerf optique, donc ayant perdu le lien œil-cerveau, comme pour un glaucome, sont encore à un stade expérimental.

Au sein d'une équipe de recherche dirigée par Serge Picaud (Institut de la vision, équipe « Traitement de l'information visuelle ») et en étroite collaboration avec Mickaël Tanter (ESPCI, Paris) et Botond Roska (Institute for Molecular and Clinical Ophthalmology Basel, Bâle, Suisse), des récents travaux rapportent une preuve de concept d'une stratégie thérapeutique liant la thérapie génique et la stimulation par ultrasons : la sonogénétique (Figure 1). Le but du projet est d'amener cette stratégie thérapeutique jusqu'aux essais cliniques sur des patients.

Les ultrasons sont une approche prometteuse pour la stimulation corticale directe. En effet, si les ultrasons ne traversent pas la paroi osseuse, il est tout de même possible, en positionnant un stimulateur à la surface de l'encéphale, d'activer des neurones situés en

profondeur dans le cerveau (3). Pour augmenter la sensibilité des neurones aux ultrasons, une approche alternative a été mise en place : la thérapie sonogénétique. Il s'agit de rendre sensible les neurones aux ultrasons en leur faisant exprimer une protéine mécano-sensible au sein de leur membrane. Ainsi, l'activation de cette protéine mécano-sensible par des ultrasons déclenchera l'activation des neurones visuels. Afin de valider cette approche, plusieurs étapes sont nécessaires. Il s'agit dans un premier temps de montrer que ces protéines mécano-sensibles peuvent être exprimées par les neurones visuels, puis de vérifier que ces neurones visuels peuvent être activés par des stimulations ultrasonores avec une résolution spatio-temporelle capable de rendre possible une perception visuelle, et enfin de vérifier si de telles stimulations ultrasonores peuvent générer une perception visuelle sur un modèle animal. De tels résultats sont décrits dans une étude récemment publiée dans Nature Nanotechnologies (4).

Choix de la protéine Mécano-sensible

La protéine mécano-sensible choisie est la protéine composée de canaux ioniques à large conductance : *Mecanosensitive ion channel of large conductance* ou MscL (5). Cette protéine est liée à un marqueur fluorescent (td-tomato) permettant ainsi de contrôler son expression dans la cible choisie (ici dans la rétine ou le cortex visuel). Pour les transfections des rétines de rongeurs (Figure 2a), les vecteurs AAV sont injectés dans l'espace intravitréen et le promoteur choisi, provenant du gène de la gamma Synucléine (SNCG), a permis de cibler spécifiquement les cellules ganglionnaires de la rétine (6). Les images de fond d'œil *in vivo* confirment une bonne transfection de cette protéine mécano-sensible au sein des cellules ganglionnaires avec un marquage spécifique de près de la moitié des cellules ganglionnaires (~46%). Les rétines sont ensuite prélevées et placées dans un dispositif d'enregistrement avec de multiples électrodes (n=256) pour vérifier que l'activité unitaire des cellules ganglionnaires peut être modulée par des ultrasons (Figure 2b). Ces enregistrements ont également été effectués sur un groupe contrôle de rats non-transfectés.

Tests ex-vivo rétiniens et enregistrements corticaux

Les tests des stimulations sur des préparations de rétines montrent une activation à une fréquence et résolution spatiale compatibles avec une perception

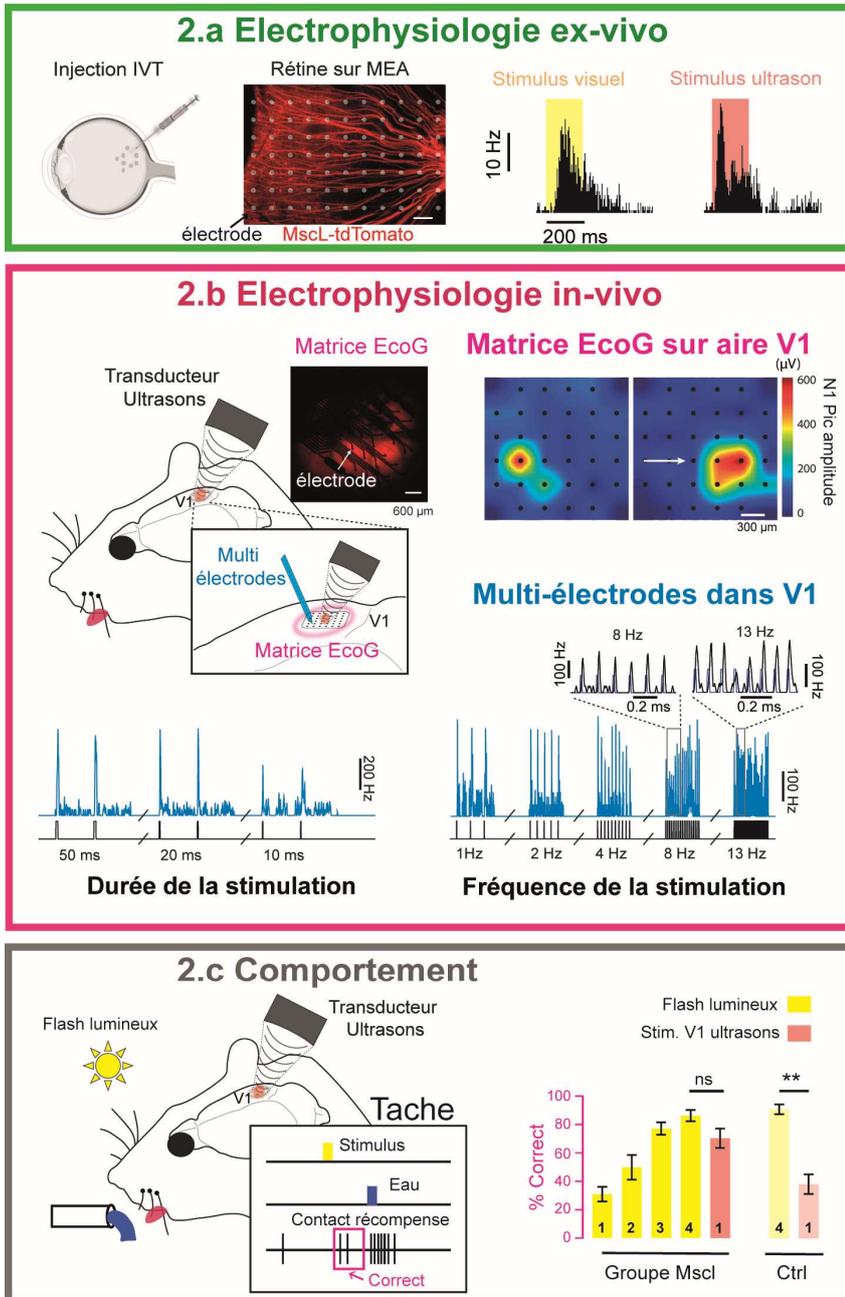


Figure 2 : a. Test ex-vivo sur rétines de souris. Après injections intra-vitréennes (IVT) des vecteurs viraux, les rétines sont prélevées et placées sur une matrice d'électrodes (n=256). Le neurone répond à la fois au stimulus visuel et ultrasonore. b. Une matrice d'électrodes de surface (ECoG) est placée sur le cortex visuel (V1). Les injections ont été effectuées préalablement dans le cortex visuel. Des multiélectrodes pénétrantes sont également utilisées pour enregistrer les activités unitaires des neurones visuels. Les stimulations ultrasonores se font grâce au transducteur. c. Test comportemental. La souris associe la présentation du flash lumineux à la distribution de la récompense liquide. Une réponse est correcte s'il y a présence de contacts directement après le stimulus visuel. Les performances des animaux augmentent au fur et à mesure des séances (1 à 4). Lors de la première séance de stimulations ultrasonores (rouge), les performances sont équivalentes à celle de la dernière séance avec le flash lumineux. Un tel effet n'est pas visible chez le groupe contrôle (ctrl).

visuelle restaurée (soit ~50 msec et 300-400 µm). Des tests similaires ont été effectués sur le cortex visuel. Après des injections de vecteurs viraux dans le cortex visuel, l'activité neuronale du cortex visuel est enregistrée à la fois à l'aide de multiélectrodes pénétrantes mais aussi d'électrodes de surface. Après stimulations ultrasonores, les neurones répondent très rapidement suggérant une activation directe par ultrasons et cela à des fréquences allant jusqu'à 13 Hz sans hausse de température.

Déclencher une perception visuelle

Il nous faut maintenant démontrer qu'une activation synchrone des neurones du cortex visuel qui expriment la protéine mécano-sensible (MscL) peut induire la

perception de la lumière. Pour cela, des souris sont soumises à un test d'apprentissage associatif (Figure 2c). Les souris apprennent à associer pendant 4 jours successifs l'apparition d'un flash lumineux avec la distribution de récompense liquide. Après plusieurs jours d'entraînement, l'apprentissage est établi montrant un taux de réussite augmentant significativement (taux de contacts avec le tube délivrant la récompense après l'apparition du flash lumineux de jour en jour). La stimulation lumineuse est ensuite remplacée le 5^{ème} jour par des stimulations ultrasonores du cortex visuel où a été injecté le vecteur transportant la protéine mécano-sensible (MscL). Les performances des souris sont alors aussi élevées qu'après un apprentissage avec le stimulus lumineux suggérant que la stimulation sonogénétique du cortex visuel génère une perception

visuelle chez ces souris. De tels résultats n'ont pas été observés sur un groupe de souris non-transfectées.

Conclusion

Ces résultats sur la thérapie sonogénétique sont compatibles avec la stimulation du cortex visuel sans contact pour la restauration sensorielle. Dans une perspective translationnelle, l'efficacité de la thérapie sonogénétique devra être démontrée sur un modèle primate non-humain permettant de tester la reconnaissance de patterns visuels complexes et l'utilisation de stimulateurs ultrasonores développés pour un transfert clinique comme cela a déjà été démontré avec des stimulations électriques (7). Notons que ces transducteurs ultrasonores pourront permettre la stimulation mais aussi l'imagerie fonctionnelle ultrasonore et représenteront alors une alternative non-invasive aux interfaces cerveau-machine reposant sur la stimulation et l'enregistrement électrique. Chez un patient aveugle, nous pouvons envisager un dispositif similaire à celui mis au point pour les stimulations optogénétiques de la rétine (8) : des lunettes sur lesquelles sera fixée une caméra et un ordinateur portatif réencodant et envoyant les informations nécessaires au stimulateur ultrasonore. Ainsi, cette démonstration pour la restauration visuelle devrait ouvrir plus largement l'application de la sonogénétique pour le traitement de différentes pathologies neurologiques voire neurodégénératives.

fabrice.arcizet@inserm.fr
gregory.gauvain@inserm.fr

Références

- (1) J. J. Vidal, Toward Direct Brain-Computer Communication. *Annual Review of Biophysics* 2, 157–180 (1973).
- (2) A. W. Scott, N. M. Bressler, S. Ffolkes, J. S. Wittenborn, J. Jorkasky, Public Attitudes About Eye and Vision Health. *JAMA Ophthalmol* 134, 1111–1118 (2016).
- (3) W. Legon, P. Bansal, R. Tyshynsky, L. Ai, J. K. Mueller, Transcranial focused ultrasound neuromodulation of the human primary motor cortex. *Sci Rep* 8, 10007 (2018).
- (4) S. Cadoni, C. Demené, I. Alcalá, M. Provansal, D. Nguyen, D. Nelidova, G. Labernède, J. Lubetzki, R. Goulet, E. Burban, J. Dégardin, M. Simonutti, G. Gauvain, F. Arcizet, O. Marre, D. Dalkara, B. Roska, J. A. Sahel, M. Tanter, S. Picaud, Ectopic expression of a mechanosensitive channel confers spatiotemporal resolution to ultrasound stimulations of neurons for visual restoration. *Nat. Nanotechnol.* 18, 667–676 (2023).
- (5) Z. Qiu, S. Kala, J. Guo, Q. Xian, J. Zhu, T. Zhu, X. Hou, K. F. Wong, M. Yang, H. Wang, L. Sun, Targeted Neurostimulation in Mouse Brains with Non-invasive Ultrasound. *Cell Rep* 32, 108033 (2020).
- (6) A. Chaffiol, M. Provansal, C. Joffrois, K. Blaize, G. Labernède, R. Goulet, E. Burban, E. Brazhnikova, J. Duebel, P. Pouget, J. A. Sahel, S. Picaud, F. Arcizet, G. Gauvain, In vivo optogenetic stimulation of the primate retina activates the visual cortex after long-term transduction. *Molecular Therapy - Methods & Clinical Development* 24, 1–10 (2022).
- (7) Chen X, Wang F, Fernandez E, Roelfsema PR. Shape perception via a high-channel-count neuroprosthesis in monkey visual cortex. *Science* 370(6521),1191-1196 (2020).
- (8) J.-A. Sahel, E. Boulanger-Scemama, C. Pagot, A. Arleo, F. Galluppi, J. N. Martel, S. D. Esposti, A. Delaux, J.-B. de Saint Aubert, C. de Montleau, E. Gutman, I. Audo, J. Duebel, S. Picaud, D. Dalkara, L. Blouin, M. Tiel, B. Roska, Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy. *Nat Med* 27, 1223–1229 (2021).

L'éthique dans les sciences de l'humain

JACQUES PY

*Cognition, Langues, Langage, Ergonomie (CLLE)
CNRS & Université de Toulouse 2 Jean Jaurès*

*Président du Comité d'Éthique de la Recherche de
l'Université de Toulouse*



S'il faut remonter à la Grèce antique pour trouver les premiers théoriciens de l'éthique (Socrate, Platon), c'est à la sortie de la seconde guerre mondiale que l'éthique appliquée s'est développée avec un ancrage particulier dans le domaine de la recherche médicale.

Le Code de Nuremberg (1947) est l'ancêtre de tous les codes d'éthique. Il pose les grands principes qui seront repris et développés par la suite, en particulier autour de la notion de consentement libre et éclairé qui sera formalisée en 1964 par la *World Medical Association* sous l'appellation de « déclaration d'Helsinki ». La troisième date importante dans l'histoire contemporaine en matière d'éthique est le rapport Belmont (1979). Le rapport Belmont réaffirme les grands principes éthiques de la recherche sur des participants humains : respect des personnes, préoccupation de leur bien-être, principe de justice, absence de duperie, consentement libre et éclairé, intérêt de l'évaluation d'un rapport bénéfices/risques. C'est à la suite de ce rapport que sont nés les comités d'éthique labellisés IRB (*Institutional Review Board*) qui allaient constituer le modèle des comités de la recherche sur l'être humain dans le monde entier. Ce modèle a été diffusé, d'abord, aux Etats-Unis et au Canada, et plus largement dans le monde anglo-saxon, avant de trouver un écho en Europe continentale et, progressivement, un peu partout dans le monde.

Dans la plupart des pays, les comités d'éthique traitent à la fois de recherches biomédicales et plus largement de recherches sur l'humain, incluant des études en sciences comportementales et cognitives et en neurosciences. La France s'est distinguée par une législation spécifique concernant la recherche biomédicale avec la loi Huriet-Sérusclat (1988) qui a mis en place des comités pour autoriser les recherches biomédicales interventionnelles : les Comités Consultatifs de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale (CCPPRB), devenus Comités de Protection des Personnes (CPP) en 2004. Toute recherche biomédicale interventionnelle a l'obligation d'être autorisée par un CPP. La loi Jardé (2012) et ses décrets d'application (2016, 2022) ont, par la suite, distingué différents types de recherches en fonction de leur caractère plus ou moins interventionnel et leurs conséquences possibles avec 3 niveaux de Recherches Impliquant la Personne Humaine (RIPH), le dernier niveau (RIPH 3) concernant des recherches peu ou pas interventionnelles, et donc sans risque. Au-delà du caractère invasif d'une recherche, ce qui amène à

considérer qu'une recherche doit être soumise à l'approbation d'un CPP est qu'elle vise à accroître les connaissances médicales ou biologiques, c'est-à-dire qu'elle vise à connaître, prévenir, diagnostiquer ou soigner les maladies ou les handicaps, y compris donc des recherches non-interventionnelles. La plupart des sciences humaines et sociales, et une bonne partie des neurosciences ne sont pas concernées, mais la zone grise d'inclusion (de qualification) d'une recherche dans le champ de la loi Jardé est étendue et fait en permanence l'objet d'interprétations. Imaginons un chercheur qui s'intéresse aux effets de la peinture sur soie (activité a priori peu invasive, dont on voit mal comment elle pourrait comporter le moindre risque) sur l'épanouissement des pratiquants. S'il présente cette recherche comme une forme d'art-thérapie (donc une psychothérapie, donc une pratique à visée médicale), elle relèvera alors d'un CPP. S'il la présente comme une étude portant sur la créativité, cela ne relèvera pas d'un CPP. Le fait qu'on utilisera dans cette recherche des mesures sous la forme d'entretien, de questionnaire, ou encore des mesures physiologiques non-invasives (diamètre pupillaire, ECG, EEG, etc.) ne modifiera pas significativement la qualification de la recherche. C'est la visée médicale ou biologique qui prime pour déterminer s'il est nécessaire de soumettre un dossier à un CPP. Au passage, on peut s'étonner que les recherches à visée biologique soient assimilées à des recherches à visée médicale puisqu'on peut chercher à comprendre la biologie humaine au-delà d'objectifs médicaux, mais les textes mettent au même niveau la recherche médicale et la recherche biologique.

Le Comité d'évaluation éthique de l'INSERM a publié un 'Guide de qualification des recherches en santé' (1) dans lequel sont analysés différents cas relevant de la « zone grise ». La lecture que réalise l'INSERM de la loi Jardé et de ses décrets d'application place les neurosciences dans une zone grise plus claire que la psychologie, cette dernière entretenant des liens plus étroits avec le domaine de la santé mentale, mais les neurosciences entretiennent, quant à elles, des liens étroits avec la biologie. Ce qui ferait basculer une recherche en neurosciences dans le champ de la loi Jardé, ce serait, non pas d'utiliser des mesures biologiques, comme, par exemple, une mesure du taux de cortisol comme indicateur du stress, mais de participer à la connaissance en biologie. Ce qui ferait basculer une recherche en psychologie dans le champ de la loi Jardé, ce serait de contribuer aux connaissances en santé mentale. On comprend bien que le chercheur en est quelquefois à « discuter du sexe des anges », d'autant que les frontières disciplinaires tendent à s'estomper. Où est la limite entre la médecine

et la psychologie, entre la biologie et les neurosciences, et que recouvrent les sciences cognitives ? A l'heure de la pluridisciplinarité et des collaborations internationales avec des chercheurs provenant de pays au sein desquels le cloisonnement disciplinaire est moins étanche qu'en France, gageons que l'application de loi Jardé pourrait s'avérer de plus en plus complexe.

Par ailleurs, le recours à un CPP n'est pas qu'une question réglementaire de qualification (est-ce que, sur le plan légal, une recherche nécessite une autorisation de la part d'un CPP ?). Il existe aussi des considérations assurantielles. Prenons le cas de recherches portant sur le plaisir sensoriel de l'activité physique chez des sujets jeunes et en bonne santé (attestée par un certificat médical). Dans ce type de recherches, on réalise régulièrement des mesures d'oxygénation du cerveau avec la spectroscopie optique proche infrarouge fonctionnelle (fNIRS pour « *functional near-infrared spectroscopy* », ou « imagerie optique diffuse ») qui varient en fonction de modulations de l'intensité de l'activité physique. Il ne s'agit pas de recherches à visée médicale, ni même à visée biologique puisqu'on s'intéresse ici uniquement au plaisir sensoriel, et le fait qu'on réalise une mesure physiologique ou biologique n'implique pas que la recherche rentre dans le cadre des RIPH. Pourtant, même si les risques sont très minimes, le chercheur qui souhaiterait souscrire une assurance pour cette recherche sera enclin à soumettre préalablement un dossier RIPH 3 afin d'obtenir l'autorisation d'un CPP, cette dernière étant considérée par l'organisme d'assurance comme une garantie.

Dans le cas où une recherche ne relève pas d'un CPP, à quel comité soumettre un dossier de recherche portant sur le sujet humain ? La législation française ne s'est pas intéressée à ce type de recherche, contrairement aux nombreux pays dans lesquels les comités d'éthiques évaluent tout type de recherche sur l'humain, et les autorisent (ou pas). Ce sont des chercheurs en psychologie de Grenoble, puis de Paris 5, aux débuts des années 2000, bientôt suivis de chercheurs de Toulouse, puis d'une bonne vingtaine d'universités qui ont été à l'origine des Comités d'Éthique de la Recherche, créés sur le modèle des IRB, dont certains, notamment les 3 premiers, ont obtenu l'accréditation délivrée par l'*Office for Human Research Protections* dépendant du Ministère de la Santé des Etats-Unis pour délivrer un numéro IRB. Ces comités, aujourd'hui regroupés, pour la plupart, au sein de la Fédération française des CER (<https://www.federation-cer.fr/>), constituent un service à la communauté des chercheurs qui travaillent sur l'humain sans visée médicale ni biologique de telle sorte que ces chercheurs puissent

bénéficiaire d'une évaluation éthique indispensable pour de nombreux financeurs (notamment européens) et pour la plupart des revues scientifiques internationales (2). Ce sont clairement les deux motivations principales des chercheurs. Une autre motivation, pour un chercheur qui pourrait recourir aussi bien à un CPP qu'à un CER, réside dans un traitement des dossiers beaucoup plus rapide dans le cas d'un CER (environ un mois) que dans celui d'un CPP (plusieurs mois).

Mon propos est d'argumenter que l'examen éthique des recherches a de nombreuses vertus même si ces considérations intéressent relativement peu les chercheurs. Ces vertus se traduisent en termes de respect des participants aux recherches, de responsabilité vis-à-vis de l'institution qui emploie le chercheur, et plus globalement de responsabilité envers la société.

Les chercheurs ont le sentiment de respecter l'éthique. C'est globalement vrai, mais ils y réfléchissent, en fait, assez peu. Par exemple, un chercheur qui travaille avec des enfants va avant tout respecter la loi et obtenir une autorisation parentale, mais il ne pensera pas systématiquement à obtenir le consentement de l'enfant lui-même, et lorsqu'il le fera il ne pensera pas nécessairement à le faire en des termes compréhensibles par ses participants. Il lui viendra encore moins à l'idée que cette participation à sa recherche doit faire l'objet d'une compensation. Est-ce que l'enfant qui sert de sujet va apprendre quelque chose de cette expérience ? C'est là que se situe l'éthique, au-delà de considérations juridiques. L'éthique appliquée en matière de recherche sur l'humain repose sur quelques grands principes incontournables : autonomie, justice, bienfaisance ou non-malfaisance (ne pas nuire), auxquels, selon le modèle de Kitchener (3), on peut ajouter la notion de fidélité.

Le **principe d'autonomie** renvoie au respect de la singularité et de l'intégrité de la personne. Dans le cadre de la recherche, cela se traduit par la notion de consentement éclairé (voir, notamment 4). Ce principe n'implique pas que le participant connaisse tous les objectifs de la recherche car cela pourrait poser des problèmes méthodologiques. Il doit néanmoins être articulé avec la notion de fidélité qu'on peut traduire par fiabilité, respect des promesses et loyauté. En l'occurrence, il s'agit que ce que l'on cache au participant pour éviter des biais méthodologiques n'affecterait pas sa décision si l'on était totalement transparent au départ. Il convient alors de l'informer en fin d'étude, lors du debriefing, et d'obtenir une confirmation de son consentement une fois qu'il a toutes les cartes en main.

La **notion de fidélité** concerne également la question des liens et des conflits d'intérêt. L'existence d'un lien d'intérêt n'est pas en soi problématique ; il s'agit simplement d'être transparent. L'existence d'un conflit d'intérêt est, en revanche, problématique non seulement parce qu'il s'agit d'un écart au devoir de loyauté, mais aussi parce que cet écart se traduit potentiellement par un biais méthodologique.

Le debriefing répond aussi à un **principe de bienfaisance**. Chaque fois que possible, le participant doit pouvoir apprendre quelque chose de sa participation à une recherche. C'est une forme de compensation par rapport au temps qu'il a donné au chercheur.

La **non-malfaisance** est sans doute le principe d'éthique dont la compréhension est la plus évidente : on ne doit pas causer du tort au participant. Et si la recherche devait représenter un risque, alors le principe d'autonomie devrait prévaloir sur toute considération méthodologique, c'est-à-dire que le sujet doit pouvoir prendre la décision de participer en pleine connaissance des risques encourus, ce qui suppose que le chercheur est capable de les estimer et que le sujet est capable d'en avoir une compréhension. On notera que ces deux assertions sont loin d'aller de soi. Prenons l'exemple de la recherche médicale spatiale. Pour simuler les effets de l'apesanteur, on place des participants pendant plusieurs semaines sur un lit incliné à 6° par rapport à l'horizontale, la tête vers le bas. Ces participants sont jeunes, en bonne santé et bénéficieront d'un suivi médical à moyen terme après l'expérience. On étudie, au moyen de ce dispositif, les conséquences physiologiques de l'impesanteur en termes de circulation des liquides dans le corps, de perte musculaire et de densité osseuse. Toutes ces conséquences ne sont pas anodines. Pourtant, elles sont difficilement évaluables par le chercheur lui-même qui dispose de très peu de données pour réaliser une estimation. Quant au participant, on lui dressera une longue liste de symptômes possibles qui feront office d'information. Or, il est cognitivement extrêmement complexe d'évaluer ce que représente une faible probabilité de survenue d'un événement dramatique. Où l'on voit que les principes de non-malfaisance, de consentement éclairé et de loyauté doivent quelquefois être articulés au sein d'un raisonnement éthique sophistiqué qui envisagera également un rapport risques/bénéfices. Et l'on perçoit bien que le chercheur doit être accompagné dans cette démarche, d'où l'intérêt de l'existence des comités d'éthique (en l'occurrence, dans cet exemple, d'un CPP).

Enfin, le **principe de justice** est probablement celui que les chercheurs ont le plus de difficultés à prendre en considération. Si l'on accepte l'idée que le sujet peut apprendre quelque chose de l'étude à laquelle il accepte de participer, alors on doit être vigilant à éviter toute discrimination abusive. Or, les chercheurs fonctionnent souvent sur la base de routines méthodologiques. Ils privilégient les échantillons homogènes plutôt que diversifiés pour réduire la variance intra-groupe, limitant par la même la généralisabilité de leurs résultats. Ils reprennent souvent, par facilité, des procédures habituelles dans la littérature. Par exemple, on voit fréquemment des protocoles qui excluent les femmes enceintes alors qu'ils ne contiennent aucun examen invasif, ni aucun risque prévisible. Certes, dans certaines recherches, les spécificités ou les variations hormonales de certains sujets peuvent impacter les mesures. Mais jusqu'où exercer un contrôle de la variable hormonale alors que la moitié de la population mondiale est sujette à des fluctuations mensuelles la majorité de sa vie ? C'est pour cela que les protocoles de recherche médicale ou pharmacologique sont essentiellement réalisés sur des hommes jeunes, ce qui a pour conséquences la mise au point de thérapies, de médicaments et des tests pas toujours adaptés aux femmes. C'est un biais encore fréquent.

On voit aussi couramment des protocoles dans lesquels on n'inclut que les participants de langue maternelle française alors que des millions de personnes seraient en parfaite capacité de comprendre ce qu'on leur demande et de répondre aux questions qu'on leur pose sans être de langue maternelle française. Ce faisant, le chercheur participe à discriminer des minorités tout en réduisant la portée de ses recherches. Une stratégie de recherche cohérente, si l'on souhaite conserver des échantillons homogènes de participants, serait de multiplier les études sur des populations distinctes, ce qui permettrait d'augmenter la généralisabilité des effets

observés tout en maintenant la possibilité de comparer finement une étude particulière aux résultats de la littérature, mais cette stratégie demeure peu commune. Quelle est la proportion d'études sur les gauchers, qui représentent environ 13% de la population, dans les recherches dans lesquelles on contrôle la latéralité ? Sans connaître précisément cette proportion, on peut sans risque d'erreur affirmer qu'elle est minime.

Autre vertu d'un examen éthique d'une recherche : en soumettant son dossier à un comité d'éthique, le chercheur réalise une forme de pré-enregistrement. Il s'engage, en effet, à respecter le protocole validé par le comité. Les CER participent donc au respect d'une démarche scientifique transparente et reproductible, gage de la confiance des participants à l'égard des chercheurs, de celle des chercheurs à l'égard de leurs pairs, de celle de l'institution académique à l'égard de ses membres, de celle des financeurs, et, somme toute, de la confiance de la société dans la science.

jacques.py@univ-tlse2.fr

Références

- (1) Guide de qualification des recherches en santé (septembre 2021). Comité d'évaluation éthique de l'INSERM, CEII/IRB (48 pages).
- (2) Fagard J., Py J. & Roby-Brami A. (2023). Le rôle structurant des comités d'éthique pour une recherche intègre et responsable. In M. Bergadaà (Ed.), *Les Nouvelles frontières de l'intégrité académique*. (pp. 99-113). EMS - Editions Management & Société.
- (3) Kitchener K.S. (1984). Intuition, critical evaluation, and ethical principles: the foundation for ethical decisions in counseling psychology. *Counseling Psychol.* 12, 43–55.
- (4) Caverni J.-P. (1998). *L'éthique dans les sciences du comportement*. Presses Universitaires de France.