

Des observations compatibles avec la théorie classique

Selon la théorie de Giulio Tononi et Chiara Cirelli, le cerveau procéderait au « nettoyage » des connexions les moins pertinentes pendant le sommeil et stabiliserait celles qui correspondent aux informations importantes à conserver. Leurs arguments sont assez convaincants et leur idée séduisante, car elle permettrait d'éviter une augmentation constante de l'activité des réseaux suite à l'accumulation d'informations à mémoriser.

Cependant, leur théorie présente certaines faiblesses. D'une part, leurs observations montrent une diminution globale de la force des synapses, mais rien ne prouve que celles qui codent les souvenirs importants sont préservées.

Avec les techniques actuelles, il est impossible de déterminer si la baisse d'intensité de la réponse neuronale à une stimulation et les modifications physiologiques qui l'accompagnent (raréfaction des épines dendritiques et des récepteurs AMPA), constatées après le sommeil, se limitent à certaines connexions. D'autre part, les liens entre l'affaiblissement synaptique et les réactivations neuronales qui jouent les souvenirs lors du sommeil doivent être précisés. Tous les cas observés de co-activation quasi simultanée de deux neurones connectés font apparaître un renforcement de leurs connexions. Comment les réactivations neuronales pourraient-elles alors affaiblir les synapses ?

Quoi qu'il en soit, leurs observations sont compatibles avec la théorie classique. Les connexions qui ne sont pas réactivées s'affaibliraient, tandis que celles qui le sont se renforceraient. Un tel phénomène augmenterait le contraste au sein des circuits de la mémoire et pourrait conduire à une diminution globale de la force synaptique, qui permettrait de limiter la consommation énergétique du cerveau. Pour prouver l'affaiblissement sélectif des synapses, il faudrait cependant des outils d'investigation bien plus performants que ceux dont on dispose aujourd'hui.

Bruno Poucet
Université d'Aix-Marseille
et CNRS

l'hypothèse de l'homéostasie synaptique. Nous avons testé plus en détail cette hypothèse en examinant certains de ses corollaires.

Par exemple, elle implique que plus les connexions d'une aire cérébrale se modifient pendant l'éveil, plus cette aire doit avoir besoin de dormir. Ce besoin accru se manifesterait par une augmentation de l'amplitude et de la durée des ondes lentes lors du sommeil qui s'ensuit. Pour vérifier cette prédiction, nous avons entraîné des sujets à atteindre une cible, située sur un écran d'ordinateur, avec un curseur tournant sur lui-même. Ce type d'apprentissage fait intervenir le cortex pariétal droit. Et, en effet, les ondes lentes dans le cortex pariétal droit des sujets étaient plus amples durant la nuit qui suivait l'apprentissage que durant celle qui l'avait précédé.

Un rat qui court avec une partie de son cerveau endormie

De nombreuses autres expériences ont confirmé que l'apprentissage, et plus généralement l'activité synaptique, entraîne une augmentation locale du besoin de sommeil. Il y a peu, nous avons découvert que l'utilisation prolongée ou intensive de certains circuits neuronaux peut provo-

quer « l'endormissement » de groupes de neurones, bien que le reste du cerveau (et l'organisme) reste éveillé. Ainsi, lorsqu'un rat veille plus longtemps que d'habitude, certains neurones corticaux subissent de brèves périodes d'extinction, de la même façon que lors du sommeil lent. Pendant ce temps, le rat court, a les yeux ouverts et vaque à ses occupations habituelles.

Ce phénomène se nomme sommeil local et fait l'objet de multiples études. Nous avons montré que le cerveau de personnes privées de sommeil est sujet à des extinctions locales, et que ces extinctions sont plus fréquentes après un apprentissage intensif. Il semble que lorsque nous sommes restés éveillés trop longtemps ou que certains circuits neuronaux ont été surmenés, de petites parties du cerveau s'accordent un somme. Nombre d'erreurs de jugement et d'altérations de l'humeur résulteraient d'un sommeil local dans le cerveau de personnes épuisées, qui se croient parfaitement éveillées.

L'hypothèse de l'homéostasie synaptique implique aussi que le sommeil est particulièrement important dans l'enfance et à l'adolescence. En effet, de nombreuses études ont montré que ce sont des périodes d'apprentissage intensif, lors desquelles se produit un important remodelage synaptique. Des synapses se forment, se renforcent et s'affaiblissent bien plus vite qu'à l'âge adulte. L'affaiblissement sélectif durant le sommeil doit alors être crucial pour minimiser le coût en énergie de ce remodelage frénétique et pour favoriser la survie des circuits neuronaux les plus adaptés. Un manque de sommeil pendant ces périodes critiques du développement risque d'avoir des conséquences néfastes. Elles pourraient ne pas se limiter à des étourderies ou des erreurs de jugement occasionnelles et influencer durablement sur les connexions cérébrales.

Nous envisageons d'étudier plus en détail les conséquences d'un manque de sommeil sur l'organisation des circuits neuronaux, ainsi que les autres implications de notre hypothèse. Nous aimerions notamment explorer l'effet du sommeil sur les aires cérébrales profondes, telles que le thalamus, le cervelet, l'hypothalamus et le tronc cérébral, et le rôle du sommeil paradoxal dans l'homéostasie synaptique. Peut-être confirmerons-nous alors que le sommeil est le prix à payer pour la plasticité cérébrale durant l'éveil. ■

■ LES AUTEURS



Giulio TONONI et Chiara CIRELLI sont professeurs de psychiatrie à l'Université du Wisconsin-Madison, aux États-Unis.

■ BIBLIOGRAPHIE

D. Bushey *et al.*, **Sleep and synaptic homeostasis : structural evidence in *Drosophila***, *Science*, vol. 332, pp. 1576-1581, 2011.

V. Vyazovskiy *et al.*, **Local sleep in awake rats**, *Nature*, vol. 472, p. 443-447, 2011.

B. Poucet, **Le sommeil fait son cinéma**, *L'Essentiel Cerveau & Psycho*, n° 6, 2011.

S. Diekelmann et J. Born, **The memory function of sleep**, *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 11, pp. 114-126, 2010.

C. Cirelli et G. Tononi, **Is sleep essential ?**, *PLoS Biology*, vol. 6, pp. 1605-1611, 2008.

COLLECTION POUR LA SCIENCE LES PETITS THEMATIQUES

Des feuilletables numériques fiables
et pratiques sur l'actualité scientifique

Accédez facilement à **l'essentiel**
sur un **thème marquant** de l'actualité
scientifique grâce à :

- **une sélection d'articles de référence**
parus dans *Pour la Science*
et *Cerveau & Psycho*
- **compilée dans un feuilletable**
numérique de 35 pages environ
- **téléchargeable en format**
PDF au prix de 3,99€
(compatible avec
ordinateur et tablette).



Des dizaines de sujets à découvrir sur
www.pourlascience.fr/petitsthemes

Des nanomédicaments pour le cerveau

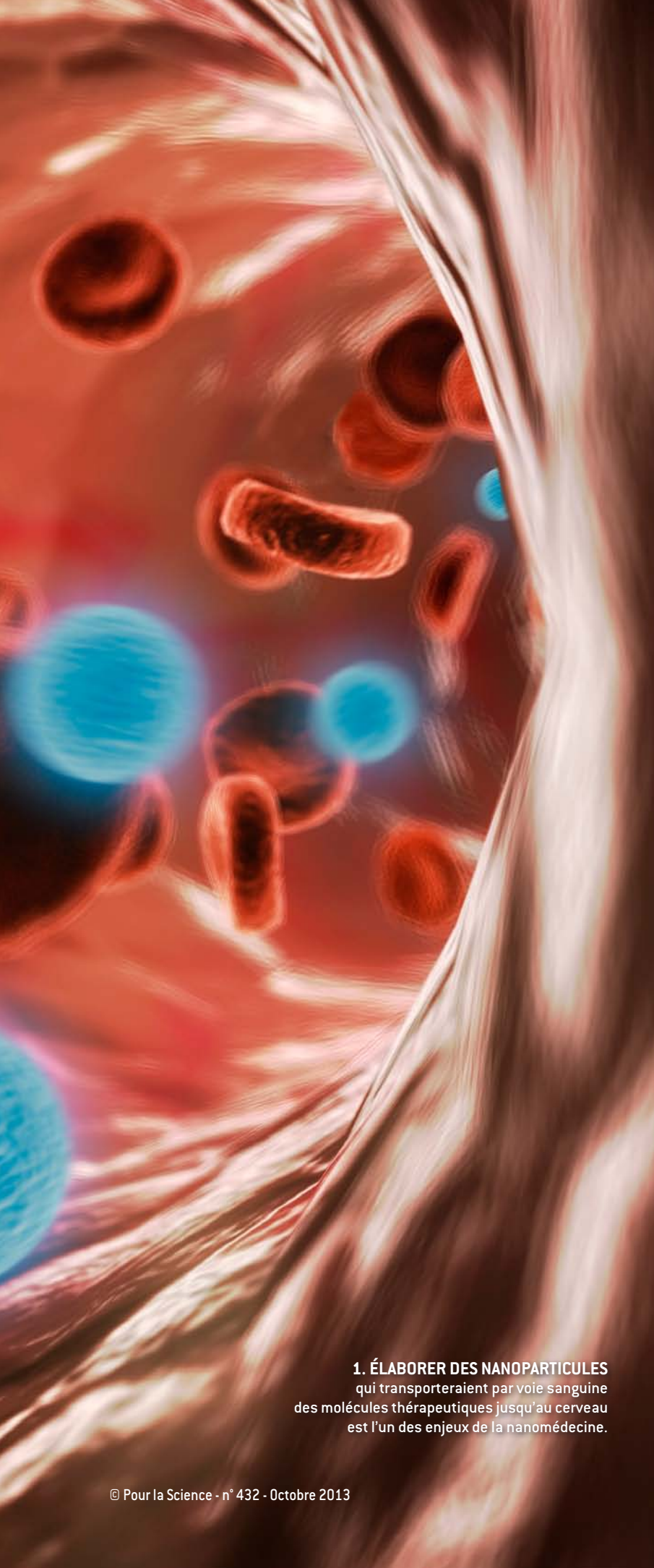
Karine Andrieux et Patrick Couvreur

L'un des principaux obstacles au traitement des maladies cérébrales est la barrière très sélective qui sépare le sang et le cerveau. La nanomédecine ouvre aujourd'hui des pistes prometteuses pour franchir cette dernière.

L'ESSENTIEL

- Les traitements actuels des pathologies du système nerveux central, telle la maladie d'Alzheimer, ne sont que symptomatiques.
- La mise au point de thérapies curatives des maladies cérébrales se heurte à une difficulté : rares sont les molécules qui franchissent la barrière qui sépare la circulation sanguine et le cerveau.
- Les biologistes conçoivent des nanoparticules capables de franchir cette barrière, transporter des molécules actives et les libérer dans le cerveau.

© 344 Medical.com/Corbis : © J. J. P. S. / Shutterstock.com



1. ÉLABORER DES NANOPARTICULES
qui transporteraient par voie sanguine
des molécules thérapeutiques jusqu'au cerveau
est l'un des enjeux de la nanomédecine.

Véhiculer – à l'aide de nanoparticules – des molécules thérapeutiques ou d'aide au diagnostic vers un organe, un tissu ou une cellule atteints d'une pathologie, tel est l'objectif de la nanomédecine. Développée depuis une dizaine d'années, cette branche de la recherche biomédicale était jusqu'à présent principalement focalisée sur le développement de nouvelles approches de thérapies anti cancéreuse ou anti-infectieuse. Dans ces domaines, la nanomédecine commence à faire ses preuves. Les premiers nanomédicaments sur le marché se révèlent pertinents pour des traitements brefs, mais intenses: l'utilisation de nanoparticules accroît les doses de molécules actives atteignant les cibles, tout en protégeant les tissus sains, ce qui augmente l'efficacité thérapeutique.

Forte de ces résultats, la recherche en nanomédecine investit maintenant un nouveau domaine, les maladies du système nerveux central. Le diagnostic des pathologies cérébrales telles que la maladie d'Alzheimer est peu sélectif, et leur traitement peu efficace. À ce jour, les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer n'ont à leur disposition que des traitements symptomatiques. Or, selon les estimations publiées en 2013 par la coopération européenne ALCOVE sur la maladie d'Alzheimer, près de sept millions de personnes sont concernées en Europe – un constat qui devrait s'aggraver avec le vieillissement de la population. Plus que jamais, la recherche de traitements efficaces et de diagnostics plus précoces apparaît impérative.

L'un des principaux obstacles au diagnostic précoce des maladies cérébrales et à l'élaboration de traitements est anatomique: le cerveau est entouré et protégé par une barrière, nommée barrière hémato-encéphalique. Très étanche, cette barrière empêche le passage vers le cerveau des agents infectieux qui peuvent circuler dans le sang, mais, ce faisant, elle bloque aussi l'accès de molécules d'intérêt diagnostique ou thérapeutique. Des nanoparticules parviendraient-elles à franchir cette barrière? Les premiers résultats sont prometteurs. Nous les exposons ici dans le cas particulier de la maladie d'Alzheimer, après une brève présentation de la maladie, de la barrière hémato-encéphalique et des nanoparticules utilisées.

La maladie d'Alzheimer et les syndromes apparentés sont les principales causes de démence (60 à 70 pour cent des cas). Selon le dernier rapport de l'Organisation mondiale de la santé, on estime à 35,6 millions le nombre de personnes atteintes de démence dans le monde en 2010, avec 7,7 millions de nouveaux cas chaque année. En Europe, on compterait près de 10 millions de cas de démence. En France, selon la Fondation Plan Alzheimer, 860 000 personnes âgées de plus de 65 ans et 32 000 personnes de moins de 65 ans seraient atteintes.

La maladie d'Alzheimer touche une personne sur 20 après 65 ans et une sur 5 au-delà de 85 ans. Elle s'accompagne d'une perte progressive de l'autonomie des patients. Avec le vieillissement de la population, sa prévalence devrait doubler dès 2040 en Europe de l'Ouest et tripler en Europe de l'Est. Or, malgré une recherche intensive menée par de nombreuses équipes, toutes les thérapies actuelles sont seulement palliatives et orientées vers le traitement des symptômes. Cette absence de thérapie curative est surtout due à une connaissance encore trop partielle des mécanismes de la maladie.

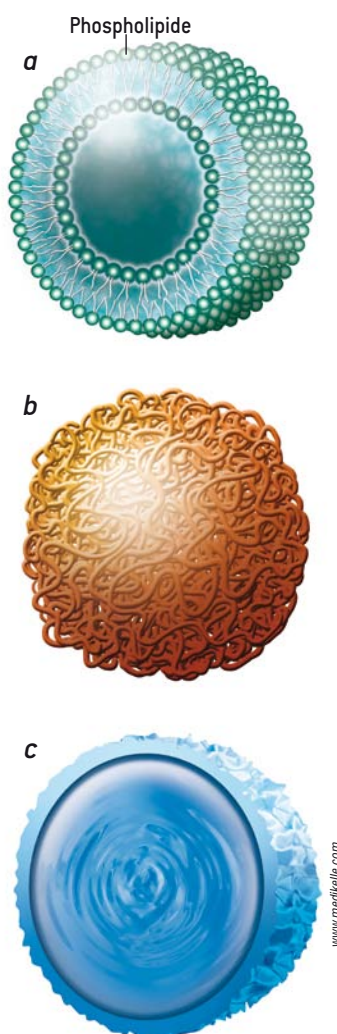
Maladie d'Alzheimer : les traitements actuels sont symptomatiques

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par une détérioration continue des fonctions cérébrales due à une dégénérescence neuronale progressive et irréversible (voir l'encadré page ci-contre). On constate notamment, dans le cerveau des personnes atteintes, une perte importante de neurones dits cholinergiques. Lors d'un influx nerveux, ces neurones transmettent l'information en libérant une molécule (un neurotransmetteur) nommée acétylcholine. Chez les individus atteints de la maladie, les neurones cholinergiques disparaissent peu à peu et l'on observe un déficit en acétylcholine. L'installation lente des troubles cliniques témoigne de la progression des lésions cérébrales. Les troubles de la mémoire des événements récents sont les premiers signes. Suivent les atteintes d'autres fonctions cognitives telles que l'apraxie (incapacité d'effectuer un mouvement ou une série de mouvements), l'agnosie (incapacité de reconnaître ce qui

■ LES AUTEURS

Karine ANDRIEUX est chercheuse à l'Institut Galien Paris-Sud (UMR CNRS 8612, Université Paris-Sud) de la Faculté de pharmacie, à Châtenay-Malabry.

Patrick COUVREUR dirige la recherche sur les nanovecteurs à visée cérébrale au sein de l'Institut Galien Paris-Sud.



2. TROIS PRINCIPAUX TYPES de nanovecteurs sont utilisés. Les liposomes (a) sont des vésicules formées d'une ou de plusieurs bicouches de phospholipides ; les nanosphères (b) sont des particules formées d'une matrice de polymères ; et les nanocapsules (c) sont constituées d'un cœur aqueux ou huileux entouré d'une mince membrane de polymère.

est perçu) ou l'aphasie (trouble de la production et de la compréhension de langage). Ce processus aboutit à une perte totale de l'autonomie des patients. La maladie est probablement le résultat d'un procédé multifactoriel impliquant des composantes génétiques et environnementales.

Les traitements actuels incluent deux classes de molécules thérapeutiques. Les premières reposent sur la correction du déficit en acétylcholine. Ces médicaments, par exemple la rivastigmine, sont des inhibiteurs de la cholinestérase, une enzyme qui dégrade l'acétylcholine. En empêchant la dégradation de l'acétylcholine, ils permettent d'augmenter la concentration en neurotransmetteurs et devraient ainsi pallier le déficit associé à la maladie. Toutefois, soulignons que ces traitements sont essentiellement symptomatiques. Leur utilisation est aussi limitée par leur faible biodisponibilité par voie orale (il faut des administrations fréquentes pour atteindre des doses de principe actif suffisantes dans l'organisme), et par d'importants effets secondaires (incluant nausée, diarrhée, incontinence urinaire et hépatotoxicité).

La seconde classe de médicaments utilise une molécule de synthèse, la mémantine, qui agit sur la régulation de la libération d'un autre neurotransmetteur, le glutamate. Le glutamate est trouvé dans les voies neuronales associées à l'apprentissage et la mémoire. Une altération de sa concentration peut entraîner un dysfonctionnement des neurones et une dégénérescence cérébrale semblable à celle observée chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Approuvée en 2003 par l'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux, la mémantine est un antagoniste modéré d'un récepteur du glutamate, le récepteur NMDA. La mémantine serait capable de bloquer sélectivement les effets associés à la transmission anormale du neurotransmetteur. Toutefois, la mémantine ne permet pas de stopper efficacement l'évolution de la maladie.

Des études suggèrent que l'association des deux classes de médicaments produirait de meilleurs résultats cliniques, avec correction partielle des troubles cognitifs. Aussi celle-ci est-elle de plus en plus pratiquée. Toutefois, aucun traitement n'est capable à l'heure actuelle d'empêcher la mort des neurones (c'est-à-dire d'arrêter la progression de la maladie), ni de remplacer les neurones perdus (c'est-à-dire

de guérir de la maladie sans séquelles). C'est pourquoi de nombreuses équipes travaillent sur ce sujet.

Franchir la barrière hémato-encéphalique

Le traitement des maladies cérébrales est difficile, car nombre de molécules actives ne traversent pas la barrière hémato-encéphalique. Cette barrière est constituée d'une couche de cellules, dites endothéliales, qui tapisse les capillaires irriguant le cerveau (voir l'encadré page 36). Dans l'organisme, tous les vaisseaux sanguins présentent une telle couche, nommée endothélium. Dans le cerveau, cependant, les cellules endothéliales adhèrent particulièrement bien à leurs voisins par de nombreuses liaisons étanches – nommées jonctions serrées – réalisées par des molécules qu'elles portent à leur surface.

Ces jonctions serrées empêchent le passage des molécules entre les cellules endothéliales. Aussi, seules les molécules lipophiles (attirées par les lipides, qui constituent notamment la membrane des cellules) sont capables de franchir la barrière hémato-encéphalique, en traversant les cellules elles-mêmes par diffusion passive. Et encore : leur passage dépend de leur lipophilie, de leur capacité de liaison aux protéines du plasma (certaines facilitent

leur passage dans les cellules, d'autres au contraire les séquestrent) et de leur poids moléculaire (il doit être suffisamment petit).

À l'opposé, les substances hydrophiles ne peuvent traverser les parois lipidiques que si elles bénéficient d'un transporteur spécifique : elles doivent se lier à une molécule présente à la surface des cellules endothéliales. Les substances ainsi reconnues sont internalisées par invagination de la membrane cellulaire, transportées dans la cellule au sein de petites vésicules et sécrétées de l'autre côté de la barrière par un processus nommé transcytose. La quantité de molécules actives transmises par ce biais est faible et risque, soit de ne pas permettre d'atteindre des concentrations locales efficaces, soit d'obliger à administrer des doses délétères pour les tissus sains.

Différentes stratégies thérapeutiques ont été proposées pour faire passer des molécules peu diffusibles à travers la barrière hémato-encéphalique, mais les résultats sont limités. L'administration des principes actifs par voie intracérébrale peut être efficace, mais doit être réservée à des traitements aigus comme la chimiothérapie anticancéreuse, à cause de sa toxicité. Des substances capables de rendre la barrière temporairement perméable ont aussi été injectées, mais elles sont également réservées aux traitements antitumoraux. Ces techniques sont traumatisantes pour le

patient, donc peu utilisables pour un traitement chronique, tel celui des maladies neurodégénératives.

Une autre stratégie consiste à modifier chimiquement les molécules actives, en augmentant leurs propriétés lipophiles ou en les conjuguant à une autre molécule fonctionnelle qui autoriserait leur passage à travers la barrière hémato-encéphalique. Cependant, ces modifications chimiques des molécules actives peuvent diminuer leur efficacité ou changer leur répartition dans l'organisme et faire apparaître des effets secondaires inattendus. Le développement de nanoparticules capables de véhiculer les principes actifs jusqu'au cerveau apparaît donc comme une alternative prometteuse.

La nanomédecine est l'utilisation en médecine de matériaux de quelques dizaines à quelques centaines de nanomètres ou nanostructurés, qui, de par leur structure, ont certains effets médicaux uniques, tels que la capacité à traverser les barrières biologiques ou le ciblage passif des tissus. Les approches de nanomédecine vont de l'utilisation médicale des nanomatériaux (par exemple la libération ciblée de molécules actives dans l'organisme) aux biodétecteurs nanoélectroniques (par exemple pour la détection de marqueurs dans les liquides biologiques), en passant par de nouvelles techniques d'imagerie. La

De la physiopathologie au diagnostic de la maladie d'Alzheimer

Si les grandes lignes du mécanisme produisant les symptômes de la maladie d'Alzheimer sont décrites, de nombreuses inconnues subsistent. Néanmoins, les praticiens savent aujourd'hui poser un diagnostic dès le début de la maladie. Le scénario proposé pour décrire l'évolution de la maladie s'appuie sur les différences observées aux échelles macroscopique et microscopique entre des cerveaux âgés sains et des cerveaux atteints de la pathologie.

À l'échelle macroscopique, tant la masse du cerveau atteint que son volume sont réduits. Le cerveau malade est caractérisé par une perte notable de neurones et de synapses dans le cortex cérébral et certaines régions sous-corticales. Les régions touchées sont atrophiées, notamment les lobes temporaux et pariétaux, des zones du

cortex frontal, le cortex cingulaire et, surtout, l'hippocampe. À l'échelle microscopique, nombre de lésions moléculaires ont été détectées. La principale caractéristique est une accumulation de protéines anormales dans le cerveau âgé, qui entraîne des lésions oxydatives et inflammatoires pouvant conduire à un dysfonctionnement des synapses neuronales.

Selon le modèle actuel, la production progressive et l'accumulation d'un peptide nommé bêta-amyloïde joue un rôle central dans la genèse de la maladie. Ce peptide est un fragment de la protéine APP (*membrane-associated amyloid precursor protein*). Sécrété par les cellules sous une forme soluble, il s'agrège peu à peu en plaques insolubles à l'extérieur des cellules. Dans les neurones, une autre protéine, tau, anormalement phosphorylée, forme,

dans un second temps semble-t-il, des dépôts de filaments entrelacés nommés neurofibrilles. Détectables dans le cerveau des malades décédés, ces plaques et dépôts caractéristiques de la maladie permettent un diagnostic *post mortem* indubitable.

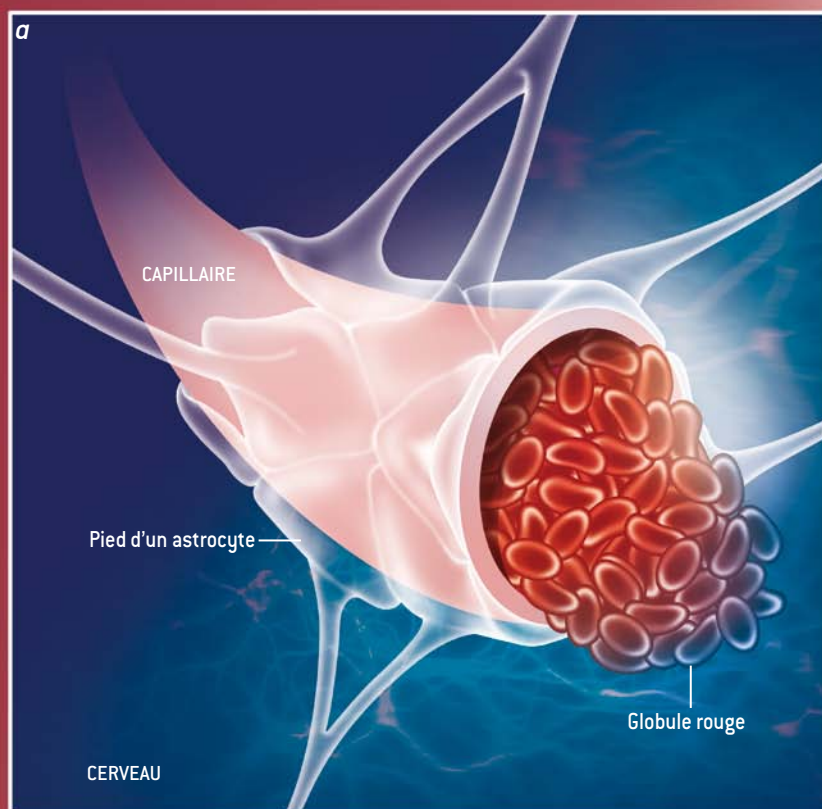
Il semble que la maladie ne soit diagnostiquée que chez 50 pour cent des patients et que seuls 30 pour cent des personnes atteintes bénéficient d'une prise en charge. Cependant, les connaissances sur la maladie ont considérablement progressé ces dernières années. Un diagnostic précoce, lorsque le patient n'est atteint que de troubles légers de la mémoire, est aujourd'hui possible et permet de mettre en place une prise en charge (principalement non médicamenteuse : stimulation cognitive, activité physique, musicothé-

rapie) qui retarde l'apparition des symptômes.

Ce diagnostic est fondé sur une expertise neuropsychologique (la réponse du patient à un questionnaire précis) qui détecte les malades avec une sensibilité (probabilité que le test soit positif si la personne est atteinte) de 80 pour cent et une spécificité (probabilité que le test soit négatif si la personne n'est pas atteinte) de 90 pour cent.

S'ajoutent d'autres outils tels que l'imagerie cérébrale ou les dosages de biomarqueurs après une ponction lombaire, qui permettent de diagnostiquer des stades précoces de la maladie. Ces examens sont encore malheureusement trop peu pratiqués et le diagnostic reste souvent posé à un stade plus évolué de la maladie, quand les troubles sont déjà devenus invalidants.

Comment franchir la barrière hémato-encéphalique, qui isole le sang du cerveau ? En s'inspirant des mécanismes qui permettent l'entrée sélective de certaines cellules ou molécules dans le cerveau. La barrière hémato-encéphalique est une couche de cellules dites endothéliales qui tapisse la paroi interne des capillaires irriguant le cerveau. Cette barrière est renforcée par les pieds d'une famille de cellules cérébrales en forme d'étoiles, les astrocytes (a). Grâce à de nombreuses jonctions serrées entre ses cellules (b), la barrière hémato-encéphalique est si étanche que les molécules nécessaires au fonctionnement du cerveau la franchissent en traversant les cellules, grâce à des récepteurs spécifiques présents à leur surface. Elles sont transmises aux cellules cérébrales *via* les astrocytes. Par ailleurs, les cellules de l'immunité se glissent entre les cellules de la barrière en cas d'infection du cerveau. Les nanomédicaments envisagés pour atteindre le cerveau utilisent ces deux modes de passage de la barrière (b, 1 et 2).



Diagnostic précoce et nanoparticules

Les caractéristiques des nanoparticules en font des candidats intéressants pour un diagnostic plus précoce des maladies. Dans le diagnostic par imagerie, elles peuvent, en ciblant des molécules impliquées dans la maladie, augmenter le contraste des régions atteintes et ainsi améliorer leur détection. Dans le diagnostic par quantification dans le sang de molécules indiquant des désordres cellulaires, elles offrent, par un ciblage adéquat, un moyen simple de détection et d'analyse à haut débit.

recherche galénique s'est appuyée sur de nouveaux concepts physico-chimiques et sur le développement de nouveaux matériaux (synthèse de nouveaux polymères par exemple), afin d'imaginer des systèmes d'administration submicroniques capables de protéger la molécule active de la dégradation et d'en contrôler la libération dans le temps et dans l'espace.

Trois générations de vecteurs nanométriques

On distingue différents types de nanoparticules – aussi nommées vecteurs colloïdaux – remplissant ces conditions. Les liposomes sont des vésicules biocompatibles et biodégradables, composées d'une bicouche (liposomes unilamellaires) ou de plusieurs bicouches (liposomes multilamellaires) de phospholipides délimitant un ou plusieurs compartiments aqueux. Des principes actifs hydrophiles sont encapsulés dans la phase aqueuse, tandis que les molécules lipophiles sont localisées dans la ou les bicouches (voir la figure 2a).

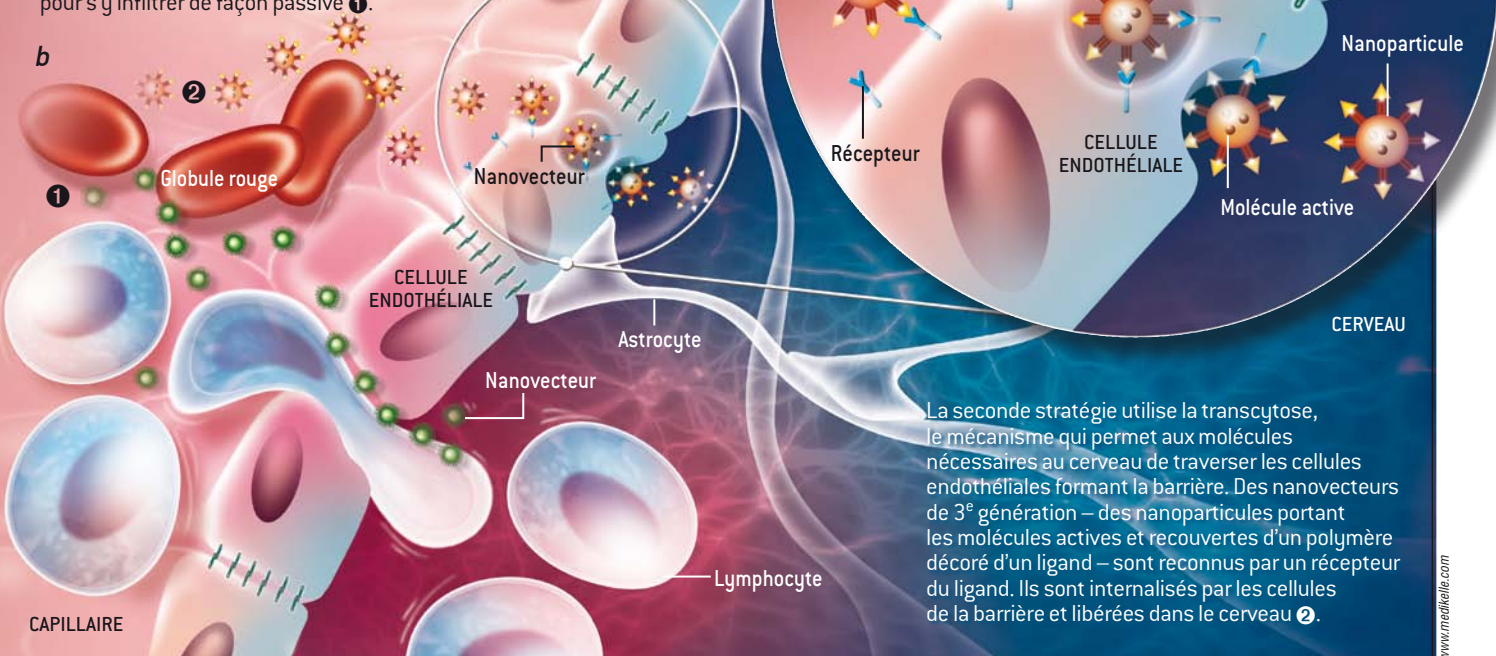
Les nanoparticules sont en général constituées de polymères (de préférence biodégradables) ou de lipides. Elles peuvent être de type matriciel (voir la figure 2b) ou de type réservoir (voir la figure 2c). Dans les nanoparticules matricielles – ou nanosphères –, le principe actif est dispersé ou dissous dans la matrice polymère ou lipidique et est libéré par simple diffusion ou à la suite de la biodégradation dans l'organisme du matériel support. Les nanoparticules de type réservoir – ou nanocapsules – sont constituées d'un noyau central en général liquide, entouré par une mince paroi de polymère ou de lipide dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres.

Trois générations de vecteurs colloïdaux ont été mises au point au fil des dix dernières années, dont deux ouvrent des perspectives intéressantes pour le traitement et le diagnostic des maladies cérébrales. Ces générations diffèrent par leur structure, qui influe directement sur leur devenir dans l'organisme.

Les vecteurs de première génération sont des nanoparticules et liposomes de surface

LA BARRIÈRE HÉMATO-ENCÉPHALIQUE

Deux stratégies sont envisagées pour franchir la barrière hémato-encéphalique. En présence d'une tumeur ou d'un foyer infectieux, la barrière laisse passer des cellules de l'immunité (lymphocytes) du sang vers le cerveau. Des nanovecteurs furtifs (2^e génération) pourraient profiter de cette perméabilisation de la barrière pour s'y infiltrer de façon passive ①.



La seconde stratégie utilise la transcytose, le mécanisme qui permet aux molécules nécessaires au cerveau de traverser les cellules endothéliales formant la barrière. Des nanovecteurs de 3^e génération – des nanoparticules portant les molécules actives et recouvertes d'un polymère décoré d'un ligand – sont reconnus par un récepteur du ligand. Ils sont internalisés par les cellules de la barrière et libérées dans le cerveau ②.

hydrophobe. Lorsqu'ils sont administrés par voie intraveineuse, ils se lient fortement et très vite, par interactions dites hydrophobes, avec certaines protéines du plasma (immunoglobulines de type G, fibronectine, etc.), rassemblées sous le nom d'opsonines. Les opsonines sont reconnues par des récepteurs spécifiques portés par une famille de cellules immunitaires, les macrophages. Ainsi, quelques minutes après leur administration, les vecteurs colloïdaux, décorés par les opsonines qui se sont adsorbées à leur surface, sont capturés par les macrophages, principalement du foie et de la rate, qui les internalisent et les dégradent.

Cette distribution des vecteurs dans le foie et la rate s'explique par la structure de l'endothélium vasculaire, particulièrement discontinu dans ces tissus, ce qui favorise le passage des colloïdes (liposomes et nanoparticules). Elle a été mise à profit pour transporter des molécules d'intérêt thérapeutique vers le foie et la rate, visant à diagnostiquer (particules d'oxyde de fer Endorem®) et traiter (nanoparticules polymériques actuellement testées en phase

clinique par la société Bioalliance) différentes pathologies, notamment certains cancers tels que les hépatocarcinomes et les métastases hépatiques.

Des nanoparticules furtives

En revanche, si l'on veut éviter que les vecteurs n'atteignent le foie, on peut modifier leur surface à l'aide de polymères hydrophiles et flexibles comme les polyéthylène-glycols (PEG), les polysaccharides, les poloxamers ou les poloxamines. Ceux-ci empêchent certaines protéines, en particulier les opsonines, de s'adsorber à la surface de ces nanovecteurs dits de deuxième génération par un effet de répulsion stérique (les protéines n'ont plus assez de place pour accéder – donc se lier – au vecteur).

Après administration intraveineuse, ces vecteurs, dits pégylés, persistent plus longtemps dans le plasma et sont moins capturés par le foie et la rate. Ils sont aussi dits furtifs, car ils sont moins reconnus, ou identifiés avec retard, par les macrophages

du foie, de la rate et de la moelle osseuse. Ce caractère est d'autant plus prononcé que les vecteurs sont de petite taille. En conséquence, parce qu'ils circulent longtemps dans le sang, ils ont une probabilité importante de traverser les endothéliums vasculaires ayant une perméabilité accrue, tels ceux localisés près des tumeurs ou des foyers infectieux, où règne une importante inflammation. Cet effet de perméabilité et de rétention tissulaire permet ainsi le ciblage passif de tissus localisés hors du territoire hépato-splénique, telles les tumeurs.

Tous les endothéliums vasculaires, notamment la barrière hémato-encéphalique, sont concernés. Celle-ci peut être rendue perméable au contact de tumeurs telles que les gliomes, et de nombreuses recherches fondées sur les vecteurs de deuxième génération tentent d'exploiter cette propriété. Il est aussi probable qu'en présence d'une forte inflammation qui accompagnerait les stades avancés d'une maladie neurodégénérative, la barrière hémato-encéphalique serait modifiée, voire plus perméable. Toutefois, cette approche interviendrait trop tard dans

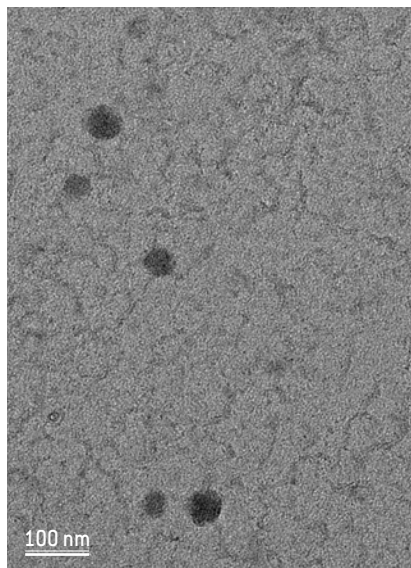
l'évolution de la maladie, avec le risque de ne servir qu'à maintenir les personnes traitées à un stade de démence avancé.

Néanmoins, certains vecteurs de deuxième génération ont montré leur capacité à franchir la barrière hémato-encéphalique intacte grâce à l'adsorption à leur surface d'une protéine impliquée dans le transport de lipides dans le sang, l'apolipoprotéine E. En temps normal, cette protéine et d'autres s'assemblent avec des lipides, formant une lipoprotéine (LDL) qui circule dans le sang et apporte au cerveau les lipides nécessaires à son fonctionnement. Les cellules endothéliales de la barrière hémato-encéphalique présentent de nombreux récepteurs des lipoprotéines qui reconnaissent l'apolipoprotéine E. En imitant les lipoprotéines, les nanoparticules pégylées décorées de l'apolipoprotéine E seraient reconnues par ces récepteurs et franchiraient ainsi la barrière hémato-encéphalique par transcytose, à l'instar des lipoprotéines.

Quand les vecteurs de deuxième génération sont décorés de ligands (anticorps, peptides, sucres, etc.), ils deviennent capables de reconnaître de façon sélective des antigènes ou des récepteurs qui sont surexprimés à la surface des cellules cibles (cellules cancéreuses, cellules infectées ou cellules endothéliales cérébrales). La conception de ces vecteurs dits de troisième génération est donc fondée sur la construction d'objets supramoléculaires composés d'un cœur de type liposome ou nanoparticule, d'une couche de polymères hydrophiles et flexibles (par exemple le PEG) pour limiter la reconnaissance par le foie et la rate, et d'un ligand à l'extrémité de certaines chaînes de PEG.

Si le site visé est cérébral, plusieurs cibles localisées à la surface des cellules endothéliales cérébrales peuvent être mises à profit, tels le récepteur de la transferrine (transporteur d'ions fer) ou celui des lipoprotéines LDL, qui y sont plus abondants que dans d'autres cellules. Par exemple, des ligands tels que la transferrine ou un anticorps dirigé contre son récepteur ont été greffés à la surface de nanoparticules et de liposomes afin de leur permettre de traverser la barrière hémato-encéphalique. Plusieurs études ont montré l'efficacité de cette stratégie dans le traitement d'un modèle animal d'ischémie cérébrale (arrêt de l'apport d'oxygène dû, par exemple, à l'obturation d'un vaisseau sanguin).

Ainsi, les vecteurs de deuxième et troisième génération offrent la possibilité de



3. NANOPARTICULES BIODÉGRADABLES de deuxième génération composées de copolymère d'alkylcyanoacrylate et de polyéthylène glycol, observées en microscopie électronique à transmission.

traverser la barrière hémato-encéphalique et de véhiculer dans le cerveau des molécules actives pour un traitement ou des agents de contraste pour un diagnostic. Ces vecteurs ont l'avantage d'être biocompatibles, peu toxiques, faciles à préparer et capables de contrôler la libération des principes actifs encapsulés, grâce à la biodégradation connue des vecteurs dans les fluides biologiques.

Les premiers travaux expérimentaux sur l'animal sont en cours. Par exemple, en 2008, Barnabas Wilson, du Collège de pharmacie JSS à Ooty, en Inde, et ses collègues ont proposé d'encapsuler de la rivastigmine dans des nanoparticules polymériques de poly(*n*-butyl cyanoacrylate) ou PBCA recouvertes de polysorbate 80 (contenant du PEG), afin d'augmenter le passage de la rivastigmine dans le cerveau et de diminuer ses effets secondaires. Ce système leur permet d'augmenter de 3,8 fois la capture de la rivastigmine dans le cerveau après injection intraveineuse chez le rat, avec une réduction des effets secondaires.

Cibler le peptide bêta-amyloïde

Parmi ces recherches, nombre d'entre elles visent à utiliser, comme cible principale des approches thérapeutiques et diagnostiques, un peptide neuronal dont l'agrégation anormale en plaques semble jouer un rôle majeur dans la maladie d'Alzheimer, le peptide bêta-amyloïde (voir l'encadré page 35). L'objectif est de construire des vecteurs de troisième génération capables de traverser la barrière hémato-encéphalique et de cibler le peptide bêta-amyloïde. Pour ce faire, différentes molécules connues comme ligands du peptide ont été testées.

La curcumine, notamment, est une molécule thérapeutique potentielle, car non seulement elle interagit *in vitro* avec le peptide, mais, ce faisant, elle inhibe son agrégation. Toutefois, cette molécule fragile est vite dégradée en milieu biologique, ce qui limite fortement son action. En la protégeant contre la dégradation et en la conduisant jusqu'au cerveau, son encapsulation dans des vecteurs colloïdaux pallierait cette difficulté.

C'est ce qu'ont proposé en 2010 Rohit Mulik et ses collègues, de l'Université Bharati Vidyapeeth, en Inde, en préparant des nanosphères de PBCA chargées en curcumine et décorées d'apolipoprotéine E3 pour exploiter la transcytose à travers

■ BIBLIOGRAPHIE

D. Brambilla *et al.*, *Pegylated nanoparticles bind to and alter amyloid-beta peptide conformation: towards engineering of functional nanomedicines for Alzheimer's disease*, *ACS Nano*, vol. 6, pp. 5897-5908, 2012.

D. Brambilla *et al.*, *Nanotechnologies for Alzheimer's disease: diagnosis, therapy, and safety issues*, *Nanomedicine*, vol. 7, pp. 521-540, 2011.

H. Karatas *et al.*, *A nanomedicine transports a peptide caspase-3 inhibitor across the blood-brain barrier and provides neuroprotection*, *J. Neurosci.*, vol. 29, pp. 13761-13769, 2009.

E. Garcia-Garcia *et al.*, *Colloidal carriers and blood brain barrier (BBB) translocation: a way to deliver drugs to the brain?*, *Int. J. Pharm.*, vol. 298, pp. 274-292, 2005.

la barrière hémato-encéphalique *via* le récepteur des lipoprotéines LDL. Sur des cultures de neurones, ils ont montré que la toxicité due à l'agrégation du peptide bêta-amyloïde est encore plus inhibée par ces nanovecteurs que par la curcumine libre.

D'autres résultats plus étonnants montrent que le peptide bêta-amyloïde aurait de l'affinité pour les nanoparticules elles-mêmes. En 2008, Celia Cabaleiro-Lago, de l'University College Dublin, en Irlande, et ses collègues, ont proposé l'utilisation de nanoparticules de 40 nanomètres préparées à partir d'un copolymère (PNIPAAm-co-PBAM) pour retarder l'agrégation du peptide bêta-amyloïde. Ils ont observé que ces particules perturbent l'agrégation en retardant, voire en bloquant, l'amorçage (la nucléation) des agrégats. Plus récemment, en 2012, notre équipe a mis en évidence que des nanoparticules recouvertes de PEG ont une affinité pour le peptide bêta-amyloïde et sont capables de le capturer, même dans un environnement aussi riche que du sérum (le sang dont on a ôté les cellules).

Tous ces résultats, même s'ils ont été en général obtenus *in vitro* et nécessitent

des confirmations *in vivo*, devraient aider à mieux comprendre l'agrégation du peptide bêta-amyloïde dans la maladie d'Alzheimer et à identifier et concevoir des nanoparticules avec des propriétés de surface optimales pour obtenir un effet bénéfique sur les patients atteints de la maladie.

Diagnostiquer plus tôt la maladie

Les nanoparticules pourraient aussi faciliter la mise en place d'un diagnostic plus précoce des maladies cérébrales. Elles sont de plus en plus utilisées pour le diagnostic de diverses maladies. Des nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer servent déjà, par exemple, d'agent de contraste pour l'imagerie par résonance magnétique du foie.

Dans le cas de la maladie d'Alzheimer, un diagnostic précoce, avant que les symptômes cliniques ne se manifestent, est critique pour agir avant la formation des lésions irréversibles des neurones qui conduisent à la démence. Et ce d'autant plus que peu de méthodes existent pour examiner le cerveau humain vivant. La

formation des agrégats de peptide bêta-amyloïde étant le premier phénomène visible de la maladie, beaucoup d'efforts ont été dirigés vers la détection et l'identification *in vivo* des plaques amyloïdes par l'imagerie avec des nanoparticules, telles celles d'oxyde de fer ciblant le peptide bêta-amyloïde, mises au point en 2005 par Jolanda de Vries, du Centre des sciences de la vie moléculaires de Nimègue, aux Pays-Bas, et ses collègues. Une autre approche est fondée sur la détection et la quantification des biomarqueurs sanguins de la maladie d'Alzheimer, le peptide bêta-amyloïde et la protéine tau. Pour l'heure, cependant, seules des nanoparticules métalliques (en or, par exemple) ont été décrites comme des outils potentiels pour cette approche.

Ainsi, de par leur biocompatibilité, leur biodégradation et leur capacité de ciblage, les nanoparticules représentent une piste prometteuse pour améliorer le traitement et le diagnostic de certaines maladies cérébrales, telle la maladie d'Alzheimer. Toutefois, nous sommes encore loin de disposer d'une formulation à base de vecteurs colloïdaux pour traiter cette maladie. ■



{ Partagez
les savoirs }

**LES
RENDEZ-
VOUS DU
MUSÉUM**

Entrée
gratuite

COURS PUBLICS

Cycle : "Évolution animale et humaines : de l'Histoire à l'actualité des sciences"

Jeudi 10 octobre – 18h
Les Humains : une longue histoire, puis un retour à la nuit des temps ?
A. Langaney, Professeur au Muséum

Grand Amphithéâtre du Muséum — 57 rue Cuvier — Paris 5^e

BAR DES SCIENCES

Dimanche 13 octobre – 16h30 : Bicentenaire de la naissance de Claude Bernard
Intervenants : R. Fischmeister, physiologiste, Inserm, M. Goyffon, toxicologue, attaché honoraire, Muséum, W. Rostène, spécialiste de neurosciences, Inserm, P. Wise, médecin, auteur de *Un défi sans fin – la vie romancée de Claude Bernard*

Café restaurant la Baleine — 47 rue Cuvier — Paris 5^e

CONFÉRENCE EXCEPTIONNELLE

Bicentenaire de la naissance de Claude Bernard
Lundi 21 octobre – 18h : Claude Bernard et la pharmacologie d'aujourd'hui
J.-P. Changeux, professeur honoraire au Collège de France et à l'Institut Pasteur, membre de l'Académie des Sciences

Grand Amphithéâtre du Muséum — 57 rue Cuvier — Paris 5^e

MÉTIER DU MUSÉUM

Dimanche 27 octobre – 15h : Écologie des champignons, M.-A. Selosse

Auditorium de la Grande Galerie de l'Évolution — 36 rue Geoffroy St-Hilaire — Paris 5^e

**Au Jardin
des Plantes**

Détails sur jardindesplantes.net,
dans "l'agenda du jardin"



La naissance de L'ÉCRITURE EN ÉGYPTE

Gwenola Graff

Les gravures rupestres, les vases peints ou les sceaux de l'Égypte du IV^e millénaire relèvent de cinq systèmes graphiques. Les plus anciens de ces systèmes préfigurent l'écriture hiéroglyphique.

La volonté d'enregistrer des messages se manifeste dès la fin du Paléolithique, avec les premières peintures pariétales apparues il y a 35 000 ans. Les plus anciennes connues sont celles de la grotte Chauvet, dans le Sud-Est de la France. Dans des grottes occupées plus tardivement, telle celle de Lascaux (environ 18 000 ans avant notre ère), on a même retrouvé des signes non figuratifs (traits, triangles ouverts, points, etc.) à côté des grandes peintures d'animaux. Les multiples études effectuées n'ont pu percer leur signification. D'autres ensembles de signes ont été découverts ailleurs dans le monde, notamment en Égypte, et sur des supports variés, tels que des parois rocheuses, des vases ou des os.

Nous désignerons ces ensembles par l'expression « systèmes graphiques ». Un certain nombre de règles s'y appliquent, aussi bien pour la construction de chaque élément que pour leur combinaison.

S'agit-il d'écritures ? Le débat est vif, en particulier pour les signes non figuratifs. On considère classiquement que l'écriture a été inventée de façon indépendante en Égypte, vers -3250, et en Mésopotamie,

L'ESSENTIEL

- Les plus anciens écrits égyptiens connus datent de 3250 avant notre ère.
- À cette époque, plusieurs systèmes graphiques existent déjà. Il s'agit d'ensembles structurés de signes retrouvés sur divers supports, tels que des roches ou des vases.
- Les Égyptiens se sont ainsi habitués à attribuer un sens à des signes graphiques, indépendamment de leur support, et à les associer selon des règles précises.
- L'innovation ayant donné naissance à l'écriture a été l'attribution d'un caractère phonétique aux signes.

© Gwenola Graff

quelque 200 ans plus tard, ainsi qu'en Chine et en Amérique (dans le monde maya), au I^{er} millénaire avant notre ère. Une écriture, nommée proto-élamite, aurait aussi été élaborée en Iran à peu près en même temps qu'en Mésopotamie, mais elle n'est pas déchiffrée aujourd'hui. Existerait-il d'autres foyers d'invention de l'écriture, plus anciens ?

L'une des raisons de la polémique est l'absence de consensus sur la définition de l'écriture. Je proposerai et utiliserai ici une définition fondée sur les travaux récents de spécialistes de l'écriture, et présenterai ensuite les systèmes graphiques égyptiens, que j'étudie depuis les années 2000 et que l'on commence à mieux comprendre. Je montrerai ainsi que, si ces systèmes graphiques ne peuvent être considérés comme des écritures, ils en constituent une sorte d'expérience préparatoire.

Dans un article publié en 1993, l'égyptologue français Pascal Vernus a défini l'écriture comme un système de signes capable d'encoder des énoncés linguistiques pour former un message ; ce dernier doit pouvoir être déchiffré hors de son contexte de production (c'est-à-dire à un