

leur plasticité. Dans certaines conditions, il empêche leur régénération, mais dans d'autres, il pourrait la favoriser... Une autre découverte a renforcé cette idée de plasticité neuronale. Longtemps, on a cru qu'aucun nouveau neurone n'était produit dans le système nerveux central des mammifères adultes: on pensait que la neurogenèse adulte était impossible. Mais en 1962, le neurobiologiste américain Joseph Altman a montré qu'une telle neurogenèse adulte a lieu chez le rat, dans une zone située à l'avant du cerveau. Les cellules immatures de cette région migrent vers le bulbe olfactif, où elles se transforment en neurones.

Une deuxième région, l'hippocampe, essentielle à la mémorisation, se révèle également riche en précurseurs neuronaux: en 1982, nous avons montré chez le lapin que ces cellules mûrissent localement et s'intègrent dans des circuits synaptiques. Dans les années 1990 s'est alors développé le concept de niches prolifératives, c'est-à-dire

d'amas très localisés de précurseurs qui deviennent des neurones; de tels précurseurs ont été découverts chez l'homme dans les mêmes régions. Enfin, en 2008, nous avons mis en évidence une telle niche dans le canal central de la moelle épinière, au niveau lombaire, chez l'homme. Nous avons cultivé des cellules prélevées *post mortem* et certaines se sont différenciées en neurones. Ces cellules ont donc bien le potentiel de se transformer en neurones. Reste à savoir si elles le font de façon spontanée *in situ*...

Régénération axonale et neurogenèse adulte sont ainsi devenues les fondements de stratégies thérapeutiques innovantes dans les pathologies de la moelle épinière. Développées depuis une trentaine d'années, ces stratégies visent à faire traverser la lésion par des axones adjacents à celle-ci, ou à recréer des neurones sous-jacents à la lésion.

Le principal obstacle à la régénération axonale dans la moelle épinière lésée a été révélé par l'expérience de Samuel David et

Alberto Aguayo en 1981: la cicatrice gliale d'astrocytes qui se forme autour de la lésion est si dense qu'elle est imperméable même aux plus petites molécules. Le gonflement et la multiplication des astrocytes conduisent à la mise en place rapide d'une «barrière» au contact de la lésion (voir les figures pages 44 et 45). Elle est constituée des prolongements entremêlés des astrocytes (une barrière du même type entoure et protège le cerveau, la barrière hémato-encéphalique). Ces prolongements sont liés entre eux par des jonctions qui mettent en communication les cellules reliées tout en rendant l'interstice entre elles – et donc la barrière – imperméable à la repousse des axones.

L'examen des astrocytes au microscope électronique montre que les prolongements sont remplis de fins filaments, les gliofilaments, dont la composante principale est une protéine, la protéine gliofibrillaire acide, ou GFAP. Une autre protéine des gliofilaments, la vimentine, présente au

Des méthodes fondées sur l'expérimentation animale

Aucune solution alternative n'existant encore, les modèles animaux sont indispensables non seulement pour comprendre les mécanismes impliqués dans les traumatismes médullaires, mais aussi pour développer des stratégies thérapeutiques. Leurs caractéristiques doivent être les plus proches possibles de celles de l'homme.

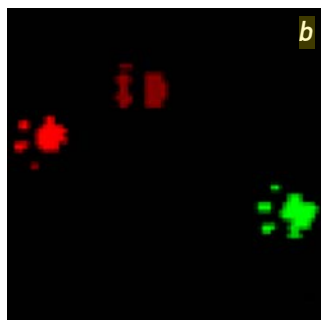
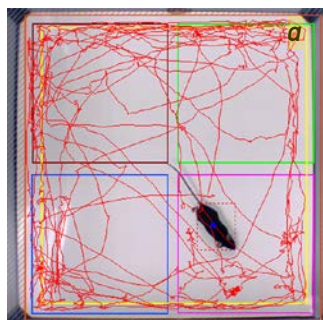
De nombreux types de lésions médullaires sont étudiés chez l'animal, tels que des sections, des contusions réalisées à l'aide de la chute contrôlée d'un poids sur la moelle épinière ou des compressions induites par un clip ou un ballon. La majorité des études sont conduites chez des souris

ou des rats, mais il faut ensuite valider les résultats obtenus sur des animaux plus proches de l'homme, tels le porc (taille corporelle similaire) et les primates non humains (bipédie, organisation anatomique). En particulier, le faisceau cortico-spinal, qui contrôle la motricité, est assez similaire chez les

primates non humains et les hommes; cette organisation anatomique reflète la capacité de préhension des primates. Ces modèles animaux sont donc plus prédictifs quant à l'issue des stratégies thérapeutiques.

Après avoir lésé la moelle épinière des animaux, on analyse leurs fonctions motrice et sensorielle grâce à des tests comportementaux. Cela permet non seulement de déterminer les symptômes associés à un type de lésion (et inversement), mais surtout d'évaluer l'efficacité des stratégies thérapeutiques. Par

exemple, l'enregistrement et l'analyse des mouvements spontanés d'un animal lésé (a) et d'un animal lésé ayant reçu une molécule peuvent être comparés pour évaluer l'effet du traitement. En filmant l'animal par en dessous, on visualise et analyse chaque étape de la marche (b). Et on utilise des tapis roulants pour évaluer les capacités physiques des animaux en continu sur un temps donné (c). En général, ces résultats sont comparés aux données histologiques *post mortem* afin d'établir une corrélation entre les symptômes et le degré de lésion médullaire.



cours du développement de l'astrocyte, est réexprimée après une lésion. Ces protéines forment le squelette de l'astrocyte (son cytosquelette) et sont indispensables à l'extension des prolongements qui constituent la cicatrice.

Neutraliser la cicatrice pour faciliter la repousse

Une stratégie thérapeutique consiste alors à neutraliser la cicatrice gliale pour faciliter la repousse axonale. En 1995, chez le rat, l'équipe de l'un d'entre nous (A. Privat) a atténué la réaction des astrocytes à une lésion par un traitement chimique particulier, ce qui a facilité la repousse d'un élément essentiel de la commande motrice, la projection sérotoninergique. Issu d'un noyau du tronc cérébral (le noyau raphé magnus), ce groupe d'axones active un ensemble de neurones de la moelle épinière situé au niveau des lombaires et

responsable de la locomotion. L'activation se fait par libération de sérotonine, une molécule dite neurotransmettrice qui active des récepteurs spécifiques à la surface des neurones cibles. Les rats ont retrouvé une motricité réflexe.

Et en 2003, nous avons montré chez la souris qu'en empêchant la formation des prolongements des astrocytes, on favorise le rétablissement de la locomotion : chez des souris dont avaient été inactivées les gènes codant les deux protéines indispensables à leur extension – GFAP et la vimentine –, nous avons lésé une partie de la moelle épinière, ce qui a entraîné la paralysie d'une patte arrière. Les animaux mutants ont retrouvé une locomotion quasi normale en cinq semaines, contrairement aux souris témoins, non mutées. Nous avons répété l'expérience en ne gardant que la mutation du gène de la GFAP, qui s'est révélée suffisante.

Les souris mutantes n'avaient pas de cicatrice gliale et rétablissaient des connexions entre le cerveau et les motoneurones (les neurones de la moelle qui commandent la contraction des muscles) situés au-delà de la lésion, grâce à la repousse des axones sérotoninergiques au contact des neurones adjacents. En nous inspirant de ces résultats, nous avons développé une thérapie génique, pour l'instant chez la souris. Nous avons construit des fragments d'ARN dits interférents qui inhibent l'expression du gène de la protéine GFAP et nous les avons insérés dans des virus inactivés, qui ont servi de transporteurs. Injectés à l'animal juste après la lésion et au voisinage immédiat de celle-ci, ces ARN ainsi encapsulés ont fourni des résultats similaires à ceux obtenus chez les souris transgéniques : la fonction locomotrice a été partiellement rétablie et les axones sérotoninergiques ont repoussé, dressant un pont sur la lésion. Avant d'envisager cette thérapie génique chez l'homme, il s'agit à présent de la tester chez des primates non humains.

La cicatrice gliale n'est pas le seul obstacle à la repousse neuronale dû aux astrocytes. Ces derniers sécrètent et relâchent entre les cellules des polyglycanes – des molécules qui freinent la régénération axonale. Or une enzyme, la chondroïtinase, décompose ces glycanes. En 2014, Katalin Bartus, du King's College de Londres, et ses collègues ont montré que l'injection de cette enzyme à des rats blessés favorise la repousse des

Recherche animale et éthique

L'expérimentation animale est réglementée depuis 1986. De plus, depuis 2013 :

- Aucun projet scientifique ne peut être mis en œuvre sans autorisation préalable du ministère de la Recherche.
- L'autorisation du projet est soumise à l'évaluation d'un comité d'éthique qui juge la balance entre contraintes imposées aux animaux et bénéfice pour la santé.
- Les procédures sont réalisées par des personnes ayant suivi une formation spéciale à l'éthique et aux bonnes pratiques appliquées aux espèces utilisées.
- Elles sont réalisées dans un établissement agréé disposant d'une cellule de bien-être animal qui surveille les conditions de réalisation des procédures.
- La conformité des projets et établissements et les compétences sont vérifiées par les inspecteurs vétérinaires des Directions départementales de la protection des populations, qui inspectent les établissements de façon inopinée.

On analyse aussi l'ensemble des modifications moléculaires déclenchées par la lésion, près d'elle ou à distance. Par exemple, les changements de forme des astrocytes et des cellules microgliales s'accompagnent de la production d'un grand nombre de molécules, bénéfiques ou néfastes pour la repousse axonale selon le délai écoulé depuis la lésion, la localisation de la cellule par rapport à celle-ci et le type de lésion. *In fine*, la repousse des axones dépend de l'équilibre entre les molécules qui l'inhibent et les molécules qui la favorisent.

Jusqu'à il y a environ une dizaine d'années, on manquait d'outils précis pour suivre l'évolution des traumatismes médullaires chez l'animal. L'imagerie par résonance magnétique (IRM), seul outil permettant un tel suivi chez l'homme, n'était pas adaptée aux petits animaux. Des appareils appropriés ont été développés il y a peu ; ils devraient permettre d'établir des fenêtres de correspondance, c'est-à-dire des temps post-lésionnels où les images obtenues chez l'animal et chez l'homme se ressemblent. Ce qui devrait aider à définir des fenêtres thérapeutiques chez l'homme.