

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

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.

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.

axones. Toutefois, cette enzyme se dégrade vite et doit être injectée localement de façon répétée, ce qui peut favoriser la survenue d'infections. En conséquence, on ne peut pas l'utiliser chez l'homme pour l'instant.

Les autres pistes pour favoriser la régénération neuronale après une lésion sont pharmacologiques et visent chaque étape clef de cette reconstruction. Certaines, dites neuroprotectrices, concernent la phase précoce des lésions : il s'agit de prévenir l'extension des lésions à partir d'un foyer initial, car cette propagation se manifeste par un important œdème et la libération de substances toxiques qui empêchent la régénération neuronale. D'autres études visent à stimuler la repousse neuronale. D'autres, enfin, cherchent à rétablir une locomotion en agissant directement sur les axones sérotoninergiques.

Empêcher la lésion de s'étendre

Plusieurs molécules ont produit des résultats prometteurs chez l'animal et sont à présent testées lors d'essais cliniques. Toutefois, les essais chez l'homme sont encore peu concluants. Le premier essai clinique de thérapie neuroprotectrice portait sur un corticoïde, la méthylprednisolone. Intitulé NASCIS (*National Acute Spinal Cord Injury Study*), il a été effectué en trois étapes aux États-Unis, entre 1984 et 1998. Toutefois, la molécule n'a pas eu d'effet significatif et les patients traités ont souffert d'infections respiratoires. Par ailleurs, les conditions techniques de l'interprétation des résultats furent l'objet de nombreuses critiques.

À la fin des années 1990, Vincent Poin-tillart, de l'hôpital Pellegrin, à Bordeaux, et ses collègues ont aussi testé cette molécule chez l'homme, sans plus de succès. L'équipe a aussi testé un autre traitement – la nimodipine – qui s'est révélé tout aussi inefficace. La nimodipine bloque les canaux perméables au calcium. Les chercheurs espéraient ainsi empêcher l'entrée massive de calcium, toxique pour les cellules, dans les neurones au voisinage de la lésion.

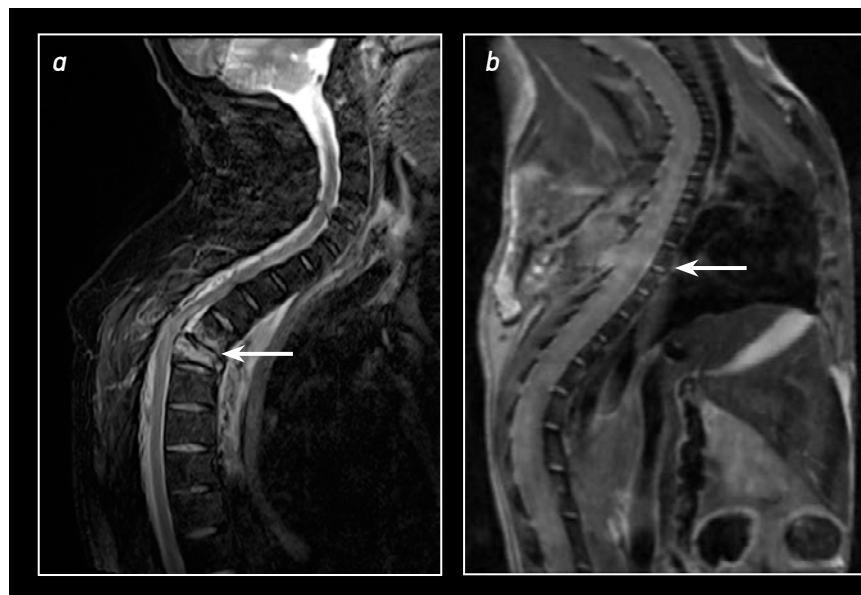
Toute lésion du système nerveux central entraîne une importante libération d'un neurotransmetteur exciteur, le glutamate. Celui-ci se fixe alors sur ses récepteurs à la surface des neurones, ce qui entraîne une entrée massive de calcium qui fait exploser la cellule. Libéré *de facto*, le glutamate se fixe sur les récepteurs d'autres neurones, et

la lésion s'étend ainsi de proche en proche. Au début des années 2000, Marc Tadié, du CHU de Bicêtre, et ses collègues ont donc essayé d'agir en amont de l'entrée massive de calcium. Sur plus de 300 accidentés, ils ont testé une molécule, la gacyclidine, qui bloque le fonctionnement des récepteurs du glutamate responsables de la neurotoxicité, les récepteurs NMDA. Ils espéraient ainsi stopper la progression des lésions secondaires. Toutefois, après une amélioration au cours des premiers mois plus rapide que dans le groupe témoin, le bilan à un an ne montra pas d'amélioration significative, sauf pour les traumatismes cervicaux.

Enfin, l'hormone TRH, dotée de propriétés antioxydantes, a été testée sur un petit nombre de patients au début des années 1990, sans effet significatif. Il s'agissait ici de contrer la libération toxique de

fait l'objet d'un essai préliminaire sur une quarantaine de patients et, comme avec la gacyclidine, une légère amélioration a été obtenue dans le sous-groupe des lésions cervicales. Un essai de phase III sur un plus grand nombre de patients est envisagé.

Les recherches sur les axones sérotoninergiques sont prometteuses. En 1986, l'un de nous (A. Privat) a montré que la greffe de neurones sérotoninergiques immatures en aval d'une section complète de la moelle épinière peut rétablir une locomotion réflexe chez le rat. Depuis, la récupération d'une locomotion volontaire a été corrélée à la repousse des axones sérotoninergiques dans de très nombreux modèles de lésions traités par des techniques variées. Ces résultats suggèrent que la sérotonine, le neurotransmetteur libéré par ces axones vers les motoneurones du réseau locomoteur spinal, le centre qui



radicaux libres superoxydes qui se produit au cours d'une lésion médullaire. Instables, ces molécules dérivées de l'oxygène se stabilisent en captant ou cédant un électron aux molécules de leur entourage, propageant ainsi l'instabilité et causant divers dégâts dans les cellules et les tissus.

Les études visant à stimuler la repousse axonale sont elles aussi peu concluantes chez l'homme. Le ganglioside GM1, un lipide complexe qui aurait des effets neuroprotecteurs, a fait l'objet d'un vaste essai aux États-Unis, sans résultat notable. Enfin, la cethrine, un antagoniste de la protéine rho, inhibiteur de la repousse axonale, a

contrôle de façon autonome la locomotion, pourrait être une cible pour des stratégies thérapeutiques pharmacologiques. Il s'agirait, par exemple, d'utiliser des composés agonistes des récepteurs de la sérotonine, c'est-à-dire qui activeraient ces récepteurs à la place de la sérotonine qui ne peut plus rejoindre les motoneurones en cas de lésion. En 2010, une étude canadienne a montré que lors d'une lésion, après quelque temps, certains de ces récepteurs se remettent à s'activer même en l'absence de sérotonine (incontrôlées, ces activations causent parfois des spasmes musculaires involontaires). Des agonistes pharmacologiques ciblés sur