

**PRIX DE THÈSE D'UNIVERSITÉ DE L'AVF 2023 :
IMPACT DU SEPSIS SUR LES CIRCUITS NEURONAUX ET LE
COMPORTEMENT À LONG TERME**

*UNIVERSITY THESIS PRIZE OF THE AVF 2023:
IMPACT OF SEPSIS ON BRAIN CIRCUITS AND LONG-TERM BE-
HAVIOUR*

Lena BOURHY¹ 

Manuscrit reçu le 5 avril 2024, accepté le 13 avril 2024

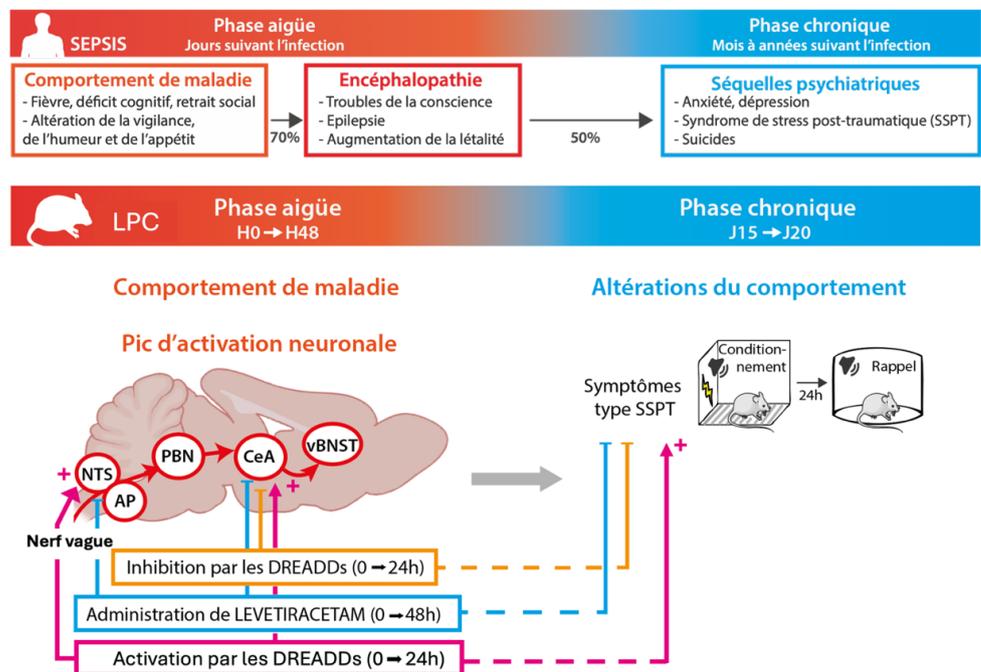
RÉSUMÉ

Mots-clés : sepsis, séquelles, syndrome de stress post-traumatique, circuits neuronaux, nerf vague, amygdale, infection, cerveau, modèle murin.

ABSTRACT

Keywords: sepsis, sequelae, post-traumatic stress disorder, neural circuits, vagus nerve, amygdala, infection, brain, mouse model

RÉSUMÉ GRAPHIQUE



1- Laboratoire Perception et Action, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, Paris, France. Adresse actuelle : Development and Homeostasis of the Nervous System Laboratory, The Francis Crick Institute, 1 Midland Road, London, United Kingdom. Mail : lena.bourhy@crick.ac.uk



CONTEXTE

Le sepsis se définit comme une dysfonction d'organe(s) mettant en jeu le pronostic vital, causée par une réponse immunitaire dérégulée de l'hôte face à une infection. Ce syndrome est d'une importance médicale majeure chez l'Homme puisqu'il présente un taux de létalité proche de 30% et affecte 30 millions de personnes par an dans le monde, avec une prévalence aux États-Unis surpassant le nombre cumulé de cas estimés pour les cancers des poumons, du sein et de la prostate. En 2017, face à la gravité de la situation, l'Organisation mondiale de la santé a émis une résolution promouvant le sepsis au rang de priorité de santé publique mondiale. Le sepsis s'accompagne d'une réponse comportementale physiologique à l'infection appelée « comportement de maladie ». Cependant, dans 70% des cas, les patients développent une dysfonction cérébrale, appelée encéphalopathie, qui entraîne des troubles de la conscience, parfois des crises d'épilepsie, et augmente significativement la létalité, sans être liée à une infection cérébrale directe. Parmi les patients survivant au sepsis, la moitié développe dans les mois à années qui suivent de graves troubles psychiatriques tels que le syndrome de stress post-traumatique (SSPT). Ces séquelles affectent grandement la vie des survivants puisqu'on note une augmentation du risque de suicide de 30%, tandis que 40% des patients sont dans l'incapacité de retrouver leur emploi un an après leur hospitalisation. Ces dernières années, des progrès réalisés sur le diagnostic et la prise en charge des malades ont permis une diminution de la mortalité liée au sepsis ; toutefois l'incidence de ce syndrome ne cesse d'augmenter. Ainsi à ce jour, le développement de traitements préventifs et/ou curatifs des séquelles à long terme constitue une problématique d'importance majeure. L'examen de cerveaux de patients décédés de sepsis atteste d'une forte activation neuronale dans une zone spécifique du cerveau, l'amygdale, région centrale dans les circuits neuronaux liés à la peur et l'anxiété. Toutefois, le lien entre l'activation cérébrale lors de la phase aiguë du sepsis et l'apparition des séquelles psychiatriques à long terme demeure méconnu.

MÉTHODES

Au cours de mon doctorat, j'ai pu reproduire expérimentalement les réponses cérébrales induites par le sepsis en utilisant le modèle murin de sepsis par ligature et ponction caecale (LPC), un modèle de référence qui reproduit les principales caractéristiques du sepsis humain. La mémoire de la peur chez les souris à 15 jours post-LPC (J15) a été examinée grâce au test de conditionnement aversif auditif, au cours duquel un léger choc électrique est associé à un son dans un contexte spécifique et où la peur résiduelle est évaluée lors de la présentation du même son dans un nouveau contexte 24 heures plus tard. Ce test a montré que les souris ayant survécu à la LPC présentaient une augmentation du temps d'immobilisation, caractéristique du comportement de peur. Ces comportements persistants de peur à J15 rappellent fortement les symptômes développés à long terme chez les patients humains septiques et soulignent la pertinence de notre modèle.

RÉSULTATS

Afin d'identifier l'origine des altérations comportementales, nous avons quantifié l'expression du marqueur d'activation neuronale « cFos » à 6 heures post-LPC dans l'ensemble du cerveau. Nous avons mis en évidence un pic d'activation neuronale dans certaines zones impliquées dans les circuits de la peur et de l'anxiété, en particulier au sein des neurones du noyau central de l'amygdale (CeA) projetant vers la partie ventrale du noyau du lit de la strie terminale (vBNST). Nous avons voulu confirmer ces résultats en ciblant génétiquement l'expression de la protéine rapporteuse d'activité GCaMP6f dans les neurones de la CeA projetant vers le vBNST afin d'enregistrer spécifiquement leur activité *in vivo* lors de la LPC. Comparés aux contrôles, les individus ayant subi une LPC ont montré dans les heures suivant la chirurgie une augmentation rapide et durable de la fréquence des événements calciques spontanés dans les neurones de la CeA projetant vers le vBNST, confirmant le pic d'activation neurale de cette sous-population lors de la phase aiguë du sepsis.

Afin de démontrer si l'activation précoce de cette sous-population de la CeA était liée à l'établissement des comportements de type SSPT à long terme, nous avons utilisé une approche pharmacogénétique (*Designer Receptors exclusively activated by Designer Drugs* ou technique des DREADD) basée sur l'expression par un vecteur viral de la protéine inhibitrice hM4Di inductible par la clozapine dans les neurones de la CeA projetant vers le vBNST. L'inhi-



bition spécifique de ces neurones induite par l'injection de clozapine uniquement pendant les 24 premières heures suivant la LPC a considérablement atténué le développement des séquelles de peur à J15. Enfin, la réponse cérébrale aiguë à la LPC étant caractérisée par des modifications de l'électroencéphalogramme et l'hyperactivation transitoire de circuits neuronaux spécifiques, nous avons administré le médicament neuromodulateur et antiépileptique Levitracem (LEV) pendant les 48 heures suivant la LPC. Ce traitement transitoire a suffi à prévenir à la fois le pic d'activation de la CeA lors de la phase aiguë du sepsis mais aussi le développement des séquelles comportementales à long terme.

Comme décrit dans l'introduction, les dysfonctionnements cérébraux liés au sepsis ne sont pas causés par une infection cérébrale directe mais résultent de signaux inflammatoires périphériques relayés au cerveau. Le nerf vague, dont les neurones sensitifs innervent la quasi-totalité des organes et projettent vers le noyau du tractus solitaire (NTS) dans le tronc cérébral, joue un rôle crucial dans la détection et la transmission de ces signaux. Afin d'étudier son implication dans la dysfonction cérébrale induite par le sepsis, nous avons développé plusieurs techniques pour manipuler avec une spécificité croissante l'activité du nerf vague et des circuits en aval dans le modèle de LPC. La vagotomie sous-diaphragmatique ainsi que la manipulation pharmacogénétique (inhibitrice et excitatrice) du NTS ou des neurones sensoriels du nerf vague ont été mises en œuvre, révélant que l'activation transitoire des neurones du NTS pendant la LPC aggravait significativement le comportement de maladie et le SSPT développés à long terme.

CONCLUSION

Ces études montrent pour la première fois qu'une activation pathologique transitoire d'une sous-population neuronale de l'amygdale lors du sepsis est responsable du développement à long terme d'un comportement de type SSPT chez la souris. L'administration transitoire et précoce du médicament LEV pendant la phase aiguë du sepsis prévient les modifications ultérieures du comportement. Nos travaux mettent également en évidence l'interaction complexe entre le nerf vague, les circuits cérébraux et la réponse comportementale au sepsis, et soulignent l'importance cruciale de comprendre ces interactions pour mettre au point des interventions thérapeutiques ciblées. Ces résultats précliniques sont très novateurs et présentent des potentialités d'application médicale directe puisqu'ils ont d'ores et déjà justifié, avec le soutien du Ministère de la santé, le lancement d'un essai clinique sur le LEV chez les patients présentant un choc septique.

RÉFÉRENCES

- Bourhy L, Mazeraud A, Bozza FA, Turc G, Lledo P-M, Sharshar T. 2022. Neuro-inflammatory response and brain-peripheral crosstalk in sepsis and stroke. *Frontiers in Immunology* 13: 834649. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.834649>
- Bourhy L, Mazeraud A, Costa LHA, Levy J, Rei D, Hecquet E *et al.* 2022. Silencing of amygdala circuits

during sepsis prevents the development of anxiety-related behaviours. *Brain* 145(4): 1391-1409. <https://doi.org/10.1093/brain/awab475>

- Bourhy L, Moigneu C, Dupin A, Hecquet E, Levy J, Sharshar T *et al.* 2024. Dissecting the contribution of vagal subcircuits in sepsis-induced brain dysfunctions. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.02.14.580156>.

