



HAL
open science

**Etude développementale de l'unité gliovasculaire,
implication dans la leucoencéphalopathie
mégalencéphalique à kystes sous corticaux, une forme
rare de leucoencéphalopathie**

Alice Gilbert

► **To cite this version:**

Alice Gilbert. Etude développementale de l'unité gliovasculaire, implication dans la leucoencéphalopathie mégalencéphalique à kystes sous corticaux, une forme rare de leucoencéphalopathie. Neurosciences [q-bio.NC]. Sorbonne Université, 2021. Français. NNT : 2021SORUS253 . tel-03561546

HAL Id: tel-03561546

<https://theses.hal.science/tel-03561546v1>

Submitted on 8 Feb 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Sorbonne Université

Ecole doctorale - 158-Cerveau Cognition Comportement

Centre interdisciplinaire de recherche en biologie (CIRB), Collège de France

Equipe de recherche : Cohen-Salmon - Physiologie et physiopathologie de l'unité gliovasculaire

Etude Développementale de l'unité gliovasculaire, implication dans la leucoencéphalopathie mégalencéphalique à kystes sous corticaux, une forme rare de leucoencéphalopathie.

Par Alice Gilbert

Thèse de doctorat de Neurosciences et Sciences Cognitives

Dirigée par Martine Cohen-Salmon

Présentée et soutenue publiquement le 7 décembre 2021

Devant un jury composé de :

Anne Joutel, DR, Institut de Psychiatrie et Neurosciences de Paris

Rapporteur

Odile Boespflug-Tanguy, PU-PH, Hôpital Robert-Debré

Rapporteur

Nicolas Renier, CR, Institut cerveau moelle épinière

Examineur

Vincent Prévot, DR, Université de Lille 2

Examineur

Xavier Declèves, PU-PH, Faculté de Pharmacie

Président du jury

Martine Cohen-Salmon, DR, Collège de France

Directrice de thèse

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je souhaiterais remercier ma directrice de thèse, Martine Cohen-Salmon. Martine, merci pour toutes ces années de stage puis de thèse. Merci de m'avoir aidé à acquérir maturité et confiance en moi. Depuis mes deux stages avec toi, tu as pu par ton mérite devenir cheffe d'équipe. Tu as réussi à adapter ton management aux différents profils des étudiants, post-doc et titulaires qui composent ton équipe. J'espère que beaucoup d'autres étudiants passeront les portes de ton labo pour s'épanouir à leur tour et qu'ils découvriront les mystères fascinant de l'unité gliovasculaire. Malgré des débuts parfois chaotiques (je repense à « l'affaire de la DNase » ou à mes débuts incertains en culture cellulaires, qui nous font sourire aujourd'hui), tu as toujours été juste et tu m'as fait confiance. Ces années passées dans ton équipe ont été pour moi à la fois un challenge, une richesse et un épanouissement. J'en garderai toujours un souvenir ému et j'espère pouvoir souvent venir vous revoir.

Je remercie également les membres de mon jury de thèse qui ont accepté d'évaluer ce travail : Anne Joutel, Odile Boespflug-Tanguy, Nicolas Renier, Vincent Prévot et Xavier Declèves. Je remercie particulièrement ce dernier pour sa participation avec Alain Bessis à mon comité de suivi de thèse.

Je remercie également la Fondation pour la Recherche Médicale ainsi que la fondation ELA d'avoir permis le financement de mes trois premières années de thèse et de ma troisième année de thèse respectivement.

Ensuite je tiens à remercier tous ceux qui ont collaboré à ce travail de thèse. L'équipe de Raul Estevez à Barcelone, de Denis Vivien à Caen, de Michael Tanter à Paris et Bruno Saubaméa et Slavatore Cisternino de l'équipe de Xavier Declèves à Paris. Au-delà de leur expertise et des expérimentations menées pour ce projet, leur enthousiasme et leurs conseils ont participé à la réussite de ce projet.

Je souhaite aussi remercier les membres de mon équipe, en commençant par Anne-Cécile. Chère Anne-Cécile, tu as été ma première encadrante. Tu m'as énormément transmis à la fois sur le plan technique et sur ta vision de la recherche, ta manière d'aborder ton travail et la science de manière plus générale. Tu m'as également permis de m'intégrer au sein de l'équipe mais également au sein du Collège grâce à ta facilité de contact avec les autres. Tu m'as poussé à aller vers les autres chercheurs et permis de comprendre comment de petites discussions d'afterwork, pouvaient se terminer en collaboration fructueuse. Merci également pour tous ces moments où, plongée dans le doute ou le découragement, je venais te voir en fin de journée. Merci d'avoir dans ces moments-là pris le temps à la fois de m'encourager, de me remonter le moral mais aussi de me faire comprendre mes faiblesses sur lesquelles je pouvais travailler. Ces discussions ont été une grande source de maturité et m'ont beaucoup enrichie.

Cher Marc, tu as été un super co-thésard et un super co-bureau. Merci pour tous ces moments de complicité et de décompression totale. Toujours de bonne humeur, toujours

agréable, attentifs aux autres et partant pour toutes les aventures. Bref, tu es un peu le rayon de soleil de cette équipe et tu as permis d'équilibrer un peu mon caractère pessimiste et plaintif naturel. J'espère que tu garderas toujours ce caractère si agréable. Merci également pour les discussions scientifiques sur les statistiques, les méthodes d'analyse d'images ou d'interprétation de résultats. Tu es un jeune scientifique formidable et j'espère que tu t'épanouiras pleinement dans ce que tu feras.

Merci à tous les autres membres de l'équipe et tout d'abord à Xabi. Merci pour ta collaboration sur le projet MLC1 et tout ce que tu m'as enseigné sur la MLC et son modèle. Bravo pour tes immenses progrès en français. Nous avons vu arriver un jeune post-doc un peu timide et balbutiant, mais tu as vite trouvé ta place et pris confiance en toi au sein de l'équipe et du CIRB. Désolée de mon côté bordélique et de ne pas toujours avoir pris grand soin de notre paillasse commune. Merci pour les bons moments que nous avons passé en expérimentations, dans nos bureaux ou au St Hilaire. De même, merci Rodrigo, pour ces bons moments. Merci pour ton écoute, ta confiance et nos longues discussions. Merci également pour ta collaboration sur mon projet de thèse. Merci Leila pour ta douceur et ta gentillesse. Merci d'avoir pris soin de moi quand j'en avais besoin. Tu es une formidable jeune chercheuse et j'espère que tu t'épanouiras dans ta thèse et que tu tireras le meilleur de ton travail dans cette équipe. Merci également à Katia qui reviendra bientôt dans l'équipe, merci pour ton sourire et ta bonne humeur. Enfin, je souhaite remercier Noémie, qui a soutenu sa thèse l'an dernier. Ta force de travail et ta bonne humeur ont été un exemple pour moi. Tu as laissé un grand vide en quittant le labo. J'espère que tu reviendras en France et que nous aurons l'occasion de nous revoir.

Merci également à tous les stagiaires qui sont passé par le labo et plus particulièrement à celles qui ont collaboré à ma thèse : Louise, Inès et Alyssa. J'ai beaucoup apprécié travailler avec vous et profiter de votre enthousiasme communicatif. Inès, j'espère que le projet MLC que tu reprends sera aussi fructueux pour toi que pour moi. Je pense que tu as toutes les qualités pour en tirer le meilleur.

Merci également aux autres équipe du CIRB et notamment à ceux qui ont participé à ce projet : l'équipe Rouach et l'équipe Brunet. Je tiens à remercier particulièrement à remercier chaque membre de l'équipe Rouach dans laquelle j'ai effectué mes premiers stages au collège de France. Merci à Nathalie pour ton accueil et sa bienveillance envers moi. A Armelle, pour ta collaboration sur mon projet, il a été vraiment très agréable de travailler avec toi. Merci à Augustin pour tes conseils en analyse d'image et toutes tes petites blagues qui égaille la vie du labo. Merci particulièrement à Eléonore, pour ta gentillesse et ton amitié. Nous avons traversé ces années de thèse ensemble, tu as été un soutien indispensable. Bravo encore pour ta thèse, j'espère qu'elle t'ouvrira les portes d'une belle carrière. Merci à Julien, dit le Renart Musicien, pour ton esprit facétieux qui a animé le « bureau du bas ». Merci pour toutes ces discussions, ces fous rires et ces chansons. Merci à tous les autres membres de l'équipe Rouach, pour votre gentillesse, votre accueil.

Merci à l'équipe Brunet. Merci à Isabelle, à Sonia, à Sabrina, à Guy, à Marie pour votre aide en microscopie et en analyse d'image et à votre collaboration à mon projet de thèse. Merci également à toute l'équipe pour votre soutien et pour les bons moments partagés.

Merci au reste du CIRB, il serait trop long de citer tous ceux qui ont participé par leur amitié, par leur discussion, par leurs encouragements à cette thèse. Un merci tout particulier aux ChaDoc et aux organisateurs des CIRB seminar du vendredi qui animent la vie scientifique et les échanges au sein du Collège.

Merci également aux différentes plateformes du collège de France sans qui ce travail n'aurait pas pu aboutir. Aux animaliers qui par leurs soins, leurs conseils et leur expertise ont participé à la réussite de ce projet. Merci à la plateforme d'imagerie et d'histologie. A Philippe et Gaëlle pour leur collaboration sur ce projet en analyse d'image. Merci à Julien et Estelle pour leur aide et leurs formations en microscopie et pour la prise d'image en microscopie STED.

Merci à la gestion et tout particulièrement à Nicole Braure qui dépasse souvent ses fonctions pour venir en aide aux étudiants. Je te suis très reconnaissante pour tout ce que tu as fait pour moi.

Merci à Claudie et Vincent dont le travail est essentiel au bon fonctionnement de notre activité.

Enfin, merci à Abdellah pour la qualité de son travail et pour nos grandes discussions tout au long de ma thèse.

Merci à ma famille pour son soutien inébranlable et plus particulièrement à mes parents dont la bienveillance et les encouragements m'ont permis d'aller jusqu'ici.

Merci à mon époux, François-Xavier, tu as toujours su me rassurer et me pousser. Même si l'on ne comprend pas tout à fait nos métiers respectifs, nous formons une équipe solide et bientôt une famille. Ton amour me pousse chaque jour à donner le meilleur, merci.

Merci à mes amis pour leurs encouragements. Plus particulièrement à Aurélie pour ton aide administrative face aux méandres de l'université et aussi pour ton aide scientifique et tes conseils. Un merci tout particulier également à Jeanne, sans qui je ne serai jamais parvenu à terminer ce manuscrit. Tu as été d'un soutien incommensurable toutes ces années et encore plus ces derniers mois. Tu as également participé directement à ce travail par tes relectures qui m'ont beaucoup soulagée. Je te suis infiniment reconnaissante pour tout cela. J'espère pouvoir à mon tour t'aider dans ton travail de thèse. Je sais déjà que celui-ci sera formidable et que je serai fière d'un jour assister à ta soutenance.

LISTE DES PUBLICATIONS

1. ARTICLES DE RECHERCHE

1. **Gilbert A**, Vidal XE, Estevez R, Cohen-Salmon M, Boulay AC. **2019**, Po présentés dans cette thèse snatal development of the astrocyte perivascular MLC1/GlialCAM complex defines a temporal window for the gliovascular unit maturation. *Brain Structure and Function*. 224(3):1267-1278. doi: 10.1007/s00429-019-01832-w. Epub 2019 Jan 25.
2. Slaoui L*, **Gilbert A***, Federici L*, Rancillac A, Gelot A, Favier M, Robil N, Letort G, Dias K, Jourdren L, Mailly P, Auvity S, Cisternino S, Cohen-Salmon M**, Boulay A-C**. **2021**, In mice and humans, the brain's blood vessels mature postnatally to acquire barrier and contractile properties. **En révision**, BioRxiv doi: <https://doi.org/10.1101/2021.05.17.444486>

*co premières autrices ** co dernières autrices

3. **Gilbert A**, Elorza-Vidal X, Rancillac A, Chagnot A, Yetim M, Hingot V, Deffieux T, Boulay A-C, Alvear-Perez R, Cisternino S, Martin S, Taib S, Gelot A, Mignon V, Favier M, Brunet I, Declèves X, Tanter M, Estevez R, Vivien D, Saubaméa B, Cohen-Salmon M. **2021**, Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts is a developmental disorder of the gliovascular unit. **En révision**, BioRxiv doi: <https://doi.org/10.1101/2021.05.17.444434>

2. ARTICLE DE REVUE

1. Cohen-Salmon M, Slaoui L, Mazaré N, **Gilbert A**, Oudart M, Alvear-Perez R, Elorza-Vidal X, Chever O, Boulay AC. **2021**, Astrocytes in the regulation of cerebrovascular functions. *Glia*. 69(4):817-841. doi: 10.1002/glia.23924. Epub 2020 Oct 15. (Revue)

ABREVIATIONS

ABC : transporteurs à cassette liant l'ATP (en anglais : *ATP binding transporters*)

Alk : activine-like

Aqp4 : Aquaporine 4

AraC / Cytosine β -D40 arabinofuranoside

ARN(m) : Acide ribonucléique (messenger)

ATP : adénosine triphosphate

BCRP : Protéine de résistance du cancer du sein (en anglais : *breast cancer resistance protein*)

bFGF : facteur de croissance fibroblastique basique

BK : canal potassique calcium dépendant

BMX : protéine tyrosine-kinase cytoplasmique

CADASIL : artériopathie cérébrale autosomique dominante à infarctus sous-corticaux et leucoencéphalopathie

CARASAL : artériopathie à infarctus cérébraux et leucoencéphalopathie liée à la cathepsine A

CARASIL : artériopathie cérébrale autosomique récessive à infarctus sous-corticaux et leucoencéphalopathie

CLC2 : canal chlore 2

CRT : transporteur de la créatine

Cx : Connexine

DAPC : complexe associé à la dystrophine (en anglais : *dystrophin-associated protein complex*)

Dll : Delta-like

DODD : dysplasie occulodentodigitale

E : jour embryonnaire

Eif2B : facteur d'initiation de la traduction eukaryote 2

GFAP : protéine des filaments intermédiaires astrocytaires (en anglais : *glial fibrillary acidic protein*)

HSPG : héparanes sulfates protéoglycans

HSS: syndrome de Hallermann-Streiff

KO : délétion génique (en anglais : *Knock-Out*)

MLC : leucoencéphalopathie mégalencéphalique à kystes sous-corticaux (en anglais : *megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts*)

MMP : métalloprotéase

Myo11 : myosine 11

NG2 : antigène neurone-glie 2

P : jour postnatal

PAPV : pied astrocytaire périvasculaire

PDGFR β : récepteur β du facteur de croissance dérivé des plaquettes (en anglais : *platelet derived growth factor receptor*)

PI3K : phosphoinositide 3-kinase

SHh : facteur Sonic Hh

SLC : transporteurs de solutés (en anglais : *solute carrier*)

SMA : actine musculaire lisse (en anglais : *smooth muscle actin*)

TGF β : facteur de croissance transformant β (en anglais : *transforming growth factor β*)

TIMP3 : inhibiteur tissulaire de la métalloprotéase 3

TRPV4 (en anglais : *Transient receptor potential cation channel subfamily V member 4*)

V1 à V4 : ventricules cérébraux 1 à 4

VEGF-A : facteur de croissance de l'endothélium vasculaire A (en anglais : *vascular endothelial growth factor A*)

VRAC : canal anionique impliqué dans la régulation du volume cellulaire (en anglais : *volume regulated anion channel*)

ZO : *zonula occludens*

FIGURES ET TABLEAU

1. FIGURES

INTRODUCTION

Figure 1 : L'unité gliovasculaire.	22
Figure 2 : Les composants de l'unité gliovasculaire en fonction de l'axe artério-veineux.	26
Figure 3 : Schéma représentatif des espaces périvasculaires de Virchow-Robin.	30
Figure 4: Organisation intracellulaire des prolongements astrocytaires périssynaptiques et les pieds astrocytaires périvasculaires.	35
Figure 5 : Hétérogénéité morphologique astrocytaire.	38
Figure 6 : Le complexe DAPC.	44
Figure 7 : La théorie du système glymphatique.	48
Figure 8 : Schéma représentatif de l'angiogenèse.	54
Figure 9 : Les deux voies de différenciation artérioveineuse.	58
Figure 10 : Schéma représentatif de l'astrogénèse corticale chez la souris.	65
Figure 11 : Schéma de synthèse des différents processus mis en jeu dans la formation et la maturation de l'unité gliovasculaire.	67
Figure 12 : La mégalencéphalie leucoencéphalopathique à kystes sous-corticaux, ses symptômes classiques.	70
Figure 13 : les protéines transmembranaires MLC1 et GlialCAM	74
Figure 14 : comparaison de l'atteinte myélinique dans les différents modèles murins de MLC par marquage hématoxyline-éosine ou bleu de toluidine.	79

RESULTATS SUPPLEMENTAIRES

Figure 1 : Analyse développementale de l'expression des ARNm codant pour MLC1 et GlialCAM	98
Figure 2 : Analyse qPCR de l'expression des marqueurs péricytaire est modifiée en l'absence de MLC1.	99
Figure 3 : Etude préliminaire des connexines astrocytaires en l'absence de MLC1.	101
Figure 4 : Analyse de la densité synaptique en l'absence dans notre modèle murin de MLC.	103
Figure 5 : Effet de la déficience en MLC1 sur la voie Smad 1/5/8.	105
Figure 6 : Validation des résultats de séquençage par qPCR.	109
Figure 7 : Etude de l'expression de la protéine Sparc au cours du développement.	110

2. TABLEAUX

INTRODUCTION

Tableau 1 : Exemples de leucodystrophies astrocytaires et vasculaires	69
---	----

RESULTATS SUPPLEMENTAIRES

Tableau 1 : ARNm montrant une différence significative entre astrocytes WT et <i>Mlc1</i> KO (étude réalisée à 2 mois sur le cortex et l'hippocampe).	107
---	-----

SOMMAIRE

Remerciements.....	3
Liste des publications.....	7
1. Articles de recherche.....	7
2. Article de revue.....	7
Abréviations.....	9
Figures et tableau.....	11
1. Figures.....	11
2. Tableaux.....	12
Sommaire.....	13
Résumé de thèse.....	19
Introduction.....	21
1. Le cerveau, un organe vital, gourmand et fragile.....	21
2. L'unité gliovasculaire le garde du corps du cerveau.....	22
2.1. Les composants de l'unité gliovasculaire.....	22
2.1.1. Le système vasculaire cérébral.....	22
2.1.1.1. Anatomie.....	23
2.1.1.2. Les cellules endothéliales.....	24
2.1.1.3. Les cellules murales.....	26
2.1.1.3.1. Les péricytes.....	27
2.1.1.3.2. Les cellules musculaires lisses vasculaires.....	28
2.1.1.4. Les fibroblastes vasculaires.....	30
2.1.1.5. Les macrophages résidents.....	31
2.1.1.6. La lame basale.....	31
2.1.2. Les astrocytes : des cellules d'une grande diversité.....	33
2.1.3. Hétérogénéité morphologique.....	36
2.1.4. Hétérogénéité moléculaire.....	39

2.1.5.	Polarité morphologique et moléculaire, l'hétérogénéité intracellulaire.....	40
2.2.	Les astrocytes au sein de l'unité gliovasculaire	42
2.2.1.	Les PAPVs	42
2.2.2.	Les fonctions astrocytaires au sein de l'unité gliovasculaire	44
2.2.2.1.	Les astrocytes, les cambusiers du cerveau.....	44
2.2.2.2.	Les astrocytes, les Messieurs Propre du cerveau.....	46
2.2.2.3.	Les astrocytes, les gardes du corps du parenchyme.....	51
3.	Le développement de l'unité gliovasculaire : de l'embryogénèse au stade mature.....	53
3.1.	L'angiogénèse	53
3.2.	Les voies moléculaires impliquées dans l'angiogénèse	55
3.3.	Maturation vasculaire post-angiogénique.....	57
3.3.1.	La différenciation artério-veineuse	57
3.3.2.	La colonisation par les cellules murales	59
3.3.3.	La maturation des cellules murales.....	60
3.3.4.	La maturation des cellules endothéliales.....	63
3.4.	L'astrogénèse	64
3.5.	Participation des astrocytes à la maturation de l'unité gliovasculaire.....	66
3.6.	La formation de la lame basale	66
4.	Les leucodystrophies	68
4.1.	Les astrocytopathies	68
4.1.1.	La MLC.....	70
4.1.1.1.	Le phénotype classique de MLC	71
4.1.1.2.	Le phénotype résolutif de MLC	72
4.1.1.3.	Modifications génétiques associées à la MLC	72
4.1.1.4.	MLC1	73
4.1.1.5.	GlialCAM.....	76
4.1.1.6.	Les modèles d'étude de la MLC	77
4.1.1.6.1.	Les modèles cellulaires de MLC	77

4.1.1.6.2. Les modèles murins de MLC	78
4.1.2. Autres astrocytopathies	81
4.1.2.1. La maladie d'Alexander	81
4.1.2.2. Le syndrome CACH	82
4.1.2.3. La leucoencéphalopathie liée à CLC2.....	83
4.1.2.4. La dysplasie occulodentodigitale et le syndrome de Hallermann-Streiff.....	85
4.2. Les leucodystrophies vasculaires	85
4.2.1. Le CADASIL.....	86
4.2.2. Le CARASIL	88
4.3. Autres leucodystrophies.....	89
4.3.1. Les altérations oligodendrocytaires ou troubles myéliniques	89
4.3.2. Les leuco-axonopathies	90
4.3.3. Les Microgliopathies.....	90
Résultats expérimentaux.....	91
1. Article 1	91
2. Article 2.....	93
3. Article 3.....	95
Résultats supplémentaires	97
1. La maturation du complexe MLC1/GlialCAM est corrélée à l'augmentation des ARNm correspondants dans les PvAPs.....	97
1.1. Introduction	97
1.2. Méthodes.....	97
1.3. Résultats et discussion.....	98
2. Implication de MLC1 dans le développement péricytaire postnatal.....	99
2.1. Introduction	99
2.2. Méthodes.....	99
2.3. Résultats et discussion.....	99
3. Implication des connexines astrocytaires dans la physiopathologie de la MLC.....	100

3.1.	Introduction	100
3.2.	Méthodes.....	100
3.3.	Résultats et discussion.....	100
4.	Altération de la densité synaptique dans notre modèle murin de MLC	102
4.1.	Introduction	102
4.2.	Méthode	102
4.3.	Résultats et discussion.....	102
5.	Mécanistique de la physiopathologie de la MLC.....	104
5.1.	TGF β	104
5.1.1.	Introduction.....	104
5.1.2.	Méthode.....	104
5.1.3.	Résultats et discussion	104
5.2.	Séquençage ARN.....	106
5.2.1.	Introduction.....	106
5.2.2.	Méthodes.....	106
5.2.3.	Résultats et discussion	107
	Discussion générale.....	111
1.	Développement postnatal de l'unité gliovasculaire.....	111
1.1.	Les cellules endothéliales cérébrales	111
1.1.1.	Maturation postnatale de la barrière hémato-encéphalique	111
1.1.2.	Maturation des fonctions d'efflux de la Glycoprotéine-P.....	111
1.2.	Maturation des cellules musculaires lisses vasculaires	112
1.3.	Maturation moléculaire des PAPVs	112
2.	La MLC une pathologie développementale de l'unité gliovasculaire	113
2.1.	Les cellules endothéliales dans la physiopathologie de la MLC.....	113
2.2.	Les cellules musculaires lisses vasculaires dans la physiopathologie de la MLC	114
2.3.	Les astrocytes dans la physiopathologie de la MLC	115
2.3.1.	Les PAPVs	115

2.3.2. La morphologie astrocytaire	117
3. Les voies moléculaires impliquées dans la physiopathologie de la MLC.....	118
3.1. Réinstauration de l'expression de Mlc1 à différents stades	118
3.2. Étude transcriptionnelle ouverte	119
4. Conclusion.....	119
Références bibliographiques	121
Résumé:.....	162
Mots clés :.....	162
Summary:.....	162
Keywords :.....	162

RESUME DE THESE

Les astrocytes sont des cellules en forme d'étoile qui constituent la majorité des cellules gliales cérébrales. Elles émettent des prolongements en direction des synapses, mais également des vaisseaux sanguins. A cette interface, les prolongements astrocytaires sont terminés par des pieds qui recouvrent la totalité de la surface vasculaire cérébrale. L'ensemble des vaisseaux sanguins cérébraux et des pieds astrocytaires périvasculaires (PAPVs) forment l'unité gliovasculaire. Au sein de cette unité fonctionnelle, les PAPVs participent à différentes fonctions essentielles à la physiologie vasculaire cérébrale telles que formation et maintien de la barrière hémato-encéphalique, dialogue avec le système immunitaire périphérique, couplage neuro-vasculaire. Ces fonctions sont soutenues en particulier par un répertoire moléculaire polarisé au sein des PAPVs. Or, une altération de cette polarisation a été observée dans différentes pathologies cérébrales comme l'épilepsie, l'ischémie cérébrale ou la maladie d'Alzheimer. Cependant, le développement de cette interface et le déroulement de l'acquisition de cette polarisation sont encore inconnus.

Dans la première partie de ma thèse, j'ai donc étudié l'expression de deux protéines enrichies dans les PAPVs : MLC1 et GlialCAM, au cours du développement postnatal. Les résultats de cette étude ont permis de mettre en évidence une polarisation, dans les PAPVs, de ces deux protéines entre les jours postnataux 10 et 15. Nous avons ainsi pu observer pour la première fois une maturation des PAPVs postérieure à l'acquisition de l'aquaporine 4. Ce résultat indique une maturation moléculaire progressive et séquentielle de cette interface. De plus, nous avons observé parallèlement à cette maturation des PAPVs, une maturation de la Claudine 5 et de la pompe d'efflux glycoprotéine-P, deux protéines endothéliales impliquées dans la maturation de la barrière hémato-encéphalique. Ce résultat indique une maturation parallèle postnatale et du compartiment astrocytaire périvasculaire et des vaisseaux sanguins.

Cette étude nous a donc conduits à nous interroger sur le développement vasculaire cérébral postnatal. En effet, s'il existe une littérature relativement exhaustive sur le développement vasculaire embryonnaire, cette phase tardive de l'angiogenèse et de la maturation vasculaire cérébrale est encore peu explorée. Nous avons donc étudié le développement postnatal des différents types cellulaires vasculaires, tout d'abord, par une étude transcriptionnelle, chez la souris. Cette étude a permis de mettre en évidence différents processus de maturation cellulaire et notamment l'acquisition d'un phénotype contractile par les cellules musculaires lisses vasculaires et des fonctions d'efflux de barrière hémato-encéphalique endothéliale. Nous avons donc ensuite

vérifié cette maturation au niveau protéique et fonctionnel chez la souris. Enfin, grâce à l'accès à une banque de tissus humain en développement, nous avons pu observer la maturation postnatale chez l'Homme des protéines impliquées dans ces fonctions. La découverte d'une maturation postnatale chez l'Homme a des répercussions cliniques. Elle indique que les mécanismes de couplage neurovasculaire et de pharmacorésistance du cerveau sont immatures chez les nouveaux nés.

Enfin nous avons étudié la maturation postnatale des différents compartiments de l'unité gliovasculaire (PAPV et cellules vasculaires) en situation pathologique : dans un modèle de souris délétées pour *Mlc1*, reproduisant le phénotype d'une leucoencéphalopathie. En effet, chez l'Homme, les mutations perte de fonction du gène *Mlc1* sont à l'origine de la leucoencéphalopathie mégalencéphalique à kystes sous-corticaux (MLC). Dans cette forme rare de leucodystrophie, on observe une mégalencéphalie au cours de la première année de vie, puis une vacuolisation progressive de la substance blanche à l'origine d'une dégénérescence motrice et cognitive. De plus, on observe chez les patients et dans le modèle de souris, la présence d'œdème périvasculaire. Ainsi, nous soupçonnions, grâce aux symptômes de cette pathologie (macrocéphalie et œdème), à leur ordre d'apparition, à l'enrichissement de MLC1 dans les PAPVs et l'acquisition postnatale de cet enrichissement, que la MLC pouvait être une maladie du développement postnatal de l'unité gliovasculaire.

Nos résultats montrent tout d'abord une atteinte astrocytaire développementale (retard d'expression, modification de la ramification et de l'orientation) et plus particulièrement une perte de la couverture vasculaire par les PAPVs. Nous avons également observé une perte de maturation des cellules musculaires lisses vasculaires dès le 10^{ème} jour de développement postnatal. Enfin, nous avons observé *in vivo* l'altération de deux fonctions de l'unité gliovasculaire : le couplage neurovasculaire et la clairance du liquide interstitiel intraparenchymal.

Notre étude a donc permis à la fois d'étudier le développement conjoint des vaisseaux et des PAPVs en situation pathologique et de vérifier notre hypothèse d'une atteinte développementale de l'unité gliovasculaire dans le MLC. Or, les atteintes myéliniques observées dans la MLC n'apparaissent chez la souris qu'après trois mois de vie, laissant supposer que les atteintes de l'unité gliovasculaire développementales pourraient être le *primum movens* de cette pathologie.

INTRODUCTION

1. LE CERVEAU, UN ORGANE VITAL, GOURMAND ET FRAGILE

Le cerveau est indissociable de notre être, il contient notre personnalité, notre créativité et notre intelligence. Le Code de la santé publique utilise l'arrêt du fonctionnement cérébral comme définition de la mort. Ainsi, même chez les personnes ne présentant plus d'activité respiratoire spontanée, le Code de la santé publique impose "d'attester du caractère irréversible de la destruction encéphalique" (article R. 1232-2 du Code de la santé publique). Le cerveau est un organe vital et irremplaçable. Il doit être préservé pour maintenir la vie. Physiquement, le cerveau est protégé des coups et des chocs par les os du crâne, mais les facteurs qui le protègent biologiquement et chimiquement n'ont pas encore été totalement élucidés.

Notre cerveau n'occupe que 2 % de la masse corporelle mais il consomme respectivement 20 % et 25 % de la consommation totale en oxygène et en glucose de notre organisme. Cette "surconsommation" est permise par un vaste réseau vasculaire estimé à une longueur totale de 600 km chez l'humain (Wong et al. 2013; Abbott et al. 2010) De plus, le cerveau est un organe particulièrement sensible à l'ischémie. En effet, tandis que la mort des myocytes cardiaques et des cellules rénales nécessite un arrêt de la circulation sanguine supérieur à 20 min, l'interruption du flux sanguin cérébral induit une mort neuronale en seulement 5 min.

Le cerveau est également sensible aux hémorragies, qu'elles soient macroscopiques ou microscopiques. Plusieurs études récentes tendent en effet à montrer un lien entre saignements cérébraux et déclin neuronal et cognitif (Bergeron et al. 2019; Joutel et al. 2010) et l'avancée des techniques d'imagerie a permis d'observer une plus forte prévalence de démence chez les patients présentant des micro-saignements cérébraux (Ungvari et al. 2017).

Le système nerveux central doit donc être protégé par un système permettant à la fois de préserver des substances et organismes toxiques tout en maintenant les apports nécessaires à son bon fonctionnement et l'élimination efficace des déchets. C'est la fonction principale de l'unité gliovasculaire.

2. L'UNITÉ GLIOVASCULAIRE LE GARDE DU CORPS DU CERVEAU

L'unité gliovasculaire est une unité fonctionnelle participant à la protection mais aussi à l'homéostasie cérébrale. Elle est composée des vaisseaux sanguins cérébraux et des pieds astrocytaires périvasculaires (PAPVs) (Figure 1).

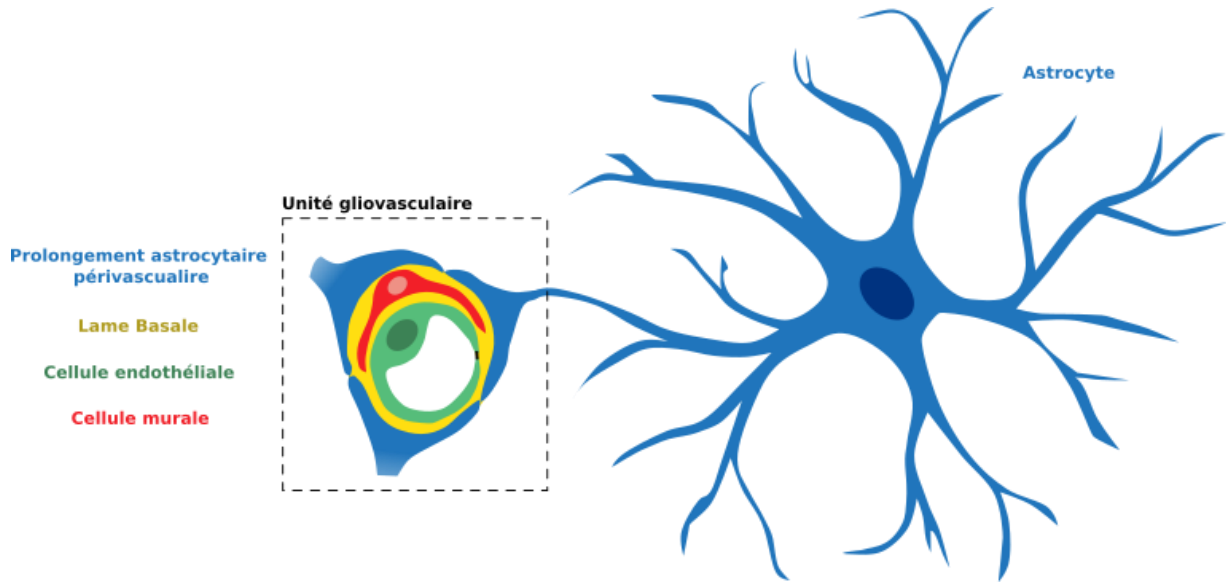


Figure 1 : L'unité gliovasculaire.

2.1. Les composants de l'unité gliovasculaire

2.1.1. Le système vasculaire cérébral

Le système vasculaire cérébral est constitué de plusieurs types cellulaires séparés par des matrices extracellulaires spécifiques (Figure 1) : un endothélium continu, une lame basale continue, dans laquelle se trouvent des cellules murales (péricytes, cellules musculaires lisses) et parfois des fibroblastes et des macrophages, et une couverture astrocytaire quasiment complète (constituée par l'apposition directe des PAPVs sur la lame basale). Dans ce chapitre je présente les différents composants cellulaires de l'unité gliovasculaire ainsi que la lame basale sans traiter des astrocytes qui font l'objet d'un chapitre à part.

2.1.1.1. Anatomie

Les vaisseaux sanguins sont les composants majoritaires du système cardiovasculaire et constituent un ensemble de canalisations tubulaires organisées en système et permettant la circulation du sang entre le cœur et les différents organes. Ces canaux, selon leur localisation et la composition du sang qu'ils transportent, présentent une grande variété de fonctions ce qui induit une grande diversité de leur composition et de leurs propriétés cellulaires.

Depuis le cœur, le sang circule tout d'abord dans des vaisseaux de gros calibre appelés artères. Chez l'Homme et la souris, le sang artériel atteint le cerveau par les artères carotides internes et les artères vertébrales. Sur la face ventrale du cerveau, ces artères se joignent pour former un réseau complexe d'anastomoses dit « cercle » ou « polygone de Willis ». Le cercle de Willis donne naissance à des artères cérébrales véhiculant le sang de la base du cerveau vers la surface du cortex cérébral. Ces artères se ramifient en artères pie-mériennes qui cheminent parallèlement à la surface du cortex, dans l'espace sous-arachnoïdien (espace entre pie-mère et arachnoïde). Ces artères présentent de nombreuses anastomoses, c'est-à-dire des connexions entre elles. Elles forment donc un «filet» entourant le cerveau, tandis que dans la plupart des tissus, les artères se présentent en arborescence. Ensuite, les artères pie-mériennes émettent perpendiculairement à leur axe des artérioles pénétrantes qui se ramifient en artérioles puis en capillaires.

Les capillaires sont des vaisseaux extrêmement fins (de 3 à 10 μm). Ce sont les plus petits vaisseaux de l'organisme et aussi les plus nombreux. Ainsi dans le cerveau, ce sont les vaisseaux capillaires qui contribuent très majoritairement aux échanges entre le sang et le parenchyme.

Les capillaires cérébraux se rejoignent pour former des veinules qui elles-mêmes se rejoignent en veines. Ces veines ressortent du cortex parallèlement aux artérioles, rejoignant ainsi les veines pie-mériennes. A l'instar des artères de ce compartiment, les veines pie-mériennes forment également un réseau anastomotique. Les veines pie-mériennes se jettent dans les veines jugulaires internes permettant d'évacuer le sang du cerveau vers le cœur.

Les vaisseaux sanguins sont composés de 3 couches ou tuniques :

- L'*intima*, couche la plus interne est composée d'une monocouche de cellules endothéliales entourant le lumen, et recouvert d'une lame basale plus ou moins recouverte d'un tissu conjonctif lâche. C'est cette couche qui va déterminer le degré de perméabilité des vaisseaux.

- La *tunica media* est composée de lame basale et de cellules musculaires lisses. Elle détermine la capacité de vasoconstriction et vasodilatation des vaisseaux. Ainsi dans les artères, la *tunica media* est la couche la plus épaisse, elle est composée de plusieurs couches de cellules musculaires lisses vasculaires concentriques. Elle est plus fine dans les artérioles, mais reste prédominante. En revanche, les veines et les veinules possèdent une *tunica media* relativement fine comprenant peu de cellules musculaires lisses vasculaires en comparaison avec des artères de même calibre. Dans les capillaires, cette couche est particulièrement fine et ne comporte pas de cellules musculaires lisses vasculaires mais des péricytes.
- La *tunica externa* ou *adventis* composée de fibroblastes et de tissus conjonctifs (DeSisto et al. 2020; Strauss et Rabinovitch 2000; Vanlandewijck et al. 2018). Elle détermine la déformabilité des vaisseaux. Elle est la couche la plus épaisse des veines et veinules. Elle est absente des capillaires.

2.1.1.2. Les cellules endothéliales

Les cellules endothéliales sont la base des vaisseaux sanguins. Elles referment la lumière des vaisseaux en formant une monocouche cellulaire et sont donc directement en contact avec le sang (Figure 1). Ce sont donc les cellules endothéliales qui vont, les premières, contrôler les échanges entre le sang et le tissu. A ce titre, les cellules endothéliales présentent différentes morphologies et expriment différents phénotypes selon le type et la localisation des vaisseaux qu'elles constituent.

Dans le cerveau, ces cellules présentent une haute différenciation baso-apicale et expriment un phénotype particulier restreignant drastiquement les échanges sang/tissus (participant ainsi à la barrière hémato-encéphalique). Cependant, dans certaines régions comme la moelle épinière, les organes circumventriculaires (neurohypophyse, *area postrema*, épiphyse...) ou les plexus choroïdes, les vaisseaux sanguins cérébraux sont beaucoup plus perméables. Ces régions étant bien particulières, nous nous intéresserons ici uniquement aux vaisseaux sanguins cérébraux exprimant un phénotype de barrière hémato-encéphalique.

Tout d'abord, les cellules endothéliales cérébrales sont non fenêtrées (Fenstermacher et al. 1988), elles forment un endothélium dit « continu ». Elles ont également un faible taux de transcytose (Reese et Karnovsky 1967; Sedlakova, Shivers, et Del Maestro 1999), lié à une surexpression de la protéine transmembranaire MFSD2A (Ben-Zvi et al. 2014).

Le pôle apical des cellules endothéliales, leur surface luminale, est couverte d'un glycocalyx, c'est-à-dire un revêtement d'aspect fibreux ou de feutre, constitué de glycoprotéine, de protéoglycans et de glycosaminoglycans (Ando et al. 2018; Kutuzov, Flyvbjerg, et Lauritzen 2018; Ross et al. 2020). Dans le cerveau, le glycocalyx endothélial est particulièrement dense, même comparé à d'autres *endothelia* continus comme celui du cœur (Ando et al. 2018). De plus, toujours à leur pôle apical, les cellules endothéliales cérébrales expriment un très faible taux de molécules d'adhésion des leucocytes telles que VCAM-1 ou ICAM-1 (Fabene et al. 2008).

Les cellules endothéliales cérébrales sont reliées entre elles par des jonctions serrées ou *zonulae occludentes* (Kniesel et Wolburg 2000). Ces jonctions sont constituées de protéines transmembranaires (telles que les Claudines, l'Occludine et des protéines de la famille des molécules d'adhésion jonctionnelles ...) qui sont liées au cytosquelette cellulaire par les protéines de la famille *zonula occludens* 1, 2 et 3 (ZO-1, 2 et 3). Ces jonctions serrées participent directement à l'imperméabilité de la couche endothéliale en bloquant le passage paracellulaire des molécules. Les cellules endothéliales cérébrales sont aussi pourvues de jonctions adhérentes formées de complexes cadhérine/caténine. Ces jonctions participent à la cohésion de la monocouche de cellules endothéliales et donc à la faible perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (Corada et al. 2002).

Ces cellules expriment également des protéines de la famille des transporteurs de solutés (en anglais : *solute carrier* ; SLC), appelés transporteurs à cassette, liant l'adénosine triphosphate (ATP) ou transporteur ABC (pour « *ATP binding transporters* » en anglais) à leur pôle apical. Ces pompes d'efflux, telles que la glycoprotéine-P, BCRP ou MRP-1/2/3/4/5, participent à la fonction de barrière des cellules endothéliales cérébrales en refluant les molécules qu'elles transportent vers le sang (Mahringer et al. 2011).

Les cellules endothéliales cérébrales possèdent également un pool mitochondrial beaucoup plus important que les cellules endothéliales périphériques (Oldendorf, Cornford, et Brown 1977). Ces mitochondries permettent la création d'ATP qui sert notamment à faire fonctionner leur nombre important de pompes d'efflux.

Pour permettre le passage des nutriments et molécules essentiels au fonctionnement du cerveau, les cellules endothéliales cérébrales expriment différents transporteurs appartenant à la famille des SLC mais utilisant le gradient de concentration, comme Glut-1, un transporteur du glucose, et d'autres hexoses (Harik et al. 1990) le transporteur

d'acide monocarboxylique 1 (MCT1), un transporteur du lactate (J. Wang et al. 2019) ou le transporteur de la créatine (CRT) (Ohtsuki et al. 2002).

Enfin, à leur pôle basal les cellules endothéliales cérébrales sécrètent différentes molécules participant à la formation de la lame basale (2.1.1.6 La lame basale).

Comme dans le reste de l'organisme, les cellules endothéliales cérébrales se différencient selon le type de vaisseaux qu'elles forment. Les cellules endothéliales artérielles expriment ainsi un répertoire moléculaire particulier composé par exemple de la protéine tyrosine-kinase cytoplasmique (BMX), la sémaphorine-3G ou la protéine de jonction communicante 4, ou connexine 37 (Cx 37). Les cellules endothéliales veineuses ont aussi un phénotype moléculaire spécifique composé par exemple du transporteur d'acides aminés Slc38a5 (Vanlandewijck et al. 2018; Ross et al. 2020). D'autres différences ont pu être observées par microscopie électronique : les artères cérébrales présentent un plus grand chevauchement des protéines de jonction serrées et un plus fort taux de vésicules de transport (Hanske et al. 2017).

2.1.1.3. Les cellules murales

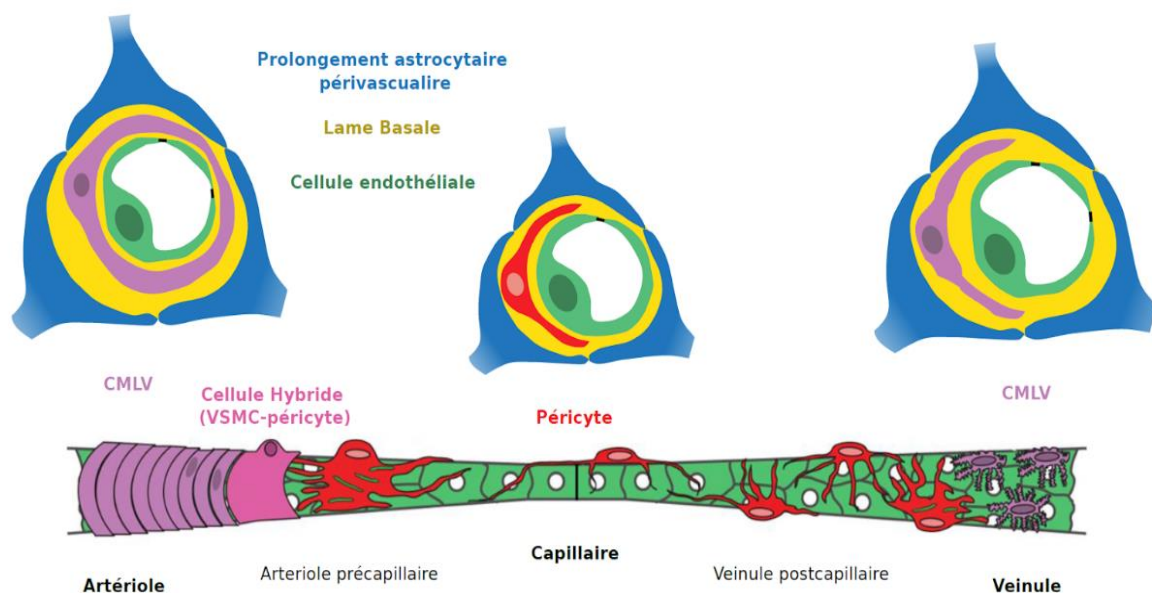


Figure 2 : Les composants de l'unité gliovasculaire en fonction de l'axe artério-veineux. Adapté de Hartmann et al., 2015

2.1.1.3..1. Les péricytes

Les péricytes sont des cellules présentes dans la lame basale des petits vaisseaux (capillaires, veinules et petites artérioles). Contrairement aux cellules musculaires lisses vasculaires qui s'organisent de manière concentrique par rapport à la monocouche de cellules endothéliales, les péricytes s'étendent longitudinalement, le long des vaisseaux (Figure 1). Dans le cerveau, le ratio péricytes/cellules endothéliales est particulièrement élevé (Shepro et Morel 1993). Ils couvrent la majeure partie des vaisseaux sans se chevaucher (Grant et al. 2019).

Les péricytes représentent un groupe assez hétérogène de cellules rendant leur définition moléculaire difficile (Armulik, Genové, et Betsholtz 2011). Ils forment avec les cellules musculaires lisses vasculaires un *continuum*, particulièrement au niveau des artérioles et des veinules, où le point de transition entre les deux types cellulaires reste controversé (Figure 2). Deux visions principales s'affrontent à ce sujet : certains auteurs parlent d'une transition progressive d'un phénotype cellulaire à l'autre (Hill et al. 2015; Vanlandewijck et al. 2018), tandis que d'autres auteurs évoquent l'existence d'un troisième type cellulaire, dit de transition, exprimant simultanément les attributs des deux phénotypes (Grant et al. 2019; Ratelade et al. 2020). De fait, à l'échelle moléculaire, les péricytes ont souvent été définis en creux par rapport aux cellules musculaires lisses vasculaires (Vanlandewijck et al. 2018) et les marqueurs péricytaire les plus utilisés, tels que le récepteur β du facteur de croissance dérivé des plaquettes (en anglais : *Platelet Derived Growth Factor Receptor*; PDGFR β) ou l'antigène neurone-glie 2 (NG2), une protéoglycane agissant comme co-récepteur du PDGF, sont aussi exprimés par les cellules musculaires lisses vasculaires. Au sein même de la population péricytaire, nous avons pu observer une sous-population se différenciant par l'expression de connexine 30 (Cx30) une protéine des jonctions communicantes (Mazaré et al. 2018) pourtant décrite comme spécifique des astrocytes au sein du système nerveux central (Rash et al. 2001). Une étude récente à laquelle j'ai participé a aussi permis de définir des signatures moléculaires différentes entre les deux types cellulaires, avec notamment une surexpression des molécules impliquées dans la contractilité dans les cellules musculaires lisses vasculaires, et dans les péricytes, une surexpression des molécules de la réponse immunitaire (Chasseigneaux et al. 2018).

Récemment, les techniques de séquençage de cellule unique ont permis de mieux connaître le répertoire moléculaire des cellules vasculaires et notamment péricytaire ouvrant de nouvelles perspectives d'étude des fonctions péricytaire (Teng et al. 2021; Saunders et al. 2018; Vanlandewijck et al. 2018; Guan et al. 2021). En effet, les péricytes possèdent de nombreuses

fonctions ce qui contribuent probablement à leur hétérogénéité et à la difficulté de définir universellement ces cellules.

Premièrement, les péricytes sont capables de dégrader certaines protéines extracellulaires (Q. Ma et al. 2018). Cette fonction est promue dans certaines situations pathologiques telles que les accidents ischémiques transitoires ou les lésions tissulaires ; certains auteurs parlent même dans ce cas de phénotype similaire aux microglies (Sakuma et al. 2016; Özen et al. 2014).

Les péricytes participent également à la quiescence immunitaire cérébrale en limitant l'expression de molécules endothéliales d'adhésion aux leucocytes comme VCAM-1 et ICAM-1 (Török et al. 2021) et au maintien de la barrière hémato-encéphalique et en favorisant l'expression de jonctions serrées par les cellules endothéliales, ou en limitant l'expression de protéines impliquées dans la transcytose (Armulik et al. 2010; Daneman et al. 2010). Les péricytes contribuent également à la formation et au maintien de la lame basale (2.1.1.4 La lame basale) et à l'angiogénèse (3.1.2 Les voies moléculaires impliquées dans l'angiogénèse). De plus, ils participent, tout comme les cellules endothéliales, à l'homéostasie vasculaire en exprimant divers transporteurs tels que MFSD2A, Glut-1, Slc16a1, Slc7a1... (Zaragoza 2020; Vanlandewijck et al. 2018). Certaines publications semblent indiquer que les péricytes participent à la régulation du flux sanguin en modulant le diamètre vasculaire en réponse à des *stimuli* astrocytaires ou neuronaux (Peppiatt et al. 2006; Cai et al. 2018; Hall et al. 2014). Cependant, leur grande proximité moléculaire avec les cellules musculaires lisses vasculaires induisent une remise en question de ces résultats (Fernández-Klett et al. 2010; Hill et al. 2015).

Enfin, les péricytes cérébraux participent à la maturation des pieds astrocytaires périvasculaires et en particulier à l'expression de l'Aquaporine 4 (Aqp4), un canal eau spécifique des astrocytes et enrichi à l'interface vasculaire. En effet, dans un modèle de souris déficiente en péricytes (Armulik et al. 2010), l'Aqp4 était relocalisée dans tout l'espace cellulaire astrocytaire, perdant sa polarisation à l'interface vasculaire.

2.1.1.3..2. Les cellules musculaires lisses vasculaires

Comme évoqué précédemment, les cellules musculaires lisses vasculaires forment une gaine concentrique de cellules dans la *tunica media* des artères et des veines. Dans les grandes artères, on peut observer plusieurs couches de cellules musculaires lisses vasculaires (de 4 à 10 couches) (Shiraishi, Sakaki, et Uehara 1986) et à mesure que l'on progresse vers les capillaires, le nombre de couches de cellules musculaires lisses vasculaires artérielles puis artériolaires diminue jusqu'à disparaître dans les capillaires au profit des péricytes. Dans les veines, les cellules

musculaires lisses vasculaires sont moins nombreuses, et dans les veinules ces cellules sont non concentriques, peu contractiles et rares (Figure 2).

Les cellules musculaires lisses vasculaires sont, comme leur nom l'indique, des cellules musculaires ; au stade mature, elles expriment de nombreuses protéines impliquées dans la contraction, notamment :

- Des récepteurs tels que les récepteurs à l'angiotensine II ou le récepteur au thromboxane A2 qui se lient à des molécules libérées par les astrocytes ou les neurones en fonction de l'activité synaptique proximale. Ce phénomène, appelé couplage neuro-vasculaire, par contraction ou relaxation des cellules musculaires lisses vasculaires, modifie le flux sanguin en réponse à l'activité neuronale,
- Des transporteurs et canaux ioniques permettant l'homéostasie calcique nécessaire à la contractilité cellulaire (Tykocki, Boerman, et Jackson 2017),
- Des protéines du cytosquelette, directement impliquées dans la contraction telles que l'actine musculaire lisse (SMA), ou la myosine 11 (Myo11).

Ce phénotype dit “contractile” n'est pas le seul exprimé par les cellules musculaires lisses vasculaires. En effet, au cours du développement et lors de certaines situations pathologiques, les cellules musculaires lisses vasculaires présentent un phénotype dit “productif”. Ce phénotype est caractérisé par une diminution, voire une absence de contractilité, une prolifération et une capacité de migration cellulaire accrues, l'expression de facteurs mitogènes tels que le PDGFR β ou le facteur de croissance fibroblastique basique (bFGF)(Kato et al. 1998), la synthèse de lame basale.

Le passage d'un phénotype à l'autre est modulé par l'environnement cellulaire : cellules endothéliales (Hirschi et al. 1999; Clowes, Reidy, et Clowes 1983) ou astrocytaires (Z.-L. Chen et al. 2013)), moléculaire (lame basale (Z.-L. Chen et al. 2013) et mécanique (pulsatilité cardiaque (Hsu et al. 2011)).

A l'image des péricytes, les cellules musculaires lisses vasculaires pourraient participer à la réponse inflammatoire notamment par la production de cytokines (Rong et al. 2002) mais cette fonction n'a été que peu – voire pas du tout - pas étudiée dans le cerveau.

2.1.1.4. Les fibroblastes vasculaires

Des études récentes en séquençage ARN de cellule unique ont permis de mettre en évidence l'existence de fibroblastes parmi les cellules murales de l'unité gliovasculaire (Saunders et al. 2018; Vanlandewijck et al. 2018; Zeisel et al. 2015). Ces cellules sont présentes dans les espaces de Virchow-Robin (Figure 3). Ces espaces ont été découverts au cours du XIX^e siècle, par Rudolf Virchow et Charles Philippe Robin et sont compris entre la tunique la plus externe des vaisseaux et les PAPVs autour des gros vaisseaux pénétrants sur une courte distance. Les fibroblastes présents dans ces espaces participent à la formation de la lame basale en exprimant des protéines de la matrice extracellulaire notamment des enzymes de modification du collagène (Soderblom et al. 2013; Vanlandewijck et al. 2018; Rajan et al. 2020). Ces cellules présentent plusieurs marqueurs similaires aux péricytes comme le PDGFR β (Soderblom et al. 2013; Vanlandewijck et al. 2018). Cependant, la localisation spécifique de ces fibroblastes et leur morphologie plus arrondie avec des prolongements restreints permet de différencier les deux types cellulaires.

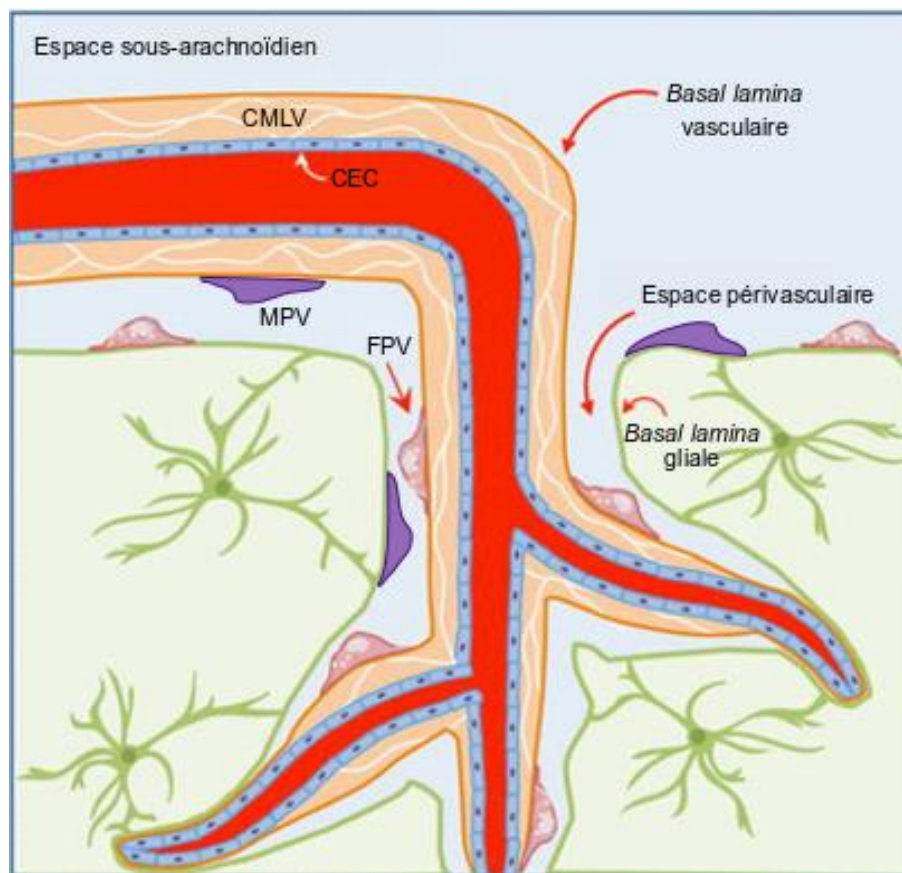


Figure 3 : Schéma représentatif des espaces périvasculaires de Virchow-Robin (CMLV : cellule musculaire lisse ; CEC : cellule endothéliale cérébrale ; PVM : macrophage périvasculaire ; FPV : fibroblaste périvasculaire). Adapté de Faraco *et al.* 2017

En plus de leur participation à la formation de la lame basale, ces cellules participent également à la réponse immunitaire et à l'inflammation (Månberg et al. 2021; Guan et al. 2021). Une analyse récente en *single cell* révèle que ces cellules expriment aussi de nombreux transporteurs suggérant leur implication dans l'homéostasie vasculaire (Saunders et al. 2018).

2.1.1.5. Les macrophages résidents

Les macrophages résidents de la lame basale sont des cellules amiboïdes également présentes dans les espaces périvasculaires des artérioles et des veinules et particulièrement dans les espaces de Virchow-Robin (Figure 3) (Yang, Guo, et Zhang 2019; Faraco et al. 2017).

Ces cellules proches moléculairement des microglies cérébrales, participent à la réponse immunitaire et sont notamment capables de phagocytose (Lapenna, De Palma, et Lewis 2018; Kierdorf et al. 2019; Hawkes et McLaurin 2009).

Cependant, leurs rôles, encore peu connus, ne se limitent pas à la participation au système immunitaire. Elles modulent par exemple les cellules endothéliales en limitant leur expression de marqueurs pro-inflammatoires (Serrats et al. 2010), en favorisant l'expression de molécules des jonctions serrées (Zenker et al. 2003) et leur expression du transporteur du glucose Slc2a1 (Jais et al. 2016).

2.1.1.6. La lame basale

La lame basale cérébrale est une couche de matrice extracellulaire présente entre le pôle basal des cellules endothéliales et les pieds astrocytaires périvasculaires dans laquelle se trouvent les cellules murales et les espaces périvasculaires (Figure 1, 2 et 3). Sa composition varie d'un type de vaisseau à l'autre. Elle est formée de molécules sécrétées à la fois par les cellules endothéliales, les astrocytes et par les cellules murales :

- Le collagène IV est le principal composant de la lame basale cérébrale. Il est sécrété à la fois par les cellules endothéliales, les péricytes, les fibroblastes et les astrocytes (Jeanne, Jorgensen, et Gould 2015; Saunders et al. 2018). Cette protéine trimérique est essentielle au maintien de la lame basale et du phénotype de barrière des vaisseaux cérébraux (Jeanne, Jorgensen, et Gould 2015; Favor et al. 2007).

- Les laminines constituent une famille de protéines trimériques et cruciformes. Actuellement, cinq sous-unités α , quatre sous-unités β et trois sous-unités γ ont été identifiées (Durbeej 2009; Xu, Nirwane, et Yao 2019). Il existe donc un grand nombre d'isoformes grâce aux combinaisons possibles entre les différentes sous-unités des laminines. Les laminines de la lame basale sont sécrétées à la fois par les cellules endothéliales, les fibroblastes, les astrocytes et les péricytes qui synthétisent chacun leurs propres isoformes. Par exemple, les cellules endothéliales vont sécréter la laminine $\alpha4\beta1\gamma1$ (-411) alors que les astrocytes expriment majoritairement la laminine-211 (Moore et Winder 2010; Jucker et al. 1996).
- Des glycoprotéines de la famille des héparanes sulfates protéoglycans (HSPG) comme l'agrine ou le perlecan, qui sont de très grosses protéines (environ 470 kDa pour le perlecan). Le perlecan (HSPG2) est sécrétée par les cellules vasculaires et une déficience totale en perlecan est létale mais des études embryologiques chez la souris ont montré que la lame basale se formait normalement chez les souris déficientes (Costell et al. 1999; Arikawa-Hirasawa et al. 1999).
- Le Nidogène, aussi appelé entactine, est présent dans la lame basale sous deux isoformes : nidogène 1 et 2. Ces deux isoformes sont exprimées par les fibroblastes, les péricytes, les cellules musculaires lisses vasculaires et dans le cas du nidogène 1 également par les cellules endothéliales (Vanlandewijck et al. 2018). Cette protéine relie le réseau de collagène IV avec les laminines. Étonnamment, les souris déficientes en nidogène 1 ou 2 ne présentent que peu d'altérations vasculaires (Murshed et al. 2000; Schymeinsky et al. 2002) mais les souris déficientes pour les deux isoformes simultanément ne survivent pas plus de 24h après la naissance (Bader et al. 2005), suggérant que les deux isoformes peuvent se compenser l'une l'autre.
- D'autres glycoprotéines plus minoritaires dont le rôle n'est pas toujours totalement élucidé sont la vitronectine (produite par les péricytes des capillaires) et la protéine sécrétée acide et riche en cystéine (SPARC, ou ostéonectine, exprimée par les vaisseaux et les astrocytes)
- Enfin certains composants de la lame basale ne sont exprimés que dans des situations pathologiques ou au cours du développement comme la fibronectine (Krum, More, et Rosenstein 1991), les métalloprotéases (MMP) ou la plasmine. Ces deux dernières jouent un rôle dans le remodelage de la lame basale en dégradant les protéines qui la constituent.

L'ensemble des cellules de l'unité gliovasculaire expriment des protéines transmembranaires telles que les intégrines, les dystroglycans ou les sarcoglycans permettant

l'ancrage de leur cytosquelette à la lame basale (Vanlandewijck et al. 2018; Moore et Winder 2010).

2.1.2. Les astrocytes : des cellules d'une grande diversité

Si en 1851, Heinrich Müller a déjà observé la glie radiaire de la rétine (Verkhatsky et al. 2019), cinq ans plus tard, Rudolf Virchow, qui a participé à la découverte des espaces périvasculaires éponymes, évoque pour la première fois les cellules gliales cérébrales (Virchow 1858). Pour décrire ces cellules il utilise le mot "*Zwischenmasse*" qui pourrait être traduit par "tissus intermédiaire". En effet, Rudolf Virchow considère les cellules gliales cérébrales comme un tissu conjonctif permettant l'organisation spatiale des neurones et des vaisseaux sanguins. Cette hypothèse perdure pendant tout le XIX^e siècle, période prolifique en termes de descriptions de la glie, et jusqu'au milieu du XX^e siècle. Ainsi, Otto Deiters (Deiters 1865), décrit en 1865 ces cellules comme "*Bindesubstanzzelle*", ce qui peut être traduit par "tissu de liaison". Leopold Besser les décrit comme "*Fasernetz sternförmiger Zellen*" ou "cellules étoilées du tissu fibreux" en 1866. Puis, l'année suivante, Carl Frommann est le premier à introduire la notion de "colle" dans sa description de la glie, en la nommant "*Leim erfüllten Interstitien*" c'est-à-dire "*interstitium* rempli de colle". C'est d'ailleurs de cette hypothèse dont est tiré le nom "glie" issu du mot grec « γλία » ou « *gloíás* », qui signifie « colle » (Verkhatsky et al. 2019).

En 1870, Camillo Golgi utilise une coloration à l'argentique qui lui permet une description extrêmement fine des cellules gliales qu'il nomme « neuroglia », les différenciant ainsi véritablement des neurones. Il décrit notamment des cellules rondes avec de nombreux prolongements fibreux s'étendant dans toutes les directions et connectés aux vaisseaux sanguins ; il s'agit vraisemblablement de la première description précise des astrocytes. De cette conformation particulière, il tire l'hypothèse que ces cellules sont utiles à la distribution des substances nutritives aux neurones (C. Golgi 1903; Camillo Golgi 1885).

Le mot "astrocyte" pour désigner ces cellules a été popularisé par Santiago Ramón y Cajal qui a obtenu avec Camillo Golgi le prix Nobel de Physiologie en 1906 « en reconnaissance de leurs travaux sur la structure du système nerveux ». A la suite des travaux de Camillo Golgi, il a perfectionné sa technique de marquage avec du chlorure d'or et du mercure, et étudié les cellules gliales, permettant ainsi de différencier les astrocytes des oligodendrocytes et des microglies (García-Marín, García-López, et Freire 2007). Il fut l'un des premiers auteurs à considérer que les astrocytes pouvaient jouer un rôle dans la transmission d'informations mais aussi dans le contrôle du flux sanguin cérébral (Ramon y Cajal 1895).

Le terme astrocytes fait ainsi référence à la forte ramification de ces cellules (Figure 1). Les astrocytes vont ainsi présenter de nombreux prolongements s'articulant autour de leur corps cellulaire. Le nombre moyen de prolongements astrocytaires est dépendant de la technique utilisée pour le mesurer. Ainsi, dans le cortex, dans des astrocytes dont le cytoplasme a été marqué par une technique recombinante d'expression constitutive de marqueurs fluorescents et imagés par microscopie biphotonique, on observe $813,5 \pm 110$ prolongements par astrocytes (Clavreul et al. 2019). Tandis que lorsque l'on observe des astrocytes de cette même région cérébrale mais par une technique de microscopie électronique, on compte environ 4000 prolongements par astrocytes (Clavreul et al. 2019). Cette dernière technique permet de révéler des prolongements d'une extrême finesse et ainsi de révéler toute la complexité de la morphologie astrocytaire. Ces cellules présentent donc une grande surface membranaire propice aux contacts et aux échanges intercellulaires (surface/volume = 4.39 ± 0.3 pour les astrocytes tandis que des cellules comme les neurones ou les microglies ont un ratio surface/volume de respectivement 1.63 ± 0.05 et 2.8 ± 0.3 (Calì et al. 2019).

Les astrocytes interagissent avec les différents types de cellules cérébrales : avec d'autres astrocytes, les autres cellules gliales (microglies, oligodendrocytes, épendymocytes, *etc.*) les neurones, mais aussi les vaisseaux sanguins cérébraux. Ils sont ainsi capables de participer à différentes unités fonctionnelles multicellulaires comme l'unité gliovasculaire ou la synapse tripartite. Pour cela ils forment des interfaces particulières appelées respectivement les prolongements astrocytaires pérисynaptiques et les PAPVs (Figure 4).

Les prolongements astrocytaires pérисynaptiques sont les terminaisons de prolongements astrocytaires accolés aux synapses qui semblent représenter 70 à 80% des membranes astrocytaires (Wolff 1970). En effet la majorité des synapses neuronales (62% dans l'hippocampe et environ 60% dans l'ensemble du cerveau) sont contacté par un ou plusieurs prolongements astrocytaires pérисynaptiques (Witcher, Kirov, et Harris 2007) et un seul astrocyte peut contacter de très nombreuses synapses. Par exemple un astrocyte de la région CA1 du l'hippocampe pourrait contacter environ 140 000 synapses grâce à ses nombreux prolongements (Bushong et al. 2002). Les prolongements astrocytaires pérисynaptiques forment un compartiment en contact étroit les éléments synaptiques et plus particulièrement avec le bouton post-synaptique évitant ainsi une activation exagérée et délétère de l'élément post-synaptique en cas de surplus de libération glutamatergique (Lehre et Rusakov 2002). Ainsi les astrocytes, via leurs prolongements astrocytaires pérисynaptiques, participent physiquement à la régulation de la transmission synaptique mais également par des moyens moléculaires leur permettant par exemple le maintien

de l'homéostasie ionique de la fente synaptique (Ghézali, Dallérac, et Rouach 2016; Dallérac, Zapata, et Rouach 2018). Ces prolongements astrocytaires périssynaptiques ont une forme et une taille très variable. En effet, les études en microscopies électroniques semblent indiquer que la majorité des prolongements astrocytaires périssynaptiques a un diamètre inférieur à 100nm mais que certains prolongements astrocytaires périssynaptiques peuvent avoir un diamètre d'environ 1µm (Reichenbach, Derouiche, et Kirchhoff 2010). La petite taille de ce compartiment cellulaire limite la présence d'organites en son sein (Derouiche, Haseleu, et Korf 2015; Mazaré et al. 2020; Mazaré, Oudart, et Cohen-Salmon 2021)(Figure 4).

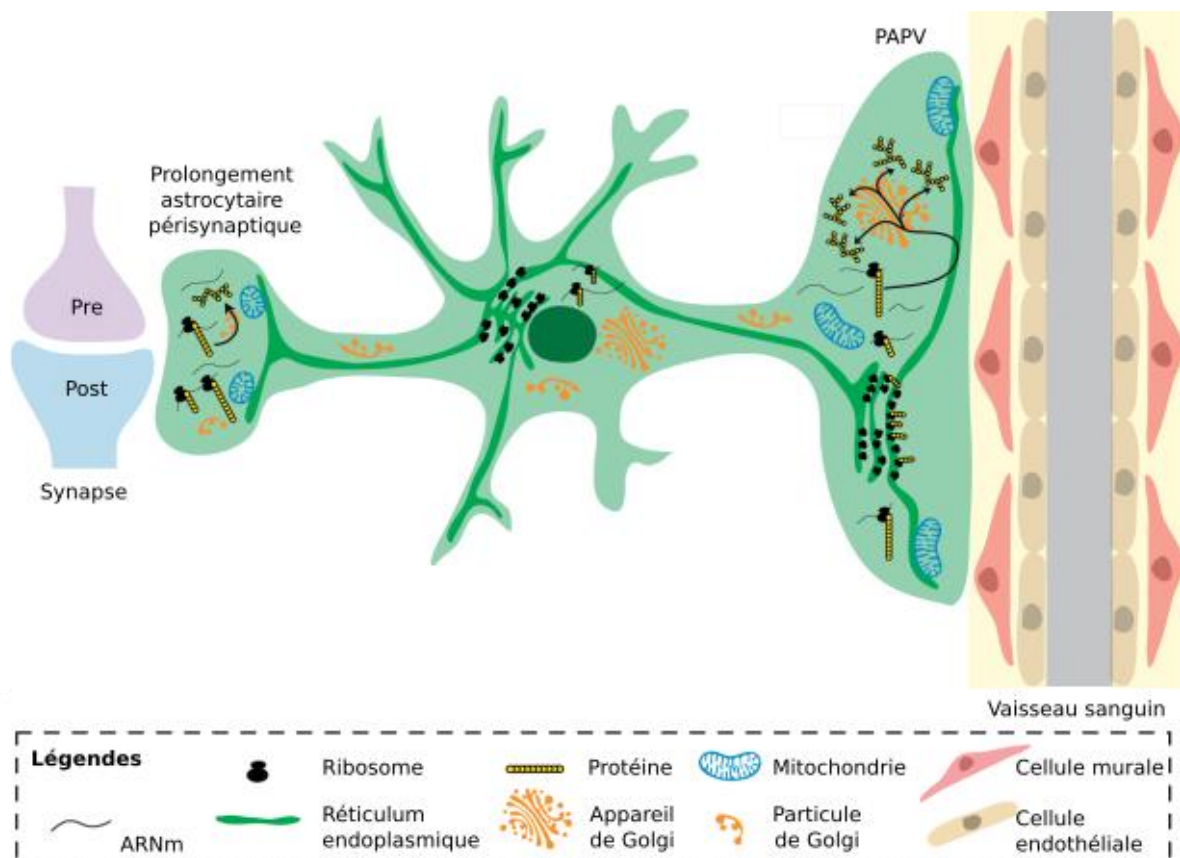


Figure 4: Organisation intracellulaire des prolongements astrocytaires périssynaptiques et les pieds astrocytaires périvasculaires. Les astrocytes sont des cellules étoilées qui émettent des prolongements en contact des synapses et qui avec les éléments pré- et post-synaptiques forment la synapse tripartite. Ils émettent également des prolongements terminés par des pieds au contact des vaisseaux sanguins appelés PAPVs. Ces deux compartiments sont le siège d'une traduction locale et d'une maturation protéique post-traductionnelle. Adapté de Mazaré, Oudart, et Cohen-Salmon 2021.

En revanche les PAPVs, forment un compartiment subcellulaire plus grand. En effet, leur surface de contact avec les vaisseaux est variable mais majoritairement comprise entre 5 et 200µm² avec en moyenne des pieds de 8µm de diamètre (M. X. Wang et al. 2020). Il a été

récemment montré que la surface de contact vasculaire des PAPVs est dépendante du diamètre et de l'origine vasculaire artérielle, veineuse ou capillaire (M. X. Wang et al. 2020). Comme dans les prolongements astrocytaires périssynaptiques, on observe la présence de mitochondries dans les PAPVs, mais également la présence de réticulum endoplasmique et d'appareil de Golgi (Boulay et al. 2017) (Figure 4). A l'âge adulte le réseau vasculaire cérébral est quasiment entièrement recouvert par les PAPVs (Mathiisen et al. 2010) (Article 3). En moyenne, chaque astrocyte possède entre un et sept PAPVs (Bindocci et al. 2017) qui occupent environ 4 % du volume astrocytaire. Les PAPVs vont participer à de nombreuses fonctions en liens avec les vaisseaux sanguins cérébraux. Ils vont notamment participer au maintien de la barrière hémato-encéphalique, à la quiescence immunitaire cérébrale, ou à l'homéostasie périvasculaire. L'ensemble de ces fonctions feront l'objet d'une description plus détaillée dans une autre partie de ce chapitre.

Il existe une exception à la couverture totale des vaisseaux cérébraux par les astrocytes : les organes circumventriculaires. Cette zone spécifique de l'hypothalamus bordant le troisième et le quatrième ventricule ne possède non seulement pas de couverture astrocytaire de ses vaisseaux mais de plus présente des vaisseaux dit fenêtrés et n'abordant donc pas le phénotype de barrière hémato-encéphalique des autres vaisseaux cérébraux. Cependant, cette zone cérébrale reste protégée du contenu vasculaire. En effet, les vaisseaux sanguins y sont couverts par les prolongements issus de cellules particulières : les tanocytes. Ces cellules sont des cellules radiales, unipolaires et peu ramifiées. Leur fonction sont à l'interface entre les épendymocytes (puisque ces cellules bordent les troisièmes et quatrième ventricules)(Langlet et al. 2013; Rodríguez et al. 2005), des astrocytes (par leur fonction en liens avec les vaisseaux et de maintien de l'homéostasie cérébrale)(Rodríguez et al. 2005) et des cellules progénitrices radiales (puisque'il a été observé une capacité de ces cellules à se diviser en neurones ou en cellules gliales, même après la naissance)(Yoo et al. 2021).

2.1.3. Hétérogénéité morphologique

Santiago Ramón y Cajal et Camillo Golgi mettaient déjà en évidence une diversité morphologique astrocytaire dans leurs travaux. La morphologie des astrocytes semble être notamment induite par leur localisation, et donc par leur environnement.

Ainsi, au sein du cortex du cervelet, dans la couche des cellules de Purkinje, on trouve des cellules gliales appelées glie de Bergmann, du nom de celui qui les décrit en 1857. On les désigne

comme “astrocytes spécialisés” du fait de leur origine et de leur proximité moléculaire et fonctionnelle avec les astrocytes. Elles sont uniquement présentes dans cette zone spécifique et ont une morphologie particulière : leur corps cellulaire est situé dans la couche des cellules de Purkinje, duquel partent de grands prolongements radiaires en direction de la couche la plus externe du cortex cérébelleux. La glie de Bergmann est donc à la fois une des seules sortes d’astrocytes unipolaire et aussi une des seules à présenter des prolongements radiaires à l’âge adulte (Araujo, Carpi-Santos, et Gomes 2019; Verkhratsky et al. 2019).

Les cellules de Bergmann ne sont pas les seules cellules astrocytaires du cervelet : on peut également y observer un type d’astrocytes très peu étudié (Goertzen et Veh 2018) et découvert par le fils de Ramon y Cajal : les cellules de Fananas (y Fañanas 1917). Ces cellules présentent également une morphologie très particulière avec des prolongements similaires et parallèles à ceux des cellules de Bergman, mais plus petits (Jakob 1928).

Comme dans le cerveau, on peut observer des astrocytes dit protoplasmiques (Figure 5), qui composent également la majeure partie des astrocytes cérébraux. Ces astrocytes se caractérisent par des prolongements fins, multipolaires et très nombreux (environ 95 % de leur volume). Via ces prolongements, les astrocytes se contactent entre eux et contactent également d’autres types cellulaires tels que les neurones ou les oligodendrocytes, mais aussi les vaisseaux sanguins. Dans le cortex cérébral, les astrocytes protoplasmiques ont longtemps été pris comme un ensemble de cellules semblables. Toutefois, de plus en plus d’études tendent à montrer une hétérogénéité de ces cellules en fonction de leur environnement. C’est le cas dans le cortex, sur lequel s’est focalisée une étude publiée en 2018 dans *Nature Communication* (Lanjakornsiripan et al. 2018). Les auteurs ont pu observer notamment que les astrocytes des couches II et III du cortex s’étendaient perpendiculairement à la surface corticale, tandis que les astrocytes de la couche VI s’étendaient parallèlement. Ils ont également observé une plus grande arborisation des astrocytes des couches II et III que dans les quatre autres couches. Ces observations ont été vérifiées en utilisant à la fois des immunomarquages de protéines astrocytaires marquant la protéine des filaments intermédiaires astrocytaires (en anglais *glial fibrillary acidic protein* ; GFAP) ou la protéine de liaison au calcium S100 β , et également en utilisant des souris transgéniques exprimant des protéines fluorescentes sous le contrôle des promoteurs astrocytaires *Glast* (Slc1a3) ou *Sox9*. Dans une étude de 2019, publiée dans *Nature Communication*, Karine Loulier et son équipe ont également observé des différences morphologiques astrocytaires entre les différentes couches du cortex, notamment des différences de volume occupé et de nombre de cellules contactées (neurones ou cellules gliales) par chaque astrocyte (Abdeladim et al. 2019).

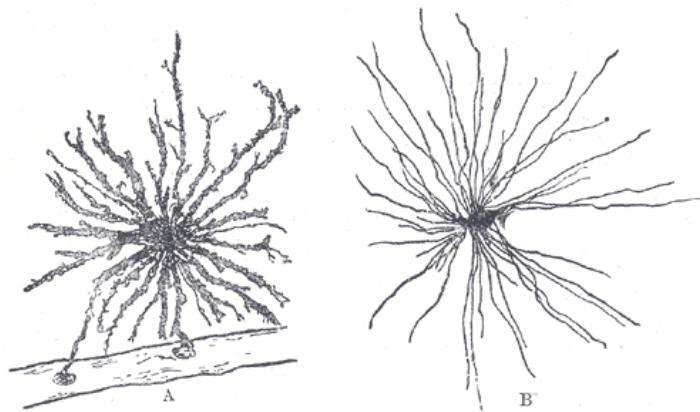


Figure 5 : Hétérogénéité morphologique astrocytaire. Représentation schématique d'un astrocyte protoplasmique (A) et d'un astrocyte fibrillaire (B) humains révélés par une coloration de Golgi par Henry Gray (1981).

Dans la substance blanche cérébrale, les astrocytes sont dits « fibrillaires » (Figure 5). En effet, ces astrocytes présentent un corps cellulaire plus petit avec des prolongements alignés sur les fibres myéliniques leur donnant une morphologie longiligne en comparaison avec les astrocytes protoplasmiques (Lundgaard et al. 2014). Lorsque l'on greffe des astrocytes exogènes dans le cerveau d'une souris, ceux-ci vont acquérir une morphologie protoplasmique ou fibrillaire selon qu'ils soient greffés dans la substance grise ou la substance blanche respectivement (Han et al. 2013). Ceci suggère que ces différences morphologiques sont conduites par des stimuli environnementaux et non par l'origine de ces cellules.

Des différences morphologiques entre les astrocytes de différentes espèces ont aussi été observées. Par exemple, les mammifères présentent tous des astrocytes mais leur nombre, taille et arborisation varient selon l'espèce observée. En effet, le ratio approximatif des cellules gliales/neurones est de 0,3 chez le rongeur, de 1,2 chez l'être humain et monte jusqu'à 8 chez certaines espèces de baleines (Christensen et al. 2007). Comparés à ceux des souris, les astrocytes humains sont plus grands, plus ramifiés et plus hétérogènes. Ils contactent environ vingt fois plus de synapses que les astrocytes murins (Oberheim et al. 2009).

Ces différences de complexité astrocytaire entre les espèces et leur corrélation avec les capacités cognitives de celles-ci, participent à renforcer l'hypothèse d'un lien direct entre astrocytes et capacités cognitives. En effet, cette hypothèse a été proposée par de nombreux auteurs au cours de l'histoire scientifique (Bellini-Leite et Pereira 2013; Caudle 2006; Pereira Jr et Furlan 2010; Pereira Jr, Santos, et Barrros 2013; J. M. Robertson 2013). Aujourd'hui, trois

hypothèses, rassemblées dans l'ouvrage d'Yves Agid et Pierre Magistretti, *L'Homme glial* (Agid et Magistretti 2018), s'opposent sur ce sujet :

- Les neurones sont les seules cellules responsables du cheminement cérébral de l'information et de la pensée (cognition, conscience, créativité...);
- Les neurones sont responsables du cheminement cérébral de l'information, mais la pensée est produite par les cellules gliales ;
- Les neurones et cellules gliales participent tous deux à l'élaboration de la pensée.

Au moment de la découverte des cellules gliales, seule la première des trois hypothèses ci-dessus était admise. Cependant les nombreuses études reliant cognition et astrocytes font aujourd'hui pencher la balance en faveur des deux autres hypothèses. On peut par exemple citer la célèbre étude de Han *et alius* de 2013 : après avoir greffé des souris adultes avec des progéniteurs astrocytaires humains, les auteurs ont observé une amélioration des scores aux tests cognitifs de ces souris (Han et al. 2013; Ribot et al. 2021).

2.1.4. Hétérogénéité moléculaire

Les astrocytes sont aussi hétérogènes par la grande diversité des molécules qu'ils expriment. Ainsi, il est difficile de trouver un marqueur pan-astrocytaire spécifique de ces cellules. Par exemple, Aldh11, une déshydrogénase, est exprimée par la grande majorité des astrocytes, mais elle est également exprimée par les progéniteurs astrocytaires (Zhang et al. 2016). En revanche, la GFAP est bien spécifique des astrocytes et fortement exprimée par ces cellules dans l'hippocampe, mais cette protéine est très faiblement exprimée par les astrocytes du cortex cérébral (Y. Lee et al. 2008).

Au sein même d'une région, les astrocytes n'expriment pas les mêmes molécules. Ainsi, après avoir étudié la morphologie astrocytaire des différentes couches corticales, Lee *et alius*. ont observé une différence d'expression de gènes astrocytaires entre les régions centrales et les régions périphériques du cortex. Par RT-PCR et immunomarquages fluorescents, ils ont, par exemple, observé que les astrocytes des couches supérieures exprimaient davantage le facteur de transcription Lef1, tandis que ceux des couches centrales exprimaient plutôt le facteur de transcription Ide1.

Le développement récent des techniques de séquençage en cellule unique a permis de mettre en évidence cette diversité moléculaire astrocytaire, entre les différentes régions cérébrales

(Batiuk et al. 2020), au cours du développement (Kalish et al. 2018) ou au sein d'une même région (Bayraktar et al. 2020).

2.1.5. Polarité morphologique et moléculaire, l'hétérogénéité intracellulaire

Enfin, les astrocytes sont des cellules polarisées. Leur répertoire moléculaire est donc organisé spatialement, au niveau subcellulaire. Cette organisation concerne les protéines astrocytaires, mais également leurs ARNm. En effet, les astrocytes comme d'autres cellules polarisées et notamment les neurones (Bodian 1965; Berry et Brown 1996; Zhong, Zhang, et Bloch 2006) sont capables d'adresser certains ARNm spécifiquement et à distance de leurs noyaux, afin qu'ils soient traduits localement dans leurs prolongements pérисynaptiques (Mazaré et al. 2020; Sakers et al. 2017; Oudart et al. 2020) et périvasculaires (Boulay et al. 2017) (Figure 4).

Si les fonctions de cette traduction locale restent encore à définir, celle-ci pourrait faciliter la polarisation protéique et donc fonctionnelle des différents compartiments subcellulaires astrocytaires. En effet, ces différents compartiments se caractérisent par des fonctions spécifiques en lien avec les cellules environnantes, et donc par un répertoire moléculaire spécifique.

Les prolongements astrocytaires pérисynaptiques forment un compartiment en contact étroit avec les dendrites et les synapses où les astrocytes régulent la transmission synaptique (Dallérac, Zapata, et Rouach 2018; Ghézali, Dallérac, et Rouach 2016). Par exemple, en exprimant Glt-1 et Glast dans ce compartiment, les astrocytes participent au recyclage du glutamate relargué par les neurones excitateurs dans leurs synapses, comme évoqué précédemment. Des héli-canaux de Cx43 présents dans les prolongements astrocytaires pérисynaptiques participent aussi à la régulation synaptique en permettant l'excrétion de facteurs neuroactifs tels que l'ATP, le potassium ou le glutamate (Chever, Lee, et Rouach 2014).

Toutefois, la modification de la transmission synaptique n'est pas la seule activité astrocytaire en lien avec les neurones. Les astrocytes vont participer à leur métabolisme énergétique grâce la navette lactate neuro-gliale (en anglais : *astrocyte-neuron lactate shuttle*). Succinctement, les astrocytes prélèvent le glucose depuis les vaisseaux sanguins et le transforment en lactate qu'ils transfèrent aux neurones (Magistretti et Allaman 2015; Weber et Barros 2015). Les astrocytes contribuent également à éliminer et recycler les substances produites par les neurones. Comme évoqué précédemment, ils contribuent au recyclage des neurotransmetteurs

présents dans la fente synaptique, mais également d'autres substances issues des neurones comme les espèces réactives de l'oxygène (Weber et Barros 2015) ou les protéines amyloïde β (Thal 2012). Enfin, les astrocytes participent au raffinement des synapses en phagocytant les synapses surnuméraires par des voies MEGF10 et MERTK (J.-H. Lee et al. 2021; Chung et al. 2013).

Les astrocytes sont des cellules organisées en réseau, tout d'abord spatialement : chaque astrocyte occupe un territoire ; les territoires ne se recoupent que très peu (Bushong et al. 2002; Ogata et Kosaka 2002; Halassa et al. 2007). A l'endroit où ces territoires entrent en contact, les astrocytes sont connectés par l'expression de jonctions communicantes permettant le passage de petites molécules inférieures à 1,2 kDa. Ces jonctions sont composées de deux héli-canaux de deux cellules adjacentes accolés l'un à l'autre de façon à former un pore intercellulaire. Ces héli-canaux sont eux-mêmes formés de six protéines transmembranaires appelées connexines. Dans le cerveau, les astrocytes expriment principalement et spécifiquement les Cx30 et 43 (Rash et al. 2001). Ainsi, on estime qu'un astrocyte de la région CA1 de l'hippocampe peut être couplé à plus d'une vingtaine d'autres astrocytes (Bedner et al. 2015).

Ce réseau permet de tamponner le potassium en le redistribuant (Wallraff et al. 2006) ou d'induire une redistribution du glucose en fonction de l'activité neuronale à travers le réseau (Rouach et al. 2008). Cependant, la fonction la plus énigmatique et la plus fascinante de cette organisation en réseau est sûrement la propagation des vagues calciques astrocytaires. Contrairement aux neurones, les astrocytes sont des cellules dites électriquement silencieuses, elles utilisent donc un autre moyen afin de communiquer d'une cellule à l'autre : le calcium (Sakers et al. 2017; X. Wang et al. 2006; Schummers, Yu, et Sur 2008). Depuis une trentaine d'années, les techniques d'imagerie calcique se sont développées et améliorées pour permettre une étude plus fine de cette communication. Elles ont permis de mettre en évidence différents *stimuli* déclencheurs de ces vagues (Volterra et Meldolesi 2005). Cependant la fonction de ces vagues reste encore débattue. Celles-ci pourraient participer au couplage neurovasculaire (Loaiza, Porrás, et Barros 2003; Kurth-Nelson, Mishra, et Newman 2009), à la neurotransmission (X. Wang et al. 2006; Schummers, Yu, et Sur 2008; Parpura et al. 1994) ou encore aux processus de mémorisation (Henneberger et al. 2010).

Les astrocytes interagissent également avec d'autres cellules gliales : les oligodendrocytes. Dans la substance blanche cérébrale, les oligodendrocytes s'enroulent autour de l'axone neuronal formant ainsi la gaine de myéline. Au cours du développement, les interactions entre ces deux types cellulaires permettent leur maturation mutuelle. Astrocytes et oligodendrocytes forment également des jonctions communicantes entre les héli-canaux Cx30 ou Cx43 astrocytaires avec

respectivement les héli-canaux Cx32 ou Cx47 oligodendrocytaires (Orthmann-Murphy, Abrams, et Scherer 2008). Plusieurs études ont montré un lien entre les pathologies démyélinisantes et la modification de ces jonctions communicantes sans que toutefois le rapport de cause à effet soit établi.

2.2. Les astrocytes au sein de l'unité gliovasculaire

2.2.1. Les PAPVs

Les astrocytes émettent en moyenne entre cinq et sept prolongements, qui se terminent par des pieds et qui sont en contact avec les vaisseaux sanguins. Ainsi, à l'âge adulte, ces prolongements recouvrent la quasi-totalité des vaisseaux sanguins cérébraux (McCaslin et al. 2011; Mathiisen et al. 2010)(Figure 1). On ne sait pas si ces structures sont fixes ou mobiles. Cependant en 2019, Kubotera et ses collègues ont observé la repousse de PAPVs entre une heure et cinq jours après leur ablation au laser (Kubotera et al. 2019). Ces expériences pourraient indiquer une certaine plasticité des PAPVs ou au moins une capacité à se reformer après altération.

Comme évoqué précédemment, les PAPVs possède un répertoire moléculaire polarisé (Boulay et al. 2017). On observe en effet dans ce compartiment cellulaire un enrichissement spécifique de certaines protéines. Ces protéines sont majoritairement sécrétées ou membranaires et participent aux fonctions de l'unité gliovasculaire. On peut par exemple citer des protéines impliquées dans l'homéostasie vasculaire comme l'Aqp4, la Cx26, ou Kir4.1, un canal potassique (Nagelhus, Mathiisen, et Ottersen 2004, 1; Higashi et al. 2001; Nagy et al. 2011) ou dans la maturation vasculaire comme Testican-2 (Nakada et al. 2003) ou l'angiotensine II (Füchtbauer et al. 2011).

En 2017, nous avons observé que la plupart des ARNm codant pour ces protéines sont enrichis et traduits dans les PAPVs (Boulay et al. 2017) (Figure 4). Nous avons observé dans les PAPVs les différents éléments nécessaires à la machinerie traductionnelle et post-traductionnelle (ribosomes, réticulum endoplasmique et appareil de Golgi) permettant une traduction et une maturation protéique locale.

On peut citer la présence de protéines participant à la morphologie astrocytaire parmi le répertoire des protéines enrichies dans les PAPVs. C'est le cas de la Cx30. Cette protéine enrichie

dans les PAPVs (Rash et al. 2001; Ezan et al. 2012a) participe à l'orientation mais également à la morphologie astrocytaire (Pannasch et al. 2014; Ghézali et al. 2018). De même, la Cx43, autre protéine enrichie dans les PAPVs, participe à la morphologie et au volume astrocytaire (Chever, Lee, et Rouach 2014; Baldwin et al. 2021). Une diminution du volume cellulaire a été observée en altérant l'expression de la protéine d'adhésion, GlialCAM. GlialCAM est une protéine transmembranaire de la famille des immunoglobulines, exprimée très majoritairement par les astrocytes dans le système nerveux central, aux points de contact entre astrocytes et enrichie dans les PAPVs (Hoegg-Beiler et al. 2014; Baldwin et al. 2021). Une thèse datant de 2011 avait déjà montré un effet de cette protéine sur la morphologie et la motilité cellulaire *in vitro* (TING 2011). L'enrichissement de protéines impliquées dans la morphologie astrocytaire à cette interface peut suggérer que le maintien des PAPVs nécessite une forte complexité structurale.

Le maintien de la polarisation moléculaire des PAPVs est notamment permis par des protéines d'ancrage à la matrice extracellulaire. Il existe en effet un complexe associé à la dystrophine (en anglais : *dystrophin-associated protein complex*; DAPC) (Figure 6) participant à la polarisation protéique (Naidoo et Anthony 2020) présent dans les PAPVs (Noël, Tham, et Moukhles 2009). Ce complexe est composé d' α -dystroglycan, de β -dystroglycan, de dystrophine 71, d' α -1 syntrophine (SNTA1), et d' α -dystrobrevin (Naidoo et Anthony 2020). Succinctement, l' α -dystroglycan extracellulaire, relie la laminine présente dans la lame basale au β -dystroglycan transmembranaire (Figure 6). Ce dernier est lié à la dystrophine 71 intracellulaire qui forme des liaisons à la fois avec le cytosquelette d'actine, à α -dystrobrevin et à l' α - syntrophin. Or, l' α -1 syntrophin est relié à l'Aqp4 ou à Kir4.1 permettant ainsi leur ancrage. Plusieurs études ont montré que l'absence d'une seule de ces molécules suffisait à déstabiliser la polarisation de l'Aqp4 et/ou de Kir4.1 (Neely et al. 2001; M. Amiry-Moghaddam, Frydenlund, et Ottersen 2004; Fort et al. 2008; Qiu et al. 2015). Enfin, l' α -dystroglycan étant reliée à la lame basale, la composition de celle-ci influence la polarisation du complexe DAPC et donc celle de l'Aqp4 et de Kir4.1 (Tham et Moukhles 2011; Tham, Joshi, et Moukhles 2016).

D'autres molécules pourraient participer à l'ancrage des protéines de PAPV, comme la protéine transmembranaire intégrine β 1 qui semble également impliquée dans la localisation de l'Aqp4 (Venkatesan et al. 2015).

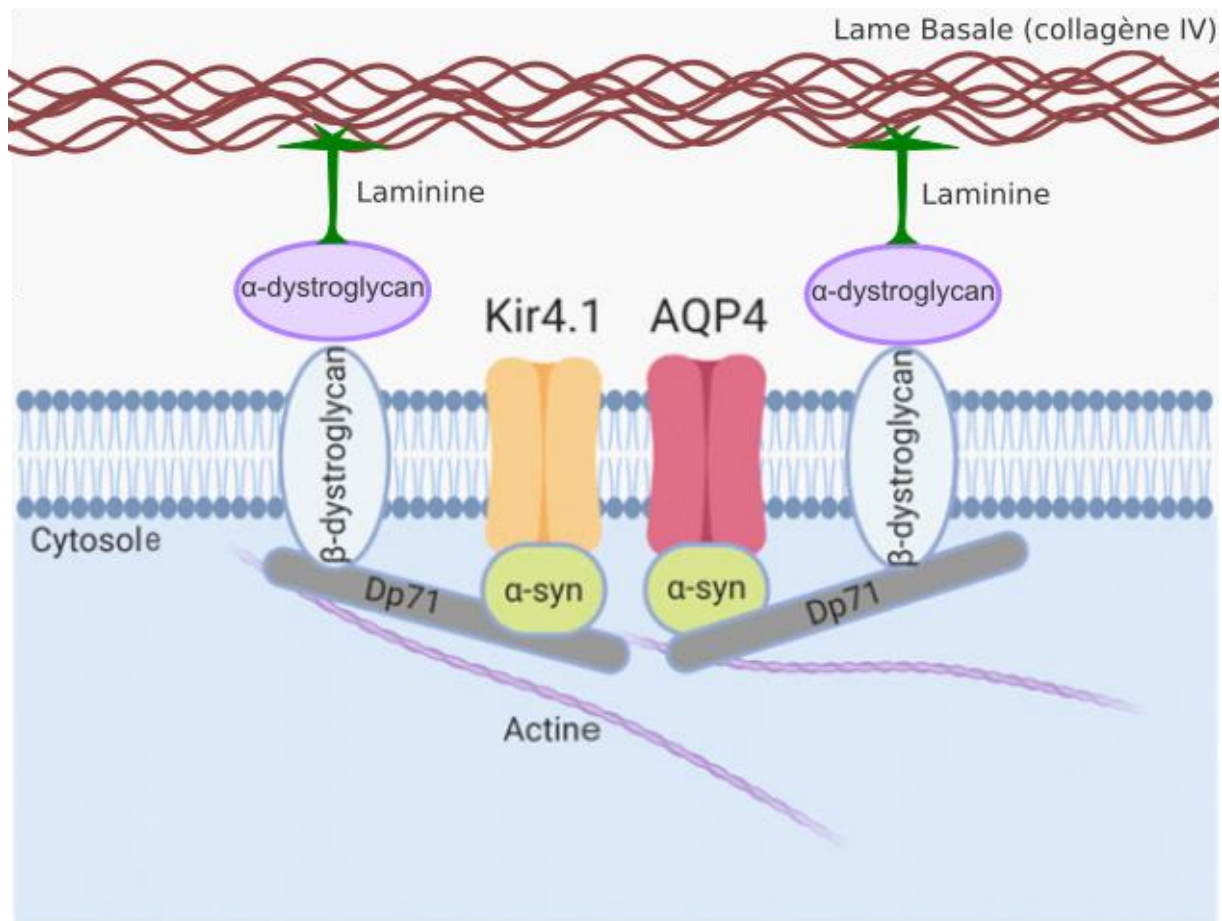


Figure 6: Le complexe DAPC. L' α -dystroglycan extracellulaire, relie la laminine présente dans la lame basale au β -dystroglycan transmembranaire. Ce dernier est lié à la dystrophine 71 (Dp71) intracellulaire qui forme des liaisons à la fois avec le cytosquelette d'actine, à l' α - syntrophine (α -syn). Or, l' α -1 syntrophine est relié à l'Aqp4 ou à Kir4.1 permettant ainsi leur ancrage. Adapté de Naidoo *et* Anthony 2020.

2.2.2. Les fonctions astrocytaires au sein de l'unité gliovasculaire

2.2.2.1. Les astrocytes, les cambusiers du cerveau

Comme évoqué précédemment, le cerveau est un organe gourmand en oxygène et en glucose. Cette appétence est liée à l'activité neuronale qui implique un contrôle strict et énergivore de l'homéostasie ionique. De plus, les neurones ne possèdent pas de stock de glycogène leur permettant de faire face à leur propre demande énergétique.

Les astrocytes participent donc à l'apport énergétique neuronal notamment grâce à un couplage permettant d'optimiser les apports sanguins en fonction de l'activité neuronale. En

effet, une hyperhémie fonctionnelle, c'est-à-dire une augmentation du flux sanguin, est observée en réponse à l'activité synaptique. Les astrocytes par leur relation privilégiée avec les synapses mais également avec les vaisseaux sanguins occupent une place de choix dans ce couplage. Comme précédemment énoncé, les prolongements astrocytaires pérисynaptiques expriment des récepteurs permettant à l'astrocyte de percevoir l'activité synaptique. Cette perception provoque une augmentation du calcium intracellulaire astrocytaire, qui peut être communiqué aux astrocytes proximaux couplés par jonctions communicantes (Cohen-Salmon et al. 2021; Kurth-Nelson, Mishra, et Newman 2009; Attwell et al. 2010; Kim et al. 2016). Cette augmentation calcique est ensuite à l'origine de l'excrétion de facteurs vaso-actifs par les PAPVs en direction des cellules musculaires lisses vasculaires. Ces facteurs peuvent être :

- Le potassium : les canaux potassiques calcium dépendants (BK) peuvent en effet libérer du potassium en réponse à une augmentation de concentration calcique intracellulaire et les cellules musculaires lisses vasculaires expriment des canaux potassiques pouvant induire l'hyperpolarisation ou la dépolarisation membranaire des cellules musculaires lisses vasculaires et donc respectivement leur dilatation ou leur contraction respectivement (Jackson 2017). Dans un article publié en 2010, Hélène Girouard et ses collègues ont démontré que l'induction astrocytaire de la vasodilatation et de la vasoconstriction par l'augmentation calcique était concentration-dépendante. En effet, ils ont observé *ex vivo*, qu'une augmentation calcique modérée astrocytaire induit un relargage potassique modéré via les canaux BK induisant une vasodilatation par hyperpolarisation, tandis qu'une forte concentration calcique, induit un fort relargage potassique responsable d'une vasoconstriction (Girouard et al. 2010).
- Les dérivés de l'acide arachidonique. En effet, il a été démontré qu'une augmentation calcique pouvait activer la phospholipase A2 productrice d'acide arachidonique. Cet acide arachidonique peut ensuite être métabolisé par les cyclooxygénases ou les époxygénases astrocytaires respectivement en prostaglandines ou en acide époxyeicosatriénoïques (Mulligan et MacVicar 2004; X. Peng et al. 2002; Stobart et al. 2013; Attwell et al. 2010). Or ces molécules sont connues pour leur capacité vasodilatatrice sur les cellules musculaires lisses vasculaires.

Dans le noyau arqué de l'hypothalamus et l'éminence médiale, des cellules gliales proches des astrocytes : les tanocytes forment une interface entre le liquide céphalorachidien et les vaisseaux sanguins de cette région (Langlet et al. 2013; Rodríguez et al. 2005). Cette localisation particulière permet à ces cellules proches des astrocytes, d'occuper une place privilégiée dans le

métabolisme cérébral. En effet, elles sont capables de sentir la glycémie dans les vaisseaux qu'elles bordent et le liquide céphalorachidien. Ce signal sera ensuite retranscrit aux neurones hypothalamiques via la sécrétion de molécules comme l'adénosine tri-phosphate ou le lactate (Prevot et al. 2018; Lhomme et al. 2021).

2.2.2.2. Les astrocytes, les Messieurs Propre du cerveau

Le maintien de l'homéostasie tissulaire, c'est-à-dire l'équilibre entre l'apport et l'élimination de l'eau, des ions et des métabolites, est permis par les échanges entre le sang et le liquide interstitiel via les vaisseaux sanguins (et plus particulièrement par les capillaires). Ainsi, on estime qu'en moyenne, chez l'Homme 20 L de sang artériel sont distribués dans le liquide interstitiel et qu'environ 17 L sont recaptés par retour veineux.

Le différentiel de 3 L est recapté par d'autres vaisseaux ayant une anatomie et une composition cellulaire proche des vaisseaux sanguins : les vaisseaux lymphatiques. Ainsi le cerveau est drainé par des vaisseaux situés au niveau des méninges ayant été observés pour la première fois en 1953 par Lecco (Földi et al. 1966), puis oubliés et redécouverts en 2015, et décrits dans deux articles publiés indépendamment et simultanément (Aspelund et al. 2015; Louveau et al. 2015)(Figure 7C). Ces vaisseaux drainent ainsi l'excédent de liquide interstitiel appelé lymphe jusqu'aux ganglions lymphatiques cervicaux où il rejoindra la circulation sanguine. Ils participent ainsi à la détoxification et au drainage tissulaire (évitant ainsi la formation d'œdème) et à la surveillance immunitaire (Aspelund et al. 2016).

Le cerveau possède donc des vaisseaux lymphatiques périphériques mais le parenchyme cérébral ne semble pas présenter de vaisseaux lymphatiques proprement dits. Ainsi jusque dans les années 1990, l'hypothèse majoritairement admise était celle d'un drainage du liquide interstitiel dans le liquide céphalo-rachidien par simple effet de diffusion (Rennels et al. 1985).

Le liquide céphalo-rachidien est un dérivé du plasma sanguin dont la composition est proche (il contient cependant davantage d'ions sodium et chlore et moins d'ions calcium et potassium, de protéines, de glucose et d'acides-aminés). Il est produit par les cellules épendymaires au niveau des plexus choroïdes présents dans les ventricules cérébraux et réabsorbé principalement dans les granulations arachnoïdiennes. Dans la recherche des moyens de régulation du liquide interstitiel, le liquide céphalo-rachidien est un candidat idéal par son renouvellement rapide. En effet, si un corps humain contient environ 125 mL de liquide céphalo-

rachidien, 500 mL sont produits et réabsorbés chaque jour. Le liquide céphalo-rachidien circule dans trois citernes situées en périphérie du SNC (la grande citerne, la citerne postérieure et la citerne inter-pédonculaire), dans les quatre ventricules cérébraux (V1 à V4) et dans l'espace sous-arachnoïdien situé entre la pie mère et l'arachnoïde.

Or la grande distance entre certaines zones du cerveau et les compartiments contenant le liquide céphalo-rachidien mettait en doute l'hypothèse du nettoyage du parenchyme cérébral via le liquide céphalo-rachidien, en tout cas par simple diffusion d'un compartiment à l'autre (Syková et Nicholson 2008).

Les espaces de Virchow-Robin compris entre la tunique la plus externe des vaisseaux et les PAPVs autour des gros vaisseaux pénétrants (Figure 3 et 7C), sont ouverts sur les espaces sous-arachnoïdiens. Au milieu des années 1970, plusieurs auteurs ont mis en évidence la prolongation de ces espaces plus profondément dans le parenchyme et jusqu'au niveau capillaire. Cette découverte a fait émerger l'hypothèse d'une circulation dans ces espaces permettant de relier l'espace sous-arachnoïdien contenant le liquide céphalo-rachidien et le parenchyme contenant le liquide interstitiel (Woollam et Millen 1955; Rennels et al. 1985). Tout d'abord au stade de simple hypothèse, la présence de cette circulation semble se confirmer dans les années 1990 par plusieurs études utilisant différents marqueurs tels que du bleu dextran ou de la peroxydase de raifort mettant en évidence une circulation paravasculaire (Figure 7) communicant avec le liquide céphalo-rachidien (Rennels et al. 1985). Ces études sont cependant restées controversées durant de nombreuses années.

L'évolution des techniques d'imagerie a permis à l'équipe de Maiken Nedergaard de confirmer la présence d'une circulation paravasculaire reliant le liquide céphalo-rachidien et le liquide interstitiel (Ilf et al. 2012). Ils ont, de plus, postulé que les astrocytes jouaient un rôle dans cette circulation et l'ont par conséquent appelée "système glymphatique". Si l'existence du système lymphatique cérébral empruntant les espaces périvasculaires n'est plus remise en question dans les publications récentes (Kumaria et al. 2021; Rosic et al. 2019), le sens du flux et la composition de ce fluide sont encore discutés (Ferris 2021; Bakker, Naessens, et VanBavel 2019).

Les résultats de plusieurs groupes, dont celui de Maiken Nedergaard, ont ainsi montré que le liquide céphalo-rachidien contenu dans l'espace sous-arachnoïdien pénétrait le parenchyme par les espaces périvasculaires artériels en suivant le flux sanguin. Ce liquide céphalo-rachidien serait alors mû de manière pulsatile en suivant le rythme cardiaque et sanguin artériel, profitant de la

continuité de l'espace sous-arachnoïdien et des espaces périvasculaires (Louveau et al. 2017; Iliff et al. 2013; Schley et al. 2006)(Figure 7).

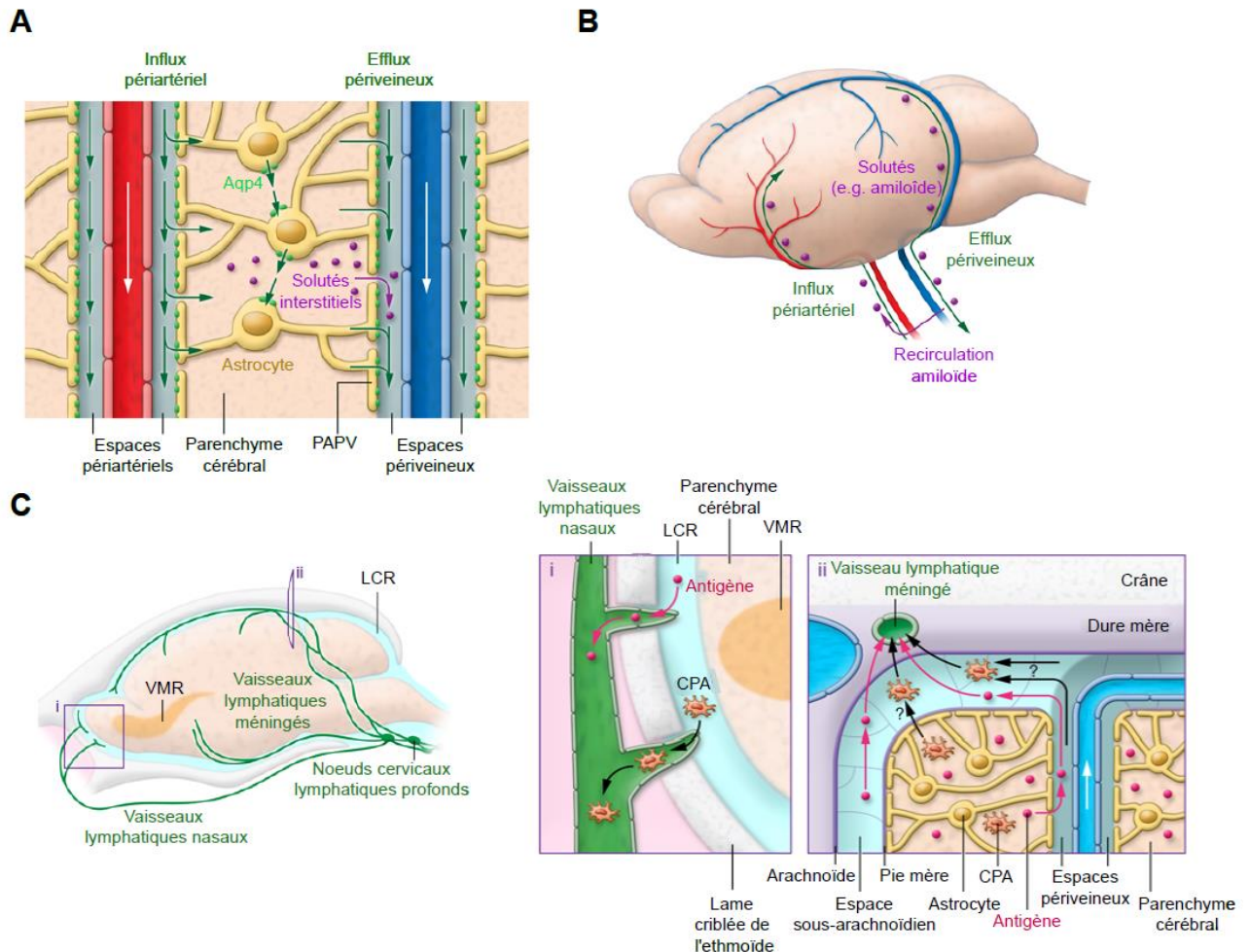


Figure 7 : La théorie du système glymphatique. A : le liquide céphalo-rachidien circule depuis les espaces sous-arachnoïdiens vers les espaces péri-artériel. Depuis ces espaces un échange de flux, potentiellement facilité par l'Aqp4, a lieu entre le liquide céphalo-rachidien et le liquide interstitiel au niveau des PAPVs. Le liquide interstitiel va ensuite être recapté par les PAPVs périveineux, permettant son acheminement vers les espaces périveineux et son recyclage avec le liquide céphalo-rachidien dans les espaces sous-arachnoïdiens. B : Sens des mouvements fluidiques au sein de espaces périvasculaire glymphatique. C : drainage des éléments du liquide céphalo-rachidien et de la circulation glymphatique hors du système nerveux central par les vaisseaux lymphatiques méningés. Adapté de Louveau *et al.* 2017.

Cependant, le groupe de *Weller and Carare* (Weller et al. 2018) a publié une série d'articles antérieurs semblant montrer un flux non directionnel dans les espaces péri-artériels. Ces résultats opposés peuvent s'expliquer par les différences de méthodologies des deux équipes. La plus

importante semble être le site d'injection des traceurs (majoritairement sous-arachnoïdiens dans les équipes présentant un flux de sens identique au flux artériel ; parenchymateux pour l'équipe de *Weller and Carare*). Or l'augmentation des pressions hydrostatique et osmotique (Bedussi et al. 2017) due à l'injection semble être un biais évident de ce type d'étude. Dans un cerveau de rongeur, même une quantité inférieure à 1 μ L peut induire de grands bouleversements au niveau cellulaire.

Une hypothèse reliant les deux types d'observations a été proposée dans une revue de 2019. Les auteurs y proposent l'existence de deux flux périvasculaires ayant des directions opposées : un flux présent dans les espaces périvasculaires et un autre entre les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses artérielles (Bakker, Naessens, et VanBavel 2019).

Si la présence d'un flux périvasculaire n'est donc plus discutée, à l'heure actuelle, deux hypothèses subsistent quant à sa nature. L'hypothèse d'un flux rapide, unidirectionnel, convectif (comme l'hypothèse glymphatique, proposée notamment par l'équipe de Maiken Nedergard) et celle d'un flux de type dispersif dans les espaces périvasculaires et diffusif dans le parenchyme (hypothèse préexistante à la première et soutenue par différents groupes dont celui d'Alan Verkman). Le débat scientifique se concentre essentiellement sur la présence de forces permettant de conduire ce flux - ce qui validerait la première hypothèse - ou sur leur absence, validant *de facto* la seconde.

Les forces pouvant induire un flux comme décrit dans la première hypothèse peuvent être :

- La pression osmotique, plus ou moins couplée à la présence de canaux aqueux et de transporteurs de solutés. L'existence d'une telle force est notamment soutenue par l'équipe de Maiken Nedergard qui considère l'Aqp4, comme l'un des principaux moteurs du flux. En effet, cette protéine est hautement enrichie dans les PAPVs à la membrane mitoyenne des vaisseaux (Nagelhus et al. 1998; Nielsen et al. 1997) qu'elle recouvre entièrement (Ezan et al. 2012a). Les altérations de l'expression de l'Aqp4 semblent induire une perturbation des flux cérébraux (Mahmood Amiry-Moghaddam et Ottersen 2003, 200) et plus particulièrement une perturbation des échanges entre liquide céphalo-rachidien et liquide interstitiel a été observé dans plusieurs modèles de souris déficientes en Aqp4 (Ilyff et al. 2013; Mestre et al. 2018). L'Aqp4 serait aussi impliquée dans la circulation et l'élimination de différentes molécules comme le lactate (Lundgaard et al. 2017) ou l'amyloïd β (Ilyff et al. 2012; Ren et al. 2017). Cependant cette hypothèse d'un

moteur Aqp4 est remise en question par le groupe d'Alan Verkmann qui a étudié les flux cérébraux dans un modèle murin dans lequel l'Aqp4 est déletée (en anglais : *Knock-Out* ; KO).

- Les pulsations cardiaques et/ou respiratoires. Le groupe de Maiken Nedergard a ainsi observé leur implication dans les mouvements intra-parenchymateux de traceurs injectés dans la *magna cisterna*. Ils ont observé une moindre entrée après ligation d'une artère carotidienne (réduisant donc l'effet des pulsations cardiaques) et une augmentation après utilisation de dobutamine (substance connue pour accélérer et augmenter l'intensité des pulsations cardiaques) (Bakker, Naessens, et VanBavel 2019; Iliff et al. 2013). Mais l'équipe de Vartan Kurtcuoglu a montré par modélisation mathématique que ce type de pulsations aurait peu d'effet sur un flux rapide comme celui décrit par le groupe de Maiken Nedergard (Asgari, de Zélicourt, et Kurtcuoglu 2016).
- Par pression hydrostatique induite par la génération de liquide céphalo-rachidien. L'existence de cette force est assez majoritairement admise. Ainsi plusieurs groupes proposent une hypothèse de flux intermédiaire aux deux hypothèses citées ci-dessous : celle d'un flux majoritairement unidirectionnel mais lent, car dû principalement par la pression hydrostatique du liquide céphalo-rachidien. (Bakker, Naessens, et VanBavel 2019)

Ainsi, dans le parenchyme cérébral, le drainage lymphatique n'est pas assuré par des vaisseaux lymphatiques définis anatomiquement mais par l'unité gliovasculaire, via les espaces périvasculaires qu'elle comporte.

Enfin, en plus de l'Aqp4, d'autres molécules astrocytaires enrichies dans les PAPVs pourraient participer à ces flux. Les Cx30 et 43 qui participent aux échanges astrocytaires forment ainsi des jonctions communicantes entre PAPVs adjacents (Giaume et al. 2010). Ces protéines peuvent également former des héli-canaux non couplés permettant des échanges entre les milieux intra et extra-cellulaires et pourraient ainsi participer aux échanges entre espaces périvasculaires et parenchyme (Chever, Lee, et Rouach 2014; Ghézali et al. 2020). L'homéostasie périvasculaire est également régulée par l'expression dans les PAPVs de canaux et pompes ioniques tels que Kir4.1 (Boulay et al. 2017) ou la pompe sodium/potassium ATPase (Maria S. Brignone et al. 2011), ou par l'expression de transporteurs de petites molécules comme Slc7a5, un transporteur d'acides aminés cationiques, ou Slc22a6, un transporteur de petites molécules anioniques (Boulay et al. 2017).

2.2.2.3. Les astrocytes, les gardes du corps du parenchyme

La barrière hémato-encéphalique est une barrière physiologique entre le sang et le parenchyme cérébral formé par les cellules endothéliales cérébrales. Cette barrière est soutenue par les cellules murales, la lame basale mais aussi par les astrocytes.

En effet, les PAPVs sécrètent différents facteurs influençant le phénotype de barrière des cellules endothéliales cérébrales:

- Le facteur de croissance transformant β (en anglais : *transforming growth factor* β ; TGF β) est une cytokine participant à la croissance cellulaire, la différenciation, la morphogénèse, l'apoptose ou l'immunomodulation. Elle est sécrétée par de nombreux types cellulaires dont les astrocytes sous forme de précurseur protéique formant un complexe dit de latence qui reste piégé dans le fibrinogène de la lame basale jusqu'à son activation par clivage du peptide de latence associé (M. Shi et al. 2011; I. B. Robertson et al. 2015). Les protéines impliquées dans l'activation et la libération du précurseur du TGF β sont encore peu connues dans le cerveau. Plusieurs études ont montré que TGF β activé favorise le phénotype endothélial de barrière hémato-encéphalique en diminuant la perméabilité ou en augmentant l'expression de la glycoprotéine-P et des protéines de jonctions serrées (Ronaldson et al. 2009; Dohgu et al. 2004).
- De même, le facteur Sonic Hh (SHh) augmente l'imperméabilité de la barrière hémato-encéphalique par activation du récepteur Patched-1 des cellules endothéliales cérébrales (Alvarez, Katayama, et Prat 2013). SHh est faiblement excrété à l'âge adulte à l'état physiologique par les astrocytes (Vanlandewijck et al. 2018; Zhang et al. 2014). On peut donc supposer que cette voie d'activation du phénotype de barrière hémato-encéphalique sera majoritairement activée au cours du développement ou en situation pathologique (Alvarez, Katayama, et Prat 2013; Alvarez et al. 2011).
- L'angiopoïétine 1 est exprimée à la fois par les astrocytes et les cellules murales et promeut à la fois l'angiogenèse mais aussi la perte de perméabilité vasculaire (Prat et al. 2001; Shen et al. 2011).
- L'acide rétinoïque produit par les cellules de la lignée astrocytaire, participe à la maturation des cellules endothéliales cérébrale et participe à l'acquisition de leur phénotype de barrière hémato-encéphalique (Mizee et al. 2013).
- Enfin, les astrocytes expriment aussi l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE-1) permettant la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II. Or l'angiotensine II active

les récepteurs AT1 exprimés par les cellules endothéliales cérébrales et renforce l'expression de leur phénotype de barrière hémato-encéphalique (Wosik et al. 2007).

Les astrocytes participent également à la barrière hémato-encéphalique sécrétant une partie de la lame basale ou en participant à la maturation des cellules murales qui elles-mêmes induisent le phénotype de barrière hémato-encéphalique chez les cellules endothéliales cérébrales.

Dans le cerveau, la réponse immunitaire et l'entrée des cellules immunitaires sont strictement limitées et contrôlées. C'est ce que l'on désigne par "quiescence immunitaire". Cette quiescence est maintenue par le phénotype particulier des cellules endothéliales cérébrales et par la composition particulière de la lame basale des vaisseaux cérébraux (Agrawal et al. 2006). Les astrocytes participent donc au maintien de cette quiescence en sécrétant des protéines de la lame basale et en induisant la maturation des cellules endothéliales cérébrales. De plus, dans une étude publiée en 2015, mon équipe a montré la participation de la Cx43 astrocytaire à la quiescence immunitaire cérébrale (Boulay et al. 2015). En effet, dans des souris n'exprimant pas cette protéine, une activation de l'endothélium et un recrutement leucocytaire ont été observés aboutissant à un état inflammatoire.

3. LE DEVELOPPEMENT DE L'UNITE GLIOVASCULAIRE : DE L'EMBRYOGENESE AU STADE MATURE

A trois semaines de développement chez l'Homme et neuf jours (E9) chez la souris, le système nerveux central est composé de trois vésicules (proscéphale, mésencéphale et rhombencéphale). C'est à ce stade que les vaisseaux sanguins péri-neuraux recouvrent totalement le tube neural et commencent à le coloniser (Bär 1980; Risau et Wolburg 1990; Dermietzel et Krause 1991). Cet apport nutritif induit brusquement une forte augmentation de la prolifération cellulaire et de la différenciation permettant de passer d'un cerveau primitif de trois vésicules à une ébauche plus mature comprenant cinq vésicules : le télencéphale (futur cortex et ganglions de la base), le diencéphale (futur thalamus et hypothalamus), le mésencéphale (futur collicule), le métencéphale (futur pont et cervelet) et le encéphale (future moelle épinière) en deux jours chez la souris et une semaine chez l'être humain (5 semaines/E11).

La colonisation du tube neural par les vaisseaux sanguins peut être considérée comme la première étape de la création de l'unité gliovasculaire qui nécessitera ensuite l'apposition des PAPVs ainsi que plusieurs étapes de maturation afin de former une unité fonctionnelle mature (Figure 11).

3.1. L'angiogenèse

La colonisation d'un organe par des vaisseaux périphériques aussi appelée angiogenèse est l'unique forme de vascularisation du cerveau au cours du développement (Noden 1991; Stewart et Wiley 1981). En effet, aucun des vaisseaux cérébraux n'est formé à partir de cellules de l'ectoderme par vasculogenèse (création de vaisseaux sanguins *de novo* par multiplication et différenciation cellulaire). L'angiogenèse cérébrale a été mise en évidence dès les années 1960 par utilisation de marquage à l'encre de Chine sur des modèles animaux tels que le poulet, le rat ou le lapin (Strong 1964; Feeney Jr. et Watterson 1946). Elle peut se dérouler selon modes : par bourgeonnement, par septation ou selon le mode intussusceptif (Pettersson et al. 2000)(Figure 8).

Dans le mode par intussusception les bords opposés du tube vasculaire entrent en contact en séparant le lumen en deux parties puis un réarrangement cellulaire va permettre la division du tube initial en deux tubes mitoyens puis en deux tubes distincts (Figure 8).

Dans le mode par septation, les cellules endothéliales formant les parois internes du tube vasculaire, forment des prolongements cytoplasmiques qui lorsqu'ils rencontrent le côté opposé de la paroi divisent le « tube » en deux tubes (Figure 8).

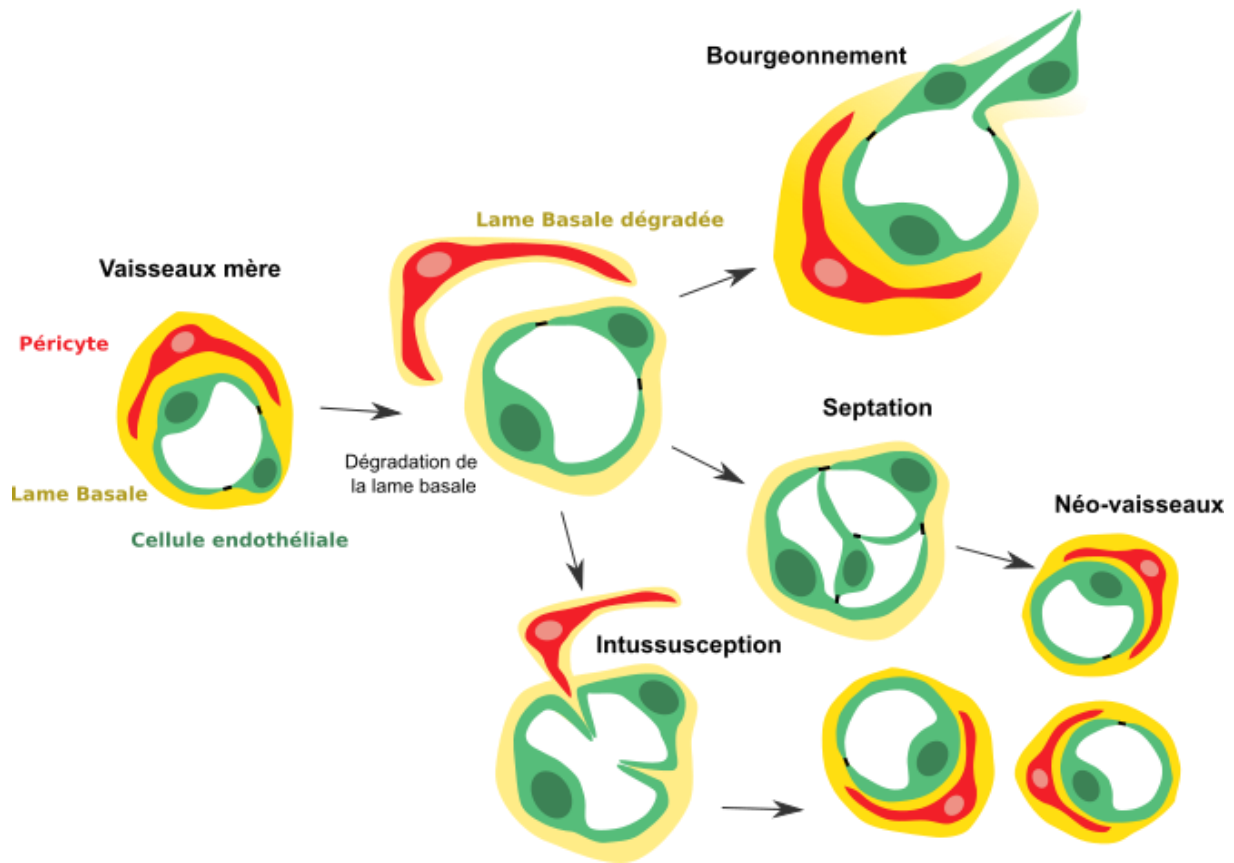


Figure 8 : Schéma représentatif de l'angiogenèse. A partir d'un vaisseau précurseur, un néovaisseau peut se former par bourgeoisement, septation ou intussusception. Adapté de Pettersson *et al.* 2000.

Enfin, le mode par bourgeoisement (Figure 8) est le plus courant, le plus décrit et le premier à avoir été découvert dans l'angiogenèse cérébrale. A la différence des deux modes d'angiogenèse décrits précédemment, le mode par bourgeoisement nécessite un haut degré de prolifération cellulaire. Sous l'effet de l'hypoxie, le tissu va sécréter des facteurs pro-angiogéniques qui induisent une activation des cellules endothéliales des vaisseaux proximaux (Weavers et Skaer 2014). Ces cellules activées, dites « *tip-cells* », deviennent motiles et présentent à leurs pôles apicaux (en direction du stimulus angiogénique) des filopodes permettant de guider la création d'un nouveau vaisseau (Weavers et Skaer 2014). Les *tip-cells* se meuvent alors en direction du stimulus pro-angiogénique tout en dégradant au fur et à mesure la lame basale tissulaire. Au fur et à mesure de cette progression, les cellules endothéliales adjacentes du vaisseau initial vont proliférer et migrer en chaîne derrière la cellule endothéliale activée (Figure 8). L'angiogenèse se

termine lorsque la cellule endothéliale activée rencontre un autre vaisseau. Simultanément à sa progression, on peut observer une maturation du néo-vaisseau selon un gradient allant du vaisseau initial jusqu'à la cellule endothéliale activée.

Tout d'abord une vacuole se forme dans les cellules endothéliales, puis celle-ci fusionne avec le lumen du vaisseau initial et les vacuoles des cellules endothéliales adjacentes pour former le lumen du nouveau vaisseau (Wilting et Christ 1996). S'ensuit un ensemble de maturations complexes, pluricellulaires et concomitantes des vaisseaux (maturation baso-apicale des cellules endothéliales, la création d'une nouvelle lame basale, la couverture des néo-vaisseaux par les cellules murales...).

L'angiogenèse est médiée par différentes voies moléculaires impliquant des protéines sécrétées à la fois par les cellules vasculaires mais aussi les cellules environnantes. Si la complexité de ces différentes voies et leur intrication ne sont pas encore résolues, des études ont pu mettre en évidence certaines de ces voies.

3.2. Les voies moléculaires impliquées dans l'angiogenèse

Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire A (en anglais : *vascular endothelial growth factor A* ; VEGF-A) est une protéine sécrétée par différents types cellulaires notamment en situation hypoxique et souvent citée pour sa participation à l'angiogenèse tissulaire. En effet, cette protéine de la famille du VEGF active les récepteurs kinase VEGF-R1 et -R2. Ces récepteurs sont présents sur les cellules endothéliales et induisent une cascade d'activation de différentes protéines, telles que la phospholipase C, la phosphoinositide 3-kinase (PI3K), Akt, Ras ou la protéine kinase activée par le mitogène (MAPK). Cette transduction du signal aboutit à l'activation de plusieurs fonctions cellulaires impliquées dans l'angiogenèse (activation en *tip-cell*, migration cellulaire, prolifération cellulaire). Ainsi, des études en KO et KO conditionnel des récepteurs VEGF-R1 et -R2 démontrent l'importance de cette voie dans l'angiogenèse embryonnaire (Gale et Yancopoulos 1999). Il existe plusieurs isoformes de la protéine VEGF-A dues à un épissage alternatif de l'ARN messager codant pour cette protéine. Ces différentes isoformes semblent toutes participer à l'angiogenèse avec différents effets. Ainsi, des études *in vitro* ont permis de mettre en évidence que les VEGF-A 121 et 165 augmentent la taille du lumen vasculaire (Carmeliet 2000; Conway, Collen, et Carmeliet 2001) tandis que le VEGF-A 185 la diminue (Nakatsu et al. 2003).

La voie Notch participe également à l'angiogenèse. La famille des récepteurs Notch compte quatre membres : Notch1 et Notch4, principalement exprimés par les cellules endothéliales, et Notch2 et Notch3 principalement exprimés par les cellules murales (Villa et al. 2001; Joutel et al. 2000). Leurs ligands Delta-like1 (Dll1), Dll4 et Jagged2 sont exprimés par les cellules endothéliales, tandis que Jagged1 est exprimé à la fois par les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses vasculaires. Plusieurs études ont démontré la participation de Notch à la régulation de l'activation endothéliale en *tip-cell* via son ligand Dll4. En effet, l'ablation de Notch ou Dll4 augmente le nombre de *tip-cells* conduisant à un bourgeonnement et donc une angiogenèse tous deux excessifs (Hellström et al. 2007; R. Blanco et Gerhardt 2013; Leslie et al. 2007). De plus, l'activation de Notch diminue la densité vasculaire et réduit le phénotype de *tip-cell* (filopodes, migration cellulaires, *etc.*) (Siekman et Lawson 2007; Leslie et al. 2007). Or Dll4 est exprimé par les *tip-cells* après leur induction par le VEGF, permettant de bloquer l'activation des autres cellules endothéliales après l'activation de la première *tip-cell* et donc évitant une néo-vascularisation excessive.

Enfin, la famille Wnt représente un ensemble de dix-neuf glycoprotéines, exprimées chez l'Homme et la souris et connues pour leur participation au développement. Dans le cerveau, ces protéines sont majoritairement sécrétées par les astrocytes et les neurones, au cours du développement mais également à l'âge adulte (Hermann et ElAli 2012; Noelanders et Vleminckx 2017). Via leur récepteur frizzled (Fzd), elles peuvent activer soit une voie dite canonique (majoritairement activée par Wnt1, Wnt3, Wnt3a, Wnt7a, Wnt7b, Wnt8 ou Wnt9) ou une voie non-canonique (majoritairement activée par Wnt4, Wnt5a, Wnt6, ou Wnt11) (Croce et McClay 2008). La voie canonique nécessite la présence du corécepteur LRP5/6 et induit l'activation de facteurs de transcription impliqués dans un grand nombre de fonctions cellulaires (Menet, Lecordier, et ElAli 2020). La voie non-canonique se divise elle-même en deux voies Wnt/PCP et Wnt/Ca²⁺ qui n'impliquent pas LRP5/6 et qui participent au réarrangement du cytosquelette ou à l'adhésion et la migration cellulaire. La voie canonique semble entre autres être impliquée dans l'angiogenèse cérébrale. En effet, le blocage de cette voie chez la souris induit une diminution de la couverture vasculaire cérébrale et une diminution de la ramification vasculaire (Martowicz et al. 2019). De plus, la codélétion en protéines Wnt7a et Wnt7b induit une perturbation de l'angiogenèse cérébrale (Daneman et al. 2009; Engelhardt 2003).

3.3. Maturation vasculaire post-angiogénique

L'angiogenèse cérébrale est donc un phénomène complexe débutant au stade E9 chez la souris. Il est suivi d'une phase de maturation à partir du stade E15. On observe après la naissance, chez la souris, une seconde vague d'angiogenèse et de maturation vasculaire (Coelho-Santos et al. 2021; Lunde et al. 2015; Gilbert et al. 2019) qui a donc lieu après la formation des astrocytes (vers E17 chez la souris).

Au cours de ces phases de maturation, les cellules endothéliales acquièrent leur phénotype de barrière hémato-encéphalique avec notamment une forte différenciation baso-apicale. La lame basale entre également en maturation et les cellules murales colonisent ces néo-vaisseaux, participant notamment à la différenciation artério-veineuse vasculaire.

3.3.1. La différenciation artério-veineuse

Dans les différents organes, cette différenciation (Figure 2 et 9) peut se faire selon deux modes :

- Soit les néo-vaisseaux artériels se forment uniquement à partir d'artères et les cellules vasculaires gardent leur phénotype artériel (Figure 9A),
- Soit les cellules se différencient au cours de l'angiogenèse puis se redifférencient, rendant alors possible la création d'une artère à partir d'une veine et inversement (Figure 9B).

L'étude du développement embryonnaire du Zebrafish, a permis d'observer que le bourgeonnement angiogénique depuis les vaisseaux sanguins intersegmentaux se faisait d'abord depuis les artères, puis depuis les veines, qui se connectent alors au réseau artériel (Nasevicius, Larson, et Ekker 2000; Wiley et al. 2011)(Figure 9A).

Cependant, chez cette même espèce, l'observation de l'angiogenèse cérébrale (qui se produit à un stade plus tardif) a montré que celle-ci se faisait selon le second mode (Red-Horse et Siekmann 2019) (Figure 9B). En effet, dans ce processus, les cellules endothéliales veineuses se différencient, puis leur phénotype est reprogrammé en phénotype capillaire ou artériolaire. Ce mécanisme a également été observé chez la souris, dans l'angiogenèse de la rétine, des artères coronaires, ou dans l'angiogenèse cérébrale postnatale (Coelho-Santos et al. 2021).

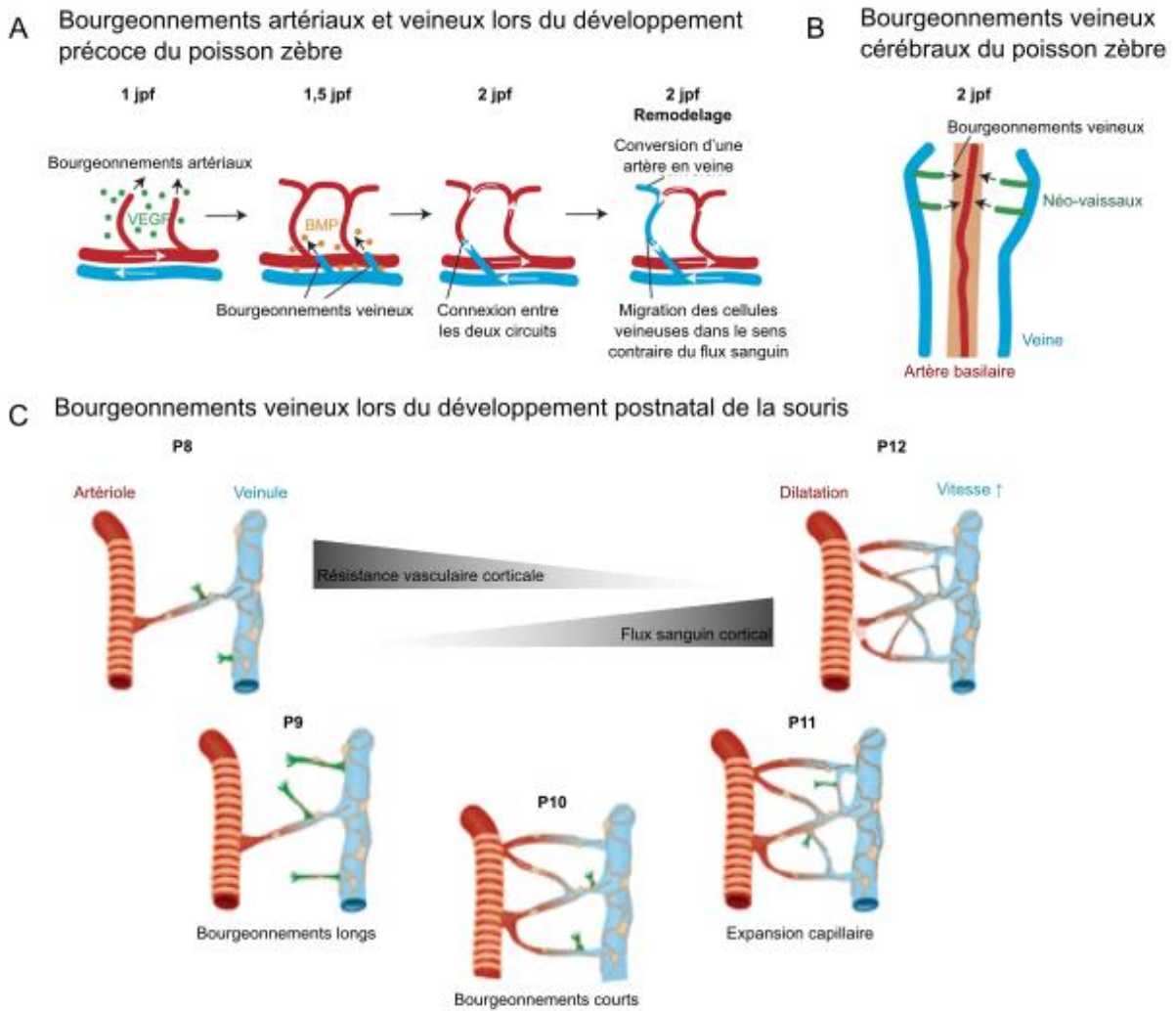


Figure 9 : Les deux voies de différenciation artérioveineuse. A : dans les embryons précoces de Zebrafish ou de souris, développement de néovaisseaux à partir d'artères puis de veines conservant la différenciation du vaisseau d'origine. B : Dans le cerveau de Zebrafish, développement de néovaisseaux uniquement à partir des veines, nécessitant une maturation artério-veineuse post-angiogénique. C : Dans les cerveaux de souris on observe une néovasularisation d'origine veineuse après P8. Adapté de Red-Horse et Siekmann 2019 et Coelho-Santos et al. 2021

Cette dernière étude sur l'angiogenèse cérébrale postnatale a été publiée récemment par l'équipe d'Andy Shih. Elle a été menée *in vivo* par une technique innovante d'imagerie biphoton grâce à une fenêtre pratiquée par abrasion du crâne et permettant d'observer le cortex de souris de 7 à 12 jours. Par l'injection de traceurs fluorescents dans le réseau vasculaire et par l'utilisation de souris transgéniques exprimant des marqueurs vasculaires couplés à des protéines fluorescentes, les auteurs ont pu observer un même réseau vasculaire à plusieurs jours d'intervalle uniquement depuis les veines ou veinules (Figure 9C). Ils ont pu observer que dès le jour postnatal (P) 8, la perméabilité vasculaire à des composés de 10 à 70 kDa était significativement

réduite et quasiment indétectable après P12. Or à ces stades, l'angiogenèse cérébrale est toujours active et le réseau vasculaire comporte donc des vaisseaux immatures et fragiles. L'origine veineuse de ces néo-vaisseaux ne les exposant que très faiblement à la pression sanguine, semble ainsi protéger la perméabilité vasculaire cérébrales au cœur du développement. On pourrait que supposer que, si dans certains modèles comme le Zebrafish, les deux processus angiogéniques se suivent (d'abord avec une origine artérielle et veineuse, puis uniquement veineuse), c'est parce qu'aux premiers stades de développement la pression artérielle est encore faible et lorsque celle-ci augmente, *de facto*, l'angiogenèse devient uniquement veineuse de façon à protéger les néo-vaisseaux de cette pression (figure 9B et C).

Plusieurs molécules vont participer à la maturation cellulaire en induisant une différenciation artério-veineuse. Par exemple, les récepteurs Notch et leurs ligands semblent participer à cette maturation. Ils sont en effet surexprimés dans les artères par rapport aux veines (Shutter et al. 2000; Leslie et al. 2007; Siekmann et Lawson 2007) et la modification du signal Notch chez le Zebrafish induit la perte de l'expression de marqueurs artériels comme l'éphrine B2 (Lawson et al. 2001).

De même, le PDGF- β induit notamment le recrutement des cellules musculaires lisses vasculaires (2.1.3.2 La colonisation par les cellules murales). Celui-ci va donc participer donc à la différenciation artério-veineuse en induisant un recrutement de cellules musculaires lisses vasculaires plus important dans les artères.

3.3.2. La colonisation par les cellules murales

Les cellules murales vont rapidement coloniser les néo-vaisseaux formés, participant ainsi à leur maturation (Coelho-Santos et al. 2021). Dans l'étude de l'équipe d'Andy Shih, les auteurs ont observé que la très grande majorité (95 %) des bourgeonnements vasculaires était en contact avec des péricytes, à priori issus du vaisseau d'origine de ces bourgeonnements (Figure 9C). De plus, les 5 % de bourgeonnements restants étaient généralement courts (< 20 μm), indiquant une progression synchronisée de l'angiogenèse et de la colonisation par les cellules murales.

Comme cité précédemment, ce recrutement est médié par l'expression PDGF- β via son récepteur PDGFR- β présent sur les péricytes et les cellules musculaires lisses vasculaires. Il est sécrété par les cellules endothéliales au cours de l'angiogenèse et plus fortement encore lorsqu'elles sont activées en *tip-cells* permettant un recrutement rapide des péricytes (Gerhardt et

Betsholtz 2003). La déficience en PDGF- β ou en son récepteur est létale du fait de la dysfonction vasculaire induite par l'absence de cellules murales notamment dans le cerveau, le poumon, le rein et le cœur (Levéen et al. 1994; Soriano 1994). Ainsi d'autres modèles d'études ont été utilisés afin d'étudier cette voie comme son hyper-activation (Olson et Soriano 2011) ou l'ablation du motif de rétention du PDGF (ou souris PDGF- $\beta^{\text{ret/ret}}$) (Lindblom et al. 2003). En effet, après sa sécrétion, le PDGF est retenu dans la lame basale par un motif de rétention ayant une haute affinité pour l'héparine et pour l'héparan sulfate proteoglycans (HSPGs) (Abramsson et al. 2007).

Plusieurs études *in vitro* (Li et al. 2009; Liao et al. 2017) ont montré une participation du VEGF-A à la prolifération et à la migration des cellules musculaires lisses vasculaires. Dans une étude de 2008, publiée dans *Nature* (Greenberg et al. 2008) les auteurs ont observé que le VEGF induit la formation de complexes VEGF-R2/PDGF-R β , perturbant ainsi l'effet de PDGF sur la néo-vascularisation, la migration la prolifération et la différenciation des péricytes et des cellules musculaires lisses vasculaires (Greenberg et al. 2008).

La protéine Sparc sécrétée à la fois par les cellules endothéliales, les cellules murales et les astrocytes participe au recrutement péricytaire via la modulation de la voie TGF β (Rivera et Brekken 2011).

Enfin, certaines études ont montré l'importance du flux sanguin dans le recrutement des cellules murales notamment via l'expression de Notch (X. Chen et al. 2017; Udan, Vadakkan, et Dickinson 2013).

3.3.3. La maturation des cellules murales

Après avoir colonisé les vaisseaux, les cellules murales doivent passer d'un statut de cellules migrantes et proliférantes, à un statut de cellules matures et différenciées.

Peu d'études ont mis en évidence une maturation péricytaire. Cependant une étude récente de ces cellules au cours du développement postnatal de la rétine a révélé une maturation moléculaire (notamment de transporteurs transmembranaires) par une technique du *single cell* et une maturation morphologique entre P3 et P9 (Figueiredo et al. 2020). Les auteurs ont également montré que l'inactivation de PI3K diminue la prolifération des péricytes et induit leur maturation. Cette voie semble donc être impliquée dans la maturation de ces cellules. Dans notre étude de la maturation postnatale des cellules vasculaires (Article 2), nous n'avons pas observé de

maturation péricytaire entre P5 et P15 dans le cortex dorsal. Ce résultat suggère que dans cette zone cérébrale, les péricytes sont matures avant le stade P5.

La maturation phénotypique des cellules musculaires lisses vasculaires dans les artères a été beaucoup plus étudiée. Nous savons en effet que ces cellules passent d'abord par un stade productif/prolifératif/immature avant d'exprimer leur phénotype contractile/mature. Le phénotype productif des cellules musculaires lisses vasculaires est caractérisé par une forme épithéloïde ou rhomboïde de ces cellules, la présence de nombreux organites et l'expression et la sécrétion de molécules d'adhésion, comme l'ostéopontine, et de la matrice extracellulaire, comme le collagène, l'élastine ou les protéoglycans. Le phénotype contractile, lui, se caractérise par une forme en fuseau, la présence de filaments contractiles et l'expression de molécules impliquées dans la contractilité (SMA, Myo11, *etc.*) (2.1.1.3.2 Les cellules musculaires lisses vasculaires). Le phénotype contractile étant plus mature, il se différencie également du productif par de moins grande capacité de prolifération et de migration (Rensen, Doevendans, et van Eys 2007).

Il semblerait que les deux phénotypes puissent coexister à l'âge adulte et plusieurs études *in vivo* et *in vitro* ont montré une possible dédifférenciation des cellules musculaires lisses vasculaires exprimant un phénotype contractile en cellules musculaires lisses vasculaires productives (Rensen, Doevendans, et van Eys 2007). Dans l'Article 2, nous avons observé une absence de contractilité artérielle corticale au stade P5 suggérant qu'à ce stade les cellules musculaires lisses présentent majoritairement un phénotype productif. De plus, les résultats de nos étude transcriptionnelles et protéiques indiquent une immaturité de la machinerie contractile des cellules musculaires lisses vasculaires à ce stade, renforçant ce résultat. Enfin, notre étude de tissus humains à différents stades développementaux montre une maturation des protéines impliquées dans la contractilité de ces cellules entre les stades prénataux, postnataux précoces et les premières années de vie.

Plusieurs voies moléculaires participent à la différenciation et la dédifférenciation des cellules musculaires lisses vasculaires. Premièrement, la voie du PI3K qui participe à la maturation des péricytes semble aussi participer à celle des cellules musculaires lisses vasculaires, mais dans un sens opposé. En effet, *in vitro*, le phénotype contractile des cellules musculaires lisses vasculaires peut être maintenu plus longtemps par l'utilisation du facteur de croissance ressemblant à l'insuline (en anglais : *insulin-like growth factor*, IGF) activant le PI3K (Hayashi et al. 1999).

Le PDGF β , quant à lui, semble plutôt induire un phénotype productif chez les cellules musculaires lisses vasculaires (Hao et al. 2002).

Le TGF β a des effets contradictoires sur la maturation des cellules vasculaires. En effet, que ce soit chez les cellules murales ou les cellules endothéliales, cette cytokine peut participer à la différenciation et à la dédifférenciation. Cela s'explique par l'existence de deux types de récepteurs au TGF β : activine-like 1 et 5 (Alk-1 et 5) qui semblent avoir des effets opposés et encore mal compris du fait de leurs interactions et du chevauchement de leurs voies (Marie-José Goumans et al. 2002; Marie-José Goumans, Lebrin, et Valdimarsdottir 2003; Oh et al. 2000). L'activation du récepteur kinase Alk-5 dans les cellules mésenchymales induit une phosphorylation des protéines intracellulaires Smad2 et Smad3 qui elles-mêmes induisent la différenciation des cellules mésenchymales en cellules musculaires lisses vasculaires, tandis que dans les cellules musculaires lisses vasculaires, l'activation du récepteur Alk-1, active par phosphorylation Smad1, Smad5 et Smad8 qui induisent une prolifération et une migration cellulaire (Marie-José Goumans et al. 2002; Ota et al. 2002). Cette différence d'effet est aussi présente chez les cellules endothéliales où le TGF β participe au maintien d'un phénotype de barrière hémato-encéphalique mature mais peut aussi induire l'angiogenèse en augmentant les capacités prolifératives endothéliales, et donc en les différenciant. L'effet de TGF β sur les cellules vasculaires est, en fait, dépendant à la fois de l'expression des deux récepteurs Alk1 et Alk5, mais également de la force et de la durée du signal TGF β . En effet, dans les premiers temps d'une activation par le TGF β , la voie Alk1 prédominerait et serait ensuite remplacée par la voie Alk5.

Enfin, la voie Notch semble également participer à la maturation des cellules musculaires lisses vasculaires. Dans le cerveau, l'inhibition de la voie Notch dans les cellules musculaires lisses vasculaires induit un élargissement des artères cérébrales avec une diminution de l'épaisseur de la *tunica media* (Proweller et al. 2007). Cela est plus particulièrement observé dans les souris déficientes en récepteur Notch3 exprimé normalement dans le cerveau par les cellules musculaires lisses vasculaires artérielles (Monet et al. 2007). Ainsi, dans une étude publiée en 2004, l'équipe d'Anne Joutel a observé ces défauts dans les artères cérébrales et caudales de souris déficientes en Notch3. Ils ont également montré la participation de Notch3 à la maturation morphologique des cellules musculaires lisses vasculaires et à la spécification artério-veineuse de ces cellules. Enfin, si les souris déficientes en Notch3 ne présentent pas de défaut de pression sanguine, la réponse de leurs cellules musculaires lisses vasculaires cérébrales à l'angiotensine II est fortement diminuée suggérant que les défauts morphologiques observés s'accompagnent de défauts fonctionnels (Domenga et al. 2004).

3.3.4. La maturation des cellules endothéliales

Dans les chapitres précédents nous avons déjà établi les caractéristiques des cellules endothéliales cérébrales matures, leur phénotype de barrière hémato-encéphalique et les molécules astrocytaires impliquées dans cette différenciation (2.1.1.2 Les cellules endothéliales ; 2.2.2.3 Les astrocytes, les Messieurs Propre du cerveau). Nous allons donc nous attacher maintenant à la description du dialogue entre cellules murales et cellules endothéliales cérébrales impliqué dans la maturation de ces dernières.

Comme évoqué précédemment, le VEGF-A va participer à la maturation précoce des cellules endothéliales et notamment du lumen vasculaire. Le VEGF-A induisant l'activation et la prolifération des cellules endothéliales, la diminution de sa sécrétion est nécessaire à la différenciation des cellules endothéliales et à leur acquisition d'un phénotype de barrière. Cette protéine est donc exprimée dès le stade E9,5 (Darland et al. 2011) et diminue entre P5 et P15, après la fin de l'angiogénèse (Article 2).

Les péricytes vont également participer à la maturation endothéliale. Tout d'abord, en diminuant l'expression de VEGF afin de transitionner d'une étape d'angiogénèse vers une étape de maturation. Cette diminution de l'expression de VEGF pourrait être induite via la sécrétion de Sparc (Rivera, Bradshaw, et Brekken 2011).

Si la voie du PDGF β est souvent décrite comme la voie privilégiée de messages des cellules endothéliales vers les cellules murales, la voie de l'angiopoétine 1 est parfois décrite comme sa réciproque (Falcón et al. 2009; Gaengel et al. 2009). Comme précédemment évoqué, cette protéine est exprimée par les cellules murales et les astrocytes, et son récepteur principal Tie-2 est majoritairement exprimé par les cellules endothéliales. Elle participe à la stabilisation vasculaire, aux interactions cellules endothéliales/murales et à la différenciation cellulaire baso-apicale des cellules endothéliales cérébrales.

La voie intégrine β 1/ VCAM participe aussi au couplage entre cellules endothéliales cérébrales et cellules murales (Garmy-Susini et al. 2005). En effet, tandis que les cellules endothéliales expriment l'intégrine β 1, VCAM est exprimé par les péricytes et ces deux molécules forment un complexe participant au dialogue entre ces deux types cellulaires. En cas de blocage de cette voie, on observe une apoptose des deux types cellulaires ainsi qu'une immaturité endothéliale (Garmy-Susini et al. 2005; Venkatesan et al. 2015).

La voie Wnt est également impliquée dans la maturation des cellules endothéliales. Elle participe à l'expression de pompes d'efflux participant au phénotype de barrière (Pinzón-Daza et al. 2014). Chez les souris dont les cellules endothéliales sont déficientes en *Ctnnb1*, un effecteur de la voie canonique Wnt, on observe une diminution de l'expression de Claudine 5, du transporteur de glucose Glut-1 et du transporteur lipidique MFSD2A, associée à des anomalies structurelles de la barrière hémato-encéphalique (Martowicz et al. 2019). Ceci est confirmé par des expériences de sur-activation de la voie Wnt dans les cellules endothéliales qui ont montré une induction du phénotype de barrière dans ces cellules (Pinzón-Daza et al. 2014; Liebner et al. 2008).

Enfin la voie du TGF β , qui a déjà été abordée (2.2.2.3 Les astrocytes, les Monsieur Propre du cerveau ; 3.1.3.3 la maturation des cellules murales), contribue, elle aussi, à la maturation endothéliale.

3.4. L'astrogénèse

Les astrocytes sont générés à partir des cellules progénitrices gliales radiales à partir de E17,5 chez la souris et l'astrogénèse continue jusqu'au stade postnataux précoces (Liebner et al. 2008, 201; Nagao et al. 2016) (Figure 10).

Les cellules progénitrices gliales radiales sont elles-mêmes issues des précurseurs neuro-épithéliaux présents dans la zone ventriculaire. Elles donnent naissance par division asymétrique aux neurones, puis aux astrocytes (Figure 10) et enfin aux oligodendrocytes.

Les cellules progénitrices gliales radiales ont une morphologie bipolaire, avec un soma contenu dans la zone ventriculaire et des prolongements s'étendant perpendiculairement aux méninges et pouvant aller de la zone ventriculaire jusqu'aux méninges. Cette morphologie particulière sert de guide pour les néo-neurones issus de ces cellules qui migrent le long de leurs prolongements afin de coloniser le cortex cérébral.

Après la phase de neurogénèse, les cellules progénitrices gliales radiales commencent à produire des astrocytes au stade embryonnaire E17,5. Les études récentes effectuées sur les astrocytes corticaux montrent que les astrocytes nouvellement formés depuis les cellules progénitrices gliales radiales passent d'abord par une phase de prolifération et de migration (jusqu'à P7) puis par une phase de maturation jusqu'à P21 (Clavreul et al. 2019). Cette phase de maturation se caractérise premièrement par une augmentation de la complexité morphologique

astrocytaire. En effet, la ramification astrocytaire augmente particulièrement à ce stade (Nixdorf-Bergweiler, Albrecht, et Heinemann 1994). Les astrocytes vont également changer leur configuration spatiale afin d'occuper chacun des domaines, n'ayant que très peu de recouvrement avec les astrocytes voisins (Bushong et al. 2002) et les astrocytes peuvent aussi acquérir à cette période une polarisation particulière comme les astrocytes du *stratum radiatum* de la région CA1 de l'hippocampe ((Nixdorf-Bergweiler, Albrecht, et Heinemann 1994; Ghézali et al. 2018). Enfin, la maturation moléculaire des astrocytes continue jusqu'au stade P21 chez la souris (Clarke et al. 2018).

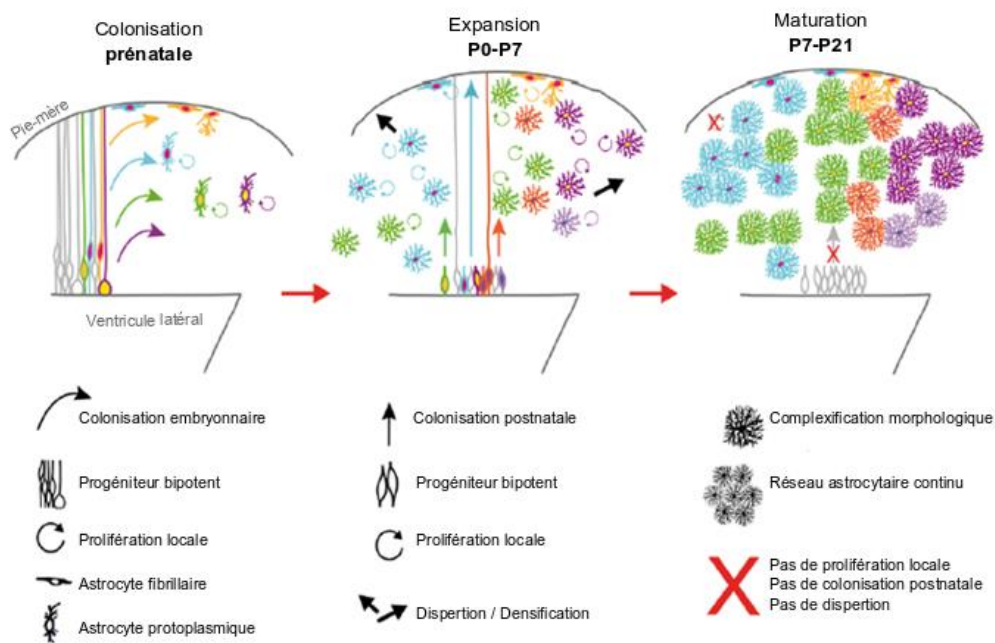


Figure 10 : Schéma représentatif de l'astrogenèse corticale chez la souris. Adapté de Clavreul *et al.* 2019

Les PAPVs commencent à se former autour de la naissance (Ezan et al. 2012b; Lunde et al. 2015). Dans l'Article 3, nous avons analysés pour la première fois le recouvrement postnatal. Ce processus est particulièrement actif entre les stades P5 et P10, passant d'environ 50% de surface vasculaire couverte à environ 95%. Comme cité précédemment, les astrocytes expriment un répertoire moléculaire polarisé au sein des PAPVs mais la façon dont cette polarisation s'acquiert est encore méconnue. Si la traduction locale est un mécanisme possible de cette polarisation, aucune étude n'a permis d'identifier si cette traduction a lieu dès la mise en place des PAPVs ou après une période de maturation. Une étude récente a cependant mis en évidence la possible participation des péricytes dans la polarisation astrocytaire de l'Aqp4 (Gundersen et al.

2014). Les auteurs ont en effet relevé une plus grande quantité d'Aqp4 dans les zones de la couverture astrocytaire situées à proximité des péricytes.

3.5. Participation des astrocytes à la maturation de l'unité gliovasculaire

L'angiogénèse cérébrale débute au stade E9 chez la souris. Or, chez ces animaux, on observe une astrogénèse uniquement à partir du stade E17. Il semblerait donc que les premiers vaisseaux sanguins cérébraux puissent se former et être fonctionnels en l'absence d'astrocytes au moins pendant cette intervalle. De plus, dans l'Article 3, nous avons observé la mise en place postnatale des PAPVs astrocytaires autour des vaisseaux. Ainsi nous avons observé au stade P5 chez la souris que seulement environ 50% de la surface vasculaire était couverte par les PAPVs.

Pourtant une étude a montré que la délétion conditionnelle de *Orc3*, une protéine essentielle à la réplication, dans les astrocytes, induit une diminution de la ramification et de la densité vasculaire dans le cortex (S. Ma, Kwon, et Huang 2012). Les astrocytes semblent donc participer à l'angiogénèse cérébrale, probablement lors de la seconde vague d'angiogénèse après la naissance.

Les astrocytes expriment différentes protéines impliquées dans l'angiogénèse et la maturation vasculaire : VEGFA (Argaw et al. 2012), Ang1 (Prat et al. 2001; Shen et al. 2011), SHh (Vanlandewijck et al. 2018; Zhang et al. 2014), Wnt (Guérit et al. 2021), TGF β (Doyle et al. 2010)*etc.*, dont les implications dans l'angiogénèse et la maturation vasculaire ont déjà été détaillées ici.

Enfin, les astrocytes participent également à la formation de la lame basale impliquée dans la maturation vasculaire mais également dans la polarisation de leur propre PAPVs (2.1.1.6 La lame basale et 2.2.1 Les PAPVs).

3.6. La formation de la lame basale

Au cours de la formation de l'unité gliovasculaire la lame basale va se former petit à petit en fonction des cellules environnantes et va participer directement à la maturation de cette unité. Les différents composants de cette lame et les cellules participant à leur sécrétion sont décrits dans le chapitre 2.1.1.6 La lame basale.

Tout d'abord, lors de l'angiogenèse par bourgeonnement, la lame basale est dégradée afin de permettre la formation du néo-vaisseau. Ainsi les métalloprotéases comme la MMP17, sont exprimées dans le cerveau dès le début de l'angiogenèse (observé à E9,5 chez la souris) et jusqu'aux stades postnatux précoces (M. J. Blanco et al. 2017). Les cellules endothéliales vont ensuite stopper cette dégradation par l'expression d'inhibiteurs tissulaires des métalloprotéases (Stamenkovic 2003) et former une lame basale autour d'elles en sécrétant du collagène IV (Saunders et al. 2018), des laminines (Jucker et al. 1996), ou des héparanes sulfates protéoglycans (Kinsella et al. 2003). Les péricytes et les cellules musculaires lisses immatures, après leur colonisation du néo-vaisseau, sécrètent des inhibiteurs des métalloprotéases contribuant à la stabilisation de la lame basale. Ils sécrètent également différents composants de la lame basale (collagène IV, laminines, héparanes sulfates protéoglycans). De plus, les cellules murales ont un effet synergique sur la production de lame basale. En effet, en plus de sécréter elles-mêmes certains de ses composants, elles augmentent la sécrétion des cellules endothéliales qu'elles entourent (Stratman et al. 2009).

Enfin, les astrocytes participent également à la formation de la lame basale et plus particulièrement via leurs PAPVs qui recouvrent les vaisseaux aux stades postnatux précoces (Article 3). Ces cellules vont sécréter du collagène IV (Webersinke et al. 1992), des laminines (Yao et al. 2014) et des glycoprotéines comme SPARC (Blakely et al. 2015).

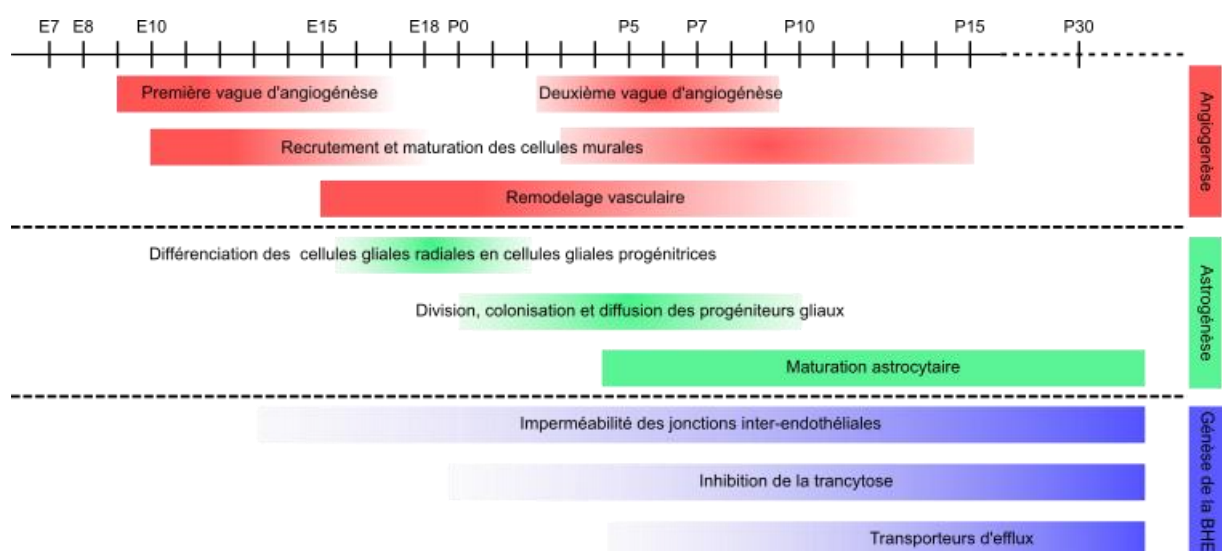


Figure 11 : Schéma de synthèse des différents processus mis en jeu dans la formation et la maturation de l'unité gliovasculaire.

4. LES LEUCODYSTROPHIES

Les leucodystrophies (le terme leucodystrophie est issu du grec *leukos* : blanc, *dys* : trouble et *trophé* : croissance) sont un ensemble d'une trentaine de maladies rares et héréditaires du système nerveux central. En France, on estime le nombre de nouvelles naissances atteintes d'un type de leucodystrophie à environ 160 (soit une incidence d'environ 1/5000). Les leucodystrophies induisent toutes une démyélinisation axonale qui peuvent être à l'origine de troubles moteurs et cognitifs.

L'équipe de Marjo Van Der Knaap a récemment proposé une nouvelle classification des leucodystrophies (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017) en fonction de l'origine de la pathologie :

- Les altérations oligodendrocytaires ou troubles myéliniques,
- Les astrocytopathies où les astrocytes sont les premières cellules touchées où lorsque le gène incriminé est astrocytaire (c'est le cas de la MLC),
- Les leuco-axonopathies qui sont des pathologies de la substance blanche secondaires à une dégénérescence neuronale ou axonale,
- Les microgliopathies qui sont dues à des mutations de gènes spécifiques des microglies,
- Les leucopathies vasculaires ou leuco-vasculopathies qui sont dues à des altérations du système vasculaire cérébrale.

4.1. Les astrocytopathies

Les astrocytopathies sont des leucodystrophies dans lesquelles les astrocytes sont les premières cellules touchées et/ou dans lesquelles le gène impliqué est spécifique de ces cellules.

Il existe sept pathologies répertoriées par l'équipe de Marjo Van Der Knaap : la mégalencéphalie leucoencéphalopathique à kystes sous-corticaux (MLC), la maladie d'Alexander, la leucoencéphalopathie liée à CLC2, le syndrome Aicardi-Goutières, l'ataxie infantile avec hypomyélinisation diffuse du système nerveux central ou syndrome CACH, la dysplasie occulodentodigitale et la neuropathie axonale géante.

Type	Pathologie	Gène	IRM	Symptômes cliniques	Age	Atteinte cellulaire
astrocytopathie	Leucoencéphalopathie mégalencéphalique à kystes sous corticaux (MLC)	MLC1 ou GlialCAM, récessif, perte de fonction,	Kystes, gonflement de la substance blanche	Dégénérescence motrice (ataxie, spasticité) et cognitive, mégalencéphalie, +/- épilepsie ou autisme	Variable	Vacuolisation de la substance blanche, Modification de l'homéostasie ionique astrocytaire
	Alexander type 1	GFAP, dominant, gain de fonction	Kystes, gonflement de la substance blanche	Retard cérébral, spasticité, macrocéphalie, espérance de vie très réduite (14 ans), +/- épilepsie	Très précoce	Fibre de Rosenthal (accumulation de GFAP)
	Alexander type 2		Peu/pas d'atteinte de la substance blanche	Atteintes motrices, Espérance de vie réduite (25 ans)	Variable	
	CACH	Eif2b 1 à 5, récessifs, perte de fonction	Kystes, anomalie de la substance blanche, œdème diffus	Dégénérescence motrice et cognitive, microcéphalie, +/- épilepsie	Variable	Vacuolisation de la substance blanche, diminution du nombre d'oligodendrocytes, oligodendrocytes « mousseux »
	Leucodystrophie liée à CLC2	CLC2, récessif, perte de fonction	Anomalie de la substance blanche, œdème diffus	Ataxie, spasticité, trouble cognitifs et psychiatriques, déficience visuelle, infertilité masculine	Variable	Vacuolisation de la substance blanche
	La dysplasie oculodentodigitale (DODD)	Cx43, dominant avec gain de fonction, ou récessif avec perte de fonction	Anomalie substance blanche, +/- calcifications	Anomalie de la face des yeux des doigts et des dents et surdité, ataxie et spasticité, trouble cognitifs et psychiatriques	Précoce	Absence d'expression de Connexine 43 à la membrane
Leucodystrophies vasculaires	CADASIL	Notch3, dominant, gain de fonction	Anomalie de la substance blanche, hypersignaux de petite tailles et infarctus lacunaires	Migraines avec aura puis ischémies cérébrales puis déclin moteur et cognitif	20-30 ans	Accumulation de Notch3 dans cellules murales et dépôt osmophiliques granuleux dans les petites artères
	CARASIL	HTRA1, récessif, perte de fonction	Anomalie de la substance blanche	Alopécie + symptômes similaires à ceux du CADASIL	30 ans	Métabolisme des protéines extracellulaires altéré

Tableau 1 : Exemples de leucodystrophies astrocytaires et vasculaires

4.1.1. La MLC

La MLC (Figure 12) est citée comme une leucodystrophie dont la prévalence est inférieure à 1/1000000. Cette pathologie est trop rare pour obtenir un chiffre plus précis, d'autant que son incidence est variable selon les différents pays et régions. On observe en effet des foyers d'incidence en Turquie (M. S. van der Knaap et al. 1995) mais aussi en Inde et plus particulièrement dans la communauté Agrawal (Gorospe et al. 2004).

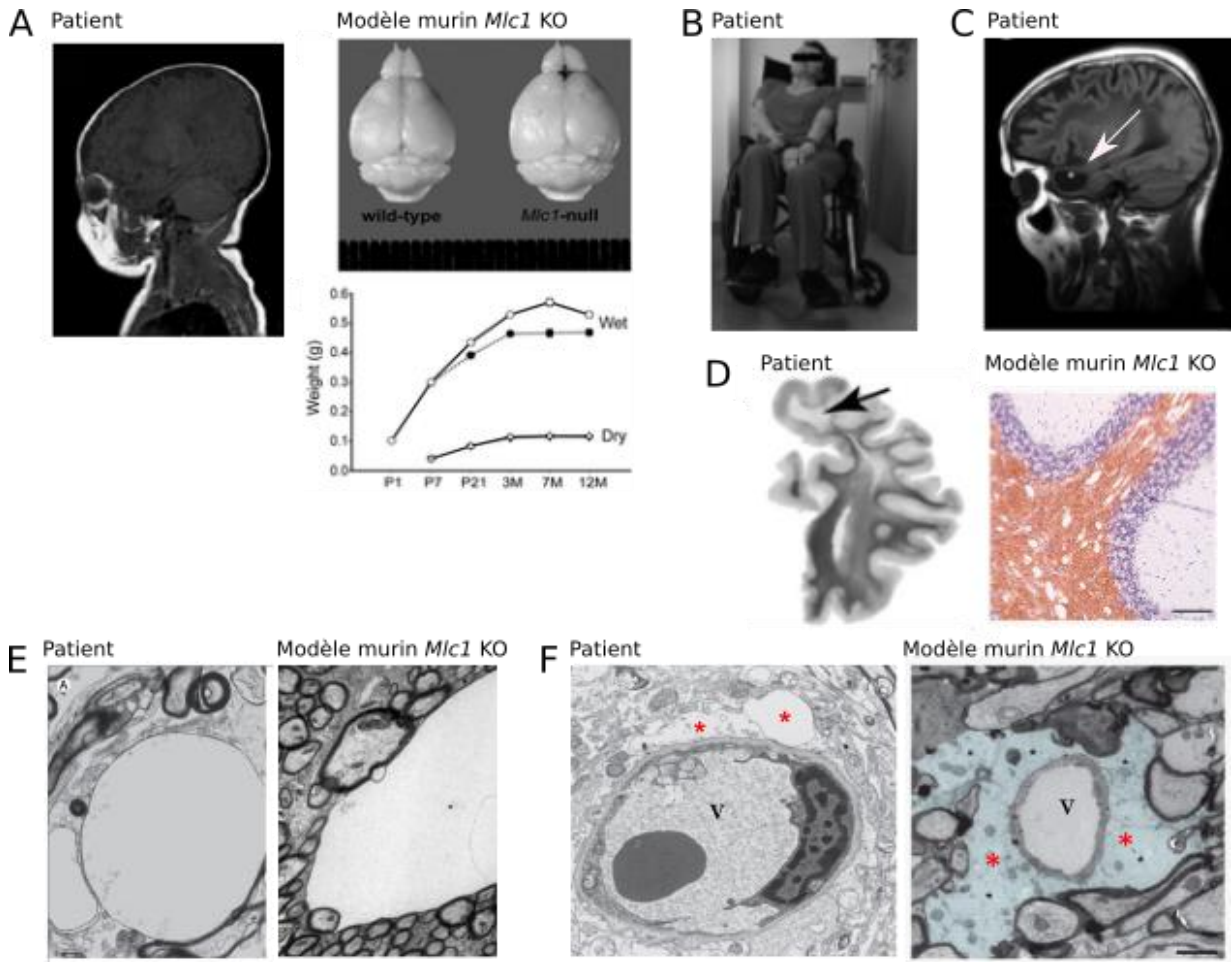


Figure 12 : La mégalencéphalie leucoencéphalopathique à kystes sous-corticaux, ses symptômes classiques. A : Mégalencéphalie due à une entrée d'eau, visible dès la première année de vie chez les patients (gauche ; adapté de Miles, *et al.* 2008) et dès P7 chez la souris (droite ; adapté de Dubey, *et al.* 2014). B : Dégénérescence motrice chez les patients (adapté de Lopez-Hernandez, *et al.* 2011). C : Présence de kystes sous-corticaux chez les patients (adapté de Lopez-Hernandez, *et al.* 2011). D : Vacuolisation de la substance blanche donnant un aspect diffus à l'IRM chez les patients (gauche ; adapté de Lopez-Hernandez, *et al.* 2011) et visible en par marquage immuno-histologique chez la souris à partir de 3 mois de vie (droite ; adapté de Dubey, *et al.* 2014). E : Vacuolisation de la substance blanche sous-corticale observée en microscopie électronique chez un patient (gauche ; adapté de Van der Knaap, *et al.* 2012) et chez une souris *Mlc1* KO P90. F : (Edèmes périvasculaires observables en TEM chez un patient de 13 ans (gauche ; adapté de Van der Knaap, *et al.* 2012) et chez une souris de 7 mois (droite ; adapté de Dubey, *et al.* 2014).

Il existe deux phénotypes de MLC : le phénotype classique MLC1 et MLC2A et le phénotype résolutif MLC2B (Marjo S. van der Knaap, Abbink, et Min, s. d.).

4.1.1.1. Le phénotype classique de MLC

Le phénotype classique est caractérisé par une macrocéphalie (Figure 12A gauche) à la naissance ou au cours de la première année de vie qui se normalise ensuite avec la croissance. Si les premiers apprentissages cognitifs et moteurs sont normaux ou très légèrement retardés, on observe ensuite une dégradation progressive des fonctions cognitives et motrices qui débute à un âge variable selon les patients (Figure 12B). La dégradation motrice se caractérise généralement par une ataxie cérébelleuse, une spasticité modérée et/ou une dysarthrie. Ce déclin est majoré en cas de fièvre ou de traumatismes crâniens, où l'on peut observer une perte de conscience prolongée, une perte de motricité, voire un déclenchement de crises épileptiques (Ben-Zeev et al. 2001; Bugiani, Dubey, Breur, Postma, Dekker, Ter Braak, et al. 2017; Riel-Romero, Smith, et Pettigrew 2005). Enfin, l'incidence d'un syndrome autistique et de crises épileptiques est majorée chez les patients atteints de cette pathologie qui sont bons répondeurs aux traitements antiépileptiques (Ben-Zeev et al. 2001; Mejaski-Bosnjak et al. 1997).

A l'IRM, on observe, chez les patients atteints de MLC avec un phénotype classique (Marjo S. van der Knaap, Abbink, et Min, s. d.; Dai et al. 2017) :

- La présence de kystes dans la région temporale antérieure, qui est quasi systématique chez les patients, parfois dès la petite enfance (Obaid *et al.* 2020). On peut aussi parfois observer des kystes dans la région fronto-pariétale. Au cours du temps, le nombre et la taille des kystes peuvent augmenter (Figure 12C).
- Une anormalité de la substance blanche du cerveau et du cervelet qui apparaît diffuse et légèrement enflée (Figure 12D gauche). Ce phénomène est plus proéminent dans les structures périphériques que dans les structures centrales (comme le *corpus callosum*, la capsule interne ou le tronc cérébral) qui sont relativement préservées. Ce gonflement de la substance blanche s'amplifie puis diminue au profit d'une atrophie cérébrale et cérébelleuse.

La dégénérescence myélinique observée à l'IRM, dès l'enfance (Dai et al. 2017) a été confirmée par l'analyse *post-mortem* de tissus cérébraux de patients. L'étude anatomopathologique de ces tissus a mis en évidence une dégénérescence spongiforme de la substance blanche avec

une vacuolisation des couches externes de myéline confirmée par microscopie électronique et induisant une dégradation axonale et neuronale (Marjo S. van der Knaap, Boor, et Estévez 2012).

Plusieurs signes suggèrent une augmentation de la quantité de fluide dans la boîte crânienne : la macrocéphalie, un coefficient de diffusion plus élevé observé à l'IRM, un œdème périvasculaire et une réduction de la concentration des métabolites (Sener 2003)(Figure 12 A, D et F).

Dans les deux phénotypes, les analyses biologiques (telles que l'analyse du liquide céphalo-rachidien) sont normales.

4.1.1.2. Le phénotype résolutif de MLC

Le phénotype résolutif présente dans les premières années de vie, les mêmes caractéristiques que le phénotype classique (macrocéphalie, peu ou pas de troubles des apprentissages). Cependant le déclin moteur n'est pas observé chez ces patients et les troubles cognitifs (avec ou sans autisme) ne sont pas systématiques et ne s'accroissent pas au cours du temps. De même, les crises épileptiques sont plus rares chez les patients atteints de formes résolutive.

A l'IRM on observe dans la première année de vie les mêmes défauts que dans le phénotype classique à l'exception du cervelet qui ne présente généralement pas d'anomalie. Par la suite, contrairement au phénotype classique, ces défauts régressent spontanément et progressivement.

4.1.1.3. Modifications génétiques associées à la MLC

Le premier indice sur les facteurs génétiques provoquant la MLC a été observé en 1998 où un lien avec un locus de la région 22qtel a été établi (Topcu et al. 1998). Après séquençage, la causalité d'anomalies dans le gène KIAA0027 ou WKL1 [MIM604004] qui a ensuite été renommé *MLC1* en référence à cette pathologie, a été établie (Leegwater et al. 2001).

En effet, le phénotype classique de la MLC est dans 75 % des cas dû à des mutations bi-alléliques du gène *MLC1* (22qtel) codant pour la protéine éponyme (phénotype MLC1 ; Figure 12A). Ces mutations peuvent être des délétions ou des duplications (rarement) d'exon ou des variations de séquence induisant une perte de fonction de la protéine.

Étonnamment, des polymorphismes de ce gène sont aussi impliquées dans des pathologies psychiatriques telles que le trouble bipolaire, le trouble dépressif majeur ou la schizophrénie catatonique (Meyer et al. 2001; Verma et al. 2005; Selch et al. 2007).

Dans environ 20 % des cas observés, le phénotype classique est dû à des mutations bi-alléliques du gène *HepaCAM* (MIM 611642 ; 11q24.2) codant pour la protéine GlialCAM (phénotype MLC2A ; Figure 13B). L'implication de ce gène a été suspectée car GlialCAM forme un complexe avec la protéine MLC1. Les mutations d'*HepaCAM* sont très majoritairement des variations de séquence induisant une perte de fonction de la protéine GlialCAM. L'implication de mutation du gène *HepaCAM* a été découverte après une analyse de protéinique ayant permis de révéler que MLC1 forme un complexe avec GlialCAM (López-Hernández, Ridder, et al. 2011)(Figure 13C et D)

Un seul type de mutation a été mis en cause dans le phénotype résolutif : des mutations de séquence mono-allélique du gène *HepaCAM*.

Dans de rares cas, la MLC n'est attribuable à aucune mutation des gènes *MLC1* ou *HepaCAM*, le diagnostic est alors posé sur l'IRM et l'observation clinique. De plus, la sévérité de la pathologie ne semble pas corrélée aux mutations génétiques et on peut ainsi observer une grande variabilité phénotypique (Blattner et al. 2003) même chez les patients porteurs de la même mutation. Cela suggère que d'autres événements génétiques ou environnementaux participent à l'expression phénotypique de la maladie.

Dans la suite de cette thèse nous nous intéresserons uniquement au phénotype classique de la MLC.

4.1.1.4. MLC1

Le gène codant pour cette protéine est constitué de 26 kilobases (kb) chez l'Homme. Chez les patients, plus de quatre-vingt mutations différentes de ce gène ont été observées que ce soit de façon homo ou hétérozygote. En effet, on peut trouver chez un même patient deux mutations différentes de *MLC1* sur chacun des allèles du gène. Toutes ces mutations ont en commun de diminuer drastiquement voire d'empêcher l'expression de la protéine MLC1 à la membrane.

Le gène *MLC1* code pour une protéine transmembranaire d'environ 40 kDa (377 acides aminés) (Leegwater et al. 2001; Teijido et al. 2004) (Figure 13A). Dans les systèmes nerveux centraux humain et murin, MLC1 est exprimé uniquement par la lignée astrocytaire (Ambrosini et al. 2008; Duarri et al. 2011; Teijido et al. 2004; 2007; Hoegg-Beiler et al. 2014). Les premières études en immunofluorescence semblaient montrer que les neurones exprimaient également la protéine MLC1 (Teijido et al. 2004), mais elles ont depuis été infirmées par l'utilisation de souris déficientes en MLC1 et l'utilisation d'anticorps plus spécifiques (Hoegg-Beiler et al. 2014; M. X. Wang et al. 2020).

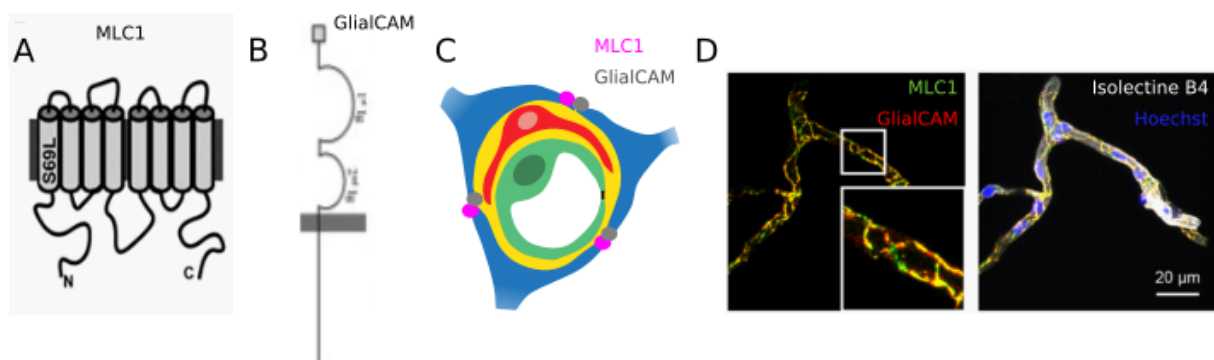


Figure 13 : les protéines transmembranaires MLC1 (A ; adapté de Lopez-Hernandez, *et al.* 2011) et GlialCAM (B ; adapté de Moh et al. 2008) forment un complexe enrichi à la jonction des PAPV au sein de l'unité gliovasculaire (C et D). D : projection d'images de microscopie confocale d'unités gliovasculaires isolées representative de la détection par immunofluorescence de MLC1 (vert) et GlialCAM (rouge). Les noyaux sont marqués par coloration Hoechst (bleu) et les vaisseaux par l'isolectine B4 (blanc).

A l'âge adulte, chez l'Homme et la souris, des études en microscopie électronique après marquage de la protéine MLC1 aux billes d'or ont montré un enrichissement de MLC1 à la jonction des PAPVs (Duarri et al. 2011; Teijido et al. 2007). Comme cité précédemment MLC1 et GlialCAM forment un complexe et il a été observé que la bonne localisation de MLC1 nécessite toujours la présence de GlialCAM, particulièrement dans les PAPVs (Figure 13C et D). En effet, non seulement GlialCAM est nécessaire à la sortie de MLC1 du réticulum endoplasmique (Capdevila-Nortes et al. 2013), mais en plus à localisation de MLC1 à la jonction astrocyto-astrocytaire (López-Hernández, Sirisi, et al. 2011).

A l'heure actuelle la protéine MLC1 n'a pas été cristallisée et sa conformation est donc encore inconnue. Cependant, une étude bioinformatique estime que cette protéine est formée de huit domaines transmembranaires reliés par trois boucles intracellulaires et quatre boucles

extracellulaires (Figure 13A). Les domaines N et C-terminaux sont tous deux intracellulaires (Boor et al. 2005).

La présence de huit domaines transmembranaires, l'analyse de la séquence de la protéine (Leegwater et al. 2001) et le phénotype clinique des patients atteints de MLC (Marjo S. van der Knaap, Boor, et Estévez 2012) suggèrent que MLC1 pourrait être un canal ionique ou un transporteur. Pourtant aucune de ces fonctions n'a pu être mise en évidence à ce jour, même dans des systèmes hétérologues où MLC1 et GlialCAM ont été co-exprimés (Tejido et al. 2004).

Cependant, plusieurs indices tendent à montrer que si MLC1 n'est ni un transporteur ni un canal, cette protéine participe tout de même à l'homéostasie ionique. En effet, il a notamment été observé que MLC1, GlialCAM et le complexe de ces deux protéines peuvent interagir avec le canal chlore 2 (CLC2) (Jeworutzki et al. 2012; Gaitán-Peñas et al. 2017, 2). De plus, *in vivo*, la délétion de MLC1 ou de GlialCAM induit des modifications de la localisation et de la fonction de CLC 2 (Hoegg-Beiler et al. 2014).

D'autre part, *in vitro*, l'activité du canal anionique impliqué dans la régulation du volume cellulaire (en anglais : *volume regulated anion channel*; VRAC) est modifiée par MLC1. Dans les astrocytes primaires déficients en MLC1, on observe une diminution de l'activité de VRAC et une augmentation de celle-ci en cas de surexpression de MLC1 (Capdevila-Nortes et al. 2013; Dubey et al. 2015).

MLC1 pourrait également participer à l'homéostasie potassique. En effet, un taux anormal de potassium extracellulaire a été observé chez des souris déficientes en MLC1 (Dubey et al. 2018). Dans une étude de 2016, l'équipe d'Elena Ambrosini a notamment montré *in vitro* que MLC1 modifie l'activité de canal potassique calcium-dépendant KCa3.1 (Lanciotti et al. 2016). De plus, par des techniques de co-immunoprécipitation, double hybride, co-fractionnement et de colocalisation, deux protéines participant à l'homéostasie potassique et pouvant interagir avec MLC1 et son partenaire GlialCAM ont été mises au jour :

- La pompe Na^+/K^+ -ATPase (Maria S. Brignone et al. 2011; Sugio et al. 2017), un cotransporteur actif sodium/ K^+ permettant de réguler transporter ces deux ions contre le gradient homéostatique maintenant ainsi l'équilibre ionique. Cependant, aucun changement de sa localisation ni de son activité n'ont été observés dans les souris déficientes en MLC1 (Sugio et al. 2017; Dubey et al. 2015; Bugiani, Dubey, Breur, Postma, Dekker, Ter Braak, et al. 2017).

- Le canal potassique Kir4.1 (Maria S. Brignone et al. 2011), dont l'interaction avec MLC1 a été observée *in vitro* et *in vivo*. Une redistribution de ce canal est observée *in vivo* dans les souris déficientes en MLC1 (Dubey et al. 2015; Bugiani, Dubey, Breur, Postma, Dekker, Ter Braak, et al. 2017).

Ces mêmes techniques ont également permis d'identifier d'autres protéines interagissant potentiellement avec MLC1 ou son partenaire GlialCAM et impliquées dans l'homéostasie ionique comme la Cx43 (Wu, Moh, et Schwarz 2016a; Duarri et al. 2011), le canal calcique TRPV4, la pompe d'acidification des vacuoles endosomales (Maria S. Brignone et al. 2014) ou le canal eau Aqp4 (Lanciotti et al. 2012).

Toutes ces interactions pourraient donc induire une modification de l'équilibre ionique en cas de déficience en MLC1, et pourraient donc être à l'origine de l'épilepsie observées chez les patients atteints de MLC.

Une autre hypothèse tend à émerger quant à la fonction de MLC1 : le complexe MLC1/GlialCAM pourrait moduler certains événements de transduction du signal. En effet dans son étude précédemment citée, l'équipe d'Elena Ambrosini a également montré *in vitro* que la surexpression de MLC1 induit une dégradation du récepteur au facteur de croissance épidermique (en anglais *epidermal growth factor receptor* ; EGFR) induisant un défaut d'entrée calcique en réponse à l'EGF et une diminution de la phosphorylation de ERK. Cette voie pourrait être à l'origine de défauts potassique lié à KCa3.1 (Lanciotti et al. 2016), de modification de l'activité de VRAC (Elorza-Vidal et al. 2018) ou de modifications de la réponse inflammatoire à l'interleukine 1 β (Maria Stefania Brignone et al. 2019) en cas de mutation de MLC1.

4.1.1.5. GlialCAM

Chez les patients, environ vingt mutations différentes du gène *HepaCAM* ont été observées, qu'elles donnent lieu à un phénotype classique ou résolutif. Ce gène code pour la protéine GlialCAM, formée de 416 acides aminés (environ 70 kDa ; Figure 13B).

GlialCAM est une protéine transmembranaire de la famille des molécules d'adhésion, présentant une structure semblable aux immunoglobulines et similaire aux molécules d'adhésion jonctionnelle. GlialCAM interagit avec d'autres protéines (Moh et al. 2008)(4.1.1.4 MLC1) et forme aussi des interactions homophiliques, c'est-à-dire avec d'autres protéines GlialCAM présentes soit dans la même cellule, soit dans d'autres cellules (respectivement interaction cis et

trans) (Elorza-Vidal et al. 2020). Par cette conformation, GlialCAM participerait à la régulation de la morphologie astrocytaire (Baldwin et al. 2021)(2.2.1 Les PAPVs).

GlialCAM est exprimée dans les cellules gliales au sein du système nerveux central (Favre-Kontula et al. 2008) et plus particulièrement au sein des astrocytes et des oligodendrocytes (López-Hernández, Ridder, et al. 2011). Dans les astrocytes, comme évoqué précédemment, GlialCAM participe à la bonne localisation de MLC1 et est notamment enrichie à la jonction des pieds astrocytaires périvasculaires (López-Hernández, Ridder, et al. 2011)(Figure 13C).

La participation de GlialCAM à la localisation de MLC1 nous conduit à penser que le phénotype de MLC observé en cas de certaines mutations du gène *HepaCAM* est majoritairement dû à la mauvaise localisation de MLC1. Ceci semble confirmé par le fait que la localisation et l'expression de GlialCAM *in vitro* est indépendante de la présence de MLC1 (López-Hernández, Sirisi, et al. 2011). Cependant, certaines études *in vivo* indiquent qu'en absence de MLC1, on observe une perte de GlialCAM dans les PAPVs (Dubey et al. 2015; Hoegg-Beiler et al. 2014), suggérant que, dans cette zone subcellulaire, MLC1 et GlialCAM coopèrent à leur bonne localisation mutuelle.

Il est donc probable que le phénotype de MLC classique observé en cas de mutations récessives de MLC1 ou de GlialCAM est dû à une perte du complexe MLC1/GlialCAM et que les fonctions de GlialCAM indépendantes de MLC1 ne soient pas impliquées dans ce phénotype.

4.1.1.6. Les modèles d'étude de la MLC

4.1.1.6.1. Les modèles cellulaires de MLC

Comme évoqué tout au long de ce chapitre, les modèles cellulaires ont été d'une grande utilité pour mieux comprendre la fonction, les interactions ou encore la localisation de MLC1 et GlialCAM, permettant ainsi d'avancer dans la compréhension de la physiopathologie de la MLC.

On trouve ainsi des modèles de surexpression de MLC1 et/ou de GlialCAM mutés ou non dans des astrocytes ou des cellules hétérologues, ou des délétions ou diminution de MLC1 et/ou de GlialCAM dans des astrocytes. Les modèles hétérologues (cellules HeLa ou HEK293 *cells*, oocytes de Xenopes) ont par exemple permis de comprendre l'influence des différentes mutations observées chez les patients sur la localisation des deux protéines (Maria S. Brignone et al. 2014; Duarri et al. 2008).

Les premières études de MLC1 dans des astrocytes primaires n'ont pas permis d'observer l'expression de cette protéine à la membrane cytoplasmique mais seulement une localisation intracellulaire, dans le réticulum endoplasmique ou les endosomes (Ambrosini et al. 2008). Mais en utilisant un bloqueur de la prolifération cellulaires potentiellement impliqués dans la différenciation cellulaire : la Cytosine β -D40 arabinofuranoside (AraC), on peut observer une relocalisation partielle de MLC1 à la membrane (Duarri et al. 2011). L'utilisation d'AraC dans les cultures d'astrocytes primaires est donc le plus souvent privilégiée. De même, une publication récente a montré que l'utilisation d'une forte concentration de potassium dans le milieu de culture pouvait également permettre une relocalisation partielle (Sirisi et al. 2017).

Il est important de noter que certaines mutations du gène MLC1 n'induisent pas les mêmes conséquences cellulaires dans des surexpressions en système hétérologue ou dans des astrocytes primaires de rongeur (Duarri et al. 2008) suggérant l'importance du choix de modèle d'étude employé et de sa proximité avec le patient.

Des modèles utilisant des cellules humaines notamment des cellules issues d'astrocytomes (cellules U251) ont également été développés (Maria S. Brignone et al. 2011). Les cellules issues d'astrocytomes exprimant très faiblement MLC1, ces lignées ont été modifiées pour exprimer des taux comparable ou astrocytes de rongeurs ou pour exprimer des mutations issues de patients atteints de MLC.

Mais ces différents modèles ne permettent pas de refléter la complexité tissulaire. Le complexe MLC1/GlialCAM étant enrichi à la jonction des PAPV, il est nécessaire de pouvoir étudier ces protéines mais également la physiopathologie de la MLC dans des modèles plus complexes.

4.1.1.6..2. Les modèles murins de MLC

S'il existe plusieurs modèles de MLC dans le Zébrafish (déficient en MLC1 (Sirisi et al. 2014), GlialCAM ou les deux (Pérez-Rius et al. 2019)), les principaux modèles d'étude de la MLC sont murins.

Aujourd'hui il existe :

- Trois modèles de souris délétées pour MLC1 (*Mlc1* KO) (Hoegg-Beiler et al. 2014; Dubey et al. 2015; Sugio et al. 2017),
- Deux délétés pour GlialCAM (Hoegg-Beiler et al. 2014; Bugiani, Dubey, Breur, Postma, Dekker, ter Braak, et al. 2017),

- Un modèle dans lequel les deux protéines ne sont pas exprimées et dont le phénotype est similaire aux délétions monogéniques (Pérez-Rius et al. 2019),
- Deux modèles de souris knock-in homozygotes, exprimant des mutations du gène *HepaCAM* similaires aux patients à la place du gène sauvage (Hoegg-Beiler et al. 2014; Z. Shi et al. 2019),
- Un modèle de souris surexprimant MLC1 dans les astrocytes, qui présente une atteinte myélinique (vacuolisation et gonflement) plus précoce que les souris *Mlc1* et *GlialCAM* KO (Sugio et al. 2017). De plus, on observe chez ces souris : une ataxie apparaissant autour de P21-P28 et disparaissant progressivement avec l'âge, une activation astrocytaire et pas de macrocéphalie.

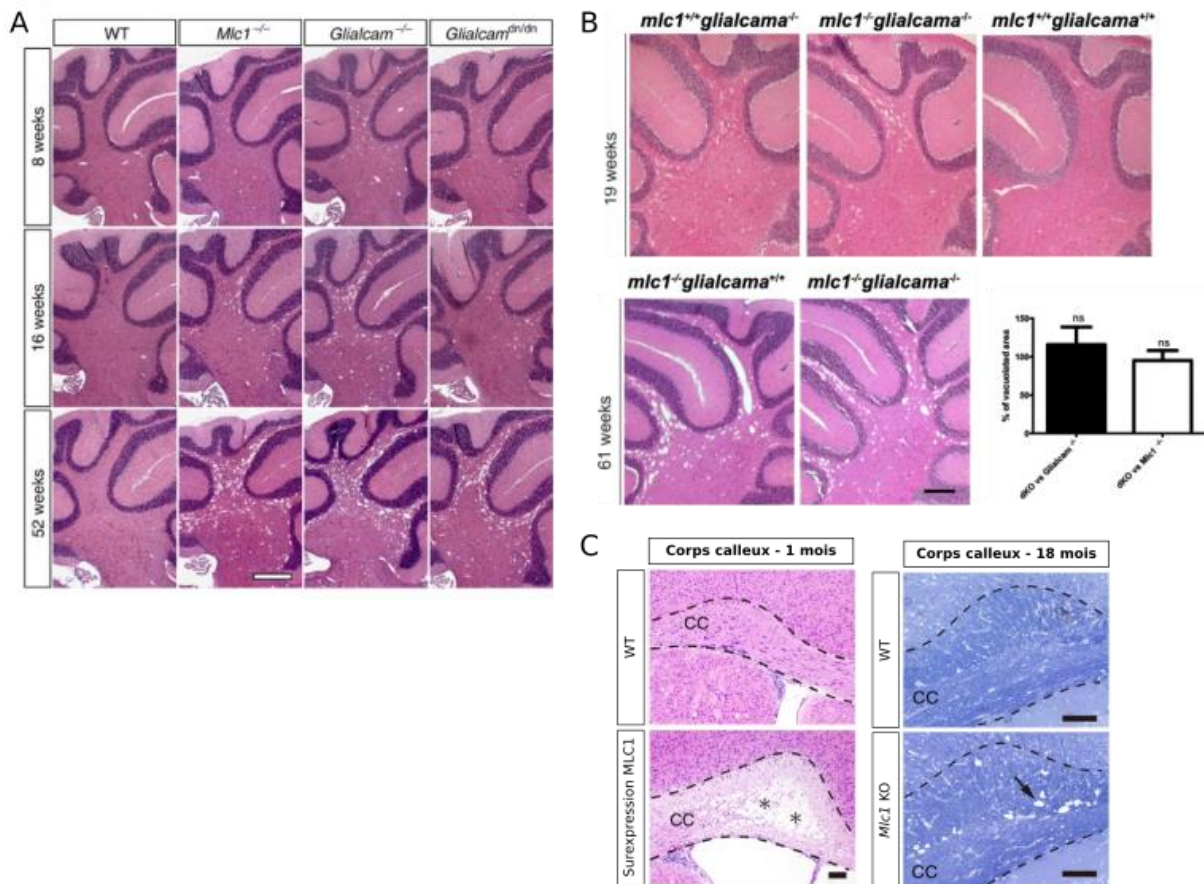


Figure 14 : comparaison de l'atteinte myélinique dans les différents modèles murins de MLC par marquage hématoxyline-éosine (A, B et C gauche) ou bleu de toluidine (C droite). A : Atteintes myéliniques dans le cervelet de souris WT, *Mlc1* KO (*MLC1*^{-/-}), *HepaCAM* KO (*GlialCAM*^{-/-}) et Knock-in homozygote *HepaCAM* (*GlialCAM*^{dn/dn}) (adapté de Hoegg-Beiler *et al.* 2014). B : Atteintes myéliniques dans le cervelet de souris *HepaCAM* KO (*mlc1*^{+/+} *glialcama*^{-/-}), double KO (*mlc1*^{-/-} *glialcama*^{-/-}) et WT (*mlc1*^{+/+} *glialcama*^{+/+}) (adapté de Pérez-Rius *et al.* 2019). C : Atteintes myéliniques dans le corps calleux de souris de 1 mois WT et surexprimant MLC1 (à gauche) et de souris de 18 mois WT et *Mlc1* KO (adapté de Sugio *et al.* 2017).

Brièvement, les modèles délétés pour MLC1, GlialCAM ou les deux, ainsi que les souris knock-in semblent présenter le même phénotype et notamment une progression de l'atteinte myélinique identique (Figure 14) (Hoegg-Beiler et al. 2014; Pérez-Rius et al. 2019). En revanche, les souris surexprimant MLC1 auraient un phénotype plus grave et précoce (Sugio et al. 2017).

Les modèles de souris délétés pour MLC1 possèdent plusieurs similitudes avec les patients :

- Une augmentation de la quantité d'eau cérébrale (à partir de P7) et une macrocéphalie (Figure 12A),
- La présence d'œdèmes périvasculaires, observé à 7 mois chez la souris (Figure 12F),
- La perte de MLC1 à la jonction des pieds astrocytaires périvasculaires (Hoegg-Beiler et al. 2014; Hamilton et al. 2018),
- Une susceptibilité à l'épilepsie (induite par kainate) chez les souris *Mlc1* KO (Dubey et al. 2018),
- La présence de vacuoles intramyéliniques (López-Hernández, Sirisi, et al. 2011)(Figure 12 D et E et Figure 14). Cependant celles-ci apparaissent dès la première année de vie chez l'Homme coïncidant avec le pic de myélinisation, tandis que chez la souris, elles apparaissent bien après la myélinisation, aux alentours de trois mois (Hoegg-Beiler et al. 2014; Dubey et al. 2015). De plus la localisation de ces vacuoles chez l'Homme est essentiellement subcorticale, tandis que chez la souris le cervelet semble la région la plus touchée (Bugiani, Dubey, Breur, Postma, Dekker, Ter Braak, et al. 2017).

Cependant, ces souris présentent également d'autres différences :

- Les souris, contrairement à l'humain, ne semblent pas présenter de déficience motrice ou cognitive (Hoegg-Beiler et al. 2014). Cependant, les tests comportementaux sur ces souris n'ont pas été très poussés.
- Enfin, la présence de kystes n'a pas été mise en évidence dans les modèles murins de MLC.

Ainsi, il semble que les modèles murins permettent de résumer en grande partie le phénotype de MLC aux différences près d'une atteinte sous-corticale moins marquée (kystes et vacuolisation myélinique) et d'une apparition plus tardive des symptômes (vacuoles, quantité d'eau, *etc.*). Dans leur publication de 2021 l'équipe de Raul Estevez pose ainsi l'hypothèse que le modèle murin de MLC pourrait être assimilé à un modèle de MLC précoce (Bosch et Estevez 2021).

4.1.2. Autres astrocytopathies

4.1.2.1. La maladie d'Alexander

La maladie d'Alexander (OMIM : 203450) a été découverte en 1949 par William Stewart Alexander. Elle est due dans 95 % des cas à des mutations dominantes du gène *GFAP*, spécifique des astrocytes et induisant un gain de fonction (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017). Habituellement, on distingue deux phénotypes de cette pathologie : le type I ou type précoce qui est majoritaire et qui apparaît dans les premières années de vie et le type II qui peut apparaître à tous les âges (M. S. van der Knaap et al. 2001).

Dans le type I de la pathologie, on observe un retard développemental, une spasticité, des crises épileptiques et une macrocéphalie apparaissant généralement dès la première année de vie. La dégradation progressive des patients induit une espérance de vie moyenne de 14 ans. Il n'existe malheureusement aucun traitement pour cette pathologie rare. Les patients atteints par ce phénotype présentent des modifications de la substance blanche visibles à l'IRM et plus particulièrement dans la région frontale (M. S. van der Knaap et al. 2001). La progression de la maladie induit l'apparition de kystes dans cette même région ainsi qu'un élargissement des ventricules.

Le type II, est plus progressif avec une espérance de vie plus longue (en moyenne 25 ans), et des atteintes principalement motrices (dysarthrie, dysphonie, dysphagie, ataxie, *etc.*) et plus rarement cognitives (M. S. van der Knaap et al. 2001). Ces patients ne présentent pas de macrocéphalie et à l'IRM, on n'observe peu voire pas d'atteinte de la substance blanche (M. S. van der Knaap et al. 2001).

A l'échelle microscopique, on observe dans les deux phénotypes une accumulation de fibres de Rosenthal, plus particulièrement dans les PAPVs (Hagemann et al. 2009). Ces corps d'inclusion éosinophiles et électrodenses astrocytaires sont constitués d'une accumulation de la protéine GFAP induite par sa mutation. Les conséquences fonctionnelles des mutations *GFAP* sur le développement et le maintien de la myélinisation sont encore obscures (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017; Hagemann et al. 2009; Mignot et al. 2004); . Cependant, le stress astrocytaire induit par l'accumulation des fibres de Rosenthal (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017; Mignot et al. 2004; Hagemann et al. 2009) semble être en jeu. On observe, en effet, une diminution drastique de la létalité, dans un modèle de souris de la maladie d'Alexander dans

lequel l' α B-crystalline (connue pour désagréger les fibres de Rosenthal) a été surexprimée (Hagemann et al. 2009).

4.1.2.2. Le syndrome CACH

Si sa prévalence n'a pas été précisément mesurée, plusieurs experts décrivent le syndrome de CACH comme une des leucodystrophies ayant la plus forte incidence (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017; Marjo S. van der Knaap, Pronk, et Scheper 2006). Comme la maladie d'Alexander, ce syndrome peut se présenter à différents âges. Le plus souvent le diagnostic est posé entre 2 et 6 ans (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017). L'âge d'apparition des symptômes est un bon indicateur de sévérité et de survie pour cette pathologie létale. Il existe, par exemple, un phénotype très sévère du syndrome CACH appelé « leucoencéphalopathie des Cris », en référence au peuple autochtone d'Amérique du Nord chez lequel il a été découvert, qui apparaît dès la première année de vie et qui est rapidement fatal (Fogli et al. 2002).

Le syndrome de CACH est dû à des mutations récessives pouvant toucher cinq gènes : *EIF2B1*, *EIF2B2*, *EIF2B3*, *EIF2B4* et *EIF2B5*. Ces gènes codent tous pour des sous-unités du facteur d'initiation de la traduction eukaryote 2 (Eif2b) (van Kollenburg et al. 2006). Malgré une corrélation génotype/phénotype chez les patients atteints de ce syndrome (Fogli et al. 2002), on peut observer des variations phénotypiques entre patients porteurs de la même mutation.

Classiquement, on observe chez les patients une détérioration motrice (principalement ataxie et spasticité) et cognitive progressive (M. S. van der Knaap et al. 1997) parfois accompagnée de crises épileptiques. A l'âge adulte, les patients peuvent présenter une démence précoce, des symptômes psychiatriques ou des migraines. Comme dans la MLC les patients atteints de CACH sont sensibles aux fortes fièvres et aux traumatismes crâniens qui provoquent des épisodes de détérioration majeure (M. S. van der Knaap et al. 1997). Les formes prénatales de ce syndrome présentent une microcéphalie.

A l'IRM, on observe des anomalies de la substance blanche antérieures aux symptômes et une diminution progressive de cette substance, peu à peu remplacée par des kystes et un œdème diffus (M. S. van der Knaap et al. 1997).

Les analyses histopathologiques révèlent, un déficit myélinique et une vacuolisation de la substance blanche (Dooves et al., s.d.), accompagnés d'une diminution du nombre d'oligodendrocytes qui semblent rester au stade immature (Bugiani et al. 2011). Une vacuolisation

oligodendrocytaire peut aussi être observée et ces oligodendrocytes d'aspect « mousseux » sont considérés comme un phénotype spécifique du CACH (Dooves et al., s. d.). Le nombre d'astrocytes est également réduit avec une ramification altérée et une modification des filaments intermédiaires (Bugiani et al. 2011). Ces astrocytes semblent être à l'origine des déficits oligodendrocytaires observés. En effet, la maturation d'oligodendrocytes non mutés ou mutés est altérée en co-culture avec des astrocytes CACH en comparaison à une co-culture avec des astrocytes non mutés (Dooves et al., s. d.). Cependant la voie mécanistique reliant ces défauts astrocytaires aux mutations de *Eif2B* sont encore peu connues.

Ainsi cette pathologie caractérisées par des mutations d'une protéine ubiquitaire présente essentiellement des anomalies astrocytaires et oligodendrocytaire et la chronologie des anomalies observées a conduit l'équipe de Marjo van der Knaap à la considérée comme une leucodystrophie astrocytopathique (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017). Cependant cette classification peut être encore discutée.

Eif2B participe à l'assemblage du ribosome autour de l'ARNm permettant ainsi l'initiation de la traduction. Certains auteurs postulent qu'une altération d'Eif2B pourrait être à l'origine de dénaturation et de mauvais repliements protéiques en cas de stress (comme un stress thermique lié à la fièvre ou un stress oxydant induit par un trauma crânien) (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017). Cependant, aucun impact sur la synthèse protéique globale n'a été observé dans des lymphoblastes de patients en culture soumis à un stress thermique (van Kollenburg et al. 2006).

4.1.2.3. La leucoencéphalopathie liée à CLC2

En 2013, l'équipe de Marjo Van der Knapp a identifié des mutations du gène *CLCN2* codant pour la protéine CLC2 chez des patients souffrant de leucodystrophie (OMIM no. 615651)(Depienne et al. 2013).

Cette pathologie se caractérise par des altérations neurologiques variables d'un patient à l'autre, des signes caractéristiques à l'IRM, une déficience visuelle modérée et une infertilité masculine. Parmi les leucodystrophies, la leucoencéphalopathie liée à CLC2 a un diagnostic favorable, sans mort prématurée malgré l'absence de traitements curatifs (Min et al. 1993).

Les symptômes neurologiques observés chez les patients sont généralement stables ou d'évolution lente. On retrouve ainsi couramment :

- Une ataxie et une spasticité généralement modérées,
- Des troubles cognitifs rarement sévères,
- Plus rarement des symptômes psychiatriques, des maux de tête ou des troubles de l'audition ou de l'oreille interne

Les analyses IRM ont permis d'observer chez ces patients :

- Une augmentation de la quantité d'eau intracérébrale
- Des défauts de la substance blanche dus à une vacuolisation myélinique (Depienne et al. 2013).

Cette pathologie est causée par des mutations du gène *CLCN2* affectant sa protéine CLC2. CLC2 est un canal chlore qui dans le système nerveux central est majoritairement exprimé à la membrane de certains PAPVs, dans la glie de Bergmann et la *glia limitans*, dans les cellules épendymaires, dans les neurones pyramidaux et dans les oligodendrocytes (Depienne et al. 2013). Ce canal chlore est connu pour sa participation à l'homéostasie et au transport cellulaire et à la régulation de l'excitabilité cellulaire (Sirisi et al. 2017).

De façon surprenante, le modèle de souris pour cette pathologie a été mis en place avant la description des premiers patients. En effet, la protéine CLC2 a été suspectée de participer à la MLC (4.1.1.4 MLC1). En effet, le complexe MLC1/GlialCAM se lie à CLC2 et modifier son activité *in vitro* (Sirisi et al. 2017). Cependant, aucune mutation du gène *CLCN2* n'a été observée chez les patients atteints de MLC (Leegwater et al. 2001).

En 2014, une étude comparant les souris délétées pour GlialCAM, MLC1 ou CLC2 a été publiée (Hoegg-Beiler et al. 2014). Cette étude a notamment permis de mettre en évidence que CLC2 ne participait à la localisation ni de MLC1 ni de GlialCAM mais que ces deux protéines étaient indispensables à la localisation et à l'activité de CLC2. Ce résultat suggère que la physiopathologie de la MLC pourrait avoir une composante liée à CLC2.

4.1.2.4. La dysplasie occulodentodigitale et le syndrome de Hallermann-Streiff

Des mutations dominantes du gène *GJA1*, codant pour la Cx43 causent la dysplasie occulodentodigitale (DODD) (OMIM : 164200 et 257850). Du fait, de l'expression quasi ubiquitaire de la Cx43, ce syndrome est pléiotropique et induit des anomalies de la face, des yeux, des doigts et des dents. Cette pathologie induit également des signes neurologiques variables entre les patients : spasticité, ataxie, difficulté de posture, troubles cognitifs, surdité, *etc.* (Loddenkemper et al. 2002). On observe également à l'IRM des anomalies de la substance blanche plus particulièrement dans les régions occipitales et périventriculaires des patients et parfois des calcifications des ganglions de la base (Barnard et al. 1981; Abrams et Scherer 2012).

Le syndrome de Hallermann-Streiff (HSS) est un syndrome sporadique dû à des mutations récessives notamment de *GJA1*. Le DODD et le HSS possèdent plusieurs symptômes communs notamment les anomalies de la face, des yeux et des dents (Abrams et Scherer 2012). Le HSS peut induire également des déficits neurologiques comme des retards mentaux et des anomalies à l'imagerie.

4.2. Les leucodystrophies vasculaires

Les leucodystrophies vasculaires, aussi appelées leuco-vasculopathies ou leuco-micro-angiopathies sont des pathologies génétiques dans lesquelles des atteintes myéliniques sont observées à la suite de défauts des microvaisseaux cérébraux. Ces pathologies font donc à la fois partie des leucodystrophies et des maladies de petits vaisseaux. Ainsi, la physiopathologie des leuco-vasculopathies est sensible à des facteurs de risques vasculaires comme le tabac, le diabète ou encore l'hypertension (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017).

Parmi ces pathologies on retrouve :

- L'artériopathie cérébrale autosomique dominante à infarctus sous-corticaux et leucoencéphalopathie (CADASIL),
- L'artériopathie cérébrale autosomique récessive à infarctus sous-corticaux et leucoencéphalopathie (CARASIL),

- L'arthériopathie à infarctus cérébraux et leucoencéphalopathie liée à la cathepsine A (CARASAL) : une leucodystrophie apparaissant à l'âge adulte est due à des mutations dominantes du gène codant pour la cathepsine A,
- L'angiopathie amyloïde cérébrale héréditaire due à des mutations dominantes du gène *APP* codant pour le précurseur de la protéine β -amyloïde,
- La leucoencéphalopathie avec calcification et kyste.

En général, ces pathologies sont responsables d'hémorragies ou d'ischémies qui elles-mêmes induisent des lésions du parenchyme cérébral incluant des lésions de la substance blanche. Ces lésions semblent à leur tour être la cause d'un déclin cognitif et/ou moteur (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017).

4.2.1. Le CADASIL

La première description clinique d'un patient vraisemblablement atteint de CADASIL date de 1976 mais il a fallu attendre les années 1990 pour découvrir le gène lié à cette pathologie et pour uniformiser les descriptions de patients sous le nom de CADASIL. (Moreton et al. 2014).

Parmi les leucodystrophies, cette pathologie est, pourtant, relativement fréquente. Des études effectuées en Angleterre ont notamment relevé une incidence comprise entre 1/100 000 et 1/20 000 (Moreton et al. 2014). L'apparition tardive et la variabilité des phénotypes observés dans cette pathologie suggèrent que ces chiffres pourraient être sous-estimés.

Le CADASIL est dû à des mutations du gène *NOTCH3* situé sur le chromosome 19 et codant pour la protéine éponyme (3.1.2 Les voies moléculaires impliquées dans l'angiogenèse ; 3.1.3 Maturation vasculaire post angiogénique) (Monet-Leprêtre et al. 2013). Cette protéine transmembranaire contient un domaine extracellulaire contenant une répétition de 34 motifs « facteur de croissance épidermal » (EGF) comprenant six résidus cystéines. Les mutations impliquées dans le CADASIL induisent majoritairement une modification du nombre de ces cystéines dans l'un des six premiers motifs EGF.

Cette modification du nombre de cystéines pourrait être à l'origine de polymérisation via des ponts disulfures de la protéine Notch3 (Monet-Leprêtre et al. 2013). Il a en effet été montré une accumulation de Notch3 muté à la membrane plasmique des cellules musculaires lisses vasculaires et des péricytes (Monet-Leprêtre et al. 2013).

La présence de dépôts osmophiliques granuleux dans les petites artères est un signe spécifique du CADASIL (Shuja et al. 2009). Dans des biopsies de patients, ces dépôts contiennent un réseau de fibre de collagène et d'élastine mais également une accumulation de la partie extracellulaire de Notch3. Ces dépôts, ainsi que l'accumulation de Notch3 mutée à la membrane des cellules musculaires lisses vasculaires sont observés dans le système nerveux central mais aussi dans les vaisseaux périphériques des patients et des souris mutées pour reproduire cette pathologie (Monet-Leprêtre et al. 2013). De plus, l'accumulation de Notch3 induit *in vitro* l'accumulation d'autres protéines comme l'inhibiteur tissulaire de la métalloprotéase 3 (TIMP3) (Monet-Leprêtre et al. 2013). Cette protéine est également présente dans les dépôts provenant de biopsies de patients. Enfin, l'accumulation de Notch3 muté semble être le premier signe du CADASIL. L'ensemble de ces observations suggèrent donc que l'accumulation de Notch3 muté est un événement clé dans la physiopathologie du CADASIL.

En effet, les agrégats de Notch3 muté et de TIMP3 altèrent la voie d'activation ADAM17/HB-EGF/(ErbB1/ErbB4) (Capone et al. 2016). Cette altération semble induire une activation du canal potassique voltage dépendant (Kv) qui à son tour diminue le couplage neurovasculaire et altère le flux sanguin cérébral (Capone et al. 2016).

Dans un modèle de souris CADASIL mutées pour Notch3, on observe que les anomalies vasculaires précèdent l'apparition des lésions de la substance blanche (Joutel et al. 2010). Chez les patients, l'observation de défaut de la substance blanche par IRM peut précéder l'apparition des premiers symptômes (Tournier-Lasserre et al. 1991).

Ainsi, on peut supposer que la polymérisation de Notch3 muté à l'origine d'agrégats de TIMP3 dans la lame basale qui altèrent les fonctions vasculaires, induisant des défauts myéliniques eux-mêmes à l'origine des symptômes cliniques du CADASIL.

Généralement, les premiers symptômes se manifestent entre 20 et 30 ans par des migraines avec aura (Tournier-Lasserre et al. 1991). En revanche, les manifestations ischémiques apparaissent en moyenne vers 40 ans et sont le signe clinique le plus fréquent chez les patients (Tournier-Lasserre et al. 1991). En effet, environ 60 % des patients présentent des ischémies transitoires ou complètes (Hugues Chabriat et al. 2009). Ces événements ischémiques peuvent induire des difficultés exécutives, des apathies voire des troubles sévères de l'humeur.

Les troubles de l'humeur (mélancolie profonde, dépression sévère, épisodes maniaques) sont retrouvés chez 20 % des patients souffrant de CADASIL (H. Chabriat et al. 2020). Les apathies sont, elles, observées dans 40 % des cas (H. Chabriat et al. 2020).

Les symptômes les plus tardivement observés sont la démence, des déficits moteurs (syndrome pseudo-bulbaire, incontinence urinaire) et les troubles posturaux, ils apparaissent généralement entre 60 et 70 ans (H. Chabriat et al. 2020).

Si la démence apparaît au dernier stade du CADASIL, les premiers signes de déclin cognitifs peuvent apparaître dès 30 ans (Buffon et al. 2006) et sont ensuite majorés par les ischémies (Hugues Chabriat et al. 2009).

Actuellement, il n'existe pas de traitement pour soigner cette leucodystrophie. Un anticorps dirigé contre la forme mutée de Notch3 a cependant été développé. Lorsqu'il est administré à un modèle de souris CADASIL, on observe une amélioration du couplage neurovasculaire malgré une absence d'amélioration des lésions de la substance blanche ni des dépôts Notch3 (Ghezali et al. 2018).

4.2.2. Le CARASIL

Le CARASIL est un syndrome très proche du CADASIL par ses caractéristiques cliniques et ses résultats de l'IRM cérébrale et son âge moyen d'apparition (30 ans) (Uemura et al. 2020).

La première description de ce syndrome date également de 1976 (Maeda et al. 1976; Bianchi et al. 2014).

Enfin, toujours de manière similaire au CADASIL, les vaisseaux sanguins du système nerveux central mais aussi des organes périphériques sont touchés, induisant notamment une alopécie chez les patients.

Cette leuco-vasculopathie est induite par des mutations « perte de fonction » bi-alléliques du gène de la sérine protéase HTRA1 (en anglais : *high-temperature requirement A serine peptidase 1*). Cette protéase de 51 kDa environ, appartient à la famille des protéines chaperonnes et forme des homotrimères.

HTRA1 semble impliquée dans le métabolisme de différentes protéines extracellulaires comme le collagène de type III ou la fibronectine (Campioni et al. 2011) et a également un rôle dans la régulation de la voie TGF β . Plusieurs mécanismes d'action de Htra1 ont été proposés : le clivage extracellulaire du TGF β mature, le clivage de son récepteur et la dégradation de la forme latente du TGF β (Beaufort et al. 2014; Uemura et al. 2020). Ces différentes études, les

symptômes observés chez les patients et l'accumulation de TGF β dans la lame basale vasculaire des patients (Uemura et al. 2020) suggèrent que l'altération de la voie TGF β serait un élément clé de la physiopathologie du CARASIL.

4.3. Autres leucodystrophies

4.3.1. Les altérations oligodendrocytaires ou troubles myéliniques

Le rôle des oligodendrocytes et/ou de la myéline est prépondérant dans les troubles myéliniques. Ces troubles peuvent se diviser en trois sous-groupes :

- Les pathologies hypomyélinisantes, où la formation de myéline est altérée, comme dans la maladie de Pelizaeus-Merzbacher (pathologie dans laquelle des mutations « gain de fonction » du gène *PLP* provoque une dégénérescence oligodendrocytaire à l'origine d'une hypomyélinisation).
- Les pathologies démyélinisantes dans lesquelles la myéline est altérée après sa formation, comme dans la leucodystrophie métachromatique, une pathologie lysosome apparaissant chez les adolescents porteurs de mutations récessives du gène *ARSA*.
- Les pathologies de la vacuolisation primaire ou secondaire de la substance blanche.

Parmi ces dernières, on peut citer la maladie de Canavan, une des maladies dégénératives cérébrales de l'enfant les plus répandues (incidence dans une population juive ashkénaze : 1/6000 à 1/14,000)(Zayed 2015). La maladie de Canavan est due à des mutations du gène *ASPA* induisant un déficit en aspartocylase entraînant lui-même une accumulation d'acide N-acétylaspartique dans le cerveau. Comme la MLC, cette pathologie commence généralement par une macrocéphalie dans la première année de vie et est suivi par une dégénérescence motrice et cognitive probablement due à la vacuolisation myélinique observée chez ces patients (Baslow et Guilfoyle 2009; Bokhari, Samanta, et Bokhari 2021). On observe également des astrocytes œdémateux dans les tissus de patients, suggérant une altération du métabolisme astrocytaire. Certains auteurs postulent même que ce déficit serait à l'origine des défauts myéliniques observés (Baslow et Guilfoyle 2009).

4.3.2. Les leuco-axonopathies

Les leuco-axonopathies sont des pathologies de la substance blanche secondaires à une dégénérescence neuronale ou axonale.

Ces pathologies sont difficilement différenciables des troubles myéliniques. En effet, dans le premier cas on observe une dégénérescence axonale ou neuronale suivi d'une dégénérescence myélinique secondaire, tandis que dans le second cas on observe le plus souvent ces deux phénomènes de manière inversés (la dégénérescence myélinique induit une dégénérescence axonale et neuronale secondaire).

4.3.3. Les Microgliopathies

Les microgliopathies sont dues à des mutations de gènes spécifiques aux microglies (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017) comme la leucoencéphalopathie héréditaire diffuse avec sphéroïdes axonaux. Cette pathologie aussi appelée leucoencéphalopathie liée à CSF1R est une microgliopathie due à des mutations dominantes de CSF1R qui est spécifiquement exprimé dans le cerveau par les microglies. Ce syndrome induit des changements de personnalité, des symptômes moteurs et une dépression chez la plupart des patients qui en sont touchés (Stabile et al. 2016). Ce phénotype clinique semble être dû à une raréfaction et une vacuolisation de la substance blanche. Le signe distinctif de cette pathologie est la présence d'axones œdémateux et de sphéroïdes axonaux (Sundal et al. 2014).

A l'état physiologique, les microglies participent au développement et au maintien de la myéline. Mais leur capacité pro-inflammatoire et leur sécrétion de cytokines en cas d'activation pourraient aussi être à l'origine d'effets délétères sur la myéline. Cette hypothèse a été proposée pour expliquer la physiopathologie d'une autre microgliopathie : la maladie de Nasu-Hakola. Cette leucodystrophie est due à des mutations des gènes microgliaux *TREM2* et *TYROB* induisant une inflammation cérébrale (Takahashi, Rochford, et Neumann 2005, 2).

RESULTATS EXPERIMENTAUX

1. ARTICLE 1

Les astrocytes, principales cellules gliales du système nerveux centrales sont des cellules morphologiquement complexes. Leurs nombreuses ramifications permettent à ces cellules d'interagir avec les synapses et les vaisseaux sanguins. A l'interface vasculaire, les prolongements astrocytaires sont terminés par des pieds qui couvrent la quasi-totalité des vaisseaux sanguins. Ces pieds sont des composants essentiels de l'unité gliovasculaire, unité impliquée dans différentes fonctions cérébrales majeures comme le maintien de l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique. Cependant, le développement spécifique des interactions fonctionnelles et morphologique entre compartiment astrocytaire et vasculaire n'a pas été entièrement décrit. Nous avons, par une stratégie expérimentale innovante, étudié le développement postnatal des pieds astrocytaires périvasculaires (PAPVs). En effet, via une technique de purification d'unités gliovasculaires de souris, nous avons étudié spécifiquement l'expression postnatale de MLC1 et GlialCAM, deux protéines transmembranaires formant un complexe enrichi à la jonction des PAPVs matures. Ainsi, nous avons observé que l'enrichissement et le couplage en un complexe mature de MLC1 et GlialCAM dans les PAPVs se produisaient entre les jours postnatals (P) 10 et 15, après la formation des canaux aqueux Aquaporine 4. Dans ce même intervalle, nous avons également observé une augmentation de l'expression de la Claudine-5 et de la glycoprotéine-P, deux protéines endothéliales spécifiques essentielles à la barrière hémato-encéphalique. Ces résultats indiquent que la maturation moléculaire des PAPVs est un processus complexe et graduel corrélé avec la maturation de la barrière hémato-encéphalique. De plus, ils suggèrent que la maturation du complexe MLC1/GlialCAM au sein des PAPVs entre les stades P10 et P15 pourrait être un événement clé de la maturation de l'unité gliovasculaire.

2. ARTICLE 2

Le réseau vasculaire cérébral est un réseau dense et essentiel à la distribution d'oxygène et de nutriment vers les cellules neurales. Ce réseau se développe au cours de l'embryogénèse et jusqu'au jour postnatal (P) 21 chez la souris, et donne lieu à la formation de la barrière hémato-encéphalique endothéliale. Cette barrière est entourée de cellules murales (péricytes et cellules musculaires lisses vasculaires) et de fibroblastes. Dans cette étude, nous avons comparé les propriétés moléculaires et fonctionnelles des cellules vasculaires cérébrales entre P5 et P15. Nous avons pour cela effectué une étude transcriptionnelle de vaisseaux purifiés de cortex de souris à P5 et P15 et étudié le profil de transcrits préférentiellement ou spécifiquement exprimés par les différentes cellules vasculaires identifiées dans des banques de données publiques de séquençage en cellules uniques. Nos résultats indiquent que les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses vasculaires et les fibroblastes suivent une maturation moléculaire postnatale. En particulier, les cellules endothéliales acquièrent des capacités d'efflux médiées par la glycoprotéine-P. Le réseau des cellules musculaires lisses vasculaires artérielles s'étend, s'enrichi en protéines impliquées dans la vasoconstriction (comme l'actine musculaire lisse, ou la chaîne lourde de myosine 11) et devient contractile. Le flux vasculaire cérébral analysé en IRM augmente également. En analysant des échantillons de tissus cortical humain allant de stade prénataux précoces jusqu'à l'âge adulte, nous avons observé une augmentation de l'expression endothéliale de glycoprotéine-P à la naissance et une maturation significative de myosine 11 dans les cellules musculaires lisses vasculaires (comme chez la souris) à partir de la naissance et jusqu'à l'âge de 5 ans. Ainsi, chez la souris et l'humain, la période postnatale est une étape critique au cours de laquelle les propriétés essentielles du réseau vasculaire cérébral (c'est-à-dire, l'efflux endothéliale nécessaire à la protection du tissu cérébral et responsable de la pharmacorésistance du cerveau, et la contractilité des cellules musculaires lisses vasculaires nécessaire au tonus vasculaire et à la perfusion cérébrale) arrivent à maturation.

3. ARTICLE 3

L'absence de la protéine astrocytaire spécifique MLC1 est responsable de la mégalencéphalie leucoencéphalopathique à kystes sous-corticaux (MLC), une forme rare de leucodystrophie. Cette pathologie est caractérisée par une macrocéphalie précoce et une vacuolisation progressive de la substance blanche induisant ataxie, spasticité et déclin cognitif. Comme nous l'avons observé précédemment, au cours du développement post-natal (du jour postnatal (P) 5 à P15 chez la souris), MLC1 forme un complexe transmembranaire avec GlialCAM à la jonction de pieds astrocytaires périvasculaires (PAPVs) (Article 1) qui forment avec les vaisseaux sanguins cérébraux qu'ils recouvrent, l'unité glio-vasculaire. De plus, nous avons observé à ces mêmes stades une maturation des cellules endothéliales et musculaires lisses vasculaires (Article 2). Nous avons donc, ensuite analysé l'unité glio-vasculaire dans des souris délétées pour le gène *Mlc1* reproduisant la physiopathologie de la MLC. L'absence de MLC1 induit une accumulation de fluide dans le cerveau mais sans modification de l'organisation endothéliale ou de l'intégrité de la barrière hémato-encéphalique. A partir du stade P10, l'acquisition de la contractilité par les cellules musculaires lisses vasculaires est altérée, induisant une diminution significative de la perfusion artérielle et du couplage neuro-vasculaire. Ces anomalies sont corrélées avec des altérations de la morphologie et de la polarité astrocytaire, une désorganisation structurale des PAPVs et une diminution de la circulation intraparenchymale du liquide céphalorachidien. Ainsi, MLC1 est nécessaire au développement postnatal, à l'organisation des PAPVs, au contrôle de la vasoconstriction et à la clairance intraparenchymale du fluide interstitiel. Nos résultats suggèrent que (i) la MLC est une pathologie du développement de l'unité glio-vasculaire et (ii) que la maturation des PAPVs et des cellules musculaires lisses vasculaires sont des primo-événements de la physiopathologie de la MLC et constituent donc des cibles thérapeutiques pour cette pathologie.

RESULTATS SUPPLEMENTAIRES

1. LA MATURATION DU COMPLEXE MLC1/GLIALCAM EST CORRELEE A L'AUGMENTATION DES ARNm CORRESPONDANTS DANS LES PVAPS.

1.1. Introduction

Dans l'Article 1, nous avons étudié l'expression postnatale de MLC1 et GlialCAM, chez la souris. Nos résultats indiquent qu'il n'y a pas de modification du taux d'expression des deux protéines au cours du développement postnatal dans le cerveau entier (Article 1, Figure 2 et 3). En revanche, nous avons observé une augmentation des protéines dans les unités gliovasculaires isolées et donc de facto, dans les PAPVs entre les stades P10 et P15 (Article 1, Figures 2 et 3). Ces résultats suggèrent une maturation postnatale du complexe MLC1/GlialCAM, entre les stades P10 et P15 dans les PAPVs.

Dans un article publié en 2017, nous avons observé l'existence d'une traduction locale dans les PAPVs et postulé que ce processus pourrait participer à la polarisation protéique de ce compartiment (Boulay et al. 2017). Une traduction locale des ARNm codant MLC1 et GlialCAM dans les PAPVs pourrait expliquer l'augmentation locale des protéines. Pour tester cette hypothèse, j'ai comparé par qPCR l'expression des ARNm MLC1 et HepaCAM, dans le cerveau et les PAPVs.

1.2. Méthodes

Les méthodes permettant l'obtention des tissus (hémisphères et unités gliovasculaires isolées) ainsi que la méthode de qPCR ont été décrits dans l'Article 3. Nous avons utilisé les amorces :

- *HepaCAM* F : GACCGCCTAAAATCAGAAGCA et *HepaCAM* R : TGGCTCTGTAGCAGGGTTTT
- *Mlc1* F : TCAGTGCGATTCCCAACTTTCA et *Mlc1* R : GGACCGGGCCGAATGAT

1.3. Résultats et discussion

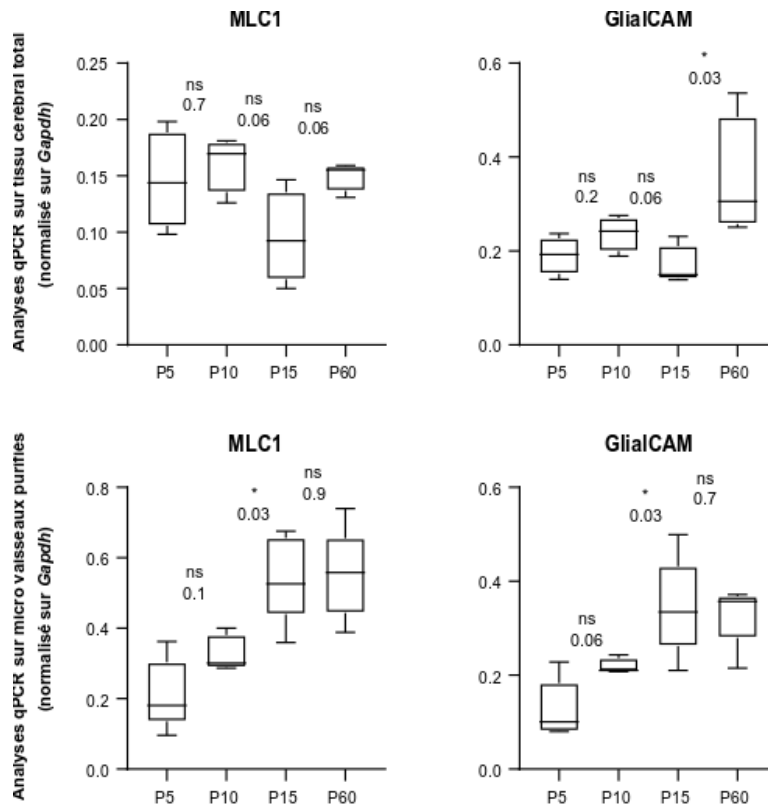


Figure 1 : Analyses qPCR de l'expression des ARNm codant pour MLC1 (A et C) et GlialCAM (B et D), dans des échantillons de tissus cérébraux (A et B ; N=4 par génotype) et des échantillons de microvaisseaux isolés (C et D ; N=5 par génotype). Ces comparaisons ont été effectuées par test de Mann-Whitney et les résultats sont présentés en boîte de Tukey. *, $p \leq 0,05$, **, $p \leq 0,01$, *, $p \leq 0,001$, and ns : non significatif.**

Nous avons observé une augmentation significative des ARNm MLC1 et HepaCAM dans les PAPVs (Figure 1C, D) entre les stades P10 et P15 sans augmentation dans le tissu cérébral total (Figure 1A, B). Ces résultats suggèrent que les deux ARNm acquièrent leur localisation périvasculaire entre ces deux stades, ce qui semble tout d'abord confirmer que l'intervalle entre P10 et P15 est un stade clé de la maturation moléculaire postnatale des PAPVs. À ces stades, la couverture astrocytaire périvasculaire est pratiquement totale. Ainsi, ces résultats suggèrent que le transport des ARNm MLC1 et HepaCAM et leur traduction locale seraient des mécanismes déterminants pour la mise en place du complexe MLC1/GlialCAM dans les PAPVs. De plus, si la traduction locale est un mécanisme important pour la maturation moléculaire des PAPVs, d'autres protéines des PAPVs pourraient être concernées. Ces explorations sont en cours au laboratoire.

2. IMPLICATION DE MLC1 DANS LE DEVELOPPEMENT PERICYTAIRE POSTNATAL.

2.1. Introduction

Les péricytes et les cellules musculaires lisses vasculaires forment un continuum cellulaire. Nous n'avons pas analysé si les péricytes présentaient comme les VSMCs un défaut de maturation dans les souris *Mlc1* KO. Pour aborder cette question, nous nous sommes basés sur l'étude de deux marqueurs péricyaires spécifiques : *Kcnj8* et *Abcc9* identifiés dans l'Article 2. Nous avons comparé leur expression chez les souris *Mlc1* KO et WT.

2.2. Méthodes

Les animaux utilisés dans cette expérimentation ont été décrits dans l'Article 3. Les méthodes de purification des microvaisseaux cérébraux et de quantification des ARNm par qPCR, ainsi que les amorces utilisées ont été décrits dans l'Article 2.

2.3. Résultats et discussion

L'expression de *Kcnj8* n'est pas modifiée aux stades étudiés, mais l'expression d'*Abcc9* est significativement diminuée à P10 et P15 (Figure 2).

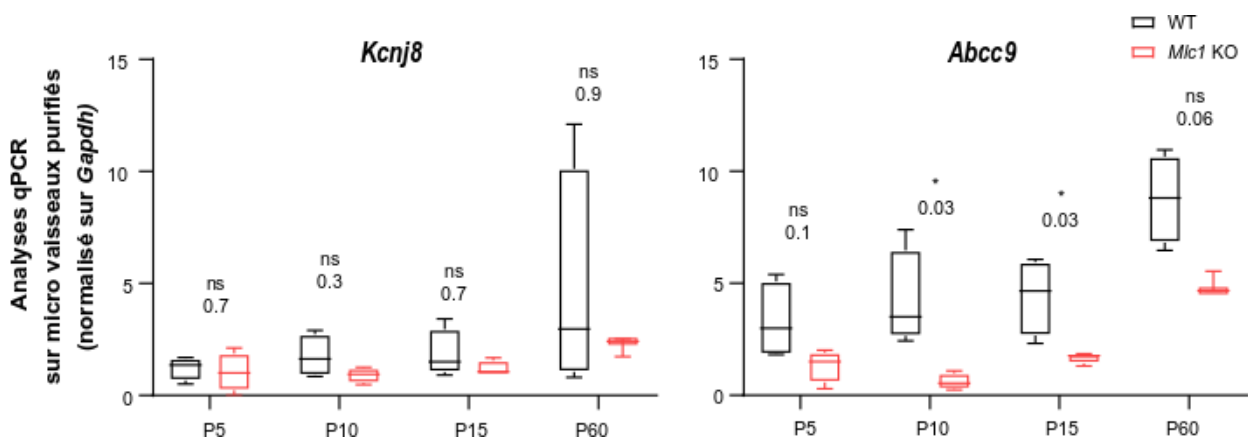


Figure 2 : Analyse qPCR de l'expression des marqueurs péricyaires est modifiée en l'absence de MLC1. Comparaison par qPCR de l'expression de *Kcnj8* et *Abcc9* dans des microvaisseaux purifiés de souris WT (noir) et *Mlc1* KO (rouge) à P5, P15 et P60. Le signal a été normalisé sur *Gapdh*. Ces comparaisons ont été effectuées par test de Mann-Whitney et les résultats sont présentés en boîte de Tukey, N= 4 souris par stade et par génotype. *, $p \leq 0,05$, **, $p \leq 0,01$, ***, $p \leq 0,001$, and ns : non significatif.

Ces résultats suggèrent que (i) la proportion de péricytes est inchangée dans les souris *Mlc1* KO, (ii) que les péricytes issus de ces souris présentent un défaut d'expression de *Abcc9* transitoire. Ce résultat est à confirmer au niveau protéique. *Abcc9* code pour la protéine Sulfonilurea 2 (aussi appelée SUR2 ou ABCC9) qui est un transporteur potassique dépendant de l'ATP. Or, nous avons observé une diminution de l'expression totale et périvasculaire du transporteur potassique astrocytaire Kir4.1 (Article 3, Figure 4). La diminution de Sulfonilurea 2 pourrait donc aussi contribuer à une altération de l'homéostasie potassique périvasculaire.

3. IMPLICATION DES CONNEXINES ASTROCYTAIRES DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DE LA MLC

3.1. Introduction

Les astrocytes expriment majoritairement deux connexines, la Cx43 et la Cx30 qui forment des jonctions communicantes indépendantes ou communes (Orthmann-Murphy et al. 2007). Des études ont montré un lien direct entre les protéines MLC1 ou son partenaire GlialCAM et Cx43 (Lanciotti et al. 2020; Wu, Moh, et Schwarz 2016b) suggérant que l'absence de MLC1 pourrait modifier les jonctions communicantes Cx43. Nos résultats montrent une réorganisation périvasculaire de Cx43 avec augmentation du nombre et de la taille des particules plaques. Cette augmentation de taille a été observée récemment chez des souris délétées pour GlialCAM, un autre modèle de MLC (Baldwin et al. 2021). Nous avons cherché à savoir si le défaut de Cx43 était spécifique de cette connexine ou concernait également la Cx30.

3.2. Méthodes

Les animaux utilisés dans cette expérimentation et les méthodes de quantification de l'expression protéique par *Western-blot* ont été décrits dans l'Article 3. Nous avons utilisé un anticorps de lapin anti-Cx30 (Invitrogen : 712200 invitrogen; dilution : 1/500).

3.3. Résultats et discussion

A la différence de Cx43, l'expression de Cx30 débute seulement au stade P10 (Ribot et al. 2020). Notre quantification de la Cx30 cérébrale entre les stades P10 et adulte (Figure 3A) ne montre aucune différence entre les souris *Mlc1* KO et les souris WT. Cependant, en

immunofluorescence sur des coupes d'hippocampe de souris adultes WT et *Mlc1* KO (Figures 3B), nous avons observé l'existence de points de marquage Cx30 périvasculaires beaucoup plus larges chez les souris *Mlc1* KO, comme observé pour Cx43 (résultat non encore quantifié).

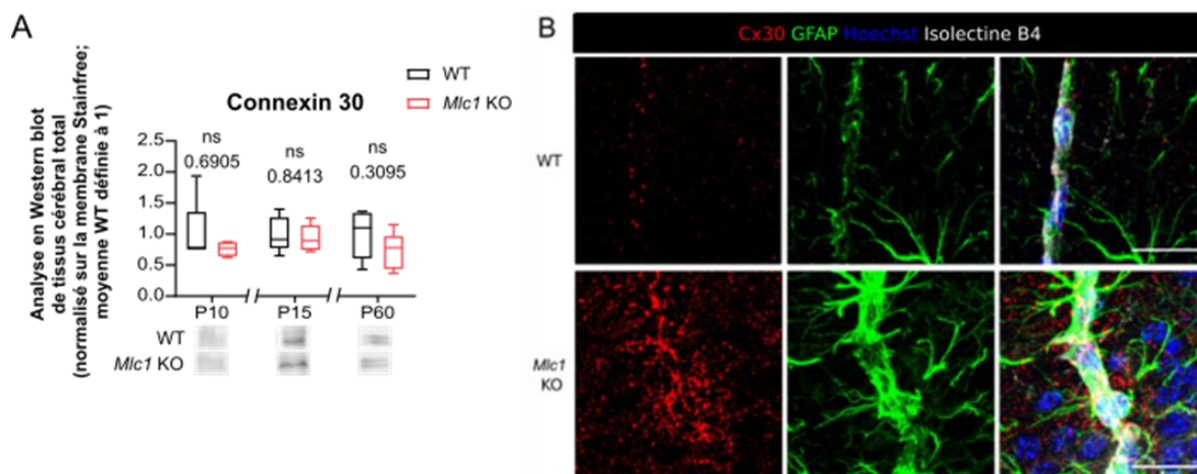


Figure 3 : Etude préliminaire des connexines astrocytaires en l'absence de MLC1.

A : Analyse par *Western-blot* de l'expression de Cx30 dans le tissu cérébral de souris WT (noir) et *Mlc1* KO (rouge) à P10, P15 et 2 mois (P60). Ces comparaisons ont été effectuées par test de Mann-Whitney et les résultats sont présentés en boîte de Tukey, N= 4 à 5 souris par stade et par génotype. B : Projections d'images de microscopie confocale de la détection par immunofluorescence de la Cx30 (rouge) et de GFAP (vert) dans des coupes d'hippocampes de souris WT et *Mlc1* KO de deux mois. Les noyaux sont marqués par coloration Hoechst (bleu) et les vaisseaux par l'isolectine B4 (blanc). Barres d'échelle : 20 μ m. *, $p \leq 0,05$, **, $p \leq 0,01$, ***, $p \leq 0,001$, and ns : non significatif.

Nos résultats préliminaires ne montrent pas de corrélation régionale car on observe ces changements dans les différentes régions de l'hippocampe, dans le cortex et le *corpus callosum*. De plus, l'accumulation de Cx43 des souris *Mlc1* KO n'est pas systématiquement corrélée à celle de Cx30. Nous n'avons pas d'explication à l'hétérogénéité de ces mécanismes. Cx30 régule la morphologie des prolongements astrocytaires périssynaptiques et la plasticité synaptique (Pannasch et al. 2014). Les changements de niveau d'expression de Cx30 autour de certains vaisseaux chez les souris *Mlc1* KO pourraient donc contribuer aux changements morphologiques des astrocytes et avoir des effets sur la neurotransmission.

4. ALTERATION DE LA DENSITE SYNAPTIQUE DANS NOTRE MODELE MURIN DE MLC

4.1. Introduction

Un des phénotypes les plus marquants lié à l'absence de MLC1 est la présence de fibres neuronales au contact de l'endothélium. Ces changements pourraient impliquer un remaniement des synapses périvasculaires. Nous avons donc mesuré la densité synaptique dans notre modèle murin de MLC.

4.2. Méthode

Les animaux utilisés dans cette expérimentation ont été décrits dans l'Article 3. La méthode de TEM a, également, été décrite dans l'Article 3. Les méthodes d'immunofluorescence et d'imagerie confocale ont été décrites dans l'Article 3. Nous nous sommes concentrés pour cette étude sur les synapses glutamatergiques et utilisé des anticorps lapin anti-Homer (synaptic systems : 160003 ; dilution : 1/200) et cobaye anti-Vglut (synaptic systems : 135304 ; dilution : 1/200) et les anticorps secondaires et molécules citées dans l'Article 3 et un anticorps chèvre anti-cobaye 488 (Life Technologies : A-11076 ; dilution : 1/2000).

L'analyse de la répartition des synapses glutamatergiques par rapport aux microvaisseaux a été effectuée en utilisant un plugin Fiji (Schindelin et al. 2012) développé au laboratoire. Brièvement, les vaisseaux (canal Isolectin B4) ont été segmentés en utilisant un filtre de différence de gaussienne, suivi d'un seuillage (méthode « Triangle dark »). Les particules Vglut et Homer ont été détectées en utilisant un filtre médian, puis une différence de gaussienne et un seuillage (méthode « Moments dark »). Les objets 3D correspondants aux vaisseaux et aux particules Vglut et Homer ont été labellisés en utilisant la bibliothèque 3D ImageSuite (Ollion et al. 2013). La position des synapses a été définie comme la distance au centre entre un point Vglut et un point Homer ayant au moins un voxel co-localisé. La distance de chaque synapse aux vaisseaux a été calculée en utilisant l'inverse de la carte des distances des vaisseaux.

4.3. Résultats et discussion

Nos résultats préliminaires montrent qu'à l'âge adulte, la densité de synapses glutamatergiques dans le cortex chez les souris *Mlc1* KO est augmentée dans le parenchyme mais diminuée autour des vaisseaux (à moins d'1 μm du marquage Isolectine B4) (Figure 4).

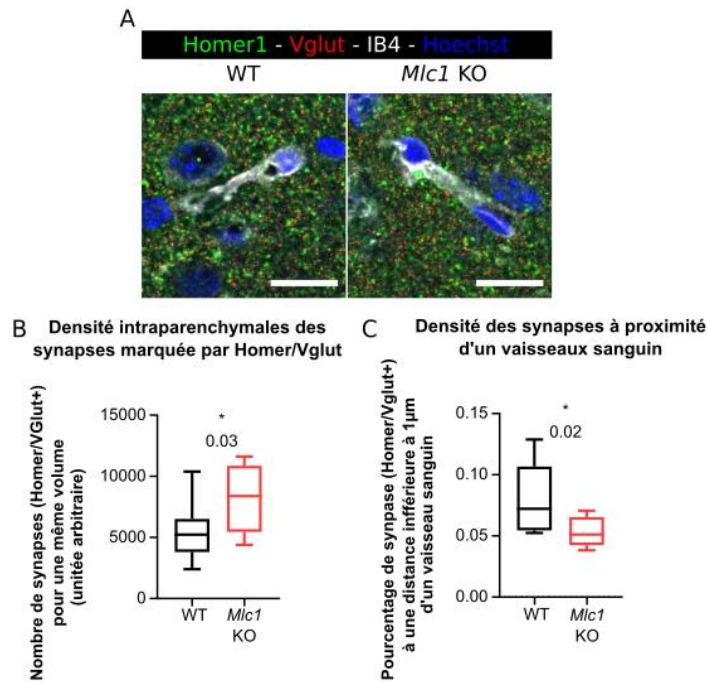


Figure 4 : Analyse de la densité synaptique en l'absence dans notre modèle murin de MLC. A : Projections d'images de microscopie confocale représentatives de la détection par immunofluorescence de Vglut (rouge), Homer (vert) dans des coupes corticales de souris WT et *Mlc1* KO de deux mois. Les vaisseaux sanguins ont été marqués par l'isolectine B4 (IB4 ; blanc). Les noyaux sont marqués par coloration Hoechst (bleu). Barres d'échelle : 20 μ m. B et C : quantification de la densité synaptique générale (B) ou à proximité des vaisseaux (C) effectuée sur les images représentées en A. Ces comparaisons entre souris WT (noir) et *Mlc1* KO (rouge) ont été effectuées par test de Mann-Whitney et les résultats sont présentés en boîte de Tukey. 4 images par souris de 3 souris par génotype ont été utilisées pour cette analyse (soit N=9 par génotype). *, $p \leq 0,05$, **, $p \leq 0,01$, ***, $p \leq 0,001$, and ns : non significatif.

La différence entre les synapses parenchymales et proches des vaisseaux est surprenante. Elle suggère l'existence de mécanismes agissant sur la synaptogénèse ou l'élimination des synapses en fonction de la proximité aux vaisseaux (Chung et al. 2013). L'existence de zones endothéliales non couvertes par les PAPVs en l'absence de MLC1 pourrait entrer en jeu. Il existe en effet plusieurs signaux sécrétés par les cellules endothéliales et régulant la synaptogénèse (Tillo, Ruhrberg, et Mackenzie 2012). Dans une publication récente, une diminution des synapses inhibitrices dans la région L1 du cortex visuel a été observée dans le modèle murin délété pour GlialCAM (Baldwin et al. 2021). Ces résultats confirment que le complexe MLC1/GlialCAM est impliqué dans le développement synaptique. Il serait donc intéressant de poursuivre l'étude dans

notre modèle en analysant les synapses inhibitrices et également ces mécanismes entre P5 et P15 au moment où la synaptogénèse est active.

5. MECANISTIQUE DE LA PHYSIOPATHOLOGIE DE LA MLC

Afin de comprendre par quels mécanismes, une astrocytopathie comme la MLC induit des défauts de la contractilité des cellules musculaires lisses vasculaires, nous avons utilisé deux approches. Premièrement une approche ciblée, découlant des effets observés qui nous a conduits à étudier la voie d'activation du TGF β . Puis une seconde approche ouverte de séquençage ARN.

5.1. TGF β

5.1.1. Introduction

TGF β est une protéine sécrétée par les astrocytes et connue pour sa participation à la maturation des cellules musculaires lisses vasculaires (Introduction, 3.1.3.3. La maturation des cellules murales). Cette protéine peut agir sur deux récepteurs : Alk-1 qui induit la phosphorylation activatrice de Smad 1, 5 et 8 aboutissant généralement une dédifférenciation cellulaire et Alk-5 qui lui induit la phosphorylation activatrice de Smad 2 et 3 induisant une différenciation cellulaire (S. Chen, Kulik, et Lechleider 2003; Marie-José Goumans et al. 2002; Ota et al. 2002). Nous avons commencé à caractériser l'activation de la voie TGF β au cours du développement dans notre modèle murin de MLC.

5.1.2. Méthode

Les animaux utilisés dans cette expérimentation ont été décrits dans l'Article 3. La méthode de quantification de l'expression protéique par *Western-blot* et immuno fluorescence ont été décrits dans l'Article 3. Nous avons utilisé un anticorps de lapin anti-pSmad1/5/8 (MMCRI : Vli31 ; dilution : 1/1000).

5.1.3. Résultats et discussion

Nos résultats préliminaires indiquent une diminution de pSmad1/5/8 dans le cerveau après P15 (Figure 5A). Cependant, ces résultats préliminaires ont été obtenus à partir de tissus

totaux et on ne peut donc pas conclure quant au type cellulaire impacté par cette diminution. L'approche par *Western-blot* sur des vaisseaux isolés s'est révélée infructueuse (pas de signal). Nous avons donc étudié la phosphorylation de ces protéines sur des coupes hippocampales de cerveaux de souris adultes *Mlc1* KO et WT (Figure 5B). Nos résultats préliminaires montrent bien le marquage nucléaire attendu mais pas de marquage dans les cellules vasculaires, à l'inverse des neurones et des astrocytes. La quantification de ce marquage n'a pas encore été réalisée. De plus, cette étude nécessite d'être complétée par l'analyse de la voie Alk-5/Smad2/3 du TGF β afin de vérifier si l'activation des deux voies est diminuée chez les souris *Mlc1* KO, suggérant une diminution du TGF β ou si seulement de la voie Alk-1, suggérant une diminution de l'activation du récepteur Alk-1 ou de la transduction du signal. Enfin, il serait intéressant de vérifier quels types cellulaires sont impactés par la modification de la voie TGF β par une étude transcriptomique des différents types cellulaires en se concentrant sur la transcription de gènes typiquement induits par l'activation de la voie TGF β comme *C-myc* ou *Snail* (D. Peng, Fu, et Sun 2016).

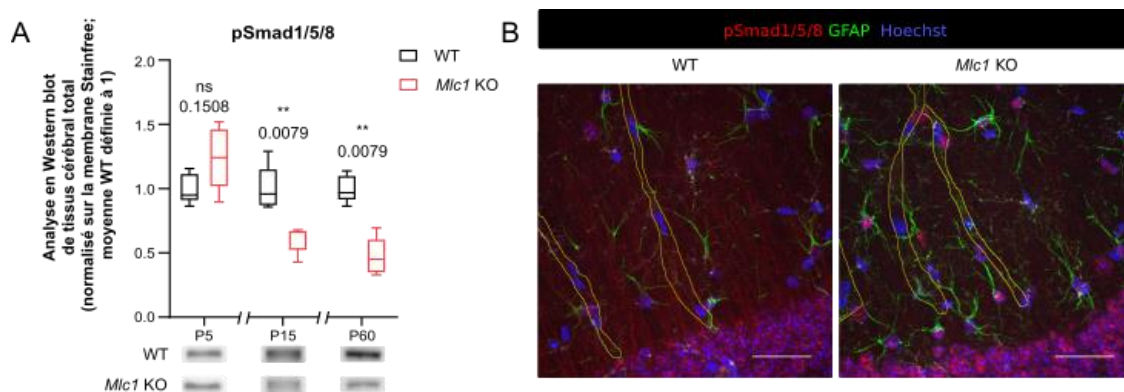


Figure 5 : Effet de la déficience en MLC1 sur la voie Smad 1/5/8. A : Analyse par *Western-blot* de l'expression des Smad 1/5/8 phosphorylés dans le tissu cérébral de souris WT (noir) et *Mlc1* KO (rouge) à P5, P15 et 2 mois (P60). Ces comparaisons ont été effectuées par test de Mann-Whitney et les résultats sont présentés en boîte de Tukey N=4 à 5 souris par stade et par génotype. B : Projections d'images de microscopie confocale de la détection par immunofluorescence des Smad 1/5/8 phosphorylés (rouge), GFAP (vert) dans des coupes d'hippocampes de souris WT et *Mlc1* KO de deux mois. Les noyaux sont marqués par coloration Hoeschst (bleu) et le pourtour des vaisseaux sanguins a été reproduit en jaune. Barres d'échelle : 50 μ m. *, p \leq 0,05, **, p \leq 0,01, ***, p \leq 0,001, and ns : non significatif.

5.2. Séquençage ARN

5.2.1. Introduction

Afin d'étudier les différentes voies moléculaires potentiellement impliquées dans la physiopathologie de la MLC, nous avons effectué un séquençage des ARNm astrocytaires du cortex et de l'hippocampe des souris *Mlc1* KO et WT adultes.

5.2.2. Méthodes

Le séquençage des ARNm été effectué en collaboration avec la plateforme de génomique de l'École normale supérieure (Institut de Biologie de l'École normale supérieure, Paris), la méthode de séquençage par une technique illumina et alignés sur le génome *Mus musculus* (Ensembl version 91) grâce au logiciel STAR 2.7.2b. Les résultats ont été analysés en suivant la méthode Eoulsan (Jourdren et al. 2012). Les échantillons ont été obtenus par une méthode de purification des polysomes astrocytaires (en anglais : *translating ribosome affinity purification* ; TRAP) décrite dans un article publié par notre laboratoire en 2020 (Mazaré et al. 2020). Succinctement, nous avons croisé des souris WT et *Mlc1* KO avec des souris *Aldb11-eGFP/Rpl10a* exprimant une protéine ribosomale Rpl10a fusionnée à la protéine fluorescente verte GFP uniquement dans les astrocytes et isolé les polysomes des cortex et hippocampes (n=4 par banque WT et *Mlc1* KO) de souris mâles résultant de ces croisements par immunoprécipitation dirigée contre la GFP.

Certains résultats du séquençage ont été vérifiés par qPCR (dont la méthode a été décrite dans l'Article 3) à partir de N=3 ou 4 nouveaux échantillons par génotype. Les amorces utilisées dans l'obtention des résultats présentés ici sont :

- *Agt* F : CTGGATTTATCCACTGACCCAGTTC et R : TGGACTCCAGGCAGCTGAGA
- *Ptgs1* F GTGCTGGGGCAGTGCTGGAG et R : TGGGGCCTGAGTAGCCCGTG
- *Kcnj10* F : TGGTGTGGTGTGGTATCTGG et R : TGAAGCAGTTTGCCTGTCAC
- *Sparc* F : CCACACGTTTCTTTGAGACC et R : AAACCGAAGAGGAGGTGGTG
- *Heyl* F : GTCTTGCAGATGACCGTGGA et R : CTCGGGCATCAAAGAACCCT

La méthode de quantification de l'expression protéique par *Western-blot* et l'anticorps secondaire employés ont été décrits dans l'Article 3. Nous avons également, pour cette expérimentation, utilisé un anticorps de chèvre anti-Sparc (AF942-SP ; dilution : 1/500).

5.2.3. Résultats et discussion

Les principaux ARNm exprimés différemment entre les souris *Mlc1* KO et WT sont représentés dans le tableau ci-dessous (Tableau 1). Il est à noter que seulement deux banques par génotype ont été analysées en raison d'une erreur de manipulation diminuant fortement la robustesse de cette étude.

Gène	Description des gènes	Nombre de lectures	log2 Fold changes KO vs WT	P adjusted-values
<i>Btaf1</i>	B-TFIID TATA-box binding protein associated factor 1	312.97	-2.09314772	0.00024327
<i>Sik1</i>	salt inducible kinase 1	125.71	-2.06708366	0.00066783
<i>Fos</i>	FBJ osteosarcoma oncogene	1997.1	-1.73786885	4.4821E-06
<i>Scd1</i>	stearoyl-Coenzyme A desaturase 1	2152.3	-1.60127104	3.5316E-06
<i>Nr4a1</i>	nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1	834.22	-1.58299704	2.9811E-05
<i>Heyl</i>	hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif-like	1319.2	-1.51729583	0.0021817
<i>Sparc</i>	secreted acidic cysteine rich glycoprotein	8240.6	-1.50480373	0.00055569
<i>Agt</i>	angiotensinogen	4237.4	-1.42824767	0.03853225
<i>Ide</i>	insulin degrading enzyme	2974.2	-1.34281989	0.0064115
<i>Spp1</i>	secreted phosphoprotein 1	432.38	-1.2966638	0.05955529
<i>Ptgs1</i>	prostaglandin-endoperoxide synthase 1	355.09	-1.2434704	0.02370312
<i>Cntfr</i>	ciliary neurotrophic factor receptor	2752.4	-1.16283971	0.00081375
<i>Cyr61</i>	cysteine rich protein 61	567.53	-1.07983488	0.04536573
<i>Ephb1</i>	Eph receptor B1	1205.3	-1.03114002	0.0232356
<i>Kcnj10</i>	potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 10	1212.2	-1.01215634	0.05382943
<i>Fdft1</i>	farnesyl diphosphate farnesyl transferase 1	6494.1	-0.92554189	0.03606275

<i>Tubb2b</i>	tubulin, beta 2B class IIB	6589.7	-0.90464061	0.04180522
<i>Mark1</i>	MAP/microtubule affinity regulating kinase 1	742.88	1.23650449	0.04180522
<i>Egln1</i>	egl-9 family hypoxia-inducible factor 1	2585.2	1.27094357	0.00021276
<i>Tada2b</i>	transcriptional adaptor 2B	637.35	1.37296501	0.00909832
<i>Heca</i>	hdc homolog, cell cycle regulator	617.51	1.38248619	0.01821855
<i>Khdrbs3</i>	KH domain containing, RNA binding, signal transduction associated 3	3516.2	1.59518105	2.222E-05
<i>Znrf2</i>	zinc and ring finger 2	526.42	1.92409092	4.4821E-06
<i>Wdly1</i>	WD repeat and FYVE domain containing 1	760.38	2.34883138	1.1503E-10
<i>Fn3krp</i>	fructosamine 3 kinase related protein	1128.9	3.25735846	8.1488E-21

Tableau 1 : ARNm montrant une différence significative entre astrocytes WT et *Mlc1* KO (étude réalisée à 2 mois sur le cortex et l'hippocampe). La p-value représentée est calculée selon la méthode de Benjamini-Hochberg. Les données brutes sont présentées en annexe.

Parmi les molécules différentiellement exprimées, plusieurs pourraient potentiellement expliquer les observations effectuées dans notre modèle. Nous avons donc vérifié l'expression de ces molécules par qPCR sur de nouveaux échantillons (Figure 6). Ainsi, nous avons confirmé une expression différentielle des ARNm *Btfa1*, *Sik1*, *Scd1*, *Nr4a1*, *Heyl*, ***Sparc***, ***Agt***, *Ide*, ***Kcnj10***, *Engln1* et *Wdly1* dans les astrocytes des souris *Mlc1* KO. En revanche, nous n'avons pas confirmé ces résultats pour les ARNm *Fos*, *Spp1*, *Ptgs1*, *Cyr61*, *Mark1*, *Tada2b*, *Heca*, *Khdrbs3* et *Fn3krp*. Enfin, les ARNm *Cntfr*, *Ephb1*, *Fdft1*, *Tubb2* et *Znrf2* n'ont pas encore été testés en qPCR.

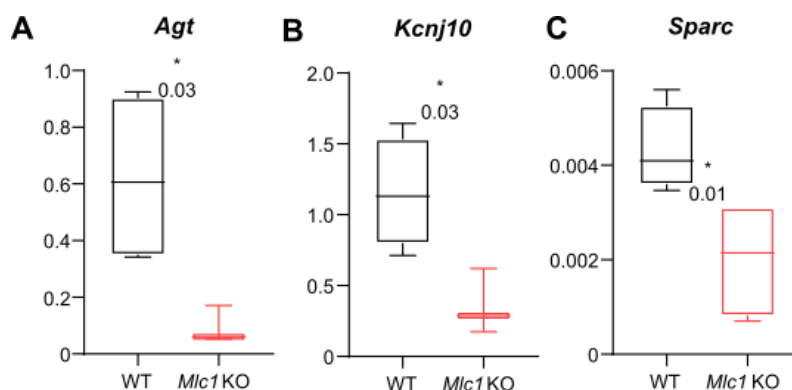


Figure 6 : Validation des résultats de séquençage par qPCR. Ces comparaisons ont été effectuées par test de Mann-Whitney à une aile et les résultats sont présentés en boîte de Tukey. N=3 à 4 échantillons par génotype. *, $p \leq 0,05$, **, $p \leq 0,01$, ***, $p \leq 0,001$, and ns : non significatif.

Agt code pour l'angiotensinogène, le précurseur de l'angiotensine II, exprimé par les astrocytes et impliqué notamment dans la vasoconstriction (Wosik et al. 2007; Kanaide et al. 2003). Notre analyse qPCR confirme la diminution de l'expression de cet ARNm (Figure 6A). Un défaut de sécrétion astrocytaire de cette protéine pourrait induire un défaut de contractilité des cellules musculaires lisses observé dans le modèle murin de MLC. Nous pourrions donc quantifier l'expression protéique de l'angiotensinogène et de l'angiotensine II dans notre modèle au cours du développement. Nous pourrions ainsi espérer observer une corrélation entre la diminution d'une protéine astrocytaire participant à la vasoconstriction et le défaut de contractilité des cellules musculaire lisses observé dès P15 (Article 3, Figure 3).

Notre analyse RNAseq chez l'adulte montre également une diminution de *Kcnj10* codant pour Kir4.1 (tableau 2) et ce résultat est confirmé en qPCR (Figure 6C). L'effet observé sur Kir4.1 dès P15 est donc probablement d'origine transcriptionnelle (Article 3, Figure 4).

Sparc code pour une protéine sécrétée par les astrocyte et enrichie dans la lame basale où elle peut notamment interagir avec TGF β (Rivera et Brekken 2011) ou avec PDGF (Raines et al. 1992). Or ces deux molécules sont impliquées dans la maturation des cellules musculaires lisses vasculaires (S. Chen, Kulik, et Lechleider 2003; Zhao et al. 2011). Une évaluation de la protéine Sparc en *Western-blot* en tissu cérébral total ne semble cependant pas montrer de différence (Figure 7) à aucun stade. Cependant les études transcriptionnelles et en qPCR ont été effectuées dans les astrocytes du cortex et de l'hippocampe. Nous devrions donc refaire notre étude *Western-blot* sur ces deux zones ou quantifier la sécrétion périvasculaire de Sparc en immunofluorescence.

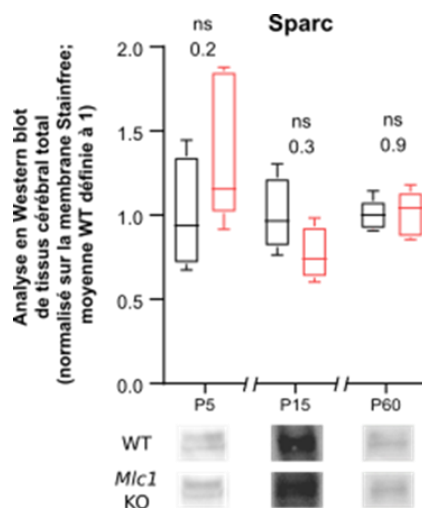


Figure 7 : Etude de l'expression de la protéine Sparc au cours du développement. Analyse par *Western-blot* de l'expression De Sparc dans le tissu cérébral de souris WT (noir) et *Mlc1* KO (rouge) à P5, P15 et 2 mois(P60). Ces comparaisons ont été effectuées par test de Mann-Whitney et les résultats sont présentés en boîte de Tukey N=4 à 5 souris par stade et par génotype. *, $p \leq 0,05$, **, $p \leq 0,01$, ***, $p \leq 0,001$, and ns : non significatif.

En conclusion, cette analyse a permis de mettre en évidence plusieurs voies moléculaires potentiellement impliquées dans la physiopathologie de la MLC. Pour approfondir nos résultats, et sachant maintenant que le stade P15 est le point culminant du défaut de mise en place de l'unité gliovasculaire, nous avons décidé de refaire un transcriptome astrocytaire à P15 qui permettra de valider nos résultats préliminaires et nous guider sur la voie de mécanismes moléculaires astrocytaires impliqués dans la MLC.

1. DEVELOPPEMENT POSTNATAL DE L'UNITE GLIOVASCULAIRE

1.1. Les cellules endothéliales cérébrales

1.1.1. Maturation postnatale de la barrière hémato-encéphalique

Dans notre étude de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique au cours du développement (Article 2), nous avons constaté que cette barrière est fonctionnellement mature dès le stade P5 (Article 2).

Or, nous avons observé (Article 1 et 2) une augmentation progressive de l'expression de Claudine 5 entre P5 et l'âge adulte. Ce résultat suggère une maturation des jonctions serrées endothéliales et donc de la barrière hémato-encéphalique. Même si la barrière hémato-encéphalique est fermée à P5, l'augmentation des jonctions serrées pourrait la renforcer pour par exemple faire face au stress mécanique engendré par l'augmentation progressive du flux sanguin au cours du développement postnatal (Article 2). Il serait donc intéressant d'analyser l'expression postnatale d'autres protéines de la barrière hémato-encéphalique telles que l'Occludine ou la protéine ZO-1, afin d'explorer sa maturation postnatale.

1.1.2. Maturation des fonctions d'efflux de la Glycoprotéine-P

Dans les Articles 1 et 2, nous avons observé une augmentation progressive de l'expression de la glycoprotéine-P au cours du développement postnatal chez la souris accompagnée d'une maturation fonctionnelle de cette protéine. Nous avons également observé une augmentation de cette protéine chez l'humain entre les stades prénataux et les premiers mois de vie (Article 2). La glycoprotéine-P est un transporteur d'efflux utilisant l'ATP. Elle est impliquée dans la chimiorésistance de la barrière hémato-encéphalique. En effet, elle empêche l'entrée de nombreux xénobiotiques dans le parenchyme cérébral (Mahringer et al. 2011). L'augmentation de l'expression de cette protéine signe une maturation de la barrière hémato-encéphalique postérieure aux premières phases de l'angiogenèse cérébrale et accentuant possiblement la chimiorésistance cérébrale. Il serait intéressant de vérifier l'expression endothéliale cérébrale d'autres transporteurs d'efflux comme BCRP afin de confirmer cette hypothèse.

1.2. Maturation des cellules musculaires lisses vasculaires

Dans l'Article 2, nous avons montré une maturation postnatale des cellules musculaires lisses : premièrement transcriptionnelle, protéique et fonctionnelle (avec une augmentation de leur contractilité), ainsi qu'une augmentation progressive la couverture vasculaire par ces cellules.

Nous pourrions à présent étudier les voies moléculaires soutenant cette maturation. Pour cela, nous pourrions ré-analyser les données transcriptomiques obtenues à partir des vaisseaux isolés dans l'Article 2. En effet, les voies moléculaires impliquées dans la maturation des cellules musculaires lisses vasculaires dans le cerveau lors de la phase postnatale sont encore peu connues. Nous pourrions également étudier les différentes voies déjà connues pour leur participation au recrutement et à la maturation de ces cellules comme la voie de TGF β (S. Chen, Kulik, et Lechleider 2003), la voie Notch3 (Domenga et al. 2004) ou la voie du PDGF (Zhao et al. 2011).

La maturation progressive de la couverture astrocytaire observée (Article 3) parallèle à cette maturation pourrait être impliquée dans la maturation de ces cellules. En effet, notre étude du modèle *Mlc1* KO montre une corrélation entre altération du développement de la couverture astrocytaire et un défaut de différenciation des VSMCs. De plus, il a été observé que la laminine γ 1 sécrétée dans la lame basale astrocytaire par les PAPVs, participe à l'expression de marqueurs de contractilité des cellules murales (Yao et al. 2014).

En conclusion, les astrocytes contrôleraient l'acquisition de la contractilité des cellules musculaire lisses vasculaires au cours du développement postnatal

1.3. Maturation moléculaire des PAPVs

Nos résultats (Article 1), ainsi que d'autres publications (Lunde et al. 2015; Fallier-Becker et al. 2014) montrent que les PAPVs expriment l'Aqp4 dès leur mise en place. La mise en place des autres marqueurs de maturation des PAPVs n'avait été peu étudiée.

Nos résultats montrent une maturation de la localisation subcellulaire (i) du complexe MLC1/GlialCAM vers les PAPVs entre les stades P10 et P15 (Article 1) et (ii) de la protéine des jonctions communicantes Cx43 entre ces mêmes stades (Article 1). Ainsi, il semble exister une fenêtre de maturation des pieds astrocytaires périvasculaires entre P10 et P15 après leur mise en place autour des vaisseaux sanguins cérébraux (Article 3). D'autres protéines, associées ou non au complexe MLC1/GlialCAM, pourraient suivre cette dynamique dans les PAPVs.

Les mécanismes impliqués dans la polarisation protéique au sein des PAPVs sont encore inconnus. Nous pouvons cependant supposer qu'il s'agit soit (i) d'une augmentation du transport protéique vers les PAPVs, (ii) soit d'une augmentation de l'ancrage des protéines au sein des PAPVs (à l'image du complexe DAPC qui permet l'ancrage de l'Aqp4 dès P5 (Ehmsen, Poon, et Davies 2002)). Un mécanisme alternatif pourrait être celui d'une traduction locale dans les PvAPs (Boulay et al. 2017). Des analyses sont actuellement en cours au laboratoire afin de confirmer cette hypothèse. Nous étudions la mise en place de la machinerie traductionnelle et post-traductionnelle (ribosome, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi) dans les PAPVs au cours du développement. Nous étudions les ARNm présents dans les PAPVs au cours du développement par des techniques de qPCR sur des unités gliovasculaires isolées ou par visualisation en hybridation *in situ*. Enfin, plusieurs techniques comme la puromycylation protéique (Dieck et al. 2015; Mazzoni-Putman et Stepanova 2018) permettent de visualiser les événements de traduction et nous permettront de déterminer le stade de mise en place de la traduction dans les PAPVs.

2. LA MLC UNE PATHOLOGIE DEVELOPPEMENTALE DE L'UNITE GLIOVASCULAIRE

2.1. Les cellules endothéliales dans la physiopathologie de la MLC

La maturation parallèle de marqueurs endothéliaux et du complexe MLC1/GlialCAM observée dans l'Article 1 et certains symptômes de la MLC (macrocéphalie, œdèmes périvasculaires, *etc.*) (Marjo S. van der Knaap, Boor, et Estévez 2012) laissaient penser que les cellules endothéliales et leur phénotype de barrière hémato-encéphalique pourraient être altérés dans les cas de MLC. Cependant, nos résultats obtenus sur ces cellules dans notre modèle murin de MLC (Article 3) semblent invalider cette hypothèse. Nous n'avons en effet observé ni défaut du réseau vasculaire, ni modification de perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, ni défaut morphologique cellulaire en TEM, ni défaut transcriptionnel, ni défaut protéique. Cependant, nous n'avons testé que deux protéines : la Claudine 5 et la Glycoprotéine-P. Nous pourrions donc analyser d'autres marqueurs comme les protéines de jonction Occludine et ZO-1 ou les transporteurs BCRP ou GLUT-1 (Bauer et al. 2014; Ueno et al. 2010). De plus, pour ce qui est de la glycoprotéine-P, nous pourrions tester sa polarisation baso-apicale qui est essentielle à

son fonctionnement et effectuer des tests fonctionnels afin de vérifier son activité comme dans l'Article 2. Cette étude se justifie d'autant plus que le flux sanguin participe à la polarité des cellules endothéliales artérielle (Bernabeu et al. 2018) et plus particulièrement à l'expression de la glycoprotéine-P (Cucullo et al. 2011). Or nous avons observé une altération dans la structure des artères laissant penser à un possible défaut du flux sanguin.

2.2. Les cellules musculaires lisses vasculaires dans la physiopathologie de la MLC

Dans notre modèle murin de MLC, nous n'avons pas observé de défaut développemental du réseau des cellules murales qui d'après notre Article 2 et une publication récente (Coelho-Santos et al. 2021), augmente au cours du développement postnatal.

Cependant nous avons observé chez les souris *Mlc1* KO une perte de la contractilité des cellules musculaires lisses vasculaires dès le stade P10 (Article 3). Trois hypothèses non exclusives pourraient expliquer ce phénomène : 1) un défaut de maturation de la machinerie cellulaire impliquée dans la contraction, c'est-à-dire des filaments d'actine musculaire lisse et de myosine, pourrait induire cette perte. Or, nous avons observé dans notre modèle une potentielle dégradation de l'actine musculaire lisse (Article 3) ; 2) un défaut de maturation des molécules impliquées dans la transduction du signal vasoconstrictif. Nous pourrions, pour commencer à étudier cette hypothèse, étudier le transcriptome des VSMCs en l'absence de MLC1.

En plus, d'un défaut de contractilité, nous avons constaté *in vivo* par ultrason fonctionnel, une perte du couplage neurovasculaire chez l'adulte (Article 3). Or, le couplage neurovasculaire participe au maintien de l'homéostasie métabolique neuronale et cette perte pourrait être à l'origine de modifications comportementales que nous pourrions observer par des tests comportementaux (comme des tests d'activité locomotrice ou de réponse à un stimulus, avec ou sans stress).

Une perte de contractilité vasculaire et de couplage neurovasculaire a été observée dans une autre leucoencéphalopathie : le CADASIL. En effet, dans cette pathologie une accumulation d'agrégats autour des cellules murales contenant les protéines Notch3 et TIMP3 induit une sur-activation du canal potassique voltage dépendant à l'origine de ces phénotypes (Capone et al. 2016; Dabertrand et al. 2015). Or, l'accumulation d'agrégats semble être l'évènement primaire du CADASIL. Ceci laisse penser que les défauts vasculaires sont à l'origine des altérations

myéliniques. En effet, le couplage neurovasculaire étant impliqué dans le maintien du métabolisme cérébral, une perte de celui-ci pourrait atteindre les oligodendrocytes, cellules métaboliquement exigeantes et fragiles (Rosko et al. 2019). Ce phénomène pourrait alors participer à la vacuolisation progressive myélinique observée dans la MLC (Bokhari et al. 2018). Ainsi, la MLC, tout comme le CADASIL et le CARASIL (Marjo S. van der Knaap et Bugiani 2017), serait une leucodystrophie d'origine vasculaire. Il serait intéressant d'étudier le métabolisme cérébral de ces souris et plus particulièrement celui du glucose et du lactate, deux molécules impliquées dans les échanges métaboliques entre astrocytes et oligodendrocytes (Rosko et al. 2019).

2.3. Les astrocytes dans la physiopathologie de la MLC

2.3.1. Les PAPVs

Le développement postnatal de la couverture des PAPVs n'avait jamais été décrit précisément. Dans l'Article 3, nous avons utilisé la microscopie électronique pour quantifier cette couverture dans le cortex et l'hippocampe murin aux stades P5, 10 et 15 et à deux mois. Nous avons observé qu'à P5 environ 50 % de la surface des vaisseaux était couverte et que cette couverture atteint 95 % à P10, puis continue de s'étendre jusqu'à atteindre presque 100 % à l'âge adulte. Ainsi, notre étude a permis montrer pour la première fois une mise en place progressive des PAPVs au cours des premiers jours de vie chez la souris avec une phase intense de développement entre P5 et P10.

Étonnamment, dans l'Article 1, notre analyse du marquage Aqp4 à P5 montre une couverture de 83 %. On pourrait expliquer cette différence par une différence d'échelle : en effet, tandis que la microscopie électronique nous permet une résolution de l'ordre d'1 nm, l'imagerie confocale de nos marquages immunofluorescents ne dispose que d'une résolution de l'ordre de 0.2 μ m. Or, à P5 la longueur de la zone non couverte par les PAPVs visible en TEM est généralement comprise entre 0.05 et 5 μ m. De plus, l'imagerie confocale ne peut s'affranchir d'un biais de diffusion de la lumière qui peut induire une augmentation artificielle de la taille des objets. Ainsi, les résultats de TEM présentés dans l'Article 3 sont beaucoup plus résolus et fiables.

Dans notre modèle de souris *Mlc1* KO, nous avons observé un retard de formation de la couverture vasculaire par les PAPVs, dès le stade P10 et non résolu à l'âge adulte ce qui signifie

que le complexe MLC1/GlialCAM est impliqué dans le développement de la couverture astrocytaire périvasculaire (Article 3). Nous avons également observé une diminution de l'adhésion des PAPVs lors de technique de purification des microvaisseaux cérébraux (Article 3). Ce résultat montre que la cohésivité mécanique des PAPVs est altéré en l'absence de MLC1. Plusieurs mécanismes pourraient contribuer à ce phénotype :

1) Un défaut de composition de la lame basale : Nos résultats de TEM (Article 3) ne semblent pas indiquer de différence morphologique de celle-ci. Nous avons étudié quelques marqueurs moléculaires tels que la laminine ou le collagène 4 sans observer de différence évidente entre les souris WT et *Mlc1*KO. Mais nous n'avons pas exploré la composition moléculaire de la lame basale en détail.

2) Le complexe MLC1/GlialCAM est un complexe d'adhésion dans lequel GlialCAM forme des liaisons homodimériques entre astrocytes (Elorza-Vidal et al. 2020). En l'absence de ce complexe, les jonctions d'adhésion entre PAPVs seraient altérées et pourrait déstabiliser la couverture astrocytaire périvasculaire. Il serait intéressant d'analyser la cohésivité mécanique des PAPVs dans le modèle murin présentant les mutations p.Q56P, p.S59N and p.D128N qui altèrent spécifiquement la liaison trans de GlialCAM (Elorza-Vidal et al. 2020).

Enfin, en observant la couverture vasculaire chez les souris *Mlc1* KO, nous avons remarqué la présence de prolongements neuronaux (majoritairement des axones) dans les zones de contact avec la lame basale laissées libres par l'absence de PAPVs (Article 3). Plusieurs mécanismes peuvent sous-tendre ce phénomène :

- 1) les neurones peuvent être en contact avec la lame basale simplement de façon fortuite dans cet espace laissé vide par les astrocytes. Mais, nous n'avons observé peu ou pas d'autres types cellulaires cérébraux dans ces espaces comme des microglies ou des oligodendrocytes ce qui laisse à penser que ce phénotype est spécifique des neurones.
- 2) un signal répulsif envers les prolongements neuronaux pourrait être absent chez les souris *Mlc1* KO. Il a été montré que les inter-neurones inhibiteurs utilisent les vaisseaux cérébraux pour migrer depuis le télencéphale ventral (Fujioka, Kaneko, et Sawamoto 2019). On peut spéculer qu'après leur migration, ces neurones se détachent des vaisseaux grâce à un signal répulsif induit par les cellules vasculaires ou par l'arrivée des PAPVs. Un déficit de ce signal chez les souris *Mlc1* KO pourrait donc être à l'origine du phénotype observé.

- 3) il pourrait subsister un signal attractif des vaisseaux ou de la lame basale sur les neurones chez les souris *Mlc1* KO.

Il serait intéressant d'étudier le type de neurones en contact avec l'endothélium dans le modèle *Mlc1*KO mais cette exploration est compliquée par le fait que les marqueurs neuronaux spécifiques sont surtout synaptiques. Il serait également intéressant d'étudier plus en détail les mécanismes vasculaires d'attraction/répulsion des neurones qui pourraient être altérés dans le modèle *Mlc1* KO (Adams et Eichmann 2010; Damon 2006; Larrieu-Lahargue, Thomas, et Li 2012).

Nous avons donc étudié pour la première fois la mise en place de la couverture vasculaire par les PAPVs et ce résultat ouvre à présent de nombreuses perspectives d'étude afin de mieux appréhender les mécanismes mis en jeu lors de cette mise en place.

2.3.2. La morphologie astrocytaire

Nous avons observé chez les souris *Mlc1* KO, une altération de la morphologie astrocytaire (Article 3) avec une augmentation de la ramification astrocytaire comparée aux souris WT dès le stade P10. Ce défaut morphologique est associé à une modification de l'orientation astrocytaire vis-à-vis des vaisseaux sanguins cérébraux. Ces deux études ont été effectuées en 2D et une étude en 3D de la morphologie astrocytaire va maintenant être menée en utilisant la technique de Magic Markers qui permet d'individualiser les astrocytes (Loulier et al. 2014).

L'ancrage cellulaire est un prérequis essentiel à l'acquisition d'une morphologie complexe comme celle des astrocytes mais également à la polarisation cellulaire (Martin et Chang 2003). On peut donc postuler que les défauts d'ancrages astrocytaires vasculaires pourraient être à l'origine des défauts morphologiques et d'orientation observés chez les souris *Mlc1* KO.

De façon surprenante, une étude récente utilisant un modèle de MLC délété pour *GlialCAM*, a mis en évidence une diminution de la ramification astrocytaire (Baldwin et al. 2021). Cependant plusieurs différences entre nos deux études peuvent expliquer la disparité des résultats respectifs. Premièrement, le type de KO utilisé : en effet, non seulement cette réduction a été observée dans des astrocytes délétés pour *GlialCAM* et non *MLC1*, mais aussi uniquement dans un KO partiel. Deuxièmement, cette étude a été effectuée dans le cortex visuel tandis que la nôtre a été réalisée dans la région CA1 de l'hippocampe. Troisièmement, les techniques divergent :

nous avons utilisé une quantification des prolongements astrocytaires GFAP positifs, donc du cytosquelette, tandis que les auteurs de cette étude ont utilisé un marquage intracellulaire.

3. LES VOIES MOLECULAIRES IMPLIQUEES DANS LA PHYSIOPATHOLOGIE DE LA MLC

Notre étude du modèle *Mlc1* KO, semble mettre en évidence à la fois des modifications astrocytaires (morphologie globale, orientation envers les vaisseaux, couverture vasculaire, ...) et des modifications vasculaires (perte de contractilité des cellules musculaires lisses vasculaires, *etc.*). Mais par quel mécanisme cette astrocytopathie peut-elle induire des défauts vasculaires ?

Nous utiliserons différentes approches (proposées ci-dessous) pour répondre à cette question cruciale. Nous espérons également que ces approches pourront mettre en évidence des biomarqueurs permettant d'étudier l'évolution de cette pathologie, de soutenir son diagnostic et également d'ouvrir d'éventuelles pistes de traitements pour cette pathologie incurable.

3.1. Réinstauration de l'expression de *Mlc1* à différents stades

Pour comprendre le lien entre la pathologie astrocytaire, vasculaire et les défauts myéliniques nous restaurerons l'expression de MLC1 dans les souris *Mlc1* KO : avant l'apparition de la pathologie vasculaire (à P5) ; après l'apparition des défauts vasculaires et avant la vacuolation de la myéline (P30) ; au stade pathologique (1 an). Nous emploierons pour cela un adénovirus de type PHEBP (infection par voie intraveineuse), et une construction comprenant promoteur *gfaABC1D* et le gène *Mlc1*. De façon importante, l'équipe de Raul Estevez a récemment développé une approche virale de sauvetage moléculaire de MLC1 dans le cervelet des souris *Mlc1* KO à 2 mois (avant vacuolisation de la myéline) et un an (stade pathologique) (Sánchez et al. 2020) et observé une diminution significative des défauts myéliniques. Ce résultat signifie que la restauration de MLC1 prévient la vacuolisation de la myéline.

Nous analyserons l'effet de la réexpression précoce de MLC1 1) sur la reformation du complexe MLC1/GlialCAM et la couverture astrocytaire (son étendue, sa cohésivité et sa composition moléculaire) ; 2) sur la contractilité vasculaire et le couplage neurovasculaire ; 3) sur la structure de la myéline. Nous analyserons également l'effet de la réexpression tardive de

MLC1. Une restauration de la couverture des PVAP indiquerait que la couverture astrocytaire périvasculaire est plastique et réparable comme le suggère plusieurs articles récents (Kubata ; Williamson Cell reports 2021).

3.2. Étude transcriptionnelle ouverte

Comme présenté dans les résultats supplémentaires, notre première étude transcriptionnelle manque de robustesse. Cependant celle-ci a tout de même permis d'ouvrir plusieurs pistes de mécanismes et voies moléculaires potentiellement impliqués dans la physiopathologie de la MLC et pouvant éventuellement lier défauts astrocytaires et vasculaires. Nous avons, par exemple observé une diminution de l'ARNm codant pour l'angiotensinogène, le précurseur de l'angiotensine II dont la sécrétion par les astrocytes participe à la vasoconstriction (Wosik et al. 2007; Kanaide et al. 2003). Nous avons observé une diminution de l'ARNm codant pour la protéine Sparc, également sécrétée dans la matrice extracellulaire, où elle peut interagir avec TGF β (Rivera et Brekken 2011) ou PDGF (Raines et al. 1992), deux protéines participant à la maturation des cellules musculaires lisses (S. Chen, Kulik, et Lechleider 2003; Zhao et al. 2011). Ces résultats peuvent aussi correspondre à une adaptation moléculaire des astrocytes à des défauts vasculaires déjà développés. Ayant maintenant établi que le stade P15 est le point culminant du défaut de mise en place de l'unité gliovasculaire, nous avons décidé de refaire un transcriptome astrocytaire à P15. Cette étude devrait permettre de découvrir des mécanismes moléculaires astrocytaires impliqués dans la MLC.

4. CONCLUSION

Notre étude développementale de l'unité gliovasculaire dans un modèle murin de MLC a permis de mettre en évidence différents événements précoces intervenant bien avant les atteintes myéliniques. En effet, nous avons pu observer (i) des défauts des cellules musculaires lisses dès P15 (perte de contractilité, *etc.*), (ii) des défauts astrocytaires dès P5 (diminution de l'expression de marqueurs des PVAPs ; altération de la couverture vasculaire, ...), (iii) une altération des fonctions de l'unité gliovasculaire à P60 avec une diminution du couplage neurovasculaire et une modification de la circulation glymphatique. Ces différents événements interviennent avant trois mois, âge auquel on observe chez ces souris les premiers défauts myéliniques (Dubey et al. 2015). Ainsi les défauts de l'unité gliovasculaire que nous avons décrits semble être les événements

primaires de la MLC. Ceux-ci peuvent induire des défauts métaboliques, eux-mêmes à l'origine de dégénérescence myélinique (Rosko et al. 2019). Notre travail apporte donc un nouvel angle de compréhension de la physiopathologie de la MLC.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott, N. Joan, Adjanie A. K. Patabendige, Diana E. M. Dolman, Siti R. Yusof, et David J. Begley. 2010. « Structure and Function of the Blood-Brain Barrier ». *Neurobiology of Disease* 37 (1): 13-25. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.07.030>.
- Abdeladim, Lamiae, Katherine S. Matho, Solène Clavreul, Pierre Mahou, Jean-Marc Sintès, Xavier Solinas, Ignacio Arganda-Carreras, et al. 2019. « Multicolor Multiscale Brain Imaging with Chromatic Multiphoton Serial Microscopy ». *Nature Communications* 10 (1): 1662. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09552-9>.
- Abrams, Charles K., et Steven S. Scherer. 2012. « Gap junctions in inherited human disorders of the central nervous system ». *Biochimica et biophysica acta* 1818 (8): 2030-47. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.08.015>.
- Abramsson, Alexandra, Sindhulakshmi Kurup, Marta Busse, Shuhei Yamada, Per Lindblom, Edith Schallmeiner, Denise Stenzel, et al. 2007. « Defective N-Sulfation of Heparan Sulfate Proteoglycans Limits PDGF-BB Binding and Pericyte Recruitment in Vascular Development ». *Genes & Development* 21 (3): 316-31. <https://doi.org/10.1101/gad.398207>.
- Adams, Ralf H., et Anne Eichmann. 2010. « Axon Guidance Molecules in Vascular Patterning ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2 (5): a001875. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001875>.
- Agid, Yves, et Pierre Magistretti. 2018. *L'Homme glial: Une révolution dans les sciences du cerveau*. Odile Jacob.
- Agrawal, Smriti, Per Anderson, Madeleine Durbeej, Nico Van Rooijen, Fredrik Ivars, Ghislain Opdenakker, et Lydia Sorokin. 2006. « Agrawal S, Anderson P, Durbeej M, van Rooijen N, Ivars F, Opdenakker G, Sorokin LMDystroglycan is selectively cleaved at the parenchymal basement membrane at sites of leukocyte extravasation in experimental autoimmune encephalomyelitis. J Exp Med 203:1007-1019 ». *The Journal of experimental medicine* 203 (mai): 1007-19. <https://doi.org/10.1084/jem.20051342>.
- Alvarez, Jorge Ivan, Aurore Dodelet-Devillers, Hania Kebir, Igal Ifergan, Pierre J. Fabre, Simone Terouz, Mike Sabbagh, et al. 2011. « The Hedgehog Pathway Promotes Blood-Brain Barrier Integrity and CNS Immune Quiescence ». *Science (New York, N.Y.)* 334 (6063): 1727-31. <https://doi.org/10.1126/science.1206936>.
- Alvarez, Jorge Ivan, Takahiro Katayama, et Alexandre Prat. 2013. « Glial influence on the Blood Brain Barrier ». *Glia* 61 (12): 1939-58. <https://doi.org/10.1002/glia.22575>.
- Ambrosini, Elena, Barbara Serafini, Angela Lanciotti, Fabio Tosini, Flavia Scialpi, Rossana Psaila, Carla Raggi, Francesco Di Girolamo, Tamara Corinna Petrucci, et Francesca Aloisi. 2008. « Biochemical Characterization of MLC1 Protein in Astrocytes and Its Association with the Dystrophin-Glycoprotein Complex ». *Molecular and Cellular Neurosciences* 37 (3): 480-93. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2007.11.003>.

Amiry-Moghaddam, M., D. S. Frydenlund, et O. P. Ottersen. 2004. « Anchoring of Aquaporin-4 in Brain: Molecular Mechanisms and Implications for the Physiology and Pathophysiology of Water Transport ». *Neuroscience, Brain Water Homeostasis*, 129 (4): 997-1008. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.08.049>.

Amiry-Moghaddam, Mahmood, et Ole P. Ottersen. 2003. « The molecular basis of water transport in the brain ». *Nature Reviews Neuroscience* 4 (12): 991-1001.

Ando, Yoshiaki, Hideshi Okada, Genzou Takemura, Kodai Suzuki, Chihiro Takada, Hiroyuki Tomita, Ryogen Zaikokuji, et al. 2018. « Brain-Specific Ultrastructure of Capillary Endothelial Glycocalyx and Its Possible Contribution for Blood Brain Barrier ». *Scientific Reports* 8 (1): 17523. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35976-2>.

Araujo, Ana Paula Bergamo, Raul Carpi-Santos, et Flávia Carvalho Alcantara Gomes. 2019. « The Role of Astrocytes in the Development of the Cerebellum ». *Cerebellum (London, England)* 18 (6): 1017-35. <https://doi.org/10.1007/s12311-019-01046-0>.

Argaw, Azeb Tadesse, Linnea Asp, Jingya Zhang, Kristina Navrazhina, Trinh Pham, John N. Mariani, Sean Mahase, et al. 2012. « Astrocyte-derived VEGF-A drives blood-brain barrier disruption in CNS inflammatory disease ». *The Journal of Clinical Investigation* 122 (7): 2454-68. <https://doi.org/10.1172/JCI60842>.

Arikawa-Hirasawa, Eri, Hideto Watanabe, Hiroya Takami, John R. Hassell, et Yoshihiko Yamada. 1999. « Perlecan Is Essential for Cartilage and Cephalic Development ». *Nature Genetics* 23 (3): 354-58. <https://doi.org/10.1038/15537>.

Armulik, Annika, Guillem Genové, et Christer Betsholtz. 2011. « Pericytes: Developmental, Physiological, and Pathological Perspectives, Problems, and Promises ». *Developmental Cell* 21 (2): 193-215. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.07.001>.

Armulik, Annika, Guillem Genové, Maarja Mäe, Maya H. Nisancioglu, Elisabet Wallgard, Colin Niaudet, Liqun He, et al. 2010. « Pericytes Regulate the Blood-Brain Barrier ». *Nature* 468 (7323): 557-61. <https://doi.org/10.1038/nature09522>.

Asgari, Mahdi, Diane de Zélicourt, et Vartan Kurtcuoglu. 2016. « Glymphatic Solute Transport Does Not Require Bulk Flow ». *Scientific Reports* 6 (décembre): 38635. <https://doi.org/10.1038/srep38635>.

Aspelund, Aleksanteri, Salli Antila, Steven T. Proulx, Tine Veronica Karlsen, Sinem Karaman, Michael Detmar, Helge Wiig, et Kari Alitalo. 2015. « A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules ». *The Journal of Experimental Medicine* 212 (7): 991-99. <https://doi.org/10.1084/jem.20142290>.

Aspelund, Aleksanteri, Marius R. Robciuc, Sinem Karaman, Taija Makinen, et Kari Alitalo. 2016. « Lymphatic System in Cardiovascular Medicine ». *Circulation Research* 118 (3): 515-30. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306544>.

- Attwell, David, Alastair M. Buchan, Serge Charpak, Martin Lauritzen, Brian A. Macvicar, et Eric A. Newman. 2010. « Glial and Neuronal Control of Brain Blood Flow ». *Nature* 468 (7321): 232-43. <https://doi.org/10.1038/nature09613>.
- Bader, Bernhard L., Neil Smyth, Sabine Nedbal, Nicolai Miosge, Anke Baranowsky, Sharada Mokkaapati, Monzur Murshed, et Roswitha Nischt. 2005. « Compound Genetic Ablation of Nidogen 1 and 2 Causes Basement Membrane Defects and Perinatal Lethality in Mice ». *Molecular and Cellular Biology* 25 (15): 6846-56. <https://doi.org/10.1128/MCB.25.15.6846-6856.2005>.
- Bakker, Erik N. T. P., Daphne M. P. Naessens, et Ed VanBavel. 2019. « Paravascular Spaces: Entry to or Exit from the Brain? » *Experimental Physiology* 104 (7): 1013-17. <https://doi.org/10.1113/EP087424>.
- Baldwin, Katherine T., Christabel X. Tan, Samuel T. Strader, Changyu Jiang, Justin T. Savage, Xabier Elorza-Vidal, Ximena Contreras, et al. 2021. « HepaCAM Controls Astrocyte Self-Organization and Coupling ». *Neuron* 109 (15): 2427-2442.e10. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.05.025>.
- Bär, T. 1980. « The Vascular System of the Cerebral Cortex ». *Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology* 59: I-VI,1-62. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-67432-7>.
- Barnard, A., H. Hamersma, J. C. de Villiers, et P. Beighton. 1981. « Intracranial Calcification in Oculodento-Osseous Dysplasia ». *South African Medical Journal = Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Geneeskunde* 59 (21): 758-62.
- Baslow, Morris H., et David N. Guilfoyle. 2009. « Are Astrocytes the Missing Link Between Lack of Brain Aspartoacylase Activity and the Spongiform Leukodystrophy in Canavan Disease? » *Neurochemical Research* 34 (9): 1523-34. <https://doi.org/10.1007/s11064-009-9958-z>.
- Batiuk, Mykhailo Y., Araks Martirosyan, Jérôme Wahis, Filip de Vin, Catherine Marneffe, Carola Kusserow, Jordan Koeppen, et al. 2020. « Identification of Region-Specific Astrocyte Subtypes at Single Cell Resolution ». *Nature Communications* 11 (1): 1220. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14198-8>.
- Bauer, Hans-Christian, István A. Krizbai, Hannelore Bauer, et Andreas Traweger. 2014. « “You Shall Not Pass”-Tight Junctions of the Blood Brain Barrier ». *Frontiers in Neuroscience* 8: 392. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00392>.
- Bayraktar, Omer Ali, Theresa Bartels, Staffan Holmqvist, Vitalii Kleshchevnikov, Araks Martirosyan, Damon Polioudakis, Lucile Ben Haim, et al. 2020. « Astrocyte Layers in the Mammalian Cerebral Cortex Revealed by a Single-Cell in Situ Transcriptomic Map ». *Nature Neuroscience* 23 (4): 500-509. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-0602-1>.
- Beaufort, Nathalie, Eva Scharrer, Elisabeth Kremmer, Vanda Lux, Michael Ehrmann, Robert Huber, Henry Houlden, David Werring, Christof Haffner, et Martin Dichgans. 2014. « Cerebral small vessel disease-related protease HtrA1 processes latent TGF- β binding protein 1 and facilitates TGF- β signaling ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (46): 16496-501. <https://doi.org/10.1073/pnas.1418087111>.

- Bedner, Peter, Alexander Dupper, Kerstin Hüttmann, Julia Müller, Michel K. Herde, Pavel Dublin, Tushar Deshpande, et al. 2015. « Astrocyte uncoupling as a cause of human temporal lobe epilepsy ». *Brain* 138 (5): 1208-22. <https://doi.org/10.1093/brain/awv067>.
- Bedussi, Beatrice, Nicole N. van der Wel, Judith de Vos, Henk van Veen, Maria Siebes, Ed VanBavel, et Erik Ntp Bakker. 2017. « Paravascular Channels, Cisterns, and the Subarachnoid Space in the Rat Brain: A Single Compartment with Preferential Pathways ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 37 (4): 1374-85. <https://doi.org/10.1177/0271678X16655550>.
- Bellini-Leite, Samuel, et Alfredo Jr Pereira. 2013. « Is global workspace a cartesian theater? How the neuro-astroglial interaction model solves conceptual issues ». *Journal of Cognitive Science* 14 (4): 335-60.
- Ben-Zeev, Bruria, Varda Gross, Tamar Kushnir, Ruth Shalev, Chen Hoffman, Yael Shinar, Eilo Pras, et Nathan Brand. 2001. « Vacuolating Megalencephalic Leukoencephalopathy in 12 Israeli Patients ». *Journal of Child Neurology* 16 (2): 93-99. <https://doi.org/10.1177/088307380101600205>.
- Ben-Zvi, Ayal, Baptiste Lacoste, Esther Kur, Benjamin J. Andreone, Yoav Mayshar, Han Yan, et Chenghua Gu. 2014. « Mfsd2a Is Critical for the Formation and Function of the Blood-Brain Barrier ». *Nature* 509 (7501): 507-11. <https://doi.org/10.1038/nature13324>.
- Bergeron, Sandrine, Yaohua Chen, Florent Auger, Julie Deguil, Nicolas Durieux, Emilie Skrobala, Romain Barus, et al. 2019. « Role of cortical microbleeds in cognitive impairment: In vivo behavioral and imaging characterization of a novel murine model ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 39 (6): 1015-25. <https://doi.org/10.1177/0271678X17752765>.
- Bernabeu, Miguel O., Martin L. Jones, Rupert W. Nash, Anna Pezzarossa, Peter V. Coveney, Holger Gerhardt, et Claudio A. Franco. 2018. « PolNet: A Tool to Quantify Network-Level Cell Polarity and Blood Flow in Vascular Remodeling ». *Biophysical Journal* 114 (9): 2052-58. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.03.032>.
- Berry, F. B., et I. R. Brown. 1996. « CaM I mRNA is localized to apical dendrites during postnatal development of neurons in the rat brain ». *Journal of neuroscience research* 43 (5): 565-75.
- Bianchi, Silvia, Chiara Di Palma, Gian Nicola Gallus, Ilaria Taglia, Antonella Poggiani, Francesca Rosini, Alessandra Rufa, Dafin Fior Muresanu, Alfonso Cerase, et Maria Teresa Dotti. 2014. « Two novel HTRA1 mutations in a European CARASIL patient ». *Neurology* 82 (10): 898-900.
- Bindocci, Erika, Iaroslav Savtchouk, Nicolas Liaudet, Denise Becker, Giovanni Carriero, et Andrea Volterra. 2017. « Three-Dimensional Ca²⁺ Imaging Advances Understanding of Astrocyte Biology ». *Science (New York, N.Y.)* 356 (6339): eaai8185. <https://doi.org/10.1126/science.aai8185>.
- Blakely, Penelope K., Shabbir Hussain, Lindsey E. Carlin, et David N. Irani. 2015. « Astrocyte matricellular proteins that control excitatory synaptogenesis are regulated by inflammatory cytokines and correlate with paralysis severity during experimental autoimmune encephalomyelitis ». *Frontiers in Neuroscience* 9: 344. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00344>.

Blanco, María José, Iván Rodríguez-Martín, Ana I. R. Learte, Cristina Clemente, María Gregoria Montalvo, Motoharu Seiki, Alicia G. Arroyo, et Cristina Sánchez-Camacho. 2017. « Developmental expression of membrane type 4-matrix metalloproteinase (Mt4-mmp/Mmp17) in the mouse embryo ». *PLoS ONE* 12 (9): e0184767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184767>.

Blanco, Raquel, et Holger Gerhardt. 2013. « VEGF and Notch in Tip and Stalk Cell Selection ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 3 (1): a006569. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006569>.

Blattner, R., A. Von Moers, P. a. J. Leegwater, F. A. Hanefeld, M. S. Van Der Knaap, et W. Köhler. 2003. « Clinical and Genetic Heterogeneity in Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts (MLC) ». *Neuropediatrics* 34 (4): 215-18. <https://doi.org/10.1055/s-2003-42210>.

Bodian, David. 1965. « A Suggestive Relationship of Nerve Cell Rna with Specific Synaptic Sites ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 53 (2): 418-25. <https://doi.org/10.1073/pnas.53.2.418>.

Bokhari, Maria R., Faisal Inayat, Javeria Sardar, et Syed Rizwan A. Bokhari. 2018. « Van Der Knaap Disease ». *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan: JCPSP* 28 (11): 888-90. <https://doi.org/10.29271/jcpsp.2018.11.888>.

Bokhari, Maria R., Debopam Samanta, et Syed Rizwan A. Bokhari. 2021. « Canavan Disease ». In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430816/>.

Boor, P. K. Ilja, Koen de Groot, Quinten Waisfisz, Wouter Kamphorst, Cees B. M. Oudejans, James M. Powers, Jan C. Pronk, Gert C. Scheper, et Marjo S. van der Knaap. 2005. « MLC1: A Novel Protein in Distal Astroglial Processes ». *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 64 (5): 412-19. <https://doi.org/10.1093/jnen/64.5.412>.

Bosch, Assumpció, et Raúl Estévez. 2021. « Megalencephalic Leukoencephalopathy: Insights Into Pathophysiology and Perspectives for Therapy ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 14: 490. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.627887>.

Boulay, Anne-Cécile, Aurélien Mazeraud, Salvatore Cisternino, Bruno Saubaméa, Phillippe Mailly, Laurent Jourden, Corinne Blugeon, et al. 2015. « Immune Quiescence of the Brain Is Set by Astroglial Connexin 43 ». *The Journal of Neuroscience* 35 (10): 4427-39. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2575-14.2015>.

Boulay, Anne-Cécile, Bruno Saubaméa, Nicolas Adam, Stéphanie Chasseigneaux, Noémie Mazaré, Alice Gilbert, Mathieu Bahin, et al. 2017. « Translation in Astrocyte Distal Processes Sets Molecular Heterogeneity at the Gliovascular Interface ». *Cell Discovery* 3: 17005. <https://doi.org/10.1038/celldisc.2017.5>.

Brignone, Maria S., Angela Lanciotti, Pompeo Macioce, Gianfranco Macchia, Matteo Gaetani, Francesca Aloisi, Tamara C. Petrucci, et Elena Ambrosini. 2011. « The Beta1 Subunit of the

Na,K-ATPase Pump Interacts with Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts Protein 1 (MLC1) in Brain Astrocytes: New Insights into MLC Pathogenesis ». *Human Molecular Genetics* 20 (1): 90-103. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddq435>.

Brignone, Maria S., Angela Lanciotti, Sergio Visentin, Chiara De Nuccio, Paola Molinari, Serena Camerini, Marco Diociaiuti, et al. 2014. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts Protein-1 Modulates Endosomal PH and Protein Trafficking in Astrocytes: Relevance to MLC Disease Pathogenesis ». *Neurobiology of Disease* 66 (juin): 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.02.003>.

Brignone, Maria Stefania, Angela Lanciotti, Barbara Serafini, Cinzia Mallozzi, Marco Sbriccoli, Caterina Veroni, Paola Molinari, et al. 2019. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts Protein-1 (MLC1) Counteracts Astrocyte Activation in Response to Inflammatory Signals ». *Molecular Neurobiology* 56 (12): 8237-54. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-01657-y>.

Buffon, F, R Porcher, K Hernandez, A Kurtz, S Pointeau, K Vahedi, M-G Bousser, et H Chabriat. 2006. « Cognitive profile in CADASIL ». *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* 77 (2): 175-80. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2005.068726>.

Bugiani, Marianna, Ilja Boor, Barbara van Kollenburg, Nienke Postma, Emiel Polder, Carola van Berkel, Ronald E. van Kesteren, et al. 2011. « Defective Glial Maturation in Vanishing White Matter Disease ». *Journal of neuropathology and experimental neurology* 70 (1): 69-82. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e318203ae74>.

Bugiani, Marianna, Mohit Dubey, Marjolein Breur, Nienke L. Postma, Marien P. Dekker, Timo ter Braak, Ursula Boschert, et al. 2017. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Cysts: The Glicam-Null Mouse Model ». *Annals of Clinical and Translational Neurology* 4 (7): 450-65. <https://doi.org/10.1002/acn3.405>.

Bugiani, Marianna, Mohit Dubey, Marjolein Breur, Nienke L. Postma, Marien P. Dekker, Timo Ter Braak, Ursula Boschert, et al. 2017. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Cysts: The Glicam-Null Mouse Model ». *Annals of Clinical and Translational Neurology* 4 (7): 450-65. <https://doi.org/10.1002/acn3.405>.

Bushong, Eric A., Maryann E. Martone, Ying Z. Jones, et Mark H. Ellisman. 2002. « Protoplasmic Astrocytes in CA1 Stratum Radiatum Occupy Separate Anatomical Domains ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 22 (1): 183-92.

Cai, Changsi, Jonas C. Fordsmann, Sofie H. Jensen, Bodil Gesslein, Micael Lønstrup, Bjørn O. Hald, Stefan A. Zambach, Birger Brodin, et Martin J. Lauritzen. 2018. « Stimulation-Induced Increases in Cerebral Blood Flow and Local Capillary Vasoconstriction Depend on Conducted Vascular Responses ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (25): E5796-5804. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707702115>.

Cali, Corrado, Marco Agus, Kalpana Kare, Daniya J. Boges, Heikki Lehtälä, Markus Hadwiger, et Pierre J. Magistretti. 2019. « 3D Cellular Reconstruction of Cortical Glia and

Parenchymal Morphometric Analysis from Serial Block-Face Electron Microscopy of Juvenile Rat ». *Progress in Neurobiology* 183 (décembre): 101696.
<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2019.101696>.

Campioni, Mara, Anna Severino, Lucrezia Manente, Antonio De Luca, Raffaele La Porta, Antonio Vitiello, Paola Fiore, et al. 2011. « Identification of Protein-Protein Interactions of Human HtrA1 ». *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)* 3 (juin): 1493-99.
<https://doi.org/10.2741/e350>.

Capdevila-Nortes, Xavier, Tania López-Hernández, Pirjo M. Apaja, Miguel López de Heredia, Sònia Sirisi, Gerard Callejo, Tanit Arnedo, et al. 2013. « Insights into MLC pathogenesis: GlialCAM is an MLC1 chaperone required for proper activation of volume-regulated anion currents ». *Human Molecular Genetics* 22 (21): 4405-16. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt290>.

Capone, Carmen, Fabrice Dabertrand, Celine Baron-Menguy, Athena Chalaris, Lamia Ghezali, Valérie Domenga-Denier, Stefanie Schmidt, et al. 2016. « Mechanistic insights into a TIMP3-sensitive pathway constitutively engaged in the regulation of cerebral hemodynamics ». Édité par David E Clapham. *eLife* 5 (août): e17536. <https://doi.org/10.7554/eLife.17536>.

Carmeliet, Peter. 2000. « Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis ». *Nature medicine* 6 (4): 389-95.

Caudle, Robert M. 2006. « Memory in astrocytes: a hypothesis ». *Theoretical Biology and Medical Modelling* 3 (1): 1-10.

Chabriat, H., A. Joutel, E. Tournier-Lasserre, et M. G. Bousser. 2020. « CADASIL: Yesterday, Today, Tomorrow ». *European Journal of Neurology* 27 (8): 1588-95.
<https://doi.org/10.1111/ene.14293>.

Chabriat, Hugues, Anne Joutel, Martin Dichgans, Elizabeth Tournier-Lasserre, et Marie-Germaine Bousser. 2009. « Cadasil ». *The Lancet. Neurology* 8 (7): 643-53.
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70127-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70127-9).

Chasseigneaux, Stéphanie, Yasmine Moraca, Véronique Cochois-Guégan, Anne-Cécile Boulay, Alice Gilbert, Stéphane Le Crom, Corinne Blugeon, et al. 2018. « Isolation and Differential Transcriptome of Vascular Smooth Muscle Cells and Mid-Capillary Pericytes from the Rat Brain ». *Scientific Reports* 8 (1): 12272. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30739-5>.

Chen, Shiyu, Magdalena Kulik, et Robert J. Lechleider. 2003. « Smad Proteins Regulate Transcriptional Induction of the SM22alpha Gene by TGF-Beta ». *Nucleic Acids Research* 31 (4): 1302-10. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg224>.

Chen, Xiaowen, Dafne Gays, Carlo Milia, et Massimo M. Santoro. 2017. « Cilia Control Vascular Mural Cell Recruitment in Vertebrates ». *Cell Reports* 18 (4): 1033-47.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.12.044>.

Chen, Zu-Lin, Yao Yao, Erin H. Norris, Anna Kruyer, Odella Jno-Charles, Akbarshakh Akhmerov, et Sidney Strickland. 2013. « Ablation of astrocytic laminin impairs vascular smooth

muscle cell function and leads to hemorrhagic stroke ». *The Journal of Cell Biology* 202 (2): 381-95.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201212032>.

Chever, Oana, Chun-Yao Lee, et Nathalie Rouach. 2014. « Astroglial Connexin43 Hemichannels Tune Basal Excitatory Synaptic Transmission ». *Journal of Neuroscience* 34 (34): 11228-32.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0015-14.2014>.

Christensen, Jeppe Romme, Karen Bonde Larsen, Sarah H. Lisanby, Jason Scalia, Victoria Arango, Andrew J. Dwork, et Bente Pakkenberg. 2007. « Neocortical and Hippocampal Neuron and Glial Cell Numbers in the Rhesus Monkey ». *The Anatomical Record* 290 (3): 330-40.
<https://doi.org/10.1002/ar.20504>.

Chung, Won-Suk, Laura E. Clarke, Gordon X. Wang, Benjamin K. Stafford, Alexander Sher, Chandrani Chakraborty, Julia Joung, et al. 2013. « Astrocytes Mediate Synapse Elimination through MEGF10 and MERTK Pathways ». *Nature* 504 (7480): 394-400.
<https://doi.org/10.1038/nature12776>.

Clarke, Laura E., Shane A. Liddelow, Chandrani Chakraborty, Alexandra E. Münch, Myriam Heiman, et Ben A. Barres. 2018. « Normal Aging Induces A1-like Astrocyte Reactivity ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115 (8): E1896-1905.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1800165115>.

Clavreul, Solène, Lamiae Abdeladim, Edwin Hernández-Garzón, Dragos Niculescu, Jason Durand, Sio-Hoi Ieng, Raphaëlle Barry, et al. 2019. « Cortical Astrocytes Develop in a Plastic Manner at Both Clonal and Cellular Levels ». *Nature Communications* 10 (1): 4884.
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-12791-5>.

Clowes, A. W., M. A. Reidy, et M. M. Clowes. 1983. « Kinetics of Cellular Proliferation after Arterial Injury. I. Smooth Muscle Growth in the Absence of Endothelium ». *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* 49 (3): 327-33.

Coelho-Santos, Vanessa, Andrée-Anne Berthiaume, Sharon Ornelas, Heidi Stuhlmann, et Andy Y. Shih. 2021. « Imaging the Construction of Capillary Networks in the Neonatal Mouse Brain ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118 (26). <https://doi.org/10.1073/pnas.2100866118>.

Cohen-Salmon, Martine, Leila Slaoui, Noémie Mazaré, Alice Gilbert, Marc Oudart, Rodrigo Alvear-Perez, Xabier Elorza-Vidal, Oana Chever, et Anne-Cécile Boulay. 2021. « Astrocytes in the Regulation of Cerebrovascular Functions ». *Glia* 69 (4): 817-41.
<https://doi.org/10.1002/glia.23924>.

Conway, Edward M., Desire Collen, et Peter Carmeliet. 2001. « Molecular mechanisms of blood vessel growth ». *Cardiovascular research* 49 (3): 507-21.

Corada, Monica, Lucia Zanetta, Fabrizio Orsenigo, Ferruccio Breviario, Maria Grazia Lampugnani, Sergio Bernasconi, Fang Liao, Daniel J. Hicklin, Peter Bohlen, et Elisabetta Dejana. 2002. « A Monoclonal Antibody to Vascular Endothelial-Cadherin Inhibits Tumor Angiogenesis without Side Effects on Endothelial Permeability ». *Blood* 100 (3): 905-11.
<https://doi.org/10.1182/blood.v100.3.905>.

- Costell, M., E. Gustafsson, A. Aszódi, M. Mörgelin, W. Bloch, E. Hunziker, K. Addicks, R. Timpl, et R. Fässler. 1999. « Perlecan Maintains the Integrity of Cartilage and Some Basement Membranes ». *The Journal of Cell Biology* 147 (5): 1109-22. <https://doi.org/10.1083/jcb.147.5.1109>.
- Croce, Jenifer C., et David R. McClay. 2008. « Evolution of the Wnt Pathways ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 469: 3-18. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-469-2_1.
- Cucullo, Luca, Mohammed Hossain, Vikram Puvenna, Nicola Marchi, et Damir Janigro. 2011. « The role of shear stress in Blood-Brain Barrier endothelial physiology ». *BMC Neuroscience* 12 (mai): 40. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-12-40>.
- Dabertrand, Fabrice, Christel Krøigaard, Adrian D. Bonev, Emmanuel Cognat, Thomas Dalsgaard, Valérie Domenga-Denier, David C. Hill-Eubanks, Joseph E. Brayden, Anne Joutel, et Mark T. Nelson. 2015. « Potassium Channelopathy-like Defect Underlies Early-Stage Cerebrovascular Dysfunction in a Genetic Model of Small Vessel Disease ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (7): E796-805. <https://doi.org/10.1073/pnas.1420765112>.
- Dai, Cong-Ling, Wen-Bin He, Juan Du, Yue-Qiu Tan, Guang-Xiu Lu, et Wen Li. 2017. « A Case of Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts Type 1 Was Identified with a Novel Compound Heterozygous Alteration (c.135delC; c.423+2dupT) in China ». *Clinical Case Reports* 5 (6): 961-67. <https://doi.org/10.1002/ccr3.986>.
- Dallérac, Glenn, Jonathan Zapata, et Nathalie Rouach. 2018. « Versatile Control of Synaptic Circuits by Astrocytes: Where, When and How? ». *Nature Reviews Neuroscience* 19 (12): 729-43. <https://doi.org/10.1038/s41583-018-0080-6>.
- Damon, Deborah H. 2006. « Vascular Endothelial-Derived Semaphorin 3 Inhibits Sympathetic Axon Growth ». *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 290 (3): H1220-1225. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01232.2004>.
- Daneman, Richard, Dritan Agalliu, Lu Zhou, Frank Kuhnert, Calvin J. Kuo, et Ben A. Barres. 2009. « Wnt/ β -catenin signaling is required for CNS, but not non-CNS, angiogenesis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (2): 641-46. <https://doi.org/10.1073/pnas.0805165106>.
- Daneman, Richard, Lu Zhou, Amanuel A. Kebede, et Ben A. Barres. 2010. « Pericytes Are Required for Blood-Brain Barrier Integrity during Embryogenesis ». *Nature* 468 (7323): 562-66. <https://doi.org/10.1038/nature09513>.
- Darland, Diane C., Jacob T. Cain, Matthew A. Berosik, Magali Saint-Geniez, Patrick W. Odens, Geoffrey J. Schaubhut, Sarah Frisch, Anat Stemmer-Rachamimov, Tristan Darland, et Patricia A. D'Amore. 2011. « Vascular endothelial growth factor (VEGF) isoform regulation of early forebrain development ». *Developmental biology* 358 (1): 9-22. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2011.06.045>.
- Deiters, Otto. 1865. *Untersuchungen über Gehirn und Rückenmark des Menschen und der Säugethiere*. F. Veiweg.

- Depienne, Christel, Marianna Bugiani, Céline Dupuits, Damien Galanaud, Valérie Toutou, Nienke Postma, Carola van Berkel, et al. 2013. « Brain White Matter Oedema Due to ClC-2 Chloride Channel Deficiency: An Observational Analytical Study ». *The Lancet. Neurology* 12 (7): 659-68. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70053-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70053-X).
- Dermietzel, R., et D. Krause. 1991. « Molecular Anatomy of the Blood-Brain Barrier as Defined by Immunocytochemistry ». *International Review of Cytology* 127: 57-109. [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(08\)60692-0](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(08)60692-0).
- Derouiche, Amin, Julia Haseleu, et Horst-Werner Korf. 2015. « Fine Astrocyte Processes Contain Very Small Mitochondria: Glial Oxidative Capability May Fuel Transmitter Metabolism ». *Neurochemical Research* 40 (12): 2402-13. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1563-8>.
- DeSisto, John, Rebecca O'Rourke, Hannah E. Jones, Bradley Pawlikowski, Alexandra D. Malek, Stephanie Bonney, Fabien Guimiot, Kenneth L. Jones, et Julie A. Siegenthaler. 2020. « Single-Cell Transcriptomic Analyses of the Developing Meninges Reveal Meningeal Fibroblast Diversity and Function ». *Developmental Cell* 54 (1): 43-59.e4. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.06.009>.
- Dieck, Susanne tom, Lisa Kochen, Cyril Hanus, Ina Bartnik, Belquis Nassim-Assir, Katrin Merk, Thorsten Mosler, et al. 2015. « Direct visualization of identified and newly synthesized proteins in situ ». *Nature methods* 12 (5): 411-14. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3319>.
- Dohgu, Shinya, Atsushi Yamauchi, Fuyuko Takata, Mikihiro Naito, Takashi Tsuruo, Shun Higuchi, Yasufumi Sawada, et Yasufumi Kataoka. 2004. « Transforming Growth Factor-Beta1 Upregulates the Tight Junction and P-Glycoprotein of Brain Microvascular Endothelial Cells ». *Cellular and Molecular Neurobiology* 24 (3): 491-97. <https://doi.org/10.1023/b:cemn.0000022776.47302.ce>.
- Domenga, Valérie, Peggy Fardoux, Pierre Lacombe, Marie Monet, Jacqueline Maciazek, Luke T. Krebs, Bernard Klonjowski, et al. 2004. « Notch3 is required for arterial identity and maturation of vascular smooth muscle cells ». *Genes & Development* 18 (22): 2730-35. <https://doi.org/10.1101/gad.308904>.
- Dooves, Stephanie, Marianna Bugiani, Nienke L. Postma, Emiel Polder, Niels Land, Stephen T. Horan, Anne-Lieke F. van Deijk, et al. s. d. « Astrocytes are central in the pathomechanisms of vanishing white matter ». *The Journal of Clinical Investigation* 126 (4): 1512-24. <https://doi.org/10.1172/JCI83908>.
- Doyle, Kristian P, Egle Cekanaviciute, Lauren E Mamer, et Marion S Buckwalter. 2010. « TGF β signaling in the brain increases with aging and signals to astrocytes and innate immune cells in the weeks after stroke ». *Journal of Neuroinflammation* 7 (octobre): 62. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-7-62>.
- Duarri, Anna, Miguel Lopez de Heredia, Xavier Capdevila-Nortes, Margreet C. Ridder, Marisol Montolio, Tania López-Hernández, Ilja Boor, et al. 2011. « Knockdown of MLC1 in Primary Astrocytes Causes Cell Vacuolation: A MLC Disease Cell Model ». *Neurobiology of Disease* 43 (1): 228-38. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.03.015>.

- Duarri, Anna, Oscar Teijido, Tania López-Hernández, Gert C. Scheper, Herve Barriere, Ilja Boor, Fernando Aguado, et al. 2008. « Molecular pathogenesis of megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts: mutations in MLC1 cause folding defects ». *Human Molecular Genetics* 17 (23): 3728-39. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn269>.
- Dubey, Mohit, Eelke Brouwers, Eline M.C. Hamilton, Oliver Stiedl, Marianna Bugiani, Henner Koch, Maarten H.P. Kole, et al. 2018. « Seizures and disturbed brain potassium dynamics in the leukodystrophy megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts ». *Annals of Neurology* 83 (3): 636-49. <https://doi.org/10.1002/ana.25190>.
- Dubey, Mohit, Marianna Bugiani, Margreet C. Ridder, Nienke L. Postma, Eelke Brouwers, Emiel Polder, J. Gerbren Jacobs, et al. 2015. « Mice with Megalencephalic Leukoencephalopathy with Cysts: A Developmental Angle ». *Annals of Neurology* 77 (1): 114-31. <https://doi.org/10.1002/ana.24307>.
- Durbeej, Madeleine. 2009. « Laminins ». *Cell and Tissue Research* 339 (1): 259. <https://doi.org/10.1007/s00441-009-0838-2>.
- Ehmsen, Jeffrey, Ellen Poon, et Kay Davies. 2002. « The Dystrophin-Associated Protein Complex ». *Journal of Cell Science* 115 (Pt 14): 2801-3.
- Elorza-Vidal, Xabier, Sònia Sirisi, Héctor Gaitán-Peñas, Carla Pérez-Rius, Marta Alonso-Gardón, Mercedes Armand-Ugón, Angela Lanciotti, et al. 2018. « GlialCAM/MLC1 Modulates LRRC8/VRAC Currents in an Indirect Manner: Implications for Megalencephalic Leukoencephalopathy ». *Neurobiology of Disease* 119 (novembre): 88-99. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.07.031>.
- Elorza-Vidal, Xabier, Efrén Xicoy-Espauella, Adrià Pla-Casillanis, Marta Alonso-Gardón, Héctor Gaitán-Peñas, Carolyn Engel-Pizcueta, Juan Fernández-Recio, et Raúl Estévez. 2020. « Structural Basis for the Dominant or Recessive Character of GLIALCAM Mutations Found in Leukodystrophies ». *Human Molecular Genetics* 29 (7): 1107-20. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddaa009>.
- Engelhardt, Britta. 2003. « Development of the Blood-Brain Barrier ». *Cell and Tissue Research* 314 (1): 119-29. <https://doi.org/10.1007/s00441-003-0751-z>.
- Ezan, Pascal, Pascal André, Salvatore Cisternino, Bruno Saubaméa, Anne-Cécile Boulay, Suzette Doutremer, Marie-Annick Thomas, Nicole Quenech'du, Christian Giaume, et Martine Cohen-Salmon. 2012a. « Deletion of astroglial connexins weakens the blood-brain barrier ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 32 (8): 1457-67. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.45>.
- . 2012b. « Deletion of Astroglial Connexins Weakens the Blood-Brain Barrier ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 32 (8): 1457-67. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.45>.
- Fabene, Paolo F., Graciela Navarro Mora, Marianna Martinello, Barbara Rossi, Flavia Merigo, Linda Ottoboni, Simona Bach, et al. 2008. « A role for leukocyte-endothelial adhesion mechanisms in epilepsy ». *Nature medicine* 14 (12): 1377-83. <https://doi.org/10.1038/nm.1878>.

- Falcón, Beverly L., Hiroya Hashizume, Petros Koumoutsakos, Jeyling Chou, James V. Bready, Angela Coxon, Jonathan D. Oliner, et Donald M. McDonald. 2009. « Contrasting actions of selective inhibitors of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 on the normalization of tumor blood vessels ». *The American journal of pathology* 175 (5): 2159-70.
- Fallier-Becker, Petra, Jörg P. Vollmer, Hans-C. Bauer, Susan Noell, Hartwig Wolburg, et Andreas F. Mack. 2014. « Onset of Aquaporin-4 Expression in the Developing Mouse Brain ». *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience* 36 (août): 81-89. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2014.06.001>.
- Fañanas, J. Ramón y. 1917. *Contribucion al estudio de la neuroglia del cerebelo*. Nicolás Moya.
- Faraco, Giuseppe, Laibaik Park, Josef Anrather, et Costantino Iadecola. 2017. « Brain Perivascular Macrophages: Characterization and Functional Roles in Health and Disease ». *Journal of Molecular Medicine* 95 (11): 1143-52. <https://doi.org/10.1007/s00109-017-1573-x>.
- Favor, Jack, Christian Johannes Gloeckner, Dirk Janik, Martina Klempt, Angelika Neuhäuser-Klaus, Walter Pretsch, Wolfgang Schmahl, et Leticia Quintanilla-Fend. 2007. « Type IV Procollagen Missense Mutations Associated with Defects of the Eye, Vascular Stability, the Brain, Kidney Function and Embryonic or Postnatal Viability in the Mouse, *Mus Musculus*: An Extension of the Col4a1 Allelic Series and the Identification of the First Two Col4a2 Mutant Alleles ». *Genetics* 175 (2): 725-36. <https://doi.org/10.1534/genetics.106.064733>.
- Favre-Kontula, Linda, Alexandre Rolland, Lilia Bernasconi, Maria Karmirantzou, Christine Power, Bruno Antonsson, et Ursula Boschert. 2008. « GlialCAM, an Immunoglobulin-like Cell Adhesion Molecule Is Expressed in Glial Cells of the Central Nervous System ». *Glia* 56 (6): 633-45. <https://doi.org/10.1002/glia.20640>.
- Feeney Jr., James F., et Ray L. Watterson. 1946. « The Development of the Vascular Pattern within the Walls of the Central Nervous System of the Chick Embryo ». *Journal of Morphology* 78 (2): 231-303. <https://doi.org/10.1002/jmor.1050780205>.
- Fenstermacher, Joseph, Paul Gross, Nadine Sposito, Virgil Acuff, Susan Pettersen, et Kurt Gruber. 1988. « Structural and Functional Variations in Capillary Systems within the Brain ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 529 (1): 21-30. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb51416.x>.
- Fernández-Klett, Francisco, Nikolas Offenhauser, Ulrich Dirnagl, Josef Priller, et Ute Lindauer. 2010. « Pericytes in Capillaries Are Contractile in Vivo, but Arterioles Mediate Functional Hyperemia in the Mouse Brain ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (51): 22290-95. <https://doi.org/10.1073/pnas.1011321108>.
- Ferris, Craig F. 2021. « Rethinking the Conditions and Mechanism for Glymphatic Clearance ». *Frontiers in Neuroscience* 15 (avril): 624690. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.624690>.
- Figueiredo, Ana M., Pilar Villacampa, Rodrigo Diéguez-Hurtado, Juan José Lozano, Piotr Kobińska, Ana Rosa Cortazar, Anabel Martínez-Romero, et al. 2020. « Phosphoinositide 3-

Kinase-Regulated Pericyte Maturation Governs Vascular Remodeling ». *Circulation* 142 (7): 688-704. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.042354>.

Fogli, Anne, Kondi Wong, Eleonore Eymard-Pierre, Jack Wenger, John-Paul Bouffard, Ehud Goldin, Deborah N. Black, Odile Boespflug-Tanguy, et Raphael Schiffmann. 2002. « Cree Leukoencephalopathy and CACH/VWM Disease Are Allelic at the EIF2B5 Locus ». *Annals of Neurology* 52 (4): 506-10. <https://doi.org/10.1002/ana.10339>.

Földi, M., A. Gellért, M. Kozma, M. Poberai, O. T. Zoltán, et E. Csanda. 1966. « New Contributions to the Anatomical Connections of the Brain and the Lymphatic System ». *Acta Anatomica* 64 (4): 498-505. <https://doi.org/10.1159/000142849>.

Fort, Patrice E., Abdoulaye Sene, Thomas Pannicke, Michel J. Roux, Valerie Forster, Dominique Mornet, Uri Nudel, et al. 2008. « Kir4.1 and AQP4 associate with Dp71- and utrophin-DAPs complexes in specific and defined microdomains of Müller retinal glial cell membrane ». *Glia* 56 (6): 597-610. <https://doi.org/10.1002/glia.20633>.

Füchtbauer, L., M. Groth-Rasmussen, T. H. Holm, M. Løbner, H. Toft-Hansen, R. Khorooshi, et T. Owens. 2011. « Angiotensin II Type 1 Receptor (AT1) Signaling in Astrocytes Regulates Synaptic Degeneration-Induced Leukocyte Entry to the Central Nervous System ». *Brain, Behavior, and Immunity* 25 (5): 897-904. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.09.015>.

Fujioka, Teppei, Naoko Kaneko, et Kazunobu Sawamoto. 2019. « Blood Vessels as a Scaffold for Neuronal Migration ». *Neurochemistry International* 126 (juin): 69-73. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.03.001>.

Gaengel, Konstantin, Guillem Genové, Annika Armulik, et Christer Betsholtz. 2009. « Endothelial-Mural Cell Signaling in Vascular Development and Angiogenesis ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 29 (5): 630-38. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.161521>.

Gaitán-Peñas, Héctor, Pirjo M. Apaja, Tanit Arnedo, Aida Castellanos, Xabier Elorza-Vidal, David Soto, Xavier Gasull, Gergely L. Lukacs, et Raúl Estévez. 2017. « Leukoencephalopathy-Causing CLCN2 Mutations Are Associated with Impaired Cl⁻ Channel Function and Trafficking ». *The Journal of Physiology* 595 (22): 6993-7008. <https://doi.org/10.1113/JP275087>.

Gale, N. W., et G. D. Yancopoulos. 1999. « Growth Factors Acting via Endothelial Cell-Specific Receptor Tyrosine Kinases: VEGFs, Angiopoietins, and Ephrins in Vascular Development ». *Genes & Development* 13 (9): 1055-66. <https://doi.org/10.1101/gad.13.9.1055>.

García-Marín, Virginia, Pablo García-López, et Miguel Freire. 2007. « Cajal's contributions to glia research ». *Trends in neurosciences* 30 (9): 479-87.

Garmy-Susini, Barbara, Hui Jin, Yuhong Zhu, Rou-Jia Sung, Rosa Hwang, et Judy Varner. 2005. « Integrin $\alpha_4\beta_1$ -VCAM-1-Mediated Adhesion between Endothelial and Mural Cells Is Required for Blood Vessel Maturation ». *The Journal of Clinical Investigation* 115 (6): 1542-51. <https://doi.org/10.1172/JCI23445>.

Gerhardt, Holger, et Christer Betsholtz. 2003. « Endothelial-Pericyte Interactions in Angiogenesis ». *Cell and Tissue Research* 314 (1): 15-23. <https://doi.org/10.1007/s00441-003-0745-x>.

Ghézali, Grégory, Charles-Félix Calvo, Laure-Elise Pillet, Flora Llense, Pascal Ezan, Ulrike Pannasch, Alexis-Pierre Bemelmans, Sandrine Etienne Manneville, et Nathalie Rouach. 2018. « Connexin 30 controls astroglial polarization during postnatal brain development ». *Development (Cambridge, England)* 145 (4): dev155275. <https://doi.org/10.1242/dev.155275>.

Ghézali, Grégory, Glenn Dallérac, et Nathalie Rouach. 2016. « Perisynaptic Astroglial Processes: Dynamic Processors of Neuronal Information ». *Brain Structure & Function* 221 (5): 2427-42. <https://doi.org/10.1007/s00429-015-1070-3>.

Ghézali, Grégory, Flora Vasile, Nathan Curry, Marcus Fantham, Giselle Cheung, Pascal Ezan, Martine Cohen-Salmon, Clemens Kaminski, et Nathalie Rouach. 2020. « Neuronal Activity Drives Astroglial Connexin 30 in Perisynaptic Processes and Shapes Its Functions ». *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 30 (2): 753-66. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhz123>.

Ghezali, Lamia, Carmen Capone, Céline Baron-Menguy, Julien Ratelade, Søren Christensen, Lars Østergaard Pedersen, Valérie Domenga-Denier, Jan Torleif Pedersen, et Anne Joutel. 2018. « Notch3ECD Immunotherapy Improves Cerebrovascular Responses in CADASIL Mice ». *Annals of Neurology* 84 (2): 246-59. <https://doi.org/10.1002/ana.25284>.

Giaume, Christian, Annette Koulakoff, Lisa Roux, David Holcman, et Nathalie Rouach. 2010. « Astroglial Networks: A Step Further in Neuroglial and Gliovascular Interactions ». *Nature Reviews. Neuroscience* 11 (2): 87-99. <https://doi.org/10.1038/nrn2757>.

Gilbert, Alice, Xabier Elorza Vidal, Raul Estevez, Martine Cohen-Salmon, et Anne-Cécile Boulay. 2019. « Postnatal Development of the Astrocyte Perivascular MLC1/GlialCAM Complex Defines a Temporal Window for the Gliovascular Unit Maturation ». *Brain Structure & Function* 224 (3): 1267-78. <https://doi.org/10.1007/s00429-019-01832-w>.

Girouard, Hélène, Adrian D. Bonev, Rachael M. Hannah, Andrea Meredith, Richard W. Aldrich, et Mark T. Nelson. 2010. « Astrocytic Endfoot Ca²⁺ and BK Channels Determine Both Arteriolar Dilation and Constriction ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107 (8): 3811-16. <https://doi.org/10.1073/pnas.0914722107>.

Goertzen, Angelika, et Rüdiger W. Veh. 2018. « Fañanas Cells—the Forgotten Cerebellar Glia Cell Type: Immunocytochemistry Reveals Two Potassium Channel-Related Polypeptides, Kv2.2 and Calsenilin (KChIP3) as Potential Marker Proteins ». *Glia* 66 (10): 2200-2208. <https://doi.org/10.1002/glia.23478>.

Golgi, C. 1903. « Opera Omnia, Vol. 1 ». *Milano: U. Hoepli*, 40.

Golgi, Camillo. 1885. *Sulla fina anatomia degli organi centrali del sistema nervoso*. S. Calderini.

Gorospe, J. R., B. S. Singhal, T. Kainu, F. Wu, D. Stephan, J. Trent, E. P. Hoffman, et S. Naidu. 2004. « Indian Agarwal Megalencephalic Leukodystrophy with Cysts Is Caused by a Common

MLC1 Mutation ». *Neurology* 62 (6): 878-82.

<https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000115106.88813.5b>.

Goumans, Marie-Jose, Franck Lebrin, et Gudrun Valdimarsdottir. 2003. « Controlling the Angiogenic Switch: A Balance between Two Distinct TGF- β Receptor Signaling Pathways ». *Trends in Cardiovascular Medicine* 13 (7): 301-7. [https://doi.org/10.1016/s1050-1738\(03\)00142-7](https://doi.org/10.1016/s1050-1738(03)00142-7).

Goumans, Marie-José, Gudrun Valdimarsdottir, Susumu Itoh, Alexander Rosendahl, Paschalis Sideras, et Peter ten Dijke. 2002. « Balancing the Activation State of the Endothelium via Two Distinct TGF- β Type I Receptors ». *The EMBO Journal* 21 (7): 1743-53.

<https://doi.org/10.1093/emboj/21.7.1743>.

Grant, Roger I, David A Hartmann, Robert G Underly, Andrée-Anne Berthiaume, Narayan R Bhat, et Andy Y Shih. 2019. « Organizational hierarchy and structural diversity of microvascular pericytes in adult mouse cortex ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 39 (3): 411-25.

<https://doi.org/10.1177/0271678X17732229>.

Greenberg, Joshua I, David J. Shields, Samuel G. Barillas, Lisette M. Acevedo, Eric Murphy, Jianhua Huang, Lea Scheppke, et al. 2008. « A Role for VEGF as a Negative Regulator of Pericyte Function and Vessel Maturation ». *Nature* 456 (7223): 809-13.

<https://doi.org/10.1038/nature07424>.

Guan, Ya-Na, Yue Li, Moom Roosan, et Qing Jing. 2021. « Single-Cell Transcriptomics of Murine Mural Cells Reveals Cellular Heterogeneity ». *Science China. Life Sciences* 64 (7): 1077-86.

<https://doi.org/10.1007/s11427-020-1823-2>.

Guérit, Sylvaine, Elif Fidan, Jadranka Macas, Cathrin Jaqueline Czupalla, Ricardo Figueiredo, Aruvi Vijikumar, Burak Hasan Yalcin, et al. 2021. « Astrocyte-Derived Wnt Growth Factors Are Required for Endothelial Blood-Brain Barrier Maintenance ». *Progress in Neurobiology* 199 (avril): 101937.

<https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101937>.

Gundersen, Georg Andreas, Gry Fluge Vindedal, Øivind Skare, et Erlend A. Nagelhus. 2014. « Evidence That Pericytes Regulate Aquaporin-4 Polarization in Mouse Cortical Astrocytes ».

Brain Structure and Function 219 (6): 2181-86. <https://doi.org/10.1007/s00429-013-0629-0>.

Hagemann, Tracy L., Wilbert C. Boelens, Eric F. Wawrousek, et Albee Messing. 2009.

« Suppression of GFAP toxicity by α B-crystallin in mouse models of Alexander disease ». *Human Molecular Genetics* 18 (7): 1190-99. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp013>.

Halassa, Michael M., Tommaso Fellin, Hajime Takano, Jing-Hui Dong, et Philip G. Haydon.

2007. « Synaptic Islands Defined by the Territory of a Single Astrocyte ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 27 (24): 6473-77.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1419-07.2007>.

Hall, Catherine N., Clare Reynell, Bodil Gesslein, Nicola B. Hamilton, Anusha Mishra, Brad A. Sutherland, Fergus M. O'Farrell, Alastair M. Buchan, Martin Lauritzen, et David Attwell. 2014.

« Capillary Pericytes Regulate Cerebral Blood Flow in Health and Disease ». *Nature* 508 (7494): 55-60. <https://doi.org/10.1038/nature13165>.

- Hamilton, Eline M. C., Pinar Tekturk, Fia Cialdella, Diane F. van Rappard, Nicole I. Wolf, Cengiz Yalcinkaya, Ümran Çetinçelik, et al. 2018. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts: Characterization of Disease Variants ». *Neurology* 90 (16): e1395-1403. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005334>.
- Han, Xiaoning, Michael Chen, Fushun Wang, Martha Windrem, Su Wang, Steven Shanz, Qiwu Xu, et al. 2013. « Forebrain engraftment by human glial progenitor cells enhances synaptic plasticity and learning in adult mice ». *Cell stem cell* 12 (3): 342-53. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.12.015>.
- Hanske, Sophie, Felix Dyrna, Ingo Bechmann, et Martin Krueger. 2017. « Different Segments of the Cerebral Vasculature Reveal Specific Endothelial Specifications, While Tight Junction Proteins Appear Equally Distributed ». *Brain Structure & Function* 222 (3): 1179-92. <https://doi.org/10.1007/s00429-016-1267-0>.
- Hao, Hiroyuki, Patricia Ropraz, Vitali Verin, Edoardo Camenzind, Antoine Geinoz, Michael S. Pepper, Giulio Gabbiani, et Marie-Luce Bochaton-Piallat. 2002. « Heterogeneity of Smooth Muscle Cell Populations Cultured from Pig Coronary Artery ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 22 (7): 1093-99. <https://doi.org/10.1161/01.atv.0000022407.91111.e4>.
- Harik, SI, RN Kalaria, L Andersson, P Lundahl, et G Perry. 1990. « Immunocytochemical localization of the erythroid glucose transporter: abundance in tissues with barrier functions ». *The Journal of Neuroscience* 10 (12): 3862-72. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-12-03862.1990>.
- Hawkes, Cheryl A., et Joanne McLaurin. 2009. « Selective Targeting of Perivascular Macrophages for Clearance of Beta-Amyloid in Cerebral Amyloid Angiopathy ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (4): 1261-66. <https://doi.org/10.1073/pnas.0805453106>.
- Hayashi, K., M. Takahashi, K. Kimura, W. Nishida, H. Saga, et K. Sobue. 1999. « Changes in the Balance of Phosphoinositide 3-Kinase/Protein Kinase B (Akt) and the Mitogen-Activated Protein Kinases (ERK/P38MAPK) Determine a Phenotype of Visceral and Vascular Smooth Muscle Cells ». *The Journal of Cell Biology* 145 (4): 727-40. <https://doi.org/10.1083/jcb.145.4.727>.
- Hellström, Mats, Li-Kun Phng, Jennifer J. Hofmann, Elisabet Wallgard, Leigh Coultas, Per Lindblom, Jackelyn Alva, et al. 2007. « Dll4 Signalling through Notch1 Regulates Formation of Tip Cells during Angiogenesis ». *Nature* 445 (7129): 776-80. <https://doi.org/10.1038/nature05571>.
- Henneberger, Christian, Thomas Papouin, Stéphane H. R. Oliet, et Dmitri A. Rusakov. 2010. « Long-Term Potentiation Depends on Release of D-Serine from Astrocytes ». *Nature* 463 (7278): 232-36. <https://doi.org/10.1038/nature08673>.
- Hermann, Dirk M., et Ayman ElAli. 2012. « The Abluminal Endothelial Membrane in Neurovascular Remodeling in Health and Disease ». *Science Signaling* 5 (236): re4. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2002886>.

Higashi, K., A. Fujita, A. Inanobe, M. Tanemoto, K. Doi, T. Kubo, et Y. Kurachi. 2001. « An Inwardly Rectifying K(+) Channel, Kir4.1, Expressed in Astrocytes Surrounds Synapses and Blood Vessels in Brain ». *American Journal of Physiology. Cell Physiology* 281 (3): C922-931. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.281.3.C922>.

Hill, Robert A, Lei Tong, Peng Yuan, Sasidhar Murikinati, Shobhana Gupta, et Jaime Grutzendler. 2015. « Regional blood flow in the normal and ischemic brain is controlled by arteriolar smooth muscle cell contractility and not by capillary pericytes ». *Neuron* 87 (1): 95-110. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.06.001>.

Hirschi, K. K., S. A. Rohovsky, L. H. Beck, S. R. Smith, et P. A. D'Amore. 1999. « Endothelial Cells Modulate the Proliferation of Mural Cell Precursors via Platelet-Derived Growth Factor-BB and Heterotypic Cell Contact ». *Circulation Research* 84 (3): 298-305. <https://doi.org/10.1161/01.res.84.3.298>.

Hoegg-Beiler, Maja B., Sònia Sirisi, Ian J. Orozco, Isidre Ferrer, Svea Hohensee, Muriel Auberson, Kathrin Gödde, et al. 2014. « Disrupting MLC1 and GlialCAM and CIC-2 Interactions in Leukodystrophy Entails Glial Chloride Channel Dysfunction ». *Nature Communications* 5 (1): 1-16. <https://doi.org/10.1038/ncomms4475>.

Hsu, Steven, Julia S. Chu, Fanqing F. Chen, Aijun Wang, et Song Li. 2011. « Effects of Fluid Shear Stress on a Distinct Population of Vascular Smooth Muscle Cells ». *Cellular and molecular bioengineering* 4 (4): 627-36. <https://doi.org/10.1007/s12195-011-0205-8>.

Iloff, Jeffrey J., Minghuan Wang, Yonghong Liao, Benjamin A. Plogg, Weiguo Peng, Georg A. Gundersen, Helene Benveniste, et al. 2012. « A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid β ». *Science Translational Medicine* 4 (147): 147ra111. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003748>.

Iloff, Jeffrey J., Minghuan Wang, Douglas M. Zeppenfeld, Arun Venkataraman, Benjamin A. Plog, Yonghong Liao, Rashid Deane, et Maiken Nedergaard. 2013. « Cerebral Arterial Pulsation Drives Paravascular CSF–Interstitial Fluid Exchange in the Murine Brain ». *The Journal of Neuroscience* 33 (46): 18190-99. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1592-13.2013>.

Jackson, William F. 2017. « Potassium Channels in Regulation of Vascular Smooth Muscle Contraction and Growth ». *Advances in pharmacology (San Diego, Calif.)* 78: 89-144. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2016.07.001>.

Jais, Alexander, Maite Solas, Heiko Backes, Bhagirath Chaurasia, André Kleinridders, Sebastian Theurich, Jan Mauer, et al. 2016. « Myeloid-Cell-Derived VEGF Maintains Brain Glucose Uptake and Limits Cognitive Impairment in Obesity ». *Cell* 165 (4): 882-95. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.03.033>.

Jakob, A. 1928. « Das Kleinhirn ». In *Nervensystem*, 674-916. Springer.

Jeanne, Marion, Jeff Jorgensen, et Douglas B. Gould. 2015. « Molecular and Genetic Analysis of Collagen Type IV Mutant Mouse Models of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage Identify

Mechanisms for Stroke Prevention ». *Circulation* 131 (18): 1555-65.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013395>.

Jeworutzki, Elena, Tania López-Hernández, Xavier Capdevila-Nortes, Sònia Sirisi, Luiza Bengtsson, Marisol Montolio, Giovanni Zifarelli, et al. 2012. « GlialCAM, a Protein Defective in a Leukodystrophy, Serves as a ClC-2 Cl⁻ Channel Auxiliary Subunit ». *Neuron* 73 (5): 951-61.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.039>.

Jourdren, Laurent, Maria Bernard, Marie-Agnès Dillies, et Stéphane Le Crom. 2012. « Eoulsan: A Cloud Computing-Based Framework Facilitating High Throughput Sequencing Analyses ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 28 (11): 1542-43. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts165>.

Joutel, Anne, Frédéric Andreux, Swann Gaulis, Valérie Domenga, Michaele Cecillon, Nicole Battail, Nadia Piga, Françoise Chapon, Catherine Godfrain, et Elisabeth Tournier-Lasserre. 2000. « The ectodomain of the Notch3 receptor accumulates within the cerebrovasculature of CADASIL patients ». *The Journal of clinical investigation* 105 (5): 597-605.

Joutel, Anne, Marie Monet-Leprêtre, Claudia Gosele, Céline Baron-Menguy, Annette Hammes, Sabine Schmidt, Barbara Lemaire-Carrette, et al. 2010. « Cerebrovascular dysfunction and microcirculation rarefaction precede white matter lesions in a mouse genetic model of cerebral ischemic small vessel disease ». *The Journal of Clinical Investigation* 120 (2): 433-45.
<https://doi.org/10.1172/JCI39733>.

Jucker, M., M. Tian, D. D. Norton, C. Sherman, et J. W. Kusiak. 1996. « Laminin A2 Is a Component of Brain Capillary Basement Membrane: Reduced Expression in Dystrophic Dy Mice ». *Neuroscience* 71 (4): 1153-61. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00496-3](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00496-3).

Kalish, Brian T., Lucas Cheadle, Sinisa Hrvatin, M. Aurel Nagy, Samuel Rivera, Megan Crow, Jesse Gillis, Rory Kirchner, et Michael E. Greenberg. 2018. « Single-Cell Transcriptomics of the Developing Lateral Geniculate Nucleus Reveals Insights into Circuit Assembly and Refinement ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115 (5): E1051-60.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1717871115>.

Kanaide, Hideo, Toshihiro Ichiki, Junji Nishimura, et Katsuya Hirano. 2003. « Cellular Mechanism of Vasoconstriction Induced by Angiotensin II ». *Circulation Research* 93 (11): 1015-17.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000105920.33926.60>.

Kato, S., A. Muraishi, T. Miyamoto, et J. C. Fox. 1998. « Basic Fibroblast Growth Factor Regulates Extracellular Matrix and Contractile Protein Expression Independent of Proliferation in Vascular Smooth Muscle Cells ». *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Animal* 34 (4): 341-46.
<https://doi.org/10.1007/s11626-998-0011-3>.

Kierdorf, Katrin, Takahiro Masuda, Marta Joana Costa Jordão, et Marco Prinz. 2019. « Macrophages at CNS Interfaces: Ontogeny and Function in Health and Disease ». *Nature Reviews. Neuroscience* 20 (9): 547-62. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0201-x>.

Kim, Ki Jung, Juan Ramiro Diaz, Jennifer A. Iddings, et Jessica A. Filosa. 2016. « Vasculo-Neuronal Coupling: Retrograde Vascular Communication to Brain Neurons ». *The Journal of*

- Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 36 (50): 12624-39.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1300-16.2016>.
- Kinsella, Michael G., Phan-Kiet Tran, Mary C.M. Weiser-Evans, Michael Reidy, Richard A. Majack, et Thomas N. Wight. 2003. « Changes in Perlecan Expression During Vascular Injury ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 23 (4): 608-14.
<https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000063109.94810.EE>.
- Knaap, M. S. van der, P. G. Barth, F. J. Gabreëls, E. Franzoni, J. H. Begeer, H. Stroink, J. J. Rotteveel, et J. Valk. 1997. « A New Leukoencephalopathy with Vanishing White Matter ». *Neurology* 48 (4): 845-55. <https://doi.org/10.1212/wnl.48.4.845>.
- Knaap, M. S. van der, P. G. Barth, H. Stroink, O. van Nieuwenhuizen, W. F. M. Arts, F. Hoogenraad, et J. Valk. 1995. « Leukoencephalopathy with Swelling and a Discrepantly Mild Clinical Course in Eight Children ». *Annals of Neurology* 37 (3): 324-34.
<https://doi.org/10.1002/ana.410370308>.
- Knaap, M. S. van der, S. Naidu, S. N. Breiter, S. Blaser, H. Stroink, S. Springer, J. C. Begeer, et al. 2001. « Alexander Disease: Diagnosis with MR Imaging ». *AJNR. American Journal of Neuroradiology* 22 (3): 541-52.
- Knaap, Marjo S. van der, Truus EM Abbink, et Rogier Min. s. d. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts Synonym: Van der Knaap Disease ». *Gene* 1: 2.
- Knaap, Marjo S. van der, Ilja Boor, et Raúl Estévez. 2012. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts: Chronic White Matter Oedema Due to a Defect in Brain Ion and Water Homeostasis ». *The Lancet. Neurology* 11 (11): 973-85.
[https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70192-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70192-8).
- Knaap, Marjo S. van der, et Marianna Bugiani. 2017. « Leukodystrophies: a proposed classification system based on pathological changes and pathogenetic mechanisms ». *Acta Neuropathologica* 134 (3): 351-82. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1739-1>.
- Knaap, Marjo S. van der, Jan C. Pronk, et Gert C. Scheper. 2006. « Vanishing White Matter Disease ». *The Lancet. Neurology* 5 (5): 413-23. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70440-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70440-9).
- Kniesel, U., et H. Wolburg. 2000. « Tight Junctions of the Blood-Brain Barrier ». *Cellular and Molecular Neurobiology* 20 (1): 57-76. <https://doi.org/10.1023/a:1006995910836>.
- Kollenburg, Barbara van, Adri A. M. Thomas, Gerre Vermeulen, Gesina A. M. Bertrand, Carola G. M. van Berkel, Jan C. Pronk, Christopher G. Proud, Marjo S. van der Knaap, et Gert C. Scheper. 2006. « Regulation of Protein Synthesis in Lymphoblasts from Vanishing White Matter Patients ». *Neurobiology of Disease* 21 (3): 496-504. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.08.009>.
- Krum, Janette M., Newton S. More, et Jeffrey M. Rosenstein. 1991. « Brain Angiogenesis: Variations in Vascular Basement Membrane Glycoprotein Immunoreactivity ». *Experimental Neurology* 111 (2): 152-65. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(91\)90002-T](https://doi.org/10.1016/0014-4886(91)90002-T).

Kubotera, Hideaki, Hiroko Ikeshima-Kataoka, Yoshiki Hatashita, Anna Letizia Allegra Mascaro, Francesco Saverio Pavone, et Takafumi Inoue. 2019. « Astrocytic Endfeet Re-Cover Blood Vessels after Removal by Laser Ablation ». *Scientific Reports* 9 (1): 1263. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37419-4>.

Kumaria, Ashwin, Anna M. Gruener, Graham R. Dow, Stuart J. Smith, Donald C. Macarthur, et Harshal A. Ingale. 2021. « An Explanation for Terson Syndrome at Last: The Glymphatic Reflux Theory ». *Journal of Neurology*, juin. <https://doi.org/10.1007/s00415-021-10686-4>.

Kurth-Nelson, Zeb L., Anusha Mishra, et Eric A. Newman. 2009. « Spontaneous Glial Calcium Waves in the Retina Develop over Early Adulthood ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 29 (36): 11339-46. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2493-09.2009>.

Kutuzov, Nikolay, Henrik Flyvbjerg, et Martin Lauritzen. 2018. « Contributions of the Glycocalyx, Endothelium, and Extravascular Compartment to the Blood-Brain Barrier ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (40): E9429-38. <https://doi.org/10.1073/pnas.1802155115>.

Lanciotti, Angela, Maria S. Brignone, Paola Molinari, Sergio Visentin, Chiara De Nuccio, Gianfranco Macchia, Chiara Aiello, et al. 2012. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts Protein 1 Functionally Cooperates with the TRPV4 Cation Channel to Activate the Response of Astrocytes to Osmotic Stress: Dysregulation by Pathological Mutations ». *Human Molecular Genetics* 21 (10): 2166-80. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds032>.

Lanciotti, Angela, Maria Stefania Brignone, Marcello Belfiore, Sandra Columba-Cabezas, Cinzia Mallozzi, Olimpia Vincentini, Paola Molinari, Tamara Corinna Petrucci, Sergio Visentin, et Elena Ambrosini. 2020. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts Disease-Linked MLC1 Protein Favors Gap-Junction Intercellular Communication by Regulating Connexin 43 Trafficking in Astrocytes ». *Cells* 9 (6): 1425. <https://doi.org/10.3390/cells9061425>.

Lanciotti, Angela, Maria Stefania Brignone, Sergio Visentin, Chiara De Nuccio, Luigi Catacuzzeno, Cinzia Mallozzi, Stefania Petrini, et al. 2016. « Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts protein-1 regulates epidermal growth factor receptor signaling in astrocytes ». *Human Molecular Genetics* 25 (8): 1543-58. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddw032>.

Langlet, Fanny, Amandine Mullier, Sebastien G. Bouret, Vincent Prevot, et Benedicte Dehouck. 2013. « Tanycyte-Like Cells Form a Blood–Cerebrospinal Fluid Barrier in the Circumventricular Organs of the Mouse Brain ». *The Journal of comparative neurology* 521 (15): 3389-3405. <https://doi.org/10.1002/cne.23355>.

Lanjakornsiripan, Darin, Baek-Jun Pior, Daichi Kawaguchi, Shohei Furutachi, Tomoaki Tahara, Yu Katsuyama, Yutaka Suzuki, Yugo Fukazawa, et Yukiko Gotoh. 2018. « Layer-Specific Morphological and Molecular Differences in Neocortical Astrocytes and Their Dependence on Neuronal Layers ». *Nature Communications* 9 (1): 1623. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03940-3>.

- Lapenna, Antonio, Michele De Palma, et Claire E. Lewis. 2018. « Perivascular Macrophages in Health and Disease ». *Nature Reviews. Immunology* 18 (11): 689-702. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0056-9>.
- Larrieu-Lahargue, Frederic, Kirk R. Thomas, et Dean Y. Li. 2012. « Netrin Ligands and Receptors: Lessons from neurons to the endothelium ». *Trends in cardiovascular medicine* 22 (2): 44-47. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2012.06.010>.
- Lawson, N. D., N. Scheer, V. N. Pham, C. H. Kim, A. B. Chitnis, J. A. Campos-Ortega, et B. M. Weinstein. 2001. « Notch Signaling Is Required for Arterial-Venous Differentiation during Embryonic Vascular Development ». *Development (Cambridge, England)* 128 (19): 3675-83.
- Lee, Joon-Hyuk, Ji-young Kim, Seulgi Noh, Hyoeun Lee, Se Young Lee, Ji Young Mun, Hyungju Park, et Won-Suk Chung. 2021. « Astrocytes Phagocytose Adult Hippocampal Synapses for Circuit Homeostasis ». *Nature* 590 (7847): 612-17. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03060-3>.
- Lee, Youngjin, Albee Messing, Mu Su, et Michael Brenner. 2008. « GFAP Promoter Elements Required for Region-Specific and Astrocyte-Specific Expression ». *Glia* 56 (5): 481-93. <https://doi.org/10.1002/glia.20622>.
- Leegwater, P. A., B. Q. Yuan, J. van der Steen, J. Mulders, A. A. Könst, P. K. Boor, V. Mejaski-Bosnjak, et al. 2001. « Mutations of MLC1 (KIAA0027), Encoding a Putative Membrane Protein, Cause Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts ». *American Journal of Human Genetics* 68 (4): 831-38. <https://doi.org/10.1086/319519>.
- Lehre, Knut Petter, et Dmitri A. Rusakov. 2002. « Asymmetry of Glia near Central Synapses Favors Presynaptically Directed Glutamate Escape ». *Biophysical Journal* 83 (1): 125-34. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(02\)75154-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(02)75154-0).
- Leslie, Jonathan D., Linda Ariza-McNaughton, Adam L. Bermange, Ryan McAdow, Stephen L. Johnson, et Julian Lewis. 2007. « Endothelial Signalling by the Notch Ligand Delta-like 4 Restricts Angiogenesis ». *Development (Cambridge, England)* 134 (5): 839-44. <https://doi.org/10.1242/dev.003244>.
- Levéen, P., M. Pekny, S. Gebre-Medhin, B. Swolin, E. Larsson, et C. Betsholtz. 1994. « Mice Deficient for PDGF B Show Renal, Cardiovascular, and Hematological Abnormalities ». *Genes & Development* 8 (16): 1875-87. <https://doi.org/10.1101/gad.8.16.1875>.
- Lhomme, Tori, Jerome Clasadonte, Monica Imbernon, Daniela Fernandois, Florent Sauve, Emilie Caron, Natalia da Silva Lima, Violeta Heras, Ines Martinez-Corral, et Helge Mueller-Fielitz. 2021. « Tanycytic networks mediate energy balance by feeding lactate to glucose-insensitive POMC neurons ». *The Journal of Clinical Investigation* 131 (18).
- Li, Dongmei, Cuili Zhang, F. Song, I. Lubenec, Ye Tian, et Q. H. Song. 2009. « VEGF Regulates FGF-2 and TGF-Beta1 Expression in Injury Endothelial Cells and Mediates Smooth Muscle Cells Proliferation and Migration ». *Microvascular Research* 77 (2): 134-42. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2008.09.007>.

- Liao, Xing Hua, Yuan Xiang, Hui Li, De Liang Zheng, Yao Xu, Cheng Xi Yu, Jia Peng Li, et al. 2017. « VEGF-A Stimulates STAT3 Activity via Nitrosylation of Myocardin to Regulate the Expression of Vascular Smooth Muscle Cell Differentiation Markers ». *Scientific Reports* 7 (1): 2660. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02907-6>.
- Liebner, Stefan, Monica Corada, Thorsten Bangsow, Jane Babbage, Andrea Taddei, Cathrin J. Czupalla, Marco Reis, et al. 2008. « Wnt/ β -catenin signaling controls development of the blood–brain barrier ». *Journal of Cell Biology* 183 (3): 409-17. <https://doi.org/10.1083/jcb.200806024>.
- Lindblom, Per, Holger Gerhardt, Stefan Liebner, Alexandra Abramsson, Maria Enge, Mats Hellstrom, Gudrun Backstrom, et al. 2003. « Endothelial PDGF-B Retention Is Required for Proper Investment of Pericytes in the Microvessel Wall ». *Genes & Development* 17 (15): 1835-40. <https://doi.org/10.1101/gad.266803>.
- Loaiza, Anitsi, Omar H. Porras, et Luis Felipe Barros. 2003. « Glutamate Triggers Rapid Glucose Transport Stimulation in Astrocytes as Evidenced by Real-Time Confocal Microscopy ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 23 (19): 7337-42.
- Loddenkemper, Tobias, Kerstin Grote, Stefan Evers, Michael Oelerich, et Florian Stögbauer. 2002. « Neurological Manifestations of the Oculodentodigital Dysplasia Syndrome ». *Journal of Neurology* 249 (5): 584-95. <https://doi.org/10.1007/s004150200068>.
- López-Hernández, Tania, Margreet C. Ridder, Marisol Montolio, Xavier Capdevila-Nortes, Emiel Polder, Sònia Sirisi, Anna Duarri, et al. 2011. « Mutant GlialCAM Causes Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts, Benign Familial Macrocephaly, and Macrocephaly with Retardation and Autism ». *American Journal of Human Genetics* 88 (4): 422-32. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.02.009>.
- López-Hernández, Tania, Sònia Sirisi, Xavier Capdevila-Nortes, Marisol Montolio, Victor Fernández-Dueñas, Gert C. Scheper, Marjo S. van der Knaap, et al. 2011. « Molecular Mechanisms of MLC1 and GLIALCAM Mutations in Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts ». *Human Molecular Genetics* 20 (16): 3266-77. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr238>.
- Louveau, Antoine, Benjamin A. Plog, Salli Antila, Kari Alitalo, Maiken Nedergaard, et Jonathan Kipnis. 2017. « Understanding the Functions and Relationships of the Glymphatic System and Meningeal Lymphatics ». *The Journal of Clinical Investigation* 127 (9): 3210-19. <https://doi.org/10.1172/JCI90603>.
- Louveau, Antoine, Igor Smirnov, Timothy J. Keyes, Jacob D. Eccles, Sherin J. Rouhani, J. David Peske, Noel C. Derecki, et al. 2015. « Structural and functional features of central nervous system lymphatics ». *Nature* 523 (7560): 337-41. <https://doi.org/10.1038/nature14432>.
- Lunde, Lisa K., Laura M. A. Camassa, Eystein H. Hoddevik, Faraz H. Khan, Ole Petter Ottersen, Henning B. Boldt, et Mahmood Amiry-Moghaddam. 2015. « Postnatal Development of the Molecular Complex Underlying Astrocyte Polarization ». *Brain Structure and Function* 220 (4): 2087-2101. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0775-z>.

- Lundgaard, Iben, Minh Lon Lu, Ezra Yang, Weiguo Peng, Humberto Mestre, Emi Hitomi, Rashid Deane, et Maiken Nedergaard. 2017. « Glymphatic Clearance Controls State-Dependent Changes in Brain Lactate Concentration ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 37 (6): 2112-24. <https://doi.org/10.1177/0271678X16661202>.
- Lundgaard, Iben, Maria Joana Osório, Benjamin Kress, Simon Sanggaard, et Maiken Nedergaard. 2014. « White matter astrocytes in health and disease ». *Neuroscience* 0 (septembre): 161-73. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.10.050>.
- Ma, Qingyi, Zhen Zhao, Abhay P. Sagare, Yingxi Wu, Min Wang, Nelly Chuqui Owens, Philip B. Verghese, Joachim Herz, David M. Holtzman, et Berislav V. Zlokovic. 2018. « Blood-Brain Barrier-Associated Pericytes Internalize and Clear Aggregated Amyloid-B42 by LRP1-Dependent Apolipoprotein E Isoform-Specific Mechanism ». *Molecular Neurodegeneration* 13 (1): 57. <https://doi.org/10.1186/s13024-018-0286-0>.
- Ma, Shang, Hyo Jun Kwon, et Zhen Huang. 2012. « A Functional Requirement for Astroglia in Promoting Blood Vessel Development in the Early Postnatal Brain ». *PLOS ONE* 7 (10): e48001. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048001>.
- Maeda, Susumu, Hiroshi Nakayama, Kenichi Isaka, Yoshiaki Aihara, et Seiji Nemoto. 1976. « Familial unusual encephalopathy of Binswanger's type without hypertension ». *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 30 (2): 165-77.
- Magistretti, Pierre J., et Igor Allaman. 2015. « A Cellular Perspective on Brain Energy Metabolism and Functional Imaging ». *Neuron* 86 (4): 883-901. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.03.035>.
- Mahringer, Anne, Melanie Ott, Isolde Reimold, Valeska Reichel, et Gert Fricker. 2011. « The ABC of the Blood-Brain Barrier - Regulation of Drug Efflux Pumps ». *Current Pharmaceutical Design* 17 (26): 2762-70. <https://doi.org/10.2174/138161211797440221>.
- Månberg, Anna, Nathan Skene, Folkert Sanders, Marta Trusohamn, Julia Remnestål, Anna Szczepińska, Inci Sevval Aksoylu, et al. 2021. « Altered Perivascular Fibroblast Activity Precedes ALS Disease Onset ». *Nature Medicine* 27 (4): 640-46. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01295-9>.
- Martin, Sophie G., et Fred Chang. 2003. « Cell Polarity: A New Mod(e) of Anchoring ». *Current Biology* 13 (18): R711-13. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.08.046>.
- Martowicz, Agnieszka, Marta Trusohamn, Nina Jensen, Joanna Wisniewska-Kruk, Monica Corada, Frank Chenfei Ning, Julianna Kele, Elisabetta Dejana, et Daniel Nyqvist. 2019. « Endothelial β -Catenin Signaling Supports Postnatal Brain and Retinal Angiogenesis by Promoting Sprouting, Tip Cell Formation, and VEGFR (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor) 2 Expression ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 39 (11): 2273-88. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.119.312749>.
- Mathiisen, Thomas Misje, Knut Petter Lehre, Niels Christian Danbolt, et Ole Petter Ottersen. 2010. « The Perivascular Astroglial Sheath Provides a Complete Covering of the Brain

- Microvessels: An Electron Microscopic 3D Reconstruction ». *Glia* 58 (9): 1094-1103.
<https://doi.org/10.1002/glia.20990>.
- Mazaré, Noémie, Alice Gilbert, Anne-Cécile Boulay, Nathalie Rouach, et Martine Cohen-Salmon. 2018. « Connexin 30 Is Expressed in a Subtype of Mouse Brain Pericytes ». *Brain Structure & Function* 223 (2): 1017-24. <https://doi.org/10.1007/s00429-017-1562-4>.
- Mazaré, Noémie, Marc Oudart, et Martine Cohen-Salmon. 2021. « Local translation in perisynaptic and perivascular astrocytic processes – a means to ensure astrocyte molecular and functional polarity? » *Journal of Cell Science* 134 (2). <https://doi.org/10.1242/jcs.251629>.
- Mazaré, Noémie, Marc Oudart, Julien Moulard, Giselle Cheung, Romain Tortuyaux, Philippe Mailly, David Mazaud, et al. 2020. « Local Translation in Perisynaptic Astrocytic Processes Is Specific and Changes after Fear Conditioning ». *Cell Reports* 32 (8): 108076.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108076>.
- Mazzoni-Putman, Serina M., et Anna N. Stepanova. 2018. « A Plant Biologist's Toolbox to Study Translation ». *Frontiers in Plant Science* 9: 873. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00873>.
- McCaslin, Addason F. H., Brenda R. Chen, Andrew J. Radosevich, Bruno Cauli, et Elizabeth M. C. Hillman. 2011. « In Vivo 3D Morphology of Astrocyte-Vasculature Interactions in the Somatosensory Cortex: Implications for Neurovascular Coupling ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 31 (3): 795-806. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2010.204>.
- Mejaski-Bosnjak, V., N. Besenski, K. Brockmann, P. J. Pouwels, J. Frahm, et F. A. Hanefeld. 1997. « Cystic Leukoencephalopathy in a Megalencephalic Child: Clinical and Magnetic Resonance Imaging/Magnetic Resonance Spectroscopy Findings ». *Pediatric Neurology* 16 (4): 347-50. [https://doi.org/10.1016/s0887-8994\(97\)00044-1](https://doi.org/10.1016/s0887-8994(97)00044-1).
- Menet, Romain, Sarah Lecordier, et Ayman ElAli. 2020. « Wnt Pathway: An Emerging Player in Vascular and Traumatic Mediated Brain Injuries ». *Frontiers in Physiology* 11: 1149.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.565667>.
- Mestre, Humberto, Lauren M. Hablitz, Anna LR Xavier, Weixi Feng, Wenyan Zou, Tinglin Pu, Hiromu Monai, Giridhar Murlidharan, Ruth M. Castellanos Rivera, et Matthew J. Simon. 2018. « Aquaporin-4-dependent glymphatic solute transport in the rodent brain ». *Elife* 7: e40070.
- Meyer, J., A. Huberth, G. Ortega, Y. V. Syagailo, S. Jatzke, R. Mössner, T. M. Strom, et al. 2001. « A Missense Mutation in a Novel Gene Encoding a Putative Cation Channel Is Associated with Catatonic Schizophrenia in a Large Pedigree ». *Molecular Psychiatry* 6 (3): 302-6.
<https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000869>.
- Mignot, C., O. Boespflug-Tanguy, A. Gelot, A. Dautigny, D. Pham-Dinh, et D. Rodriguez. 2004. « Alexander Disease: Putative Mechanisms of an Astrocytic Encephalopathy ». *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 61 (3): 369-85. <https://doi.org/10.1007/s00018-003-3143-3>.

Min, Rogier, Christel Depienne, Frederic Sedel, Truus EM Abbink, et Marjo S. van der Knaap. 1993. « CLCN2-Related Leukoencephalopathy ». In *GeneReviews®*, édité par Margaret P. Adam, Holly H. Ardinger, Roberta A. Pagon, Stephanie E. Wallace, Lora JH Bean, Ghayda Mirzaa, et Anne Amemiya. Seattle (WA): University of Washington, Seattle.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326661/>.

Mizee, Mark R., Desiree Wooldrik, Kim A. M. Lakeman, Bert van het Hof, Joost A. R. Drexhage, Dirk Geerts, Marianna Bugiani, et al. 2013. « Retinoic Acid Induces Blood–Brain Barrier Development ». *The Journal of Neuroscience* 33 (4): 1660-71.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1338-12.2013>.

Moh, Mei Chung, Ting Zhang, Lay Hoon Lee, et Shali Shen. 2008. « Expression of hepaCAM is downregulated in cancers and induces senescence-like growth arrest via a p53/p21-dependent pathway in human breast cancer cells ». *Carcinogenesis* 29 (12): 2298-2305.
<https://doi.org/10.1093/carcin/bgn226>.

Monet, Marie, Valerie Domenga, Barbara Lemaire, Celine Souilhol, Francina Langa, Charles Babinet, Thomas Gridley, Elisabeth Tournier-Lasserre, Michel Cohen-Tannoudji, et Anne Joutel. 2007. « The archetypal R90C CADASIL–NOTCH3 mutation retains NOTCH3 function in vivo ». *Human molecular genetics* 16 (8): 982-92.

Monet-Leprêtre, Marie, Iman Haddad, Céline Baron-Menguy, Maï Fouillot-Panchal, Meriem Riani, Valérie Domenga-Denier, Claire Dussaule, Emmanuel Cognat, Joelle Vinh, et Anne Joutel. 2013. « Abnormal Recruitment of Extracellular Matrix Proteins by Excess Notch3 ECD: A New Pathomechanism in CADASIL ». *Brain: A Journal of Neurology* 136 (Pt 6): 1830-45.
<https://doi.org/10.1093/brain/awt092>.

Moore, Chris J, et Steve J Winder. 2010. « Dystroglycan versatility in cell adhesion: a tale of multiple motifs ». *Cell Communication and Signaling : CCS* 8 (février): 3.
<https://doi.org/10.1186/1478-811X-8-3>.

Moreton, F. C., S. S. M. Razvi, R. Davidson, et K. W. Muir. 2014. « Changing Clinical Patterns and Increasing Prevalence in CADASIL ». *Acta Neurologica Scandinavica* 130 (3): 197-203.
<https://doi.org/10.1111/ane.12266>.

Mulligan, Sean J., et Brian A. MacVicar. 2004. « Calcium Transients in Astrocyte Endfeet Cause Cerebrovascular Constrictions ». *Nature* 431 (7005): 195-99.
<https://doi.org/10.1038/nature02827>.

Murshed, M., N. Smyth, N. Miosge, J. Karolat, T. Krieg, M. Paulsson, et R. Nischt. 2000. « The Absence of Nidogen 1 Does Not Affect Murine Basement Membrane Formation ». *Molecular and Cellular Biology* 20 (18): 7007-12. <https://doi.org/10.1128/MCB.20.18.7007-7012.2000>.

Nagao, Motoshi, Toru Ogata, Yasuhiro Sawada, et Yukiko Gotoh. 2016. « Zbtb20 Promotes Astrocytogenesis during Neocortical Development ». *Nature Communications* 7 (mars): 11102.
<https://doi.org/10.1038/ncomms11102>.

- Nagelhus, E. A., T. M. Mathiisen, et O. P. Ottersen. 2004. « Aquaporin-4 in the Central Nervous System: Cellular and Subcellular Distribution and Coexpression with KIR4.1 ». *Neuroscience* 129 (4): 905-13. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.08.053>.
- Nagelhus, E. A., M. L. Veruki, R. Torp, F. M. Haug, J. H. Laake, S. Nielsen, P. Agre, et O. P. Ottersen. 1998. « Aquaporin-4 Water Channel Protein in the Rat Retina and Optic Nerve: Polarized Expression in Müller Cells and Fibrous Astrocytes ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 18 (7): 2506-19.
- Nagy, J.I., B. D. Lynn, O. Tress, K. Willecke, et J.E. Rash. 2011. « Connexin26 expression in brain parenchymal cells demonstrated by targeted connexin ablation in transgenic mice ». *The European journal of neuroscience* 34 (2): 263-71. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07741.x>.
- Naidoo, Michael, et Karen Anthony. 2020. « Dystrophin Dp71 and the Neuropathophysiology of Duchenne Muscular Dystrophy ». *Molecular Neurobiology* 57 (3): 1748-67. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-01845-w>.
- Nakada, Mitsutoshi, Hisashi Miyamori, Junkoh Yamashita, et Hiroshi Sato. 2003. « Testican 2 Abrogates Inhibition of Membrane-Type Matrix Metalloproteinases by Other Testican Family Proteins ». *Cancer Research* 63 (12): 3364-69.
- Nakatsu, Martin N., Richard C. A. Sainson, Sofía Pérez-del-Pulgar, Jason N. Aoto, Mark Aitkenhead, Kevin L. Taylor, Philip M. Carpenter, et Christopher C. W. Hughes. 2003. « VEGF121 and VEGF165 Regulate Blood Vessel Diameter Through Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 in an in Vitro Angiogenesis Model ». *Laboratory Investigation* 83 (12): 1873-85. <https://doi.org/10.1097/01.LAB.0000107160.81875.33>.
- Nasevicius, A., J. Larson, et S. C. Ekker. 2000. « Distinct Requirements for Zebrafish Angiogenesis Revealed by a VEGF-A Morphant ». *Yeast (Chichester, England)* 17 (4): 294-301. [https://doi.org/10.1002/1097-0061\(200012\)17:4<294::AID-YEA54>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1097-0061(200012)17:4<294::AID-YEA54>3.0.CO;2-5).
- Neely, John D., Mahmood Amiry-Moghaddam, Ole Petter Ottersen, Stanley C. Froehner, Peter Agre, et Marvin E. Adams. 2001. « Syntrophin-Dependent Expression and Localization of Aquaporin-4 Water Channel Protein ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (24): 14108-13. <https://doi.org/10.1073/pnas.241508198>.
- Nielsen, S., E. A. Nagelhus, M. Amiry-Moghaddam, C. Bourque, P. Agre, et O. P. Ottersen. 1997. « Specialized Membrane Domains for Water Transport in Glial Cells: High-Resolution Immunogold Cytochemistry of Aquaporin-4 in Rat Brain ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 17 (1): 171-80.
- Nixdorf-Bergweiler, B. E., D. Albrecht, et U. Heinemann. 1994. « Developmental Changes in the Number, Size, and Orientation of GFAP-Positive Cells in the CA1 Region of Rat Hippocampus ». *Glia* 12 (3): 180-95. <https://doi.org/10.1002/glia.440120304>.
- Noden, D. M. 1991. « Cell Movements and Control of Patterned Tissue Assembly during Craniofacial Development ». *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 11 (4): 192-213.

- Noël, Geoffroy, Daniel Kai Long Tham, et Hakima Moukhles. 2009. « Interdependence of Laminin-Mediated Clustering of Lipid Rafts and the Dystrophin Complex in Astrocytes * ». *Journal of Biological Chemistry* 284 (29): 19694-704. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.010090>.
- Noelanders, Rivka, et Kris Vleminckx. 2017. « How Wnt Signaling Builds the Brain: Bridging Development and Disease ». *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry* 23 (3): 314-29. <https://doi.org/10.1177/1073858416667270>.
- Oberheim, Nancy Ann, Takahiro Takano, Xiaoning Han, Wei He, Jane H. C. Lin, Fushun Wang, Qiwu Xu, et al. 2009. « Uniquely Hominid Features of Adult Human Astrocytes ». *Journal of Neuroscience* 29 (10): 3276-87. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4707-08.2009>.
- Ogata, K., et T. Kosaka. 2002. « Structural and Quantitative Analysis of Astrocytes in the Mouse Hippocampus ». *Neuroscience* 113 (1): 221-33. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00041-6](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00041-6).
- Oh, S. P., T. Seki, K. A. Goss, T. Imamura, Y. Yi, P. K. Donahoe, L. Li, et al. 2000. « Activin Receptor-like Kinase 1 Modulates Transforming Growth Factor-Beta 1 Signaling in the Regulation of Angiogenesis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (6): 2626-31. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.6.2626>.
- Ohtsuki, Sumio, Masanori Tachikawa, Hitomi Takanaga, Hidemi Shimizu, Masahiko Watanabe, Ken-Ichi Hosoya, et Tetsuya Terasaki. 2002. « The Blood-Brain Barrier Creatine Transporter Is a Major Pathway for Supplying Creatine to the Brain ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 22 (11): 1327-35. <https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000033966.83623.7D>.
- Oldendorf, W. H., M. E. Cornford, et W. J. Brown. 1977. « The Large Apparent Work Capability of the Blood-Brain Barrier: A Study of the Mitochondrial Content of Capillary Endothelial Cells in Brain and Other Tissues of the Rat ». *Annals of Neurology* 1 (5): 409-17. <https://doi.org/10.1002/ana.410010502>.
- Ollion, Jean, Julien Cochenec, François Loll, Christophe Escudé, et Thomas Boudier. 2013. « TANGO: A Generic Tool for High-Throughput 3D Image Analysis for Studying Nuclear Organization ». *Bioinformatics (Oxford, England)* 29 (14): 1840-41. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt276>.
- Olson, Lorin E., et Philippe Soriano. 2011. « PDGFR β Signaling Regulates Mural Cell Plasticity and Inhibits Fat Development ». *Developmental Cell* 20 (6): 815-26. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.04.019>.
- Orthmann-Murphy, Jennifer L., Charles K. Abrams, et Steven S. Scherer. 2008. « Gap Junctions Couple Astrocytes and Oligodendrocytes ». *Journal of Molecular Neuroscience: MN* 35 (1): 101-16. <https://doi.org/10.1007/s12031-007-9027-5>.
- Orthmann-Murphy, Jennifer L., Mona Freidin, Esther Fischer, Steven S. Scherer, et Charles K. Abrams. 2007. « Two Distinct Heterotypic Channels Mediate Gap Junction Coupling between Astrocyte and Oligodendrocyte Connexins ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 27 (51): 13949-57. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3395-07.2007>.

Ota, Tatsuru, Makiko Fujii, Takashi Sugizaki, Masami Ishii, Keiji Miyazawa, Hiroyuki Aburatani, et Kohei Miyazono. 2002. « Targets of Transcriptional Regulation by Two Distinct Type I Receptors for Transforming Growth Factor-Beta in Human Umbilical Vein Endothelial Cells ». *Journal of Cellular Physiology* 193 (3): 299-318. <https://doi.org/10.1002/jcp.10170>.

Oudart, Marc, Romain Tortuyaux, Philippe Maily, Noémie Mazaré, Anne-Cécile Boulay, et Martine Cohen-Salmon. 2020. « AstroDot - a New Method for Studying the Spatial Distribution of mRNA in Astrocytes ». *Journal of Cell Science* 133 (7): jcs239756. <https://doi.org/10.1242/jcs.239756>.

Özen, Ilknur, Tomas Deierborg, Kenichi Miharada, Thomas Padel, Elisabet Englund, Guillem Genové, et Gesine Paul. 2014. « Brain Pericytes Acquire a Microglial Phenotype after Stroke ». *Acta Neuropathologica* 128 (3): 381-96. <https://doi.org/10.1007/s00401-014-1295-x>.

Pannasch, Ulrike, Dominik Freche, Glenn Dallérac, Grégory Ghézali, Carole Escartin, Pascal Ezan, Martine Cohen-Salmon, et al. 2014. « Connexin 30 Sets Synaptic Strength by Controlling Astroglial Synapse Invasion ». *Nature Neuroscience* 17 (4): 549-58. <https://doi.org/10.1038/nn.3662>.

Parpura, V., T. A. Basarsky, F. Liu, K. Jeffinija, S. Jeffinija, et P. G. Haydon. 1994. « Glutamate-Mediated Astrocyte-Neuron Signalling ». *Nature* 369 (6483): 744-47. <https://doi.org/10.1038/369744a0>.

Peng, Defeng, Lin Fu, et Guoping Sun. 2016. « Expression analysis of the TGF- β /SMAD target genes in adenocarcinoma of esophagogastric junction ». *Open Medicine* 11 (1): 83-86. <https://doi.org/10.1515/med-2016-0016>.

Peng, Xinqi, Juan R. Carhuapoma, Anish Bhardwaj, Nabil J. Alkayed, John R. Falck, David R. Harder, Richard J. Traystman, et Raymond C. Koehler. 2002. « Suppression of Cortical Functional Hyperemia to Vibrissal Stimulation in the Rat by Epoxygenase Inhibitors ». *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology* 283 (5): H2029-2037. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01130.2000>.

Peppiatt, Claire M., Clare Howarth, Peter Mobbs, et David Attwell. 2006. « Bidirectional Control of CNS Capillary Diameter by Pericytes ». *Nature* 443 (7112): 700-704. <https://doi.org/10.1038/nature05193>.

Pereira Jr, Alfredo, et Fabio Augusto Furlan. 2010. « Astrocytes and human cognition: modeling information integration and modulation of neuronal activity ». *Progress in neurobiology* 92 (3): 405-20.

Pereira Jr, Alfredo, Rafael Peres Santos, et Rafael Fernandes Barrros. 2013. « The calcium wave model of the perception-action cycle: evidence from semantic relevance in memory experiments ». *Frontiers in Psychology* 4: 252.

Pérez-Rius, Carla, Mónica Folgueira, Xabier Elorza-Vidal, A. Alia, Maja B. Hoegg-Beiler, Muhamed N. H. Eeza, María Luz Díaz, Virginia Nunes, Alejandro Barrallo-Gimeno, et Raúl Estévez. 2019. « Comparison of Zebrafish and Mice Knockouts for Megalencephalic

- Leukoencephalopathy Proteins Indicates That GlialCAM/MLC1 Forms a Functional Unit ». *Orphanet Journal of Rare Diseases* 14 (1): 268. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1248-5>.
- Pettersson, A., J. A. Nagy, L. F. Brown, C. Sundberg, E. Morgan, S. Jungles, R. Carter, et al. 2000. « Heterogeneity of the Angiogenic Response Induced in Different Normal Adult Tissues by Vascular Permeability Factor/Vascular Endothelial Growth Factor ». *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* 80 (1): 99-115. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3780013>.
- Pinzón-Daza, Martha L, Iris C Salaroglio, Joanna Kopecka, Ruth Garzón, Pierre-Olivier Couraud, Dario Ghigo, et Chiara Riganti. 2014. « The Cross-Talk between Canonical and Non-Canonical Wnt-Dependent Pathways Regulates P-Glycoprotein Expression in Human Blood–Brain Barrier Cells ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 34 (8): 1258-69. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.100>.
- Prat, A., K. Biernacki, K. Wosik, et J. P. Antel. 2001. « Glial Cell Influence on the Human Blood–Brain Barrier ». *Glia* 36 (2): 145-55. <https://doi.org/10.1002/glia.1104>.
- Prevot, Vincent, Bénédicte Dehouck, Ariane Sharif, Philippe Ciofi, Paolo Giacobini, et Jerome Clasadonte. 2018. « The Versatile Tanycyte: A Hypothalamic Integrator of Reproduction and Energy Metabolism ». *Endocrine Reviews* 39 (3): 333-68. <https://doi.org/10.1210/er.2017-00235>.
- Proweller, Aaron, Alex C. Wright, Debra Horng, Lan Cheng, Min Min Lu, John J. Lepore, Warren S. Pear, et Michael S. Parmacek. 2007. « Notch signaling in vascular smooth muscle cells is required to pattern the cerebral vasculature ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 (41): 16275-80.
- Qiu, Guo-Ping, Jin Xu, Fei Zhuo, Shan-Quan Sun, Hui Liu, Mei Yang, Juan Huang, Wei-Tian Lu, et Si-Qin Huang. 2015. « Loss of AQP4 Polarized Localization with Loss of β -Dystroglycan Immunoreactivity May Induce Brain Edema Following Intracerebral Hemorrhage ». *Neuroscience Letters* 588 (février): 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.12.053>.
- Raines, E. W., T. F. Lane, M. L. Iruela-Arispe, R. Ross, et E. H. Sage. 1992. « The Extracellular Glycoprotein SPARC Interacts with Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)-AB and -BB and Inhibits the Binding of PDGF to Its Receptors ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89 (4): 1281-85. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.4.1281>.
- Rajan, Arsheen M., Roger C. Ma, Katrinka M. Kocha, Dan J. Zhang, et Peng Huang. 2020. « Dual Function of Perivascular Fibroblasts in Vascular Stabilization in Zebrafish ». *PLoS Genetics* 16 (10): e1008800. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008800>.
- Ramon y Cajal, S. 1895. « Algunas conjeturas sobre el mecanismo anatomico de la ideacion ». *Revista Medica y Cirugia Practicas* 36: 479-508.
- Rash, J. E., T. Yasumura, K. G. Davidson, C. S. Furman, F. E. Dudek, et J. I. Nagy. 2001. « Identification of Cells Expressing Cx43, Cx30, Cx26, Cx32 and Cx36 in Gap Junctions of Rat Brain and Spinal Cord ». *Cell Communication & Adhesion* 8 (4-6): 315-20. <https://doi.org/10.3109/15419060109080745>.

Ratelade, Julien, Nicholas R. Klug, Damiano Lombardi, Monara Kaelle Servulo Cruz Angelim, Fabrice Dabertrand, Valérie Domenga-Denier, Rustam Al-Shahi Salman, et al. 2020. « Reducing Hypermuscularization of the Transitional Segment Between Arterioles and Capillaries Protects Against Spontaneous Intracerebral Hemorrhage ». *Circulation* 141 (25): 2078-94. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.040963>.

Red-Horse, Kristy, et Arndt F. Siekmann. 2019. « Veins and Arteries Build Hierarchical Branching Patterns Differently: Bottom-Up versus Top-Down ». *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* 41 (3): e1800198. <https://doi.org/10.1002/bies.201800198>.

Reese, T. S., et M. J. Karnovsky. 1967. « Fine Structural Localization of a Blood-Brain Barrier to Exogenous Peroxidase ». *The Journal of Cell Biology* 34 (1): 207-17. <https://doi.org/10.1083/jcb.34.1.207>.

Reichenbach, Andreas, Amin Derouiche, et Frank Kirchhoff. 2010. « Morphology and Dynamics of Perisynaptic Glia ». *Brain Research Reviews* 63 (1-2): 11-25. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2010.02.003>.

Ren, Huixia, Chuanming Luo, Yanqing Feng, Xiaoli Yao, Zhe Shi, Fengyin Liang, Jing X. Kang, Jian-Bo Wan, Zhong Pei, et Huanxing Su. 2017. « Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Promote Amyloid- β Clearance from the Brain through Mediating the Function of the Glymphatic System ». *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 31 (1): 282-93. <https://doi.org/10.1096/fj.201600896>.

Rennels, Marshall L., Thomas F. Gregory, Otis R. Blaumanis, Katsukuni Fujimoto, et Patricia A. Grady. 1985. « Evidence for a 'Paravascular' Fluid Circulation in the Mammalian Central Nervous System, Provided by the Rapid Distribution of Tracer Protein throughout the Brain from the Subarachnoid Space ». *Brain Research* 326 (1): 47-63. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91383-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91383-6).

Rensen, S.S.M., P.A.F.M. Doevendans, et G.J.J.M. van Eys. 2007. « Regulation and characteristics of vascular smooth muscle cell phenotypic diversity ». *Netherlands Heart Journal* 15 (3): 100-108.

Ribot, Jérôme, Rachel Breton, Charles-Félix Calvo, Julien Moulard, Pascal Ezan, Jonathan Zapata, Kevin Samama, et al. 2020. « Astrocytes Close the Critical Period for Visual Plasticity ». <https://doi.org/10.1101/2020.09.30.321497>.

———. 2021. « Astrocytes Close the Mouse Critical Period for Visual Plasticity ». *Science (New York, N.Y.)* 373 (6550): 77-81. <https://doi.org/10.1126/science.abf5273>.

Riel-Romero, Rosario Maria S., Charles D. Smith, et Anjana L. Pettigrew. 2005. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts in Two Siblings Owing to Two Novel Mutations: Case Reports and Review of the Literature ». *Journal of Child Neurology* 20 (3): 230-34. <https://doi.org/10.1177/088307380502000301>.

Risau, W., et H. Wolburg. 1990. « Development of the Blood-Brain Barrier ». *Trends in Neurosciences* 13 (5): 174-78. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(90\)90043-a](https://doi.org/10.1016/0166-2236(90)90043-a).

- Rivera, Lee B., Amy D. Bradshaw, et Rolf A. Brekken. 2011. « The regulatory function of SPARC in vascular biology ». *Cellular and molecular life sciences : CMLS* 68 (19): 3165-73. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0781-8>.
- Rivera, Lee B., et Rolf A. Brekken. 2011. « SPARC Promotes Pericyte Recruitment via Inhibition of Endoglin-Dependent TGF-B1 Activity ». *The Journal of Cell Biology* 193 (7): 1305-19. <https://doi.org/10.1083/jcb.201011143>.
- Robertson, Ian B., Masahito Horiguchi, Lior Zilberberg, Branka Dabovic, Krassimira Hadjiolova, et Daniel B. Rifkin. 2015. « Latent TGF- β -Binding Proteins ». *Matrix Biology* 47 (septembre): 44-53. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.05.005>.
- Robertson, James M. 2013. « Astrocyte Domains and the Three-Dimensional and Seamless Expression of Consciousness and Explicit Memories ». *Medical Hypotheses* 81 (6): 1017-24. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.09.021>.
- Rodríguez, Esteban M., Juan L. Blázquez, Francisco E. Pastor, Belén Peláez, Patricio Peña, Bruno Peruzzo, et Pedro Amat. 2005. « Hypothalamic Tanycytes: A Key Component of Brain–Endocrine Interaction ». In *International Review of Cytology*, 247:89-164. A Survey of Cell Biology. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(05\)47003-5](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(05)47003-5).
- Ronaldson, Patrick T, Kristin M DeMarco, Lucy Sanchez-Covarrubias, Christine M Solinsky, et Thomas P Davis. 2009. « Transforming growth factor- β signaling alters substrate permeability and tight junction protein expression at the blood–brain barrier during inflammatory pain ». *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 29 (6): 1084-98. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2009.32>.
- Rong, James X., Joan W. Berman, Mark B. Taubman, et Edward A. Fisher. 2002. « Lysophosphatidylcholine Stimulates Monocyte Chemoattractant Protein-1 Gene Expression in Rat Aortic Smooth Muscle Cells ». *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 22 (10): 1617-23. <https://doi.org/10.1161/01.atv.0000035408.93749.71>.
- Rosic, Brana, Didrik B. Dukefoss, Knut Sindre Åbjørsbråten, Wannan Tang, Vidar Jensen, Ole Petter Ottersen, Rune Enger, et Erlend A. Nagelhus. 2019. « Aquaporin-4-independent volume dynamics of astroglial endfeet during cortical spreading depression ». *Glia* 67 (6): 1113-21. <https://doi.org/10.1002/glia.23604>.
- Rosko, Lauren, Victoria N. Smith, Reiji Yamazaki, et Jeffrey K. Huang. 2019. « Oligodendrocyte Bioenergetics in Health and Disease ». *The Neuroscientist* 25 (4): 334-43. <https://doi.org/10.1177/1073858418793077>.
- Ross, Jayden M., Chang Kim, Denise Allen, Elizabeth E. Crouch, Kazim Narsinh, Daniel L. Cooke, Adib A. Abla, Tomasz J. Nowakowski, et Ethan A. Winkler. 2020. « The Expanding Cell Diversity of the Brain Vasculature ». *Frontiers in Physiology* 11: 1574. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.600767>.

- Rouach, Nathalie, Annette Koulakoff, Veronica Abudara, Klaus Willecke, et Christian Giaume. 2008. « Astroglial Metabolic Networks Sustain Hippocampal Synaptic Transmission ». *Science (New York, N.Y.)* 322 (5907): 1551-55. <https://doi.org/10.1126/science.1164022>.
- Sakers, Kristina, Allison M. Lake, Rohan Khazanchi, Rebecca Ouwenga, Michael J. Vasek, Adish Dani, et Joseph D. Dougherty. 2017. « Astrocytes Locally Translate Transcripts in Their Peripheral Processes ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 114 (19): E3830-38. <https://doi.org/10.1073/pnas.1617782114>.
- Sakuma, Rika, Maiko Kawahara, Akiko Nakano-Doi, Ai Takahashi, Yasue Tanaka, Aya Narita, Sachi Kuwahara-Otani, et al. 2016. « Brain pericytes serve as microglia-generating multipotent vascular stem cells following ischemic stroke ». *Journal of Neuroinflammation* 13 (mars): 57. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0523-9>.
- Sánchez, Angela, Belén García-Lareu, Meritxell Puig, Esther Prat, Jesús Ruberte, Miguel Chillón, Virginia Nunes, Raul Estévez, et Assumpció Bosch. 2020. « Cerebellar Astrocyte Transduction as Gene Therapy for Megalencephalic Leukoencephalopathy ». *Neurotherapeutics* 17 (4): 2041-53. <https://doi.org/10.1007/s13311-020-00865-y>.
- Saunders, Arpiar, Evan Z. Macosko, Alec Wysoker, Melissa Goldman, Fenna M. Krienen, Heather de Rivera, Elizabeth Bien, et al. 2018. « Molecular Diversity and Specializations among the Cells of the Adult Mouse Brain ». *Cell* 174 (4): 1015-1030.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.028>.
- Schindelin, Johannes, Ignacio Arganda-Carreras, Erwin Frise, Verena Kaynig, Mark Longair, Tobias Pietzsch, Stephan Preibisch, et al. 2012. « Fiji: An Open-Source Platform for Biological-Image Analysis ». *Nature Methods* 9 (7): 676-82. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>.
- Schley, D., R. Carare-Nnadi, C. P. Please, V. H. Perry, et R. O. Weller. 2006. « Mechanisms to Explain the Reverse Perivascular Transport of Solutes out of the Brain ». *Journal of Theoretical Biology* 238 (4): 962-74. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2005.07.005>.
- Schummers, James, Hongbo Yu, et Mriganka Sur. 2008. « Tuned Responses of Astrocytes and Their Influence on Hemodynamic Signals in the Visual Cortex ». *Science (New York, N.Y.)* 320 (5883): 1638-43. <https://doi.org/10.1126/science.1156120>.
- Schymeinsky, Jürgen, Sabine Nedbal, Nicolai Miosge, Ernst Pöschl, Cherie Rao, David R. Beier, William C. Skarnes, Rupert Timpl, et Bernhard L. Bader. 2002. « Gene Structure and Functional Analysis of the Mouse Nidogen-2 Gene: Nidogen-2 Is Not Essential for Basement Membrane Formation in Mice ». *Molecular and Cellular Biology* 22 (19): 6820-30. <https://doi.org/10.1128/MCB.22.19.6820-6830.2002>.
- Sedlakova, R., R. R. Shivers, et R. F. Del Maestro. 1999. « Ultrastructure of the Blood-Brain Barrier in the Rabbit ». *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology* 31 (1): 149-61.
- Selch, Sandra, Alexander Strobel, Julia Haderlein, Jobst Meyer, Christian P. Jacob, Angelika Schmitt, Klaus-Peter Lesch, et Andreas Reif. 2007. « MLC1 Polymorphisms Are Specifically

Associated with Periodic Catatonia, a Subgroup of Chronic Schizophrenia ». *Biological Psychiatry* 61 (10): 1211-14. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.08.030>.

Sener, R. N. 2003. « Proton MR Spectroscopy Demonstration of Taurine Peaks in Megalencephalic Leukoencephalopathy with Cysts ». *Computerized Medical Imaging and Graphics: The Official Journal of the Computerized Medical Imaging Society* 27 (1): 23-26. [https://doi.org/10.1016/s0895-6111\(02\)00053-8](https://doi.org/10.1016/s0895-6111(02)00053-8).

Serrats, Jordi, Jennifer C. Schiltz, Borja García-Bueno, Nico van Rooijen, Teresa M. Reyes, et Paul E. Sawchenko. 2010. « Dual Roles for Perivascular Macrophages in Immune-to-Brain Signaling ». *Neuron* 65 (1): 94-106. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.032>.

Shen, Fanxia, Espen J. Walker, Lidan Jiang, Vincent Degos, Jianping Li, Baoliang Sun, Fransisca Heriyanto, William L. Young, et Hua Su. 2011. « Coexpression of Angiopoietin-1 with VEGF Increases the Structural Integrity of the Blood-Brain Barrier and Reduces Atrophy Volume ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 31 (12): 2343-51. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2011.97>.

Shepro, David, et Nicole M. L. Morel. 1993. « Pericyte Physiology ». *The FASEB Journal* 7 (11): 1031-38. <https://doi.org/10.1096/fasebj.7.11.8370472>.

Shi, Minlong, Jianghai Zhu, Rui Wang, Xing Chen, Lizhi Mi, Thomas Walz, et Timothy A. Springer. 2011. « Latent TGF- β structure and activation ». *Nature* 474 (7351): 343-49. <https://doi.org/10.1038/nature10152>.

Shi, Zhen, Hui-Fang Yan, Bin-Bin Cao, Mang-Mang Guo, Han Xie, Kai Gao, Jiang-Xi Xiao, et al. 2019. « Identification in Chinese Patients with GLIALCAM Mutations of Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts and Brain Pathological Study on Glialcam Knock-in Mouse Models ». *World Journal of Pediatrics* 15 (5): 454-64. <https://doi.org/10.1007/s12519-019-00284-w>.

Shiraishi, T., S. Sakaki, et Y. Uehara. 1986. « Architecture of the Media of the Arterial Vessels in the Dog Brain: A Scanning Electron-Microscopic Study ». *Cell and Tissue Research* 243 (2): 329-35. <https://doi.org/10.1007/BF00251048>.

Shuja, Sania, Justin Lindquist, Kevin P. Lee, Scott Silliman, et Raafat Makary. 2009. « CADASIL Disease, an Inherited Slowly Progressive Vascular Dementia: Case Report with Radiologic and Electron Microscopic Findings ». *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 18 (6): 491-93. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2009.02.004>.

Shutter, John R., Sheila Scully, Wei Fan, William G. Richards, Jan Kitajewski, Gisele A. Deblandre, Chris R. Kintner, et Kevin L. Stark. 2000. « Dll4, a novel Notch ligand expressed in arterial endothelium ». *Genes & Development* 14 (11): 1313-18.

Siekman, Arndt F., et Nathan D. Lawson. 2007. « Notch Signalling Limits Angiogenic Cell Behaviour in Developing Zebrafish Arteries ». *Nature* 445 (7129): 781-84. <https://doi.org/10.1038/nature05577>.

Sirisi, Sònia, Xabier Elorza-Vidal, Tanit Arnedo, Mercedes Armand-Ugón, Gerard Callejo, Xavier Capdevila-Nortes, Tania López-Hernández, et al. 2017. « Depolarization Causes the Formation of a Ternary Complex between GlialCAM, MLC1 and CIC-2 in Astrocytes: Implications in Megalencephalic Leukoencephalopathy ». *Human Molecular Genetics* 26 (13): 2436-50. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddx134>.

Sirisi, Sònia, Mónica Folgueira, Tania López-Hernández, Laura Minieri, Carla Pérez-Rius, Héctor Gaitán-Peñas, Jingjing Zang, et al. 2014. « Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts Protein 1 Regulates Glial Surface Localization of GLIALCAM from Fish to Humans ». *Human Molecular Genetics* 23 (19): 5069-86. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu231>.

Soderblom, Cynthia, Xueting Luo, Ezra Blumenthal, Eric Bray, Kirill Lyapichev, Jose Ramos, Vidhya Krishnan, et al. 2013. « Perivascular Fibroblasts Form the Fibrotic Scar after Contusive Spinal Cord Injury ». *The Journal of Neuroscience* 33 (34): 13882-87. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2524-13.2013>.

Soriano, P. 1994. « Abnormal Kidney Development and Hematological Disorders in PDGF Beta-Receptor Mutant Mice ». *Genes & Development* 8 (16): 1888-96. <https://doi.org/10.1101/gad.8.16.1888>.

Stabile, Carmen, Ilaria Taglia, Carla Battisti, Silvia Bianchi, et Antonio Federico. 2016. « Hereditary Diffuse Leukoencephalopathy with Axonal Spheroids (HDLS): Update on Molecular Genetics ». *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology* 37 (9): 1565-69. <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2634-6>.

Stamenkovic, Ivan. 2003. « Extracellular Matrix Remodelling: The Role of Matrix Metalloproteinases ». *The Journal of Pathology* 200 (4): 448-64. <https://doi.org/10.1002/path.1400>.

Stewart, P. A., et M. J. Wiley. 1981. « Structural and Histochemical Features of the Avian Blood-Brain Barrier ». *The Journal of Comparative Neurology* 202 (2): 157-67. <https://doi.org/10.1002/cne.902020203>.

Stobart, Jillian L. LeMaistre, Lingling Lu, Hope D. I. Anderson, Hisashi Mori, et Christopher M. Anderson. 2013. « Astrocyte-Induced Cortical Vasodilation Is Mediated by D-Serine and Endothelial Nitric Oxide Synthase ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (8): 3149-54. <https://doi.org/10.1073/pnas.1215929110>.

Stratman, Amber N., Kristine M. Malotte, Rachel D. Mahan, Michael J. Davis, et George E. Davis. 2009. « Pericyte Recruitment during Vasculogenic Tube Assembly Stimulates Endothelial Basement Membrane Matrix Formation ». *Blood* 114 (24): 5091-5101. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-05-222364>.

Strauss, Bradley H., et Marlene Rabinovitch. 2000. « Adventitial Fibroblasts ». *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 22 (1): 1-3. <https://doi.org/10.1165/ajrcmb.22.1.f172>.

- Strong, Leon H. 1964. « The Early Embryonic Pattern of Internal Vascularization of the Mammalian Cerebral Cortex ». *Journal of Comparative Neurology* 123 (1): 121-38. <https://doi.org/10.1002/cne.901230111>.
- Sugio, Shouta, Koujiro Tohyama, Shinichiro Oku, Kanehiro Fujiyoshi, Takeshi Yoshimura, Keigo Hikishima, Ryutaro Yano, et al. 2017. « Astrocyte-Mediated Infantile-Onset Leukoencephalopathy Mouse Model ». *Glia* 65 (1): 150-68. <https://doi.org/10.1002/glia.23084>.
- Sundal, Christina, Lars Jönsson, Maria Ljungberg, Jianhui Zhong, Wei Tian, Tong Zhu, Thomas Linden, Anne Börjesson-Hanson, Oluf Andersen, et Sven Ekholm. 2014. « Different Stages of White Matter Changes in the Original HDLS Family Revealed by Advanced MRI Techniques ». *Journal of Neuroimaging: Official Journal of the American Society of Neuroimaging* 24 (5): 444-52. <https://doi.org/10.1111/jon.12037>.
- Syková, Eva, et Charles Nicholson. 2008. « Diffusion in Brain Extracellular Space ». *Physiological reviews* 88 (4): 1277-1340. <https://doi.org/10.1152/physrev.00027.2007>.
- Takahashi, Kazuya, Christian D.P. Rochford, et Harald Neumann. 2005. « Clearance of apoptotic neurons without inflammation by microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2 ». *Journal of Experimental Medicine* 201 (4): 647-57. <https://doi.org/10.1084/jem.20041611>.
- Teijido, Oscar, Ricardo Casaroli-Marano, Tatjana Kharkovets, Fernando Aguado, Antonio Zorzano, Manuel Palacín, Eduardo Soriano, Albert Martínez, et Raúl Estévez. 2007. « Expression Patterns of MLC1 Protein in the Central and Peripheral Nervous Systems ». *Neurobiology of Disease* 26 (3): 532-45. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2007.01.016>.
- Teijido, Oscar, Albert Martínez, Michael Pusch, Antonio Zorzano, Eduardo Soriano, Jose Antonio Del Río, Manuel Palacín, et Raúl Estévez. 2004. « Localization and Functional Analyses of the MLC1 Protein Involved in Megalencephalic Leukoencephalopathy with Subcortical Cysts ». *Human Molecular Genetics* 13 (21): 2581-94. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh291>.
- Teng, Yuan-chi, Alfredo Leonardo Porfirio-Sousa, Giulia Magri Ribeiro, Marcela Corso Arend, Lindolfo da Silva Meirelles, Elizabeth Suchi Chen, Daniela Santoro Rosa, et Sang Won Han. 2021. « Analyses of the pericyte transcriptome in ischemic skeletal muscles ». *Stem Cell Research & Therapy* 12 (1): 183. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02247-3>.
- Thal, Dietmar Rudolf. 2012. « The Role of Astrocytes in Amyloid β -Protein Toxicity and Clearance ». *Experimental Neurology* 236 (1): 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.04.021>.
- Tham, Daniel Kai Long, Bharat Joshi, et Hakima Moukhles. 2016. « Aquaporin-4 Cell-Surface Expression and Turnover Are Regulated by Dystroglycan, Dynamin, and the Extracellular Matrix in Astrocytes ». *PLOS ONE* 11 (10): e0165439. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165439>.
- Tham, Daniel Kai Long, et Hakima Moukhles. 2011. « Regulation of Kir4.1 and AQP4 expression and stability at the basolateral domain of epithelial MDCK cells by the extracellular matrix ». *American Journal of Physiology - Renal Physiology* 301 (2): F396-409. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00315.2010>.

- Tillo, Miguel, Christiana Ruhrberg, et Francesca Mackenzie. 2012. « Emerging roles for semaphorins and VEGFs in synaptogenesis and synaptic plasticity ». *Cell Adhesion & Migration* 6 (6): 541-46. <https://doi.org/10.4161/cam.22408>.
- TING, ZHANG. 2011. « INVESTIGATIONS OF THE NEW CELL ADHESION MOLECULE HEPACAM: ITS CONNECTION WITH THE INTEGRIN-DEPENDENT SIGNALING AND ITS PROTEOLYTIC CLEAVAGE ».
- Topcu, Meral, Isil Saatci, Mehmet Akif Topcuoglu, Gulsen Kose, et Benal Kunak. 1998. « Megalencephaly and Leukodystrophy with Mild Clinical Course: A Report on 12 New Cases ». *Brain and Development* 20 (3): 142-53. [https://doi.org/10.1016/S0387-7604\(98\)00002-3](https://doi.org/10.1016/S0387-7604(98)00002-3).
- Török, Orsolya, Bettina Schreiner, Johanna Schaffnerath, Hsing-Chuan Tsai, Upasana Maheshwari, Sebastian A. Stifter, Christina Welsh, et al. 2021. « Pericytes Regulate Vascular Immune Homeostasis in the CNS ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 118 (10). <https://doi.org/10.1073/pnas.2016587118>.
- Tournier-Lasserre, E., M. T. Iba-Zizen, N. Romero, et M. G. Bousser. 1991. « Autosomal Dominant Syndrome with Strokelike Episodes and Leukoencephalopathy ». *Stroke* 22 (10): 1297-1302. <https://doi.org/10.1161/01.str.22.10.1297>.
- Tykocki, Nathan R., Erika M. Boerman, et William F. Jackson. 2017. « Smooth Muscle Ion Channels and Regulation of Vascular Tone in Resistance Arteries and Arterioles ». *Comprehensive Physiology* 7 (2): 485-581. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160011>.
- Udan, Ryan S., Teggy J. Vadakkan, et Mary E. Dickinson. 2013. « Dynamic Responses of Endothelial Cells to Changes in Blood Flow during Vascular Remodeling of the Mouse Yolk Sac ». *Development (Cambridge, England)* 140 (19): 4041-50. <https://doi.org/10.1242/dev.096255>.
- Uemura, Masahiro, Hiroaki Nozaki, Taisuke Kato, Akihide Koyama, Naoko Sakai, Shoichiro Ando, Masato Kanazawa, et al. 2020. « HTRA1-Related Cerebral Small Vessel Disease: A Review of the Literature ». *Frontiers in Neurology* 11 (juillet): 545. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00545>.
- Ueno, M., T. Nakagawa, B. Wu, M. Onodera, C.-L. Huang, T. Kusaka, N. Araki, et H. Sakamoto. 2010. « Transporters in the Brain Endothelial Barrier ». *Current Medicinal Chemistry* 17 (12): 1125-38. <https://doi.org/10.2174/092986710790827816>.
- Ungvari, Zoltan, Stefano Tarantini, Angelia C. Kirkpatrick, Anna Csiszar, et Calin I. Prodan. 2017. « Cerebral microhemorrhages: mechanisms, consequences, and prevention ». *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 312 (6): H1128-43. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00780.2016>.
- Vanlandewijck, Michael, Liqun He, Maarja Andaloussi Mäe, Johanna Andrae, Koji Ando, Francesca Del Gaudio, Khayrun Nahar, et al. 2018. « A Molecular Atlas of Cell Types and Zonation in the Brain Vasculature ». *Nature* 554 (7693): 475-80. <https://doi.org/10.1038/nature25739>.

- Venkatesan, Charu, Derin Birch, Chian-Yu Peng, et John A. Kessler. 2015. « Astrocytic B1-Integrin Affects Cellular Composition of Murine Blood Brain Barrier in the Cerebral Cortex ». *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience* 44 (août): 48-54. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2015.05.005>.
- Verkhatsky, Alexei, Vladimir Parpura, Nina Vardjan, et Robert Zorec. 2019. « Physiology of Astroglia ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1175: 45-91. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_3.
- Verma, Ranjana, Mitali Mukerji, Deepak Grover, Chandrika B-Rao, Swapan Kumar Das, Shobana Kubendran, Sanjeev Jain, et Samir K. Brahmachari. 2005. « MLC1 Gene Is Associated with Schizophrenia and Bipolar Disorder in Southern India ». *Biological Psychiatry* 58 (1): 16-22. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.03.027>.
- Villa, Natividad, Liberty Walker, Claire E. Lindsell, Judith Gasson, M. Luisa Iruela-Arispe, et Gerry Weinmaster. 2001. « Vascular expression of Notch pathway receptors and ligands is restricted to arterial vessels ». *Mechanisms of development* 108 (1-2): 161-64.
- Virchow, Rudolf. 1858. « Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre ». *Drucke* 19. Jh.
- Volterra, Andrea, et Jacopo Meldolesi. 2005. « Astrocytes, from Brain Glue to Communication Elements: The Revolution Continues ». *Nature Reviews Neuroscience* 6 (8): 626-40. <https://doi.org/10.1038/nrn1722>.
- Wallraff, Anke, Rüdiger Köhling, Uwe Heinemann, Martin Theis, Klaus Willecke, et Christian Steinhäuser. 2006. « The Impact of Astrocytic Gap Junctional Coupling on Potassium Buffering in the Hippocampus ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 26 (20): 5438-47. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0037-06.2006>.
- Wang, Jun, Yaxiong Cui, Zhenyang Yu, Wenjing Wang, Xuan Cheng, Wenliang Ji, Shuyue Guo, et al. 2019. « Brain Endothelial Cells Maintain Lactate Homeostasis and Control Adult Hippocampal Neurogenesis ». *Cell Stem Cell* 25 (6): 754-767.e9. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.09.009>.
- Wang, Marie Xun, Lori Ray, Kenji F. Tanaka, Jeffrey J. Iliff, et Jeffrey Heys. 2020. « Varying Perivascular Astroglial Endfoot Dimensions along the Vascular Tree Maintain Perivascular-Interstitial Flux through the Cortical Mantle ». <https://doi.org/10.1101/2020.07.15.204545>.
- Wang, Xiaohai, Nanhong Lou, Qiwu Xu, Guo-Feng Tian, Wei Guo Peng, Xiaoning Han, Jian Kang, Takahiro Takano, et Maiken Nedergaard. 2006. « Astrocytic Ca²⁺ Signaling Evoked by Sensory Stimulation in Vivo ». *Nature Neuroscience* 9 (6): 816-23. <https://doi.org/10.1038/nn1703>.
- Weavers, Helen, et Helen Skaer. 2014. « Tip Cells: Master Regulators of Tubulogenesis? » *Seminars in Cell & Developmental Biology*, Endosome dynamics & Tubulogenesis, 31 (juillet): 91-99. <https://doi.org/10.1016/j.semdb.2014.04.009>.

Weber, Bruno, et L. Felipe Barros. 2015. « The Astrocyte: Powerhouse and Recycling Center ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7 (12): a020396. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020396>.

Webersinke, G., H. Bauer, A. Amberger, O. Zach, et H. C. Bauer. 1992. « Comparison of Gene Expression of Extracellular Matrix Molecules in Brain Microvascular Endothelial Cells and Astrocytes ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 189 (2): 877-84. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(92\)92285-6](https://doi.org/10.1016/0006-291X(92)92285-6).

Weller, Roy O., Matthew M. Sharp, Myron Christodoulides, Roxana O. Carare, et Kjeld Møllgård. 2018. « The Meninges as Barriers and Facilitators for the Movement of Fluid, Cells and Pathogens Related to the Rodent and Human CNS ». *Acta Neuropathologica* 135 (3): 363-85. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1809-z>.

Wiley, David M., Jun-Dae Kim, Jijun Hao, Charles C. Hong, Victoria L. Bautch, et Suk-Won Jin. 2011. « Distinct Signalling Pathways Regulate Sprouting Angiogenesis from the Dorsal Aorta and the Axial Vein ». *Nature Cell Biology* 13 (6): 686-92. <https://doi.org/10.1038/ncb2232>.

Wilting, J., et B. Christ. 1996. « Embryonic Angiogenesis: A Review ». *Die Naturwissenschaften* 83 (4): 153-64. <https://doi.org/10.1007/BF01143056>.

Witcher, Mark R., Sergei A. Kirov, et Kristen M. Harris. 2007. « Plasticity of Perisynaptic Astroglia during Synaptogenesis in the Mature Rat Hippocampus ». *Glia* 55 (1): 13-23. <https://doi.org/10.1002/glia.20415>.

Wolff, J. R. 1970. « Quantitative aspects of astroglia ». In *Proceedings of the 6th international Congress of Neuropathology*, 327-52.

Wong, Andrew D., Mao Ye, Amanda F. Levy, Jeffrey D. Rothstein, Dwight E. Bergles, et Peter C. Searson. 2013. « The blood-brain barrier: an engineering perspective ». *Frontiers in Neuroengineering* 6 (août): 7. <https://doi.org/10.3389/fneng.2013.00007>.

Woollam, D. H., et J. W. Millen. 1955. « The Perivascular Spaces of the Mammalian Central Nervous System and Their Relation to the Perineuronal and Subarachnoid Spaces ». *Journal of Anatomy* 89 (2): 193-200.

Wosik, Karolina, Romain Cayrol, Aurore Dodelet-Devillers, France Berthelet, Monique Bernard, Robert Moudjian, Alain Bouthillier, Timothy L. Reudelhuber, et Alexandre Prat. 2007. « Angiotensin II Controls Occludin Function and Is Required for Blood Brain Barrier Maintenance: Relevance to Multiple Sclerosis ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 27 (34): 9032-42. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2088-07.2007>.

Wu, Meihui, Mei Chung Moh, et Herbert Schwarz. 2016a. « HepaCAM Associates with Connexin 43 and Enhances Its Localization in Cellular Junctions ». *Scientific Reports* 6 (novembre): 36218. <https://doi.org/10.1038/srep36218>.

———. 2016b. « HepaCAM Associates with Connexin 43 and Enhances Its Localization in Cellular Junctions ». *Scientific Reports* 6 (novembre): 36218. <https://doi.org/10.1038/srep36218>.

- Xu, Lingling, Abhijit Nirwane, et Yao Yao. 2019. « Basement Membrane and Blood–Brain Barrier ». *Stroke and Vascular Neurology* 4 (2). <https://doi.org/10.1136/svn-2018-000198>.
- Yang, Tuo, Ruiming Guo, et Feng Zhang. 2019. « Brain Perivascular Macrophages: Recent Advances and Implications in Health and Diseases ». *CNS Neuroscience & Therapeutics* 25 (12): 1318-28. <https://doi.org/10.1111/cns.13263>.
- Yao, Yao, Zu-Lin Chen, Erin H. Norris, et Sidney Strickland. 2014. « Astrocytic Laminin Regulates Pericyte Differentiation and Maintains Blood Brain Barrier Integrity ». *Nature Communications* 5 (mars): 3413. <https://doi.org/10.1038/ncomms4413>.
- Yoo, Sooyeon, Juhyun Kim, Pin Lyu, Thanh V. Hoang, Alex Ma, Vickie Trinh, Weina Dai, et al. 2021. « Control of Neurogenic Competence in Mammalian Hypothalamic Tanycytes ». *Science Advances* 7 (22): eabg3777. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg3777>.
- Zaragozá, Rosa. 2020. « Transport of Amino Acids Across the Blood-Brain Barrier ». *Frontiers in Physiology* 11: 973. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00973>.
- Zayed, Hatem. 2015. « Canavan Disease: An Arab Scenario ». *Gene* 560 (1): 9-14. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.02.009>.
- Zeisel, Amit, Ana B. Muñoz-Manchado, Simone Codeluppi, Peter Lönnerberg, Gioele La Manno, Anna Juréus, Sueli Marques, et al. 2015. « Brain Structure. Cell Types in the Mouse Cortex and Hippocampus Revealed by Single-Cell RNA-Seq ». *Science (New York, N.Y.)* 347 (6226): 1138-42. <https://doi.org/10.1126/science.aaa1934>.
- Zenker, Dietmar, David Begley, Hansjürgen Bratzke, Helga Rübsamen-Waigmann, et Hagen von Briesen. 2003. « Human Blood-Derived Macrophages Enhance Barrier Function of Cultured Primary Bovine and Human Brain Capillary Endothelial Cells ». *The Journal of Physiology* 551 (Pt 3): 1023-32. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.045880>.
- Zhang, Ye, Kenian Chen, Steven A. Sloan, Mariko L. Bennett, Anja R. Scholze, Sean O’Keeffe, Hemali P. Phatnani, et al. 2014. « An RNA-Sequencing Transcriptome and Splicing Database of Glia, Neurons, and Vascular Cells of the Cerebral Cortex ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 34 (36): 11929-47. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1860-14.2014>.
- Zhang, Ye, Steven A. Sloan, Laura E. Clarke, Christine Caneda, Colton A. Plaza, Paul D. Blumenthal, Hannes Vogel, et al. 2016. « Purification and Characterization of Progenitor and Mature Human Astrocytes Reveals Transcriptional and Functional Differences with Mouse ». *Neuron* 89 (1): 37-53. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.11.013>.
- Zhao, Yan, Swarajit K. Biswas, Patrick H. McNulty, Mark Kozak, John Y. Jun, et Lakshman Segar. 2011. « PDGF-Induced Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation Is Associated with Dysregulation of Insulin Receptor Substrates ». *American Journal of Physiology. Cell Physiology* 300 (6): C1375-1385. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00670.2008>.

Zhong, Jun, Theresa Zhang, et Lisa M. Bloch. 2006. « Dendritic MRNAs Encode Diversified Functionalities in Hippocampal Pyramidal Neurons ». *BMC Neuroscience* 7 (février): 17.
<https://doi.org/10.1186/1471-2202-7-17>.

RESUME:

Le cerveau est un organe sensible aux pathogènes et aux molécules circulant dans le sang. Cependant, cet organe est richement vascularisé afin de répondre à ses besoins énergétiques importants. Il existe donc une unité fonctionnelle appelée unité gliovasculaire permettant cet équilibre. Cette unité est composée des vaisseaux sanguins (cellules endothéliales, murale et lame basale) et des pieds astrocytaires périvasculaires (PAPVs) qui couvrent la quasi intégralité du réseau vasculaire. Au cours de cette thèse, j'ai étudié le développement de cette unité chez la souris en situation physiologique et pathologique. J'ai mis en évidence (1) une maturation des cellules endothéliales et de leur phénotype de barrière hémato encéphalique, (2) une maturation des cellules musculaires lisses vasculaires et de leur capacité contractile. Cette dernière est concomitante à la formation et la maturation des PAPVs et est altérée dans un cas de modification de la couverture vasculaire de ceux-ci. Ainsi, dans notre modèle pathologique, reproduisant la physiopathologie de la leucoencéphalopathie mégalencéphalique à kystes sous-corticaux, j'ai observé une altération précoce des PAPVs probablement à l'origine de défauts de couplage neurovasculaire et de mouvements fluidiques observés. Ceci suggère que cette pathologie pourrait avoir comme origine un défaut développemental de l'unité gliovasculaire.

MOTS CLES :

Unité gliovasculaire ; Développement ; Vaisseaux sanguins cérébraux; Astrocytes ; Leucoencéphalopathie mégalencéphalique à kystes sous-corticaux ; Leucodystrophie.

SUMMARY:

Brain is a fragile organ, susceptible to pathogens and molecules circulating in the blood. However, this organ is richly vascularize to fulfil its important energetics needs. Gliovascular unit is a functional unit allowing protection and metabolic and ionic homeostasis of the brain. This unit includes brain blood vessels (endothelial cell, basal lamina and mural cells) and astrocytic perivascular endfeet (APVEs) covering almost all the brain vascular network. To better-understood gliovascular unit postnatal development, I studied it in mice in physiological and pathological conditions. This work shows a maturation of endothelial cell and their blood brain barrier phenotype. I also observed a maturation of vascular smooth muscle cell and their contractile capacities. This maturation parallel the APVEs formation and maturation and is altered when vascular coverage of thereof is modified. In our pathological mouse model, reproducing the physiopathology of a leukodystrophy called megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts, I observed an early APVEs alteration probably inducing the neurovascular coupling and fluidic movement defects observed at adult stage. This suggest that this disease could be due to a gliovascular unit developmental defect.

KEYWORDS :

Gliovascular unit; Development; Brain blood vessels; Astrocytes; Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts; Leukodystrophy.