



HAL
open science

**Evaluation thérapeutique de la stimulation
transcrânienne par courant continu (tDCS) dans un
modèle murin de douleur neuropathique chronique :
caractérisation comportementale des dimensions
somatosensorielle et affective**

Bahrie Ramadan

► **To cite this version:**

Bahrie Ramadan. Evaluation thérapeutique de la stimulation transcrânienne par courant continu (tDCS) dans un modèle murin de douleur neuropathique chronique : caractérisation comportementale des dimensions somatosensorielle et affective. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Bourgogne Franche-Comté, 2022. Français. NNT : 2022UBFCE010 . tel-04067557

HAL Id: tel-04067557

<https://theses.hal.science/tel-04067557>

Submitted on 13 Apr 2023

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.



THESE DE DOCTORAT DE L'ETABLISSEMENT UNIVERSITE BOURGOGNE FRANCHE-COMTE

Préparée à la Faculté des Sciences de la Santé

Ecole doctorale n°554, Environnements-Santé

Doctorat de Sciences de la Vie et de la Santé, Neurosciences

Par

Mme Bahrie RAMADAN

**Evaluation thérapeutique de la stimulation transcrânienne par courant continu (tDCS)
dans un modèle murin de douleur neuropathique chronique:
caractérisation comportementale des dimensions somatosensorielle et affective**

Directeur et co-directeur de thèse: **Dr. Pierre-Yves RISOLD** et **Dr. Yvan PETERSCHMITT**

EA 481-LINC: Laboratoire de recherches Intégratives en Neurosciences et psychologie Cognitive

Thèse présentée et soutenue à Besançon , le 16 Décembre 2022

Composition du Jury:

M. VAN WAES Vincent	Pr, Université de Franche-Comté	Président - Examineur
Mme BELZUNG Catherine	Pr, Université de Tours	Rapportrice
Mme DECOSTERD Isabelle	Pr, Université de Lausanne	Rapportrice
Mme YALCIN Ipek	DR-CNRS, Université de Strasbourg	Examinatrice
M. RISOLD Pierre-Yves	CR-INSERM, Université de Franche-Comté	Directeur de thèse
M. PETERSCHMITT Yvan	MCU, Université de Franche-Comté	Co-directeur de thèse

Résumé

Titre: Evaluation thérapeutique de la stimulation transcrânienne par courant continu (tDCS) dans un modèle murin de douleur neuropathique chronique: caractérisation comportementale des dimensions somatosensorielle et affective

Mots clés: douleur neuropathique, tDCS, cortex frontal, anxiété, dépression, modèle animal

Résumé: La douleur neuropathique représente un véritable défi de santé publique en raison de sa sévérité et de ses répercussions importantes sur la qualité de vie des patients. Elle est souvent caractérisée en clinique par une allodynie mécanique, définie comme une douleur provoquée en réponse à des stimuli mécaniques normalement perçus comme non douloureux. Un nombre croissant d'évidences cliniques et précliniques soulignent que les patients neuropathiques présentent un risque élevé de développer des troubles affectifs, tels que l'anxiété et la dépression. Les médicaments conventionnels couramment prescrits sont associés à de nombreux effets indésirables et démontrent souvent une efficacité limitée. Différentes techniques non invasives de neurostimulation, dont la stimulation transcrânienne par courant continu (tDCS), ont donc fait l'objet d'un regain d'intérêt et largement étudiées comme alternatives prometteuses pour la prise en charge des douleurs chroniques pharmaco-résistantes. Cependant, la majorité des études se sont focalisées sur la stimulation anodique du cortex moteur dans le but de moduler la composante sensori-discriminative de la douleur et les connaissances sur la contribution thérapeutique d'autres régions cérébrales, telles que le cortex préfrontal, restent encore très limitées. Pour autant, la stimulation du cortex préfrontal par la tDCS pourrait être d'un grand intérêt compte tenu de l'implication de cette région dans les dimensions somatosensorielle, affective et cognitive de la douleur chronique. L'objectif du présent travail est de faire progresser les connaissances actuelles sur les effets thérapeutiques de la tDCS en 1) testant les effets comportementaux des deux polarités de stimulation (anodique et cathodique) sur les composantes somatosensorielle (allodynie mécanique) et émotionnelle (anxiété, dépression) en ciblant le cortex frontal dans un modèle murin de douleur neuropathique et 2) en évaluant l'efficacité de la stimulation répétitive du cortex frontal sur différentes phases temporelles, c'est-à-dire au stade précoce afin d'essayer d'interférer avec la progression de la douleur neuropathique et au stade tardif lorsque la chronicité de la douleur est établie. Après l'induction de la douleur neuropathique par l'implantation chronique d'un manchon en polyéthylène autour de la branche principale du nerf sciatique de la patte arrière droite, des souris mâles ont été soumises à la stimulation par tDCS sur le cortex frontal gauche (20min, 0.2mA, 2 fois/jour, 5 jours consécutifs). Les stimulations répétitives ont été appliquées au cours de la 3^{ème} semaine post-chirurgie pour étudier les effets de la tDCS au stade précoce, tandis que les stimulations au stade tardif ont eu lieu durant la 10^{ème} semaine post-induction. La sensibilité mécanique a été mesurée à l'aide des filaments de von Frey et les conséquences émotionnelles de la douleur chronique ont été évaluées au moyen de divers tests comportementaux. Les résultats obtenus indiquent que la tDCS anodique présente un effet analgésique lorsqu'elle est appliquée au stade précoce de la douleur, démontrée par la réversion de l'allodynie mécanique chez les animaux neuropathiques. De manière intéressante, lorsqu'appliquée au stade chronique de la pathologie, c'est la stimulation cathodique qui induit une atténuation du phénotype anxio-dépressif chez les souris ayant subi la compression du nerf sciatique, sans pour autant affecter l'allodynie mécanique. Ainsi, il semblerait que la tDCS produit des effets différents selon le moment de l'intervention. Les données comportementales présentées fournissent des informations prometteuses sur la pertinence clinique de cibler le cortex préfrontal chez les patients souffrant des douleurs chroniques. Des études complémentaires sont nécessaires afin d'élucider les mécanismes précis impliqués dans les effets modulateurs de la tDCS sur les composantes somatosensorielle et émotionnelle de la douleur neuropathique.

Abstract

Title: Therapeutic evaluation of the transcranial direct current stimulation (tDCS) in a murin model of chronic neuropathic pain: behavioral characterization of somatosensory and affective dimensions

Keywords: neuropathic pain, tDCS, frontal cortex, anxiety, depression, animal model

Abstract: Neuropathic pain is one of the leading global health care problems due to its severity and negative impact on patient's quality of life. The major clinically reported symptom is mechanical allodynia, pain induced by typically non-painful mechanical stimuli. A growing body of evidence points out that patients suffering from neuropathic pain are at high risk of developing mood-related disorders, such as anxiety and depression. Many of the currently available pharmacological treatments are related to serious side effects and often present limited efficacy. Non-invasive neurostimulation-based techniques, such as transcranial direct current stimulation (tDCS), have therefore been increasingly investigated in clinical and preclinical studies as promising alternatives for refractory pain management. However, most of these studies have been mainly focusing on anodal motor cortex stimulation in an attempt to interfere with the sensory-discriminative component of pain but much less is known about the potential of targeting other brain regions, such as the prefrontal cortex. Indeed, targeting the prefrontal cortex might be of great interest considering its involvement in processing of not only the sensory but also the affective and cognitive components of chronic pain. The aim of the present work is to advance the current knowledge of the therapeutic effects of tDCS by 1) testing the behavioral impact of both anodal and cathodal tDCS on somatosensory (mechanical allodynia) and emotional (anxiety, depression) dimensions by targeting the frontal cortex in an experimental mouse model of chronic neuropathic pain and 2) analyzing the efficacy of repetitive frontal cortex stimulation over different temporal phases, namely at early phase to interfere with the progression of neuropathic pain and at late stage when neuropathic pain is firmly established over a chronic period. Following the induction of neuropathic pain by cuffing the main branch of the right sciatic nerve, male mice were subjected to either anodal or cathodal tDCS (20min, 0.2mA, twice a day, for 5 consecutive days over the left frontal cortex). The repetitive stimulations were applied during the 3rd week post-surgery to examine the effects of tDCS at early stage of neuropathic pain development, while the stimulation at late chronic stage took place during the 10th week post-induction. Mechanical thresholds were assessed using von Frey filaments, and anxio-depressive-like consequences of chronic pain were evaluated through various behavioral tests. Our results show that anodal tDCS reveals a sustained analgesic effect when applied at early phase, evidenced by the suppression of established mechanical allodynia in neuropathic mice. Interestingly, when applied at chronic stage, it was the cathodal tDCS that attenuated the expression of an anxio-depressive-like phenotype in neuropathic mice, without affecting the mechanical allodynia. Hence, tDCS appears to produce different outcomes depending on the timing of the intervention. Our behavioral data do not allow to unravel the pathways involved in these beneficial effects but deliver promising insights on the clinical relevance of targeting the prefrontal cortex in patients suffering from neuropathic pain. Further research is needed to better understand the precise mechanisms involved in tDCS-induced modulation of sensory and emotional aspects of neuropathic pain.

« Being able to walk without showing the pain is a skill »

Kylie McPherson

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier les membres de mon jury de thèse: Mme Catherine Belzung et Mme Isabelle Décosterd qui ont accepté de juger ce travail et d'en être rapportrices, Mme Ipek Yalcin pour le temps consacré à l'évaluation et l'amélioration de mes travaux de thèse, et M Vincent Van Waes de m'avoir fait l'honneur de présider cette soutenance.

Je tiens bien évidemment à remercier Dr Pierre-Yves Risold qui a accepté de devenir mon directeur de thèse. Je t'en suis reconnaissante pour ta bienveillance et tes conseils avisés. Je remercie également Dr Yvan Peterschmitt pour m'avoir encadré depuis mon stage de Master 2. Merci de m'avoir donné l'opportunité de continuer mes travaux de recherche en m'appropriant différents projets et pour la confiance accordée qui m'a permis d'acquérir un vrai sens de l'autonomie. J'espère que tes prochain(e)s doctorant(e)s ne seront pas aussi têtu(e)s!

Mes pensées les plus chaleureuses vont au Pr Dominique Fellmann, sans qui la réalisation de cette thèse aurait été impossible, pour m'avoir fait confiance et accueilli au sein de son équipe. Je remercie tous les membres de mon comité de suivi de thèse pour avoir évalué mon parcours au cours de ces années de thèse et pour leurs très précieux conseils.

De manière générale, je remercie tous les membres, présents ou passés, de l'équipe UR-481 (LINC). Merci à Corinne Noël qui était toujours de bonne humeur et qui s'est occupée de nos commandes et toutes les démarches financières concernant nos participations aux congrès et aux différentes formations. Merci à Pierre-Edouard Billot et Laurence Jacquot pour les moments agréables passés lors des cours d'anglais et autour des repas. Merci à Adeline Etievant pour son sourire quotidien. Mes pensées vont également au Pr Jean-Louis Millot dont la perte inattendue nous a profondément affecté. Merci pour son accueil au sein du laboratoire de la place Leclerc et pour ses conseils sur mes recherches portant sur l'olfaction. Je remercie aussi Solène Pedron et Patrice Andrieu pour leur aide technique pendant mon stage de M2. Une pensée également à Gaby, Fabrice et Amandine avec qui je n'ai pas eu vraiment l'occasion de travailler mais que j'aurais certainement aimé connaître plus. Merci aussi aux nombreux étudiants (Pierre, Andrice, Virginie, Stéphanie, Céline, Kenza, Rim, Aline, Hasan, Isis, Clara, Théo, Manon, Marion...) que j'ai pu rencontrer lors de leurs stages ou que j'ai eu le plaisir d'encadrer et de former. J'espère que j'ai réussi à leur faire acquérir des compétences qui leur seront utiles dans leur poursuite de carrière. Une pensée particulière à Rim Fayad qui vient de commencer sa thèse à Bordeaux. Je te souhaite une excellente thèse et un avenir plein de promesses. Marie, je sais que tu es maintenant loin en train de construire ta propre vie et carrière. Je te remercie d'avoir été là à mon arrivée au laboratoire et d'avoir consacré du temps pour me montrer les immunos. Merci aussi à Tanat pour les bons moments partagés au laboratoire mais également lors du congrès à Berlin et pour la découverte de la cuisine thaï très très épicée! Un grand merci à Stéphanie

Dumontoy qui m'a montré la technique de stimulation tDCS. J'espère que ton avenir te réservera pleins de bonnes surprises. Je remercie également Stéphanie Cramoisy et Marion Violain pour leur mots de soutien et leur humour qui réussit toujours à me faire rire.

Ma gratitude va également à Catherine Jacquin qui était toujours là dès le début de mon arrivée dans les locaux de l'UFR-Santé. Je te remercie pour ta gentillesse, ton écoute et ton aide concernant toutes les démarches administratives.

Mes remerciements vont également à tous les personnels de l'Animalerie Centrale de l'UFR-Santé. Je remercie Pr Dominique Meillet de m'avoir donné la possibilité de travailler comme animalière et d'acquérir de nouvelles compétences. Merci à Hervé Reyssie pour son accueil chaleureux mais également son soutien moral. Merci aussi à Emmanuel, François, Florent et Sophie qui veillent quotidiennement au bien-être des animaux et grâce à qui je ne me suis jamais ennuyée lors des moments passés à l'animalerie.

Je remercie aussi Seb, Juju et Quentin pour leur aide technique et leur bonne humeur. Merci également à Momo pour sa contribution en matière d'informatique et d'avoir pu récupérer tous mes dossiers lorsque mon ordinateur est tombé en panne. Je remercie Julie pour sa compagnie lors des pauses et sa disponibilité en cas de besoin.

Un très grand merci à tous ceux qui m'ont permis de passer d'excellents moments lors des pauses-café et repas de midi. Céline, je te remercie de nous avoir accueillis dans votre salle de pause, ce que nous a permis d'avoir des moments de partage en dehors du contexte professionnel et des discussions passionnantes! Gwen, merci pour ta bonne humeur et les bonnes rigolades. Aurélien, merci pour ta compagnie et tes bons conseils professionnels. Marc et Yann, merci pour tous les bons moments qu'on a pu partager lors de nos sorties. Marion, je te remercie d'avoir toujours été présente en cas de besoin, je t'en suis reconnaissante.

Un grand merci également au Dr Francis Bonnefoy pour sa disponibilité et aide technique lors des prélèvements d'échantillons frais et la réalisation des analyses complémentaires.

Je tiens aussi à témoigner ma gratitude à Christophe Houdayer pour son aide technique. Je sais qu'on a eu des débuts difficiles mais les années passées en partageant le même bureau nous ont permis de se connaître et de s'apprécier mutuellement. Merci d'avoir été toujours présent pour trouver des solutions et des techniques pour rendre possibles et améliorer mes manips. Plus particulièrement, je te remercie d'avoir été mon confident et toujours à l'écoute quand je passais des moments difficiles. Je ne sais pas où l'avenir va nous amener, mais j'espère qu'il sera heureux pour toi et ta famille!

Last but not least...my homies. Les filles!!! Ne vous inquietez pas, je ne vous ai pas oublié. Des collègues mais devenues de très chères amies, vous avez rendu ma vie à Besançon si plaisante.

Lidia, Angélique, je vous remercie d'avoir agrémenté mon quotidien, d'avoir ramené de la lumière dans ma vie sombre. Merci pour les fous rires mais aussi pour tous ces souvenirs et ces bons moments passés en votre compagnie lors de nos sorties, des soirées de jeux de société, des parties de badminton et bien sûr nos voyages touristiques que j'ai très hâte de reprendre! Pipiche, merci pour ton calme et ta gentillesse et la découverte des mots inexistantes dans la langue française. Merci d'essayer d'expliquer la signification des expressions françaises à des étrangers, sans trop y parvenir pour autant...ce qui fait aussi ton charme. Lidia...cette rencontre pour la moins inattendue mais qui fut par la suite tellement agréable. Merci pour ton soutien aussi important au cours d'une thèse, de ton aide précieuse lors de mes manip et tous ces moments de partage qu'on a eu. Il n'y a pas de mots assez forts pour vous exprimer ma gratitude. Simplement, merci pour votre présence amicale que j'en chéris tant! Hope our friendship resists time and silence and we continue to be part of each other's lives no matter the distance that separates us.

Je tiens aussi à remercier Gancho de m'avoir soutenu durant toutes ces années et d'avoir été capable de trouver les bons mots pour me rassurer et me redonner du courage pour aller de l'avant. Mes très sincères remerciements à ma famille de laquelle je suis séparée pendant de longues années maintenant mais que je porte toujours dans mon cœur. Ils ont toujours voulu le meilleur pour moi et m'ont laissé suivre mon propre chemin. Je leur suis reconnaissante pour leur amour inconditionnel.

Table des matières

Résumé	1
Abstract	2
Remerciements	4
Table des matières	7
Publications et Communications affichées	12
Liste des Abréviations	14
Liste des figures et des tableaux	17
Avant-propos	19
INTRODUCTION	22
PARTIE I – Physiologie et Physiopathologie de la douleur	23
1. La douleur	23
1.1. La douleur aiguë.....	26
1.2. Généralités sur le système nociceptif.....	27
1.2.1. Les voies périphériques de la nociception.....	27
1.2.2. L'intégration médullaire de l'information nociceptive.....	31
1.2.3. Les voies ascendantes nociceptives et l'intégration corticale.....	35
1.2.4. Les voies descendantes modulatrices.....	39
1.3. La douleur chronique.....	41
2. Douleur neuropathique chronique	46
2.1. Retentissement psychologique de la douleur neuropathique.....	49
2.2. Mécanismes physiopathologiques de la douleur neuropathique.....	55
2.2.1. Sensibilisation périphérique.....	56
2.2.2. La sensibilisation centrale et les cellules gliales.....	64
3. Modélisation de la douleur neuropathique chez l'animal	70
3.1. Modèle de constriction chronique du nerf sciatique.....	71
(CCI: Chronic Constriction Injury).....	71
3.2. Modèle de compression chronique du nerf sciatique.....	73
(SNC: Sciatic Nerve Cuffing).....	73

3.3.	Modèle de ligature partielle du nerf sciatique.....	74
	(PSNL: Partial Sciatic Nerve Ligation)	74
3.4.	Modèle du nerf épargné.....	75
	(SNI: Spared Nerve Injury).....	75
3.5.	Modèle de ligature des nerfs spinaux	77
	(SNL: Spinal Nerve Ligation)	77
4.	Traitement pharmacologique des douleurs neuropathiques	79
PARTIE II – Neurostimulation et Douleur neuropathique		83
1.	Rappels historiques sur l'électricité médicale	83
2.	Techniques de stimulation invasives dans la prise en charge de la douleur neuropathique	84
2.1.	La stimulation cérébrale profonde	84
	(DBS: Deep Brain Stimulation)	84
2.2.	La stimulation du cortex moteur	86
	(MCS: Motor Cortex Stimulation).....	86
2.3.	La stimulation médullaire (SCS: Spinal Cord Stimulation) et.....	88
	La stimulation du ganglion rachidien dorsal	88
	(DRGS: Dorsal Root Ganglion Stimulation).....	88
3.	Techniques de stimulation non invasives dans la prise en charge de la douleur chronique	94
3.1.	La neurostimulation électrique transcutanée	94
	(TENS: Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation)	94
3.2.	La stimulation magnétique transcrânienne.....	97
	(TMS: Transcranial Magnetic Stimulation).....	97
4.	La stimulation transcrânienne par courant continu	101
	(tDCS: <i>transcranial Direct Current Stimulation</i>).....	101
4.1.	Normes de sécurité d'utilisation de la tDCS	101
4.2.	Variantes de la tDCS conventionnelle	105
4.3.	Principe de fonctionnement et les paramètres de stimulation influençant les effets de la tDCS.....	108

4.3.1.	Polarité de stimulation.....	108
4.3.2.	Type de montage en fonction du positionnement des électrodes	111
4.3.3.	Intensité de stimulation.....	115
4.3.4.	Durée et nombre de sessions de stimulation	116
4.4.	Mécanismes impliqués dans les effets neurophysiologiques à long-terme de la tDCS.....	118
4.5.	Les effets cliniques de la tDCS sur la douleur chronique.....	124
OBJECTIFS DE LA THÈSE.....		128
MATÉRIELS ET MÉTHODES		132
1.	Animaux	133
2.	Stimulation par la tDCS chez la souris	134
2.1.	Chirurgie de la pose d'embase	135
2.2.	Protocole de stimulation par la tDCS.....	136
3.	Modèle de douleur neuropathique chronique.....	138
4.	Evaluation comportementale	140
4.1.	Etude de la composante somatosensorielle:	140
	Evaluation de l'allodynie mécanique	140
4.2.	Activité locomotrice.....	143
4.3.	Tests évaluant le comportement apparenté à l'anxiété	143
4.3.1.	Le test de champ ouvert	144
	(OF: Open-field test).....	144
4.3.2.	Le test de la boîte claire/obscur	145
	(LDB: Light-Dark box).....	145
4.4.	Test prédictif d'un phénotype anxio-dépressif: Le test de consommation supprimée par la nouveauté (NSF: Novelty-Suppressed Feeding).....	146
4.5.	Tests évaluant le comportement apparenté à la dépression.....	147
4.5.1.	Le Splash test évaluant le comportement auto-centré de toilettage	147
4.5.2.	Test évaluant le comportement d'anhédonie:	148
	Le test de préférence au sucrose (SPT: Sucrose Preference Test)	148
4.5.3.	Test évaluant le comportement de résignation:	150

Le test de la nage forcée (FST: Forced Swimming Test)	150
4.6. Test évaluant le degré de motivation vis-à-vis d'une récompense alimentaire: Le test de Ratio Progressif (PR: Progressive Ratio test)	151
5. Evaluation neurobiologique des processus neuro-inflammatoires	155
5.1. Fixation et coupe des cerveaux de souris	155
5.2. Immunohistochimie enzymatique sur coupes flottantes.....	155
5.3. Acquisition et analyse des images	158
6. Analyse statistique des données	160
RÉSULTATS ET DISCUSSION	161
PARTIE I – Approche tDCS tardive	162
1. Caractérisation comportementale des effets de la compression du nerf sciatique et de la stimulation tardive par la tDCS sur la sensibilité mécanique des animaux	163
1.1. Changement du comportement nociceptif après la compression chronique du nerf sciatique.....	164
1.2. Effet des sessions répétées de stimulation tardive par la tDCS sur la sensibilité mécanique des animaux.....	166
2. Caractérisation comportementale des conséquences affectives de la douleur neuropathique induite par la compression chronique du nerf sciatique.....	168
2.1. La compression du nerf sciatique n'affecte pas la prise de poids et l'activité ambulatoire des animaux	168
2.2. Mise en évidence d'un état émotionnel accru après la compression chronique du nerf sciatique	169
2.3. Evaluation du potentiel curatif de la tDCS dans l'atténuation des conséquences affectives induite par la compression chronique du nerf sciatique	177
3. Résumé et discussion des résultats obtenus.....	186
PARTIE II – Approche tDCS préventive	195
1. Evaluation comportementale des effets de la compression du nerf sciatique et de la stimulation précoce par la tDCS sur la sensibilité mécanique des animaux.....	197
1.1. L'allodynie mécanique ipsilatérale induite par la compression chronique du nerf sciatique est suivie par une augmentation retardée de la sensibilité mécanique du côté controlatéral	197

1.2.	Effet des sessions répétées de stimulation précoce par la tDCS sur l'allodynie mécanique	199
2.	Evaluation du potentiel préventif de la stimulation précoce par la tDCS sur l'émergence des troubles affectifs comorbides dans le modèle « <i>Cuff</i> »	202
3.	Approche immunohistochimique: Etude de l'effet de la tDCS précoce sur les processus neuro-inflammatoires dans le modèle animal de neuropathie.....	204
4.	Evaluation du degré de motivation des animaux vis-à-vis d'une récompense alimentaire après la compression chronique du nerf sciatique	205
5.	Résumé et discussion des résultats obtenus.....	208
LIMITES ET PERSPECTIVES		218
1.	Limites.....	219
2.	Perspectives	223
CONCLUSION		227
BIBLIOGRAPHIE		228

Publications et Communications affichées

Articles:

- **B.Ramadan**, L.Cabeza, S.Cramoisy, C.Houdayer, P.Andrieu, J.-L.Millot, E.Haffen, P.-Y.Risold, Y.Peterschmitt. *Beneficial effects of prolonged 2-phenylethyl alcohol inhalation on chronic distress-induced anxio-depressive-like phenotype in female mice.* (2022) *Biomedicine & Pharmacotherapy*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113100>.
- L.Cabeza, **B.Ramadan**, S.Cramoisy, C.Houdayer, E.Haffen, P.-Y.Risold, D.Fellmann, Y.Peterschmitt. *Chronic distress in male mice impairs motivation compromising both effort and reward processing with altered anterior insular cortex and basolateral amygdale neural activation.* (2021) *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. doi: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.717701>.
- L.Cabeza, **B.Ramadan**, J.Giustiniani, T.Chabin, C.Houdayer, Y.Pellequer, D.Gabriel, S.Fauconnet, E.Haffen, P.-Y.Risold, D.Fellmann, D.Belin, Y.Peterschmitt. *Chronic exposure to glucocorticoids induces suboptimal decision-making in mice.* (2021) *European Neuropsychopharmacology*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2021.01.094>.
- L.Cabeza, J.Giustiniani, T.Chabin, **B.Ramadan**, C.Joucla, M.Nicolier, L.Pazart, E.Haffen, D.Fellmann, D.Gabriel, Y.Peterschmitt. *Modeling decision-making under uncertainty: a direct comparison study between human and mouse gambling data.* (2019) *European Neuropsychopharmacology*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2019.11.005>.
- S.Dumontoy, **B.Ramadan**, P.-Y.Risold, S.Pedron, C.Houdayer, A.Etiévant, L.Cabeza, E.Haffen, Y.Peterschmitt, V. Van Waes. *Repeated anodal transcranial direct current stimulation (RA-tDCS) over the left frontal lobe increases bilateral hippocampal cell proliferation in young adult female mice.* (à soumettre en 2023) *International Journal of Molecular Sciences*.

Communications affichées:

- **B.Ramadan**, L.Cabeza, S.Cramoisy, C.Houdayer, P.Andrieu, J.-L.Millot, E.Haffen, P.-Y.Risold, Y.Peterschmitt. *Beneficial effects of prolonged 2-phenylethyl alcohol inhalation on altered feeding behavior and neural activity in chronically distressed female mice.* **International FENS Forum 2022** (Federation of European Neuroscience Societies), Paris-France
- S.Dumontoy, **B.Ramadan**, P.-Y.Risold, S.Pedron, C.Houdayer, A.Etiévant, L.Cabeza, E.Haffen, Y.Peterschmitt, V. Van Waes. *Repeated anodal transcranial direct current stimulation (RA-TDCS) increases hippocampal cell proliferation in young-adult mice.* **International FENS Forum 2022**, Paris-France
- S.Cramoisy, L.Cabeza, **B.Ramadan**, C.Houdayer, S.Dumontoy, E.Haffen, F.Bourasset, Y.Peterschmitt. *Chronic corticosterone administration in mice alters behavioural strategy implementation by modifying striatal-dependent motor and cognitive activity.* **International FENS Forum 2022**, Paris-France

- **B.Ramadan**, L.Cabeza, C.Houdayer, I.Yalcin, D.Fellmann, E.Haffen, P.-Y.Risold, Y.Peterschmitt. *Etude de l'effet de la tDCS sur l'allodynie mécanique et les troubles émotionnels dans un modèle murin de douleur neuropathique chronique.* **FJC 2021 Virtuel** (Forum des Jeunes Chercheurs)
- L.Cabeza, **B.Ramadan**, S.Cramoisy, C.Houdayer, E.Haffen, P.-Y.Risold, Y.Peterschmitt. *Chronic distress compromises both effort and reward processing with altered anterior insular cortex and basolateral amygdala neural network activation entailing motivation in mice.* **NeuroFrance 2021 Virtuel**
- S.Cramoisy, L.Cabeza, **B.Ramadan**, C.Houdayer, E.Haffen, P.-Y.Risold, D.Belin, Y.Peterschmitt. *Assesing impulsivity and risk-taking contributions to adaptive and maladaptive decision-making in distressed mice.* **NeuroFrance 2021 Virtuel**
- **B.Ramadan**, L.Cabeza, C.Houdayer, I.Yalcin, D.Fellmann, E.Haffen, P.-Y.Risold, Y.Peterschmitt. *Influence of tDCS on the mechanical allodynia and emotion-related behavioral alterations observed in the sciatic nerve cuffing mouse model of chronic neuropathic pain.* **Virtual FENS Forum 2020**
- L.Cabeza, **B.Ramadan**, C.Houdayer, J.Frejavielle, D.Belin, P.-Y.Risold, E.Haffen, D.Fellmann, Y.Peterschmitt. *Corticotropin-releasing-factor levels in the medial prefrontal cortex negatively correlate with Gambling-based decision-making performance in a neuroendocrine mouse model of anxiety-depression.* **Virtual FENS Forum 2020**
- **B.Ramadan**, L.Cabeza, I.Yalcin, C.Houdayer, E.Haffen, D.Fellmann, P.-Y.Risold, Y.Peterschmitt. *Troubles somatosensoriels et émotionnels dans un modèle murin de douleur neuropathique : caractérisation comportementale et évaluation thérapeutique de la stimulation transcrânienne par courant continu.* **SFETD 2019** (Congrès national de la Société Française d'Etude et de Traitement de la Douleur), Strasbourg-France
- L.Cabeza, J.Giustiniani, T.Chabin, **B.Ramadan**, C.Joucla, M.Nocolier, L.Pazart, E.Haffen, D.Fellmann, D.Gabriel, Y.Peterschmitt. *Modelling decision-making under uncertainty: a direct comparison between human and mice gambling data.* **NeuroFrance 2019**, Marseille-France
- **B.Ramadan**, L.Cabeza, P.Andrieu, C.Houdayer, P.-Y.Risold, J.-L.Millot, Y.Peterschmitt. *Potential antidepressant-like effects of chronic olfactory phenylethyl alcohol exposure in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression.* **International FENS Forum 2018**, Berlin-Allemagne
- L.Cabeza, **B.Ramadan**, E.Haffen, P.-Y.Risold, D.Fellmann, Y.Peterschmitt. *Altered decision-making in a neuroendocrine mouse model of major depressive disorder.* **International FENS Forum 2018**, Berlin-Allemagne
- **B.Ramadan**, L.Cabeza, P.Andrieu, C.Houdayer, P.-Y. Risold, J.-L.Millot, Y.Peterschmitt. *Chronic olfactory phenylethyl alcohol exposure: a potential therapeutic treatment of depression-like behaviors in mice.* **FJC 2018**, Besançon-France
- L.Cabeza, **B.Ramadan**, E.Haffen, P.-Y.Risold, D.Fellmann, Y.Peterschmitt. *Altered decision-making and impaired motivation in a neuroendocrine mouse model of major depressive disorder.* **FJC 2018**, Besançon-France

Liste des Abréviations

A MPAR:	Récepteurs d'acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionique
a-tDCS:	Stimulation transcrânienne par courant continu, polarité anodique
ATP:	Adénosine triphosphate
AVC:	Accident vasculaire cérébral
A1AR:	Récepteurs α 1-adrénergiques
B DNF:	Facteur neurotrophique dérivé du cerveau
B2AR:	Récepteurs β 2-adrénergiques
C _{av} :	Canaux calciques voltage-dépendants
CBLP:	Douleur localisée dans le dos et les jambes
CCI:	Modèle de constriction chronique du nerf sciatique
CCL2:	Chimiokine (C-C <i>motif</i>), ligand 2
CIM-11:	Classification internationale des maladies, 11 ^{ème} révision
CREB:	Protéine de liaison à l'élément de réponse à l'adénosine monophosphate cyclique
CRPS:	Syndrome douloureux régional complexe
c-tDCS:	Stimulation transcrânienne par courant continu, polarité cathodique
D AMPs:	Motifs moléculaires associés aux dommages
DBS:	Stimulation cérébrale profonde
dIPFC:	Cortex préfrontal dorsolatéral
DN4:	Douleur neuropathique en quatre questions
DRG:	Ganglions des racines dorsales
E RK:	Kinases régulées par un signal extracellulaire
F ST:	Test de la nage forcée

GABA:	Acide γ -aminobutyrique
GFAP:	Protéine d'acide fibrillaire gliale
H_D-tDCS:	Stimulation transcrânienne par courant continu à haute définition
HVA:	Canaux calciques à haut seuil d'activation
IASP:	Association internationale pour l'étude de la douleur
Iba1:	Molécule adaptatrice de liaison au calcium ionisé
IL:	Interleukines
IL-R:	Récepteurs des interleukines
IP₃R2:	Récepteurs de l'inositol triphosphate, de type 2
K_{CC2}:	Co-transporteur potassium-chlore, isoforme 2
K_v:	Canaux potassiques voltage-dépendants
LDB:	Test de la boîte claire/obscur
M_{APK}:	Protéines kinases activés par des agents mitogènes
MCS:	Stimulation du cortex moteur
MEP:	Potentiels évoqués moteurs
N_{av}:	Canaux sodiques voltage-dépendants
NGF:	Facteur de croissance nerveuse
NMDAR:	Récepteur N-méthyl D-aspartate
NSF:	Test de consommation supprimée par la nouveauté
OF:	Test de champ ouvert
P_{AG}:	Substance grise périaqueducule
PKA:	Protéine kinase A
PKC:	Protéine kinase C

PLC:	Phospholipase C
PR:	Test de ratio progressif
PSNL:	Modèle de ligature partielle du nerf sciatique
R_{VM}:	Médulla rostro-ventrale
P2XR:	Récepteurs purinergiques
S_{CS}:	Stimulation médullaire
SNI:	Modèle du nerf épargné
SNL:	Modèle de ligature des nerfs spinaux
SNRIs:	Inhibiteurs mixtes de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline
SPT:	Test de préférence au sucrose
T_{ACS}:	Stimulation transcrânienne par courant alternatif
tDCS:	Stimulation transcrânienne par courant continu
TENS:	Neurostimulation électrique transcutanée
TMS:	Stimulation magnétique transcrânienne
TNFα:	Facteur tumoral de nécrose α
TrKA:	Récepteurs kinase A de la tropomyosine
TrkB:	Récepteurs kinase B de la tropomyosine
tRNS:	Stimulation transcrânienne par bruit aléatoire
TRP:	Transient Receptor Potential
TRPV:	Récepteurs-canaux TRP activés par des molécules de la famille des vanilloïdes
W_{DR}:	Neurones à large gamme dynamique
5-HT:	5-hydroxytryptamine (sérotonine)
5-HTR:	Récepteur d'hydroxytryptamine

Liste des figures et des tableaux

Fig. 1 Détection et transmission des messages nociceptifs de la périphérie vers le premier relais du système nerveux central, la moëlle épinière	31
Fig. 2 La moëlle épinière et son organisation laminaire	32
Fig. 3 Connexions des fibres afférentes primaires dans la corne dorsale de la moëlle épinière	34
Fig. 4 Les voies nociceptives ascendantes.....	37
Fig. 5 Structures cérébrales impliquées dans le traitement de l'information nociceptive et la perception consciente de la douleur	38
Fig. 6 Evaluation quantitative des troubles sensitifs chez les patients douloureux.....	48
Fig. 7 Illustration schématique des mécanismes de sensibilisation périphérique.....	63
Fig. 8 Illustration schématique de l'implication des cellules gliales dans les mécanismes de sensibilisation centrale au niveau spinal.....	69
Fig. 9 Représentation schématique des modèles animaux de douleur neuropathique d'origine périphérique fréquemment utilisés en recherche fondamentale	78
Fig. 10 Les techniques invasives de stimulation cérébrale	86
Fig. 11 La stimulation médullaire	91
Fig. 12 La stimulation du ganglion rachidien dorsal.....	93
Fig. 13 Les techniques de stimulation non invasives	97
Fig. 14 Les types de bobines les plus souvent utilisées pour la stimulation magnétique transcrânienne.	99
Fig. 15 La HD-tDCS.....	106
Fig. 16 Les différentes formes de courant utilisées pour la stimulation électrique transcrânienne	107
Fig. 17 Effets polarité-dépendants d'une polarisation chez l'animal et de la stimulation par tDCS chez l'Homme	109
Fig. 18 L'effet d'un courant entrant (anode) et d'un courant sortant (cathode) sur la polarisation cellulaire	110
Fig. 19 tDCS conventionnelle chez l'Homme.....	113
Fig. 20 Montage tDCS chez le rongeur	114
Fig. 21 Représentation schématique des mécanismes impliqués dans les effets à long-terme de la tDCS.	123
Fig. 22 Chirurgie stéréotaxique de la pose d'embase sur le crâne de la souris	135
Fig. 23 Stimulation par la tDCS chez la souris	137
Fig. 24 Modèle murin de douleur neuropathique chronique: le modèle du «Cuff».....	139
Fig. 25 Evaluation de l'allodynie mécanique par le test des filaments de von Frey	142
Fig. 26 Exemple de représentation visuelle des résultats obtenus lors du test de von Frey.....	143
Fig. 27 Dispositif utilisé pour le test de l'OF.....	144
Fig. 28 Dispositif utilisé pour le test de LDB.....	145
Fig. 29 Dispositif utilisé pour le test de NSF.....	147
Fig. 30 Evaluation de l'activité de toilettage dans le test de Splash	148
Fig. 31 Evaluation du comportement anhédonique vis-à-vis d'une solution sucrée.....	149
Fig. 32 Evaluation du comportement de résignation par le test de FST	151
Fig. 33 Représentation d'une cage de conditionnement opérant utilisée pour le test de Ratio Progressif.	151
Fig. 34 Représentation schématique du protocole utilisé pour le test de Ratio Progressif.....	154
Fig. 35 Représentation schématique de la technique d'immunohistochimie enzymatique	156
Fig. 36 Zones d'analyse de surface marquée (carrés rouges) dans le cortex cingulaire antérieur.....	159

Fig. 37 Zones d'analyse de surface marquée (carrés rouges) dans le cortex insulaire postérieur.	159
Fig. 38 Représentation schématique du protocole expérimental ayant appliqué la tDCS de façon tardive, à visée curative, dans un modèle murin de douleur neuropathique chronique	163
Fig. 39 Evaluation de la sensibilité mécanique après la compression du nerf sciatique et suite à la stimulation tardive par la tDCS à l'aide des filaments de von Frey.....	167
Fig. 40 Evaluation de la prise de poids et de l'activité locomotrice après la compression chronique du nerf sciatique.	169
Fig. 41 Evaluation des conséquences émotionnelles de la douleur neuropathique	171
Fig. 42 Normalisation par la méthode de z-scoring des données issues des tests comportementaux réalisés après la compression chronique du nerf sciatique	173
Fig. 43 L'effet de la compression chronique du nerf sciatique sur l'état émotionnel global des animaux.. ..	175
Fig. 44 Test de préférence au sucrose à 2.5% et à 1.5%	177
Fig. 45 Evaluation du potentiel curatif de la tDCS sur les conséquences émotionnelles induites par la douleur neuropathique	179
Fig. 46 Normalisation par la méthode de z-scoring des données issues des tests comportementaux réalisés après la stimulation tardive par la tDCS.....	182
Fig. 47 L'effet des sessions répétées de stimulation tardive par la tDCS sur l'état émotionnel global des animaux	184
Fig. 48 L'effet de la tDCS tardive sur le comportement anxio-dépressif global des animaux	185
Fig. 49 Représentation schématique du protocole expérimental ayant appliqué la tDCS de façon précoce, à visée préventive, dans un modèle murin de douleur neuropathique chronique	196
Fig. 50 Evaluation des effets de la compression chronique du nerf sciatique et de la stimulation précoce par la tDCS sur la sensibilité mécanique des animaux	201
Fig. 51 L'effet des sessions répétées de stimulation précoce par la tDCS sur l'état émotionnel global des animaux	203
Fig. 52 Quantification de l'expression des marqueurs gliaux GFAP et Iba1 dans le cortex cingulaire antérieur et le cortex insulaire postérieur	205
Fig. 53 Représentation schématique du protocole expérimental utilisé pour la réalisation du test de Ratio Progressif.....	206
Fig. 54 Evaluation du degré de motivation des animaux vis-à-vis d'une récompense alimentaire par le test de Ratio Progressif.....	207
Tableau 1 Répartition des animaux dans les différents groupes expérimentaux	134
Tableau 2 Paramètres de stimulation utilisés pour la stimulation tDCS.....	138
Tableau 3 Liste des filaments de von Frey les plus souvent utilisés chez la souris pour déterminer le seuil nociceptif mécanique	141
Tableau 4 Caractéristiques des anticorps primaires utilisés pour l'immunohistochimie enzymatique... ..	156
Tableau 5 Comptabilisation du nombre d'échantillons biologiques disponible pour l'expérience tDCS tardive et précision des délais de prélèvements.....	225
Tableau 6 Comptabilisation du nombre d'échantillons biologiques disponible pour l'expérience tDCS précoce et précision des délais de prélèvements	226

Avant-propos

La stimulation transcrânienne par courant continu (tDCS: transcranial direct current stimulation) est une technique prometteuse de stimulation électrique, développée et affinée principalement dans le but de proposer des alternatives aux traitements médicamenteux dans le cas de certaines pathologies pharmaco-résistantes. Cette méthode présente plusieurs avantages: elle permet de moduler l'excitabilité neuronale de manière non invasive et transitoire via l'application au niveau cortical d'un courant électrique de faible intensité, l'équipement est facilement portable et peu coûteux comparé à d'autres techniques d'électrostimulation, elle n'entraîne que très peu d'effets indésirables. Les connaissances de l'efficacité thérapeutique de la tDCS s'appuient initialement sur des recherches issues du domaine clinique. Les données des méta-analyses rapportent des effets plutôt bénéfiques de cette technique, aussi bien chez des sujets sains que des patients souffrant de diverses pathologies, telles que la dépression, la schizophrénie, les troubles addictifs, la maladie d'Alzheimer ou encore les douleurs neuropathiques d'origine centrale consécutives à une lésion médullaire par exemple [Bennabi et al., 2014; Mondino et al., 2014; Rajji, 2019; Chen et al., 2020a; Yang et Chang, 2021].

Au sein du laboratoire de Recherches Intégratives en Neurosciences et psychologie Cognitive (UR-LINC) de Besançon, notre équipe consacre une partie de ses recherches à la prise en charge par la tDCS de la dépression et du sevrage lié aux addictions. Depuis 2001, une plateforme de neuroimagerie fonctionnelle et neurostimulation, appelée Neuraxess, a été créée en partenariat avec le Centre d'Investigation Clinique de Besançon (INSERM CIC 1431) et l'Université de Franche-Comté dans le but d'encourager le développement des projets visant à explorer le fonctionnement cérébral chez l'Homme de manière non invasive et de faciliter aussi la translation de la recherche fondamentale à la pratique clinique. Des protocoles cliniques ont été élaborés au sein du laboratoire afin d'étudier l'effet de la tDCS sur le ralentissement psychomoteur associé à la dépression pharmaco-résistante [Bennabi et al., 2020], le comportement impulsif observé chez des patients souffrant d'un trouble de personnalité de type borderline [Teti Mayer et al., 2019], et en sciences du sport pour examiner les effets

encore peu connus de la tDCS sur les performances neuromusculaires, psychomotrices et cognitives des athlètes [[Grosprêtre et al., 2021](#)].

Si la tDCS est largement répandue en clinique et de nombreuses études mettent en évidence des effets thérapeutiques plus ou moins prononcés, l'utilisation des modèles animaux reste d'une grande importance pour appréhender les mécanismes neurobiologiques associés à ces effets. Ainsi parallèlement aux études cliniques, un modèle de stimulation transcrânienne par courant continu a été développé chez la souris au sein de notre laboratoire afin de tester la validité de la tDCS sur différents aspects comportementaux et neurobiologiques [[Pedron et al., 2014, 2017](#); [Peanlikhit et al., 2017](#)]. Il a notamment été mis en évidence que ce modèle animal permet d'obtenir des effets thérapeutiques similaires à ceux observés en clinique chez des patients souffrant des troubles liés à l'addiction et les maladies psychiatriques, démontrant ainsi une bonne validité prédictive.

En raison de sa sévérité et sa chronicité, la douleur neuropathique représente un véritable défi de santé publique. Grâce à l'avancée des connaissances sur sa physiopathologie au cours de ces dernières années, il est maintenant établi que la douleur neuropathique peut avoir des répercussions importantes sur la qualité de vie des personnes qui en sont atteintes, augmentant ainsi le risque de développement des troubles anxio-dépressifs et cognitifs comorbides. Malgré les évidences cliniques, les mécanismes sous-jacents à cette comorbidité sont encore méconnus et des études précliniques sont nécessaires pour faciliter l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques. Le manque d'efficacité et les effets indésirables fréquents associés aux traitements antalgiques classiques ont poussé la recherche vers des alternatives non pharmacologiques. C'est dans ce contexte que la tDCS a fait l'objet d'un regain d'intérêt par la communauté médicale. Bien que les résultats de la littérature s'accordent sur une efficacité antalgique potentielle de la stimulation anodique du cortex moteur, il y a un manque de données concernant l'exploration d'autres cibles corticales qui peuvent pourtant s'avérer prometteuses pour l'amélioration du quotidien des sujets neuropathiques, notamment en visant à atténuer les conséquences affectives induites par la douleur chronique.

En se basant sur les travaux antérieurs de l'équipe et en collaboration avec Dr Ipek YALCIN (Directrice de recherche CNRS à l'Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives de Strasbourg-UPR 3212), l'objectif principal du travail réalisé pour ce mémoire a été d'évaluer le potentiel thérapeutique de la tDCS dans un modèle murin de douleur neuropathique chronique afin **1)** d'enrichir les connaissances sur les effets comportementaux de la stimulation du cortex frontal en utilisant deux polarités: anodique et cathodique et **2)** d'essayer de déterminer une fenêtre d'intervention optimale, précoce ou tardive, pour l'application clinique de cette technique.

L'introduction de ce manuscrit sera divisée en deux grandes parties. La première partie sera consacrée à une revue de la littérature portant sur la physiologie et la physiopathologie de la douleur, en se focalisant notamment sur la douleur neuropathique chronique: sa symptomatologie, ses mécanismes physiopathologiques connus ainsi que sa modélisation chez le rongeur seront décrits. Un bref point sera aussi fait sur les traitements pharmacologiques des douleurs neuropathiques. La deuxième partie sera dédiée aux techniques d'électrostimulation utilisées dans la prise en charge des douleurs neuropathiques. Un intérêt particulier sera porté à la tDCS, son principe de fonctionnement ainsi que ses mécanismes d'action connus et ses effets cliniques potentiels. Après une description des techniques et des approches mises en place pour la réalisation de ce travail de thèse, les principaux résultats obtenus seront présentés et discutés.

INTRODUCTION

PARTIE I – Physiologie et Physiopathologie de la douleur

1. La douleur

La douleur a longtemps été considérée comme un châtement divin et une sensation utile pour la guérison du corps. Souvent négligée et mal traitée en raison d'un manque de connaissances sur les mécanismes la sous-tendant, aujourd'hui la lutte contre la douleur est devenue une priorité des professionnels de santé. C'est dans cette perspective que la définition même de la douleur a évolué. La définition, adoptée en 1979 par le Conseil de l'Association internationale pour l'étude de la douleur (*acronyme anglais*: IASP pour International Association for the Study of Pain) et acceptée par l'Organisation Mondiale de la Santé, décrit la douleur comme «*une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, liée à une lésion tissulaire existante ou potentielle, ou décrite en termes évoquant une telle lésion*». Cette définition souligne que la douleur est toujours une sensation subjective car elle relève du vécu personnel et de la perception propre à chaque être humain. La douleur est une expérience sensorielle faisant référence au processus de nociception permettant l'encodage et l'analyse de la qualité, l'intensité, la durée et la localisation des stimuli nocifs pour l'organisme. La sensation douloureuse est toujours désagréable et de ce fait c'est aussi une expérience émotionnelle pouvant affecter la santé psychologique. La douleur est souvent secondaire à une lésion tissulaire au niveau du système nerveux périphérique ou central, mais elle peut toutefois survenir en absence de lésions apparentes. Bien que cette définition reconnaisse l'aspect subjectif et multidimensionnel de la douleur, au cours de ces dernières années elle a fait l'objet de nombreuses critiques et discussions [Raja et al., 2020]. Il a été jugé que la définition datant de 1979 n'est pas assez précise du fait que d'une part elle exclut les facteurs cognitifs et sociaux qui font partie intégrante de l'expérience douloureuse et d'autre part qu'elle néglige les dimensions éthiques de la douleur en mettant l'accent sur l'auto-déclaration verbale au détriment des comportements non verbaux qui peuvent fournir des informations vitales, en particulier chez les personnes ayant un handicap cognitif ou linguistique, les personnes âgées, les nourrissons, mais aussi les animaux qui ne peuvent pas exprimer verbalement leur douleur.

Par conséquent, en 2018 un groupe d'experts a été constitué et la définition de la douleur a été reformulée avec la contribution de professionnels de santé, de chercheurs, de linguistes, de philosophes, de personnes souffrant de douleur et de leurs soignants. Après deux ans de réflexions et de discussions, l'IASP a abouti à une nouvelle définition décrivant la douleur comme étant «*une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée, ou ressemblant à celle associée, à une lésion tissulaire réelle ou potentielle*» [Raja et al., 2020]. Le terme «*ressemblant*» a été introduit pour inclure les personnes ne pouvant pas décrire verbalement leur ressenti douloureux. De plus, cette définition a été complétée par l'ajout de six notes clés permettant une interprétation plus précise. Ainsi, il est considéré que:

1. La douleur est avant tout une expérience personnelle qui est largement influencée par des facteurs biologiques, psychologiques et sociaux.
2. La douleur et la nociception sont deux phénomènes différents. L'activité des nocicepteurs (fibres afférentes primaires capables de détecter les stimuli de nature mécanique, thermique et chimique potentiellement dangereux pour l'organisme) ne peut pas à elle seule rendre compte d'une perception consciente de la douleur qui implique le recrutement d'un vaste réseau de structures cérébrales.
3. Chaque individu apprend le concept de la douleur à travers ses propres expériences de vie dans un environnement socio-culturel spécifique.
4. Les patients sont les acteurs actifs de leur prise en charge et eux-seuls sont capables d'indiquer et de décrire ce qu'ils ressentent. Par conséquent, chaque témoignage douloureux et chaque plainte du patient, en relation avec son ressenti douloureux, doit être pris en compte par les professionnels de santé.
5. Bien que la douleur en condition physiologique joue généralement un rôle de système d'alarme permettant l'adaptation et la préservation de l'organisme face à des stimuli nocifs, cette utilité adaptative disparaît en condition pathologique, notamment dans le cas des douleurs chroniques. De ce fait, elle peut donner naissance à des effets indésirables ayant un impact négatif sur le fonctionnement de l'individu et son bien-être social et psychologique.

6. La description verbale n'est qu'un des nombreux comportements permettant d'exprimer la douleur: l'incapacité à communiquer n'exclut pas la possibilité qu'un être humain ou un animal éprouve de la douleur.

La définition donnée par l'IASP laisse donc entrevoir quatre composantes fondamentales qui interagissent entre elles pour aboutir à la perception consciente de la douleur [Melzack et Casey, 1968; SFETD, 2017]:

- La **composante sensori-discriminative** faisant référence au processus de nociception par lequel le système somatosensoriel encode et analyse la qualité, l'intensité, l'évolution temporelle et la localisation topographique des stimuli potentiellement nocifs pour l'organisme;
- La **composante affectivo-émotionnelle** qui désigne le caractère désagréable et pénible qui accompagne la douleur. Elle souligne aussi le fait que l'expérience douloureuse peut être influencée par des états émotionnels (anxiété, dépression) et que réciproquement si la perception douloureuse devient permanente et insupportable cela peut engendrer le développement des troubles affectifs comorbides;
- La **composante cognitive** inclut les mécanismes de mémorisation qui participent au traitement de différentes informations en faisant intervenir un ensemble de processus susceptibles d'influencer la perception de la douleur et les réactions comportementales qui en découlent, tels que l'attention, l'anticipation, l'interprétation de l'expérience douloureuse dépendante de la culture, le contexte, le milieu social;
- La **composante comportementale** qui regroupe l'ensemble des modifications comportementales consécutives à l'expérience douloureuse, tels que les troubles du sommeil et de l'appétit ainsi que les troubles de l'humeur. Elle prend également en considération la communication verbale (plaintes émises, gémissements, cris) et non verbale (les expressions du visage et celles du regard, les attitudes corporelles).

La douleur est par conséquent un phénomène pluridimensionnel, reposant avant tout sur le ressenti du patient, ce qui la rend difficilement quantifiable et qualifiable. L'approche diagnostique de la douleur impose une évaluation multifactorielle prenant en considération les mécanismes générateurs, la nature du ressenti douloureux, la motivation du patient, les conséquences sur la qualité de vie ainsi que le contexte familial et socio-économique. L'évaluation complète de tous ces différents paramètres conditionne la qualité de la prise en charge et permet de proposer des modalités thérapeutiques mieux adaptées au besoin de chaque patient.

La douleur peut être classifiée d'une part en fonction de la durée d'évolution, à savoir la douleur aiguë et la douleur chronique, et d'autre part selon l'évaluation clinique permettant de distinguer la nature physiologique ou pathologique de la douleur ressentie.

1.1. La douleur aiguë

La douleur aiguë est une fonction biologique se déclenchant en présence de stimuli potentiellement dangereux pour l'intégrité physique de l'organisme. Elle résulte principalement d'une lésion tissulaire directe et est souvent accompagnée d'une réaction inflammatoire de nature transitoire permettant la cicatrisation de la zone lésée via le recrutement des cellules du système immunitaire (macrophages, mastocytes, neutrophiles, granulocytes) [Woolf, 2010]. La douleur aiguë se manifeste par l'installation récente (<3 mois) d'une sensation désagréable, soit vive et transitoire comme celle qui fait suite à une piqûre, soit de manière plus durable comme dans le cas des douleurs aiguës post-opératoires. La douleur aiguë présente un caractère réversible et disparaît généralement suite à une prise en charge adaptée de la part des praticiens.

Les douleurs aiguës sont généralement classifiées comme étant des douleurs nociceptives, du fait qu'elles résultent de l'activation directe des nocicepteurs [Bajwa et al., 2003; Woolf, 2010]. Le terme de nociception fait référence au processus neuronal physiologique permettant l'encodage des stimuli nocifs. Il s'exerce via le système nociceptif.

1.2. Généralités sur le système nociceptif

Les informations qui seront présentées dans ce paragraphe sont synthétisées d'après les revues de [Basbaum et al., 2009](#); [Das, 2015](#); [Renthal, 2015](#); [Bennett et al., 2019](#).

1.2.1. Les voies périphériques de la nociception

Les stimuli (mécanique, thermique, chimique) potentiellement dangereux pour l'organisme sont détectés en périphérie par des récepteurs spécifiques, appelés des nocicepteurs. Ce sont des fibres afférentes nociceptives qui innervent les tissus cutanés et musculaires, ainsi que les parois viscérales. Leurs corps cellulaires sont localisés dans les ganglions des racines dorsales (*acronyme anglais*: DRG pour Dorsal Root Ganglions) pour les fibres innervant le corps ou dans le ganglion trigéminal pour les fibres innervant la face. Une fois les stimuli externes détectés par les nocicepteurs, ils sont transformés en potentiels électriques via des récepteurs ou canaux spécifiques, tels que les récepteurs puriginiques sensibles à l'ATP (Adénosine TriPhosphate) de type P₂X (P₂XR) qui sont perméables aux cations mono- et divalents, ou bien les canaux ioniques TRP (*acronyme anglais*: Transient Receptor Potential) présentant une perméabilité non-sélective aux cations. Cette activité électrique est ensuite amplifiée par des canaux ioniques voltage-dépendants, dont l'activation est conditionnée par une variation du potentiel membranaire, exprimés par les neurones sensoriels. Les canaux voltage-dépendants sont des protéines transmembranaires contenant des pores macromoléculaires constitués de plusieurs sous-unités et qui présentent une perméabilité ionique sélective. Ils sont largement impliqués dans la genèse des potentiels d'action ainsi que la propagation et la transmission du message nociceptif. Parmi ces canaux ioniques, on distingue notamment:

- *les canaux sodiques voltage-dépendants* (Na_v) dont l'activation permet de déclencher la phase de dépolarisation du potentiel d'action. Les nocicepteurs expriment différents isoformes des canaux sodiques voltage-dépendants, tels que Na_v1.1, Na_v1.6, Na_v1.7, Na_v1.8 et Na_v1.9 [[Basbaum et al., 2009](#); [Bennett et al., 2019](#)];

- *les canaux potassiques voltage-dépendants* (K_v) sont impliqués dans la phase de repolarisation du potentiel d'action. Les isoformes K_v7.2 et K_v7.3 sont principalement exprimés dans les

neurones de la corne dorsale de la moëlle épinière et le ganglion trigéminal, soulignant leur rôle dans la régulation de la nociception [Abd-Elseyed et al., 2019];

- les canaux calciques voltage-dépendants (Ca_v) participent aussi activement à l'excitabilité cellulaire et la transmission du signal nociceptif. L'entrée de calcium Ca^{2+} dans la cellule permet de déclencher la fusion des vésicules synaptiques avec la membrane plasmique et assure ainsi la libération de neurotransmetteurs dans la fente synaptique. Les neurones sensoriels expriment des canaux calciques de type T (à bas seuil d'activation) ainsi que des canaux calciques de type N (à haut seuil d'activation) [Basbaum et al., 2009].

Il existe deux grands groupes de nocicepteurs qui se distinguent en fonction de leurs propriétés morphologiques et fonctionnelles. Les paramètres, tels que le diamètre et le degré de myélinisation influencent la vitesse de conduction du message nociceptif et déterminent ainsi la nature de la douleur ressentie (aiguë et localisée ou persistante et diffuse).

1) Les fibres afférentes de type A δ sont faiblement myélinisées et possèdent un diamètre moyen de 2 μ m-6 μ m. Leur vitesse de conduction est comprise entre 2m/s et 30m/s. Ce sont principalement des mécanorécepteurs à seuil d'activation élevé (*acronyme anglais*: HTM pour High Threshold Mechanical nociceptors). Ils permettent la transmission rapide du message nociceptif et sont donc à l'origine des sensations douloureuses brèves mais intenses à type de piqûre. Les fibres A δ sont divisées en deux sous-populations qui codent le stimulus nociceptif en fonction de son intensité, c'est-à-dire que leur réponse augmente parallèlement à l'intensité du stimulus. Ainsi, on distingue:

- **la sous-population des fibres A δ de type 1** répond à des stimuli mécaniques de forte intensité, mais présentent aussi un seuil d'activation élevé pour les stimuli thermiques au chaud de haute intensité (>50°C). Cependant, dans le cas par exemple d'une lésion tissulaire, les fibres A δ de type 1 peuvent faire l'objet d'un phénomène de sensibilisation, c'est-à-dire de présenter une diminution de leur seuil d'activation suite à la nature répétitive des stimuli nociceptifs. Par conséquent, un stimulus de plus faible intensité est alors capable de franchir le seuil de déclenchement du potentiel d'action nécessaire pour engendrer des influx douloureux;

- **la sous-population de fibres A δ de type 2** s'active toujours suite à des stimuli mécaniques de forte intensité, mais en présence des stimuli thermiques au chaud de faible intensité.

Il existe également d'autres neurones sensoriels primaires de classe A, tels que les fibres de type A α et A β , mais qui ne sont pas des nocicepteurs proprement dit. Par exemple, les fibres myélinisées A β de gros calibre (>10 μ m) et vitesse de conduction très élevée (30m/s à 120m/s) répondent à des stimuli mécaniques de très faible intensité et donc non nociceptifs.

2) Les fibres afférentes de type C sont non myélinisées et de petit calibre (0.4 μ m-1.2 μ m). Leur vitesse de conduction est par conséquent lente allant de 0.5m/s à 2m/s. Elles sont à l'origine des douleurs tardives et peu localisées à type de brûlure. Ce sont majoritairement des nocicepteurs «*polymodaux*», c'est-à-dire qu'ils peuvent être activés par des stimuli de nature chimique, thermique ou mécanique.

- Les nocicepteurs de type C peuvent être caractérisés en fonction de l'expression différentielle de canaux ioniques spécifiques qui sont responsables de leur sensibilité aux différents stimuli douloureux. Ainsi, il est possible de distinguer **les nocicepteurs thermiques au chaud** exprimant les récepteurs TRPV1 (*acronyme anglais* pour Transient Receptor Potential Vanilloid type 1) qui s'activent en réponse à une température ressentie comme douloureuse (>43°C). Ces récepteurs peuvent également être stimulés chimiquement par la fixation des molécules de la famille des vanilloïdes, comme la capsaïcine qui est un composé irritant extrait du piment ou encore indirectement par le facteur de croissance nerveuse (*acronyme anglais*: NGF pour Nerve Growth Factor) et de nombreuses molécules inflammatoires comme les bradykinines, l'histamine et les prostaglandines. Par ailleurs, **les nocicepteurs thermiques au froid** (<28°C jusqu'à 8°C) expriment par exemple des récepteurs de type TRPM8 (*acronyme anglais* pour Transient Receptor Potential cation channel subfamily M8). Ces récepteurs sont également stimulés en présence des molécules mimant l'effet du froid, comme le menthol ou bien l'eucalyptol.

- Les nocicepteurs de type C peuvent aussi être caractérisés en fonction de la présence de différents marqueurs moléculaires. On distingue alors **les fibres C peptidergiques** qui synthétisent des neuropeptides, tels que la substance P et le CGRP (*acronyme anglais* pour Calcitonin Gene-Related Peptide). Elles expriment également les récepteurs à activité tyrosine kinase A (*acronyme anglais*: TrkA pour Tropomyosin receptor kinase A) du NGF. **Les fibres C non peptidergiques** expriment des récepteurs c-Ret (récepteurs à activité tyrosine kinase) activés par le facteur neurotrophique GDNF (*acronyme anglais* pour Glial-cell Derived Neurotrophic Factor) et possède généralement un site de liaison de forte affinité pour l'isolectine B4 (IB4). Ils expriment aussi les récepteurs puriginiques P₂X₃ de l'ATP. Dans cette catégorie, on peut aussi mentionner **les nocicepteurs C-MiHi** (*acronyme anglais* pour Mechanically insensitive and Heat insensitive), dit «silencieux». Ces fibres sont caractérisées par une insensibilité mécanique et thermique dans des conditions physiologiques, mais sont capables de développer une sensibilité après application de la capsaïcine [Schmidt et al., 1995]. Il est important de noter qu'une partie des fibres C ne sont pas des nocicepteurs. En effet, il existe une sous-population qui détecte des sensations agréables associées au toucher léger.

Cette hétérogénéité des nocicepteurs permet donc une détection adaptée et une transmission appropriée des informations nociceptives de la périphérie vers le système nerveux central, avec un premier relais qui s'effectue dans la corne dorsale de la moëlle épinière (Fig.1).

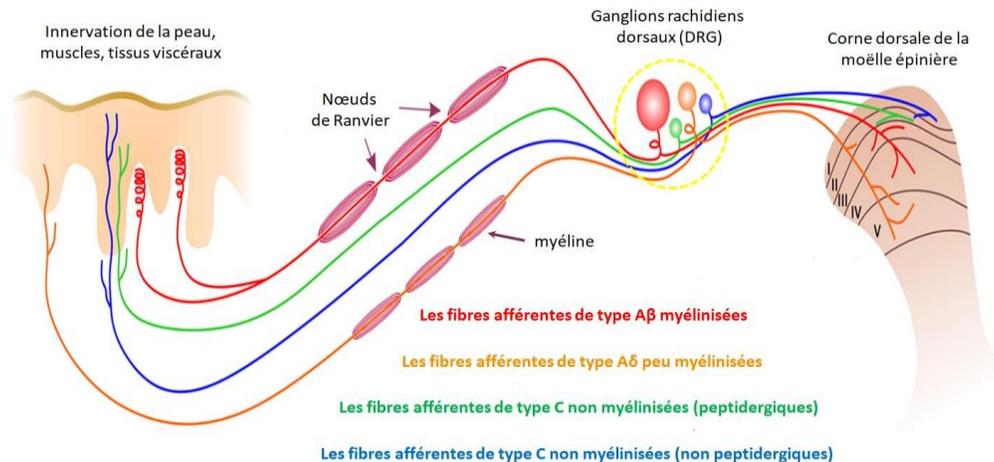


Fig. 1 Détection et transmission des messages nociceptifs de la périphérie vers le premier relais du système nerveux central, la moëlle épinière. Les nocicepteurs sont des terminaisons nerveuses libres innervant les tissus cutanés, musculaires et viscéraux. Les corps cellulaires des fibres afférentes primaires innervant le corps sont localisés dans les ganglions rachidiens dorsaux (DRG). Le message nociceptif se transmet à travers les fibres nociceptives A δ et C et arrive dans la corne dorsale de la moëlle épinière. Chaque sous-population de neurones sensitifs a une terminaison centrale distincte: tandis que les fibres afférentes non myélinisées se terminent dans les couches superficielles, les fibres de classe A se terminent dans les couches plus profondes de la moëlle épinière. D'après [Bennett et al., 2019](#).

1.2.2. L'intégration médullaire de l'information nociceptive

La moëlle épinière constitue le premier relais d'intégration et de modulation des messages nociceptifs provenant de la périphérie. Elle est localisée dans le canal rachidien et prolonge le tronc cérébral. Selon son emplacement rostro-caudal, la moëlle épinière est divisée en quatre régions: cervicale, thoracique, lombaire et sacrée dont deux sont distinguables par un élargissement supérieur (cervical) et inférieur (lombo-sacré) ([Fig.2A](#)). Chaque région est composée de plusieurs segments. Le nombre de segments peut varier légèrement en fonction de l'espèce. Ainsi, on distingue par exemple 31 segments chez l'Homme, tandis que la souche expérimentale de souris C57BL/6j possèdent 34 segments au total [[Harrison et al., 2013](#)]. Les nerfs spinaux, émergeant de la moëlle épinière au niveau de chaque espace intervertébral, sont constitués d'une racine dorsale sensitive et d'une racine ventrale motrice. Ce sont donc des nerfs mixtes. Au niveau lombo-sacré, les racines des nerfs spinaux forment ce que l'on appelle «*la queue-de-cheval*». La moëlle épinière est constituée de deux structures distinctes: la substance blanche périphérique contenant les faisceaux d'axones ascendants et descendants, et

la substance grise centrale contenant les corps cellulaires des neurones et des cellules gliales et présentant une forme caractéristique en «H» ou de «papillon» (Fig.2B).

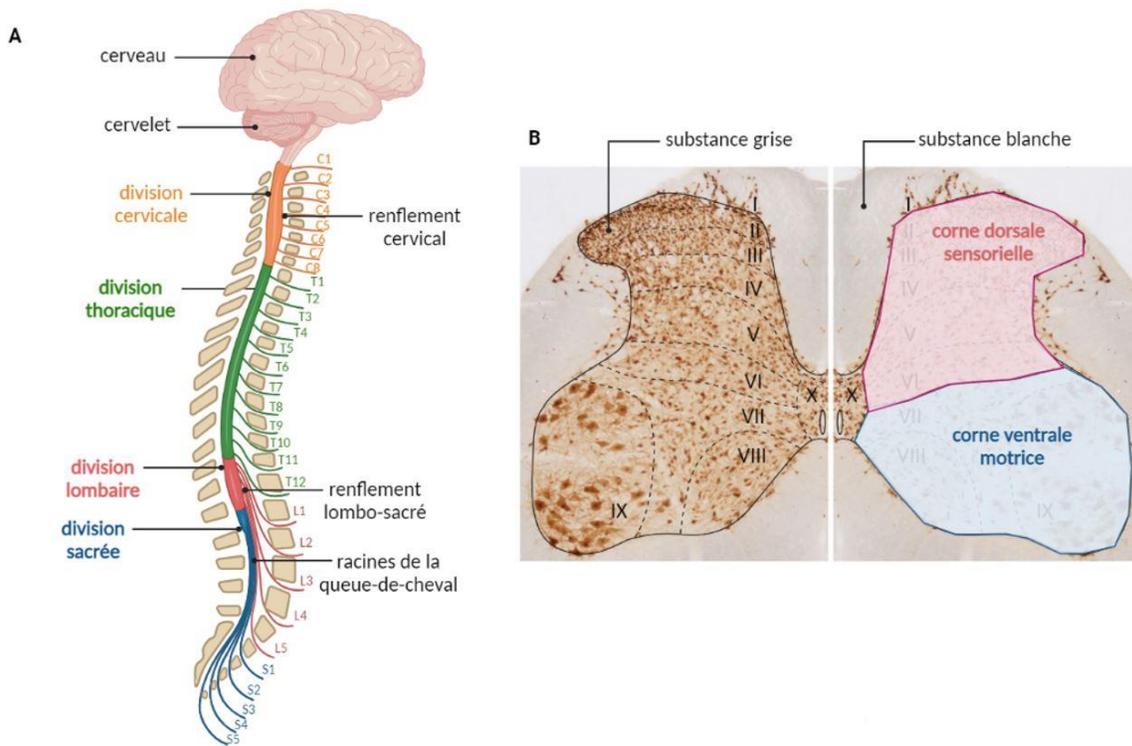


Fig. 2 La moëlle épinière et son organisation laminaire. (A) La moëlle épinière présente quatre divisions: cervicale, thoracique, lombaire et sacrée. Les régions cervicale et lombaire sont reconnaissables par un renflement supérieur et inférieur, respectivement. Les racines nerveuses émergent des segments allant de L2 à S5 forment un faisceau de nerfs composant la «queue-de-cheval». (B) Organisation laminaire de la moëlle épinière. Coupe transversale de la moëlle épinière de rat au niveau lombaire (immunomarquage anti-NeuN marquant spécifiquement les neurones). La moëlle épinière est formée par la substance blanche périphérique et par la substance grise en forme de «papillon». Selon l'organisation cytoarchitectonique de Rexed, la substance grise est divisée en plusieurs couches: de I à VI formant la corne dorsale sensorielle et de VII à IX la corne ventrale motrice. Au centre de la substance grise se trouve le canal de l'épendyme entouré par la zone périépendymaire (couche X). Adapté d'après [Todd, 2010](#). Réalisé avec BioRender®

La forme et la taille de la matière grise varient en fonction du niveau de la moëlle épinière. La matière grise se caractérise par une organisation laminaire très précise. En effet, selon la nomenclature de Rexed [[Rexed, 1952](#)], basée sur des critères anatomo-fonctionnels et cytologiques, la matière grise est constituée de dix couches ou «laminae». Les couches de I à VI forment la corne dorsale de la moëlle épinière qui reçoit essentiellement les projections des fibres afférentes nociceptives. La couche II, dite aussi substance gélatineuse de Rolando, est

subdivisée en deux parties: couche II externe (Ile) et couche II interne (Ili). La couche II ne contient pas de fibres myélinisées et présente donc un aspect translucide. La couche VII correspond à la zone intermédiaire à partir de laquelle s'étend la corne ventrale, contenant principalement des motoneurones, jusqu'à la couche IX. La couche X entoure le canal central et détermine la zone périépendymaire (**Fig.2B**). Les afférences nociceptives primaires forment le faisceau de Lissauer avant de projeter principalement vers les laminae I, II et V de la corne dorsale de la moëlle épinière (**Fig.3**). Plus précisément, les fibres A δ et C peptidergiques innervent principalement les laminae superficielles I et Ile, mais les fibres A δ projettent également leurs axones vers des couches plus profondes, notamment la couche V. Les fibres C non peptidergiques établissent des synapses avec les neurones spinaux dans la couche Ili, tandis que les fibres myélinisées A β non nociceptives projettent vers les couches III, IV et V [[Bajwa et al., 2003](#); [D'Mello et Dickenson, 2008](#); [Basbaum et al., 2009](#)].

Les neurones de la corne dorsale de la moëlle épinière peuvent être classés soit en fonction de leurs connexions synaptiques directes avec les afférences primaires, soit en fonction de la direction de projection de leurs axones. En fonction des connexions synaptiques établies, on distingue notamment **les neurones nociceptifs spécifiques** dont les corps cellulaires sont situés dans les couches superficielles I, II et III [[Serpell, 2006](#)]. Ils présentent un champ récepteur limité et font des synapses exclusivement avec des fibres nociceptives A δ et C [[Serpell, 2006](#); [D'Mello et Dickenson, 2008](#)]. Leur activation se fait en réponse à des stimuli de haute intensité. Il existe également une deuxième population de neurones dont les corps cellulaires se trouvent majoritairement dans la couche V mais qu'on retrouve aussi dans la couche VI. Ce sont **les neurones nociceptifs non spécifiques**, appelés aussi les neurones à large gamme dynamique (*acronyme anglais*: WDR pour Wide Dynamic Range). Ils créent des contacts monosynaptiques directs avec les fibres A δ et A β ou bien des contacts polysynaptiques indirects avec les fibres C et sont ainsi capables de répondre à la fois à des stimuli nociceptifs et non nociceptifs [[D'Mello et Dickenson, 2008](#); [Basbaum et al., 2009](#)]. Leur activité est proportionnelle à l'intensité de stimulation, c'est-à-dire qu'au fur et à mesure que l'intensité s'accroît, la fréquence de décharge des neurones augmente aussi. Ces neurones sont également connus sous le nom des neurones à convergence. En effet, différents types d'informations en provenance des muscles, des

viscères et de la peau peuvent converger vers des neurones WDR communs et causer des sensations de douleur référée, c'est-à-dire une douleur d'origine viscérale ou musculaire rapportée au champ récepteur d'un neurone spinal nocicepteur [Basbaum et al., 2009]. Par exemple, un foie enflé peut exercer une pression sur les nerfs et causer ainsi de la douleur dans l'épaule droite. Enfin, il existe aussi un autre type de neurones dits *non nociceptifs spécifiques* qui reçoivent des projections de fibres myélinisées A β de gros calibre et sont localisés dans les couches III, IV et V [Cohen et al., 2018].

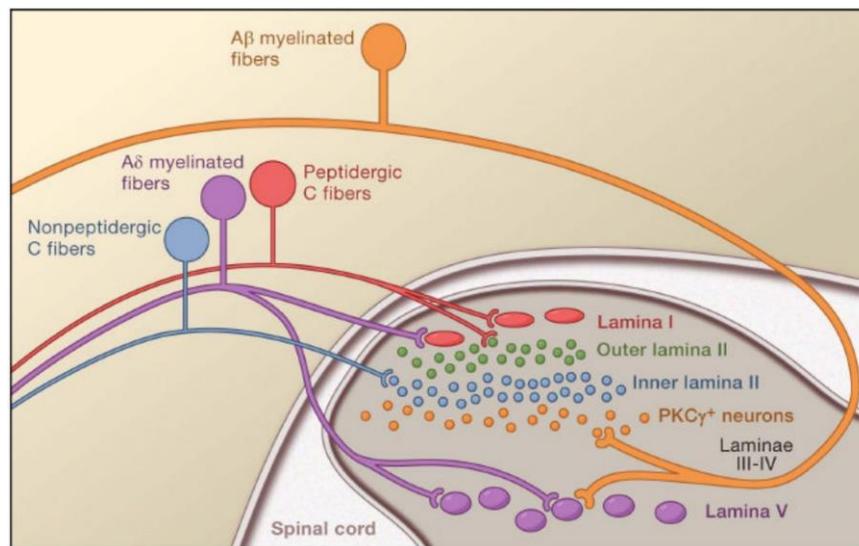


Fig. 3 Connexions des fibres afférentes primaires dans la corne dorsale de la moëlle épinière. Les fibres nociceptives A δ (violet) et C peptidergiques (rouge) innervent les couches I et II où elles établissent des connexions avec les neurones de projection superficiels. Une partie des fibres A δ se terminent aussi dans la couche V où elles font synapses avec les neurones de projection de la couche profonde. Les fibres nociceptives C non peptidergiques (bleu) envoient leurs axones dans la couche III où elles interagissent avec les interneurons locaux. Les fibres A β non nociceptives projettent dans les couches III, IV et V et créent des connexions avec les interneurons spinaux exprimant la PKC γ (protéine kinase C, isoforme γ). D'après Basbaum et al., 2009.

Comme mentionné précédemment, les neurones de la corne dorsale de la moëlle épinière peuvent également être classés en fonction de leurs cibles. Ainsi, on distingue d'une part les interneurons intrinsèques, appelés aussi *des interneurons locaux* du fait qu'ils projettent leurs axones uniquement au niveau de la corne dorsale, et d'autre part *les neurones de projection* dont les axones sont organisés en faisceaux ascendants permettant d'acheminer les informations vers les centres supra-spinaux.

Les interneurones locaux jouent un rôle important dans l'intégration et la modulation de l'information nociceptive. Ils sont principalement localisés dans la lamina II où ils exercent à la fois une action post-synaptique excitatrice (à neurotransmission glutamatergique) ou une action inhibitrice (GABAergique et/ou glycinergique) [Millan, 2002; D'Mello et Dickenson, 2008]. Les **interneurones excitateurs** agissent donc principalement via le neurotransmetteur glutamate mais aussi par des neuropeptides, tels que la substance P ou bien des cholécystokinines. Certains interneurones excitateurs peuvent former des connexions polysynaptiques avec les neurones de projection et modifier ainsi d'une manière indirecte leur activité ou bien influencer directement par rétrocontrôle l'activité des terminaisons des fibres afférentes nociceptives. Les interneurones excitateurs présents dans la lamina III expriment la protéine PKC γ (protéine kinase C, isoforme γ) qui semble être impliquée dans la douleur persistante induite par une blessure [Basbaum et al., 2009]. Les **interneurones inhibiteurs** quant à eux établissent des contacts monosynaptiques avec les neurones de projection et les terminaisons des afférences primaires et agissent principalement via les récepteurs de type A ou de type B du GABA (acide γ -aminobutyrique) ou via le récepteur GlyR de la glycine. Ils peuvent également exprimer des récepteurs muscariniques et nicotiniques à l'acétylcholine ou aussi exercer leur inhibition en libérant des substances opioïdes endogènes (enképhaline, dynorphine, endorphines) permettant ainsi d'atténuer la transmission des informations nociceptives [Bajwa et al., 2003]. Les neurones de projection sont principalement localisés dans la lamina I ou II [Bajwa et al., 2003]. La grande majorité de ces neurones expriment le récepteur NK1 (*acronyme anglais* pour Neurokinin 1 receptor) de la substance P [D'Mello et Dickenson, 2008]. Les axones des neurones de projection forment des faisceaux et projettent vers les structures supra-spinales qui soutiennent la perception consciente de la douleur.

1.2.3. Les voies ascendantes nociceptives et l'intégration corticale

Il existe différentes voies ascendantes nociceptives qui assurent la transmission à l'étage supra-spinal (Fig.4). Parmi ces voies, on distingue notamment:

- **Le tractus spino-thalamique:** Les fibres du faisceau spino-thalamique, provenant principalement des neurones de projection des couches I, II, IV – VI, sont localisées dans la partie antéro-latérale de la moëlle épinière et constituent la principale voie de

transmission des informations nociceptives vers les structures supra-spinales [Bajwa et al., 2003; Marchand, 2008]. Ces fibres sont à l'origine de deux voies ascendantes distinctes: d'une part la voie dorsale qui code pour la composante sensori-discriminative et qui informe sur la nature et la localisation corporelle de la douleur et d'autre part la voie ventrale qui est plutôt impliquée dans l'aspect affectivo-émotionnel de la douleur [Cohen et al., 2018]. Le tractus spino-thalamique traverse la ligne médiane de la moëlle épinière ce qui fait que l'information nociceptive est relayée et traitée dans l'hémisphère cérébral controlatéral, bien qu'un petit nombre d'axones projettent aussi ipsilatéralement [Bajwa et al., 2003]. Après avoir décussé dans le tronc cérébral, les fibres de la voie spino-thalamique dorsale atteignent le noyau ventro-postéro-latéral du thalamus. Des projections thalamo-corticales assurent ensuite la transmission du message nociceptif au cortex sensitif (aires somatosensorielles primaire SI et secondaire SII) et le cortex insulaire [Bajwa et al., 2003; Cohen et al., 2018]. La voie spino-thalamique ventrale projette vers la partie médiane du thalamus qui achemine ensuite l'information vers le cortex cingulaire antérieur et le cortex préfrontal.

- **Les voies spino-réticulaire et spino-mésencéphalique:** Ces deux voies sont impliquées dans les réponses réflexes autonomes et les aspects comportementaux et motivationnels de la douleur [Bajwa et al., 2003]. Le tractus spino-réticulaire projette de manière ipsi- et controlatérale vers la formation réticulée pour se terminer dans le thalamus [Renthal, 2015]. Le faisceau spino-mésencéphalique projette controlatéralement vers le tronc cérébral dans la substance grise périaqueducule (*acronyme anglais:* PAG pour Periaqueductal Gray) et le noyau parabrachial en passant par la médulla rostro-ventrale (*acronyme anglais:* RVM pour Rostral Ventromedial Medulla). De nombreuses collatérales peuvent alors atteindre l'hypothalamus, le thalamus et des structures limbiques, telles que l'amygdale qui à travers différentes connexions synaptiques est capable d'acheminer l'information nociceptive vers le cortex insulaire et le cortex cingulaire, soulignant ainsi leur implication dans l'aspect émotionnel et comportemental de la douleur [Bajwa et al., 2003; Basbaum et al., 2009; Renthal, 2015].

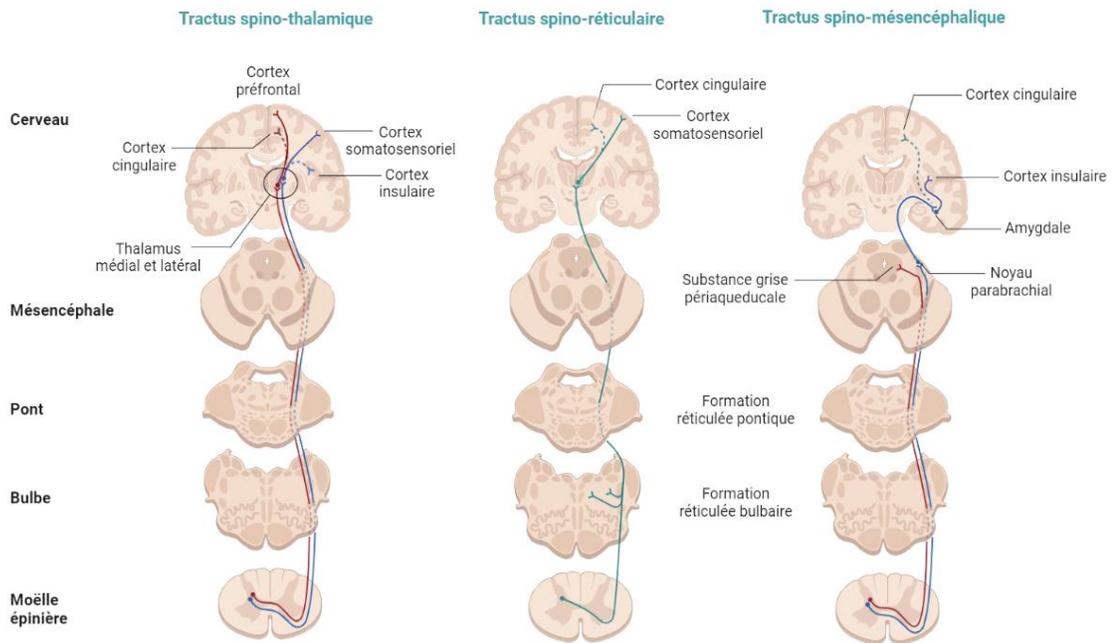


Fig. 4 Les voies nociceptives ascendantes. Les trois principales voies ascendantes qui assurent la transmission des informations nociceptives de la moëlle épinière vers les centres supra-spinaux sont représentées: le tractus spino-thalamique, le tractus spino-réticulaire et le tractus spino-mésencéphalique. Ces voies ascendantes permettent de recruter de nombreuses structures corticales et sous-corticales impliquées dans le traitement sensori-discriminatif et affectivo-émotionnel de l'information nociceptive. Réalisé avec BioRender®

Bien que l'activation de ces voies ascendantes soit nécessaire à la transmission de l'information nociceptive au niveau supra-spinal, elle ne garantit pas à elle seule la perception consciente de la douleur. L'intégration consciente de l'expérience douloureuse implique le recrutement d'une circuiterie cérébrale complexe [Bajwa et al., 2003] (Fig.5). Des études en neuroimagerie humaine ont permis d'identifier les zones cérébrales le plus souvent activées par des stimuli douloureux: le thalamus, le cortex somatosensoriel, le cortex insulaire, le cortex cingulaire et le cortex préfrontal. D'autres régions, telles que le cortex pré-moteur, le noyau accumbens, les ganglions de la base, l'amygdale, l'hippocampe et le cervelet, se retrouvent également impliquées dans ce réseau cérébral mais de manière non systématique [Apkarian et al., 2005]. Cependant, toutes ces différentes régions ne s'activent pas de manière simultanée.

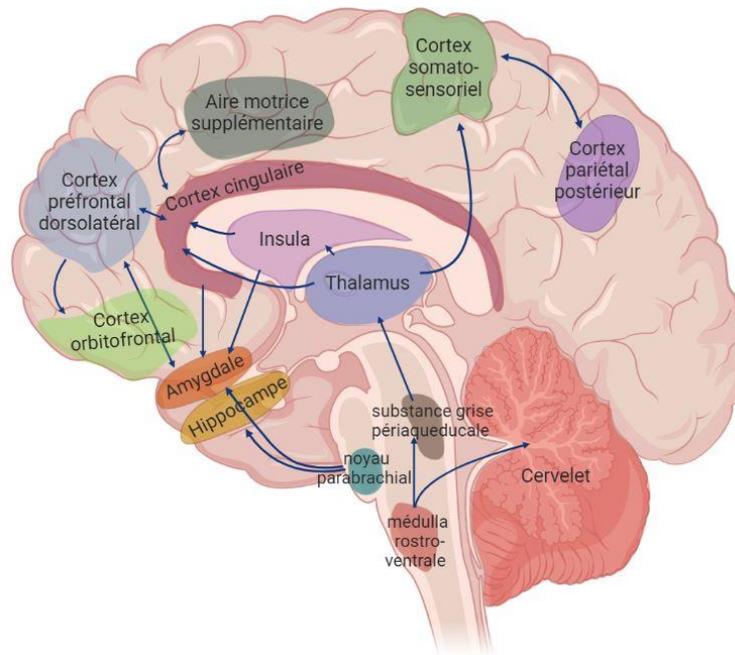


Fig. 5 Structures cérébrales impliquées dans le traitement de l'information nociceptive et la perception consciente de la douleur. La matrice nociceptive sous-tendant la composante sensori-discriminative comprend principalement le thalamus et le cortex somatosensoriel, avec une activation coordonnée de l'insula postérieure, le cortex cingulaire et l'aire motrice supplémentaire. La matrice perceptive impliquée dans la composante cognitive de la douleur inclut le cortex insulaire antérieur, le cortex préfrontal dorsolatéral, le cortex orbitofrontal et le cortex pariétal postérieur. La composante affectivo-émotionnelle comprend des régions limbiques (amygdale, hippocampe) ainsi que le cortex cingulaire antérieur, le cortex insulaire et le cervelet. Les flèches représentent les connexions existantes entre les différentes structures. Adapté d'après [Riganello et al., 2021](#). Réalisé avec BioRender®

En effet, des enregistrements électrophysiologiques par EGG (électroencéphalographie) réalisés chez l'Homme ont permis de distinguer trois vagues d'activation cérébrale en fonction de leur déroulement temporel [[Garcia-Larrea et Bastuji, 2018](#)]. Ainsi, le message nociceptif transmis par les projections ascendantes active un premier réseau cortical incluant le cortex insulaire postérieur, le cortex somatosensoriel primaire, le cortex cingulaire, l'aire motrice supplémentaire et l'amygdale. Ces régions cérébrales s'activent de manière coordonnée à 120-130ms après une stimulation nociceptive et sont spécifiquement impliquées dans la composante sensori-discriminative sous-tendant la représentation somatique (corporelle) de la sensation nociceptive. Cette information est ensuite rapidement transmise à un réseau de second ordre (latence d'activation 130-150ms) impliqué dans la perception consciente de la douleur: le cortex insulaire antérieur, le cortex préfrontal dorsolatéral, le cortex pariétal postérieur et le cortex

orbitofrontal. La perception consciente de la douleur est davantage soumise à une modulation sous-tendue par un réseau de troisième ordre impliquant l'hippocampe et le cortex cingulaire antérieur (latence d'activation 150-180ms) qui permettent une réévaluation de la sensation douloureuse en fonction de l'état physique et émotionnel ainsi que les expériences antérieures de l'individu. Ainsi, l'expérience douloureuse n'est pas régie par une matrice de douleur unique d'organisation fixe mais fait plutôt intervenir un système complexe adaptatif composé de plusieurs réseaux dont l'activité coordonnée permet le passage depuis une nociception corticale jusqu'à une douleur consciente et subjective [[Garcia-Larrea et Bastuji, 2018](#)]. Certaines de ces régions cérébrales, telles que le cortex cingulaire antérieur, l'amygdale et l'hypothalamus sont aussi impliquées dans le contrôle descendant modulateur de la douleur, notamment en envoyant des projections vers la substance grise périaqueducale.

1.2.4. Les voies descendantes modulatrices

Les voies de contrôle descendantes supra-spinales vont à leur tour moduler la façon dont la moëlle épinière traite et encode l'information nociceptive. Les fibres de ces voies modulatrices sont relayées principalement dans le tronc cérébral, notamment dans la PAG et la RVM, avant d'accéder à la corne dorsale de la moëlle épinière via le funicule dorsolatéral. Les voies descendantes nociceptives peuvent exercer leur effet sur plusieurs éléments spinaux, notamment par des connexions mono- ou polysynaptiques avec les terminaisons nerveuses des afférences primaires, des neurones de projection ou encore des interneurons intrinsèques. Divers neurotransmetteurs sont impliqués dans la modulation descendante de la douleur, tels que la noradrénaline, la sérotonine (5-HT: 5-hydroxytryptamine), la dopamine et les opioïdes endogènes [[Cohen et Mao, 2014](#)].

Le système modulateur PAG-RVM est la principale voie descendante. La PAG est fortement interconnectée avec l'hypothalamus et l'amygdale et possède des connexions réciproques avec la RVM [[Heinricher et al., 2009](#)]. La RVM projette directement sur la corne dorsale de la moëlle épinière et établit des connexions avec des interneurons spinaux des couches I, II et V [[Heinricher et al., 2009](#); [Cohen et al., 2018](#)]. La RVM contient deux populations de cellules: des

cellules appelées «ON» et des cellules dites «OFF» qui exercent un effet facilitateur ou inhibiteur, respectivement, sur la transmission du signal nociceptif [Cohen et al. , 2018]. Les cellules «OFF» possèdent une activité basale importante. Elles sont indirectement activées par des opioïdes et inhibées par une stimulation nociceptive. Les cellules «ON» sont silencieuses en condition basale. Elles sont inhibées par les opioïdes et s'activent lors de l'arrivée d'une stimulation douloureuse ce qui tend à amplifier le signal nociceptif [Millan, 2002; Heinricher et al., 2009]. Le contrôle inhibiteur de la RVM se fait principalement via une médiation sérotoninergique et noradrénergique [Cohen et al., 2018]. La déplétion de ces deux neurotransmetteurs, comme cela se produit dans la dépression, peut conduire à une dérégulation au niveau du système PAG-RVM résultant en une amplification de l'intensité douloureuse [Bair et al., 2003]. Ceci pourrait expliquer le fait qu'une grande partie des patients dépressifs manifestent souvent des sensations douloureuses comorbides et que certains traitements antidépresseurs, notamment ceux qui assurent l'inhibition de la recapture de la sérotonine et la noradrénaline (*acronyme anglais*: SNRIs pour Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors), montrent des effets bénéfiques à la fois sur les symptômes douloureux et dépressifs.

D'autres structures, telles que le noyau parabrachial et l'hypothalamus, sont aussi impliquées dans le contrôle descendant nociceptif. Elles sont étroitement liées au système PAG-RVM. La stimulation de l'hypothalamus latéral déclenche un effet anti-nociceptif via l'activation des neurones noradrénergiques du système PAG-RVM [Millan, 2002]. Les voies issues du noyau parabrachial ciblent principalement la RVM et les couches superficielles de la moëlle épinière. La stimulation de cette région induit une inhibition de l'activité des neurones nociceptifs et non nociceptifs au niveau spinal [Millan, 2002]. En outre, la médulla ventro-latérale caudale possède des cellules dont les caractéristiques sont similaires à celles retrouvées dans la RVM, ce qui suggère que cette région pourrait aussi exercer un contrôle inhibiteur sur les neurones nociceptifs spinaux [Heinricher et al., 2009].

Bien que la douleur aiguë joue généralement un rôle d'adaptation en condition physiologique, dans certains cas elle peut persister même après la disparition de la cause initiale et perdre donc son rôle protecteur. D'après le livre blanc de la douleur de la SFETD (Société Française

d'Etude et de Traitement de la Douleur), la douleur aiguë doit être considérée comme un symptôme facilitant la démarche diagnostique et empêchant l'évolution vers un état pathologique [SFETD, 2017]. Cependant, à l'heure actuelle il est difficile d'identifier les patients à risque pouvant présenter une évolution défavorable de leur douleur. C'est pour cette raison que le traitement précoce de la douleur aiguë est si important dans la prévention de la douleur chronique.

1.3. La douleur chronique

La douleur chronique est une douleur qui persiste ou récidive au-delà du délai habituel de récupération, généralement fixé en clinique à plus de 3 mois [Treede et al., 2019]. N'ayant aucune fonction protectrice pour l'organisme, ce type de douleur est considéré comme une maladie à part entière, dite «*douleur-maladie*». La douleur chronique touche 10% de la population mondiale, soit approximativement 60 millions de personnes [Goldberg et McGee, 2011], avec une prévalence moyenne de 27% dans la population générale adulte en Europe [Leadley et al., 2012]. En France, il est estimé que la prévalence de la douleur chronique dans la population adulte de plus de 18 ans varie entre 27.2% et 32.7% [Chenaf et al., 2018]. La douleur chronique affecte davantage les femmes et les catégories socio-professionnelles les moins favorisées et son incidence augmente avec l'âge [Leadley et al., 2012; Chenaf et al., 2018; Hadjiat et al., 2018]. En Europe, le coût socio-économique de la douleur chronique représente 3% à 10% du produit intérieur brut: les coûts indirects résultants du fort impact négatif sur la qualité de vie des patients, et les hospitalisations étant le principal facteur influençant les coûts directs [Breivik et al., 2013; Hadjiat et al., 2018]. La douleur chronique présente souvent une résistance aux traitements pharmacologiques, ce qui rend difficile sa prise en charge et incite davantage le patient à avoir recours à des thérapies complémentaires. Elle est souvent multifactorielle et induit des répercussions aussi bien physiques qu'émotionnelles menant à une détérioration progressive des capacités fonctionnelles et relationnelles des personnes qui en sont atteintes [Turk et al., 2016; Hadjiat et al., 2018]. La douleur chronique regroupe de nombreux syndromes douloureux. La 11^{ème} révision de la Classification Internationale des Maladies (CIM-11) fait apparaître la douleur chronique sous deux catégories différentes:

1) La douleur chronique primaire qui est considérée comme une maladie en soi. Elle peut toucher une ou plusieurs parties du corps et est associée à une détresse émotionnelle importante (anxiété, colère, agressivité, frustration, humeur dépressive) et/ou à une incapacité fonctionnelle (interférant avec les activités de la vie quotidienne ou le contexte socio-professionnel) et ne s'explique pas mieux par un autre diagnostic de douleur chronique (diagnostic différentiel: douleur chronique secondaire) [Nicholas et al., 2019]. Les douleurs chroniques primaires sont regroupées en 6 sous-catégories:

- les douleurs chroniques généralisées (ex. fibromyalgie);
- le syndrome douloureux régional complexe de types 1 ou 2 (*acronyme anglais*: CRPS pour Complex Regional Pain Syndrom);
- les céphalées chroniques primaires (ex. migraine) ou les douleurs orofaciales chroniques (ex. syndrome de la bouche brûlante);
- les douleurs viscérales chroniques primaires (ex. le syndrome du côlon irritable, syndrome de douleur pelvienne chronique);
- les douleurs musculo-squelettiques chroniques primaires (ex. douleurs thoraciques chroniques, lombalgies).

2) La douleur chronique secondaire qui est considérée comme un symptôme d'une maladie sous-jacente [Nicholas et al., 2019]. Ceci fait référence au fait que, dans certains cas, la douleur chronique peut persister même si le diagnostic de la maladie initiale causant la douleur n'est plus pertinent. La douleur chronique secondaire est davantage classée en différents sous-groupes qui incluent:

- les douleurs liées aux cancers;
- les douleurs chroniques post-chirurgicales ou post-traumatiques;
- les douleurs neuropathiques chroniques;
- les céphalées chroniques ou les douleurs orofaciales chroniques secondaires;
- les douleurs viscérales chroniques secondaires;
- les douleurs musculo-squelettiques chroniques secondaires.

Cette classification reconnaît la douleur chronique primaire comme une maladie à part entière. Elle permet aux cliniciens d'apposer un diagnostic plus précis et d'élaborer un plan de gestion mieux individualisé pour la prise en charge adéquate des patients douloureux.

En fonction des mécanismes physiopathologiques, les douleurs chroniques peuvent également être classées en 3 groupes différents:

- **Les douleurs par excès de nociception:** Ce sont les douleurs les plus fréquemment rencontrées en pratique hospitalière. Elles résultent généralement d'une lésion réelle et se caractérisent par la mise en place d'une réaction inflammatoire de nature chronique. Bien qu'en condition physiologique les processus inflammatoires jouent un rôle protecteur contre les agents pathogènes et assurent la réparation des tissus lésés, en condition pathologique ils ne présentent aucun effet bénéfique et peuvent favoriser l'installation d'une douleur chronique. L'inflammation chronique secondaire à la lésion tissulaire entraîne la libération de divers médiateurs pro-inflammatoires (prostaglandines, cytokines, chimiokines, protéases, neuropeptides, facteurs de croissance) qui sont capables d'induire une sur-stimulation des nocicepteurs, conduisant ainsi à une transmission excessive de l'information douloureuse [Muley et al., 2016]. Ce type de douleurs, appelées également douleurs inflammatoires, accompagnent souvent les patients atteints de pathologies bénignes (ex. douleurs post-opératoires) ou de pathologies malignes d'origine évolutive (ex. cancer, SIDA). Les douleurs inflammatoires sont généralement assez sensibles aux traitements par anti-inflammatoires non-stéroïdiens qui possèdent également des propriétés antalgiques visant à atténuer la douleur périphérique associée [Ronchetti et al., 2017]. Cependant, l'utilisation de ces médicaments n'est pas anodine car ils peuvent être responsables d'effets indésirables plus ou moins graves, tels que des maux de tête, des vertiges, une insuffisance rénale, des dommages gastro-intestinaux ou des problèmes cardio-vasculaires.
- **Les douleurs neuropathiques,** appelées encore des douleurs neurogènes: La douleur neuropathique est définie comme une douleur consécutive à une lésion ou une maladie affectant le système somatosensoriel [Treede et al., 2019]. Les douleurs neuropathiques

peuvent persister de manière continue ou se manifester par des épisodes douloureux récurrents. Selon la classification de l'IASP proposée pour la CIM-11, les douleurs neuropathiques peuvent être d'origine périphérique ou centrale [Gierthmühlen et Baron, 2016; Scholz et al., 2019]. La douleur neuropathique périphérique est associée à des atteintes du système nerveux périphérique. Cette catégorie inclut la névralgie du trijumeau caractérisée par des crises de douleurs faciales intenses souvent comparables à un choc électrique; la douleur neuropathique chronique associée à une lésion traumatique d'un nerf périphérique (ex. douleurs chroniques post-opératoires, douleurs fantômes post-traumatiques); les polyneuropathies qui sont liées par exemple à des troubles métaboliques comme le diabète ou à une intoxication (alcoolisme), les névralgies post-herpétiques associées à une infection (ex. virus du zona); les radiculopathies liées à la compression d'une racine nerveuse comme pour le nerf sciatique par exemple. Les douleurs neuropathiques d'origine centrale surviennent à la suite d'une lésion du système nerveux central (moëlle épinière, cerveau) et peuvent être liées à des atteintes cérébrales causées par un accident vasculaire cérébral (AVC) ou encore certaines maladies neurologiques, telles que la sclérose en plaques ou l'épilepsie. Les douleurs neuropathiques ne répondent généralement pas, ou ne sont que partiellement sensibles, aux traitements analgésiques [Finnerup et al., 2015; Gierthmühlen et Baron, 2016].

- **Les douleurs nociplastiques:** Elles sont également connues sous le nom de douleurs dysfonctionnelles, psychogènes ou idiopathiques. Les douleurs nociplastiques se manifestent par une sensation douloureuse (ex. des palpitations, des tensions musculo-squelettiques) en l'absence de lésions anatomiques apparentes. D'après l'IASP, les douleurs nociplastiques résultent d'une altération de la nociception malgré l'absence de preuve claire d'une lésion tissulaire réelle ou potentielle causant l'activation des nocicepteurs périphériques, ou encore l'absence d'évidence d'une maladie ou d'une lésion affectant le système somatosensoriel à l'origine de la douleur [IASP, Terminologie]. En clair, ce diagnostic est posé lorsque les deux catégories citées précédemment (douleurs par excès de nociception, douleurs neuropathiques) sont

écartées et les mécanismes physiopathologies ne sont pas clairement identifiés. Les principales douleurs nociplastiques incluent des syndromes douloureux répertoriés selon la CIM-11 dans la catégorie des douleurs chroniques primaires, telles que la fibromyalgie, le CRPS, le syndrome de la bouche brûlante, le syndrome du côlon irritable, les céphalées de tensions [Fitzcharles et al., 2021]. Les douleurs nociplastiques sont souvent accompagnées de fatigue, des troubles du sommeil et de l'humeur. Les sensations douloureuses peuvent fluctuer à la fois selon leur localisation et leur intensité et peuvent être aggravées par des facteurs psychologiques (deuil, problèmes familiaux et professionnels, conflits avec l'entourage), d'où la nécessité d'un traitement analgésique associé à un soutien psychologique afin de soulager la souffrance du patient [Fitzcharles et al., 2021].

Dans la pratique clinique, les douleurs peuvent souvent coexister ce qui fait référence aux douleurs mixtes [Freyenhagen et al., 2019]. C'est le cas des douleurs cancéreuses qui présentent à la fois une composante inflammatoire et une composante neuropathique. Ce sont des douleurs complexes qui peuvent être liées au cancer lui-même mais aussi aux traitements de la pathologie (chimiothérapie, radiothérapie) [Treede et al., 2019]. Les lombosciatiques, qui associent une composante inflammatoire et une composante neuropathique, sont également considérées comme étant des douleurs mixtes. D'après Freyhagen et collègues, la douleur mixte est un chevauchement complexe des différents types de douleurs d'étiologie connue (nociceptive, neuropathique, nociplastique) qui peuvent se manifester dans n'importe quelle combinaison et qui agissent simultanément pour provoquer une douleur dans le même territoire du corps. Chacune de ces trois composantes peut être cliniquement prédominante à tout moment. La douleur mixte peut être de nature aiguë ou chronique [Freyenhagen et al., 2019]. A l'heure actuelle, il n'existe aucune définition formelle pour le terme de «*douleur mixte*», ce qui rend difficile l'identification des patients qui en sont atteints. Ceci est en grande partie du au fait que les mécanismes physiopathologiques sous-tendant ce type de douleur ne sont pas bien identifiés: il n'est pas claire si les douleurs mixtes résultent d'un mécanisme physiopathologique indépendant ou s'il s'agit de la manifestation simultanée des mécanismes neuropathiques et nociceptifs. Cette ambiguïté est à l'origine du manque d'outils de dépistage

et de diagnostic, et rend difficile l'élaboration de recommandations pour la prise en charge de la douleur mixte.

Ce travail de thèse s'intéresse en particulier à la douleur neuropathique chronique. Par conséquent, le paragraphe qui suit abordera plus en détails les signes cliniques caractéristiques associés à ce type de douleurs.

2. Douleur neuropathique chronique

La prévalence des douleurs chroniques présentant des caractéristiques neuropathiques se situe entre 6.9% et 10% dans la population générale [van Hecke et al., 2014]. En pratique clinique, le diagnostic d'une douleur neuropathique repose sur un interrogatoire suivi d'un examen clinique réalisé souvent au chevet du patient. L'interrogatoire est une étape importante dans le diagnostic et la prise en charge des patients douloureux. L'utilisation des outils de dépistage s'avère très utile pour estimer la probabilité qu'une douleur soit d'origine neuropathique. On peut notamment citer la DN4 (Douleur Neuropathique en quatre questions) qui a été validée chez l'adulte [Bouhassira et al., 2005]. La DN4 est rapide et simple d'utilisation. Il comporte une partie «*interrogatoire*» constituée de 7 items et une partie «*examen clinique*» constituée de 3 items. Ces 10 items sont regroupés en 4 questions auxquelles le patient doit apporter une réponse par «*oui*» ou «*non*». A la fin du questionnaire, 1 point est attribué à chaque item positif et un score de 0 à chaque item négatif. La somme obtenue donne le score final du patient: si le score est égal ou supérieur à 4/10, la douleur neuropathique est probable. La DN4 permet une identification correcte à 86% des patients neuropathiques et présente une sensibilité (82.9%) et une spécificité (89.9%) assez importantes [Bouhassira et al., 2005].

La distinction entre une douleur neuropathique et une douleur par excès de nociception est rendue possible grâce à l'examen clinique dont le but est de rechercher des symptômes et des signes caractéristiques à l'aide des tests sensoriels quantitatifs [Magrinelli et al., 2013] (Fig.6). En effet, les douleurs neuropathiques présentent des signes spécifiques qui peuvent être soit positifs (gain de fonction somatosensorielle) soit négatifs (perte de fonction somatosensorielle) [Gierthmühlen et Baron, 2016; Colloca et al., 2017; Zilliox, 2017]. Les **signes positifs** peuvent

être d'origine **spontanée** (se manifestant en l'absence de tout stimulus) ou **provoquée** (induites par divers stimuli tactiles et thermiques peu ou non douloureux) [Finnerup et al., 2015]. Les douleurs spontanées, dont l'intensité varie généralement au fil du temps, peuvent être permanentes (brûlure, piqûre, fourmillement, sensation d'étouffement, de broiement) ou paroxystiques (coups de poignard, décharges électriques, élancements) [Herr, 2004]. Dans les douleurs provoquées, le plus souvent les patients rapportent une hypersensibilité mécanique ou une hypersensibilité thermique au chaud ou au froid. Ceci permet de distinguer deux types d'hypersensibilité [Baron, 2009; Colloca et al., 2017]. Le premier type d'hypersensibilité est connu sous le nom d'allodynie qui est définie comme une douleur provoquée par un stimulus normalement perçu comme non douloureux [Zilliox, 2017]. En fonction de la nature du stimulus, il est possible de distinguer différents types d'allodynie. L'allodynie mécanique est déclenchée par un stimulus statique: même une légère pression peut provoquer une douleur intense. L'allodynie dynamique est provoquée par un stimulus dynamique: par exemple un courant d'air sur la peau ou un frottement cutané par un vêtement peut induire une sensation douloureuse. On distingue également l'allodynie thermique qui est déclenchée par des stimulations froides ou chaudes normalement non douloureuses. Le deuxième type d'hypersensibilité est défini sous le terme d'hyperalgésie qui fait référence à une sensibilité exagérée en réponse à une stimulation perçue habituellement comme douloureuse [Zilliox, 2017]. La douleur provoquée peut également exister sous forme d'hyperpathie, c'est-à-dire une réponse retardée avec une aggravation progressive du ressenti douloureux suite à des stimulations répétitives [Baron, 2009]. Les signes positifs peuvent exister seuls ou en association avec des signes négatifs chez le même patient [Magrinelli et al., 2013]. Les **signes négatifs** se présentent sous forme de sensations non douloureuses mais souvent désagréables. Ils sont le plus souvent associés à une lésion/dysfonctionnement des fibres afférentes primaires de petit calibre qui se traduit donc par une insensibilité réduite (hypoesthésie) ou totale (anesthésie) aux stimuli mécaniques ou thermiques non nociceptifs. Il est aussi possible d'observer une hypoalgésie mécanique ou thermique qui se caractérise par une sensibilité partielle aux stimuli nociceptifs [Baron, 2009]. Les signes douloureux peuvent différer parmi les patients souffrant de la même maladie à l'origine de la douleur neuropathique. Les patients peuvent également signaler des sensations

anormales, souvent décrits comme des fourmillements, engourdissements, picotements, démangeaisons. Ces sensations lorsqu'elles sont ressenties comme désagréables s'appellent des dysesthésies, et dans le cas contraire sont dites des paresthésies [Herr, 2004].

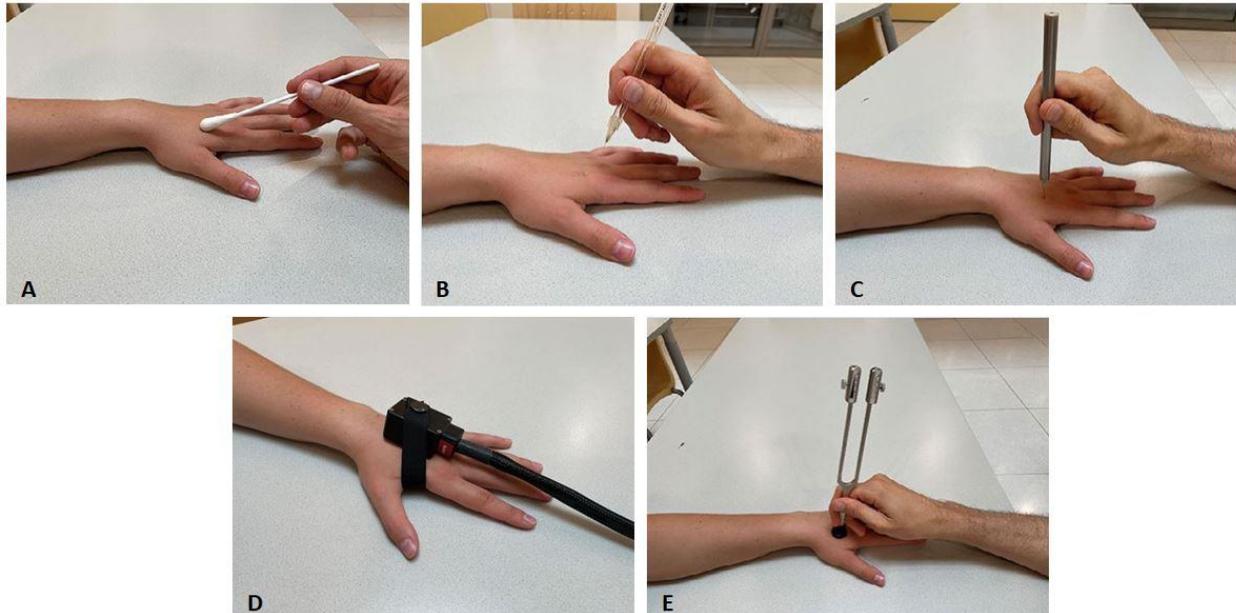


Fig. 6 Evaluation quantitative des troubles sensitifs chez les patients douloureux. Différents stimuli non invasifs d'intensité contrôlée peuvent être utilisés pour l'examen clinique du patient. (A, B) L'évaluation de la sensibilité tactile peut être réalisée au moyen d'un pinceau, d'une brosse ou d'un coton-tige (allodynie mécanique dynamique) ou de monofilaments calibrés de von Frey (allodynie mécanique statique). (C) La sensibilité à la piqûre peut être testée en utilisant des aiguilles calibrées. (D) La sensibilité thermique est évaluée à l'aide d'un appareil permettant de faire varier la température entre 5°C et 50°C (thermotest). La sensibilité au froid peut aussi être évaluée par l'application de l'acétone ou du menthol. (E) La sensibilité aux vibrations est testée en appliquant un diapason. L'examen sensoriel ne doit pas être limité à la zone douloureuse, mais également étendu à d'autres régions afin de tester la spécificité topographique et exclure des syndromes douloureux généralisés. Par exemple, ici la zone douloureuse testée se situe sur la main gauche du patient. Il est alors conseillé de refaire l'évaluation sur la zone correspondante de la main droite également. D'après *Attal et Bouhassira, 2010; Adler et Taxer, 2021*.

Il existe des outils d'évaluation qui ont été développés spécifiquement pour détecter la présence des symptômes d'une douleur neuropathique, tels que l'inventaire des symptômes de la douleur neuropathique (*acronyme anglais*: NPSI pour Neuropathic Pain Symptom Inventory) [Bouhassira et al., 2004]. Il s'agit d'un auto-questionnaire qui est composé de 12 questions. Il y a 10 questions qui portent sur les descripteurs caractéristiques des douleurs neuropathiques (ex. brûlure, décharges électriques, picotements...), dont l'intensité peut être évaluée sur une

échelle numérique en 10 points. Ces 10 items sont regroupés en 5 dimensions: douleurs superficielles de type brûlures; douleurs profondes; douleurs paroxystiques; paresthésies/dysesthésies; allodynie/hyperalgésie. Les deux autres questions permettent d'évaluer la fréquence et la durée de la douleur. Ce questionnaire ne permet pas d'apposer un diagnostic en soi. Cependant, il est sensible aux effets des traitements ce qui permet de suivre l'évolution dans le temps des symptômes. Il permet également de caractériser le phénotype individuel des patients et d'évaluer l'efficacité des traitements mis en œuvre [Bouhassira et al., 2004]. En plus des signes cliniques spécifiques, l'identification certaine d'une douleur neuropathique peut parfois nécessiter la mise en évidence de la lésion ou de la maladie affectant le système nerveux. Ainsi, l'examen clinique peut être complété par des biopsies cutanées ou encore des techniques électrophysiologiques (ex. électroneuromyographie) qui permettent de préciser la topographie et la nature d'une lésion [Magrinelli et al., 2013; Colloca et al., 2017].

2.1. Retentissement psychologique de la douleur neuropathique

Les douleurs neuropathiques sont des douleurs invalidantes influençant grandement la qualité de vie des patients [Smith et al., 2007; O'Connor, 2009; Girach et al., 2019]. Elles sont souvent associées à des troubles de l'humeur et ont un fort impact sur l'activité générale, le sommeil et les relations socio-professionnelles. Il existe différentes échelles multidimensionnelles, telles que le questionnaire SF-36 (*acronyme anglais* pour 36 item Short-Form health survey) [Ware et Sherbourne, 1992] ou sa forme abrégée SF-12 [Ware et al., 1996], qui sont largement utilisées en pratique clinique pour l'évaluation de l'état de santé générale des patients, indépendamment de la pathologie. Une autre échelle, appelée NePiQoL (*acronyme anglais* pour Neuropathic Pain Impact on Quality-of-Life) a été développée pour évaluer spécifiquement le retentissement des douleurs neuropathiques sur la qualité de vie [Poole et al., 2009]. Cette échelle comporte 42 items qui sont regroupés en 6 catégories différentes: symptômes (8 items), relations (5 items), retentissement psychologique (8 items), activité sociale (8 items), retentissement physique (7 items) et soin personnel (6 items). Chacun de ces items peut être noté sur une échelle numérique allant de 1 à 5. Le score final, calculé par la somme des scores

des 42 items, peut ainsi varier entre 42 et 210: avec des scores élevés reflétant une meilleure qualité de vie. Les comorbidités associées aux troubles de l'humeur (anxiété, dépression) peuvent être évaluées par l'échelle HAD (*acronyme anglais* pour Hospital Anxiety and Depression) dont les questions se réfèrent à l'état du patient durant la semaine écoulée [Zigmond et Snaith, 1983]. Cette échelle est composée de 14 items: 7 items pour l'évaluation des symptômes anxieux et 7 items pour dépister la symptomatologie dépressive. Chacun des items est coté de 0 à 3, pouvant ainsi aboutir à un score total de 21 pour la composante anxieuse ou la composante dépressive. L'interprétation peut se faire soit indépendamment pour chaque composante (score de 0 à 7: absence de troubles anxieux ou dépressif; score de 11 à 21: retentissement psychique certain), soit en additionnant les scores des deux composantes (score de 0 à 14: absence de troubles anxio-dépressifs; score de 15 à 42: symptomatologie certaine). Les études épidémiologiques indiquent que la prévalence des troubles anxieux et dépressifs dans la population neuropathique se situe entre 20.3% à 73.7% et de 29.7% à 65.6%, respectivement (Radat et al., 2013; Cherif et al., 2020). Il est estimé qu'environ 50% des patients dépressifs déclarent souffrir des symptômes douloureux comorbides [Katona et al., 2005]. D'autres études cliniques suggèrent que la comorbidité douleur chronique- anxiété serait même plus importante que celle décrite pour la dépression [McWilliams et al., 2003; McWilliams et al., 2004; Beesdo et al., 2010]. La relation entre la douleur et les troubles de l'humeur serait de nature bidirectionnelle, c'est-à-dire que l'existence d'une pathologie augmenterait le risque du développement de l'autre, mais aussi que le changement dans le degré de sévérité de l'une conduirait à une aggravation des symptômes de l'autre [Kroenke et al., 2011; Uher et Bob, 2013]. Les connaissances actuelles sur les mécanismes sous-tendant la comorbidité anxio-dépressive dans le contexte de la douleur neuropathique, bien qu'incomplètes, sont issues en grande partie des études précliniques qui mettent en évidence des modifications neuroanatomiques, moléculaires et fonctionnelles.

Comme énoncé précédemment, il existe un lien étroit entre les structures cérébrales responsables de la perception douloureuse et celles impliquées dans la régulation des émotions. Ceci suggère qu'en condition pathologique, la douleur neuropathique peut induire des changements morphologiques et fonctionnels au sein de ces réseaux interconnectés,

promouvant ainsi l'émergence des symptômes anxio-dépressifs. Les régions cérébrales les plus fréquemment rapportées dans la littérature incluent le cortex cingulaire antérieur, le cortex insulaire, le cortex préfrontal, l'amygdale et l'aire tegmentale ventrale [Robinson et al., 2009; Bushnell et al., 2013; Yalcin et al., 2014a]. La modélisation de la douleur neuropathique chez l'animal, principalement au moyen d'une lésion nerveuse partielle ou complète, a permis de démontrer que le cortex cingulaire antérieur est préférentiellement impliqué dans la composante affective, tandis que le cortex insulaire postérieur joue plutôt un rôle dans le traitement somatosensoriel de l'information douloureuse [Barthas et al., 2015]. Plus précisément, il a été mis en évidence que la lésion du cortex insulaire postérieur empêche le développement à long-terme de l'allodynie mécanique (effet observé deux semaines après l'induction de la douleur), tandis que la lésion du cortex cingulaire antérieur supprime les conséquences anxio-dépressives. De tels effets n'ont pas été observés chez les animaux contrôles, suggérant ainsi un changement fonctionnel de ces régions en condition pathologique uniquement. Une autre étude préclinique a montré une augmentation de l'activité neuronale dans le cortex insulaire antérieur, immédiatement après l'induction de la douleur neuropathique (jour 1 et 8 après la lésion du nerf sciatique) [Chao et al., 2018]. Ainsi, les résultats des études précliniques révèlent une variabilité de l'activité du cortex insulaire en fonction de la chronicité de la douleur. Le rôle crucial du cortex cingulaire antérieur dans l'apparition des symptômes anxio-dépressifs a davantage été confirmé par des techniques optogénétiques démontrant que son activation chez des animaux naïfs est suffisante pour induire une altération du comportement émotionnel, alors que son inactivation entraîne l'inhibition d'un tel effet, sans que cela affecte la sensibilité mécanique [Barthas et al., 2015; Sellmeijer et al., 2018]. Il semble alors qu'au niveau cortical la composante affective de la douleur neuropathique est fonctionnellement dissociée de sa composante sensorielle, ce qui représente un intérêt pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques dans la prise en charge de la douleur chronique. Il est supposé que l'implication du cortex cingulaire antérieur dans les conséquences émotionnelles est sous-tendue, au moins en partie, par des changements moléculaires survenant au sein des voies de signalisation des protéines kinases activées par des agents mitogènes (*acronyme anglais*: MAPK pour Mitogen-Activated Protein

(MAP) Kinase). En effet, une expression à la hausse de la protéine MKP-1 (*acronyme anglais pour MAPK Phosphatase-1*) dans le cortex cingulaire antérieur a été montrée chez les animaux neuropathiques ayant développés un comportement anxio-dépressif, un effet supprimé par l'antidépresseur fluoxétine [Barthas et al., 2017]. De manière intéressante, l'inactivation de cette protéine chez les animaux KO (knock-out) ne modifie pas la sensibilité mécanique, mais inhibe le développement d'un phénotype anxio-dépressif. Des études précliniques mettent en évidence une suractivation du cortex cingulaire antérieur suite à l'induction d'une douleur neuropathique. Ce changement dans l'excitabilité corticale est causé par une perte de connexions inhibitrices au niveau des neurones pyramidaux excitateurs, ainsi qu'une perte de synapses excitatrices au niveau des interneurons inhibiteurs à décharge rapide, résultant ainsi en une potentialisation de l'excitabilité intrinsèque des neurones pyramidaux [Blom et al., 2014; Kasanetz et Nevian, 2021]. Des études électrophysiologiques ont révélé que cette augmentation de l'activité du cortex cingulaire antérieur coïncide avec l'apparition des symptômes anxio-dépressifs dans un modèle murin de douleur neuropathique [Sellmeijer et al., 2018]. Dans le contexte de la dépression, une suractivation du cortex cingulaire antérieur ainsi qu'une surexpression de la protéine MKP-1 dans l'hippocampe ont été observées chez les sujets dépressifs [Drevets, 2001; Duric et al., 2010], soulignant davantage le lien entre la douleur neuropathique et les troubles affectifs.

Les études cliniques d'imagerie fonctionnelle indiquent une hypoactivation du cortex préfrontal chez les sujets dépressifs, avec la sévérité de la dépression souvent corrélée au degré d'inactivité frontale [George et al., 1994; Koenigs et Grafman, 2009]. L'analyse post-mortem des cerveaux de patients dépressifs rapporte un niveau d'expression élevé des gènes codant pour les récepteurs du glutamate dans le cortex préfrontal dorsolatéral [Gray et al., 2015]. De manière similaire, il a été démontré chez le rat que la lésion du nerf sciatique conduit à une augmentation du taux d'expression du récepteur métabotrope du glutamate mGluR5 dans la partie prélimbique du cortex préfrontal [Chung et al., 2017]. Ce changement moléculaire est associé à la mise en place d'une allodynie mécanique et l'apparition d'un comportement anxio-dépressif. Le lien de causalité a été mis en évidence par le fait que l'inactivation pharmacologique des récepteurs mGluR5 chez les animaux neuropathiques est capable de

supprimer à la fois la douleur induite par la lésion nerveuse et les symptômes anxio-dépressifs qui en résultent. De plus, la surexpression des mGluR5 chez des animaux naïfs semble être suffisante pour induire le développement d'une hypersensibilité tactile et d'une altération du comportement émotionnel. Une autre étude a démontré que lorsque les rats neuropathiques sont exposés à un environnement anxiogène, ils présentent une augmentation de la fréquence des ondes thêta dans le cortex préfrontal médian [Sang et al., 2018]. Le changement d'activité du cortex préfrontal médian serait dû à une diminution de la transmission sérotoninergique suite à une surexpression du transporteur de sérotonine SERT. Le blocage du SERT, ainsi que l'injection in vivo de sérotonine dans le cortex préfrontal médian, permet de lever l'inhibition sur l'évitement de l'environnement aversif et de supprimer donc le comportement anxieux associé à la douleur neuropathique. Ainsi, le cortex préfrontal serait aussi impliqué dans les composantes sensorielle et affective et semble être une cible thérapeutique intéressante pour moduler la comorbidité anxio-dépressive de la douleur neuropathique. De plus, le cortex préfrontal possède des connexions avec de nombreuses autres structures, telles que le noyau accumbens, l'aire tegmentale ventrale, l'amygdale et l'hippocampe. Il a été démontré chez le rat que la stimulation à haute fréquence (50Hz, 30s) de l'aire tegmentale ventrale, résultant en une augmentation de la concentration dopaminergique dans le cortex préfrontal, induit une inhibition à long-terme des réponses nociceptives évoquées par une stimulation mécanique (pression constante de 500g appliquée pendant 2s sur la queue des animaux anesthésiés). Cet effet semble être dépendant de l'activité des récepteurs dopaminergiques de type D2, étant donné que leur blocage par l'antagoniste sulpiride supprime l'effet anti-nociceptif observé au niveau du cortex préfrontal [Sogabe et al., 2013]. Ceci suggère qu'en condition pathologique, la connectivité fonctionnelle entre le cortex préfrontal et l'aire tegmentale ventrale peut être altérée, menant ainsi à la déplétion de la transmission dopaminergique et à l'installation d'une hypersensibilité mécanique. Dans une autre étude réalisée chez des rats neuropathiques, il a été mis en évidence que l'activation optogénétique du cortex préfrontal induit non seulement un effet anti-nociceptif mais aussi une atténuation des symptômes dépressifs associés [Lee et al., 2015]. Il est supposé que ces effets sont médiés par le noyau accumbens, étant donné que l'activation des projections préfrontales au sein de

cette structure permet de reproduire les effets inhibiteurs observés lors de la stimulation directe du cortex préfrontal. Ceci a notamment été confirmé par le blocage de la transmission synaptique dans le noyau accumbens qui a entraîné la suppression des effets analgésique et antidépresseur du cortex préfrontal. L'ensemble de ces résultats révèlent donc que le circuit cortex préfrontal-noyau accumbens-aire tegmentale ventrale joue également un rôle important dans les conséquences émotionnelles de la douleur neuropathique.

Les patients souffrant d'une dépression présentent une augmentation de l'activité de l'amygdale [Drevets et al., 2002] ainsi que de la connectivité fonctionnelle amygdale-cortex préfrontal [Zhang et al., 2020a]. D'un autre côté, il a été démontré chez l'animal que le comportement dépressif induit par la douleur neuropathique est associé à une réorganisation structurale des noyaux central et basolatéral de l'amygdale, reflétée notamment par une augmentation du volume en raison de la mise en place d'une prolifération neuronale accrue [Gonçalves et al., 2008]. Il apparaît que la signalisation purinergique au niveau de l'amygdale intervient directement dans la modulation de la douleur neuropathique. En effet, l'inhibition des récepteurs purinergiques de type P₂X₇R par l'administration de l'antagoniste A-438079 dans l'amygdale basolatérale supprime l'hypersensibilité mécanique et thermique ainsi que le phénotype anxio-dépressif chez les animaux neuropathiques, probablement par un effet protecteur exercé au niveau spinal [Hu et al., 2020]. Spécifiquement, les effets comportementaux ont été accompagnés par une diminution de la réactivité microgliale et astrocytaire et une augmentation de l'expression de GAP-43 (*acronyme anglais* pour Growth Associated Protein 43) dans la corne dorsale de la moëlle épinière. Récemment, il a été aussi mis en évidence chez la souris que le développement d'un phénotype dépressif consécutif à la douleur neuropathique est sous-tendu par l'augmentation de la connectivité fonctionnelle entre l'amygdale basolatérale et le cortex cingulaire antérieur [Becker et al., 2022]. De plus, les auteurs ont montré que l'hyperactivité de ce circuit est associée à une expression à la hausse du gène Sémaphorine 4a (Sema4a: régulateur négatif du processus de myélinisation) dans le cortex cingulaire antérieur, soulignant ainsi son implication dans les conséquences émotionnelles de la douleur neuropathique. Le rôle de l'amygdale centrale dans la modulation de la douleur semble être complexe: la douleur neuropathique consécutive à une lésion nerveuse potentialise

l'excitabilité des neurones exprimant la PKC δ mais atténue l'excitabilité des neurones à somatostatine [Wilson et al., 2019]. Il a été montré que l'activation chimogénétique des neurones PKC δ et des neurones à somatostatine entraîne des effets opposés, c'est-à-dire une augmentation et une diminution de la sensibilité douloureuse, respectivement.

Outre les conséquences émotionnelles, les sujets souffrant d'une douleur chronique présentent parfois des troubles cognitifs [Apkarian et al., 2004; Weiner et al., 2006; Dick et Rashiq, 2007], et les études précliniques semblent confirmer cette symptomatologie en mettant en évidence une altération de la mémoire à court et à long-terme [Tyrtysnaia et al., 2017; Tyrtysnaia et Manzhulo, 2020] et de la mémoire de reconnaissance [Kodama et al., 2011]. Il a par exemple été montré chez les souris neuropathiques que ces déficits mnésiques sont associés à des modifications morphologiques au niveau des arborescences dendritiques des neurones hippocampiques, reflétées notamment par une atrophie des neurones pyramidaux de l'aire CA1 et une augmentation de la densité d'épines dendritiques des neurones granulaires du gyrus denté [Tyrtysnaia et Manzhulo, 2020]. Ces changements morphologiques ont également été accompagnés par une réduction de l'expression des récepteurs au glutamate de type AMPAR (récepteurs inotropiques d'acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionique) en raison d'une synthèse constante de la protéine Arc (*acronyme anglais* pour Activity-regulated and cytoskeleton-associated protein), probablement reflétant ainsi la diminution de l'efficacité de la transmission synaptique hippocampique en condition pathologique [Guzowski et al., 2000; Chowdhury et al., 2006]. Une réduction du volume de l'hippocampe est souvent rapportée chez les sujets dépressifs [Barch et al., 2019; Chen et al., 2020b]. Un tel changement morphologique a également été observé chez les patients neuropathiques et a été associé chez les animaux neuropathiques à une diminution de la neurogenèse dans la région CA1 [Tyrtysnaia et al., 2017] et le gyrus denté [Mutso et al., 2012]. Ces résultats soulignent le rôle important de l'hippocampe dans les conséquences cognitives induites par la douleur neuropathique.

2.2. Mécanismes physiopathologiques de la douleur neuropathique

Les connaissances actuelles sur les mécanismes impliqués dans la physiopathologie de la douleur neuropathique sont majoritairement issues des données provenant des modèles

précliniques qui mettent en évidence des modifications morphologiques et fonctionnelles résultant en une hyperexcitabilité des voies nociceptives et une amplification du signal douloureux. Ces changements interviennent aussi bien au niveau du système nerveux périphérique que central et incluent notamment une sensibilisation accrue des nocicepteurs, une émergence possible de connexions anormales capables de générer des décharges aberrantes ainsi qu'une hyperexcitabilité des neurones spinaux suite à une altération des systèmes modulateurs inhibiteurs et excitateurs résultante de l'activation pathologique des cellules gliales [Gilron *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2016]. Il est quand même important de noter que ces modifications peuvent évoluer dans le temps et se manifester différemment d'une personne à l'autre, ce qui fait que la réponse d'un individu à un traitement donné est difficilement prévisible.

2.2.1. Sensibilisation périphérique

Le terme de sensibilisation périphérique est utilisé pour décrire l'ensemble des modifications touchant le système nerveux périphérique qui résultent en une augmentation de la réactivité et l'abaissement des seuils d'excitabilité des neurones nociceptifs périphériques [Gilron *et al.*, 2015]. En conséquence, les fibres afférentes nociceptives deviennent plus sensibles qu'elles ne l'étaient auparavant et peuvent induire des sensations douloureuses même en absence de stimuli nociceptifs.

❖ La sensibilisation des nocicepteurs par des médiateurs inflammatoires

La lésion d'un nerf périphérique entraîne le déclenchement d'une réaction inflammatoire locale qui contribue à la mise en place et au maintien de la sensibilisation périphérique associée à la douleur neuropathique (voir **Fig.7** pour illustration schématique des mécanismes impliqués dans la sensibilisation périphérique). La lésion nerveuse induit l'activation des motifs moléculaires associés aux dommages (*acronyme anglais*: DAMPs pour Damage-Associated Molecular Patterns) [Walker *et al.*, 2014]. Les DAMPs sont perçus comme un signal de danger par l'organisme et sont donc détectés par les cellules immunitaires résidentes du tissu (mastocytes, macrophages) grâce aux récepteurs de reconnaissance spécifique appelés des PRRs (*acronyme anglais*: Pattern Recognition Receptors). L'activation des macrophages par les DAMPs induit la

sécrétion des cytokines pro-inflammatoires comme le facteur tumoral de nécrose α (*acronyme anglais*: TNF α pour Tumor Necrosis Factor α) et les interleukines (IL): IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18 [Scholz et Woolf, 2007; Walker et al., 2014]. Il a par exemple été mis en évidence que les rats neuropathiques présentant une composante allodymique démontrent une expression significativement plus élevée des macrophages et des cytokines pro-inflammatoires TNF α et IL-6 dans le segment du nerf sciatique par rapport aux animaux qui n'ont pas développé une hypersensibilité tactile, soulignant ainsi le rôle de ces médiateurs dans l'apparition des signes périphériques de neuropathie [Cui et al., 2000]. Il semble que l'ampleur de la réponse inflammatoire n'est pas liée au degré d'atteinte nerveuse, étant donné qu'il a été montré que les rats ayant subi une section du nerf sciatique présentent un taux d'expression des cytokines pro-inflammatoires significativement moins important que celui observé chez les rats avec un nerf partiellement ligaturé. Les interleukines IL-1 β et IL-6 agissent directement sur les fibres afférentes nociceptives de type C et en abaissant le seuil d'activation des récepteurs TRPV1 conduisent à une potentialisation de la sensibilité thermique [Obreja et al., 2002, 2005]. Outre le recrutement des macrophages résidentes, les DAMPs sont également capables d'activer les mastocytes dont la dégranulation conduit à la libération d'autres médiateurs inflammatoires incluant l'histamine, la sérotonine, le NGF et des leucotriènes [Ellis et Bennett, 2013]. Réciproquement, le NGF agit sur les mastocytes dans une boucle de rétroaction positive résultant en la potentialisation de la libération des médiateurs qui exacerbent la réponse inflammatoire [Cohen et al., 2016]. Différents mécanismes de transduction intracellulaire impliquent le NGF dans la modulation fonctionnelle des récepteurs TRPV1 [McKelvey et al., 2013]. La fixation du NGF sur son récepteur TrkA, exprimé dans la membrane des fibres afférentes nociceptives, active la phospholipase C (PLC) qui conduit à la réduction du seuil d'activation et par conséquent à la sensibilisation des récepteurs TRPV1. Le NGF est également capable d'activer la voie de signalisation dépendante de la phosphoinositide 3 kinase (PI3K) qui entraîne la translocation de nouveaux récepteurs TRPV1 vers la membrane plasmique, participant ainsi au maintien à long-terme d'une sensibilité anormale. De plus, après internalisation, le complexe NGF-TrkA est transporté de façon rétrograde dans les DRG où il induit l'augmentation d'expression des différents récepteurs et des canaux voltage-dépendants,

contribuant ainsi davantage à l'amplification de la transmission du signal douloureux [Cohen et al., 2016]. Chez l'animal, l'administration des anticorps monoclonaux anti-NGF permet de supprimer l'allodynie mécanique associée à la douleur neuropathique, confirmant ainsi l'implication de ce facteur neurotrophique dans les mécanismes de sensibilisation périphérique [Wild et al., 2007; Cheng et al., 2009]. D'autre part, l'histamine participe au recrutement des neutrophiles et des monocytes qui à leur tour sont capables d'engendrer l'infiltration des macrophages et des lymphocytes T au site de la lésion [Zuo et al., 2003; Ellis et Bennett, 2013]. D'autres molécules peuvent également être libérées dans le foyer inflammatoire, notamment la bradykinine et les prostaglandines mais aussi l'ATP et des protons H⁺ [Cheng et Ji, 2008]. La bradykinine et son métabolite actif [des-Arg⁹]BK en se fixant sur leurs récepteurs respectifs B2 et B1 activent la voie de signalisation dépendante de la PKC qui, par des systèmes de seconds messagers, conduit à la sensibilisation des récepteurs TRPV1 et TRPV4, participant ainsi au développement d'une hypersensibilité thermique et mécanique [Mathivanan et al., 2016; Costa et al., 2018]. Il a été démontré chez le rat que la constriction chronique du nerf sciatique induit une augmentation précoce des ARNm des récepteurs B2 (48h post-chirurgie), tandis qu'une expression à la hausse des récepteurs B1 est observée dans un stade plus tardif (14 jours post-chirurgie) dans les DRG ipsilatéraux au site de la lésion nerveuse, suggérant que la bradykinine joue probablement un rôle dans l'initiation ainsi que le maintien de l'hypersensibilité périphérique [Levy et Zochodne, 2000]. D'autre part, la bradykinine peut aussi activer la voie de signalisation de la phospholipase A2, ce qui potentialise la synthèse des prostaglandines [Mizumura et al., 2009] qui à leur tour sont capables d'activer la PKC et contribuer à la sensibilisation des nocicepteurs [Moriyama et al., 2005]. Ainsi, l'ensemble de ces médiateurs modifient l'environnement chimique immédiat des nocicepteurs et forment ce qu'on appelle la «soupe inflammatoire».

❖ L'implication des canaux ioniques dans l'apparition des décharges ectopiques

La sensibilisation des fibres afférentes nociceptives par les diverses substances inflammatoires aboutit à l'augmentation de l'excitabilité neuronale qui est à l'origine de l'apparition d'une activité ectopique (émission spontanée des potentiels d'action en absence d'un stimulus nociceptif) [von Hehn et al., 2012]. La lésion nerveuse peut engendrer l'émergence de névromes

(régénération de bourgeons) qui sont capables d'établir des contacts non synaptiques avec les axones sensoriels adjacents intacts. Ainsi, par une transmission éphaptique (forme de communication à travers la formation de nouvelles connexions inadéquates), même les fibres afférentes primaires non endommagées peuvent générer une activité électrique anormale [Wu et al., 2002; Djouhri, 2006; Cohen et Mao, 2014]. Des décharges ectopiques peuvent aussi se produire dans les corps cellulaires localisés dans les DRG ou dans la corne dorsale de la moëlle épinière suite à l'augmentation de l'excitabilité des neurones intrinsèques. Il a par exemple été démontré que la production accrue du NGF induite par l'atteinte nerveuse contribue à la germination de connexions sympathiques dans les DRG et à l'augmentation de l'expression des récepteurs α -adrénergiques sur les fibres C polymodales, augmentant donc leur sensibilité aux catécholamines [Sato et Perl, 1991; McLachlan et al., 1993; Ramer et Bisby, 1997; Jones et al., 1999]. Ainsi, un couplage fonctionnel entre les fibres afférentes nociceptives et les fibres efférentes sympathiques dans les DRG peut contribuer à l'apparition des décharges anormales et au développement d'une douleur neuropathique. La survenue de telles décharges aberrantes est en grande partie due à une altération de l'activité des canaux ioniques voltage-dépendants qui sont largement impliqués dans la genèse des potentiels d'action.

La famille des canaux sodiques voltage-dépendants comprend neuf isoformes, annotées de $Na_v1.1$ à $Na_v1.9$. Lors d'une atteinte nerveuse, certaines de ces isoformes sont surexprimées, telles que $Na_v1.3$, $Na_v1.6$ et $Na_v1.8$ qui semblent être responsables de l'abaissement du seuil d'activation des nocicepteurs [Bennett et al., 2019]. Les canaux $Na_v1.3$ ne sont généralement exprimés que pendant le développement embryonnaire, mais suite à une atteinte nerveuse leur expression est régulée à la hausse dans les DRG adultes [Waxman et al., 1994]. Etant donné qu'il a été démontré chez l'animal que seulement 18% des nerfs lésés expriment le $Na_v1.3$ [Lindia et al., 2005], il est probable que la surexpression de ces canaux sodiques dans les neurones sensoriels primaires non endommagés soit à l'origine des décharges ectopiques périphériques. Il a par exemple été mis en évidence que la lésion nerveuse entraîne une redistribution des canaux sodiques $Na_v1.8$ vers les axones des neurones non lésés et que leur inhibition permet d'atténuer la douleur neuropathique [Gold et al., 2003]. Les canaux $Na_v1.3$ sont également responsables de l'augmentation de l'excitabilité des neurones nociceptifs de la corne dorsale de

la moëlle épinière. Dans un modèle de douleur neuropathique, l'inhibition de l'expression des canaux $Na_v1.3$ par l'administration intrathécale d'oligonucléotides antisense permet de supprimer l'hyperexcitabilité des neurones spinaux et d'atténuer ainsi les symptômes d'allodynie mécanique et d'hyperalgésie thermique associés à la neuropathie périphérique [Hains, 2004]. Des effets analgésiques similaires ont également été observés après l'inhibition des canaux $Na_v1.8$ [Lai et al., 2002; Daou et al., 2016]. La surexpression des canaux sodiques $Na_v1.6$ est liée à l'émergence d'une activité spontanée anormale dans les DRG et l'inhibition de leur expression par l'administration de siRNA permet d'atténuer l'hypersensibilité mécanique induite par l'inflammation locale [Xie et al., 2013]. Le rôle crucial des canaux sodiques est aussi mis en évidence en clinique chez les sujets atteints de canalopathies héréditaires. Il a par exemple été montré que des mutations non-sens du gène SCN9A codant pour la sous-unité α du canal sodique $Na_v1.7$ entraînent une modification de la composition protéique du canal résultant en une diminution du seuil d'activation (gain de fonction). Une telle hyperexcitabilité du canal $Na_v1.7$ conduit à des troubles douloureux, tels que l'érythromélgie caractérisée par des épisodes intermittents d'intenses sensations de brûlure dans les extrémités, une élévation de la température de la peau et des rougeurs [Wu et al., 2018], ou encore le syndrome de douleur extrême paroxystique associé à des douleurs paroxystiques rectales, suivies par des douleurs des membres inférieurs et des manifestations oculaires et maxillaires [Stępień et al., 2020].

L'atteinte nerveuse engendre une diminution de l'expression des canaux potassiques, ce qui a comme effet d'atténuer la phase d'hyperpolarisation du potentiel d'action et de favoriser l'augmentation de la probabilité de décharges des nocicepteurs. Il a été démontré que l'ouverture des canaux potassiques de la sous-famille KCNQ par l'administration de retigabine prévient le déclenchement d'une activité spontanée par les neurones sensoriels primaires en amenant le potentiel de repos de la cellule vers des valeurs plus négatives, tandis que leur inhibition induit une dépolarisation provoquant l'apparition des décharges anormales, notamment par les fibres $A\delta$ [Wu et al., 2017]. Dans un modèle animal de ligature partielle du nerf sciatique, il a été mis en évidence que la lésion nerveuse induit une surexpression du facteur de transcription REST (*acronyme anglais* pour Repressor Element 1–Silencing

Transcription factor) entraînant la diminution du taux d'expression du gène *Kcnq2* codant pour la sous-unité $K_{v7.2}$ du canal KCNQ, engendrant ainsi une hyperexcitabilité des fibres afférentes nociceptives et la mise en place d'une allodynie mécanique et thermique. Ces effets délétères sont supprimés par l'ouverture des canaux KCNQ par la flupirtine (analogue chimique de la retigabine) [Rose et al., 2011]. D'autres types de canaux potassiques, notamment la sous-famille du canal TRESK (*acronyme anglais* pour TWIK-RElated Spinal cord K⁺ Channel), sont également régulés à la baisse dans les DRG après une section du nerf sciatique, menant ainsi à la dépolarisation constante du potentiel membranaire et la survenue des décharges ectopiques [Tulleuda et al., 2011].

Les nocicepteurs expriment également les canaux HCN (*acronyme anglais* pour Hyperpolarization activated Cyclic Nucleotide gated channels) qui s'activent en réponse à une hyperpolarisation membranaire et sont contrôlés par les nucléotides cycliques. Ces canaux sont capables de générer des courants rythmiques spontanés et contribuent ainsi à la sensibilisation périphérique. Il a été montré que le blocage de ces canaux permet de supprimer les décharges ectopiques dans les fibres nociceptives, un effet réversible par l'application exogène de l'AMPC (Adénosine MonoPhosphate cyclique) [Bernal et Roza, 2018].

La famille des canaux calciques voltage-dépendants comprend dix isoformes qui sont repartis en deux catégories selon leurs seuils d'activation: d'une part les canaux à haut seuil d'activation (*acronyme anglais*: HVA pour High Voltage-Activated) comme les canaux Ca_v1 de type L ($Ca_v1.1$, $Ca_v1.2$, $Ca_v1.3$ et $Ca_v1.4$) et les canaux Ca_v2 de type P/Q, ($Ca_v2.1$), N ($Ca_v2.2$), R ($Ca_v2.3$), et d'autre part les canaux à bas seuil d'activation (*acronyme anglais*: LVA pour Low Voltage-Activated) dont notamment les canaux de type T présentant une inactivation rapide ($Ca_v3.1$, $Ca_v3.2$, $Ca_v3.3$) [Gong et al., 2018]. Les canaux calciques sont des protéines hétérodimériques composées d'une sous-unité principale α_1 formant le pore du canal et d'autres sous-unités auxiliaires comme $\alpha_2\delta$, $\alpha_2\beta$ ou $\alpha_2\gamma$ [Field et al., 2006]. La sous-unité $\alpha_2\delta$ régule les propriétés électrophysiologiques du canal. Suite à une constriction chronique du nerf sciatique, la sous-unité $\alpha_2\delta_1$ est surexprimée dans les DRG et transportée le long de l'axone dans les terminaisons pré-synaptiques des fibres nociceptives localisées dans la corne dorsale de la moëlle épinière. L'expression à la hausse de la sous-unité $\alpha_2\delta_1$ augmente la probabilité d'ouverture des canaux

calciques HVA, contribuant ainsi à l'hyperexcitabilité des neurones spinaux. Il a été démontré que le blocage des canaux $Ca_v1.2$ par la nitrendipine engendre une diminution de la transmission synaptique, un effet qui est accompagné par l'augmentation du seuil nociceptif chez les animaux neuropathiques [Alles et al., 2018]. Par ailleurs, la sous-unité $\alpha2\delta1$ participe à la formation de nouvelles synapses en interagissant avec la thrombospondine, une protéine de la matrice extracellulaire sécrétée par les astrocytes [Eroglu et al., 2009]. Ainsi, en condition pathologique la sous-unité $\alpha2\delta1$ pourrait aussi favoriser la synaptogenèse anormale au niveau spinal. La sous-unité $\alpha2\delta1$ joue également un rôle important dans l'effet analgésique de certains médicaments, tels que la gabapentine et la prégabaline. Il a été mis en évidence que la mutation conservatrice R217A (remplacement du résidu d'arginine avec l'alanine en position 217 sur le gène codant pour la sous-unité $\alpha2\delta1$) empêche la fixation de la prégabaline sur les canaux calciques HVA de type N ($Ca_v2.2$), ce qui par conséquent supprime son effet thérapeutique sur l'allodynie mécanique [Field et al., 2006]. Les canaux calciques de type T, tels que les $Ca_v3.2$, sont impliqués dans l'initiation et la propagation du potentiel d'action le long des mécanorécepteurs C à bas seuil d'activation [François et al., 2015]. Etant donné que les canaux T s'activent avant les canaux sodiques voltage-dépendants, il est possible qu'en condition pathologique les $Ca_v3.2$ contribuent à l'abaissement du seuil d'excitabilité et au déclenchement des décharges électriques aberrantes. En effet, le blocage pharmacologique de ces canaux par l'antagoniste TTA-A2 induit une augmentation significative du seuil d'activation et une réduction de la fréquence de décharges des fibres afférentes C. L'implication des canaux $Ca_v3.2$ dans la douleur neuropathique est confirmée par le fait que les souris KO déficientes pour ces canaux ne présentent pas de symptômes d'hyperalgésie mécanique et thermique [François et al., 2015].

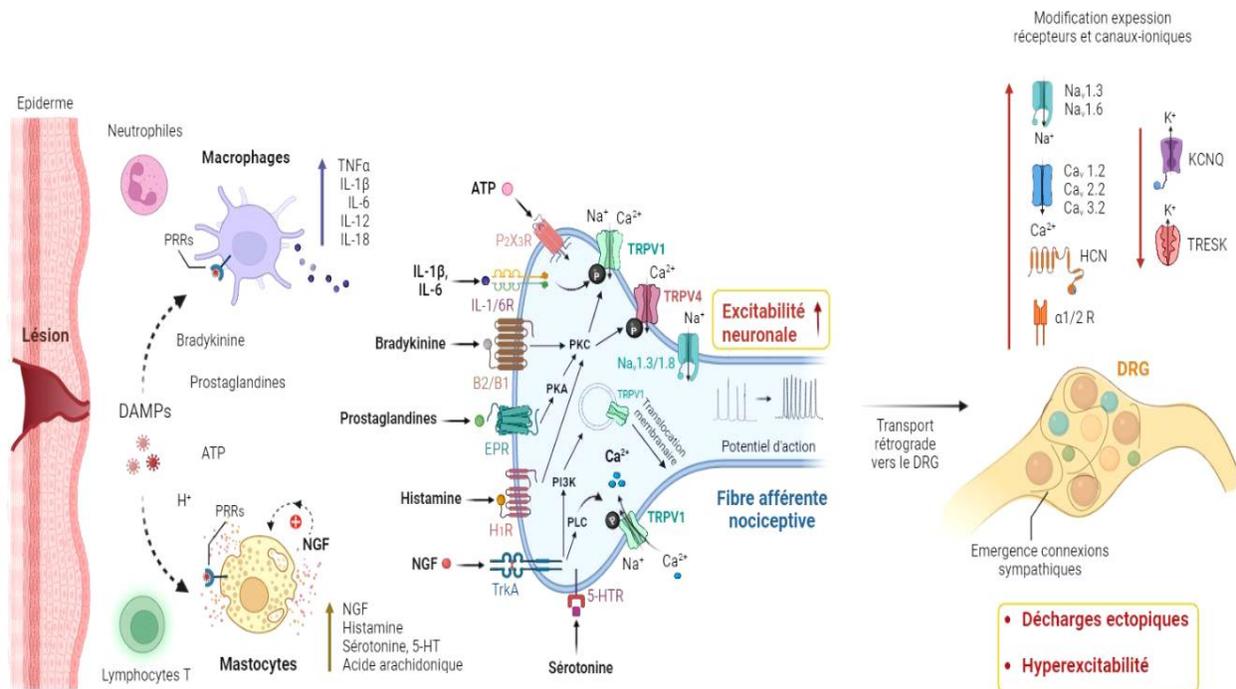


Fig. 7 Illustration schématique des mécanismes de sensibilisation périphérique. La lésion tissulaire provoque une réponse inflammatoire, reflétée par le recrutement de cellules immunes (macrophages, mastocytes, neutrophiles, lymphocytes T) et la libération de divers médiateurs (cytokines pro-inflammatoires, histamine, bradykinine, prostaglandines...) qui, en se fixant sur leurs récepteurs respectifs, sont capables d'activer différentes voies de signalisation intracellulaires (PKC, PKA, PI3K ou PLC-dépendantes) potentialisant l'activité et régulant l'expression à la hausse des canaux ioniques membranaires (TRPV1, TRPV4, Nav1.3, Nav1.8) responsables de la sensibilisation des fibres afférentes nociceptives. La sensibilité accrue des nocicepteurs induite par les médiateurs inflammatoires conduit à des modifications du taux d'expression des récepteurs et des canaux ioniques dans les DRG. L'augmentation de la densité des canaux sodiques et calciques voltage-dépendants, ainsi que les canaux HCN, favorise le déclenchement des décharges ectopiques et le développement d'une hypersensibilité. Ceci est aussi potentialisé par une régulation à la baisse des canaux potassiques, tels que les canaux de la sous-famille KCNQ et TRESK. L'émergence de connexions sympathiques et l'augmentation de l'expression des récepteurs α -adrénergiques dans les DRG contribuent davantage aux mécanismes de la sensibilisation périphérique. 5-HTR: récepteur d'hydroxytryptamine (sérotonine); α 1/2R: récepteurs α 1 et α 1-adrénergiques; ATP: adénosine triphosphate; B2/B1: récepteurs des bradykinines; Ca_v1.2/ Ca_v2.2/ Ca_v3.2: canaux calciques voltage-dépendants; DAMPs: motifs moléculaires associés aux dommages; DRG: ganglions des racines dorsales; EPR: récepteurs de prostaglandine E2; H1R: récepteur d'histamine; HCN: canaux activés par l'hyperpolarisation et modulés par les nucléotides cycliques; IL-1/6R: récepteurs des interleukines IL-1 β et IL-6; IL: interleukines; Nav1.3/ Nav1.6/ Nav1.8: canaux sodiques voltage-dépendants; NGF: facteur de croissance nerveuse; P₂X₃R: récepteurs purinergiques; PI3K: phosphoinositide 3 kinase; PKA: protéine kinase A; PKC: protéine kinase C; PLC: phospholipase C; PRRs: récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires associés aux dommages; TNF α : facteur tumoral de nécrose α ; TrkA: récepteur kinase A de la tropomyosine; TRPV1/TRPV4: récepteurs-canaux TRP (Transient Receptor Potential) activés par des molécules de la famille des vanilloïdes. Adapté d'après [Basbaum et al., 2009](#); [Cohen et Mao, 2014](#); [Finnerup et al., 2021](#). Réalisé avec BioRender®

2.2.2. La sensibilisation centrale et les cellules gliales

La sensibilisation périphérique des nocicepteurs conduit à une réactivité accrue des neurones spinaux de la corne dorsale de la moëlle épinière, entraînant ainsi une augmentation à long-terme de l'efficacité synaptique excitatrice et une potentialisation des voies nociceptives ascendantes projetant vers les structures supra-spinales. La sensibilisation centrale résulte d'une activation anormale des cellules gliales conduisant à des changements des propriétés intrinsèques des neurones nociceptifs de second ordre, reflétés notamment par une réduction de la transmission inhibitrice et une potentialisation de la transmission synaptique excitatrice.

Les cellules gliales, notamment la microglie et les astrocytes, jouent un rôle déterminant dans la sensibilisation centrale. Au niveau spinal, diverses interactions neurogliales interviennent dans le déclenchement et le maintien des douleurs neuropathiques en altérant la balance excitation/inhibition (voir [Fig.8](#) pour illustration schématique de l'implication des cellules gliales dans les mécanismes de la sensibilisation centrale). L'atteinte nerveuse induit une activation microgliale accrue dans la corne dorsale de la moëlle épinière, à proximité immédiate des terminaisons centrales des fibres afférentes primaires. En condition neuropathique, les cellules microgliales surexpriment des récepteurs purinergiques de type P_2X_4 [[Tsuda et al., 2003](#); [Ulmann et al., 2008](#)]. Le blocage pharmacologique de ces récepteurs permet de reverser l'allodynie mécanique chez les rats neuropathiques, tandis que l'injection intrathécale des cellules microgliales activées exprimant les récepteurs P_2X_4R est suffisante pour induire le développement d'un phénotype allodymique chez des animaux naïfs [[Tsuda et al., 2003](#)]. L'activation des récepteurs P_2X_4R par l'ATP active la voie de signalisation p38/MAPK-dépendante ce qui conduit à la libération du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (*acronyme anglais*: BDNF pour Brain-Derived Neurotrophic Factor) [[Trang et al., 2009](#)]. Le BDNF en se fixant sur ses récepteurs TrkB (récepteurs kinase B de la tropomyosine), exprimés par les neurones de projection localisés dans la lamina I de la corne dorsale de la moëlle épinière, entraîne la diminution de l'expression du KCC2 (co-transporteur potassium-chlore, isoforme 2), ce qui par conséquent mène à une perte d'efficacité des récepteurs GABA_A [[Coull et al., 2005](#)]. Le canal KCC2 est impliqué dans la régulation de l'homéostasie du chlore dont dépend l'activité inhibitrice de GABA. En effet, en condition physiologique le co-transporteur KCC2 assure le

transport des ions chloriques Cl^- et potassiques K^+ vers le milieu extracellulaire, permettant ainsi de maintenir une faible concentration intracellulaire en ions Cl^- . L'activation des récepteurs GABA_A entraîne alors un influx d'ions Cl^- engendrant ainsi une hyperpolarisation neuronale éloignant le potentiel membranaire du seuil du déclenchement d'un potentiel d'action [Kahle et al., 2008]. En condition pathologique, la réduction de l'expression des canaux KCC2 conduit à une inversion du gradient électrochimique du chlore de telle sorte que l'activation des récepteurs GABA_A induit la sortie des ions Cl^- de la cellule, ce qui a comme effet de dépolariser les neurones de projection et d'augmenter ainsi leur probabilité de décharge [Keller et al., 2007]. Ce phénomène est référé par le terme de «*désinhibition*», c'est-à-dire la mise en place d'une excitation par inhibition des neurones à activité inhibitrice. La dépolarisation résultante de cette désinhibition peut alors lever transitoirement le blocage par les ions Mg^{2+} du pore du canal des récepteurs NMDAR (récepteurs N-méthyl D-aspartate) et contribuer au mécanisme de renforcement synaptique [Beggs et Salter, 2010]. Par ailleurs, il a été démontré que la lésion d'un nerf périphérique déclenche la voie extrinsèque de signalisation caspase 3-dépendante entraînant la mort par apoptose des interneurones GABA ergiques de la lamina II, ce qui contribue à la réduction de l'efficacité de la transmission inhibitrice spinale [Moore et al., 2002; Scholz et al., 2005; Wu et al., 2012]. Les récepteurs purinergiques de type $\text{P}_2\text{X}_7\text{R}$ semblent également être impliqués dans la physiopathologie de la douleur neuropathique. Il a notamment été démontré dans différents modèles de douleur neuropathique que le blocage pharmacologique des récepteurs $\text{P}_2\text{X}_7\text{R}$ permet d'atténuer l'allodynie mécanique et l'hypersensibilité thermique [Honore et al., 2006; Kobayashi et al., 2011; He et al., 2012]. De plus, l'activation des $\text{P}_2\text{X}_7\text{R}$ microgliaux par l'ATP favorise la synthèse de novo et la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-6 et le $\text{TNF}\alpha$ [Hide et al., 2000; Shigemoto-Mogami et al., 2001], ainsi que la libération des chimiokines comme la CCL3 (chimiokine (C-C motif), ligand 3) [Kataoka et al., 2009] et la CXCL2 (chimiokine (C-X-C motif), ligand 2) [Shiratori et al., 2010] qui participent au développement de l'hypersensibilité douloureuse. Il a par exemple été mis en évidence chez la souris que la section partielle du nerf sciatique induit l'augmentation du taux d'expression de CCL3 dans la corne dorsale de la moëlle épinière et que la neutralisation de

ces chimiokines prévient l'hypersensibilité associée à la douleur neuropathique [Kiguchi *et al.*, 2010].

La microglie activée, via la libération de différentes molécules pro-inflammatoires, joue également un rôle important dans l'induction de l'astrogliose. L'activation des astrocytes par le TNF α déclenche la phosphorylation activatrice de différentes kinases, telles que la JNK (c-Jun N-terminal Kinase) et ERK (*acronyme anglais* pour Extracellular signal-Regulated Kinase), résultant en la libération au niveau spinal de l'IL-1 β et la chimiokine CCL2 (chimiokine (C-C motif), ligand 2) [Gao et Ji, 2010]. L'IL-1 β participe grandement dans la modulation de l'excitabilité neuronale. Dû à la co-localisation des récepteurs IL-1R avec les canaux NMDAR dans les neurones nociceptifs spinaux, il est supposé que l'IL-1 β peut agir directement sur la transmission synaptique excitatrice en induisant la phosphorylation de la sous-unité NR1 des récepteurs NMDAR [Zhang *et al.*, 2008], entraînant ainsi l'augmentation de la fréquence et de l'amplitude des courants post-synaptiques excitateurs spontanés [Kawasaki *et al.*, 2008]. Il a notamment été mis en évidence chez des rats anesthésiés que l'administration intrathécale de l'IL-1 β entraîne l'augmentation du taux de décharge des neurones WDR spinaux engendrant ainsi une hyperalgésie mécanique [Reeve *et al.*, 2000]. Outre le mécanisme direct présumé, l'IL-1 β en se fixant sur son récepteur exprimé dans la membrane astrocytaire est capable d'activer la voie de signalisation PKC-dépendante conduisant à une réduction de l'expression des transporteurs glutamatergiques GLT-1 (transporteur glial du glutamate, type 1) et GLAST (transporteur glutamate/aspartate), résultant ainsi en l'abaissement de la recapture du glutamate de la fente synaptique [Yan *et al.*, 2014]. L'augmentation excessive de la concentration extracellulaire de glutamate peut ainsi conduire au recrutement des récepteurs NMDAR normalement non activés et potentialiser la transmission synaptique excitatrice. De plus, des enregistrements électrophysiologiques ont mis en évidence que l'IL-1 β entraîne la diminution de la fréquence et de l'amplitude des courants inhibiteurs médiés par les récepteurs-canaux GABA_A exprimés par les neurones nociceptifs de la lamina II de la moëlle épinière, indiquant une réduction de la transmission synaptique inhibitrice [Kawasaki *et al.*, 2008]. Ainsi, l'IL-1 β contribue également au mécanisme de désinhibition renforçant davantage la sensibilisation centrale. La chimiokine CCL2, via une interaction neurogliale, participe également

à la modulation de la transmission de l'information nociceptive. La CCL2 en se fixant sur son récepteur CCR2 exprimé par les neurones nociceptifs de la lamina II active la voie de signalisation ERK-dépendante, ce qui conduit à l'augmentation à la hausse de la sous-unité GluN2B des récepteurs NMDAR et à la potentialisation de la transmission synaptique excitatrice au niveau spinal [Gao et al., 2009; Zhang et al., 2020b]. Il a été démontré que les souris génétiquement modifiées surexprimant la CCL2 astrocytaire développent une hypersensibilité mécanique [Menetski et al., 2007], tandis que les animaux KO pour le récepteur CCR2 présentent une diminution de l'allodynie mécanique après ligation partielle du nerf sciatique [Abbadie et al., 2003]. Par ailleurs, des enregistrements électrophysiologiques réalisés sur des neurones spinaux en culture in vitro ont révélé que la CCL2, tout comme IL-1 β , est aussi capable d'inhiber la transmission GABAergique [Gosselin et al., 2005]. De plus, les astrocytes activés synthétisent et libèrent la D-sérine, co-agoniste endogène des récepteurs NMDAR [Mothet et al., 2000]. En effet, les récepteurs NMDAR sont des hétéromères dont l'activation fonctionnelle nécessite non seulement la liaison du glutamate (sur la sous-unité GluN2) mais aussi d'un co-agoniste comme la glycine ou la D-sérine (sur les sous-unités GluN1 et GluN3) [Paoletti, 2011]. Il a été rapporté dans différents modèles de douleur neuropathique que l'atteinte nerveuse induit la régulation à la hausse du taux d'expression de D-sérine ainsi que de son enzyme de synthèse, la sérine racémase, et que l'inhibition du métabolisme astrocytaire par l'administration de fluoroacétate et la dégradation de D-sérine par l'enzyme D-amino acide oxydase (DAAO) supprime le développement d'une allodynie mécanique [Lefèvre et al., 2015; Moon et al., 2015].

La douleur neuropathique engendre également une dérégulation des voies descendantes inhibitrices. Une diminution de 35% du nombre de cellules sérotoninergiques de type «OFF» (inhibitrices) dans la RVM du côté ipsilatéral à la chirurgie a été rapportée chez des rats ayant subi une ligation du nerf spinal [Leong et al., 2011]. Ceci impliquerait donc une augmentation de l'activité fonctionnelle des cellules «ON» (excitatrices) de la RVM et par conséquent une altération de la balance excitation/inhibition au niveau spinal. Il a par exemple été démontré que la déplétion spinale ou supra-spinale en sérotonine induit une réversion de l'hypersensibilité mécanique et thermique [Rahman et al., 2006; Wei et al., 2010], mettant ainsi

en évidence un effet plutôt facilitateur qu'inhibiteur du système sérotoninergique descendant sur la transmission des informations nociceptives en condition pathologique. Cette action potentialisatrice de la sérotonine s'exercerait via l'activation des récepteurs 5-HT₃R, exprimés par les interneurons spinaux et les terminaisons centrales des fibres afférentes primaires [Kia et al., 1995; Conte et al., 2005], étant donné que leur blocage pharmacologique par l'administration intrathécale de l'antagoniste ondansétron résulte en une réduction à long-terme de l'allodynie mécanique, tandis que leur activation par l'injection de l'agoniste m-chlorophenylbiguanide (m-CPBG) exacerbe la réponse douloureuse [Oatway et al., 2004]. Les mécanismes sous-tendant l'hyperalgésie médiée par les récepteurs 5-HT₃R spinaux seraient responsables de l'activation de multiples cascades de signalisation renforçant les interactions neurone-glie. Ainsi, l'activation des 5-HT₃R spinaux entraînerait la libération de la chimiokine fractalkine (CX3CL1: chimiokine (C-X3-C motif), ligand 1) qui, en se fixant sur son récepteur CX3CR1 exprimé uniquement par les cellules microgliales [Verge et al., 2004], engendrerait la synthèse de l'IL-18 qui à son tour en se liant à son récepteur IL18-R astrocytaire provoquerait la libération de l'IL-1 β qui en activant les récepteurs NMDAR par phosphorylation de la sous-unité NR1 augmenterait la transmission glutamatergique, induisant ainsi la potentialisation de l'efficacité synaptique excitatrice responsable du maintien de la douleur neuropathique [Guo et al., 2014].

L'ensemble de ces résultats souligne le rôle crucial des interactions neurone-glie dans les mécanismes de sensibilisation centrale conduisant à l'établissement et au maintien des douleurs neuropathiques.

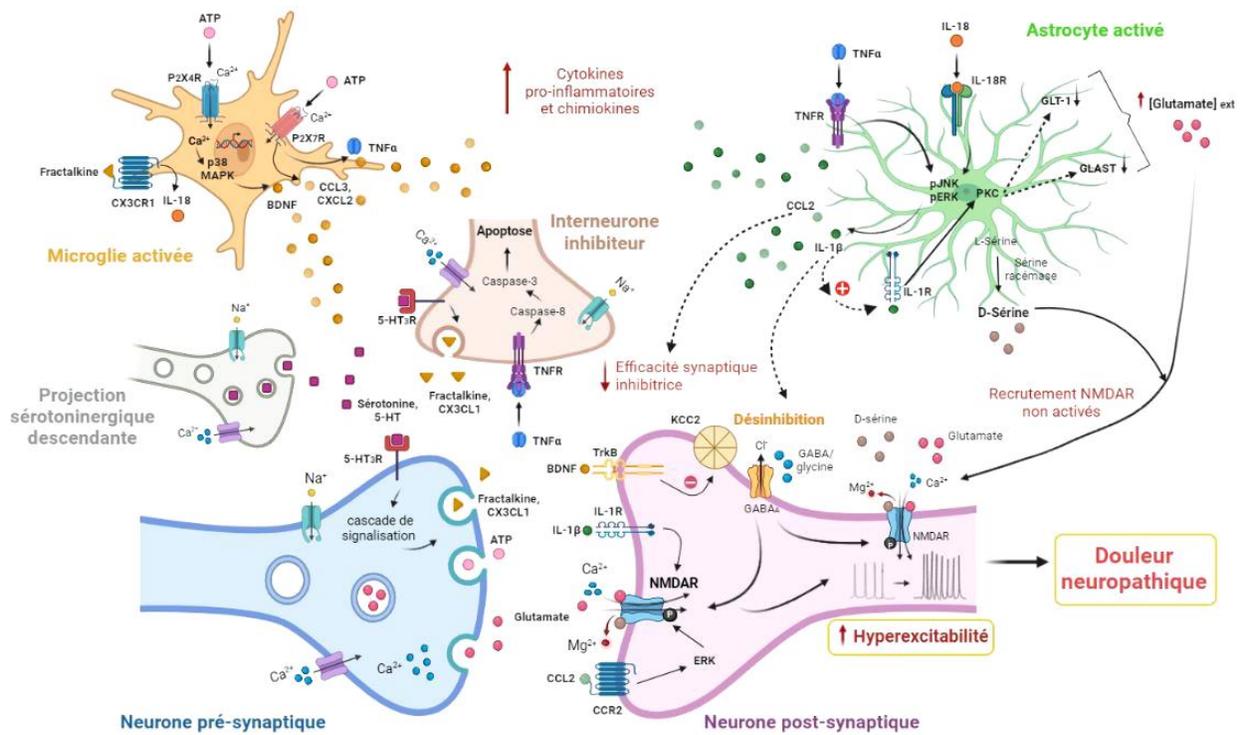


Fig. 8 Illustration schématique de l'implication des cellules gliales dans les mécanismes de sensibilisation centrale au niveau spinal. Suite à une lésion nerveuse, la transmission synaptique excitatrice est renforcée dans la corne dorsale de la moëlle épinière due à une réduction de l'efficacité synaptique inhibitrice induite par l'altération de l'homéostasie chlorurée, la perte d'interneurones inhibiteurs locaux et la diminution de l'inhibition descendante monoaminergique. Les cellules gliales (microglie et astrocytes), activées par les médiateurs libérés à partir des terminaisons centrales des fibres afférentes primaires, synthétisent de nombreuses chimiokines et cytokines pro-inflammatoires qui contribuent à la sensibilisation des neurones nociceptifs de second ordre. L'ATP, en se fixant sur ses récepteurs purinergiques P₂X₄R microgliaux, active la voie de signalisation p38/MAPK-dépendante conduisant à la libération du BDNF qui, via l'activation du récepteur TrkB exprimé par les neurones de projection spinaux, engendre l'expression à la baisse du co-transporteur KCC2 ce qui entraîne l'inversion du gradient électrochimique du chlore de telle sorte que l'activation des récepteurs GABAergiques induit un courant dépolarisant potentialisant le recrutement des récepteurs NMDAR et l'augmentation de l'excitabilité neuronale. A travers une interaction microglie-astrocytes, le TNF α est capable d'activer les astrocytes qui libèrent l'IL-1 β et la chimiokine CCL2 dans la fente synaptique. L'IL-1 β et la CCL2 induisent la phosphorylation des NMDAR post-synaptiques et potentialisent la transmission synaptique excitatrice. L'IL-1 β , en se fixant sur son récepteur IL-1R astrocytaire, est aussi capable de réguler à la baisse l'expression des transporteurs glutamatergiques GLT-1 et GLAST, menant ainsi à une augmentation de la concentration extracellulaire en glutamate ce qui conduit au recrutement des NMDAR normalement non activés. Ceci est également potentialisé par la sécrétion astrocytaire de D-sérine, un co-agoniste endogène des NMDAR. Le TNF α , en déclenchant la voie de signalisation caspase 3-dépendante, induit la mort par apoptose des interneurons inhibiteurs contribuant aussi à la réduction de la transmission GABAergique spinale. L'atteinte nerveuse entraîne une dérégulation de la voie sérotoninergique inhibitrice. La sérotonine, libérée par les terminaisons des fibres descendantes dans la corne dorsale de la moëlle épinière, en se fixant sur ses récepteurs 5-HT₃R spinaux mène à la libération de la chimiokine fractalkine. Par une communication neurone-microglie-astrocyte-neurone, la fractalkine provoque la production de l'IL-18 microgliale qui, en activant son récepteur IL-18R astrocytaire, induit la sécrétion d'IL-1 β renforçant la transmission synaptique excitatrice via le recrutement des

NMDAR post-synaptiques. 5-HT₃R: récepteur d'hydroxytryptamine (sérotonine), type 3; ATP: adénosine triphosphate; BDNF: facteur neurotrophique dérivé du cerveau; CCL2: chimiokine (C-C-motif), ligand 2; CCL3: chimiokine (C-C motif), ligand 3; CCR2: récepteur de chimiokine (C-C-motif), ligand 2; CX3CL1: chimiokine (C-X3-C motif), ligand 1 = fractalkine; CX3CR1: récepteur de chimiokine (C-X3-C motif), ligand 1; CXCL2: chimiokine (C-X-C motif), ligand 2; ERK: kinases régulées par un signal extracellulaire; GABA: acide γ -aminobutyrique; GABA_A: récepteur GABA, type A; GLAST: transporteur glutamate/aspartate; GLT-1: transporteur glial du glutamate, type 1; IL-18R: récepteur IL-18; IL-1R: récepteurs IL-1 β ; IL: interleukines; KCC2: co-transporteur potassium-chlore, isoforme 2; NMDAR: récepteur N-méthyl D-aspartate; P₂X₄R/ P₂X₇R: récepteurs purinergiques P₂X; p38/MAPK: protéines kinases p38 activées par des agents mitogènes; pJNK: c-Jun N-terminal kinase, phosphorylée; PKC: protéine kinase C; TNF α : facteur tumoral de nécrose α ; TNFR: récepteur de TNF α ; TrkB: récepteur tropomyosine kinase B. Adapté d'après [Basbaum et al., 2009](#); [Beggs et Salter, 2010](#); [Ji et al., 2013](#); [Guo et al., 2014](#). Réalisé avec BioRender®

3. Modélisation de la douleur neuropathique chez l'animal

L'étude des mécanismes sous-tendant l'apparition et le maintien des douleurs neuropathiques nécessite l'utilisation de modèles animaux. Dû au fait que la douleur neuropathique peut être d'étiologies variées (voir Section Douleur chronique/douleurs neuropathiques), de nombreux modèles animaux, utilisant comme sujet expérimental principalement des rongeurs (rats et souris), ont été développés dans le but d'approcher les conditions d'émergence et la symptomatologie observées chez l'Homme [pour une revue détaillée voir [Colleoni et Sacerdote, 2010](#); [Jaggi et al., 2011](#); [Kumar et al., 2018](#)]. Ainsi, il est possible de distinguer des modèles de neuropathies induites par des lésions traumatiques du système nerveux périphérique et central, ou encore résultantes d'une exposition à des agents chimio-thérapeutiques aux propriétés anticancéreuses associés au développement d'une neurotoxicité des fibres nerveuses périphériques (la vincristine, les dérivés du platine comme la cisplatine et l'oxaliplatine, les dérivés des taxanes tels que le paclitaxel et le docétaxel). La modélisation de la douleur neuropathique par lésions centrales chez l'animal peut impliquer la chute d'un poids calibré au niveau thoraco-lombaire de la moëlle épinière, l'hémisection de la moëlle épinière sur le segment thoracique ou encore l'administration intraspinale d'agents excitotoxiques [[Jaggi et al., 2011](#)]. D'autres modèles ont également été conçus pour mimer des pathologies présentant une composante neuropathique ou inflammatoire, telles que le diabète induit par l'administration de streptozotocine conduisant à la destruction des cellules β pancréatiques régulant le taux d'insuline et menant donc à une hyperglycémie neurotoxique, ou bien le modèle de névralgie post-herpétique consistant par exemple à injecter le virus HSV-1 (virus de l'herpès simplex de

type 1) dans le tibia de la patte arrière de l'animal. L'ensemble de ces modèles se caractérise par l'apparition et le maintien, sur une durée plus au moins longue, de manifestations comportementales rappelant celles provoquées par les douleurs neuropathiques cliniques, notamment l'allodynie mécanique et parfois l'hyperalgésie thermique. Les études précliniques menées au cours de ces dernières années mettent en évidence qu'une grande partie des ces modèles animaux s'avèrent aussi être utiles pour étudier la comorbidité anxio-dépressive et les troubles cognitifs qui accompagnent les douleurs neuropathiques [Leite-Almeida et al., 2015; Kremer et al., 2021]. La majorité des ces études utilisent des modèles expérimentaux basés sur une lésion nerveuse périphérique induite principalement par section ou compression partielle du nerf sciatique [Yalcin et al., 2014a; Kremer et al., 2021], ciblé en raison de la taille importante et la facilité d'accès et de manipulation qu'il présente [Colleoni et Sacerdote, 2010], mais aussi dû au fait qu'il innerve les membres postérieurs ce qui permet idéalement de tester la sensibilité mécanique et thermique sur les pattes arrière de l'animal [Barrot, 2012]. Les paragraphes qui suivent présenteront brièvement quelques-uns de ces modèles (Fig.9).

3.1. Modèle de constriction chronique du nerf sciatique

(CCI: Chronic Constriction Injury)

L'un des modèles le plus couramment utilisé est celui développé chez le rat en 1988 par Bennett et Xie qui consiste à engendrer une constriction chronique en réalisant quatre ligatures lâches autour de la branche principale du nerf sciatique au niveau de la mi-cuisse de l'animal anesthésié (Fig.9-1), de façon à mimer les symptômes d'une compression nerveuse chronique observée dans les conditions cliniques de neuropathies post-traumatiques [Bennett et Xie, 1988]. La constriction du nerf conduit à l'apparition d'un œdème entraînant la perte axonale de 84%-99% des fibres myélinisées et de 62%-84% des fibres non myélinisées [Carlton et al., 1991]. La dénervation partielle permet ainsi de préserver les réponses comportementales aux stimuli périphériques [Challa, 2015]. Ce modèle a également été adapté chez la souris mais les données de la littérature rapportent un nombre variable de ligatures, pouvant aller de 1 à 4 selon les différentes études [Ma et Eisenach, 2003; Chia et al., 2016; Gopalsamy et al., 2017]. Par conséquent, ceci conduit inévitablement à une variabilité dans la méthodologie utilisée. Cependant, des travaux récents ont démontré que le nombre de ligatures ne semble pas

influencer le développement des symptômes douloureux et qu'une seule ligature est suffisante pour induire le phénotype neuropathique autant chez la souris [Gopalsamy et al., 2019] que chez le rat [Medeiros et al., 2020]. Néanmoins, il est envisageable que le nombre et la force des ligatures réalisées impactent différemment la proportion des fibres afférentes lésées, engendrant ainsi une variabilité dans l'intensité de la sensibilité douloureuse d'un animal à l'autre, ce qui pourrait compliquer l'analyse des résultats. De plus, il a été démontré que le type de matériel de suture utilisé contribue également à la variabilité observée dans ce modèle: les souris ayant eu des ligatures en fil de soie présentent un phénotype neuropathique plus prononcé que celles chez qui les ligatures ont été réalisées en utilisant un fil de suture en catgut chromé [van der Wal et al., 2015]. Une autotomie, limitée principalement aux dommages au niveau des griffes de la patte postérieure opérée, ainsi qu'une altération des performances motrices ont également été rapportées dans ce modèle [Bennett et Xie, 1988; Medeiros et al., 2020, 2021]. Les ligatures engendrent une réponse inflammatoire locale, rendant ainsi possible d'étudier le rôle des différents médiateurs inflammatoires et celui des cellules gliales dans les mécanismes sous-tendant le développement de la douleur neuropathique [Maves et al., 1993; Okamoto et al., 2001]. Le modèle CCI se caractérise par la mise en place d'une allodynie mécanique et thermique au froid, ainsi qu'une hyperalgésie en réponse à des stimuli tactiles et thermiques (chauds) appliqués sur la patte ipsilatérale à la lésion. Ces symptômes se développent au cours de la première semaine, avec une réponse maximale observée pendant la deuxième semaine, et disparaissent progressivement vers le deuxième mois post-opératoire [Bennett et Xie, 1988; Dowdall et al., 2005; Gopalsamy et al., 2019]. Il est aussi possible d'observer des manifestations comportementales évocatrices d'une douleur spontanée, telles qu'un réflexe de protection et une augmentation considérable de grattage et de léchage de la patte lésée ainsi qu'une distribution pondérale anormale entre la patte blessée et la patte non affectée [Bennett et Xie, 1988; Jaggi et al., 2011]. De plus, les données de la littérature [Leite-Almeida et al., 2015; Kremer et al., 2021] mettent en évidence que le modèle CCI pourrait également être utilisé pour étudier les dimensions affective et cognitive de la douleur neuropathique, aussi bien chez la souris [Medeiros et al., 2020] que chez le rat [Medeiros et al., 2021].

3.2. Modèle de compression chronique du nerf sciatique

(SNC: Sciatic Nerve Cuffing)

Ce modèle, aussi appelé modèle de «*Cuff*», a été initialement développé et caractérisé chez le rat [Mosconi et Kruger, 1996; Pitcher et al., 1999] et adapté ensuite chez la souris [Benbouzid et al., 2008a; Yalcin et al., 2014b]. Il est similaire au modèle CCI, sauf que la compression unilatérale est exercée en plaçant un manchon en polyéthylène (tube polyéthylène: 2mm de long, PE-20 chez la souris et PE-60 ou PE-90 chez le rat) autour de la branche principale du nerf sciatique (Fig.9-2), conduisant ainsi à une réaction inflammatoire, une dégénération importante des fibres myélinisées et une réduction transitoire du nombre des fibres faiblement myélinisées et non myélinisées [Mosconi et Kruger, 1996; Jaggi et al., 2011]. L'utilisation d'un manchon en polyéthylène de taille standardisée permet de réaliser une compression plus facilement reproductible d'un animal à l'autre, réduisant ainsi la variabilité interindividuelle [Mosconi et Kruger, 1996; Benbouzid et al., 2008a; Yalcin et al., 2014b]. De plus, contrairement au modèle CCI, la compression du nerf sciatique semble ne pas induire un comportement d'autotomie dans ce modèle [Mosconi et Kruger, 1996] et l'activité locomotrice reste intacte [Benbouzid et al., 2008a; Barthas et al., 2015; Sellmeijer et al., 2018]. La douleur neuropathique induite par le modèle Cuff est généralement caractérisée par la mise en évidence d'une hyperalgésie thermique au chaud persistant pendant 3 semaines après l'intervention chirurgicale, ainsi qu'une allodynie mécanique perdurant pendant 3 mois [Benbouzid et al., 2008a; Yalcin et al., 2011]. Ces symptômes sont principalement observés du côté ipsilatéral à l'implantation du manchon chez la souris [Benbouzid et al., 2008a], tandis qu'une bilatéralisation a été initialement décrite chez le rat par Mosconi et Kruger [Mosconi et Kruger, 1996]. Il a été démontré chez la souris que les conséquences affectives de la douleur neuropathique se développent au cours du temps, avec l'apparition d'un phénotype anxieux vers la 4^{ème} semaine post-opératoire et un comportement apparenté à la dépression observé entre la 6^{ème} et la 8^{ème} semaine post-opératoire [Yalcin et al., 2011]. Les données de la littérature indiquent également que le modèle Cuff est sensible à un traitement aigu par la gabapentine [Benbouzid et al., 2008b], ainsi qu'à un traitement chronique par les antidépresseurs tricycliques nortriptyline et amitriptyline [Benbouzid et al., 2008b; Benbouzid et al., 2008c] et les SNRIs tels que la

venlafaxine et la réboxétine [Yalcin et al., 2009], reproduisant ainsi la sensibilité de la douleur neuropathique aux traitements utilisés comme première intention en clinique. Ainsi, ce modèle s'avère être approprié pour étudier les mécanismes d'action et les effets analgésiques et anti-anxio-dépressifs de nouvelles stratégies thérapeutiques et pour définir leurs indications précises en clinique. C'est notamment ce modèle expérimental qui a été choisi pour la réalisation de ce travail de thèse, en collaboration avec Dr. Ipek Yalcin de l'Institut de Neurosciences Cellulaires et Intégratives de Strasbourg (INCI-UPR 3212) dont la contribution a grandement apporté à ma formation pour la mise en place du modèle Cuff au sein de notre laboratoire.

3.3. Modèle de ligature partielle du nerf sciatique

(PSNL: Partial Sciatic Nerve Ligation)

La procédure expérimentale mise en place chez le rat par Seltzer et collègues implique à réaliser une ligature unilatérale serrée d'une partie de la face dorsale du nerf sciatique (**Fig.9-3**), de façon à léser près d'un tiers à la moitié des fibres nerveuses [Seltzer et al., 1990]. Cette ligature partielle est considérée à modéliser la douleur neuropathique résultante d'une contusion plutôt qu'une compression nerveuse [Challa, 2015]. Les rats opérés ne développent pas un comportement d'autotomie et présentent des signes d'allodynie et d'hyperalgésie mécanique et thermique dans les heures qui suivent l'intervention chirurgicale. Ces symptômes peuvent apparaître de manière bilatérale et semblent persister pendant au moins 7 mois. Les animaux démontrent également des signes de douleur spontanée, reflétés par un comportement de protection et de toilettage excessif de la patte lésée [Seltzer et al., 1990]. Contrairement à ce qui est observé chez le rat, aucune bilatéralisation des signes douloureux du côté controlatéral à la lésion n'est décrite dans le modèle PSNL adapté chez la souris par Malmberg et Basbaum [Malmberg et Basbaum, 1998]. Les auteurs rapportent aussi une résolution plus rapide de l'allodynie thermique (au bout de 7 semaines), par rapport à l'allodynie mécanique qui perdure au moins jusqu'à la 10^{ème} semaine post-opératoire. L'inconvénient principal de ce modèle réside dans le niveau de reproductibilité, étant donné que la proportion de fibres nerveuses lésées par la ligature peut varier entre 30% et 50% [Seltzer et al., 1990]. Aussi, vu qu'une partie du nerf reste intact, il est difficile d'étudier les changements induits dans les DRG qui contiennent donc

les corps cellulaires des afférences primaires endommagées et non endommagées [Challa, 2015].

3.4. Modèle du nerf épargné

(SNI: Spared Nerve Injury)

Le tronc commun du nerf sciatique se divise au niveau du genou en trois embranchements: le nerf péronéal commun, le nerf tibial et le nerf sural [Schmalbruch, 1986; Eaton et al., 2013]. Le modèle SNI, développé initialement chez le rat par Decosterd et Woolf [Decosterd et Woolf, 2000] et adapté ensuite chez la souris [Shields et al., 2003; Cichon et al., 2018], permet de mimer les symptômes d'une dénervation partielle du membre postérieur en lésant deux des trois branches terminales du nerf sciatique et en laissant donc la troisième intacte (Fig.9-4). Pour se faire, les branches péronéale et tibiale sont étroitement ligaturées et puis sectionnées du côté distal à la ligature en enlevant un fragment d'environ 2mm à 4mm de long afin d'éviter la ré-innervation [Decosterd et Woolf, 2000]. Une attention particulière doit être portée pour éviter tout étirement du nerf sural et de l'épargner ainsi de toute lésion qui pourrait influencer les réponses comportementales de l'animal. L'un des inconvénients principal de ce modèle est que le nerf sural innerve la peau sur un territoire restreint de la face latérale de la patte arrière [Cichon et al., 2018], rendant ainsi techniquement difficile de réaliser des tests nociceptifs (notamment l'application des filaments de von Frey), ce qui implique donc la nécessité d'effectuer des mesures répétitives afin de confirmer l'exactitude des résultats obtenus. Les animaux opérés ne présentent pas de comportement d'autotomie mais démontrent quelques signes de douleur spontanée, à savoir le maintien de la patte lésée en position fléchie et la distribution pondérale sur le membre non affecté [Decosterd et Woolf, 2000]. La lésion nerveuse déclenche une réaction inflammatoire, permettant d'étudier l'implication des cellules immunes et gliales dans la physiopathologie de la douleur neuropathique [Guida et al., 2020]. De plus, cette procédure chirurgicale permet d'éviter le contact direct entre les fibres lésées et les fibres non endommagées, ce qui rend possible la comparaison des différences de sensibilité douloureuse entre le territoire cutané innervé par le nerf sural épargné et les zones dénervées, mais aussi d'étudier les changements neurophysiologiques se mettant en place dans les terminaisons nerveuses des fibres afférentes primaires intactes induits par la lésion des fibres

adjacentes [Jaggi et al., 2011]. Chez le rat, le modèle SNI induit le développement d'un phénotype neuropathique, caractérisé par l'apparition d'une allodynie mécanique et thermique au froid, ainsi qu'une hyperalgésie thermique au chaud [Decosterd et Woolf, 2000; Erichsen et Blackburn-Munro, 2002]. Ces symptômes apparaissent en moins de 24h après l'intervention chirurgicale et perdurent pendant 6-7 mois. Les animaux opérés peuvent parfois présenter des signes d'allodynie mécanique au niveau de la patte controlatérale à la lésion [Erichsen et Blackburn-Munro, 2002]. Chez la souris, l'allodynie mécanique se met en place au 3^{ème} jour post-opératoire et persiste pendant au moins 1 mois [Bourquin et al., 2006], mais les animaux ne développent pas des signes d'hyperalgésie thermique au chaud [Shields et al., 2003]. Il existe d'autres variantes du modèle SNI utilisant différentes combinaisons de section nerveuse [Lee et al., 2000; Bourquin et al., 2006]. Cependant, cela peut aboutir à une modification des réponses comportementales observées dans le modèle initial. Il a par exemple été démontré chez la souris que le fait de garder le nerf tibial intact supprime le développement d'un phénotype neuropathique, tandis que sa lésion permet d'induire une hypersensibilité mécanique similaire à celle observée dans le modèle du nerf sural épargné [Bourquin et al., 2006]. D'un autre côté, il a été mis en évidence chez le rat que la section des nerfs tibial et sural (branche péronéale épargnée) semble augmenter la sévérité de la douleur ressentie, en comparaison au modèle SNI initial [Lee et al., 2000]. La douleur neuropathique induite par le modèle SNI se caractérise également par le développement des comportements apparentés à l'anxiété et la dépression [Leite-Almeida et al., 2015; Guida et al., 2020; Kremer et al., 2021]. Diverses études rapportent aussi l'émergence des déficits cognitifs, tels que des altérations de la mémoire spatiale [Cardoso-Cruz et al., 2018] et de la mémoire de reconnaissance [Palazzo et al., 2015; Mai et al., 2019]. Cependant, il semblerait que ces changements comportementaux soient différemment affectés selon le côté de la lésion. En effet, il a été montré chez le rat que la lésion induite sur le membre postérieur gauche permet d'induire un phénotype anxieux sans affecter la composante cognitive, tandis que les rats ayant subi une lésion du côté droit présentent une réduction des performances cognitives mais sans démontrer des signes de type anxieux [Leite-Almeida et al., 2012].

3.5. Modèle de ligature des nerfs spinaux

(SNL: Spinal Nerve Ligation)

Contrairement aux modèles décrits précédemment, dans lesquels la lésion est induite au niveau de la patte postérieure de l'animal, le modèle SNL cible la partie des nerfs se trouvant à proximité de la moëlle épinière, juste avant la naissance des racines dorsale et ventrale. Développé par Kim et Chung en 1992, ce modèle peut être réalisé sous deux variantes: soit en ligaturant étroitement de façon ipsilatérale les nerfs spinaux lombaires L5 et L6 et laissant le nerf spinal L4 intact (**Fig.9-5**), soit en ligaturant uniquement le nerf spinal L5 [Kim et Chung, 1992; LaBuda et Little, 2005]. De cette manière, un DRG donné contient uniquement les corps cellulaires des fibres afférentes lésées (L5 et/ou L6) ou les corps cellulaires des fibres afférentes non endommagées (L4 et/ou L6) du nerf sciatique, permettant ainsi l'étude sélective des mécanismes cellulaires et moléculaires survenant en réponse à une lésion nerveuse [Komori et al., 2007]. Etant donné que le nombre de vertèbres lombaires varie en fonction de l'espèce et de la souche utilisée (rat: 6 vertèbres lombaires; souris: entre 5-6 vertèbres lombaires), le niveau d'insertion des racines nerveuses, et donc des DRG qui en sont associés, varie [Rigaud et al., 2008]. Ainsi, il faut prendre en considération que le modèle SNL chez la souris doit consister à ligaturer le nerf spinal L4 et laisser intact le nerf L3. La procédure chirurgicale est longue et complexe et peut aboutir à des lésions tissulaires importantes [Challa, 2015]. Bien qu'aucun comportement d'autotomie ne soit décrit dans ce modèle, la lésion touchant le nerf L4 (contenant une proportion importante de fibres motrices) induit un déficit moteur sévère interférant avec la réalisation des tests comportementaux [Kim et Chung, 1992]. Les auteurs rapportent aussi une déformation irréversible de la position de la patte opérée conduisant à un problème général de posture et de démarche. Les rats SNL développent une allodynie mécanique perdurant au moins pendant 10 semaines, ainsi qu'une hyperalgésie thermique au chaud observée pendant au moins 5 semaines après l'opération [Kim et Chung, 1992]. Il semblerait que le degré d'allodynie mécanique observée après la lésion du nerf spinal L5 est d'une intensité moindre que celle rapportée dans le modèle SNL touchant les nerfs L5 et L6 [LaBuda et Little, 2005]. Une altération de la fonction cognitive (mémoire spatiale) a également été rapportée 30 jours après l'intervention chirurgicale [Hu et al., 2010]. Chez la souris, les

signes d'allodynie mécanique et d'hyperalgésie thermique perdurent au moins pendant 3 mois et s'accompagnent du développement des troubles affectifs qui apparaissent à partir du 15^{ème} jour et se maintiennent jusqu'à la 8^{ème} semaine post-opératoire [Suzuki et al., 2007].

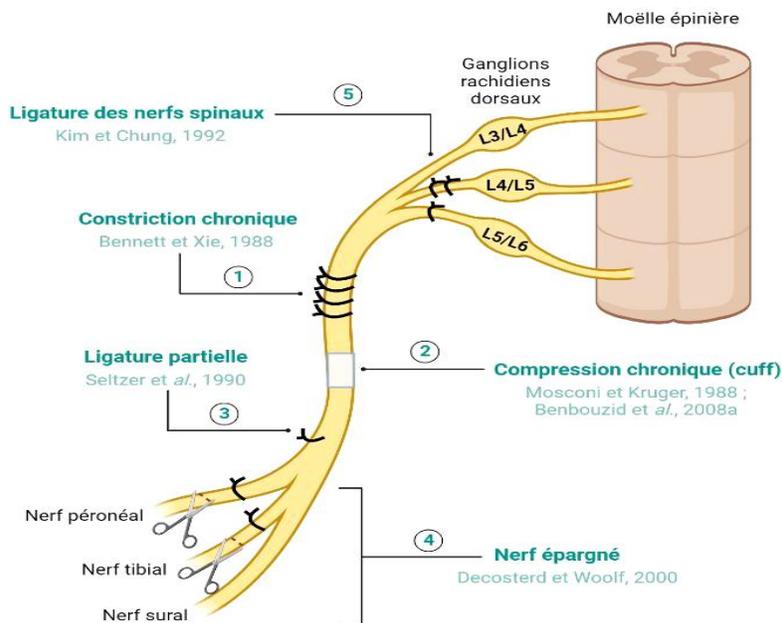


Fig. 9 Représentation schématique des modèles animaux de douleur neuropathique d'origine périphérique fréquemment utilisés en recherche fondamentale. Les modèles expérimentaux présentés diffèrent en fonction du type de lésion (ligature, section, compression, contusion) et du compartiment endommagé (le tronc commun du nerf sciatique, les branches terminales, les nerfs spinaux), mais ils ciblent tous le système nerveux périphérique afin d'induire des douleurs neuropathiques chez l'animal. (1) Modèle de constriction chronique: quatre ligatures lâches autour de la branche principale du nerf sciatique, (2) Modèle de compression chronique: implantation d'un manchon en polyéthylène autour du tronc commun du nerf sciatique, (3) Modèle de ligature partielle: ligature serrée d'un tiers à la moitié des fibres nerveuses constituant la branche principale du nerf sciatique, (4) Modèle du nerf épargné: ligature serrée et section des deux des trois branches terminales du nerf sciatique, principalement les nerfs péronéal et tibial, en laissant la troisième intacte (le nerf sural), (5) Modèle de ligature des nerfs spinaux: ligatures serrées des nerfs spinaux lombaires L5 et L6 en laissant le L4 intact ou ligature serrée uniquement du nerf spinal L5. Adapté d'après *Kremer et al., 2021*. Réalisé avec BioRender®

Outre l'acquisition des connaissances sur la physiopathologie des douleurs neuropathiques, l'intérêt des modèles animaux réside dans la possibilité d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et d'élaborer des traitements plus spécifiques qui pourront ensuite être utilisés en clinique.

4. Traitement pharmacologique des douleurs neuropathiques

La douleur neuropathique est une pathologie multidimensionnelle qui reste difficile à traiter. Outre les signes physiques, le traitement optimal doit prendre en considération l'étiologie de la douleur ainsi que les facteurs psychosociaux pouvant influencer les résultats des interventions thérapeutiques. La prise en charge du patient neuropathique nécessite un suivi régulier afin d'évaluer l'efficacité du traitement prescrit et de réajuster la posologie en cas de nécessité. Le suivi doit également servir aux praticiens à déterminer si le patient, en cas de résistance aux traitements pharmacologiques proposés, doit être orienté vers des structures de douleur spécialisées. Les présentes recommandations s'appliquent aux traitements pharmacologiques disponibles en France et sont principalement basées sur des études utilisant pour la plupart une monothérapie [Moisset et al., 2020a].

- Les traitements médicamenteux de première intention ayant démontré une efficacité élevée dans les essais cliniques randomisés incluent les antidépresseurs et certaines antiépileptiques [Finnerup et al., 2015]. Ces deux classes de molécules agissent lentement et leurs effets thérapeutiques commencent à se mettre en place quelques semaines après le début du traitement [Dworkin et al., 2010]. Les **antidépresseurs tricycliques classiques** (ex. imipramine, amitriptyline, clomipramine) ont une efficacité démontrée dans le traitement des douleurs neuropathiques d'étiologie variée, telles que la douleur chronique post-opératoire ou post-AVC, les névralgies post-herpétiques et les polyneuropathies diabétiques [Finnerup et al., 2005; Attal et al., 2006]. Il a été montré que l'amitriptyline induit un effet analgésique similaire chez des patients neuropathiques dépressifs et non dépressifs, ce qui suggère que son effet anti-nociceptif est indépendant de son effet antidépresseur [Max et al., 1987]. Une recommandation de haut niveau de preuve existe également pour l'utilisation des antidépresseurs SNRIs dont font partie la duloxétine et venlafaxine [Finnerup et al., 2015; Moisset et al., 2020a]. Ces molécules sont fréquemment utilisées dans le traitement de la dépression et des troubles anxieux [Schatzberg, 2003; Montoya et al., 2016; Lyndon et al., 2019], mais démontrent également une bonne efficacité pour la prise en charge de la

polyneuropathie douloureuse du diabète [Raskin et al., 2005; Dworkin et al., 2007; Aiyer et al., 2016]. Malgré les effets bénéfiques observés, les antidépresseurs induisent de nombreux effets indésirables, tels que nausées, somnolence, perte d'appétit, fatigue, constipation ou encore rétention urinaire [Dworkin et al., 2010; Moisset et al., 2020a]. Pour le traitement de la douleur, il est préconisé d'utiliser les antidépresseurs tricycliques à une dose faible en raison des risques potentiels d'hypotension et de toxicité cardiaque [Moisset et al., 2020a]. Ceci est aussi valable pour les SNRIs qui sont associés à une augmentation de la pression artérielle et doivent être utilisés avec prudence chez les patients souffrants de maladies cardio-vasculaires [Dworkin et al., 2010]. Les **antiépileptiques**, tels que la gabapentine et la prégabaline, ont une efficacité démontrée dans les douleurs neuropathiques d'origine périphérique [Finnerup et al., 2005; Dworkin et al., 2007] et dans une moindre mesure dans le soulagement des douleurs d'origine centrale [Levendoglu et al., 2004; Vranken et al., 2008]. L'action antalgique des composés gabapentinoïdes s'exerce via l'inhibition de l'activité des canaux calciques voltage-dépendants pré-synaptiques conduisant à une diminution de la libération des neurotransmetteurs excitateurs et par conséquent à une réduction de l'hyperexcitabilité neuronale [Patel et Dickenson, 2016]. Les effets indésirables incluent: nausées, vertiges, somnolence, fatigue, troubles visuels, œdèmes périphériques et non périphériques ainsi que le risque de prise de poids [Attal, 2019; Onakpoya et al., 2019; Moisset et al., 2020a]. Une étude comparative monocentrique a mis en évidence que l'efficacité thérapeutique de la prégabaline dans le soulagement de la douleur associée à la neuropathie diabétique est comparable à celui observé pour l'amitriptyline, démontrant ainsi que les antiépileptiques peuvent être un traitement alternatif aux antidépresseurs tricycliques [Bansal et al., 2009]. De plus, les patients traités avec de la prégabaline ont rapporté moins d'effets secondaires que ceux ayant reçu l'amitriptyline. Néanmoins, les effets indésirables restent assez nombreux ce qui augmente le risque d'arrêt de traitement par la prégabaline [Onakpoya et al., 2019]. Il est préconisé de réduire les doses chez les personnes âgées et d'adapter la posologie en cas d'insuffisance rénale selon la clairance de la créatinine [Dworkin et al., 2010].

- Les traitements utilisés en seconde intention comprennent les **anesthésiques locaux**, tels que les emplâtres de lidocaïne 5% et les patches de capsaïcine 8% qui doivent être appliqués uniquement sur peau intacte (non lésée) [Moisset et al., 2020a]. Les agents locaux sont recommandés pour les patients neuropathiques souffrant d'une allodynie mécanique et lorsque la zone douloureuse n'est pas trop étendue [Dworkin et al., 2010; Finnerup et al., 2015]. La lidocaïne agit en bloquant les canaux sodiques voltage-dépendants, atténuant ainsi les décharges ectopiques au site lésionnel, tandis que la capsaïcine entraîne une désensibilisation réversible des récepteurs TRPV1 provoquant ainsi l'inactivation des fibres nociceptives afférentes [Binder et Baron, 2016]. Les effets secondaires rapportés sont minimes, consistant en des réactions cutanées transitoires se manifestant principalement sous forme de rougeurs ou des démangeaisons [Attal, 2019]. Le **tramadol**, agoniste partiel et non sélectif des récepteurs aux opioïdes présentant une activité inhibitrice sur la recapture de la noradrénaline et la sérotonine, fait également partie des traitements de seconde intention [Attal, 2019]. Son efficacité est principalement démontrée dans les douleurs neuropathiques périphériques [Finnerup et al., 2015]. Outre les effets secondaires qui sont similaires à ceux décrits pour les traitements de première intention, le tramadol est susceptible d'interagir avec d'autres médicaments (antidépresseurs) et augmenter ainsi le risque de syndrome sérotoninergique [Dworkin et al., 2010].
- Les traitements bénéficiant de faibles recommandations et donc à utiliser en dernière intention incluent les **opioïdes forts** et la **toxine botulique de type A** [Finnerup et al., 2015]. Le traitement par la toxine botulique est réservé aux douleurs neuropathiques périphériques localisées pour lesquelles l'administration se fait par voie sous-cutanée dans la zone douloureuse [Attal et al., 2016; Attal, 2019]. Il semblerait que le taux de succès du traitement par la toxine soit plus élevé chez les patients démontrant une préservation de la sensibilité mécanique et thermique au niveau de la zone douloureuse concernée [Attal et al., 2016]. Cette monothérapie est bien tolérée et sans effet indésirable majeur: les sujets rapportant souvent une vive douleur au moment de l'injection. Néanmoins, la toxine botulique ne permet pas d'atténuer les troubles de

sommeil et d'anxiété associés à la douleur et de ce fait devrait être proposée principalement en tant qu'adjuvant aux traitements précédemment mentionnés [Attal et al., 2016]. Les données des revues systématiques Cochrane démontrent une efficacité faible ou non concluante de l'utilisation des opioïdes forts (ex. morphine, oxycodone, méthadone) dans la prise en charge des douleurs neuropathiques [Gaskell et al., 2016; Cooper et al., 2017; McNicol et al., 2017]. En raison des effets secondaires à long-terme (modifications immunologiques, hypogonadisme) et le risque de développement d'une dépendance physique, la prescription des opioïdes forts est recommandée en dernier recours lorsque les traitements précédents n'ont pas été efficaces ou pas suffisants pour soulager la douleur des patients [Dworkin et al., 2007; Finnerup et al., 2015]. Les effets indésirables les plus courants incluent: nausées, constipation, somnolence, vomissements et vertiges [McNicol et al., 2013]. Afin de limiter les événements indésirables, les doses administrées doivent être faibles et adaptées selon le patient en prenant en compte ses antécédents personnels et familiaux d'abus de drogues ou d'alcool [Dworkin et al., 2010].

Les traitements pharmacologiques représentent un vaste domaine thérapeutique, mais la majorité des patients neuropathiques n'obtiennent pas de soulagement satisfaisant avec les traitements existants qui présentent parfois d'effets indésirables lourds [Finnerup et al., 2010]. Ceci souligne la nécessité de développer de nouvelles alternatives thérapeutiques. Sur le plan non pharmacologique, de nombreuses techniques de neurostimulation invasives et non invasives ont ainsi commencé à prendre une place importante dans la prise en charge des douleurs chroniques. Un certain nombre de ces approches seront décrites dans la deuxième partie de cette introduction.

PARTIE II – Neurostimulation et Douleur neuropathique

1. Rappels historiques sur l'électricité médicale

L'idée de l'utilisation de l'électricité comme moyen thérapeutique (électrothérapie) trouve ses racines vers 3000 av. JC en Mésopotamie avec la découverte de la capacité de l'ambre jaune à attirer des corps légers après frottement [Dolhem, 2008]. Dans l'Antiquité, la capacité de certains poissons (torpilles, poissons-chats, anguilles et gymnotes) à produire des décharges électriques fut utilisée par les Grecs et les Romains pour le soulagement des maux de tête et des douleurs dans les articulations. Au XVII^{ème} siècle, le philosophe grec Thalès de Milet en étudiant d'autres substances présentant la même vertu que l'ambre nomma cette propriété attractive «*électricité*», d'après le nom de l'ambre en grec: *elektron*. Ce fut au milieu du XVIII^{ème} siècle que le premier condensateur électrique, appelé aussi la bouteille de Leyde, fut conçu par Ewald Georg von Kleis rendant ainsi possible de stocker l'énergie électrostatique. Cette découverte marqua le début des recherches sur l'électricité médicale en France à la fin des années 1770, notamment par les travaux de l'abbé Bertholon qui remporta le concours lyonnais consacré aux relations entre électricité et santé, et de Jean-Paul Marat dont le mémoire sur l'électricité médicale lui remporta le prix du concours de l'Académie royale des sciences de Rouen [Zanetti, 2018]. La fin du XVIII^{ème} siècle fut marquée d'une part par les expériences de Luigi Galvani sur l'existence de l'électricité animale, posant ainsi les bases de l'électrophysiologie moderne, et d'autre part par la mise au point de la première pile électrique par Alessandro Volta de Palua décrivant alors l'électricité bimétallique [Parent, 2004]. Pendant le XIX^{ème} siècle, le lien entre l'électricité et le magnétisme fut établi grâce aux travaux du physicien danois Hans Christian Ørsted et du chimiste britannique Michael Faraday qui aboutirent à la construction des premiers générateurs de courant. Tous ces progrès ont permis à l'électricité médicale de connaître un essor considérable avec une première utilisation documentée chez l'Homme par Giovanni Aldini en 1801 qui réussit à soigner un patient atteint de mélancolie (Luigi Lanzarini, 27 ans) par stimulation électrique transcrânienne [Parent, 2004]. Les travaux d'Aldini ont grandement contribué à l'émergence de différentes formes d'électrothérapies pendant le XX^{ème}, telle que

l'électro-convulsivothérapie (ECT) développée par les italiens Ugo Cerletti et Lucio Bini qui ont utilisé l'électrochoc pour déclencher des crises d'épilepsie à des fins thérapeutiques chez des patients psychotiques [Faedda et al., 2010]. Plus tard, l'électrostimulation fut aussi appliquée de manière transcutanée pour le soulagement des douleurs chroniques en se basant sur la théorie du portillon décrite par Melzack et Wall en 1965. Cette théorie stipule que l'activation des interneurons inhibiteurs localisés dans la substance gélatineuse des cornes postérieures de la moëlle épinière, par des influx provenant des fibres afférentes de gros calibres de type A β (non nociceptifs), peut conduire à l'inhibition de la transmission du message douloureux véhiculé par les fibres nociceptives de type A δ et C [Wall et Sweet, 1967].

La partie qui suit présentera quelques-unes des méthodes d'électrostimulation, périphérique ou centrale, pratiquées actuellement dans le traitement de la douleur chronique. Il est considéré qu'en fonction des paramètres de stimulation, ces approches permettent soit d'inhiber soit d'exciter l'activité de la zone ciblée, voire de moduler la dynamique du réseau neuronal dans lequel elle est impliquée. Il est important de noter que les mécanismes d'action de ces différentes techniques restent mal connus et des études cliniques et précliniques s'avèrent nécessaires afin de conclure sur une efficacité absolue.

2. Techniques de stimulation invasives dans la prise en charge de la douleur neuropathique

Les techniques de stimulation invasives nécessitent une intervention chirurgicale pour l'implantation des électrodes dans les structures plus ou moins profondes du système nerveux central (encéphale, moëlle épinière) ainsi que pour le positionnement sous-cutané du stimulateur.

2.1. La stimulation cérébrale profonde

(DBS: Deep Brain Stimulation)

La technique de stimulation cérébrale profonde (*acronyme anglais*: DBS pour Deep Brain Stimulation) consiste en l'implantation permanente de fines électrodes, pouvant être positionnées unilatéralement ou bilatéralement, dans des structures ciblées du cerveau. Les

électrodes sont reliées à un générateur d'impulsions qui est placé de manière sous-cutanée en zone sous-claviculaire du patient (**Fig.10-A**). Les complications qui peuvent survenir sont le plus souvent liées à l'intervention chirurgicale pouvant causer une infection et dans de rares cas une hémorragie intracrânienne, et à la défaillance du matériel par érosion du générateur électrique qui nécessite donc un remplacement [Hardaway et al., 2018]. Un essai clinique via des électrodes externes, réalisé préalablement à l'implantation permanente, pourrait aider à identifier les patients chez qui la DBS n'est pas tolérée et permettre ainsi la sélection de ceux qui sont susceptibles de mieux répondre au traitement par cette technique. Au cours des années, diverses régions cérébrales ont été ciblées dans l'objectif de soulager la douleur chronique d'étiologies différentes. Les premières études basées sur la théorie du portillon, stipulant qu'un centre cérébral unique est responsable pour le ressenti douloureux, ont principalement ciblé des structures impliquées dans la composante sensori-discriminative de la douleur, telles que le thalamus sensoriel [Abreu et al., 2017; Abdallat et al., 2021], la région grise périaqueducale/périventriculaire du mésencéphale (PAG/PVG) [Pereira et al., 2013] et la capsule interne [Franzini et al., 2008]. Cependant, les progrès dans le domaine de l'imagerie cérébrale ont permis de mettre en évidence que l'expérience douloureuse est en réalité capable d'activer plusieurs régions du cerveau qui ne sont pas spécifiquement dédiées au traitement sensoriel mais impliquées aussi dans divers processus incluant la mémoire, l'attention et les émotions. Ainsi, la douleur activerait de nombreuses structures cérébrales qui sont interconnectées et qui permettent la perception consciente et émotionnelle de la douleur. Ce réseau a été désigné par le terme de «*matrice douleur*» [Melzack, 2001]. Des études plus récentes ont été menées en ciblant des zones cérébrales qui sont plutôt liées à la composante affectivo-émotionnelle de la douleur, telle que le cortex cingulaire antérieur [Russo et Sheth, 2015]. Il s'avère alors que le choix de la région ciblée dépend en partie de la composante douloureuse que l'on souhaite moduler. Les paramètres de stimulation varient selon les études et en fonction de la zone ciblée, mais ils sont généralement compris entre 10Hz et 40Hz de fréquence avec une amplitude de 1V à 5V et ont comme principal but de rétablir l'activité électrique anormale de la structure visée [Moisset et al., 2020b]. Il est aussi important de prendre en considération le phénotype clinique du patient. En effet, si la DBS a montré plutôt

des effets bénéfiques dans le soulagement des douleurs chroniques d'origine périphérique, les douleurs d'origine centrale peuvent montrer une réponse partielle voir nulle [Bittar *et al.*, 2005; Rasche *et al.*, 2006]. Il est supposé que la DBS, ciblant la région PAG/PVG dorsale, exerce son action antalgique, au moins en partie, via une activation du système opioïde endogène [Akil *et al.*, 1976; Pereira *et al.*, 2013; Sims-Williams *et al.*, 2017].

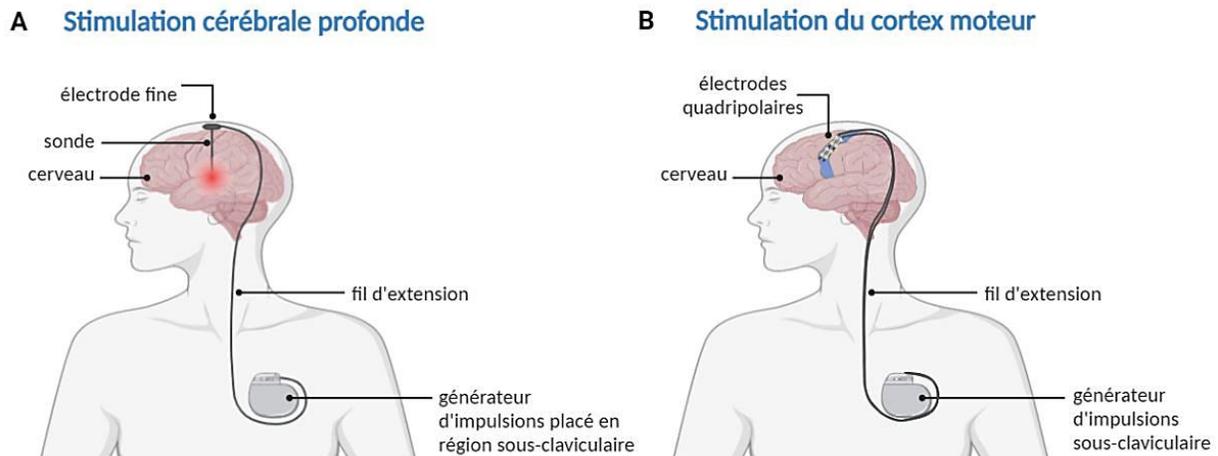


Fig. 10 Les techniques invasives de stimulation cérébrale. (A) La stimulation cérébrale profonde consiste en une implantation permanente d'une ou deux électrode(s) fine(s) positionnée(s) de manière uni- ou bilatérale afin de stimuler des zones réduites du cerveau. L'électrode est reliée à un stimulateur placé sous la peau au niveau des clavicules au cours d'une intervention chirurgicale. (B) La stimulation du cortex moteur nécessite la réalisation d'une petite craniotomie afin de positionner dans l'espace épidural une ou deux électrode(s) quadripolaire(s) qui sont connectée(s) à un générateur d'impulsions sous-cutané situé dans la région sous-claviculaire. Réalisé avec BioRender®

2.2. La stimulation du cortex moteur

(MCS: Motor Cortex Stimulation)

Afin de remédier à l'inefficacité de la DBS dans la prise en charge des douleurs chroniques d'origine centrale, la stimulation du cortex moteur (*acronyme anglais*: MCS pour Motor Cortex Stimulation) a été proposée comme un traitement alternatif. Elle consiste en l'implantation, sous anesthésie générale, d'une ou plusieurs électrode(s) quadripolaire(s) dans l'espace épidural du cortex moteur par une craniotomie fronto-pariétale (40x50mm) ou à travers un trou de fraise réalisé sous anesthésie locale. Les électrodes sont connectées à un stimulateur électrique situé en région sous-claviculaire (Fig.10-B). La majorité des complications qui peuvent

être observées sont similaires à celles décrites pour la DBS. Des crises épileptiques ou bien une perte progressive de l'efficacité peuvent également être observées mais ces problèmes sont généralement résolus par un réglage des paramètres de stimulation et un repositionnement guidé par neuronavigation des électrodes [Fontaine et al., 2009]. Les paramètres de stimulation sont compris entre 5Hz et 130Hz de fréquence avec une amplitude située entre 0.5V et 10V, et une largeur d'impulsion allant de 60µs à 450µs [Ostergard et al., 2014]. Les résultats d'une méta-analyse comparant 12 essais cliniques, incluant au total 198 patients, indiquent un taux de succès élevé de la MCS dans le cas de plexopathie post-radriculaire (65.1%) et la névralgie du trijumeau (46.5%) [Mo et al., 2019]. Des effets plus mitigés ont été observés pour les douleurs liées à un AVC et les douleurs fantômes avec un taux de succès de 35.2% et 34.1%, respectivement. Les douleurs consécutives à une avulsion du plexus brachial démontrent un taux de réponse assez faible à la MCS d'environ 29.8%. Les mécanismes d'action sous-tendant l'efficacité thérapeutique de la MCS restent peu connus mais il est supposé qu'elle exercerait son effet anti-nociceptif en inhibant l'hyperactivité thalamique associée généralement à la douleur chronique d'origine centrale. Cette action serait possible grâce à l'activation des voies inhibitrices descendantes allant du cortex moteur vers le thalamus. Cependant, une étude de neuroimagerie humaine a pu démontrer une activation cérébrale encore plus étendue avec notamment des changements hémodynamiques dans le cortex cingulaire antérieur et le cortex préfrontal dorsolatéral (*acronyme anglais*: dIPFC pour dorsolateral PreFrontal Cortex) par la MCS, et une activation plus tardive du cortex orbitofrontal, du putamen et du tronc cérébral en post-stimulation [Peyron et al., 2007]. L'analyse de la connectivité fonctionnelle a révélé une forte corrélation entre le cortex cingulaire antérieur et les structures du tronc cérébral, et plus précisément la PAG, ce qui souligne l'importance du rôle de ces voies descendantes modulatrices dans l'atténuation de la douleur. Ces résultats suggèrent que l'effet analgésique de la MCS est sous-tendu par l'activation des régions impliquées dans la composante affectivo-émotionnelle et cognitive de la douleur et que le système opioïde endogène pourrait jouer un rôle dans cet effet. Des résultats similaires ont également été obtenus dans un modèle animal de douleur neuropathique où l'effet anti-nociceptif induit par la MCS était associé à une diminution de l'activité neuronale du thalamus et de la corne dorsale de la moëlle épinière, ainsi

qu'à une augmentation de l'activité de la PAG, le cortex cingulaire antérieur et les noyaux central et basolatéral de l'amygdale [Paganol et al., 2011].

2.3. La stimulation médullaire (SCS: Spinal Cord Stimulation) et

La stimulation du ganglion rachidien dorsal

(DRGS: Dorsal Root Ganglion Stimulation)

La technique de stimulation médullaire (*acronyme anglais*: SCS pour Spinal Cord Stimulation) nécessite l'implantation d'une ou plusieurs électrode(s) quadripolaire(s) dans l'espace épidural en regard des cordons postérieurs de la moëlle épinière. Les électrodes sont connectées par voie sous-cutanée à un générateur d'impulsions localisé au niveau du flanc ou l'abdomen du patient (**Fig.11-A**). Les complications le plus souvent rencontrées sont liées au matériel: un dysfonctionnement du générateur ou une migration des électrodes implantées [Bendersky et Yampolsky, 2014]. Des infections locales et des hématomes épiduraux peuvent survenir dans de rares cas. Typiquement, le générateur émet en continu des impulsions électriques de 20Hz-120Hz (stimulation tonique) qui sont ressenties par le patient sous forme de paresthésies non douloureuses (souvent décrites comme des picotements), ce qui rend difficile la réalisation des essais cliniques en double-aveugle [Cruccu et al., 2016]. Cependant, avec la proposition de nouvelles modalités de stimulation au cours des dernières années, cet inconvénient méthodologique semble être résolu. En effet, actuellement la SCS peut aussi être délivrée sous forme de salves d'impulsions (stimulation en bursts) ou d'impulsions électriques à haute fréquence (>1000Hz): deux paradigmes qui diminuent la sensation de paresthésies chez les patients [De Ridder et al., 2010; Kapural et al., 2015, respectivement] et semblent démontrer une efficacité supérieure par rapport à la stimulation tonique conventionnelle [Schu et al., 2014; Kapural et al., 2016]. La SCS dispose d'une autorisation par la FDA (*acronyme anglais* pour Food and Drug Administration: Agence fédérale américaine des produits alimentaires et médicamenteux) pour le traitement de la douleur neuropathique d'origine périphérique, par exemple dans le cas de douleur post-opératoire localisée dans le dos et les jambes (*acronyme anglais*: CBLP pour post-surgical Chronic Back and Leg Pain) [Kallewaard et al., 2021] ou le CRPS

[Kriek *et al.*, 2017]. D'autres indications existent aussi pour neuropathie diabétique [Petersen *et al.*, 2021], névralgie post-herpétique [Huang *et al.*, 2020], ischémie critique des membres [Klinkova *et al.*, 2020] et angine de poitrine réfractaire [Andrell *et al.*, 2010]. Les mécanismes d'action sous-tendant l'effet anti-nociceptif des différents paradigmes de SCS ne sont pas complètement élucidés et les connaissances actuelles se basent principalement sur les données issues de la thérapie conventionnelle. Un grand nombre de recherches soulignent l'implication du neurotransmetteur GABA dans l'effet antalgique de la SCS [Linderoth *et al.*, 1994; Stiller *et al.*, 1996; Cui *et al.*, 1997; Guan *et al.*, 2010; Janssen *et al.*, 2012; Biurrun Manresa *et al.*, 2015; Crosby *et al.*, 2015; Meuwissen *et al.*, 2020a]. Il ressort de ces études que les impulsions électriques générées par la SCS stimulent directement les terminaisons centrales des fibres afférentes A β non nociceptives, qui de manière rétro- ou antérograde participeraient à la modulation de l'information nociceptive arrivant à la moëlle épinière (Fig.11-B). Plus précisément, le mécanisme rétrograde impliquerait l'activation spinale d'interneurones intrinsèques (majoritairement des cellules en îlots) libérant le GABA. La fixation de GABA sur ses récepteurs inhiberait ensuite la transmission nociceptive ascendante. Cette action inhibitrice se traduirait notamment par une diminution de la libération des neurotransmetteurs excitateurs, tels que le glutamate et l'aspartate, par les fibres afférentes C ainsi que les neurones WDR spinaux, empêchant ainsi le cheminement des messages douloureux par le tractus spino-thalamique vers les centres supra-spinaux. Outre le mécanisme rétrograde, il est également supposé que le bénéfice thérapeutique de la SCS résulte, au moins en partie, de l'activation antérograde de la boucle spino-bulbo-spinale [Vasquez et Vanegas, 2000; Wang et Wessendorf, 2002; Maxwell *et al.*, 2003; Song *et al.*, 2009, 2013b, 2013a; Song *et al.*, 2011; Tazawa *et al.*, 2015]. Les fibres afférentes A β stimulées projettent dans la PAG via le tractus spino-mesencéphalique. Les axones des neurones de la PAG, en passant par la RVM, renvoient à leur tour des projections vers les interneurones de la corne dorsale de la moëlle épinière par le funicule dorsolatéral, participant ainsi à la modulation descendante de l'information nociceptive. Plus précisément, la SCS induirait une inhibition de l'activité GABAergique dans la PAG permettant ainsi la libération des opioïdes endogènes dans la RVM. Ceci aurait comme effet d'activer les cellules «OFF» de la RVM en facilitant ainsi la transmission sérotoninergique

vers la moëlle épinière. La sérotonine, en se fixant sur ses récepteurs 5-HT₃R exprimés par les interneurons inhibiteurs spinaux, induirait l'augmentation de GABA dans la fente synaptique. L'effet inhibiteur de GABA s'exercerait alors via l'activation des récepteurs GABA_B localisés sur les afférences primaires nociceptives qui voient alors leur seuil de réponse nociceptive augmenter. Il est également supposé que la noradrénaline provenant du locus cœruleus, au lieu d'exercer une action inhibitrice en projetant directement sur la moëlle épinière, aurait plutôt un effet sur le système modulateur PAG-RVM facilitant ainsi la voie sérotoninergique inhibitrice descendante. D'autres pistes de mécanismes d'action sous-tendant l'efficacité de la SCS dans l'atténuation de la douleur chronique ont également été rapportées, incluant notamment les endocannabinoïdes, l'acétylcholine, ou encore la modulation de l'expression des cytokines pro-inflammatoires au niveau spinal [pour plus de détails voir la revue de [Sun et al., 2021](#)]. Les effets supra-spinaux de la SCS explorés par des techniques d'imagerie fonctionnelle [[Deogaonkar et al., 2016](#); [Meuwissen et al., 2020b](#)] ont aussi montré que, analogiquement à la DBS et la MCS, la SCS permettrait de contrebalancer l'expérience émotionnelle négative associée à la douleur en diminuant la connectivité fonctionnelle entre les régions dédiées au traitement sensori-discriminatif et celles impliquées dans les aspects cognitivo-émotionnels. En accord avec ces observations, Robb et collègues ont démontré que l'effet anti-nociceptif induit par la SCS chez des patients CBLP est accompagné d'une amélioration significative de la symptomatologie anxio-dépressive [[Robb et al., 2017](#)].

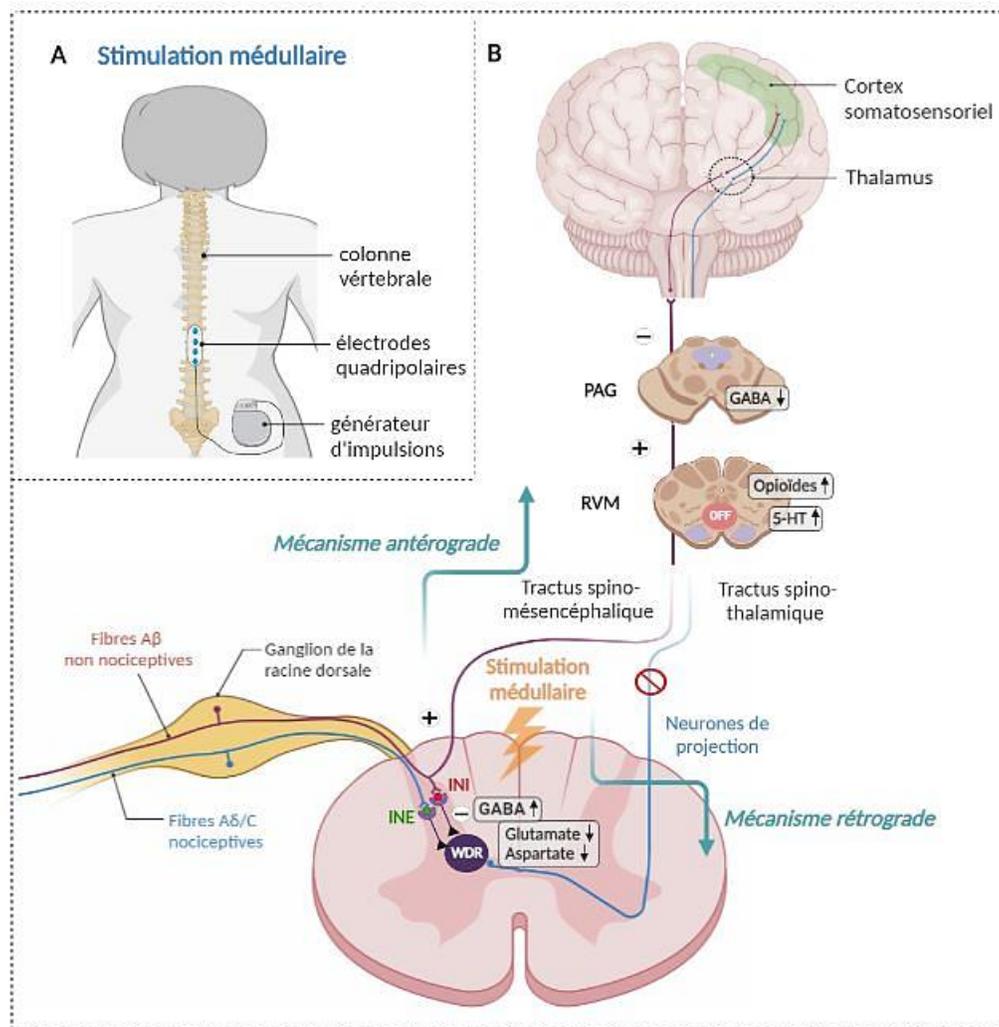


Fig. 11 La stimulation médullaire. (A) La stimulation médullaire consiste en l'implantation chirurgicale d'électrode(s) quadripolaire(s) dans l'espace épidural en regard de la moëlle épinière. L'électrode est reliée à un stimulateur placé au niveau du flanc du patient. (B) Illustration schématique présentant les mécanismes d'action présumés de la stimulation médullaire. L'activation rétrograde des fibres afférentes Aβ non nociceptives par la stimulation médullaire entraîne la libération de GABA par les interneurons inhibiteurs (INI) dans la fente synaptique. L'augmentation de la concentration en GABA induit l'inhibition de l'activité des interneurons excitateurs (INE) et des neurones à large gamme dynamique (WDR) conduisant ainsi à la diminution de la libération des neurotransmetteurs excitateurs (glutamate et aspartate) et à l'atténuation de la transmission ascendante du message nociceptif vers les centres supra-spinaux via le tractus spino-thalamique. La stimulation antérograde des fibres Aβ quant à elle active le système inhibiteur descendant (ex. sérotonine, 5-HT) faisant intervenir la substance grise périaqueducule (PAG) et la médulla rostro-ventrale (RVM). L'inhibition de l'activité de la PAG entraîne l'activation des cellules «OFF» de la RVM qui modulent à leur tour l'activité des interneurons inhibiteurs de la corne dorsale de la moëlle épinière pour atténuer la réponse nociceptive. Adapté d'après Sun et al., 2021. Réalisé avec BioRender®

Plus récemment, le champ d'application de la SCS s'est étendu pour inclure d'autres cibles anatomiques, telles que les DRG (**Fig.12-A**). Les fibres afférentes nociceptives se caractérisent par une morphologie pseudo-unipolaire en «T», c'est-à-dire qu'elles possèdent un axone se divisant en deux branches: une longue branche périphérique avec une terminaison nerveuse libre au niveau des tissus cutanés, et une branche centrale plus courte projetant en direction de la moëlle épinière (**Fig.12-B**). Leur corps cellulaire est localisé dans les DRG. Cette particularité morphologique leur permet non seulement d'assurer une signalisation bidirectionnelle des protéines synthétisées dans les DRG mais les rend également capables de transmettre et de recevoir des informations d'origine à la fois périphérique et centrale. Les DRG fonctionnent donc comme un carrefour au sein duquel s'exerce une modulation des influx nociceptifs avant leur arrivée au niveau du système nerveux central. Etant donné que chaque ganglion spinal correspond à un dermatome sensitif, l'avantage de la stimulation DRG par rapport à la SCS conventionnelle est qu'elle permet de cibler de manière plus spécifique la partie du corps à l'origine de la douleur, permettant ainsi de traiter plus efficacement des patients souffrant d'une douleur localisée. Une étude comparative randomisée, incluant 152 patients CRPS, a notamment mis en évidence une efficacité thérapeutique supérieure de la stimulation DRG avec un taux de succès de 81.2% contre 55.71% pour la SCS conventionnelle [[Deer et al., 2017](#)]. Les mécanismes d'action de la stimulation des DRG sont actuellement méconnus, mais une étude préclinique récente laisse supposer que l'analgésie induite par la stimulation DRG n'est pas dépendante de la signalisation GABAergique locale [[Franken et al., 2021](#)].

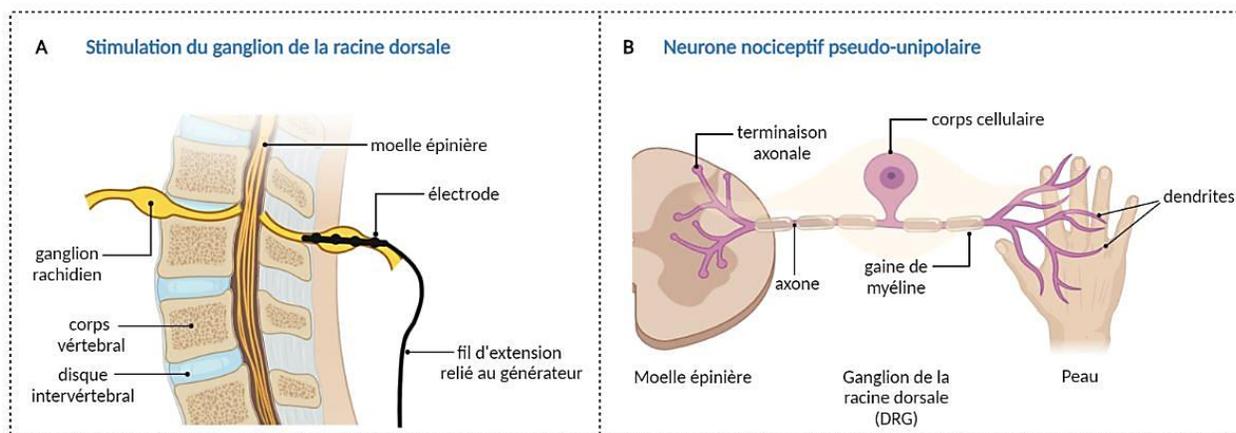


Fig. 12 La stimulation du ganglion rachidien dorsal. (A) La stimulation médullaire peut également être appliquée sur les ganglions des racines dorsales (DRG) permettant ainsi un ciblage plus spécifique des zones à l'origine de la douleur telles que le genou, le pied ou encore la hanche. Une électrode très fine est posée en percutanée entre deux vertèbres sur le ganglion rachidien situé à proximité immédiate de la moëlle épinière. L'électrode de stimulation est connectée à un générateur d'impulsions permettant de réguler l'intensité de stimulation. (B) Illustration schématique d'un neurone sensoriel pseudo-unipolaire du ganglion de la racine dorsale. La morphologie particulière des fibres afférentes primaires leur permet de détecter des informations en provenance de la périphérie par des récepteurs spécialisés localisés au niveau de la peau et de les transmettre à travers la racine dorsale vers la moëlle épinière. Réalisé avec BioRender®

De manière générale, les techniques d'électrostimulation invasives sont proposées en dernier recours par les praticiens de la douleur aux patients réfractaires aux traitements pharmacologiques classiques et qui ne répondent pas ou insuffisamment à d'autres approches moins invasives. Une identification précoce au moyen des questionnaires semble être importante afin de sélectionner des patients susceptibles de bénéficier de ces thérapies car une prise en charge tardive aggrave le pronostic de la réussite. Les stimulations électriques implantées sont des techniques utiles démontrant une efficacité plus ou moins importante dans le traitement de la douleur chronique d'origine périphérique et centrale et apportent une amélioration du score douloureux et de la qualité de vie des patients traités. Cependant, ces techniques ne sont pas dépourvues de risques et peuvent mener à des infections et des complications en relation avec l'intervention chirurgicale ou la fiabilité des différents dispositifs implantés, ce qui peut favoriser la prise médicamenteuse. Les techniques de neurostimulation invasives nécessitent l'implication d'une équipe pluridisciplinaire et sont réalisées par des spécialistes, tels que des anesthésistes, neurochirurgiens et radiologues. Ainsi, ces interventions

sont principalement réservées à des structures de soins spécialisées au sein desquelles les consultations et les hospitalisations présentent des coûts considérablement élevés, ce qui explique le fait qu'actuellement peu de patients en bénéficient.

3. Techniques de stimulation non invasives dans la prise en charge de la douleur chronique

Les techniques de stimulation non invasives ne requièrent pas d'intervention chirurgicale permettant ainsi de réduire le risque opératoire. Les électrodes sont généralement placées sur la peau en regard de la zone ciblée et les impulsions électriques sont également délivrées par un générateur externe. Ainsi, les appareils d'électrostimulation non invasive présentent l'avantage d'être portables et sont destinés à une utilisation facile et rapide, que ce soit dans le centre médical ou bien à domicile.

3.1. La neurostimulation électrique transcutanée

(TENS: Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation)

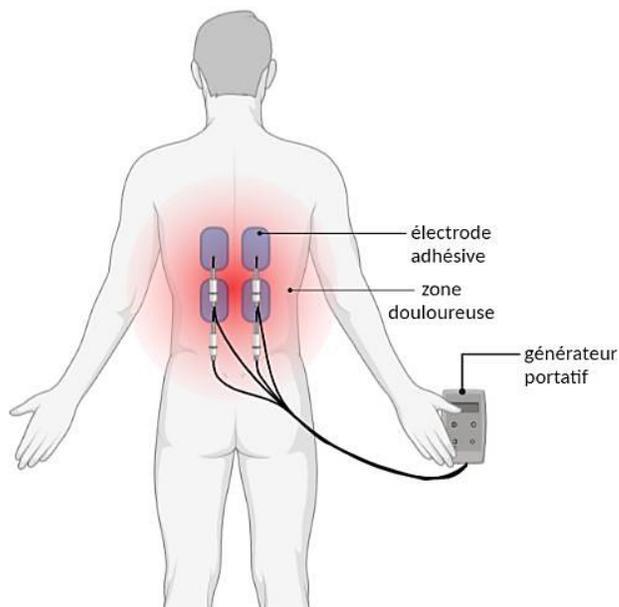
La neurostimulation électrique transcutanée (*acronyme anglais*: TENS pour Transcranial Electrical Nerve Stimulation) est une technique non invasive qui permet d'émettre des impulsions électriques au moyen d'électrodes adhésives (généralement au nombre de 2 ou 4 électrodes carrées, 50×50mm chacune) reliées à un générateur portatif et placées à la surface de la peau sur la zone douloureuse, ou à proximité le long du nerf qui l'innerve [Johnson et Bjordal, 2011] (Fig.13-A). C'est une méthode facilement applicable, avec relativement peu de contre-indications, le principal effet indésirable étant l'apparition d'irritations cutanées [Gibson et al., 2017]. Les paramètres de stimulation (intensité, fréquence, largeur d'impulsion) varient considérablement selon les études, ce qui rend difficile l'évaluation de son efficacité thérapeutique. Néanmoins, en fonction des paramètres le plus souvent utilisés, deux modalités de stimulation continue peuvent être distinguées: la TENS conventionnelle (C-TENS) permettant d'appliquer une stimulation à haute fréquence (100Hz) avec une faible intensité et courte durée d'impulsion (50µs-80µs), et la TENS «Acupuncture-like» (AL-TENS) délivrant une stimulation de basse fréquence (1Hz-4Hz) avec une forte intensité et une durée plus longue d'impulsion (~ 200µs) [Johnson et Bjordal, 2011; Moisset et al., 2020b]. Il est également possible de combiner

ces deux modes de stimulation pour administrer un courant électrique discontinu avec des trains d'impulsions à 100Hz appliqués 1 à 4 fois par seconde [Moisset et al., 2020b]. Il semblerait que les mécanismes d'action de la TENS, basés sur le même postulat neurophysiologique que la SCS, dépendent de la modalité de stimulation. Ainsi, il est supposé que la C-TENS permet l'inhibition du signal douloureux par l'intermédiaire des fibres A β stimulées conduisant à un soulagement immédiat mais de courte durée, tandis que l'AL-TENS induirait plutôt une action endorphinique par le recrutement des voies descendantes inhibitrices menant à un effet analgésique tardif durant la stimulation mais qui perdure aussi après l'arrêt de celle-ci [Sabino et al., 2008; Peng et al., 2019]. Outre ces mécanismes d'action, il a été démontré chez la souris que la C-TENS induit une modulation de l'activité des cellules gliales spinales impliquées dans les processus inflammatoires responsables de l'initiation et le maintien à long-terme de la sensibilisation des neurones nociceptifs. Matsuo et collègues ont mis en évidence que lorsque la stimulation par la C-TENS est appliquée à un délai précoce, c'est-à-dire peu de temps après la lésion nerveuse à l'origine de la douleur neuropathique, cela permet d'empêcher le développement d'une sensibilisation centrale [Matsuo et al., 2014]. Ils ont notamment montré que la C-TENS précoce induit une atténuation de l'activation et de la prolifération microgliale, ainsi qu'une diminution du nombre et de la taille des cellules astrocytaires dans la corne dorsale de la moëlle épinière. Ces changements ont également été accompagnés par une régulation à la baisse de la voie de signalisation de la p38/MAPK microgliale impliquée dans la synthèse de nombreuses cytokines pro-inflammatoires, ainsi qu'une faible expression des protéines PKC γ et CREB phosphorylée (*acronyme anglais* pour Cyclic adenosine monophosphate Response Element-Binding, protéine de liaison à l'élément de réponse à l'adénosine monophosphate cyclique=AMPC) dans les couches I et II de la corne dorsale gauche ipsilatérale à la lésion. Il a également été démontré que l'effet inhibiteur de la TENS sur l'activation gliale est supprimé par l'injection de naloxone (un antagoniste compétitif des récepteurs aux opioïdes), laissant supposer que la stimulation précoce, en préservant et en agissant sur les récepteurs opioïdes spinaux, empêcherait la libération des neurotransmetteurs excitateurs, bloquant ainsi les réponses inflammatoires et l'activation gliale dans la corne dorsale de la moëlle épinière [Matsuo et al., 2014]. De nombreuses études cliniques ont évalué

les effets potentiels de la TENS dans la prise en charge de la douleur chronique d'étiologies différentes mais les résultats restent contrastés. Gibson et collaborateurs ont documenté les évidences cliniques issues des revues systématiques Cochrane datant de 2018 étudiant l'efficacité thérapeutique de la TENS chez des adultes souffrant de douleur chronique [Gibson et al., 2019]. Après l'application des critères d'inclusion, ils ont analysé les données issues de 8 revues représentant 51 essais contrôlés randomisés et comptant 2895 participants. Malgré l'existence des limitations méthodologiques à risque élevé de biais, les auteurs ont pu rapporter un effet bénéfique de la TENS sur l'intensité de la douleur par rapport à la condition placebo (pas de délivrance de courant) chez 207 participants de 5 essais cliniques. Cependant, bien que la qualité des revues incluses dans l'analyse soit élevée, en raison des données limitées, l'important risque de biais et la petite taille des échantillons, les auteurs ont jugé que le niveau de preuve des études était faible et n'ont pas pu conclure avec certitude quant aux risques liés à l'utilisation de la TENS chez les adultes pour le traitement de la douleur chronique, ni à un effet bénéfique de la stimulation sur l'impression globale de changement de la qualité de vie des patients ou leur utilisation des analgésiques. Une autre étude comparative réalisée par Kılınç et collègues a mis en évidence une efficacité supérieure de la TENS dans le soulagement de la douleur chronique neuropathique d'origine périphérique par rapport à celle d'origine centrale [Kılınç et al., 2014]. Ils ont appliqué la C-TENS chez 40 patients (20:20, sujets avec douleur d'origine périphérique ou centrale, respectivement) qui ont reçu au total 20 sessions de stimulation, chacune d'une durée de 30min, pendant 4 semaines. Bien qu'une amélioration significative des paramètres évaluant l'intensité et la qualité de la douleur ait été démontrée chez les deux groupes de patients, il a été rapporté que le groupe de sujets souffrant d'une douleur neuropathique périphérique était plus sensible à l'effet de la C-TENS, reflétée notamment par une réduction de 38% de l'intensité de la douleur en comparaison à 15% dans le groupe des patients de douleur neuropathique centrale. De plus, les scores évaluant la qualité de vie des sujets, notamment en ce qui concerne la capacité de la marche et la jouissance de la vie, ont été nettement plus améliorés chez les personnes atteintes d'une douleur neuropathique périphérique. Les résultats de cette étude suggèrent que la thérapie par TENS pourrait être utilisée en pratique clinique comme traitement alternatif pour l'atténuation de la

douleur neuropathique, avec un succès de réussite plus élevé en cas de douleur d'origine périphérique que centrale. Cependant, l'une des limitations de cette étude réside dans l'absence d'un groupe contrôle, ce qui rend difficile de conclure avec certitude d'une efficacité thérapeutique de la C-TENS. Actuellement en France, la TENS présente une faible recommandation, avec un niveau de preuve modéré, pour le traitement de la douleur neuropathique périphérique [Moisset et al., 2020b].

A Neurostimulation électrique transcutanée



B La stimulation magnétique transcrânienne

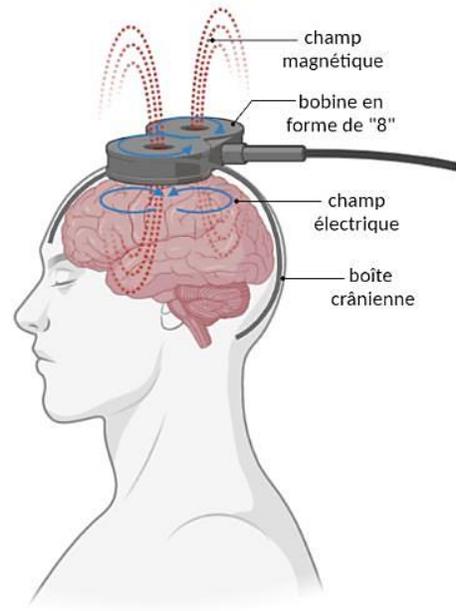


Fig. 13 Les techniques de stimulation non invasives. (A) La neurostimulation électrique transcutanée consiste à utiliser un courant électrique pour le soulagement de la douleur à l'aide de deux ou quatre électrodes adhésives placées sur la peau à proximité de la zone douloureuse ou le long du nerf qui l'innerve. Les électrodes sont reliées à un générateur portable permettant au sujet d'ajuster les réglages de stimulation. (B) La stimulation magnétique transcrânienne est une technique indolore de stimulation cérébrale réalisée à l'aide d'une bobine électromagnétique positionnée par voie externe sur le scalp du patient. Le champ magnétique généré par la bobine induit un courant électrique dans le tissu cérébral situé sous la bobine. Réalisé avec BioRender®

3.2. La stimulation magnétique transcrânienne

(TMS: Transcranial Magnetic Stimulation)

Cette méthode est basée sur le principe de la loi de Faraday portant sur l'induction électromagnétique selon laquelle la variation rapide du flux d'un champ magnétique engendre un champ électrique secondaire dans un élément conducteur à proximité [Noohi et Amirjalari,

2016]. La stimulation magnétique transcrânienne (*acronyme anglais*: TMS pour Transcranial Magnetic Stimulation) est une technique non invasive permettant la modulation de l'activité neuronale d'une région cérébrale d'intérêt au moyen d'une bobine électromagnétique reliée à un générateur et positionnée sur le scalp du patient (**Fig.13-B**). Le courant électrique délivré par le générateur circule le long de la bobine en créant un champ électromagnétique qui est capable de traverser avec moindre atténuation le scalp et la boîte crânienne et produire à son tour un courant électrique modifiant de manière transitoire l'activité d'un ensemble de neurones corticaux situés sous la bobine [Noohi et Amirjalali, 2016]. La TMS peut être appliquée selon divers modes de stimulation: stimulation simple (*single pulse*) ou double (*paired pulse*), en mode double site (*dual-site*), stimulation répétitive classique ou encore en mode spécifique (*patterned*). En clinique, la TMS est généralement appliquée de manière répétitive (rTMS: Stimulation Magnétique Transcrânienne répétitive) du fait que des stimulations répétées à hautes fréquences, plutôt qu'une stimulation unique utilisée comme moyen d'exploration fonctionnelle du système moteur, sont capables de produire un effet analgésique à long-terme et présentent donc un réel potentiel thérapeutique [Khedr et al., 2005; André-Obadia et al., 2006]. La stimulation est pratiquée en ambulatoire chez un patient immobile et éveillé, sans nécessité d'une anesthésie générale. La rTMS est dépourvue d'effets indésirables graves. Le risque principal, qui reste cependant très rare, est l'induction d'une crise épileptique lors des stimulations à hautes fréquences. Des cas rapportant de telles complications datent principalement d'une période antérieure à la détermination des consignes de sécurité [Rossi et al., 2021]. L'effet de la rTMS dépend largement des paramètres de réglages: le type et l'orientation de la bobine par rapport au scalp, l'intensité et la fréquence de stimulation, ou encore l'identification de la région cible. L'étendue de la zone stimulée dépend principalement du type de bobine utilisée. Actuellement, il existe plusieurs formes de bobine (**Fig.14**) qui diffèrent considérablement dans leurs capacités d'induction d'un champ électrique [Deng et al., 2013]. Les bobines permettant d'induire une pénétration plus profonde du champ électrique dans le tissu cérébral (comme les bobines doubles en forme de cloche) présentent généralement une focalisation réduite, et vice-versa. La bobine la plus souvent utilisée en clinique est celle en forme de «8» qui permet d'induire une stimulation focalisée sur une surface

de quelques cm² à une profondeur de 2cm, tandis qu'une bobine simple de forme circulaire est capable de stimuler plus en profondeur mais avec un champ électrique plus diffus [Deng et al., 2013; Moisset et al., 2020b].

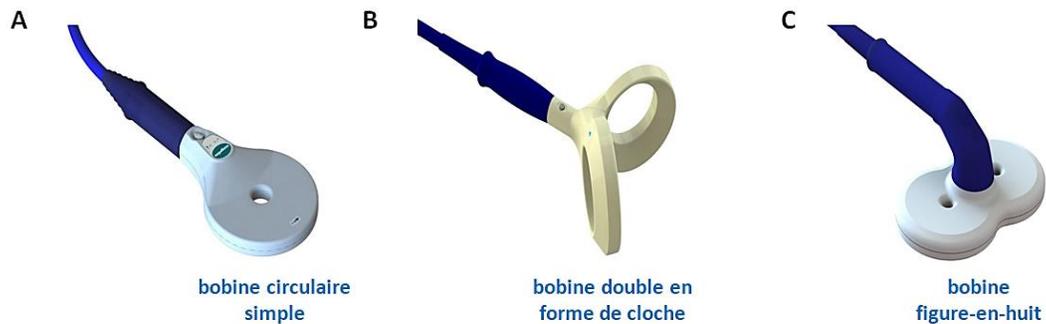


Fig. 14 Les types de bobines les plus souvent utilisées pour la stimulation magnétique transcrânienne. (A) La bobine circulaire entraîne une pénétration plus profonde du champ magnétique mais une stimulation peu focalisée. (B) La bobine double en forme de cloche présente un pouvoir de pénétration plus élevé que la bobine circulaire mais toujours une focalisation réduite. (C) La bobine figure-en-huit induit un champ magnétique plus focal mais à une profondeur limitée. Images issues de Magstim®.

Le changement d'orientation de la bobine induit une modification de la direction du courant électrique généré, ce qui est susceptible de changer le type de neurones stimulés et modifier l'effet antalgique de la stimulation. Il a notamment été démontré que le changement d'orientation de la bobine en position latéro-médiale était incapable d'induire un meilleur effet analgésique par rapport à l'orientation postéro-antérieure classiquement utilisée dans les protocoles de rTMS [André-Obadia et al., 2008]. L'intensité de la stimulation est réglée en fonction du seuil moteur de chaque patient correspondant à l'énergie minimale nécessaire pour induire un potentiel évoqué moteur (*acronyme anglais*: MEP pour Motor Evoked Potentials). Généralement, la rTMS utilise des intensités se situant entre 80%-90% du seuil moteur [Moisset et al., 2020b]. Il est considéré que des stimulations à basses fréquences ($\leq 1\text{Hz}$) entraînent une inhibition de l'excitabilité corticale, tandis que l'utilisation des stimulations magnétiques à hautes fréquences ($\geq 5\text{Hz}$) aurait plutôt l'effet inverse, à savoir une facilitation sur l'activité corticale. La majorité des études portant sur l'efficacité de la rTMS dans le cadre de la douleur chronique ont été réalisées sur le cortex moteur primaire [Mhalla et al., 2011; Jin et al., 2015; Pei et al., 2019; Quesada et al., 2020; Kumar et al., 2021; Mori et al., 2022]. Le ciblage d'autres

structures cérébrales a également été réalisé, notamment sur le dIPFC qui est le plus souvent repéré de façon empirique en se positionnant à 5cm avant le cortex moteur [Sampson et al., 2011; Tanwar et al., 2020], ou encore sur le cortex cingulaire antérieur et le cortex insulaire postérieur [Galhardoni et al., 2019; Dongyang et al., 2021]. Le ciblage des structures profondes est optimisé par l'utilisation des systèmes de neuronavigation, ce qui permet d'augmenter la fiabilité de la stimulation [Ahdab et al., 2010]. En raison du nombre limité d'études, la petite taille des échantillons et l'hétérogénéité des paramètres et des sites de stimulation, il est à présent difficile de conclure avec certitude sur une efficacité de ciblage de ces structures alternatives au cortex moteur primaire dans le traitement de la douleur chronique. Actuellement, une recommandation européenne de grade A, fondée sur un niveau de preuves scientifiques suffisant, existe pour la stimulation du cortex moteur primaire controlatéral à la douleur par la rTMS à haute fréquence dans le cadre du traitement de la douleur neuropathique chronique, ainsi qu'une recommandation de grade B (présomption scientifique avec un niveau de preuve modéré) pour l'amélioration de la qualité de vie et le soulagement de la douleur des patients atteints d'une fibromyalgie en ciblant le cortex moteur primaire et le dIPFC gauche, respectivement [Lefaucheur et al., 2020]. Il est supposé que les mécanismes d'action de la rTMS sont similaires à ceux décrits pour la MCS, en raison du ciblage du cortex moteur dans les deux techniques. Les études cliniques d'imagerie fonctionnelle mettent en évidence que l'effet de la rTMS n'est pas uniquement limité à l'activation des interneurons locaux, mais interfère également avec l'activité cérébrale des régions distantes étant interconnectées à la zone stimulée et faisant partie d'un réseau plus vaste impliqué dans la perception et la modulation de l'expérience douloureuse [Ohn et al., 2012; Martin et al., 2013; Dowdle et al., 2018]. Ciampi De Andrade et collègues ont démontré que l'effet analgésique de la rTMS sur le cortex moteur primaire est bloqué par l'injection intraveineuse de naloxone, tandis qu'aucun changement de l'effet anti-nociceptif n'est observé concernant la stimulation du dIPFC, suggérant ainsi l'implication des mécanismes autres que la modulation des systèmes opioïdes endogènes dans le soulagement de la douleur induit par la rTMS sur le dIPFC [de Andrade et al., 2011]. Le même groupe de chercheurs a également montré que l'administration de kétamine (antagoniste des récepteurs glutamatergiques de type NMDAR) est capable d'induire une réduction de l'effet

analgésique de la rTMS ciblant le cortex moteur primaire, le cortex prémoteur et le dlPFC, suggérant ainsi que des phénomènes de plasticité synaptique, tels que la potentialisation ou la dépression à long-terme (*acronyme anglais*: LTP pour Long-Term Potentiation et LTD pour Long-Term Depression, respectivement), dépendants des récepteurs au glutamate NMDAR, puissent être responsables de l'effet anti-nociceptif prolongé de la rTMS [Ciampi de Andrade et al., 2014].

Les évidences cliniques encourageantes observées pour la TMS ont grandement contribué au développement d'une alternative relativement nouvelle dans le traitement des douleurs chroniques réfractaires qui est la stimulation transcrânienne par courant continu (*acronyme anglais*: tDCS pour transcranial Direct Current Stimulation).

4. La stimulation transcrânienne par courant continu

(tDCS: *transcranial Direct Current Stimulation*)

La stimulation transcrânienne par courant continu (tDCS) est une approche de stimulation cérébrale consistant à délivrer un courant électrique continu de faible intensité à l'aide des électrodes positionnées sur le cuir chevelu du patient dans le but de moduler l'excitabilité des circuits neuronaux. C'est une technique indolore, facile à mettre en œuvre et moins coûteuse que la TMS. Les dispositifs actuels sont portables ce qui permet aux patients de recevoir cette thérapie à domicile [Pérez-Borrego et al., 2014]. L'optimisation des protocoles de stimulation procure à la tDCS la possibilité d'effectuer une condition placebo fiable afin d'évaluer la spécificité des effets observés, renforçant ainsi son potentiel thérapeutique [Dissanayaka et al., 2018; Neri et al., 2020].

4.1. Normes de sécurité d'utilisation de la tDCS

Cette méthode de neurostimulation présente un niveau de sécurité élevé dans les conditions préconisées d'utilisation chez l'Homme, incluant notamment des protocoles appliquant des intensités inférieures à 4mA (le plus souvent de 1mA-2mA en clinique), une durée de stimulation pouvant aller jusqu'à 40-60min par jour et utilisant une taille des électrodes comprises entre 16cm² et 35cm² permettant de délivrer une densité de charge allant de 171

Coulombs/m² à 480 C/m² [Liebetanz et al., 2009; Antal et al., 2017; Nitsche et Bikson, 2017]. Les effets secondaires mineurs le plus souvent rapportés sont limités aux sensations désagréables de picotements ou de démangeaisons au niveau du cuir chevelu sous les électrodes au début et à la fin de stimulation, ainsi que des maux de tête, de la somnolence et de la fatigue après la stimulation. Les sensations cutanées désagréables peuvent être réduites en augmentant et en réduisant progressivement le débit du courant au début et à la fin de stimulation, respectivement. Ainsi, les protocoles de stimulation tDCS incluent souvent des périodes dites de «*ramp-up/ramp-down*» (alternativement appelées des périodes de «*fade-in/fade-out*») qui durent généralement entre 10s et 30s chacune [Nitsche et al., 2008; Bikson et al., 2016]. D'autres évènements modérés observables en pratique clinique incluent de rares cas de petites brûlures cutanées en raison d'un contact sous-optimal entre l'électrode et la peau. Des sessions consécutives de stimulation, indépendamment de la polarité, semblent ne pas aggraver l'incidence d'évènements indésirables, en comparaison à une stimulation unique [Antal et al., 2017; Kortteenniemi et al., 2017; Zappasodi et al., 2018]. Une preuve supplémentaire de la sécurité d'utilisation de la tDCS en clinique est fournie par les travaux de Nitsche et collègues qui ont démontré que la neurostimulation par tDCS n'induit pas d'altérations de la barrière hémato-encéphalique [Nitsche et al., 2004] et ne résulte pas en une augmentation des concentrations sériques de l'énolase neurospécifique, un marqueur tumoral utilisé pour l'évaluation pronostique, mettant ainsi en évidence l'absence de dommages cérébraux pendant ou après la stimulation [Nitsche et al., 2003a].

L'utilisation de la tDCS chez l'animal présente un fort regain d'intérêt suite aux effets bénéfiques observés en pratique clinique. Actuellement, peu d'études ont été réalisées concernant les limites de sécurité associées à cette technique de neuromodulation chez le rongeur. Liebetanz et collègues, en appliquant un courant continu d'intensités croissantes (1µA –1000µA) sur le cortex frontal droit de rat à l'aide d'une électrode épicroânienne (surface de contact: 3.5mm²), ont pu démontrer que les premiers signes de dommage tissulaire apparaissent après une stimulation cathodique délivrée à une intensité de 500µA pendant une durée de 10min (densité de charge: 85 714 C/m²; densité de courant: 143 A/m²) [Liebetanz et al., 2009]. Après un examen histopathologique évaluant les modifications morphologiques du tissu cérébral

(coloration à l'hémathoxyline et à l'éosine), les auteurs ont estimé que le seuil de densité de charge de la tDCS cathodique permettant d'éviter l'apparition des lésions cérébrales est de 52 400 C/m². De plus, étant donné que la tDCS est généralement utilisée de manière répétitive en clinique afin d'induire des effets durables dans le temps, Liebetanz et collègues ont également montré que des stimulations sur 5 jours consécutifs avec des densités de charge inférieures au seuil estimé ne présentent pas de risque de dommages cumulatifs [Liebetanz et al., 2009]. Une autre étude a aussi examiné les dangers potentiels de la stimulation cathodique chez le rat [Zhang et al., 2019]. Dans cette étude, l'électrode de stimulation a été appliquée sur le cortex moteur (surface de contact: 3.5mm²) et les animaux ont reçu un total de 10 sessions avec une intensité fixée à 500µA et une durée de 15min par jour, résultant ainsi à une densité de charge de 128 571 C/m², ce qui est nettement supérieur au seuil de sécurité déterminé par Liebetanz et collègues. La densité de courant atteignant le cerveau a été calculée à partir d'un modèle computationnel et a été estimée à 20 A/m², ce qui est inférieure à celle rapportée dans l'étude précédente (143 A/m²). L'analyse par l'imagerie thermique n'a révélé aucune augmentation de la température cérébrale pouvant causer des lésions sous l'électrode de stimulation. De plus, les examens histologiques n'ont détecté aucun changement morphologique au niveau des différents tissus analysés (cerveau, cœur, poumons, foie, rein et rate). Les analyses hématologiques n'ont révélé aucune modification du nombre des globules blancs et des plaquettes, du pourcentage des leucocytes et des granulocytes, et de la concentration d'hémoglobine. Les analyses des marqueurs biochimiques n'ont démontré aucun effet néfaste de la tDCS cathodique sur les fonctions hépatique et rénale, ainsi qu'aucun changement au niveau d'expression des différents neurotransmetteurs excitateurs (glutamate et aspartate) et inhibiteurs (GABA, glycine et alanine) [Zhang et al., 2019]. Ces résultats indiquent que l'utilisation de la stimulation cathodique de manière répétitive avec une intensité de 500µA ne présente aucun danger chez le rat, ce qui est incohérent avec les observations de Liebetanz et collègues. Ceci peut être dû d'une part à la différence de la zone stimulée (cortex frontal vs cortex moteur) et d'autre part à la différence de la taille de l'électrode de référence utilisée (10cm² vs 7cm²). Ainsi, les normes de sécurité pour l'utilisation de la tDCS cathodique chez le rat restent controversées et d'autres études supplémentaires sont nécessaires afin de déterminer

les paramètres de stimulation optimaux permettant de préserver l'intégrité morphologique cérébrale. Concernant la tDCS anodique, il est préconisé d'utiliser des densités de courant plus faibles que celles rapportées pour la polarité cathodique. En effet, Jackson et collègues ont estimé que la densité de courant maximale qui peut être appliquée chez le rat sans que cela induise des signes de dommage tissulaire est de 12 A/m^2 , ce qui correspond à une intensité de $300\mu\text{A}$ pendant 60min en utilisant une taille d'électrode de stimulation de 25mm^2 [Jackson et al., 2017]. Ils ont montré que les premiers signes de lésions cérébrales apparaissent à partir d'une densité de courant de 20 A/m^2 , avec une intensité fixée à $500\mu\text{A}$.

Chez la souris, il a été démontré qu'une session unique de tDCS (anodique ou cathodique, 15min à $500\mu\text{A}$, surface de contact: 2.27mm^2 , densité de courant: 220 A/m^2) ne présente pas de risque d'induction de lésions cérébrales lorsque la densité de charge est inférieure à $198\,000 \text{ C/m}^2$ [Pikhovych et al., 2016a]. Cependant, lorsque la même densité de charge est appliquée de manière répétitive (10 sessions), la tDCS induit une perte neuronale localisée sous l'électrode épicroténienne [Pikhovych et al., 2016b]. Il a été montré que cette perte neuronale est associée à une réaction inflammatoire aiguë, reflétée par une augmentation de l'expression du marqueur de la microglie activée Iba1 (*acronyme anglais* pour Ionized calcium Binding Adaptor molecule 1, molécule adaptatrice de liaison au Calcium ionisé). Des expériences supplémentaires réalisées avec une densité de charge de $99\,000 \text{ C/m}^2$ ont mis en évidence une absence de dommage tissulaire et une réversion du profil inflammatoire suite à la tDCS répétitive [Pikhovych et al., 2016b]. Ainsi, il semble que chez la souris le seuil d'induction des lésions cérébrales est plus faible pour la tDCS répétitive en comparaison à une session unique.

Globalement, ces résultats démontrent que les normes de sécurité diffèrent selon les espèces, probablement en grande partie en raison d'une différence anatomique influençant la conductivité cérébrale mais aussi d'une différence dans la méthodologie utilisée (région stimulée, taille et positionnement des électrodes, type de montage, paramètres de stimulation). Néanmoins, la densité de charge appliquée chez l'animal est nettement plus importante de celle utilisée actuellement dans les études cliniques. Etant donné que les études animales portant sur la sécurité d'utilisation de la tDCS sont principalement basées sur des analyses morphologiques

et incluent rarement des investigations sur les changements comportementaux à long-terme, ces données ne peuvent pas directement être transférées à la pratique clinique.

4.2. Variantes de la tDCS conventionnelle

Une autre version de cette technique conventionnelle est la tDCS à haute définition (*acronyme anglais*: HD-tDCS pour High-Definition transcranial Direct Current Stimulation) qui, basée sur des approches computationnelles [Dmochowski et al., 2011; Sharma et Chowdhury, 2019], a été techniquement améliorée afin de permettre une focalisation plus précise et un effet plus soutenu dans le temps [Kuo et al., 2013]. Ceci est notamment rendu possible par l'utilisation d'un réseau de 5 petites électrodes en gel (1 électrode active entourée de 4 électrodes de référence, connue comme la configuration 4x1) placées sur le cuir chevelu selon une configuration prédéterminée visant à stimuler la région d'intérêt [Villamar et al., 2013] (**Fig.15**). Le positionnement des électrodes s'effectue selon le système de placement international 10/20 standard qui permet de fixer la place de chacune des électrodes par rapport à des repères anatomiques et qui est également utilisé en clinique pour la TMS afin de déterminer le positionnement de la bobine [Herwig et al., 2003]. Comparée à la tDCS conventionnelle qui utilise 2 larges électrodes, la configuration 4x1 permet de circonscrire la zone de stimulation et d'induire ainsi une amélioration de 80% de la résolution spatiale et de 98% de l'intensité de stimulation au niveau des cibles corticales [Dmochowski et al., 2011]. Malgré ces améliorations techniques, les évidences des essais cliniques portant sur le bénéfice thérapeutique de la HD-tDCS dans le traitement des syndromes douloureux ne sont pas toujours concluantes. Une étude évaluant l'effet de la HD-tDCS sur le cortex préfrontal médian chez des patients souffrant d'une douleur chronique au niveau du dos n'a montré aucune modification de la durée et de l'intensité de la douleur ainsi qu'aucun effet sur les paramètres psychologiques (évaluation de l'expérience douloureuse, symptomatologie anxio-dépressive) et psychophysiques (seuil nociceptif à la pression, intensité de la douleur) évalués [McPhee et Graven-Nielsen, 2021]. Une autre étude récente ciblant simultanément le dlPFC et le cortex moteur primaire a également échoué à démontrer un effet bénéfique de la HD-tDCS sur l'hyperalgésie ainsi que l'intensité de la douleur expérimentale [Kold et Graven-Nielsen, 2022]. Cependant, Castillo-Saavedra et

collègues, qui ont évalué le nombre de sessions nécessaires pour obtenir une réponse cliniquement significative de la HD-tDCS, ont rapporté une réduction de 50% de la douleur chez la moitié des patients atteints d'une fibromyalgie lorsqu'ils ont été stimulés sur le cortex moteur primaire pendant 15 sessions, chacune d'une durée de 20min et avec une intensité de courant fixée à 2mA [Castillo-Saavedra et al., 2016]. De plus, un effet cumulatif de la HD-tDCS a été observé aussi bien chez les sujets répondeurs au traitement que les non répondeurs, indiqué notamment par une diminution significative de l'intensité de la douleur et l'amélioration de la qualité de vie. Les résultats contradictoires de la littérature mettent en évidence la nécessité de standardisation des protocoles et de détermination des paramètres de stimulation optimaux afin de pouvoir conclure sur l'efficacité d'utilisation de la HD-tDCS dans le traitement des douleurs chroniques.

Ciblage du cortex moteur primaire pour une stimulation HD-tDCS en configuration 4x1 selon le système international 10/20 EGG

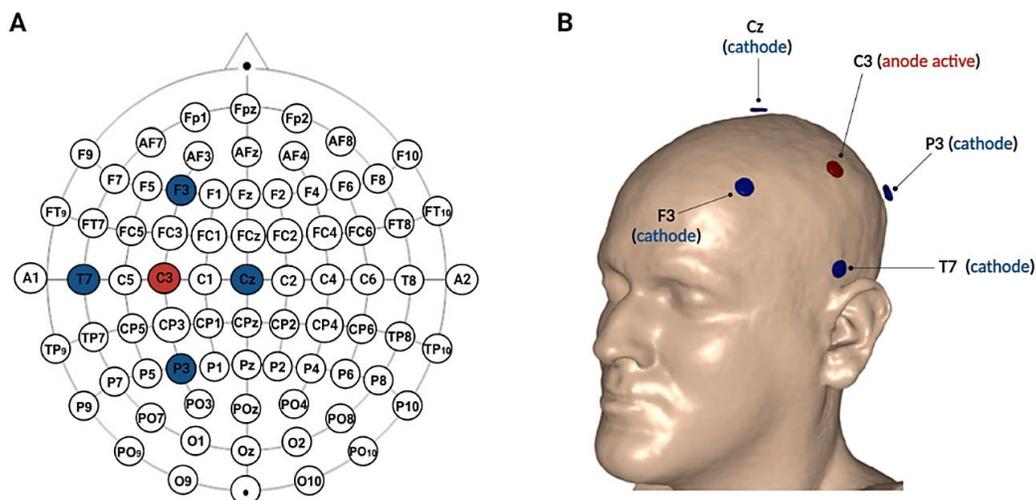


Fig. 15 La HD-tDCS. (A) Système international 10/20 d'EGG utilisé pour le placement des électrodes. L'emplacement C3 (**cerclé rouge**) précise la localisation de l'électrode de stimulation, tandis que les points F3, T7, P3 et Cz (**cerclés bleus**) marquent l'emplacement des électrodes de référence. (B) Illustration du montage utilisé pour la HD-tDCS en configuration 4x1: 1 électrode active placée au centre (**anode**) et entourée de 4 électrodes de référence (**cathode**). Les électrodes sont placées de manière à cibler le cortex moteur primaire. Adapté d'après Broniec, 2016; Castillo-Saavedra et al., 2016. Réalisé avec BioRender®

Il existe également d'autres méthodes de neurostimulation électrique transcrânienne, parmi lesquelles on distingue notamment la stimulation par courant alternatif (*acronyme anglais*: tACS

pour transcranial Alternating Current Stimulation) et la stimulation par bruit aléatoire (*acronyme anglais*: tRNS pour transcranial Random Noise Stimulation). Ces deux modalités de stimulation utilisent le même type de montage que celui appliqué pour la tDCS conventionnelle.

Cependant, tandis que la tDCS est utilisée pour appliquer un courant continu dont l'intensité reste stable durant la stimulation et permet de moduler le seuil d'excitabilité des neurones individuels par des effets de polarisation [Nitsche et Paulus, 2000], la tACS utilise un courant alternatif d'une fréquence fixe qui se propage sous forme d'une onde sinusoïdale entre les deux électrodes et qui conduit à la synchronisation de la fréquence de décharge des groupes de neurones spécifiques impliqués par exemple dans diverses tâches cognitives [Battleday et al., 2014] (Fig.16-A, B, C). La tRNS, tout comme la tACS, est utilisée afin d'interférer avec les oscillations neuronales intrinsèques mais en utilisant un courant alternatif à des fréquences aléatoires se situant entre 0.1Hz et 640Hz [Terney et al., 2008] (Fig.16-D).

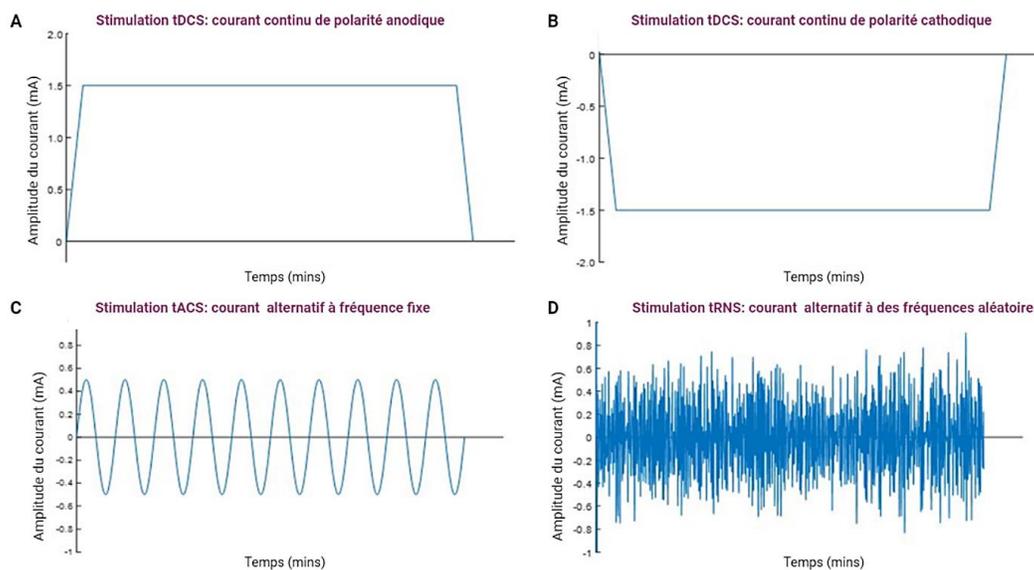


Fig. 16 Les différentes formes de courant utilisées pour la stimulation électrique transcrânienne. (A, B) Courant continu (de polarité anodique ou cathodique, respectivement) utilisé pour la tDCS conventionnelle. (C) Courant alternatif de forme sinusoïdale à fréquence fixe pour la tACS. (D) Courant alternatif délivré à des fréquences aléatoires pour la tRNS. D'après [Reed et Cohen Kadosh, 2018](#).

Il a été démontré que les changements d'excitabilité neuronale induits par la tRNS dépendent de l'intensité de stimulation, avec 0.4mA induisant un effet inhibiteur et 1mA résultant plutôt

en une excitation [Moliadze et al., 2012]. A l'heure actuelle, les données de la littérature sont insuffisantes et ne permettent pas de prouver l'efficacité clinique de ces nouvelles méthodes de stimulation transcrânienne dans le traitement des douleurs chroniques (Alm et Dreimanis, 2013; Palm et al., 2016; Ahn et al., 2019; May et al., 2021].

Les techniques de stimulation non invasives ont été développées comme une thérapie alternative aux approches invasives dans le but d'améliorer la prise en charge des patients en réduisant l'inconfort et le risque opératoire. Bien que la survenue d'évènements indésirables soit réduite au minimum avec ces méthodes non invasives, elles présentent néanmoins quelques inconvénients dont la nécessité de plusieurs sessions de stimulation pour que l'effet antalgique soit maintenu sur de longues périodes, ainsi que le besoin d'établir des protocoles avec des paramètres de stimulation standardisés afin de minimiser la variabilité des résultats observés. Le développement de nouvelles approches technologiques permettra d'améliorer davantage la focalité du signal délivré et de cibler plus spécifiquement la région d'intérêt.

Le travail expérimental présenté dans ce manuscrit de thèse porte sur la tDCS conventionnelle. Par conséquent, les paragraphes qui suivent aborderont plus en détails le principe et les effets neurophysiologiques à court- et à long-terme, ainsi que les évidences cliniques rapportant l'utilisation de cette méthode de neuromodulation dans la prise en charge de la douleur chronique.

4.3. Principe de fonctionnement et les paramètres de stimulation influençant les effets de la tDCS

4.3.1. Polarité de stimulation

Comme mentionné précédemment, la tDCS utilise un courant électrique constant de faible intensité (1mA-2mA en clinique), afin d'induire un changement de l'état d'excitabilité des neurones d'une région cible démontrant une activité cérébrale anormale dans des conditions pathologiques. Les effets neurophysiologiques à court-terme de la tDCS sont principalement dépendants de la polarité de stimulation. Il est considéré qu'une stimulation anodique (a-tDCS) induit une dépolarisation du potentiel membranaire conduisant à une augmentation de

l'excitabilité neuronale et facilitant ainsi la transmission synaptique, tandis qu'une stimulation cathodique (c-tDCS) entraîne plutôt une hyperpolarisation résultant en une diminution de l'excitabilité neuronale et par conséquent en une inhibition de la transmission synaptique. Ces modifications de l'excitabilité neuronale selon la polarité de stimulation ont été initialement montrées chez l'animal [Creutzfeldt et al., 1962; Bindman et al., 1964; Purpura et McMurtry, 1965] et confirmées par la suite chez l'Homme [Nitsche et Paulus, 2000, 2001; Nitsche et al., 2005] (Fig.17).

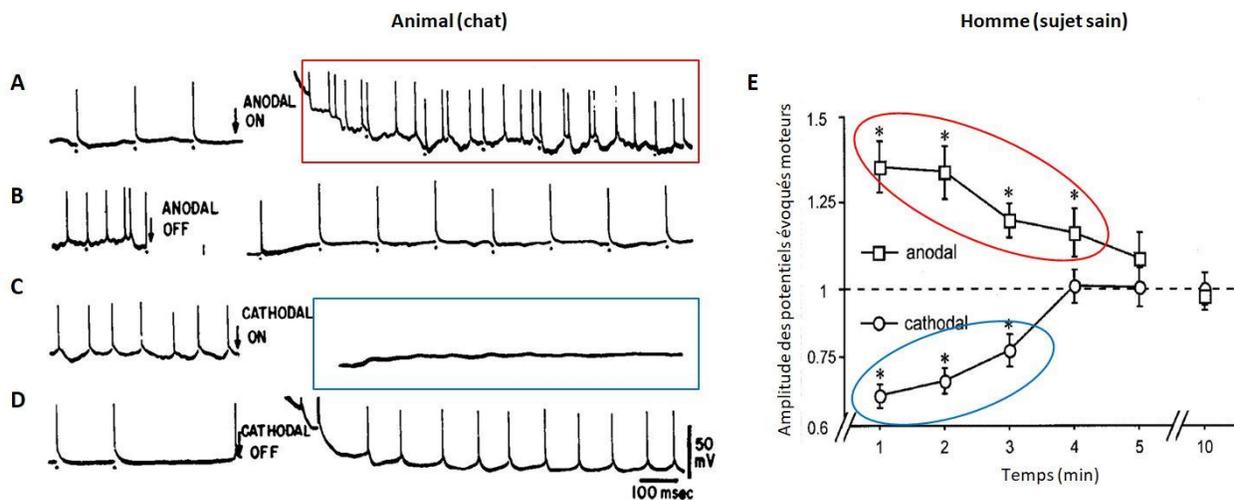


Fig. 17 Effets polarité-dépendants d'une polarisation chez l'animal et de la stimulation par tDCS chez l'Homme. (A-D) Enregistrements de l'activité spontanée des neurones pyramidaux chez le chat durant une forte polarisation ($150\mu\text{A}/\text{mm}^2$). (A, B) La polarisation anodique entraîne une augmentation de la fréquence de décharge des neurones (*anodal on*) qui revient à la normale après l'arrêt de la stimulation (*anodal off*). (C, D) La polarisation cathodique induit une inhibition de la décharge neuronale (*cathodal on*) et l'arrêt de la stimulation résulte en un rétablissement de l'activité spontanée (*cathodal off*). D'après Purpura et McMurtry, 1965. (E) Stimulation du cortex moteur chez l'Homme (5min à 1mA) et enregistrement de la réponse motrice évoquée (potentiels évoqués moteurs) après la fin de la stimulation par la tDCS. La polarité anodique entraîne une augmentation de l'amplitude des potentiels évoqués moteurs, reflétant une augmentation de l'excitabilité corticale, tandis que la polarité cathodique induit une diminution de l'activité corticale, démontrée par une réduction de l'amplitude des potentiels évoqués moteurs. D'après Nitsche et Paulus, 2000.

Il est considéré que lorsqu'un courant électrique chargé positivement (anode) est appliqué sur le cortex cérébral, ceci conduit à une dépolarisation somatique et à une hyperpolarisation des dendrites apicales des neurones corticaux pyramidaux (Fig.18). Le changement de l'activité électrique étant plus importante au niveau du soma, l'effet principal est alors une dépolarisation du potentiel membranaire. Inversement, lorsque le courant est chargé

négativement (cathode), ceci conduit à une diminution de l'excitabilité neuronale résultant de l'hyperpolarisation du soma et la dépolarisation des dendrites apicales [Moreno-Duarte et al., 2014].

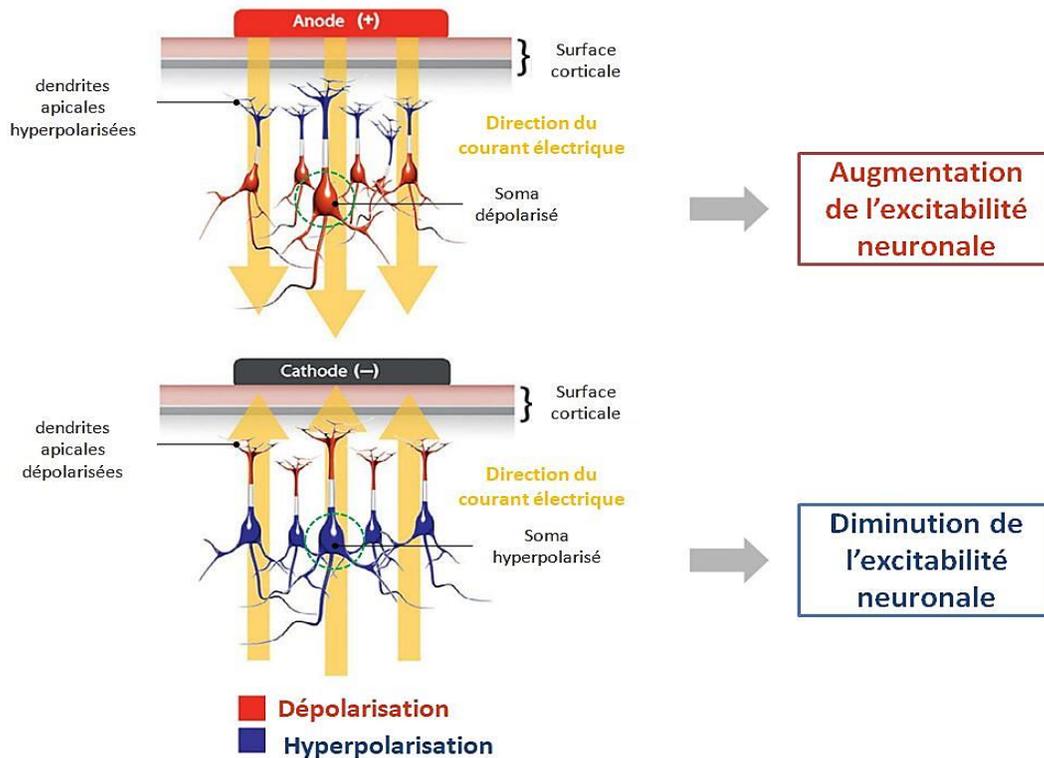


Fig. 18 L'effet d'un courant entrant (anode) et d'un courant sortant (cathode) sur la polarisation cellulaire. Lorsque l'électrode de stimulation est chargée positivement (anode), le courant est entrant par rapport au cerveau (flèches jaunes). Le courant généré atteint les neurones corticaux pyramidaux situés sous l'électrode de stimulation: les régions dendritiques apicales deviennent alors hyperpolarisées (bleu), tandis que le soma devient dépolarisé (rouge), ce qui conduit à une augmentation de l'excitabilité neuronale. Inversement, lorsque l'électrode de stimulation est chargée négativement (cathode), le courant est sortant par rapport au cerveau (flèches jaunes). La polarisation bimodale induite par le courant dépolarisé les dendrites apicales (rouge), tandis que le soma devient hyperpolarisé (bleu), ce qui mène à une diminution de l'excitabilité neuronale. D'après Moreno-Duarte et al., 2014.

Le courant délivré par la tDCS n'agit pas directement sur l'activité des neurones, c'est-à-dire qu'il ne permet pas d'induire des potentiels d'action mais plutôt de rendre les cellules plus ou moins sensibles à une activation physiologique en ramenant le potentiel membranaire de repos à un seuil d'excitabilité suffisant pour déclencher un potentiel d'action. L'implication de la tDCS dans la modulation du potentiel membranaire a été notamment confirmée par des études

pharmacologiques réalisées chez l'Homme [Liebetanz et al., 2002; Nitsche et al., 2003b]. Nitsche et collègues, qui ont étudié les effets de différents agents pharmacologiques sur l'excitabilité corticale motrice chez des sujets sains stimulés par la tDCS, ont mis en évidence que le blocage des canaux sodiques et des canaux calciques voltage-dépendants par la carbamazépine et la flunarizine, respectivement, induit une inhibition de l'excitabilité neuronale durant la stimulation anodique et aucun effet pendant la stimulation cathodique c-tDCS [Nitsche et al., 2003b]. Cette absence d'effet pendant la c-tDCS peut être dû au fait que les canaux voltage-dépendants sont déjà inactivés par le courant hyperpolarisant et par conséquent l'administration des agents inhibiteurs n'a aucun impact sur l'excitabilité membranaire. Par ailleurs, les auteurs ont observé que l'effet inhibiteur de la flunarizine sur l'excitabilité neuronale pendant la stimulation anodique est moindre par rapport à celui de la carbamazépine [Nitsche et al., 2003b]. Ceci reflète notamment l'implication des canaux sodiques sensibles au voltage, et non pas des canaux calciques, dans la phase de dépolarisation membranaire pendant laquelle l'ouverture de ces canaux entraîne une entrée d'ions Na^+ dans la cellule. Cet influx d'ions Na^+ permet de rapprocher le potentiel de la membrane vers une valeur seuil, augmentant ainsi la probabilité de déclenchement d'un potentiel d'action lorsque la cellule est stimulée par les neurones adjacents.

4.3.2. Type de montage en fonction du positionnement des électrodes

Il existe différents types de montage pour la tDCS selon le nombre d'hémisphères stimulés [Nasseri et al., 2015]. Les montages unilatéraux consistent à cibler un seul hémisphère, tandis que les montages bilatéraux utilisent un positionnement bilatéral des électrodes de façon à stimuler simultanément les deux hémisphères. Les montages en double canal utilisent deux paires d'électrodes qui sont connectées à deux générateurs indépendants. Les deux électrodes de stimulation, de polarité différente, peuvent par exemple être positionnées bilatéralement de manière symétrique sur le cuir chevelu du patient, tandis que les électrodes de référence sont placées sur les parties ipsilatérales du corps. Chacun de ces types de montage peut davantage être classifié en différents sous-groupes en fonction du nombre et du positionnement des électrodes de stimulation [Nasseri et al., 2015]. Le montage le plus couramment utilisé en

clinique inclut deux électrodes reliées à un générateur de courant. De manière générale, l'électrode de stimulation est positionnée à l'aplomb de la zone corticale cible, tandis que l'électrode de référence est placée de manière intracéphalique (sur le territoire céphalique) sur une autre région crânienne (par exemple sur l'aire supra-orbitaire controlatérale) (Fig.19). Il a été montré que ce positionnement des électrodes était le plus efficace pour induire des changements de l'excitabilité corticale, notamment en ce qui concerne la stimulation du cortex moteur [Nitsche et Paulus, 2000]. Il est également possible de placer l'électrode de référence en position extracéphalique (en dehors du territoire céphalique) sur une partie du corps comme par exemple l'épaule controlatérale à la stimulation. Cependant, ce type de montage nécessite une adaptation de l'intensité de stimulation en raison de l'augmentation de la distance inter-électrodes. En effet, Moliadze et collègues, qui ont étudié l'efficacité de la tDCS à moduler l'excitabilité neuronale du cortex moteur primaire en fonction de la position intra- et extracéphalique des électrodes, ont démontré que lorsque la distance inter-électrodes est augmentée avec la position extracéphalique, des intensités de stimulation plus élevées sont nécessaires afin d'obtenir des effets similaires à ceux observés avec le placement intracéphalique des électrodes [Moliadze et al., 2010]. Ceci suggère qu'en fonction de la position de l'électrode de référence, la distribution du courant électrique dans le tissu cérébral peut changer, menant ainsi à une variabilité dans les effets observés. Les électrodes les plus souvent utilisées en clinique sont des électrodes en éponge avec une taille allant de 20cm² à 35cm². Ces électrodes doivent être humidifiées dans un tampon électrolytique approprié (généralement une solution saline) afin d'éviter le risque de résistance accrue à l'interface électrode/cuir chevelu qui peut causer des brûlures cutanées. Il est aussi conseillé d'utiliser un gel conducteur étant donné que les éponges peuvent sécher durant des expériences de longue durée [Bikson et al., 2016; Antal et al., 2017]. Il a été démontré que la taille des électrodes joue un rôle dans l'étendue de la stimulation. L'un des inconvénients de la tDCS conventionnelle est qu'elle présente une faible focalisation spatiale. A cet égard, Nitsche et collaborateurs ont notamment montré que la résolution spatiale de la tDCS peut être améliorée d'une part en réduisant la taille de l'électrode de stimulation (de 35cm² à 3.5cm²), tout en maintenant une densité de courant constante (0.03 mA/cm²), et d'autre part en augmentant la taille de

l'électrode de référence de 35cm² à 100cm² (avec une densité de courant de 0.01 mA/cm²) [Nitsche et al., 2007]. Ceci permettrait notamment d'éliminer les changements d'excitabilité qui peuvent survenir sous l'électrode de référence et de limiter les effets d'excitabilité neuronale à la région corticale stimulée, augmentant ainsi la spécificité des effets de la tDCS.

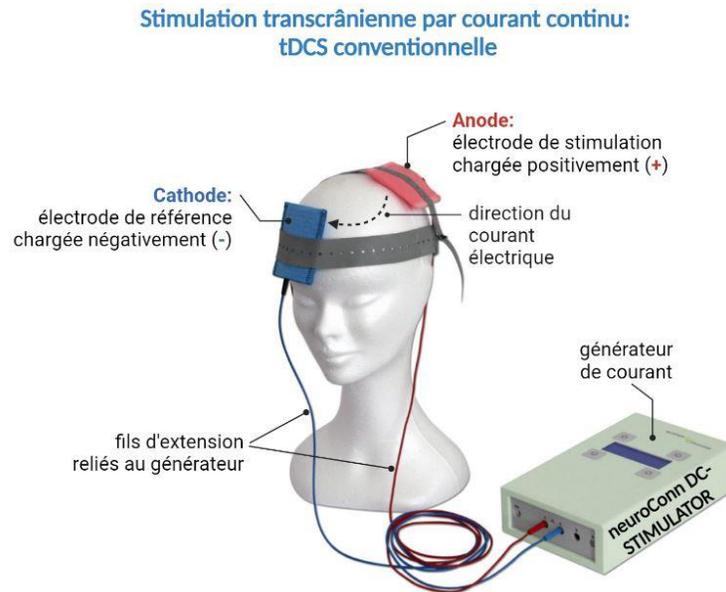


Fig. 19 tDCS conventionnelle chez l'Homme. Exemple du montage le plus souvent utilisé pour la tDCS. Le stimulateur permet de régler les paramètres de stimulation et de délivrer un courant continu. Ici, l'électrode de stimulation (**anode**: chargée positivement) est placée sur le cortex moteur primaire, tandis que l'électrode de référence (**cathode**: chargée négativement) est positionnée sur l'aire supra-orbitaire controlatérale. Le courant électrique pénètre dans le tissu cérébral par l'anode, traverse les régions corticales et sous-corticales et puis ressort par la cathode (sens du courant indiqué par une flèche discontinue). D'après *Cerrahoğlu Şirin et al., 2019*.

Chez le rongeur, le montage le plus souvent utilisé est celui initialement développé chez le rat par Liebetanz et collègues [Liebetanz et al., 2006]. Dans leur dispositif, une embase chirurgicalement fixée sur le crâne de l'animal permet de visser l'électrode de stimulation, tandis que l'électrode de référence est placée au niveau thoracique et est maintenu en utilisant un gilet (Fig.20-A). L'électrode de référence peut aussi être implantée en sous-cutané de manière permanente, ce qui nécessite un acte chirurgical supplémentaire [Fritsch et al., 2017]. Ce positionnement des électrodes permet donc d'avoir une configuration unilatérale de stimulation et correspond au montage extracéphalique de la tDCS clinique. Généralement, les montages bilatéraux ne sont pas préconisés chez le rongeur étant donné que le

raccourcissement de la distance inter-électrodes est susceptible de créer un effet de «*shunting*», c'est-à-dire d'éviter la diffusion du courant au niveau cortical en raison d'un passage direct d'une électrode à l'autre [Faria et al., 2011]. La taille de l'électrode de stimulation peut varier entre les différentes études animales allant de 3.5mm² à 7mm² [Brunoni et al., 2011]. D'autres variations dans le placement de l'électrode de référence peuvent également être observées: par exemple sur le cou [Takano et al., 2011] ou la région mastoïdienne [Nekhendzy et al., 2006]. Chez la souris, le maintien de l'électrode de référence au niveau thoracique peut s'effectuer soit via un corset chez l'animal anesthésié [Cambiaghi et al., 2010; Peanlikhit et al., 2017] soit à l'aide d'une boîte de contention chez la souris éveillée [Pedron et al., 2014, 2022] (Fig.20-B).

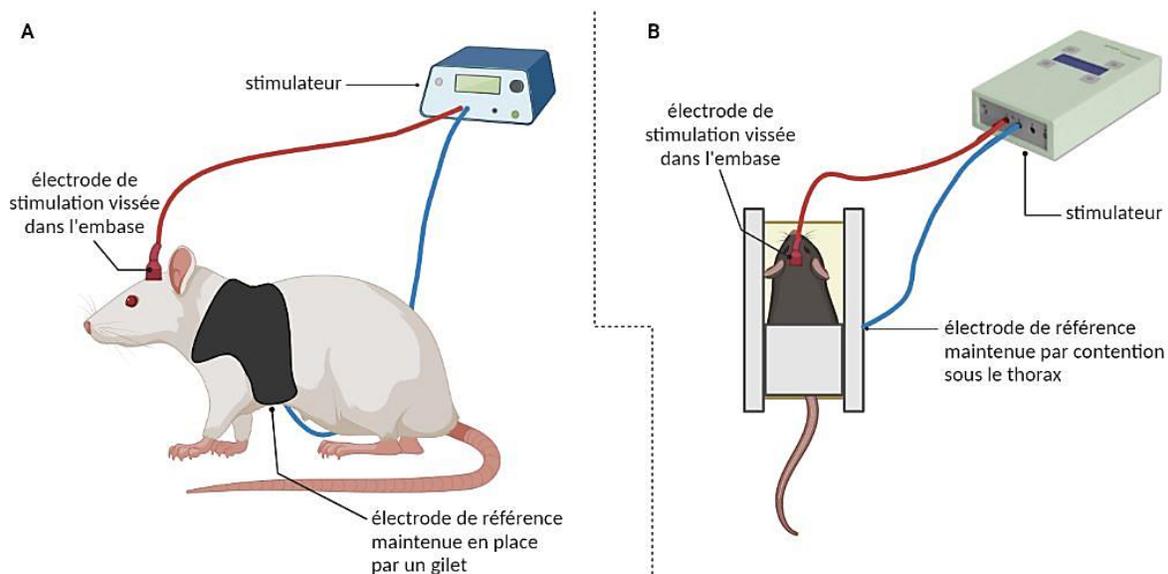


Fig. 20 Montage tDCS chez le rongeur. (A) Le montage le plus souvent utilisé pour la stimulation tDCS chez le rat. L'électrode de stimulation (**rouge**) est vissée dans l'embase qui est préalablement fixée sur le crâne par une opération chirurgicale. L'électrode de référence (**bleue**) est positionnée dans la zone thoracique ventrale et est maintenue à l'aide d'un gilet. Les électrodes sont reliées à un stimulateur permettant de délivrer un courant continu à des paramètres prédéfinis. (B) Le même type de montage est aussi utilisé chez la souris mais l'animal éveillé est mis dans une boîte de contention permettant de maintenir l'électrode de référence sur place. Adapté d'après Liebetanz et al., 2006; Pedron et al., 2014. Réalisé avec BioRender®

4.3.3. Intensité de stimulation

L'intensité de stimulation est aussi un paramètre supplémentaire qui peut influencer les effets de la tDCS. Il est envisageable de penser que plus l'intensité de stimulation augmente, plus robustes seront les effets observés. Cependant, les données cliniques laissent entrevoir que ce n'est pas toujours le cas. Batsikadze et collaborateurs ont démontré qu'une stimulation anodique de 20min entraîne une augmentation de l'excitabilité du cortex moteur primaire, et ceci indépendamment de l'intensité de stimulation utilisée (1mA ou 2mA). Par ailleurs, tandis qu'une stimulation de polarité cathodique délivrée à une intensité de 1mA résulte en une diminution de l'excitabilité, une telle stimulation délivrée à une intensité de 2mA induit l'effet inverse, reflété notamment par une augmentation de l'excitabilité du cortex moteur primaire au lieu d'une inhibition [Batsikadze et al., 2013]. Ces résultats ont été confirmés par Mosayebi Samani et collègues qui ont étudié les effets neuroplastiques de la tDCS cathodique sur le cortex moteur primaire [Mosayebi Samani et al., 2019]. Ils ont davantage montré que la stimulation cathodique délivrée à une intensité de 3mA permettait d'induire un changement dans les propriétés d'excitabilité des neurones et revenir ainsi à un effet inhibiteur, par rapport à une intensité de 2mA. Ces effets différents de la stimulation peuvent probablement résulter du recrutement d'autres types de neurones qui en fonction de leur orientation spatiale subissent des effets inverses du sens du courant. Il a été par exemple démontré chez le chat que les neurones non pyramidaux situés dans les couches superficielles du cortex moteur sont hyperpolarisés par une stimulation anodique et dépolarisés par une stimulation cathodique, tandis que les cellules des couches plus profondes sont activées par la stimulation anodique mais inactivées par la stimulation cathodique [Purpura et McMurtry, 1965]. De plus, il a été mis en évidence que le recrutement des cellules non pyramidales nécessite un courant d'intensité faible, alors que les neurones pyramidaux sont activés par une stimulation d'intensité plus élevée [Purpura et McMurtry, 1965]. Par ailleurs, des enregistrements électrophysiologiques in vitro réalisés sur des coupes d'hippocampe de rat ont montré que la polarisation des neurones diffère en fonction de la direction du courant: ainsi un champ électrique orienté parallèlement à l'axe somato-dendritique induit une polarisation somatique, tandis qu'un courant perpendiculaire à l'axe apico-dendritique provoque plutôt une polarisation des prolongements

neuronaux [Bikson et al., 2004]. Ces études indiquent d'une part qu'une intensité plus élevée n'est pas nécessairement associée à un effet bénéfique plus important et d'autre part que l'orientation spatiale des neurones et la direction du courant, définie principalement par le type de montage utilisé pour le positionnement des électrodes et la polarité de stimulation choisie, peuvent influencer les effets de la tDCS.

4.3.4. Durée et nombre de sessions de stimulation

Une autre variable également à prendre en considération est la durée de stimulation. Les travaux de Nitsche et Paulus ont montré qu'en augmentant la durée de la stimulation, les effets de polarisation de la tDCS ne sont pas uniquement limités à la période de la stimulation mais peuvent également perdurer au-delà de celle-ci [Nitsche et Paulus, 2000, 2001]. Ils ont appliqué la tDCS sur le cortex moteur primaire chez des sujets sains et ont fait varier la durée de stimulation de 1min à 5min à une intensité constante de 1mA [Nitsche et Paulus, 2000]. Pour détecter les changements d'excitabilité induits par le courant, les auteurs ont mesuré l'amplitude des MEPs. Ils ont démontré qu'une stimulation d'au moins 3min est nécessaire pour induire un effet qui peut perdurer pendant 1min après la fin de la stimulation. Cependant, en augmentant la durée de la stimulation à 5min, il était possible de prolonger ses effets dans le temps. Il était notamment mis en évidence qu'une stimulation anodique permettait d'induire une augmentation significative de 40% des MEPs pendant près de 5min après la fin de la stimulation, tandis qu'une stimulation cathodique entraînait une diminution de 30% des MEPs durant les 3min qui ont suivi la stimulation. Dans des études complémentaires [Nitsche et Paulus, 2001; Nitsche et al., 2003a], les mêmes auteurs ont montré qu'une prolongation plus importante de la durée de stimulation (9min, 11min et 13min) rendait les effets de la tDCS anodique encore plus durables dans le temps (30min, 50min et 90min, respectivement). L'augmentation de la durée de stimulation était aussi accompagnée d'une excitabilité corticale motrice plus élevée, d'environ 150% par rapport à la ligne basale [Nitsche et Paulus, 2001]. De manière similaire, une stimulation cathodique d'une durée de 9min entraînait des effets pouvant persister jusqu'à une durée maximale de 60min après la fin de la stimulation [Nitsche et al., 2003a].

Outre la durée de la stimulation, les données de la littérature soulignent également l'impact du nombre de sessions de stimulation dans l'efficacité de la tDCS. Les travaux de Fregni et Boggio, portant sur l'effet de la tDCS dans l'amélioration de la performance motrice chez des patients ayant subi un AVC, indiquent un effet cumulatif des sessions répétées par rapport à une session unique de stimulation [Fregni et al., 2005; Boggio et al., 2007]. Plus précisément, il a été démontré que la stimulation cathodique de l'hémisphère intact conduit à une amélioration de 11.7% de la fonction motrice après une session unique, tandis que 5 sessions consécutives entraînent une amélioration plus importante (16.7%, comparé à la performance basale) et plus durable (2 semaines après la fin de la stimulation). De plus, l'étude de Boggio et collègues souligne l'importance de l'intervalle entre les sessions, étant donné que 4 sessions hebdomadaires de tDCS n'entraînent pas de changements significativement différents de ceux observés avec la session unique de stimulation (amélioration de 9.5% et 11.7%, respectivement) [Boggio et al., 2007]. Ces résultats ont été confirmés par d'autres travaux qui ont montré que 10 sessions consécutives de tDCS entraînent des effets cliniques plus durables dans la prise en charge de la douleur liée à la fibromyalgie [Fregni et al., 2006a; Valle et al., 2009]. En effet, tandis que 5 sessions consécutives de tDCS anodique du dlPFC gauche n'ont montré aucun effet significatif sur le score douloureux évalué par l'échelle analogue visuelle (*acronyme anglais*: VAS pour Visual Analogue Scale) [Fregni et al., 2006a], l'augmentation du nombre de sessions à 10 a permis d'induire une réduction significative de la douleur [Valle et al., 2009]. La stimulation anodique du cortex moteur primaire a montré un effet bénéfique avec les deux protocoles de stimulation (5 sessions vs 10 sessions), mais l'augmentation du nombre de sessions a permis de prolonger cet effet jusqu'à 60 jours, en comparaison à 3 semaines avec 5 sessions consécutives). Ces études indiquent qu'il est possible d'induire des effets à long-terme de la tDCS en augmentant la durée et le nombre de sessions de stimulation et suggèrent l'implication des mécanismes de plasticité permettant d'induire soit une facilitation soit une inhibition de la transmission synaptique.

4.4. Mécanismes impliqués dans les effets neurophysiologiques à long-terme de la tDCS

Les mécanismes moléculaires impliqués dans les effets à long-terme de la tDCS ne sont pas complètement élucidés. Cependant, il existe différentes pistes suggérant que les effets prolongés de la tDCS sont associés à des mécanismes neuroplastiques [Bennett, 2000]. Les travaux de Liebetanz et Nitsche [Liebetanz *et al.*, 2002; Nitsche *et al.*, 2003b] ont démontré que le blocage par la carbamazépine des canaux sodiques voltage-dépendants chez des sujets sains inhibe l'effet à long-terme de la stimulation anodique. De plus, ils ont montré que le blocage des récepteurs glutamatergiques de type NMDAR par l'administration de l'antagoniste dextrométhorphan empêche l'induction des effets durables de la tDCS, quelque soit la polarité de stimulation appliquée. Ces résultats suggèrent d'une part la nécessité d'une dépolarisation membranaire dans l'induction de l'effet de la stimulation anodique et d'autre part l'implication des récepteurs NMDAR dans les effets à long-terme de la tDCS. Il a également été montré que l'inhibition des canaux calciques sensibles au voltage élimine les effets de la stimulation anodique, mais pas ceux de la stimulation cathodique [Nitsche *et al.*, 2003b]. La modulation de l'activité des canaux calciques a également été montrée chez l'animal, reflétée notamment par l'augmentation de la concentration calcique intracellulaire après une stimulation anodique (5 sessions de 30min avec un intervalle de 24h) du cortex sensorimoteur de rat [Islam *et al.*, 1995]. Ces résultats mettent en évidence que l'effet potentialisant de la tDCS anodique sur l'efficacité synaptique est Ca^{2+} -dépendant. L'augmentation du taux de Ca^{2+} facilite d'une part la libération pré-synaptique des neurotransmetteurs et d'autre part l'augmentation de l'influx calcique post-synaptique permettant ainsi de moduler l'efficacité des récepteurs au glutamate de type NMDAR impliqués dans les phénomènes de plasticité synaptique [Bennett, 2000]. Il a été démontré que l'augmentation d'excitabilité neuronale dans le cortex visuel du chat induite par la tDCS anodique est associée à une diminution de la concentration de GABA ainsi qu'à une réduction de l'expression protéique des enzymes GAD65 et GAD67 (acide glutamique décarboxylase 65 et 67: enzymes de synthèse du GABA), tandis que la diminution d'excitabilité neuronale induite par la stimulation cathodique altère la transmission glutamatergique, démontrée notamment par une réduction de la concentration de glutamate et de son enzyme

de synthèse, la glutaminase [Zhao et al., 2020]. Des effets similaires ont également été observés chez l'Homme suite à une stimulation appliquée sur le cortex moteur [Stagg et al., 2009] ou le cortex auditif [Heimrath et al., 2020]. Ces résultats soulignent que l'effet excitateur de la stimulation anodique et l'effet inhibiteur de la stimulation cathodique sont sous-tendus par une modulation de la transmission GABAergique et glutamatergique, respectivement. La tDCS semble également moduler d'autres neurotransmetteurs, tels que la sérotonine, la noradrénaline et la dopamine. Il a été montré chez des sujets sains que le blocage sélectif de la recapture de la sérotonine par la citalopram, induisant une augmentation de la concentration sérotoninergique, conduit à une prolongation de l'effet de la stimulation anodique et à une inversion de l'effet inhibiteur de la tDCS cathodique en une facilitation [Nitsche et al., 2009; Melo et al., 2021]. Ces effets sont dépendants des récepteurs glutamatergiques de type NMDAR, étant donné qu'il a été montré que l'administration de dextrométhorphan inhibe les effets induits par la sérotonine [Kuo et al., 2016]. Des effets similaires ont également été observés lorsque la recapture de la noradrénaline était sélectivement bloquée par l'administration de réboxétine [Kuo et al., 2017]. Concernant la dopamine, il a été mis en évidence chez l'Homme que le blocage des récepteurs dopaminergiques de type D2 par l'antagoniste sulpiride retarde l'effet de la stimulation anodique et supprime l'effet d'une polarité cathodique [Nitsche et al., 2006]. Les auteurs ont également mis en évidence que l'activation des récepteurs dopaminergiques de type D1 par l'administration de pergolide (agoniste des récepteurs dopaminergiques de type D1/D2), en présence du bloqueur des récepteurs D2, n'est pas suffisant pour induire des effets neuromodulateurs de la tDCS. L'administration de pergolide seul, ce qui a comme effet d'activer principalement les récepteurs D2 et dans une moindre mesure les récepteurs D1, conduit à une consolidation de la diminution de l'excitabilité neuronale induite par la c-tDCS [Nitsche et al., 2006]. Un tel effet de la stimulation cathodique en présence de pergolide a également été observé chez des sujets sains ayant été soumis à une douleur expérimentale de nature aiguë induite par une stimulation laser [Terney et al., 2008]. Les potentiels évoqués par laser (*acronyme anglais*: LEP pour Laser Evoked Potentials) ont été enregistrés afin d'examiner les corrélats neuronaux de la perception douloureuse. Il a été démontré que la stimulation cathodique sur le cortex moteur primaire

induit une réduction jusqu'à 2h de l'amplitude des potentiels évoqués, accompagnée d'une diminution de la sensation douloureuse, tandis que l'administration préalable de pergolide entraîne une prolongation de ces effets jusqu'à 24h après la fin de la stimulation [Terney et al., 2008]. Ces résultats suggèrent que le système dopaminergique est impliqué dans l'induction des effets à long-terme de la tDCS. D'autres neurotransmetteurs, tels que l'acétylcholine, semble aussi contribuer aux effets de la tDCS. Il a notamment été montré que l'administration de rivastigmine (un inhibiteur de l'acétylcholinestérase qui facilite donc la transmission cholinergique) supprime l'effet de l'a-tDCS et retarde la diminution de l'excitabilité induite par la c-tDCS avant de stabiliser son effet post-stimulation [Kuo et al., 2007].

D'autres études attribuent les effets de la tDCS à la synthèse des protéines impliquées dans les modifications de la plasticité synaptique. Ainsi, des variations du taux de BDNF ont été observées dans un modèle de douleur neuropathique chronique chez le rat avec une augmentation dans le sérum et le cortex préfrontal et une diminution dans la moëlle épinière après une stimulation anodique [Filho et al., 2016]. Ces changements ont été accompagnés par une augmentation de l'activité locomotrice et exploratoire, ainsi qu'une diminution du phénotype anxieux chez des rats neuropathiques ayant été soumis à la tDCS. De plus, il a été montré chez la souris que l'effet potentialisant de la tDCS anodique sur la mémoire hippocampe-dépendante s'effectue via une régulation épigénétique de l'expression du facteur BDNF [Podda et al., 2016]. L'expression du BDNF est contrôlée par différents facteurs de transcription, tel que CREB. Les auteurs ont notamment mis en évidence que l'effet dépolarisant de la stimulation anodique induit la phosphorylation du CREB qui mène à l'acétylation de l'histone H3 au niveau du promoteur I du gène *Bdnf*. Une telle modification structurale de la chromatine conduit à une augmentation de l'expression des ARNm comprenant l'exon non codant I et l'exon codant IX du gène *Bdnf*, ce qui résulte en une augmentation du niveau d'expression de la protéine. Il a également été démontré chez la souris [Podda et al., 2016] et sur des tranches d'hippocampe de rat [Yu et al., 2019] que l'augmentation de la plasticité synaptique induite par la tDCS est dépendante de la voie de signalisation BDNF/TrkB, étant donné que le blocage des récepteurs TrkB par l'antagoniste ANA-1243 inhibe l'effet facilitateur de la stimulation anodique sur la mémoire. De plus, l'activation des récepteurs

glutamatergiques de type NMDAR induit une augmentation de la concentration intracellulaire de Ca^{2+} dans l'élément pré-synaptique conduisant à la sécrétion de BDNF [Park et al., 2015] et réciproquement le BDNF, via la voie de signalisation TrkB/Fyn, conduit à la phosphorylation de la sous-unité GluN2B des récepteurs NMDAR, potentialisant ainsi leur activation [Li et al., 2017]. L'activation des récepteurs NMDAR entraîne des modifications spécifiques au niveau des récepteurs post-synaptiques au glutamate de type AMPAR [Luscher et Malenka, 2012; Bliss et Collingridge, 2013]. Il a été montré chez le rat que la stimulation anodique entraîne d'une part l'augmentation du taux d'expression des ARNm codant pour l'enzyme CaMKII (protéine kinase Ca^{2+} /calmoduline-dépendante II) [Kim et al., 2017] et d'autre part une induction de la phosphorylation du site S231 de la sous-unité GluA1 des récepteurs glutamatergiques de type AMPAR et leur translocation vers la membrane post-synaptique [Stafford et al., 2018]. Ainsi, l'activation des récepteurs glutamatergiques de type NMDAR post-synaptiques suite à un courant dépolarisant entraînerait l'augmentation de la concentration intracellulaire de Ca^{2+} activant l'enzyme CaMKII, ce qui mènerait à la phosphorylation des récepteurs glutamatergiques de type AMPAR et à leur insertion dans la membrane post-synaptique. L'effet facilitateur de la stimulation tDCS sur l'efficacité synaptique impliquerait alors une augmentation du niveau d'expression des récepteurs AMPAR dans la membrane post-synaptique, alors que l'effet inhibiteur induirait une diminution de l'expression de ces récepteurs par un mécanisme d'endocytose. Cependant, les phénomènes de plasticité synaptique étant des processus biologiques complexes, les différentes voies de signalisation pouvant contribuer à l'apparition et au maintien des effets à long-terme de la tDCS ne sont pas encore bien connues. Ainsi, diverses études ont également identifié d'autres candidats moléculaires pouvant intervenir dans les effets durables de la tDCS, tels que l'oxyde nitrique [Barbati et al., 2020] ou bien les gènes d'expression précoce immédiate comme *zif268* [Ranieri et al., 2012] et *c-fos* [Kim et al., 2017].

En se basant sur le concept de la synapse tripartite [Araque et al., 1999], il n'est pas exclu que les cellules gliales, telles que les astrocytes, jouent également un rôle dans les mécanismes de la plasticité synaptique induite par la tDCS. En utilisant des souris transgéniques exprimant la protéine fluorescente G-CaMP7 qui permet de suivre la signalisation calcique en temps réel, il a

été démontré que la stimulation anodique du cortex visuel primaire entraîne une augmentation de la concentration calcique astrocytaire [Monai et al., 2016]. Une telle augmentation n'a pas été observée chez les souris déficientes en IP₃R2 (récepteurs de l'Inositol triPhosphate, de type 2), ce qui indique que les variations de la concentration calcique intracellulaire sont dépendantes de l'activation des récepteurs IP₃R2 au niveau des astrocytes. De plus, le blocage des récepteurs α 1-adrénergiques (A1AR) par l'administration de l'antagoniste prazosine, ainsi que la diminution de l'innervation noradrénergique par un traitement de DSP4 (N-(2-chloroéthyle)-N-éthyle-2-bromobenzylamine) inhibent l'élévation de Ca²⁺ intracellulaire induite par la tDCS, suggérant que la signalisation calcique astrocytaire s'exerce via l'activation noradrénergique des récepteurs A1AR [Monai et al., 2016]. Cette augmentation du taux de Ca²⁺ intracellulaire est nécessaire pour la libération des gliotransmetteurs dans la fente synaptique qui, en se fixant sur les récepteurs pré- et post-synaptiques, sont susceptibles de moduler l'activité neuronale et la force synaptique.

Une autre étude a examiné l'implication de la microglie, faisant également partie des cellules gliales du système nerveux central, dans les effets de la tDCS [Mishima et al., 2019]. Il a été démontré que la stimulation anodique du cortex visuel primaire chez la souris induit une augmentation de la taille du soma microglial. Cet effet n'a pas été observé chez des souris KO pour les récepteurs IP₃R2. De la même manière, l'ablation de l'innervation noradrénergique, le blocage des récepteurs A1AR astrocytaires et le blocage des récepteurs β 2-adrénergiques (B2AR) exprimés par la microglie n'ont pas affecté la taille du soma microglial. Les auteurs ont aussi mis en évidence que la tDCS induit une réduction de la motilité des ramifications microgliales: un effet dépendant de l'activation des récepteurs B2AR. Ces résultats soutiennent l'hypothèse selon laquelle la transmission noradrénergique serait impliquée dans les effets de la tDCS, soit par un mécanisme indirect via une communication intercellulaire (activation des récepteurs A1AR astrocytaires et signalisation calcique IP₃R2-dépendante), soit par un mécanisme direct via l'activation des récepteurs microgliaux B2AR par la noradrénaline. [Mishima et al., 2019]. Ainsi, la microglie s'intègre comme un composant fonctionnel dans la synapse tripartite et présente une nouvelle cible d'étude des mécanismes à long-terme de la tDCS.

Un schéma récapitulatif des mécanismes pouvant influencer les effets de la tDCS, concernant principalement ceux de la stimulation de polarité anodique, est représenté dans la **Fig. 21**.

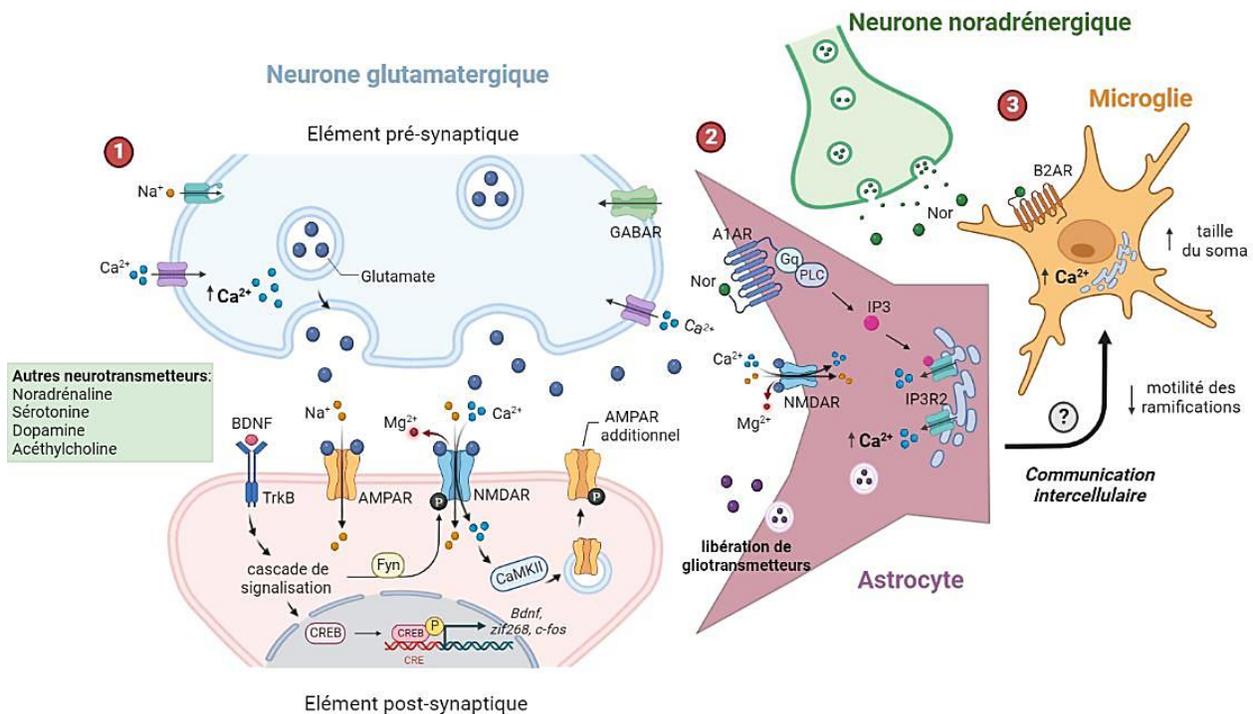


Fig. 21 Représentation schématique des mécanismes impliqués dans les effets à long-terme de la tDCS. (1) Le glutamate libéré par l'élément pré-synaptique se fixe sur les récepteurs glutamatergiques de type AMPAR et induit l'entrée des ions Na^+ conduisant à une dépolarisation locale de la membrane post-synaptique. Ceci permet de déloger le Mg^{2+} bloquant les récepteurs au glutamate de type NMDAR avoisinants qui laissent passer des ions Na^+ conduisant au déclenchement d'un potentiel post-synaptique excitateur. L'ouverture des récepteurs NMDAR permet aussi l'entrée des ions Ca^{2+} résultant ainsi en une augmentation de la concentration calcique intracellulaire permettant d'activer la CamKII qui est impliquée dans les processus de phosphorylation et d'exocytose des récepteurs glutamatergiques de type AMPAR. La fixation du BDNF sur le récepteur TrkB induit une cascade de signalisation permettant la synthèse de nouvelles protéines, telles que *zif268* et *c-fos*. De plus, le BDNF via la voie de signalisation TrkB/Fyn conduit à la phosphorylation des récepteurs NMDAR, potentialisant ainsi leur activation. (2) La fixation de noradrénaline sur les récepteurs noradrénergiques de type A1AR astrocytaires active la voie de signalisation Gq/PLC/IP₃. L'activation des récepteurs IP₃R2 situés sur le réticulum endoplasmique induit la libération de Ca^{2+} à partir des stocks intracellulaires. L'augmentation du taux de Ca^{2+} permet ainsi de libérer des gliotransmetteurs susceptibles de moduler la force synaptique. (3) La noradrénaline (Nor) induirait également des modifications morphologiques de la microglie soit par un mécanisme direct via l'activation des récepteurs noradrénergiques de type B2AR, soit de manière indirecte à travers une communication intercellulaire astrocyte/microglie. AMPAR: récepteurs d'acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazole propionique; NMDAR: récepteurs de N-méthyl D-aspartate; CamKII: protéine kinase Ca^{2+} /calmoduline-dépendante II; BDNF: facteur neurotrophique dérivé du cerveau; TrkB: récepteurs kinase B de la tropomyosine; A1AR: récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques; PLC: la phospholipase C; IP₃: Inositol triPhosphate; IP₃R2: récepteurs de l'Inositol triPhosphate de type 2; B2AR: récepteurs $\beta 2$ -adrénergiques. Adapté d'après *Luscher et Malenka, 2012*; *Cocco et al., 2018*; *Mishima et al., 2019*; *Korai et al., 2021*. Réalisé avec BioRender®

Les cellules microgliales sont aussi impliquées dans la modulation des réponses neuro-inflammatoires et leur activation peut avoir un effet bénéfique via la production de cytokines anti-inflammatoires (ex.TGF- β : facteur de transformation de croissance, IL-10...) ou un effet néfaste par la production de cytokines (ex.IFN-1: interféron de type 1, IL-1, IL-6, IL-12) et chimiokines (ex.TNF α) pro-inflammatoires. Différentes études rapportent plutôt des effets bénéfiques de la tDCS sur l'activité microgliale. Par exemple, la stimulation anodique du cortex pariétal de rat induit une réversion de la plasticité maladaptative induite par la douleur chronique, reflétée notamment par un effet anti-nociceptif associé à une diminution de l'expression hippocampique du TNF α [Spezia Adachi et al., 2012]. Concernant la stimulation cathodique, il a été montré dans un modèle animal d'ischémie cérébrale que la tDCS induit une accélération de la récupération de la fonction motrice, probablement par une augmentation de la prolifération des cellules souches neuronales associée à une polarisation microgliale permettant d'assurer la migration des précurseurs d'oligodendrocytes vers le site de la lésion [Braun et al., 2016]. Ces résultats ont aussi été confirmés par l'étude de Zhang et collaborateurs qui ont montré que la stimulation cathodique favorise la différenciation des cellules souches en oligodendrocytes dans le striatum ischémique et que ce processus de différenciation cellulaire est probablement dû à l'inhibition de l'activation de la voie de signalisation Notch 1 [Zhang et al., 2020c]. Une autre étude réalisée dans un modèle murin d'ischémie cérébrale suggère l'implication de l'activation de la voie de signalisation ephrinb1/EPHB2/MAP-2/NMDAR dans les effets bénéfiques de la tDCS anodique sur la neurogenèse hippocampique et la récupération de la fonction cognitive associée [Ma et al., 2021].

4.5. Les effets cliniques de la tDCS sur la douleur chronique

Les travaux de Fregni et collègues ont grandement contribué à l'utilisation thérapeutique de la tDCS en clinique. Ils ont été les premiers à étudier l'implication de cette technique de neuromodulation dans le traitement de la douleur chronique. En 2005, Fregni et collaborateurs ont publié un article évaluant l'efficacité de la tDCS (1mA, 20min sur le cortex moteur) chez des sujets atteints d'un AVC (n=6), présentant une réduction de l'activité neuronale dans l'hémisphère touché et une activité excessive dans l'hémisphère controlatéral à la lésion [Fregni

[et al., 2005](#)]. De ce fait, les auteurs ont testé les deux polarités de stimulation: polarité anodique sur l'hémisphère touché et la polarité cathodique sur l'hémisphère non affecté. Ils ont mis en évidence que la tDCS anodique induit une amélioration significative de 6.7% de la fonction motrice, tandis que la stimulation cathodique de 11.7%, en comparaison avec la condition placebo (courant appliqué pendant 30s). La tDCS peut donc favoriser la récupération des performances motrices chez des patients AVC, probablement en rétablissant la balance d'excitabilité corticale entre les deux hémisphères. Suite à ces données encourageantes, les auteurs ont également évalué l'utilisation clinique de la tDCS pour le soulagement de la douleur chronique associée à une lésion médullaire [[Fregni et al., 2006b](#)] ou à la fibromyalgie [[Fregni et al., 2006a](#)]. Ainsi, 5 sessions consécutives de tDCS anodique sur le cortex moteur primaire (2mA, 20min, 5jours) permettent d'induire une diminution significative de 58% de la douleur chez des patients ayant subi une lésion médullaire (n=17) et cet effet analgésique se maintient au moins pendant deux semaines après la fin de la stimulation (37% de réduction du score douloureux par rapport à la ligne basale) [[Fregni et al., 2006b](#)]. Utilisant les mêmes paramètres de stimulation, les auteurs ont aussi mis en évidence des effets bénéfiques similaires de la tDCS chez les patients atteints d'une fibromyalgie [[Fregni et al., 2006a](#)]. Plus précisément, 32 patients ont été randomisés pour recevoir une stimulation active de polarité anodique soit sur le cortex moteur primaire soit sur le dlPFC. Etant donné que Fregni et collaborateurs ont démontré dans une étude précédente que la tDCS anodique présente un effet antidépresseur significatif chez des sujets souffrant d'une dépression sévère [[Fregni et al., 2006c](#)], le dlPFC a été choisi dans le but d'améliorer la qualité de vie des patients en essayant de diminuer les symptômes dépressifs associés à la fibromyalgie. Cependant, bien qu'une amélioration à long-terme de la douleur ait été observée suite à la stimulation du cortex moteur, la stimulation du dlPFC n'a montré aucun effet significatif sur le score dépressif des patients fibromyalgiques [[Fregni et al., 2006a](#)]. Cette différence dans les résultats concernant l'effet antidépresseur de la tDCS sur le dlPFC peut probablement provenir du fait que les mécanismes physiopathologiques de la dépression chez les patients atteints d'une fibromyalgie sont différents de ceux des patients souffrant d'une dépression majeure sévère. Dans un autre essai clinique longitudinal randomisé et contrôlé, le même groupe de chercheurs a mis en évidence que l'augmentation du nombre de sessions de

stimulation permet de récupérer cette absence d'effet analgésique et antidépresseur de la tDCS anodique sur le dIPFC [Valle et al., 2009]. Les auteurs ont notamment montré que 10 sessions de stimulation de polarité anodique (2mA, 20min, 10 jours) sur le dIPFC entraîne une diminution de l'intensité de la douleur, ainsi qu'une amélioration significative de la qualité de vie des femmes fibromyalgiques. Cependant, seule la stimulation du cortex moteur primaire a induit des bénéfices cliniques durables persistant jusqu'à 60 jours après la fin du protocole de traitement, suggérant un effet cumulatif dans le temps suite à des sessions consécutives de stimulation. Les résultats de cette étude soulignent aussi l'intérêt de cibler le dIPFC, bien qu'il semble que son efficacité soit moins importante que celle observée pour la stimulation du cortex moteur dans le soulagement de la douleur liée à la fibromyalgie. Boggio et collègues ont étudié l'implication de ces deux régions dans l'effet modulateur de la tDCS dans un contexte de douleur expérimentale [Boggio et al., 2008]. Des sujets sains (n=20) ont été soumis à une stimulation anodique délivrée sur le cortex moteur, le dIPFC ou le cortex occipital. Pour la condition placebo, le courant a été arrêté après 30s de stimulation. Le seuil sensoriel (l'intensité de courant à laquelle le sujet signale la perception du stimulus électrique), ainsi que le seuil douloureux (l'intensité de courant à laquelle le sujet déclare une sensation douloureuse) ont été évalués en réponse à une stimulation électrique périphérique de l'index de la main droite. Les résultats ont montré que la stimulation du cortex moteur primaire induit une augmentation des seuils sensoriel et douloureux, tandis que la stimulation du dIPFC module uniquement le seuil douloureux, suggérant ainsi des mécanismes d'action distincts. Aucun effet de la stimulation du cortex occipital ainsi qu'aucun effet de la condition placebo n'ont été détectés [Boggio et al., 2008]. Dans une étude complémentaire, les auteurs ont mis en évidence que la stimulation anodique du dIPFC permet d'atténuer la sensation désagréable et l'inconfort émotionnel évoqués par des stimuli douloureux aversifs [Boggio et al., 2009]. Un tel effet n'a pas été observé après une stimulation du cortex moteur ou le cortex occipital. Ces résultats indiquent l'implication du dIPFC dans le traitement émotionnel de la douleur et confirme davantage l'intérêt de son ciblage par la tDCS dans un but de soulagement de la douleur en modulant la composante affectivo-émotionnelle, et non seulement la composante sensori-discriminative qui est plutôt modulée par le ciblage du cortex moteur. Une autre étude randomisée contrôlée en

double aveugle réalisée chez des sujets sains (n=12) a évalué cette fois-ci les effets de la tDCS cathodique (0.3mA, 20min) sur l'excitabilité corticale et la perception sensorielle et douloureuse en ciblant le cortex moteur, le dIPFC et le cortex somatosensoriel [Vaseghi et al., 2015]. Il a été montré que la stimulation cathodique induit une diminution significative de l'excitabilité dans le cortex moteur primaire et le cortex somatosensoriel, reflétée notamment par une réduction de l'amplitude des potentiels évoqués moteurs et les potentiels évoqués somatosensoriels, quelque soit la région ciblée, mettant ainsi en évidence une connectivité fonctionnelle entre ces trois régions cérébrales impliquées dans le traitement de la douleur. Il a aussi été démontré que la stimulation de ces trois sites par la tDCS cathodique conduit à une augmentation des seuils somatosensoriel et douloureux, confirmant davantage que le ciblage d'autres régions, outre que le cortex moteur, peut présenter un intérêt clinique dans la prise en charge de la douleur. De plus, les travaux de Boggio d'une part [Boggio et al., 2008; Boggio et al., 2009] et de Vaseghi d'autre part [Vaseghi et al., 2015] suggèrent que les deux polarités de stimulation, à savoir anodique et cathodique, sont capables d'induire un effet analgésique, mais les mécanismes d'action par lesquels cet effet anti-nociceptif s'exerce restent encore méconnus.

Récemment, les lignes directrices internationales fondées sur les données probantes ont donné une recommandation de niveau B (efficacité potentielle) pour l'utilisation de la tDCS conventionnelle dans la prise en charge de la douleur neuropathique, la fibromyalgie, la migraine et la douleur aiguë post-opératoire, et aucune recommandation pour le syndrome de douleur myofasciale et la lombalgie [Fregni et al., 2021]. En raison des données limitées, le nombre d'effectifs très réduits et une hétérogénéité dans la méthodologie et la population incluse dans les essais cliniques, aucune recommandation de niveau A (efficacité établie) n'est possible à l'heure actuelle. Il est aussi à noter que cette recommandation concerne uniquement la stimulation anodique appliquée sur le cortex moteur primaire. D'autres études sont alors nécessaires afin d'obtenir des résultats plus concluants sur les effets de la stimulation cathodique, ainsi que sur la contribution d'autres régions cérébrales pour valider la tDCS comme un outil thérapeutique efficace en clinique pour le soulagement de la douleur neuropathique.

OBJECTIFS DE LA THÈSE

L'efficacité partielle et insuffisante des médicaments conventionnels pousse la communauté scientifique à rechercher de nouvelles stratégies thérapeutiques pour le soulagement des douleurs neuropathiques. Les données cliniques et précliniques rapportées dans la littérature au cours de ces dernières années suggèrent une efficacité plutôt bénéfique de diverses techniques de neurostimulation, parmi lesquelles notamment la tDCS. La douleur est une expérience multidimensionnelle sous-tendue par l'activation d'un vaste réseau de structures cérébrales. Cependant, la majorité des recherches menées jusqu'à présent visant à étudier l'effet thérapeutique de la tDCS se sont focalisées sur la stimulation du cortex moteur primaire et les données sur la contribution d'autres régions faisant partie de la «*matrice douleur*» restent encore très limitées. Le but principal de ce projet de thèse est donc d'enrichir les connaissances actuelles sur le potentiel thérapeutique de la tDCS dans la prise en charge de la douleur neuropathique en stimulant le cortex frontal chez la souris. Dans l'objectif d'essayer de moduler les composantes sensori-discriminative et affectivo-émotionnelle de la douleur, le choix de la région cible s'est porté sur le cortex frontal en raison de ses connexions réciproques avec le cortex cingulaire antérieur (impliqué dans la composante émotionnelle) et le cortex insulaire postérieur (impliqué dans la composante somatosensorielle de la douleur). Le modèle animal de neuropathie choisi est celui du modèle «*Cuff*» qui se caractérise par la mise en place d'une allodynie mécanique à long-terme (pouvant persister jusqu'à 3 mois) ainsi que par le développement d'un phénotype anxio-dépressif comorbide (à partir de la 4^{ème} semaine post-opératoire). Ce modèle semble ainsi être pertinent pour étudier non seulement les effets de la tDCS sur les troubles sensoriels mais aussi sur les conséquences affectives de la douleur neuropathique. De plus, le décours temporel de la douleur neuropathique dans le modèle «*Cuff*» permet, à l'instar des conditions cliniques, de tester l'efficacité des traitements chroniques et notamment les effets des stimulations répétées.

De manière conventionnelle, la tDCS est utilisée en appliquant un faible courant de polarité anodique ayant comme effet d'induire une augmentation de l'excitabilité neuronale facilitant ainsi la transmission synaptique. Cependant, la douleur chronique résulte d'une sensibilisation périphérique et centrale menant à une hyperexcitabilité spinale et supra-spinale. Il est alors rationnel de supposer qu'une diminution de l'excitabilité neuronale peut conduire à une

réduction de la symptomatologie douloureuse. Afin de tester cette hypothèse, dans ce travail la tDCS a été appliquée en utilisant deux polarités de stimulation: anodique ou cathodique. Ceci permettra de déterminer si la stimulation cathodique, résultant en une inhibition de la transmission synaptique, pourrait présenter un intérêt thérapeutique dans le traitement de la douleur neuropathique.

Afin d'étudier l'importance du moment de la prise en charge de la douleur neuropathique, deux types de protocoles expérimentaux de stimulation tDCS ont été réalisés:

- Approche curative, appelée «**tDCS tardive**» a été réalisée dans le but de tester l'efficacité thérapeutique de la tDCS dans l'atténuation des conséquences émotionnelles associées à la douleur chronique déjà installée: les animaux ont été soumis au protocole de stimulations répétées par la tDCS seulement après la mise en évidence du maintien à long-terme de la neuropathie et le développement des symptômes anxio-dépressifs comorbides (début des stimulations: 10 semaines après la compression du nerf sciatique). Etant donné qu'une prise en charge tardive diminue les chances de réussite de la stratégie de traitement utilisé, la tDCS appliquée à ce délai pourrait avoir aucun effet analgésique mais présenter un effet bénéfique sur les troubles affectifs, ce qui permettrait néanmoins d'améliorer la qualité de vie des patients neuropathiques;
- Approche préventive, appelée «**tDCS précoce**» a été réalisée dans la perspective d'essayer de court-circuiter les mécanismes menant à l'installation à long-terme de la douleur neuropathique et de prévenir ainsi l'émergence des troubles affectifs: les souris ont été soumises au protocole de stimulations répétées par la tDCS à un délai plus proche de la compression nerveuse à l'origine de la douleur neuropathique (début des stimulations: pendant la 3^{ème} semaine post-chirurgie). Les cellules gliales étant parmi les premières cellules à être activées après une lésion nerveuse, une intervention précoce pourrait potentiellement permettre de réguler l'activité gliale dès le stade d'initiation de la douleur neuropathique et contrer ainsi la transition vers un état pathologique chronique. Dans la perspective d'avoir un aperçu de l'effet modulateur potentiel de la

tDCS sur les processus neuro-inflammatoires, cette expérience a été complétée par une approche d'immunohistochimie enzymatique en utilisant les marqueurs astrocytaire GFAP et microglial Iba-1 pour quantifier le nombre de cellules immunopositives pour les différents marqueurs gliaux dans le cortex cingulaire antérieur et le cortex insulaire postérieur.

Tout au long de ces deux protocoles expérimentaux, la sensibilité mécanique des animaux a été testée avant et après la compression du nerf sciatique ainsi qu'après le traitement par la tDCS afin d'évaluer d'une part l'effet de l'implantation du cuff et d'autre part l'effet de la tDCS sur la composante somatosensorielle. Des tests de comportements standardisés ont également été effectués pour se rendre compte d'une éventuelle altération de la composante affectivo-émotionnelle dans le modèle de neuropathie utilisé et de voir si la tDCS est capable d'atténuer les comorbidités affectives associées à cette neuropathie.

Ainsi ce projet de thèse a tenté de répondre aux questions suivantes:

- Est-ce que la tDCS appliquée sur le cortex frontal gauche pourrait présenter un intérêt thérapeutique dans la prise en charge des douleurs neuropathiques?
- Est-ce que la tDCS tardive de polarité cathodique est capable d'atténuer les altérations émotionnelles qui accompagnent les douleurs neuropathiques chroniques?
- Est-ce que la stimulation précoce par la tDCS pourrait présenter un effet analgésique capable de prévenir l'apparition des comorbidités affectives?

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Animaux

Les protocoles expérimentaux utilisés lors de ce projet de thèse ont été validés par le Comité d’Ethique Bisontin en Expérimentation Animale (CEBEA-58; n°d’agrément: A-25-056-2; protocole: n°2015-004-EH-12PR). Toutes les expérimentations ont été réalisées en accord avec la Directive du Conseil Européen du 22 Septembre 2010 (2010/63/UE).

L’ensemble des expériences a été réalisé avec des souris mâles de souche C57BL/6J âgées de 8 semaines à leur réception. Les animaux ont été placés dans des cages d’élevage standards à couvercle filtrant (36.5 x 20.7 x 14cm) et leur environnement a été enrichi avec un bout de papier essuie-tout pour permettre la nidification. Tout au long des procédures expérimentales, les souris ont été hébergées de façon collective (n=5/cage) afin de permettre les interactions sociales (en dehors des périodes de chirurgie et lors de certains tests comportementaux). Les animaux ont été maintenus en cycle jour/nuit normal (12h-12h: lumières allumées à 7h) avec une température constante de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ et une humidité contrôlée à 50-60%. Les souris ont été nourries et abreuvées *ad libitum* (sauf pour les besoins de certains tests comportementaux). Après une semaine d’acclimatation aux conditions d’hébergement, les animaux ont été manipulés une à deux fois par semaine (pesée et identification par marquage sur la queue) afin d’être habitués à l’expérimentateur. Le nombre d’animaux utilisé pour chaque expérimentation sera précisé ultérieurement dans la partie des résultats.

En fonction des expériences, les animaux ont été répartis en plusieurs groupes (**Tableau 1**). Afin d’évaluer les effets de la compression du nerf sciatique sur la sensibilité mécanique et le comportement émotionnel, les souris ont été tout d’abord réparties en deux groupes expérimentaux: la moitié des animaux a subi l’implantation du manchon autour du nerf sciatique (groupe Cuff) et l’autre moitié a été soumise à la même procédure chirurgicale sans que le manchon soit posé autour du nerf (groupe Sham). Après cette répartition initiale, afin d’évaluer les effets de la tDCS sur les différents paramètres comportementaux mesurés, ces deux groupes d’animaux ont davantage été séparés en trois sous-groupes expérimentaux en fonction de la polarité de stimulation, c’est-à-dire des animaux ayant subis des sessions répétées soit de polarité anodique (Sham-Anodale, Cuff-Anodale), soit de polarité cathodique

(Sham-Cathodale, Cuff-Cathodale), ou bien des animaux qui n'ont pas reçu de stimulation (Sham No-stim, Cuff No-stim).

Tableau 1 Répartition des animaux dans les différents groupes expérimentaux en fonction de la chirurgie de compression du nerf sciatique (Sham, Cuff) et de la polarité de stimulation par la tDCS (No-stim, Anodal et Cathodal).

Sham			Cuff		
chirurgie de constriction du nerf sciatique SANS pose du manchon			chirurgie de constriction du nerf sciatique AVEC pose du manchon		
No-stim	Anodal	Cathodal	No-stim	Anodal	Cathodal
implantation de l'embase de l'électrode, SANS stimulation électrique	implantation de l'embase de l'électrode, AVEC stimulation ANODIQUE	implantation de l'embase de l'électrode, AVEC stimulation CATHODIQUE	implantation de l'embase de l'électrode, SANS stimulation électrique	implantation de l'embase de l'électrode, AVEC stimulation ANODIQUE	implantation de l'embase de l'électrode, AVEC stimulation CATHODIQUE

Bien que la totalité des expériences présentées dans ce manuscrit soient réalisées avec des souris de fond génétique C57BL/6J, il faut néanmoins préciser que ces animaux ont été obtenus auprès de deux fournisseurs différents. Ainsi, la première étude portant sur les effets d'une stimulation tardive par la tDCS a utilisé des souris provenant du Janvier Labs qui fournit régulièrement notre laboratoire. Cependant, afin de pouvoir comparer plus directement nos données à celles issues de la littérature, présentant principalement des résultats obtenus avec les souris en provenance de Charles River Laboratories, les animaux inclus dans la deuxième étude visant à évaluer l'efficacité thérapeutique d'une stimulation précoce ont été obtenus auprès du fournisseur Charles River.

2. Stimulation par la tDCS chez la souris

La stimulation par la tDCS chez la souris nécessite la fixation préalable d'une embase (support cylindrique avec diamètre interne de 2.1mm) sur le crâne de l'animal dont le positionnement a été déterminé à l'aide d'un appareil stéréotaxique (BioSeb, Vitrolles, France).

2.1. Chirurgie de la pose d'embase

Après avoir été anesthésiée, la souris a été placée dans un cadre stéréotaxique. Une incision sagittale d'environ 2cm a été réalisée sur la longueur du crâne de l'animal en partant de la région supra-orbitaire (**Fig.22-A**). Une fois le crâne exposé, des cotons-tiges imbibés d'une solution de 0.3% de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 , Fisher Scientific, Leics, Royaume-Uni) ont été utilisés afin d'assécher l'os. Ensuite, une solution contenant 10% d'acide citrique monohydraté ($C_6H_8O_7.H_2O$, Sigma-Aldrich, St-Louis, Etats-Unis) et 3% d'acide chlorure ferrique hexahydraté ($Cl_3Fe.6H_2O$, Acros Organics™, New Jersey, Etats-Unis) a été appliquée pour rendre l'os plus poreux de manière à faciliter la fixation du ciment dentaire (Paladur®, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Allemagne) sur le crâne. Une très petite quantité de colle (Glue gel) a été étalée sur le crâne afin de permettre le maintien de l'embase jusqu'à la fin du protocole expérimental. A l'aide de l'appareil stéréotaxique, le centre de l'embase a été ensuite positionné au-dessus du cortex frontal gauche: +1mm antéropostérieur et +1mm à gauche du Bregma [[Pedron et al., 2014](#)] (**Fig.22-B**). A la fin de la chirurgie, la peau a été suturée autour de l'embase et désinfectée par de la Bétadine® (MEDA Pharma, Mérignac, France) (**Fig.22-C**).

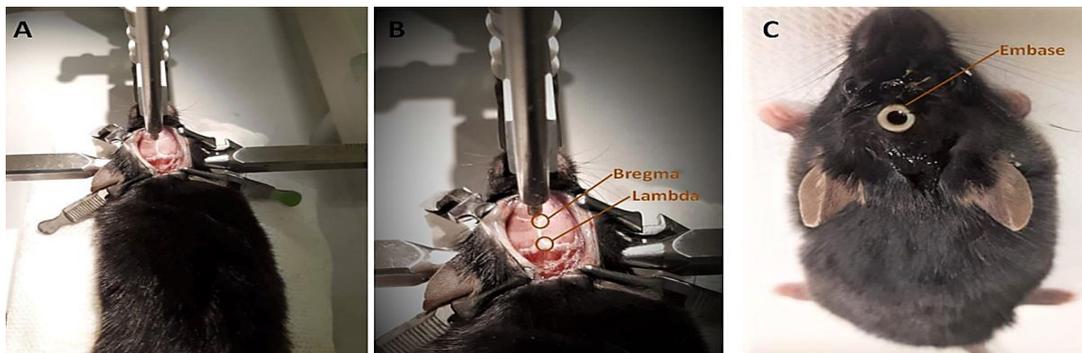


Fig. 22 Chirurgie stéréotaxique de la pose d'embase sur le crâne de la souris. (A) La tête de l'animal a été maintenue immobile pendant la durée de la chirurgie à l'aide des barres d'oreilles. (B) L'embase a été positionnée au niveau de la région frontale gauche en utilisant comme repère visuel la localisation du Bregma. (C) La peau a été suturée afin d'éviter le déplacement et l'arrachement de l'embase.

Après la chirurgie, les souris ont été placées dans leur cage disposée sur un tapis chauffant jusqu'à leur réveil et ensuite remises dans leur salle d'hébergement habituelle pour récupération. Afin d'éviter l'impact de l'isolement social sur le phénotype émotionnel, les animaux n'ont pas été mis en cages individuelles après la chirurgie de la pose d'embase. La

conductance en présence de la colle a été vérifiée sur un groupe d'animaux «tests» (n=5), destinés à être euthanasiés, fournis par le personnel de l'Animalerie centrale pour l'entraînement à la chirurgie de la pose d'embase et qui n'étaient donc pas inclus dans le présent travail.

2.2. Protocole de stimulation par la tDCS

L'animal éveillé a été placé et maintenu immobile dans une boîte de contention pendant la durée de la stimulation (**Fig.23**). Les souris étaient éveillées afin d'éviter une éventuelle interaction entre les effets de la tDCS et les médicaments anesthésiques, comme l'isoflurane. Avant chaque session, l'électrode de stimulation (utilisation de deux polarités de stimulation: anode ou cathode) a été vissée sur l'embase, préalablement remplie du liquide physiologique (NaCl 0.9%, Versol®, Laboratoire Agnettant, Lyon, France) afin de permettre une meilleure conductance du courant électrique, en créant une zone de contact de 3.5mm² avec le crâne. L'électrode de référence a été placée sous le thorax de la souris et du gel conducteur (M.E.I., La Farlède, France) a été déposé au niveau de la zone de contact (9.5cm²). Les embases et les électrodes utilisées pour la tDCS ont été conçues par l'entreprise DIXI Medical (Besançon, France). La manipulation de la souris avant le début de la stimulation prenait en moyenne 2min. Si le courant ne passait pas et il fallait remettre du NaCl 0.9% dans l'embase, cette durée pouvait être prolongée mais en général ne dépassait pas les 4-5min de manipulation.

Les stimulations ont été réalisées en utilisant un stimulateur ayant une application clinique «*DC-stimulator Plus*» (neuroConn GmbH, Ilmenau, Allemagne) et quatre autres générateurs «*Open-tES*» qui ont été adaptés pour la stimulation chez la souris [Pedron et al., 2020]. Les générateurs «*Open-tES*» ont été réglés sur les mêmes paramètres de stimulation que ceux utilisés pour le stimulateur clinique «*DC-stimulator Plus*». De plus, préalablement à leur utilisation dans le présent travail, d'autres collègues du laboratoire ont comparé l'efficacité de ces deux dispositifs sur le comportement apparenté à la dépression chez la souris et ont démontré que les générateurs «*Open-tES*» permettent d'observer les mêmes effets comportementaux que ceux obtenus avec le stimulateur clinique, validant ainsi leur application chez la souris [Pedron et al., 2020].

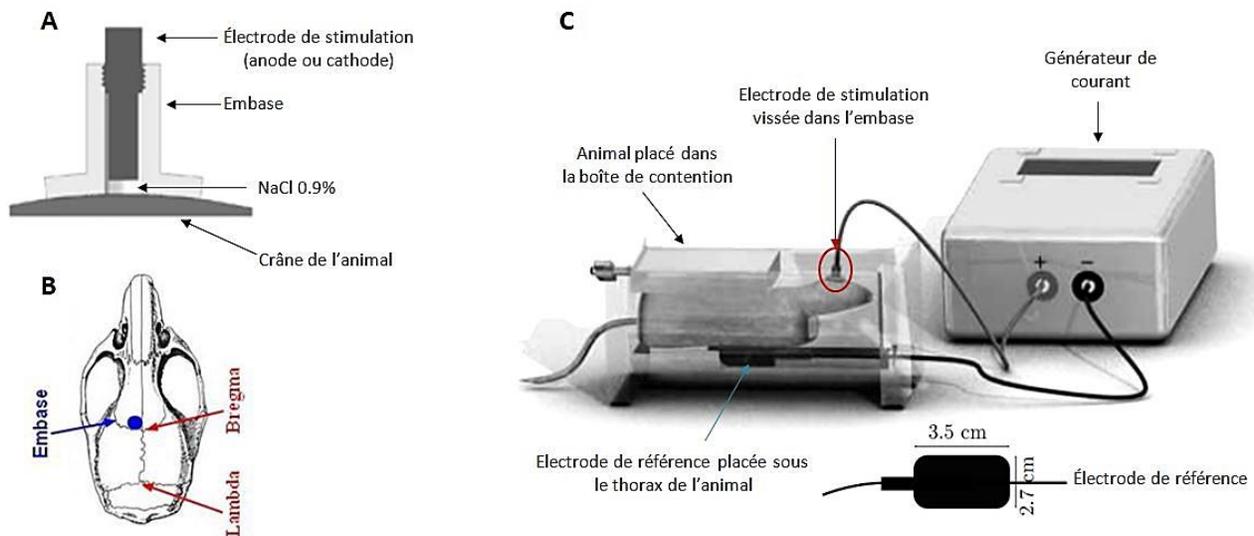


Fig. 23 Stimulation par la tDCS chez la souris. (A, B) Une fois l'embase fixée au niveau du cortex frontal gauche, l'animal éveillé a été placé dans une boîte de contention afin d'être immobilisé pendant la durée de stimulation. (C) L'électrode de stimulation a été vissée dans l'embase préalablement rempli d'une solution saline avant chaque stimulation. L'électrode de référence a été placée sous le thorax de la souris. Le courant a été délivré par un générateur placé à proximité. D'après [Pedron et al., 2014](#).

Les animaux ont subi 10 stimulations (deux sessions de 20min de stimulation anodique ou cathodique par jour, pendant 5 jours consécutifs, avec un intervalle de 4h entre les stimulations) [[Pedron et al., 2014](#); [Van Schuerbeek et al., 2021](#)] (**Tableau 2**). L'intensité a été fixée à 0.2mA (200 μ A) sur un générateur. Le courant a été appliqué avec une montée (*fade-in*: 10s) et une descente (*fade-out*: 10s) progressives afin d'éviter le ressenti de sensations désagréables dues aux variations brusques du courant électrique. Un signal sonore a été émis par les générateurs en cas de forte résistance (>90k Ω) conduisant à leur arrêt automatique. Dans ce cas, afin d'optimiser la conductance et de permettre la délivrance continue du courant électrique, quelques gouttes supplémentaires de NaCl 0.9% ont été déposées sur l'électrode de stimulation. Dans le cas où le courant ne s'établissait pas, la stimulation était arrêtée et du gel conducteur a été déposé sur l'électrode de stimulation avant d'être à nouveau vissée sur l'embase et la stimulation était relancée. Les animaux témoins No-stim (non stimulés) ont été soumis à la même procédure (anesthésie, chirurgie, pose d'embase, boîte de contention, électrode vissée dans l'embase), sans que le courant soit délivré.

	Paramètres de stimulation	
	Sham	Cuff
Groupe No-stim	Courant non délivré 20min x 2/jour 5 jours consécutifs Total:10 sessions	Courant non délivré 20min x 2/jour 5 jours consécutifs Total:10 sessions
Groupe Anodale	Polarité anodique Intensité: 200µA 20min x 2/jour 5 jours consécutifs Total:10 sessions	Polarité anodique Intensité: 200µA 20min x 2/jour 5 jours consécutifs Total:10 sessions
Groupe Cathodale	Polarité cathodique Intensité: 200µA 20min x 2/jour 5 jours consécutifs Total:10 sessions	Polarité cathodique Intensité: 200µA 20min x 2/jour 5 jours consécutifs Total:10 sessions

Tableau 2 Paramètres de stimulation utilisés pour la stimulation tDCS. Dans notre approche expérimentale, deux polarités de stimulation ont été testées: une partie des animaux a reçu une stimulation de polarité anodique (Sham-Anodale, Cuff-Anodale), tandis que l'autre partie a été soumise à une stimulation de polarité cathodique (Sham-Cathodale, Cuff-Cathodale). Les animaux stimulés ont reçu 2 sessions de 20min par jour pendant 5 jours consécutifs pour arriver au final à 10 sessions. L'intensité de stimulation a été fixée à 200µA. Les animaux témoins ont été soumis au même protocole, sans que le courant soit délivré.

3. Modèle de douleur neuropathique chronique

Une préparation expérimentale basée sur les travaux de Benbouzid et collègues [Benbouzid et al., 2008a] a été mise en œuvre au sein de notre laboratoire dans le but de modéliser chez la souris la douleur chronique d'origine neuropathique. La compression du nerf sciatique a été réalisée en se basant sur la procédure décrite par Yalcin et collaborateurs [Yalcin et al., 2014b]. Brièvement, le principe repose sur l'apposition d'un manchon en polyéthylène (*cuff*: tube polyéthylène PE-20, 2mm de long, diamètre interne de 0.38mm, diamètre externe de 1.09mm; Harvard apparatus, Courtabœuf, France), unilatéralement autour de la branche principale du nerf sciatique de la patte postérieure droite de l'animal. Les animaux ont été anesthésiés par voie intra-péritonéale (i.p.) avec un mélange de kétamine 80mg/kg (Clorkétam®1000, Vétoquinol SA, Lure, France) et xylazine 12 mg/kg (Rompun®, Bayer SAS, La Garenne-Colombes, France) dilués dans une solution injectable du Chlorure de Sodium NaCl 0.9% (Coopération pharmaceutique française, Melun, France). Une fois l'animal endormi, du gel ophtalmique (Lacryvisc®, Alcon®, Rueil-Malmaison, France) a été appliqué sur les yeux afin d'éviter leur dessèchement durant la chirurgie. Le pelage sur la patte arrière droite de l'animal a été enlevé avec une tondeuse électrique et la zone désinfectée avec un coton-tige imbibé d'alcool à 70%. Une incision d'environ 1cm parallèle au fémur a été réalisée. A l'aide de deux cure-dents préalablement stérilisés, les muscles extenseurs et fléchisseurs à l'hauteur de la mi-cuisse ont été écartés afin de repérer le nerf sciatique (Fig.24-A). Une fois le nerf repéré, il a été isolé et

hydraté avec du sérum physiologique NaCl 0.9% (**Fig.24-B**). Le nerf sciatique a été maintenu avec les cure-dents afin de poser le manchon en polyéthylène autour de la branche principale (**Fig.24-C.1 et C.2**) à l'aide des clamps bulldog à pointes fines (14118, World Precision Instruments, Floride, Etats-Unis). Le manchon a été refermé en exerçant une légère pression sur ses deux extrémités avec une pince chirurgicale. Le nerf a été ensuite remis en place et la peau refermée par 2 points de suture. De la Bétadine® a été appliquée sur la peau suturée pour éviter le risque d'une infection. Les souris du groupe contrôle «*Sham*» ont subi la même procédure chirurgicale, sans insérer le manchon autour du nerf sciatique. A la fin de la chirurgie, les animaux ont été placés dans des cages d'élevage propres, disposées sur un tapis chauffant. Ils ont ensuite été remis dans la salle d'hébergement après leur réveil total. Les animaux ayant subi la compression du nerf sciatique (animaux Cuff) et ceux qui n'ont pas eu l'implantation du manchon (animaux contrôles Sham) ont été hébergés dans des cages séparées.

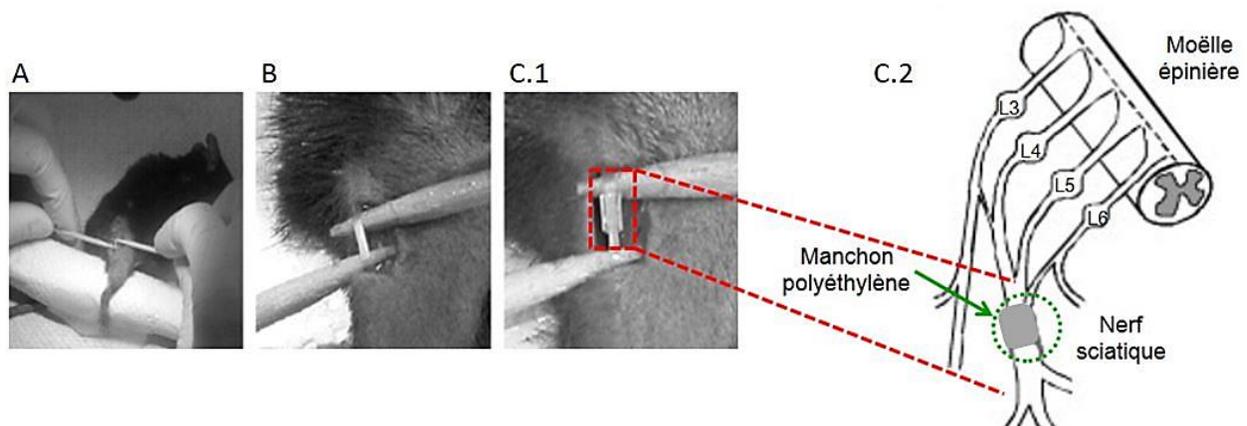


Fig. 24 Modèle murin de douleur neuropathique chronique: le modèle du «*Cuff*». Procédure chirurgicale de la compression du nerf sciatique de la patte arrière droite chez la souris. Après avoir écarté les muscles de la cuisse, la branche principale du nerf sciatique a été repérée (**A**) et mise en évidence à l'aide des cure-dents stérilisés (**B**) afin de pouvoir y placer tout autour un manchon en polyéthylène (**C.1, C.2**). D'après [Benbouzid et al., 2008a](#).

4. Evaluation comportementale

Les souris ont été soumises à une série de tests visant à évaluer les conséquences somatosensorielle et émotionnelle de la douleur neuropathique ainsi que le potentiel de la tDCS à moduler ces réponses comportementales.

Le jour du test, les cages d'hébergement des animaux ont été placées pendant 30min dans une pièce expérimentale calme pour qu'ils puissent s'acclimater à ce nouvel environnement afin de diminuer ainsi l'influence des facteurs externes de stress (intensité lumineuse, odeurs et bruits non familiers) sur le comportement exploratoire basal des rongeurs. Toutes les expériences comportementales ont été réalisées à des jours séparés, pendant la phase lumineuse du cycle circadien entre 8h00 et 16h00 dans des salles dédiées à cet effet, en présence de lumière tamisée dont l'intensité a été ajustée pour chaque test afin d'éviter un état de stress supplémentaire chez les animaux. Tous les équipements ont été nettoyés entre chaque souris à l'eau distillée et une solution d'éthanol à 70° pour éviter toute odeur pouvant perturber le comportement de la souris suivante. Le comportement des animaux a été surveillé et enregistré via une caméra vidéo afin d'être analysé ultérieurement.

4.1. Etude de la composante somatosensorielle:

Evaluation de l'allodynie mécanique

D'origine clinique, le test de von Frey est également utilisé chez le rongeur afin de déterminer la réponse nociceptive aux stimuli mécaniques. Ce test est basé sur le principe qu'un filament en plastique changera de forme en réponse à une pression exercée sur la face interne de la patte de la souris. La force de cette pression est déterminée en fonction de la longueur et le diamètre du filament. Dans le présent travail, le seuil de sensibilité à la stimulation mécanique des animaux a été évalué manuellement en utilisant un jeu de monofilaments de nylon (Aesthesio®, Bioseb, Vitrolles, France) (**Fig.25-A**) d'une longueur constante de 5cm mais de différents diamètres, permettant ainsi d'avoir une gamme de force variable située entre un minimum de 0.008 grammes (g) et un maximum de 300g. Chez la souris, les filaments les plus souvent utilisés sont représentés dans le **Tableau 3** ci-dessous:

Diamètre (mm)	Force exercée en grammes (g)	Force exercée en milliNewtons (mN)
3.22	0.16	1.6
3.61	0.40	3.9
3.84	0.60	5.9
4.08	1.0	9.8
4.17	1.4	13.7
4.31	2.0	19.6
4.56	4.0	39.2
4.74	6.0	58.8
4.93	8.0	78.4
5.07	10	98.0
5.18	15	147

Tableau 3 Liste des filaments de von Frey les plus souvent utilisés chez la souris pour déterminer le seuil nociceptif mécanique. Chaque filament permet d'exercer une force constante, exprimée en grammes (g) ou en milliNewtons (mN), qui est prédéterminée en fonction du diamètre (mm) du filament. Données tirées du site du fabricant Ugo Basile®.

La réalisation de ce test est basée sur le protocole précédemment décrit par Yalcin et collègues [Yalcin *et al.*, 2014b]. Le jour du test, afin de permettre l'habituation au dispositif, l'animal a été placé pendant 15min dans une boîte de contention en Plexiglas (7 x 9 x 7cm) disposée sur une grille métallique surélevée (Fig.25-B). Après ce délai, chaque filament de nylon a été successivement appliqué (pendant 2-5s) perpendiculairement à la surface plantaire (Fig.25-C), tout d'abord de la patte arrière gauche (controlatérale à la lésion, non opérée) et ensuite de la patte arrière droite (ipsilatérale à la lésion, opérée) de la souris, jusqu'à ce qu'il se plie, ce qui permet d'exercer une pression calibrée délivrant une force constante prédéterminée. Le temps requis pour l'évaluation des deux pattes arrière était d'environ 5min, mais ce temps pouvait varier en fonction de l'activité et la sensibilité au stimulus mécanique de la souris. En effet, si l'animal était engagé dans une activité de miction ou présentait un comportement de toilettage, il fallait attendre l'arrêt de cette activité afin d'appliquer le filament.

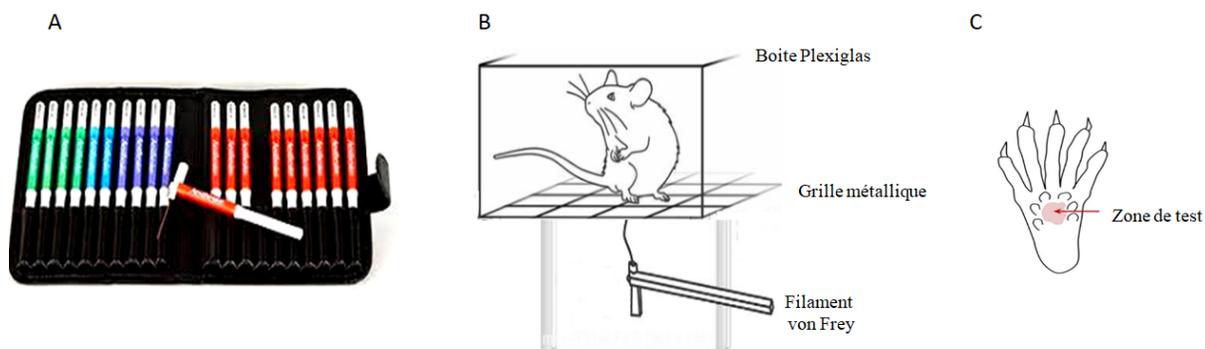


Fig. 25 Evaluation de l'allodynie mécanique par le test des filaments de von Frey. (A) Set de monofilaments utilisés pour le von Frey manuel. (B) La souris est placée dans une boîte de contention se trouvant sur une grille métallique surélevée. (C) Les filaments de von Frey sont appliqués dans un ordre de force croissante sur la surface plantaire de la patte postérieure droite de l'animal. Adapté d'après [Deuis et al., 2017](#).

La détermination du seuil nociceptif mécanique a été réalisée selon l'approche méthodologique dite de «*stimulus ascendant*» [[Deuis et al., 2017](#)]. Ainsi, la présentation des filaments a été faite dans un ordre de force croissante en commençant par le filament de plus faible diamètre, et donc de plus faible force. Avant la compression du nerf sciatique le filament de plus faible diamètre utilisé était celui de 1.4g, tandis qu'après la chirurgie l'application commençait par le filament de 0.4g. En cas d'une réponse positive (+) de l'une des pattes au moment du premier filament testé, un autre filament d'une force immédiatement inférieure (se référer au [Tableau 3](#)) a été utilisé. Si aucune réponse positive n'a été détectée (0) au moment d'application du premier filament, le filament suivant de force immédiatement supérieure a été utilisé. En cas de doute, un même filament a été retesté dans un intervalle d'une minute. Les réponses nociceptives suivantes ont été recherchées pour chaque animal: retrait brusque, tremblement ou léchage de la patte testée, garde de la patte arrière en position élevée soit pendant l'application du stimulus soit immédiatement après le retrait du filament. Chaque filament a été appliqué à 5 reprises par patte ([Fig.26](#)). Il fallait comptabiliser au moins trois réponses positives sur les 5 applications réalisées afin de conclure sur la valeur en grammes nécessaire pour induire une réponse douloureuse minimale. Chaque animal a été testé jusqu'à ce que deux filaments consécutifs conduisent à une réponse nociceptive. La valeur du filament de moindre force a alors été prise en compte comme étant le seuil de retrait mécanique de l'animal.

0: absence de réponse nociceptive
+: présence de réponse nociceptive

filament par ordre croissant de force

Application	0,4g		0,6g		1g		1,4g		2g		4g		6g		
	G	D	G	D	G	D	G	D	G	D	G	D	G	D	
Souris x	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	+
	2	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+	+	+	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+	+	0	+
	5	0	0	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+

↑ souris testé ↑ nombre d'application par filament ↑ patte gauche ↑ patte droite

↑ Seuil nociceptif de la patte droite ↑ Seuil nociceptif de la patte gauche Confirmation du seuil nociceptif

Fig. 26 Exemple de représentation visuelle des résultats obtenus lors du test de von Frey. Le test a commencé par l'évaluation de la sensibilité mécanique de la souris en réponse au filament de plus faible force (dans l'exemple présenté ici, c'est le filament de 0.4g). Si aucune réponse n'a été observée (noté: 0), le filament suivant de force supérieur a été testé (ici, c'est le filament de 0.6g). Chaque filament a été appliqué à 5 reprises. Si un filament donné induisait au moins trois réponses nociceptives positives (noté: +) sur les cinq applications réalisées, c'est la valeur de force, exprimée en grammes (g), qui a été désignée comme le seuil de retrait mécanique. Dans l'exemple présenté ici, c'est le filament de 2g qui conduit à 3 réponses positives, donc le seuil nociceptif de la patte postérieure droite est égal à 2g. Pour la patte arrière gauche, c'est le filament de 4g qui provoque 4 réponses nociceptives positives, donc le seuil nociceptif correspond à 4g. Le filament de 6g a été testé afin de confirmer les seuils déterminés précédemment pour chacune des pattes. G: patte postérieure gauche; D: patte postérieure droite.

4.2. Activité locomotrice

Le dispositif utilisé est un champ ouvert représentant une enceinte carrée opaque (40 x 40 x 40cm) [Galliot et al., 2012]. Chaque souris a été individuellement placée au centre de l'arène et la distance totale parcourue a été enregistrée pendant 5min par une caméra située au-dessus du dispositif. Les données numériques ont été récupérées sous format d'un fichier Excel à l'aide du logiciel de tracking ViewPoint 3.10 (ViewPoint Behavior Technology, Lyon, France).

4.3. Tests évaluant le comportement apparenté à l'anxiété

Plusieurs tests, qui consistent à explorer le comportement de type approche/évitement face à un danger potentiel, permettent d'évaluer le phénotype apparenté à l'anxiété chez les rongeurs. Les facteurs anxiogéniques et les paramètres mesurés varient selon les tests. Les différents tests qui seront décrits dans ce manuscrit sont basés sur des aversions innées des animaux et ne nécessitent donc pas de phase de conditionnement.

4.3.1. Le test de champ ouvert

(OF: Open-field test)

Le dispositif est le même que celui utilisé pour évaluer l'activité ambulatoire des animaux (voir point 4.2). L'arène est fortement éclairée en son centre (70lux) et est virtuellement subdivisée en 2 zones: une centrale (34cm) et une périphérique (3cm) (Fig.27). La zone périphérique est moins intensément éclairée. Les souris ont été individuellement placées au centre de l'arène et leur comportement exploratoire enregistré pendant 5min. Les fichiers vidéo et les données numériques ont été simultanément recueillis par le logiciel ViewPoint. Dans l'OF, deux facteurs permettent le déclenchement d'un comportement de type anxieux: le premier est lié à l'isolement social résultant de la séparation physique de l'animal de ses congénères pendant la durée du test, et le second est basé sur le stress provoqué par l'exposition de l'animal à un nouvel environnement non protégé et fortement éclairé (ici, le centre de l'arène). Le paradigme d'approche/évitement utilisé dans ce test révèle chez les rongeurs le comportement dit de «*thigmotactisme*», à savoir de rester près des parois de l'enceinte afin d'essayer de trouver un abri [Bourin et al., 2007]. En général, moins un animal explorera le centre de l'arène, zone la plus anxiogène, plus il est considéré comme présentant un comportement de type anxieux. Ainsi, le paramètre principal mesuré, qui a été utilisé comme un indice d'anxiété, est le temps total passé par les souris dans la zone centrale du dispositif.

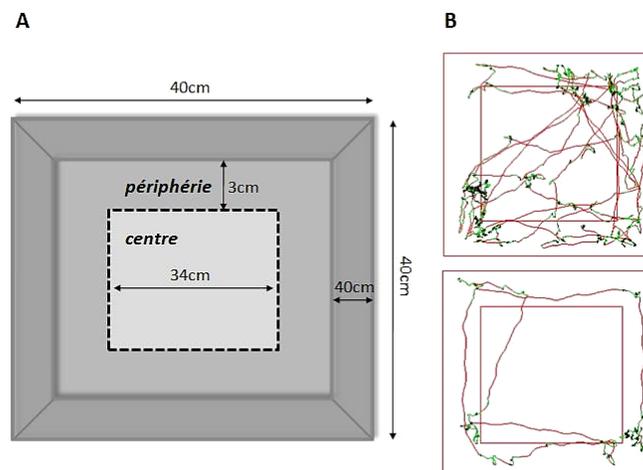


Fig. 27 Dispositif utilisé pour le test de l'OF. (A) L'enceinte carrée a été virtuellement subdivisée en 2 zones: une périphérique et une centrale (anxiogène). (B) Exemples de tracés de trajectoire obtenus lors de la durée du test.

4.3.2. Le test de la boîte claire/obscur

(LDB: Light-Dark box)

Le dispositif est le même que celui utilisé pour le test de l'OF. L'enceinte est divisée en deux compartiments: l'un qui est fortement éclairé (~120-130lux) et donc anxiogène, et l'autre relativement sombre (~20lux) et plutôt rassurant pour les animaux (Fig.28). L'ensemble du dispositif est placé sur une plateforme capable de refléter le rayonnement infrarouge. La partie sombre est couverte d'un verre rouge en acrylique laissant également passer les rayons infrarouges, rendant ainsi possible le suivi de la trajectoire de l'animal pendant le test même dans le compartiment plus faiblement éclairé. Les deux parties du dispositif sont reliés par une petite ouverture permettant le passage libre de l'animal d'un côté à l'autre de l'enceinte. Au début du test, chaque animal a été placé dans le compartiment sombre, avec la tête face à l'ouverture, et son comportement exploratoire dans l'ensemble du dispositif a été enregistré pendant 10min via le logiciel ViewPoint. Le temps passé et la latence d'entrée dans le compartiment fortement éclairé ont été mesurés. Une entrée était considérée valide lorsque les quatre pattes de l'animal étaient à l'intérieur du compartiment éclairé.

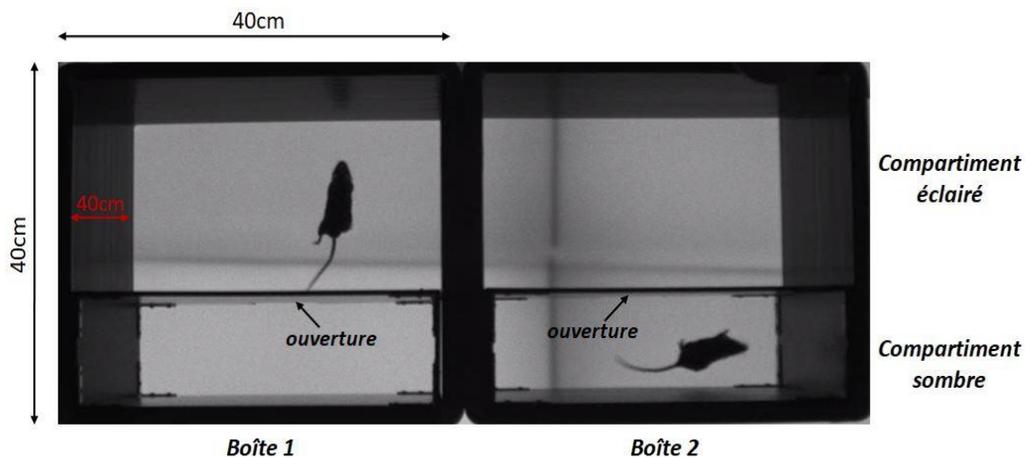


Fig. 28 Dispositif utilisé pour le test de LDB. L'animal placé au sein du dispositif est capable d'explorer librement les deux compartiments: l'un qui est fortement éclairé et l'autre qui est relativement sombre. Les deux parties du dispositif sont reliées par une petite ouverture permettant le libre passage de l'animal d'un compartiment à un autre. Image tirée des enregistrements vidéo réalisés pendant le test.

4.4. Test prédictif d'un phénotype anxio-dépressif: Le test de consommation supprimée par la nouveauté (NSF: Novelty-Suppressed Feeding)

Le NSF est utilisé pour évaluer les comportements apparentés à l'état dépressif et anxieux chez le rongeur [Samuels et Hen, 2011]. Dans ce travail de thèse, le NSF a été réalisé uniquement après la stimulation par la tDCS, étant donné que le principe du test est basé sur l'aspect nouveauté et que les rongeurs peuvent présenter un comportement d'habituation à ce test lors de sa répétition. Une enceinte cylindrique opaque (diamètre interne: 40cm; hauteur: 48cm), ne contenant pas de sciure et éclairée en son centre (40lux) a été utilisée pour le test de NSF. Un cercle blanc de papier-filtre (Whatman, diamètre: 10cm) a été placé au centre du dispositif sur lequel deux granulés habituels (nourriture familière), ont été déposés (Fig.29). Les souris ont été soumises à une restriction alimentaire de 24h avant le début du test en retirant la nourriture de leur cage d'hébergement et en changeant la litière afin d'éviter qu'il y ait des miettes restantes (l'eau de boisson reste toujours à disposition). Le protocole ainsi conçu permet de créer une situation de conflit interne pour l'animal puisqu'il est partagé entre la motivation à se diriger vers la source de nourriture familière afin de s'alimenter et la peur d'explorer un environnement nouveau qui est anxiogène et potentiellement dangereux (le centre éclairé de l'enceinte) [Samuels et Hen, 2011]. Préalablement au test, chaque animal a été pesé afin d'estimer la perte de poids due à la privation de nourriture. Le jour du test, la souris a été placée au sein de l'enceinte, tête face à la paroi et son comportement enregistré grâce à une caméra fixée au-dessus du dispositif. La latence mise par l'animal à initier la première consommation de nourriture a été enregistrée pendant une durée maximale de 15min et utilisée comme un indice du phénotype anxio-dépressif. Pour cela, la souris devait manifestement mordre une croquette en utilisant ses pattes avant [David et al., 2007]. L'animal était retiré du dispositif dès le 1^{er} grignotage et l'enregistrement arrêté. Si au bout de 15min la souris n'avait rien consommé, le test était arrêté et un score de 900s de latence était noté. A la fin du test, l'animal a été replacé dans sa cage habituelle pendant 5min en présence d'une quantité de nourriture connue. La consommation durant les 5min ainsi que son poids corporel à la fin du test ont été mesurés.

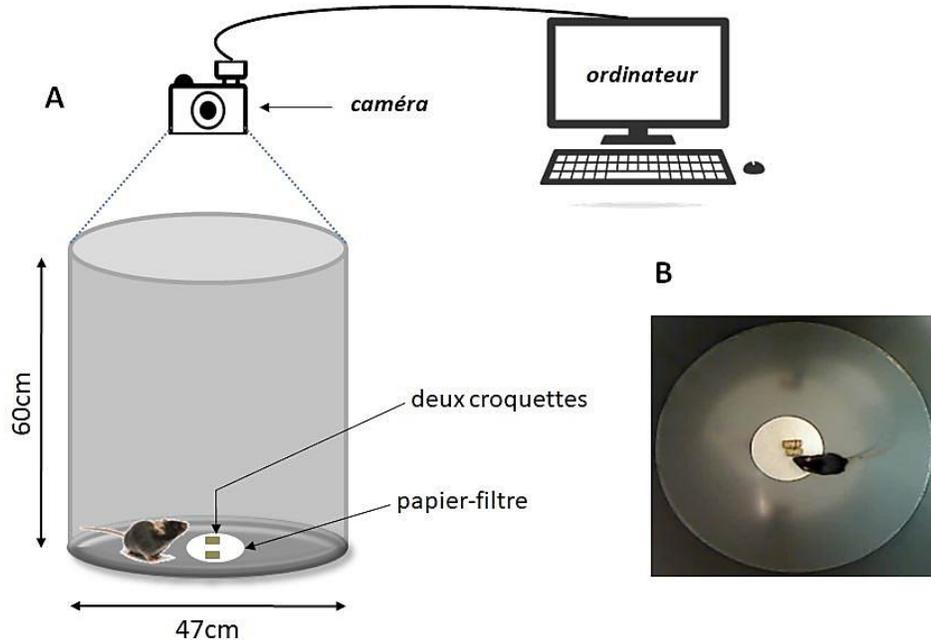


Fig. 29 Dispositif utilisé pour le test de NSF. (A) L'animal, mis en restriction alimentaire de 24h préalablement au test, est placé au sein du dispositif au centre (zone anxiogène) duquel deux croquettes (nourriture familière) sont mises à sa disposition. Le comportement de la souris est enregistré par une vidéo caméra, positionnée au-dessus de l'enceinte, qui est reliée à un ordinateur. (B) Observation du comportement de la souris pendant la durée du test. Image tirée des enregistrements vidéo réalisés pendant le test.

4.5. Tests évaluant le comportement apparenté à la dépression

Les tests qui seront présentés dans la section qui suit abordent différents aspects du comportement dépressif.

4.5.1. Le Splash test évaluant le comportement auto-centré de toilettage

Chez les rongeurs, le toilettage est un comportement éthologique complexe qui pourrait être modifié par le stress, le niveau d'anxiété et de dépression ressenti [Smolinsky et al., 2009]. L'évaluation du comportement de toilettage permet de mesurer le degré de motivation de l'animal pour des activités dirigées vers soi [Nollet et al., 2013] qui sont souvent altérées chez des patients dépressifs présentant alors une négligence de l'hygiène corporelle [Stewart et al., 2022]. Dans le test de Splash, le comportement de toilettage est provoqué par la pulvérisation sur le pelage dorsal, à proximité de la base de la queue de l'animal, d'une solution de sucrose concentrée à 10% [Nollet et al., 2013] (Fig.30). Le test a eu lieu dans une salle expérimentale

faiblement éclairée (30lux). Chaque souris a reçu deux pulvérisations et a été ensuite placée dans une cage individuelle (26.8 x 21.5 x 14.1cm) remplie de sciure, en absence d'eau et de nourriture. La latence du premier toilettage ainsi que la durée totale de toilettage (indicatifs du comportement auto-centré et du degré de motivation de l'animal) ont été comptabilisées manuellement à l'aide d'un chronomètre pendant 5min. Le comportement des animaux a été enregistré via une caméra placée en face de la cage expérimentale. Entre chaque passage, la litière a été changée afin d'éviter les odeurs interférentes entre les différents groupes d'animaux.

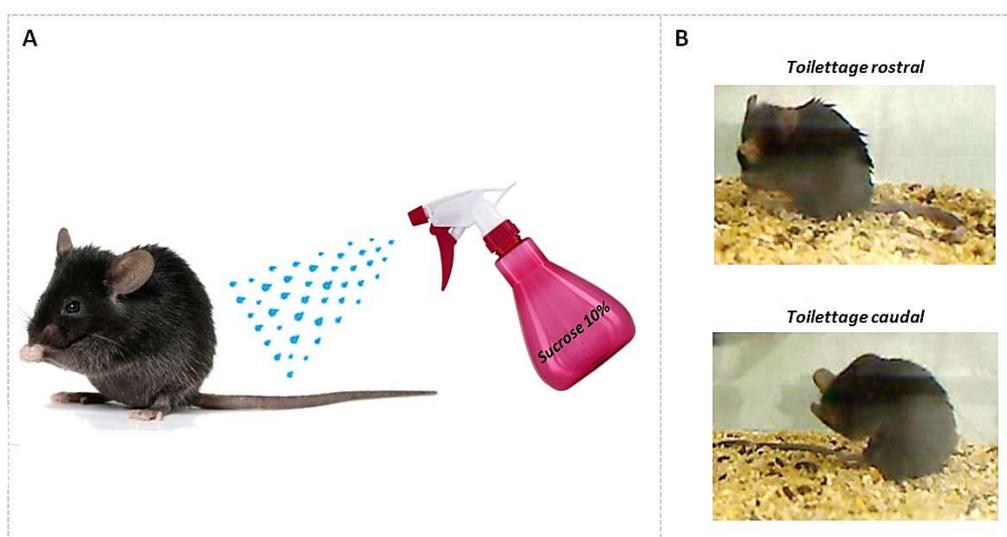


Fig. 30 Evaluation de l'activité de toilettage dans le test de Splash. (A) Chaque souris reçoit deux pulvérisations d'une solution de sucrose à 10% au niveau de la base de la queue. Son comportement de toilettage est ensuite observé pendant la durée du test (5min). (B) Exemples de comportements observés pendant le test: toilettage rostral au niveau du museau ou toilettage caudal au niveau du pelage dorsal. Images tirées des enregistrements vidéo réalisés pendant le test.

4.5.2. Test évaluant le comportement d'anhédonie:

Le test de préférence au sucrose (SPT: Sucrose Preference Test)

D'une manière générale, dans le test de préférence au sucrose, les animaux présentant un phénotype dépressif montrent une baisse de leur consommation en sucrose par rapport aux souris contrôles, ce qui indique une diminution de la sensibilité du système de récompense se caractérisant par un comportement anhédonique [Serchov et al., 2016]. Deux concentrations de sucrose (2.5% ou 1.5%) ont été testées dans deux cohortes différentes. Le SPT a été réalisé

pendant 3 nuits successives. Durant la première nuit dite de «*consommation forcée*», les souris ont été maintenues dans leur cage d'hébergement collective et leur eau de boisson habituelle a été remplacée par une solution de sucrose. Cette première phase permet d'habituer les animaux à l'eau sucrée et d'éviter ainsi un comportement de néophobie alimentaire (refus ou peur de consommer des nourritures ou boissons nouvelles) le jour du test. Les deux nuits suivantes, les souris ont été séparées dans des cages individuelles en absence de nourriture et en présence de deux biberons identiques qui ont été mis à leur disposition: l'un avec de l'eau de boisson habituelle et l'autre avec la solution de sucrose. Cette deuxième phase permet de reproduire le paradigme de libre choix entre les deux biberons. Entre chaque nuit, l'emplacement des biberons a été inversé pour éviter les effets d'habituation de côté et donc ne pas avoir un biais de latéralité qui pourrait influencer les résultats (Fig.31). A la fin de chaque nuit expérimentale, les souris ont été replacées dans leur cage collective avec de la nourriture et de l'eau *ad libitum*. Au début et à la fin de chaque nuit, les biberons ont été pesés individuellement afin de déterminer la quantité de boisson consommée par chaque souris. La préférence au sucrose a été calculée comme il s'en suit:

$$\text{Pourcentage de préférence (\%)} = \frac{\text{Volume de sucrose consommée (g)}}{\text{Volume total de liquide consommée (g)}} * 100$$

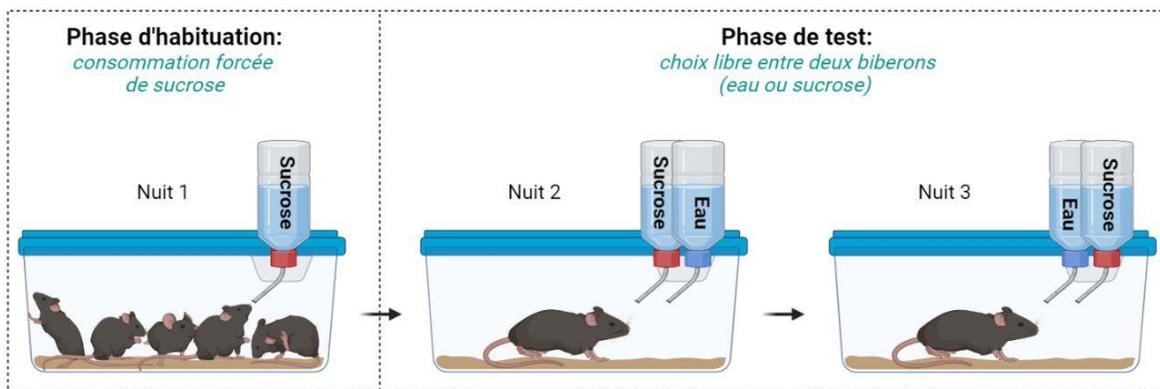


Fig. 31 Evaluation du comportement anhédonique vis-à-vis d'une solution sucrée. Après une première nuit d'habituation à la solution sucrée, les souris ont été placées dans des cages individuelles où elles avaient le choix entre deux biberons: un biberon rempli d'eau et un autre avec de l'eau sucrée. L'emplacement des biberons a été inversé entre chaque nuit de test. Réalisé avec BioRender®

4.5.3. Test évaluant le comportement de résignation:

Le test de la nage forcée (FST: Forced Swimming Test)

La procédure utilisée est celle décrite par Porsolt permettant d'évaluer un comportement pseudo-dépressif chez les rongeurs [Porsolt et al., 1978]. Les conditions expérimentales mises en œuvre pour la réalisation du FST consistent à soumettre l'animal face à une situation de stress dont la possibilité d'échappement est rendue impossible, ce qui au fur et à mesure conduit à un comportement de résignation (l'un des critères de diagnostic des troubles dépressifs). En effet, au bout d'un certain temps l'animal cesse progressivement toute tentative d'échappement en réduisant ses mouvements pour finalement s'immobiliser, reflétant ainsi un état interprété comme homologue au désespoir. Pour ce test, chaque souris a été individuellement placée dans un cylindre en verre (diamètre et hauteur: 18cm et 27cm, respectivement), rempli d'eau du robinet à une température de 23°-25°C (Fig.32). La salle expérimentale a été éclairée d'une lampe halogène afin d'obtenir une luminosité faible d'environ 30lux. Le dispositif utilisé était suffisamment profond (profondeur: 18cm) pour ne pas permettre à l'animal de poser ni ses pattes arrière ni sa queue au fond du récipient. Le comportement de la souris a été enregistré pendant une durée de 6min par une caméra située sur le côté du cylindre. Les paramètres, tels que la latence de première immobilisation ainsi que la durée d'immobilité (flottement passif ne permettant d'effectuer que des mouvements nécessaires au maintien de la tête hors de l'eau) ont été comptabilisés manuellement [Crupi et al., 2011]. A la fin du test, la souris a été retirée de l'eau et placée dans une cage identique à sa cage habituelle qui a été positionnée sur un tapis chauffant afin d'éviter à l'animal le risque d'une hypothermie. Une fois le pelage de la souris devenu sec, elle a été replacée dans sa cage d'hébergement collective. L'eau du cylindre a été changée entre chaque animal. Etant donné qu'une forte activité de nage est généralement observée pendant les deux premières minutes du test, où l'animal essaie de trouver coûte que coûte une échappatoire, la durée d'immobilité a été quantifiée au cours des 4 dernières minutes du test [Yalcin et al., 2011].

FST: Forced Swimming Test
 Evaluation du comportement de résignation

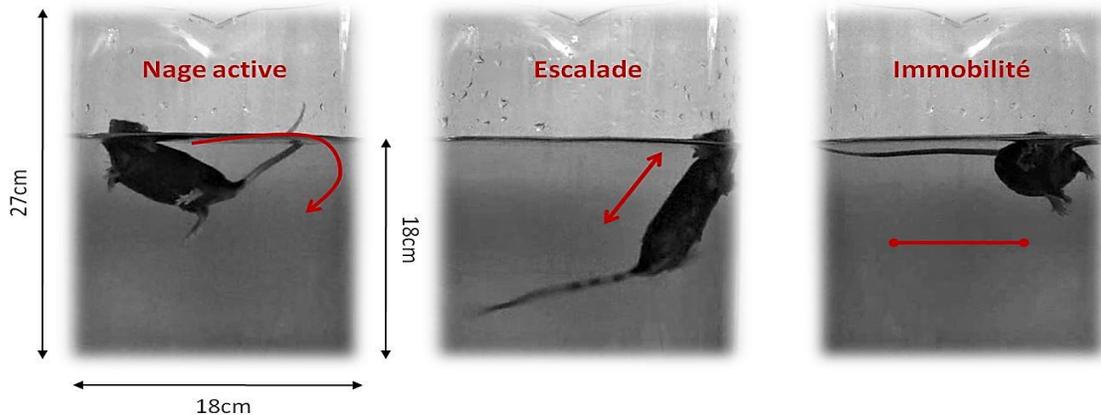


Fig. 32 Evaluation du comportement de résignation par le test de FST. Chaque souris est placée dans un cylindre en verre rempli d'eau à 23-25°C. Face à une situation de stress dont l'échappement est impossible, l'animal adopte différentes stratégies: soit il présente un comportement de nage active, soit il essaie d'échapper en escaladant les parois du cylindre en verre, soit il s'immobilise. Le comportement d'immobilité permet notamment de rendre compte de l'état de désespoir de l'animal. Images tirées des enregistrements vidéo réalisés pendant le test.

4.6. Test évaluant le degré de motivation vis-à-vis d'une récompense alimentaire: Le test de Ratio Progressif (PR: Progressive Ratio test)

Un protocole de comportement opérant dans des cages de Skinner (Med associates Inc, Hertfordshire, Angleterre) a été développé afin de réaliser le test de Ratio Progressif [Cabeza et al., 2021] (Fig.33). Ce test a été réalisé dans une cohorte séparée de souris.

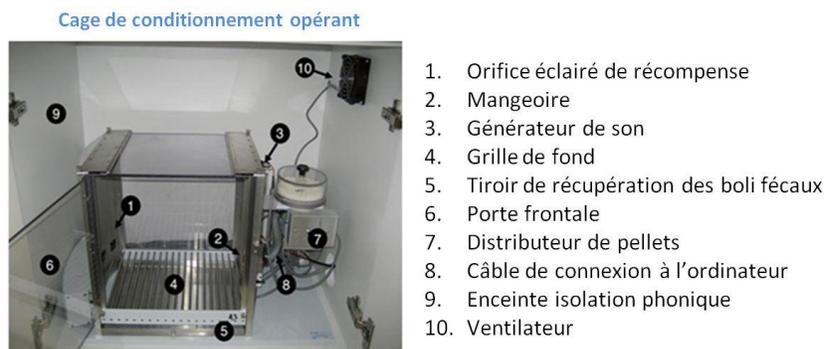


Fig. 33 Représentation d'une cage de conditionnement opérant utilisée pour le test de Ratio Progressif. Chaque animal a été individuellement placé dans une cage où il devait apprendre la tâche associative consistant à introduire le museau dans un orifice éclairé (1) afin d'obtenir la récompense alimentaire délivrée dans la mangeoire (2) située du côté opposé.

Une semaine avant le début de la procédure expérimentale et jusqu'à la fin de celle-ci, les animaux ont été soumis à une restriction alimentaire partielle permettant de maintenir leur masse corporelle à 80%-90% de leur poids de référence. Avant de procéder à la réalisation du test proprement dit, les souris ont été tout d'abord soumises à une phase d'habituation suivie d'une phase d'apprentissage (Fixed Ratio-1 = **FR-1**; Fixed Ratio-5 = **FR-5**) (**Fig.34**).

- **Phase d'habituation**: Les animaux ont été habitués au dispositif expérimental pendant 3 jours consécutifs. Ils ont été placés individuellement dans la chambre opérante pour une durée de 10min. Pendant ce temps, les souris pouvaient explorer librement une mangeoire vide éclairée par une lumière ainsi que deux orifices identiques non éclairés disposés du côté opposé à la mangeoire. Au troisième jour de passage, un pellet de nourriture (Dustless Precision Pellets® Grain-Based Diet, *PHYMEP s.a.r.l.*, Paris, France) était mis à disposition des animaux au sein de la mangeoire;
- **Phase d'apprentissage de FR-1 et FR-5**: La phase d'habituation a été suivie d'une première phase d'apprentissage dite de «*Ratio Fixe-1*» où les animaux devaient réaliser un effort minime pour obtenir de la nourriture (récompense alimentaire). L'animal devait introduire une seule fois son museau (*nose-poke*) dans un orifice éclairé, désigné comme actif, déclenchant la délivrance d'un pellet dans la mangeoire. Le choix des orifices actifs et inactifs a été fait d'une manière aléatoire pour chaque souris lorsque celle-ci ne présentait pas de préférence spatiale lors de la phase d'habituation. Lorsqu'un animal démontrait une préférence spatiale pour un orifice donné (deux fois plus de visites d'un orifice par rapport à un autre), l'ordre d'orifice actif et inactif était inversé par l'expérimentateur. Chaque introduction du museau dans un orifice actif (réponse correcte) ou inactif (réponse incorrecte) était suivie d'un temps mort de 5s, donnant ainsi la possibilité à la souris d'aller consommer la nourriture au sein de la mangeoire. Si pendant ce laps de temps l'animal réalisait des *nose-pokes* supplémentaires, ceux-ci n'entraînaient pas de délivrance de pellet dans la mangeoire. Chaque session de FR-1 était d'une durée maximale d'une heure ou jusqu'à ce qu'un maximum de 50 récompenses soit délivré. Il a été considéré que les animaux ont appris

correctement la tâche associative lorsque **1)** les souris présentaient un indice de discrimination $\geq 3:1$ pour les réponses actives versus inactives, c'est-à-dire 3 fois plus de réponses correctes qu'incorrectes, **2)** les animaux arrivaient à obtenir ≥ 20 récompenses par session **3)** sur trois sessions consécutives. Lorsque ces 3 critères d'acquisition ont été atteints, les souris ont pu passer à la phase d'acquisition suivante dite de «*Ratio Fixe-5*» durant laquelle elles devaient réaliser un effort plus important que précédemment, à savoir effectuer 5 réponses correctes dans un orifice éclairé afin d'obtenir une récompense dans la mangeoire. Les animaux ont été soumis à ce protocole de FR-5 durant une heure par jour pendant 3 jours consécutifs;

- **Phase de test dans le «PR»:** Une fois que les animaux ont acquis la tâche d'apprentissage par association dans la phase de FR-5, leur degré de motivation pour obtenir la récompense alimentaire a été évalué en les soumettant au protocole de «*Ratio Progressif*». Les ratios utilisés durant le test ont été calculés suivant la formule $[5^{(R+0.2)}]-5$, où R correspond au nombre de récompenses déjà obtenues+1 [Richardson et Roberts, 1996]. Ainsi, le nombre de réponses correctes nécessaires pour la délivrance d'une récompense alimentaire augmente progressivement suivant l'ordre: 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 32, 40, 50, 62, 77, 95 et ainsi de suite. Le plus haut ratio auquel la performance est maintenue est appelé «*point de rupture*» ou «*breakpoint=BP*» et désigne le moment où l'animal cesse de fournir davantage d'effort pour obtenir sa récompense. C'est notamment ce «*point de rupture*» qui a été utilisé pour déterminer le degré de motivation de l'animal pour obtenir de la nourriture. Chaque session de PR était d'une durée d'une heure par jour ou bien la session était arrêtée après 10min d'inactivité de l'animal au sein de la cage opérante (pas de détection de visites dans les orifices ou la mangeoire pendant les 10 premières minutes du test). La phase de PR se terminait lorsque le nombre de récompenses obtenues au cours d'une session déviait de $\leq 10\%$ pendant 3 jours consécutifs, c'est-à-dire que pendant 3 jours consécutifs les souris devaient présenter une stabilisation dans le nombre de récompenses obtenues.

Critères d'exclusion: Il est conseillé d'exclure de l'analyse les souris qui effectuent plus de 15 séances dans la phase de FR-1 dû au manque d'apprentissage de la tâche associative. Dans nos conditions expérimentales, aucune souris n'a été exclue sur la base de ce critère.

Test d'apprentissage associatif basé sur le conditionnement opérant:

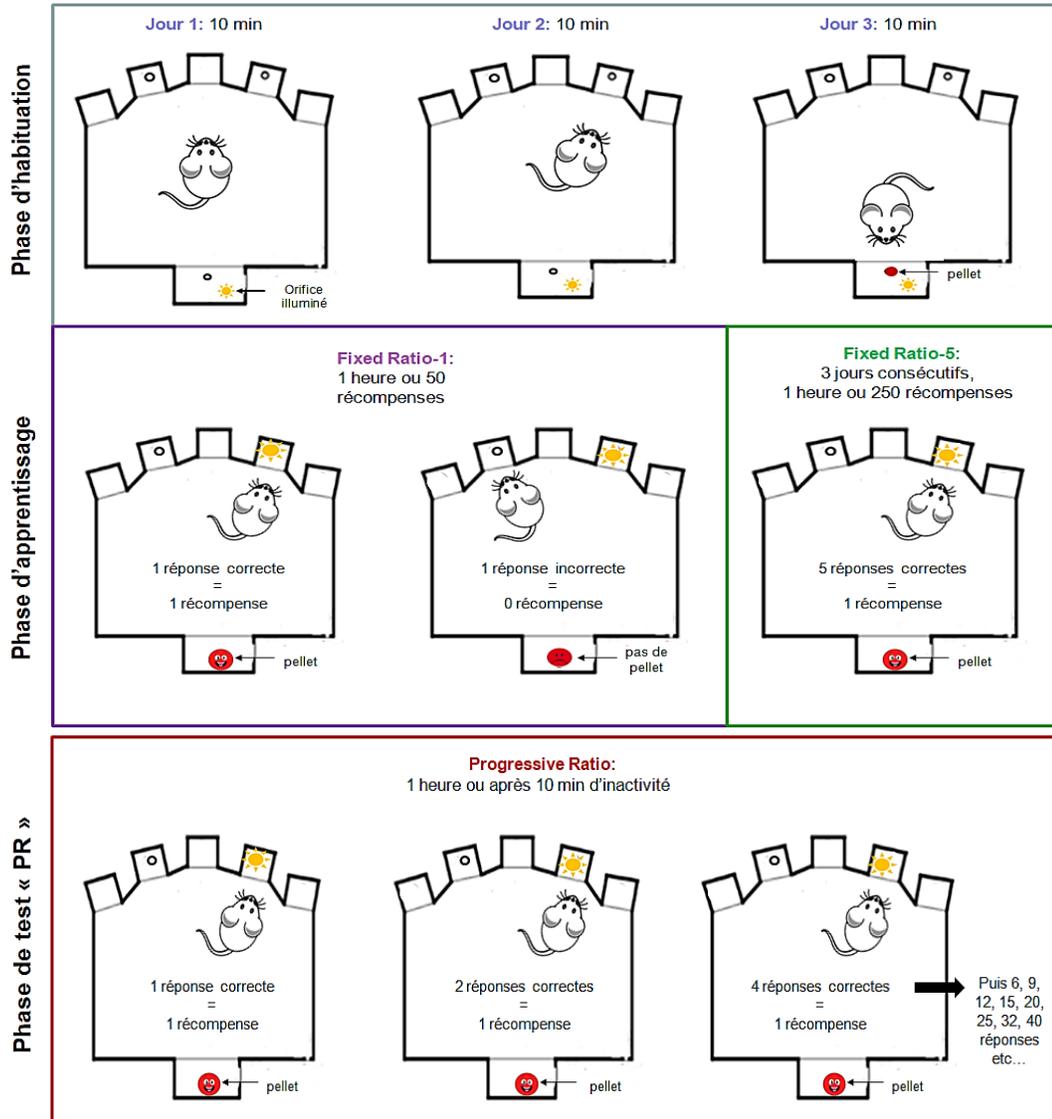


Fig. 34 Représentation schématique du protocole utilisé pour le test de Ratio Progressif. Avant de passer dans la phase de test, les souris ont été d'abord soumises à une phase d'habituation, suivie d'une phase d'apprentissage où elles devaient apprendre la tâche associative consistant à effectuer un (FR-1) ou cinq (FR-5) *nose-poke(s)* dans un orifice illuminé (réponse correcte) pour obtenir un pellet dans la mangeoire. Durant la phase de test (PR), le nombre de réponses correctes nécessaires pour la délivrance d'un pellet augmentait progressivement, permettant ainsi de déterminer le degré de motivation des animaux vis-à-vis de l'obtention d'une récompense alimentaire.

5. Evaluation neurobiologique des processus neuro-inflammatoires

Afin d'étudier l'implication des processus neuro-inflammatoires persistants dans le modèle de douleur neuropathique utilisé dans ce travail de thèse et la contribution éventuelle de la tDCS dans la résolution de ces processus, une approche immunohistochimique a été mise en œuvre pour la révélation des marqueurs gliaux Iba1 (microglie) et GFAP (astrocytes) au niveau supra-spinal.

5.1. Fixation et coupe des cerveaux de souris

A la fin du protocole expérimental, après avoir reçu une injection i.p. de Doléthal® (1mL/kg, Vétoquinol S.A, Lure, France), les souris ont été perfusées par voie transcardique avec une solution de NaCl à 0.9%, suivie d'une solution de paraformaldéhyde à 4% (PFA: (CH₂O)_n, Roth®, Karlsruhe, Allemagne) dissout dans un tampon phosphate 0.1M (PB, pH=7,2, Na₂HPO₄: di-Sodium hydrogénophosphate et KH₂PO₄: Potassium dihydrogénophosphate, Roth®, Karlsruhe, Allemagne). Les cerveaux ont été prélevés pour être post-fixés pendant une nuit à 4°C dans le même fixateur. Ils ont ensuite été cryoprotégés par immersion dans une solution de sucrose à 15% (D(+)-Saccharose: C₁₂H₂₂O₁₁, Roth®, Karlsruhe, Allemagne) diluée dans du PB 0.1M pendant 24h à 4°C. Les cerveaux ont été congelés dans de l'isopentane (C₅H₁₂: 2-méthylbutane, Roth®, Karlsruhe, Allemagne) à -80°C pendant 6sec en utilisant le système SnapFrost™ (Alphelys, Plaisir, France). Des coupes coronales de 30µm d'épaisseur ont été réalisées à -20°C avec un microtome coulissant (Microm KS 34-S: 47 282 ; Système de refroidissement: R404a, Micron GmbH, Walldorf, Allemagne) et conservées au congélateur à -20°C dans des plaques à 24 puits contenant du cryoprotecteur (½ de PBS: solution saline tamponnée au phosphate à 0.1M, ¼ de Glycérol et ¼ d'Éthylène glycol) jusqu'à la réalisation des marquages immunohistochimiques.

5.2. Immunohistochimie enzymatique sur coupes flottantes

La technique immunohistochimique employée permet une révélation de la protéine d'intérêt par la méthode dite «*avidine-biotine-peroxydase*» qui utilise les propriétés enzymatiques de la peroxydase HRP (*Horse Radish Peroxidase* conjuguée à un anticorps). L'enzyme, en présence de H₂O₂, catalyse la réaction d'oxydoréduction de substrat chromogène de 3,3'diaminobenzidine

(DAB, Sigma-Aldrich®, Steinheim, Allemagne) en le transformant en un produit coloré insoluble (Fig.35).

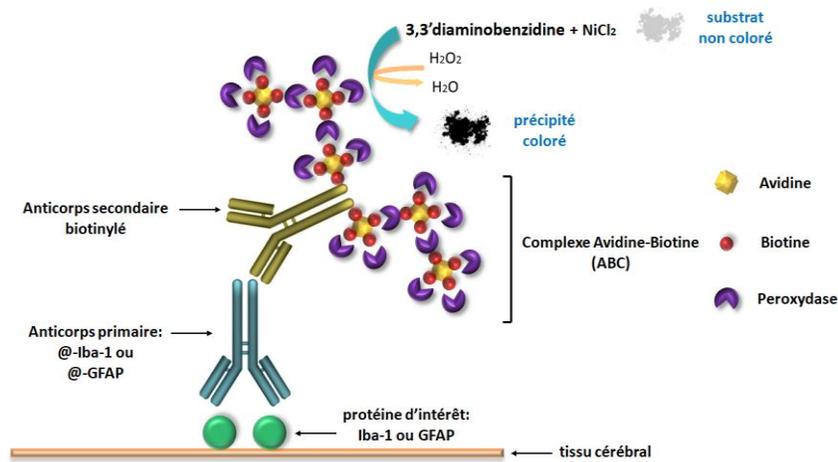


Fig. 35 Représentation schématique de la technique d'immunohistochimie enzymatique. L'anticorps primaire reconnaît la protéine d'intérêt (antigène) présente au sein du tissu cérébral. L'anticorps secondaire biotinylé, couplé à l'enzyme peroxydase HRP, reconnaît les immunoglobulines (IgG) de l'anticorps primaire. La peroxydase, en présence de peroxyde d'hydrogène, induit la dégradation du substrat non coloré (DAB) en un précipité coloré dont le signal est analysé.

Les anticorps utilisés dans cette étude immunohistochimique sont des anticorps provenant du commerce dont la spécificité est testée par le fabricant. L'anticorps monoclonal anti-Iba1 utilisé a été obtenu par immunisation de souris avec le polypeptide humain AIF-1 et produit en masse par la technologie des hybridomes, tandis que l'anticorps polyclonal anti-GFAP a été préparé par le fabricant à partir de sérum de lapin donc par immunisation de lapins avec la protéine bovine purifiée. Les caractéristiques des anticorps primaires utilisés sont indiquées dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 Caractéristiques des anticorps primaires utilisés pour l'immunohistochimie enzymatique.

Anticorps	Type	Antigène	Origine	Dilution
Iba1 (souris)	monoclonal	Polypeptide humaine, Facteur inflammatoire d'allogreffe 1 (AIF-1)	Santa Cruz Biotechnology, Référence: (1022-5): sc-32725	1/500 ^{ème}
GFAP (lapin)	polyclonal	Protéine bovine, purifiée	Merck Millipore, Référence: AB5804	1/1000 ^{ème}

L'Iba1, aussi connue comme le facteur inflammatoire d'allogreffe 1 (AIF-1), est un polypeptide de 17kDa dont la localisation microgliale a été identifiée par Ito et collègues avec la méthode d'immunohistochimie enzymatique sur des coupes cérébrales de rat fixées au formol [Ito et al., 1998]. La GFAP (protéine d'acide fibrillaire gliale) est le composant principal des filaments intermédiaires astrocytaires. Elle a été isolée à partir de la névroglie fibreuse par Eng et collègues au début des années 70 [Eng et al., 1971] et par la suite sa localisation spécifique dans les astrocytes fibrillaires a été identifiée par la technique d'immunofluorescence indirecte [Bignami et al., 1972].

Après avoir sorti les coupes de cerveaux du congélateur, elles ont été rincées dans du PBS contenant 0.3% de Triton X-100 (PBS-T: 2x5min et 1x10min sous agitation à température ambiante). Les coupes ont été ensuite placées pendant 15min dans du PBS-T contenant 0.3% de H₂O₂ pour bloquer l'activité des peroxydases endogènes. Elles ont été rincées dans trois bains successifs de 5min de PBS-T avant d'être incubées sous agitation pendant 48h à 4°C avec les anticorps primaires. L'anticorps polyclonal anti-GFAP a été préparé dans une solution dite de «*diluant anticorps*» composée de PBS-T contenant 10% de lactoprotéines (Régilait: lait écrémé en poudre), 1% d'albumine sérique bovine (BSA, Roth®, Karlsruhe, Allemagne) et 0.01% d'azide de sodium (NaN₃, Sigma-Aldrich®, Steinheim, Allemagne). L'anticorps monoclonal anti-Iba1 a été dilué dans du PBS-T. A la fin de l'incubation, les coupes ont été rincées dans du PBS-T (3x5min), puis incubées pendant une nuit à 4°C avec les anticorps secondaires biotinylés suivants: anticorps de chèvre dirigés contre les IgG de souris (référence: BA-9200, dilution 1/2000, Vector Laboratories®, Burlingame, Etats-Unis), et anticorps de chèvre anti-IgG de lapin (référence: BA-1000, dilution 1/2000, Vector Laboratories®, Burlingame, Etats-Unis). Le lendemain, les coupes ont été incubées pendant 1h sous agitation à température ambiante avec une solution contenant les réactifs du complexe avidine-biotine-peroxydase (Vectastain Elite ABC Kit, Vector Laboratories®, Etats-Unis). La réaction a été arrêtée par lavage dans du PBS (3x5min et 3x10min). Les coupes ont ensuite été incubées pendant 6min à 12min dans du PBS contenant 0.04% de DAB, 0.006% de H₂O₂ et 0.04% de Chlorure de Nickel (II) (NiCl₂, Roth®, Karlsruhe, Allemagne). Après rinçage au PBS, elles ont été déposées à l'aide d'un pinceau sur des lames gélatinées et séchées à l'étuve à 37°C pendant une nuit. Le lendemain, les coupes ont

été déshydratées dans des bains successifs d'alcool (à concentration croissante: 70°, 95° et 2x100°, 3min chacun) et de xylène (3x2min, VWR International S.A.S., Fontenay-sous-Bois, France) avant d'être montées entre lame et lamelle au baume du Canada (Roth®, Karlsruhe, Allemagne). Après montage, les coupes ont été séchées pendant 2 jours à l'étuve avant d'être observées au microscope.

5.3. Acquisition et analyse des images

L'observation des coupes a été réalisée avec un microscope optique (Olympus Bx51 TF) en utilisant un objectif x4 pour la localisation des différentes structures cérébrales, suivie d'une visualisation plus précise des différents types de cellules gliales avec un objectif x20 pour les astrocytes et un objectif x40 pour les cellules microgliales. L'acquisition des images a été effectuée avec une caméra digitale (Olympus DP50-CU) reliée à un ordinateur équipé du logiciel analySIS 3.1 (Soft Imaging System). Les images ont été prises dans les hémisphères gauche et droite des coupes. Une analyse de quantification du nombre de cellules immunopositives pour les marqueurs gliaux Iba1 et GFAP a été ensuite réalisée à l'aide du logiciel ImageJ (National Institutes of Health, Etats-Unis) dans les deux régions cérébrales sélectionnées en fonction de leur implication dans les composantes affective et somatosensorielle de la douleur [Barthas et al., 2015]: cortex cingulaire antérieur (aire Cg1: [0.98-0.62mm] antérieur à la Bregma) et cortex insulaire postérieur (aire agrulaire AIP: [0.70-1.06mm] postérieur à la Bregma), respectivement. Les niveaux de coupe utilisés ont été définis d'après l'atlas de Paxinos et Franklin, 2001 [Paxinos et Franklin, 2001]. Pour l'analyse du nombre de cellules immunomarquées avec le logiciel ImageJ, l'échelle a été établie en fonction du grossissement auquel les images ont été prises: pour les astrocytes (Gr: 200x) l'échelle a été fixée à 4.29 pixels/ μm et pour les cellules microgliales (Gr: 400x) à 8.55 pixels/ μm . Une région d'intérêt (ROI) a été définie pour chacune des structures cérébrales sélectionnées (Fig.36 et 37). Ainsi, un carré de 855 pixels x 855 pixels (=200 μm x 200 μm) a été utilisé et appliqué sur toutes les images analysées. Le positionnement de la ROI a été défini selon les coordonnées x=250 pixels et y=80 pixels, permettant ainsi que le carré soit toujours positionné au même endroit sur toutes les images dans le but d'assurer au mieux la représentativité des résultats obtenus. Une taille de

26 μm^2 minimum a été définie pour la visualisation optimale des astrocytes, tandis qu'une taille de 13 μm^2 minimum a été choisie pour les cellules microgliales. Les particules possédant une taille inférieure à la valeur définie n'ont donc pas été prises en compte dans l'analyse finale.

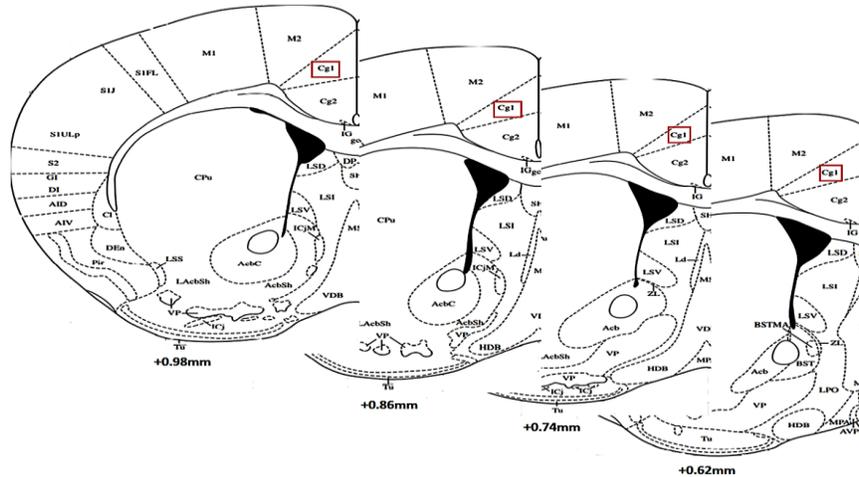


Fig. 36 Zones d'analyse de surface marquée (carrés rouges) dans le cortex cingulaire antérieur.

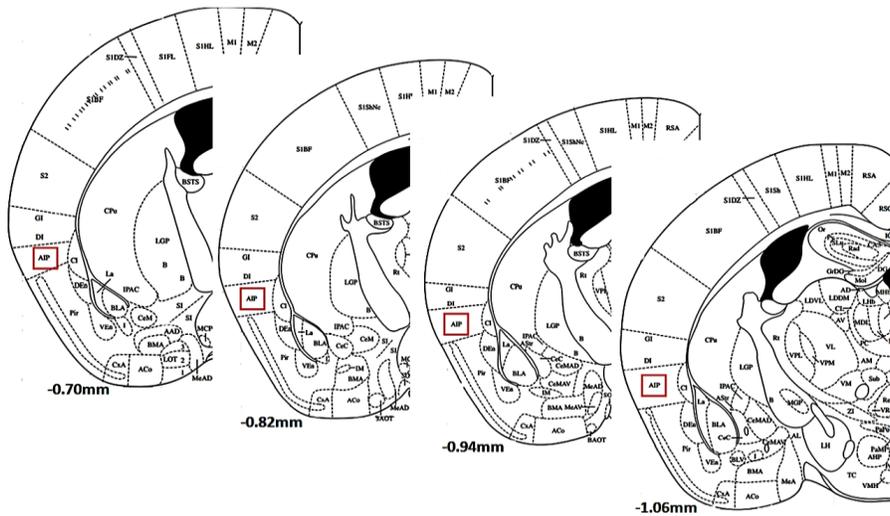


Fig. 37 Zones d'analyse de surface marquée (carrés rouges) dans le cortex insulaire postérieur.

6. Analyse statistique des données

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne et les barres d'erreur représentent l'erreur standard à la moyenne (\pm SEM). Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel STATISTICA 10 (Statsoft, Palo Alto, Etats-Unis). Les représentations graphiques des résultats ont été faites à l'aide du logiciel GraphPad Prism 9.4.1 (GraphPad Inc., San Diego, Etats-Unis). Les valeurs aberrantes (outliers) ont été identifiées en utilisant la fonction boîte à moustaches dans le logiciel JASP 0.16.3 (JASP Team, Amsterdam, Pays-Bas). Les différences ont été considérées comme significatives lorsque $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**) et $p < 0.001$ (***). La normalité de la distribution des données a été vérifiée avant chaque analyse par le test de Shapiro-Wilk afin de déterminer l'application des tests paramétriques ou non-paramétriques.

Pour les paramètres comportementaux ayant une distribution normale et obtenus avant la stimulation tDCS, des tests-t de Student non appariés ont été utilisés pour la comparaison entre groupes indépendants. Concernant les résultats de von Frey, les différences de seuil entre groupes ont été étudiées en appliquant une ANOVA à mesures répétées avec comme facteur intra-spécifique la condition (Sham vs Cuff) ou la patte (ipsilatérale vs controlatérale) et comme facteur inter-spécifique le temps (semaines post-cuff), suivie des tests post-hoc de Duncan. Pour les données ne suivant pas la loi normale et obtenues après la stimulation tDCS, des tests non-paramétriques ont été utilisés: ANOVA de Kruskal-Wallis, suivie des tests U de Mann-Whitney. Le test de Wilcoxon pour données appariées a été utilisé pour comparer le pourcentage de préférence au sucrose de chaque groupe expérimental à une valeur standard de 50%.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats présentés dans ce manuscrit concernent la caractérisation comportementale des effets de la compression chronique du nerf sciatique d'une part et de la tDCS d'autre part, en s'intéressant essentiellement à la dimension somatosensorielle (sensibilité mécanique) ainsi qu'émotionnelle (anxiété, dépression) de la douleur neuropathique.

PARTIE I – Approche tDCS tardive

L'approche tardive a été réalisée dans le but d'étudier le potentiel curatif de la tDCS dans le soulagement des symptômes anxio-dépressifs consécutifs au développement d'une douleur neuropathique chronique.

Le protocole expérimental pour cette étude (**Fig.38**) a été développé de façon à permettre dans un premier temps d'évaluer l'impact de la compression chronique du nerf sciatique sur la sensibilité mécanique et le comportement émotionnel des animaux. Pour se faire, le seuil nociceptif a été déterminé par le test des filaments de von Frey avant et après la chirurgie. Les animaux ont été ensuite soumis à une première batterie de tests (OF, LDB, Splash, SCT et FST) afin d'évaluer les conséquences de l'implantation du cuff sur le comportement apparenté à l'anxiété et à la dépression. Après cette caractérisation initiale du modèle animal de neuropathie, les souris ont été réparties dans différents groupes expérimentaux et ont été soumises pendant la 10^{ème} semaine post-chirurgie à des sessions répétées de stimulation par la tDCS. A partir de la 3^{ème} semaine post-tDCS, l'ensemble des animaux ont passé par une deuxième batterie de tests (von Frey, OF, NSF, Splash et FST) permettant cette fois-ci d'étudier l'effet du traitement tDCS sur les aspects somatosensoriel et émotionnel de la douleur. A la fin du protocole expérimental (délai: 16 semaines post-chirurgie, équivalent à 6 semaines post-tDCS), les animaux ont été euthanasiés et les cerveaux fixés ont été prélevés dans la perspective d'étudier l'effet de la tDCS sur les processus neuro-inflammatoires à travers une approche immunohistochimique ciblant les protéines GFAP (astrocytes) et Iba1 (microglie).

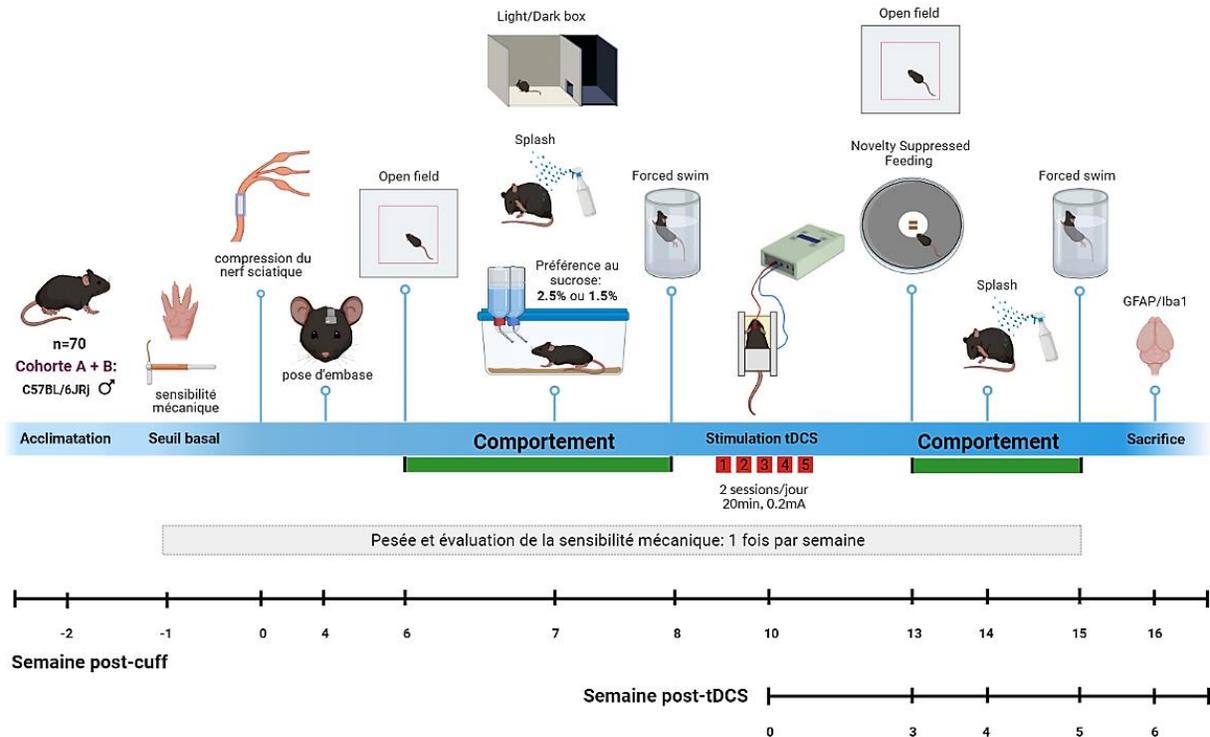


Fig. 38 Représentation schématique du protocole expérimental ayant appliqué la tDCS de façon tardive, à visée curative, dans un modèle murin de douleur neuropathique chronique. La caractérisation du modèle animal de neuropathie a été réalisée pendant 8 semaines. Les animaux ont été stimulés au cours de la 10^{ème} semaine suivant la chirurgie de compression du nerf sciatique à raison de 10 séances de stimulation de 20min à 0.2mA. L'évaluation de la sensibilité mécanique ainsi que la pesée de l'animal ont été effectuées chaque semaine. Le comportement émotionnel des souris a été étudié avant et après la stimulation tDCS. A la fin de l'expérience, les cerveaux des animaux ont été prélevés pour une analyse ultérieure des marqueurs gliaux GFAP et Iba1. Réalisé avec BioRender®

1. Caractérisation comportementale des effets de la compression du nerf sciatique et de la stimulation tardive par la tDCS sur la sensibilité mécanique des animaux

Soixante-dix souris mâles de souche C57BL/6JRJ (Ets Janvier Labs, Saint-Berthevin, France) ont été utilisées dans cette étude (poids moyen (g) \pm SEM = 23.56 \pm 0.19). Deux souris ont été exclues de l'analyse étant donné qu'elles présentaient un seuil basal de nociception inférieur à 2g. Deux souris (une avec tendon déchiré et une avec nerf sciatique déchiré de la patte arrière) ont également été exclues de l'analyse. Quatre souris n'ont pas supporté l'anesthésiant: deux sont mortes avant même la chirurgie du nerf sciatique et deux avant la chirurgie de pose d'embase. Une souris a subi un arrêt cardiaque et est morte avant la réalisation du test FST. Ainsi, le

nombre final d'animaux par groupe expérimental était le suivant: Sham, n=30-31; Cuff, n=31-33; Sham No-stim, n=10; Sham-Anodal, n=9; Sham-Cathodal, n=11; Cuff No-stim, n=11; Cuff-Anodal, n=12; Cuff-Cathodal, n=8.

1.1. Changement du comportement nociceptif après la compression chronique du nerf sciatique

Pour l'évaluation de la sensibilité mécanique avant la stimulation tDCS au niveau de la patte arrière droite opérée (**Fig.39-A**), l'ANOVA à mesures répétées révèle un effet du facteur «condition» (Sham vs Cuff: $F_{[1,59]}=125.91$, $p<0.001$) et un effet du facteur «temps» (Baseline jusqu'à semaine 9 post-cuff: $F_{[9,531]}=13.13$, $p<0.001$) ainsi qu'une interaction «condition*temps» ($F_{[9,531]}=4.70$, $p<0.001$). Alors qu'aucune différence significative concernant le seuil nociceptif basal (baseline) n'est observée entre les deux groupes d'animaux avant la chirurgie de compression du nerf sciatique (moyenne baseline (g) \pm SEM, Sham: 5.42 ± 0.32 ; Cuff: 4.76 ± 0.29 , $p=0.31$), l'implantation du cuff conduit à une augmentation de la sensibilité mécanique, reflétée par une baisse significative du seuil nociceptif chez les souris du groupe Cuff par rapport aux animaux contrôles Sham. L'analyse post-hoc de Duncan montre notamment des différences entre les deux groupes pour les 9 semaines (sem) suivant la chirurgie: moyenne sem 1 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 4.08 ± 0.40 ; Cuff: 1.66 ± 0.19 , $p<0.01$; moyenne sem 2 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 3.94 ± 0.37 ; Cuff: 1.51 ± 0.16 , $p<0.01$; moyenne sem 3 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 4.53 ± 0.39 ; Cuff: 1.32 ± 0.20 , $p<0.001$; moyenne sem 4 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 3.49 ± 0.40 ; Cuff: 1.30 ± 0.14 , $p<0.01$; moyenne sem 5 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 5.38 ± 0.31 ; Cuff: 1.34 ± 0.15 , $p<0.001$; moyenne sem 6 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 4.83 ± 0.35 ; Cuff: 1.51 ± 0.22 , $p<0.001$; moyenne sem 7 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 4.73 ± 0.32 ; Cuff: 2.18 ± 0.29 , $p<0.01$; moyenne sem 8 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 4.63 ± 0.29 ; Cuff: 2.12 ± 0.26 , $p<0.01$ et moyenne sem 9 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 4.10 ± 0.40 ; Cuff: 1.75 ± 0.26 , $p<0.01$. Cette différence de sensibilité mécanique entre les deux groupes se maintient jusqu'à la semaine 13 post-cuff: moyenne sem 11 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 3.93 ± 0.96 ; Cuff No-stim: 1.71 ± 0.28 , [MWU, $Z=2.09$, $p<0.05$]; moyenne sem 12 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 4.90 ± 0.67 ; Cuff No-stim: 1.90 ± 0.27 , [MWU, $Z=2.87$, $p<0.01$]; moyenne sem 13 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 5.64 ± 0.85 ; Cuff No-stim: 3.08 ± 0.65 , [MWU, $Z=2.08$, $p<0.05$]. A partir de la 14^{ème} semaine post-cuff, une absence de significativité statistique

entre les seuils nociceptifs des deux groupes d'animaux peut être observée: moyenne sem 14 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 3.26 ± 0.50 ; Cuff No-stim: 3.54 ± 0.46 , [MWU, $Z = -0.30$, $p > 0.05$]; moyenne sem 15 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 4.44 ± 0.58 ; Cuff No-stim: 3.54 ± 0.68 , [MWU, $Z = 1.08$, $p > 0.05$].

En ce qui concerne la patte arrière controlatérale (gauche, non opérée) (**Fig.39-B**), l'ANOVA à mesures répétées révèle un effet du facteur «*condition*» (Sham vs Cuff: $F_{[1,57]} = 4.57$, $p < 0.05$) et un effet du facteur «*temps*» (Baseline jusqu'à semaine 9 post-cuff: $F_{[9,513]} = 6.74$, $p < 0.001$) ainsi qu'une interaction «*condition*temps*» ($F_{[9,513]} = 3.56$, $p < 0.001$). Pour le seuil nociceptif basal, il y a aucune différence statistique avant la chirurgie entre les deux groupes de souris (moyenne baseline (g) \pm SEM, Sham: 5.56 ± 0.33 ; Cuff: 4.82 ± 0.34 , $p = 0.35$). Bien que l'analyse post-hoc de Duncan n'ait mis en évidence aucune différence significative du seuil nociceptif entre les deux groupes expérimentaux pour chacune des 9 semaines qui suivent la chirurgie, une faible tendance à l'abaissement du seuil nociceptif chez les animaux neuropathiques est observée pendant les semaines 1 et 3 post-cuff: moyenne sem 1 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 4.64 ± 0.46 ; Cuff: 2.89 ± 0.27 , $p = 0.08$; moyenne sem 3 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 4.68 ± 0.43 ; Cuff: 3.04 ± 0.36 , $p = 0.09$. Après la 10^{ème} semaine post-cuff, les seuils nociceptifs des animaux neuropathiques restent similaires à ceux observés pour les souris Sham: moyenne sem 11 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 3.75 ± 0.70 ; Cuff No-stim: 2.99 ± 0.49 , [MWU, $Z = 0.71$, $p < 0.05$]; moyenne sem 12 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 2.82 ± 0.40 ; Cuff No-stim: 2.19 ± 0.38 , [MWU, $Z = 0.99$, $p < 0.05$]; moyenne sem 13 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 2.01 ± 0.33 ; Cuff No-stim: 3.36 ± 0.87 , [MWU, $Z = -0.75$, $p < 0.05$]; moyenne sem 14 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 2.90 ± 0.64 ; Cuff No-stim: 3.78 ± 0.63 , [MWU, $Z = -0.94$, $p < 0.05$] et moyenne sem 15 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 2.82 ± 0.50 ; Cuff No-stim: 3.72 ± 0.60 , [MWU, $Z = -1.13$, $p < 0.05$].

Tandis que les animaux du groupe contrôle Sham ne présentent pas de différence de sensibilité mécanique entre les pattes ipsilatérale et controlatérale avant ou après chirurgie (ANOVA à mesures répétées, interaction «*patte*temps*»: $F_{[9,522]} = 0.98$, $p > 0.05$), le seuil nociceptif diminue de manière ipsilatérale chez les souris Cuff (ANOVA à mesures répétées, interaction «*patte*temps*»: $F_{[9,522]} = 5.02$, $p < 0.001$).

1.2. Effet des sessions répétées de stimulation tardive par la tDCS sur la sensibilité mécanique des animaux

Le protocole de stimulation tDCS a été appliqué à la semaine 10 du planning expérimental et la sensibilité mécanique des animaux a continué à être évaluée encore pendant 5 semaines (= semaine 1, 2, 3, 4 et 5 post-tDCS) (voir **Fig.38**).

Pour la patte arrière droite des animaux contrôles Sham, l'ANOVA de Kruskal-Wallis montre un effet de la tDCS sur le seuil nociceptif mesuré pendant la 2^{ème} semaine post-tDCS ($\chi^2_{[2,30]}=9.04$, $p=0.01$) et une tendance lors des semaines 3 et 5 post-tDCS: $\chi^2_{[2,29]}=5.88$, $p=0.052$; $\chi^2_{[2,30]}=4.93$, $p=0.08$, respectivement. Bien que la stimulation de polarité cathodique n'ait révélé aucun effet, l'analyse post-hoc de Mann-Whitney met en évidence une augmentation de la sensibilité mécanique, reflétée par une baisse significative du seuil nociceptif, chez les souris Sham ayant subi des sessions répétées de stimulation anodique (**Fig.39-A**, groupes des souris Sham). Cet effet se met en place à partir de la 2^{ème} semaine post-tDCS (moyenne sem 2 post-tDCS (g) \pm SEM, Sham No-stim: 4.90 ± 0.67 ; Sham-Anodal: 2.71 ± 0.62 , [MWU, $Z=2.62$, $p<0.01$]) et reste observable durant la 3^{ème} et 5^{ème} semaine post-tDCS: moyenne sem 3 post-tDCS (g) \pm SEM, Sham No-stim: 5.64 ± 0.85 ; Sham-Anodal: 2.67 ± 0.71 , [MWU, $Z=2.30$, $p<0.05$] et moyenne sem 5 post-tDCS (g) \pm SEM, Sham No-stim: 4.44 ± 0.58 ; Sham-Anodal: 2.33 ± 0.52 , [MWU, $Z=2.30$, $p<0.05$], respectivement.

Chez les animaux neuropathiques Cuff, l'ANOVA de Kruskal-Wallis révèle un effet de la tDCS sur le seuil nociceptif de la patte postérieure ipsilatérale uniquement pendant la 4^{ème} semaine post-tDCS: $\chi^2_{[2,31]}=6.45$, $p<0.05$. La comparaison entre groupes permet de démontrer que cet effet se situe entre les animaux neuropathiques non stimulés et les souris neuropathiques ayant été soumises à des sessions répétées de stimulation cathodique. En effet, la tDCS de polarité cathodique induit une augmentation de la réponse douloureuse, indiquée par une diminution significative du seuil nociceptif, chez les animaux neuropathiques durant la 4^{ème} semaine post-tDCS: moyenne sem 4 post-tDCS (g) \pm SEM, Cuff No-stim: 3.54 ± 0.46 ; Cuff-Cathodal: 1.69 ± 0.38 , [MWU, $Z=2.73$, $p<0.01$] (**Fig.39-A**, groupes des souris Cuff).

Concernant la patte arrière gauche non opérée des souris Sham, l'ANOVA de Kruskal-Wallis montre une tendance pour l'effet de la tDCS sur le seuil nociceptif mesuré lors de la 3^{ème} semaine post-tDCS: $\chi^2_{[2,30]}=5.52$, $p=0.06$. Ainsi, la tDCS cathodique entraîne un abaissement de la sensibilité mécanique chez les animaux Sham, un effet transitoire observable seulement pendant la 3^{ème} semaine après les stimulations: moyenne sem 3 post-tDCS (g) \pm SEM, Sham No-stim: 2.01 ± 0.33 ; Sham-Cathodal: 4.28 ± 0.74 , [MWU, $Z=-2.24$, $p<0.05$] (Fig.39-B, groupes des souris Sham). Aucun effet de la tDCS, indépendamment de la polarité de stimulation, sur le seuil nociceptif de la patte postérieure controlatérale n'est décelé chez les souris neuropathiques Cuff (Fig.39-B, groupes des souris Cuff).

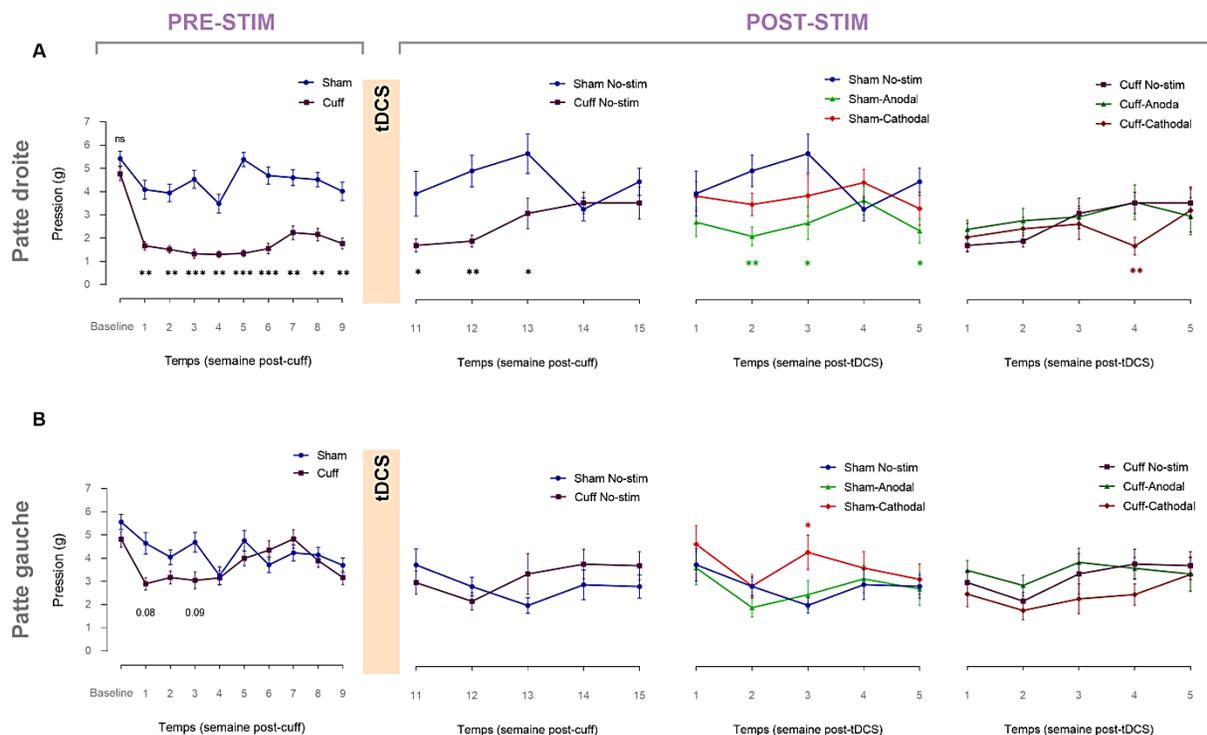


Fig. 39 Evaluation de la sensibilité mécanique après la compression du nerf sciatique et suite à la stimulation tardive par la tDCS à l'aide des filaments de von Frey. La compression unilatérale du nerf sciatique induit une allodynie mécanique ipsilatérale persistant pendant 3 mois après la chirurgie (13 semaines) et disparaissant à partir de la 14^{ème} semaine post-chirurgie. Les stimulations de polarité anodique et cathodique chez les animaux contrôles Sham résultent en une diminution et une augmentation des seuils de perception nociceptive, respectivement. La tDCS tardive de polarité cathodique retarde la récupération spontanée des animaux neuropathiques. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM (n=30-31/Sham; n=31-33/Cuff; n=10/Sham No-stim; n=9/Sham-Anodal; n=11/Sham-Cathodal; n=11/Cuff No-stim; n=12/Cuff-Anodal; n=8/Cuff-Cathodal). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, ANOVA à mesures répétées suivie de tests post-hoc de Duncan pour comparaison Sham vs Cuff pour chacune des

semaines pré-tDCS; ANOVA de Kruskal-Wallis suivie de tests U de Mann-Whitney pour comparaison entre les différents groupes expérimentaux pour chacune des semaines post-tDCS.

2. Caractérisation comportementale des conséquences affectives de la douleur neuropathique induite par la compression chronique du nerf sciatique

Après validation du modèle animal de neuropathie (mise en évidence d'une altération de la composante somatosensorielle), une caractérisation du phénotype émotionnel de l'ensemble des animaux a été réalisée à travers différents tests comportementaux apparentés soit à l'anxiété soit à la dépression. Ceci a été fait dans le but de contrôler si l'allodynie mécanique induite par la compression chronique du nerf sciatique est accompagnée par une altération de la composante émotionnelle de la douleur dans nos conditions expérimentales.

2.1. La compression du nerf sciatique n'affecte pas la prise de poids et l'activité ambulatoire des animaux

La prise de poids des animaux neuropathiques ne diffère pas significativement de celle des souris contrôles Sham durant les 9 semaines qui suivent la chirurgie. En effet, l'ANOVA à mesures répétées révèle un effet significatif du facteur «*temps*» ($F_{[8,480]}=51.49$, $p<0.001$), démontrant une évolution progressive de la prise de poids en fonction du temps chez les deux groupes expérimentaux, mais aucun effet du facteur «*condition*» ($F_{[1,60]}=1.25$, $p>0.05$) ainsi qu'aucune interaction «*condition*temps*» ($F_{[8,480]}=0.79$, $p>0.05$) (**Fig.40-A**). Ce résultat est en accord avec ceux rapportés dans la littérature démontrant que la chirurgie du cuff n'affecte pas la prise de poids chez les animaux [Benbouzid et al., 2008a; Barthas et al., 2015].

Afin de s'assurer que les résultats obtenus dans les différents tests de comportement n'ont pas été influencés par l'effet de la compression du nerf sciatique sur l'activité ambulatoire des animaux, une analyse de la locomotion, objectivée par la distance totale parcourue au sein de l'OF, a été réalisée (le test de l'OF a eu lieu pendant la 6^{ème} semaine post-cuff et était le premier test comportemental auquel les animaux ont été soumis). Les animaux neuropathiques parcourent une distance similaire à celle observée pour les souris Sham: moyenne distance totale parcourue (mm) \pm SEM, Sham: 21205.07 \pm 1027.56; Cuff: 21102.33 \pm 872.60 [t_{student} ,

$t_{56}=0.08$, $p>0.05$] (Fig.40-B). Il est donc considéré que les résultats comportementaux présentés par la suite ne sont pas influencés par un éventuel déficit moteur causé par l'implantation du manchon autour du nerf sciatique. D'autres études de la littérature semblent également confirmer l'absence d'altération de la fonction locomotrice dans le modèle du «Cuff» [Benbouzid et al., 2008a; Yalcin et al., 2011; Sellmeijer et al., 2018].

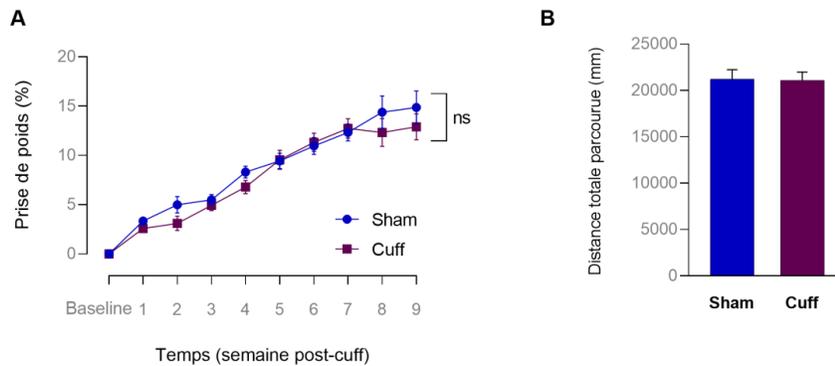


Fig. 40 Evaluation de la prise de poids et de l'activité locomotrice après la compression chronique du nerf sciatique. (A) La prise de poids des animaux neuropathiques évolue d'une manière similaire à celle des souris contrôles. Les données sont exprimées en moyenne±SEM (n=30-31/Sham; n=32-33/Cuff). ns, non significatif, ANOVA à mesures répétées pour comparaison Sham vs Cuff pour chacune des semaines pré-tDCS (de la baseline jusqu'à la semaine 9 post-cuff). (B) L'activité ambulatoire des souris Cuff est comparable à celle des animaux Sham et est donc intacte après la compression du nerf sciatique. Les données sont exprimées en moyenne±SEM (n=28/Sham; n=30/Cuff), test-t de Student pour comparaison Sham vs Cuff.

2.2. Mise en évidence d'un état émotionnel accru après la compression chronique du nerf sciatique

Différents tests standardisés ont été utilisés afin d'évaluer les conséquences émotionnelles de la douleur neuropathique chronique (démontrée précédemment chez les animaux ayant subi la compression du nerf sciatique). Les résultats bruts de ces différents tests issus de deux cohortes différentes ont été combinés et seront présentés dans un premier temps. Par la suite, une présentation des données normalisées qui ont permis d'aboutir à une évaluation de l'état émotionnel global des animaux sera faite.

Les tests de l'OF ainsi que le LDB ont été réalisés afin d'évaluer le comportement apparenté à l'anxiété. Bien que l'analyse statistique n'ait révélé aucune différence significative au niveau du

temps passé au centre de l'arène de l'OF entre les deux groupes d'animaux (moyenne temps au centre (sec) \pm SEM, Sham: 110.80 \pm 9.23; Cuff: 93.03 \pm 8.31 [t_{student} , $t_{56}=1.43$, $p>0.05$]) (**Fig.41-A**), une diminution significative du temps passé dans le compartiment éclairé de la boîte claire/obscur est observée chez les souris neuropathiques qui passent alors significativement moins du temps à explorer la partie fortement éclairée et non protégée du dispositif expérimental en comparaison des souris contrôles (moyenne temps passé dans le compartiment éclairé (sec) \pm SEM, Sham: 147.33 \pm 11.66; Cuff: 106.35 \pm 9.36 [t_{student} , $t_{56}=2.74$, $p<0.01$]) (**Fig.41-B**). Cependant, les animaux Cuff passent autant de temps à initier la transition de la partie sombre vers la partie éclairée que les souris Sham, indiquée par une absence d'effet significatif au niveau de la latence d'entrée: moyenne latence d'entrée dans le compartiment éclairé (sec) \pm SEM, Sham: 68.03 \pm 16.14; Cuff: 97.03 \pm 21.76 [t_{student} , $t_{56}=-1.07$, $p>0.05$].

Le développement potentiel d'un phénotype dépressif chez les animaux neuropathiques souffrant d'une allodynie mécanique a été évalué par le test de Splash, consistant à étudier le comportement dirigé vers soi à travers une mesure de l'activité de toilettage, et le test de FST évaluant le comportement de résignation reflétant l'état de désespoir de l'animal face à une situation de stress dont l'échappement est impossible. Dans le test de Splash (**Fig.41-C**), les animaux neuropathiques démontrent une augmentation significative de la latence du premier toilettage par rapport aux animaux contrôles (moyenne latence de toilettage (sec) \pm SEM, Sham: 43.65 \pm 4.39; Cuff: 82.00 \pm 8.48 [t_{student} , $t_{51}=-3.97$, $p<0.001$]), et s'engagent significativement moins de temps dans l'activité de toilettage en comparaison avec des souris Sham (moyenne durée de toilettage (sec) \pm SEM, Sham: 97.50 \pm 5.09; Cuff: 83.19 \pm 2.88 [t_{student} , $t_{51}=2.47$, $p<0.05$]). En ce qui concerne le comportement de type dépressif étudié au sein du dispositif de FST (**Fig.41-D**), la compression du nerf sciatique ne montre aucun effet sur la latence d'immobilisation et la durée d'immobilité. En effet, bien qu'une latence d'immobilisation relativement moins élevée soit observée chez les animaux neuropathiques par rapport aux animaux contrôles, l'analyse statistique ne décèle pas de différence entre les deux groupes expérimentaux: moyenne latence d'immobilisation (sec) \pm SEM, Sham: 70.50 \pm 8.28; Cuff: 55.47 \pm 7.20 [t_{student} , $t_{58}=1.37$, $p>0.05$]. Aucune différence statistiquement significative n'a également été mise en évidence entre les

deux groupes concernant la durée d'immobilité: moyenne durée d'immobilité (sec) \pm SEM, Sham: 104.83 \pm 7.78; Cuff: 116.87 \pm 8.03 [t_{student} , $t_{58}=-1.08$, $p>0.05$].

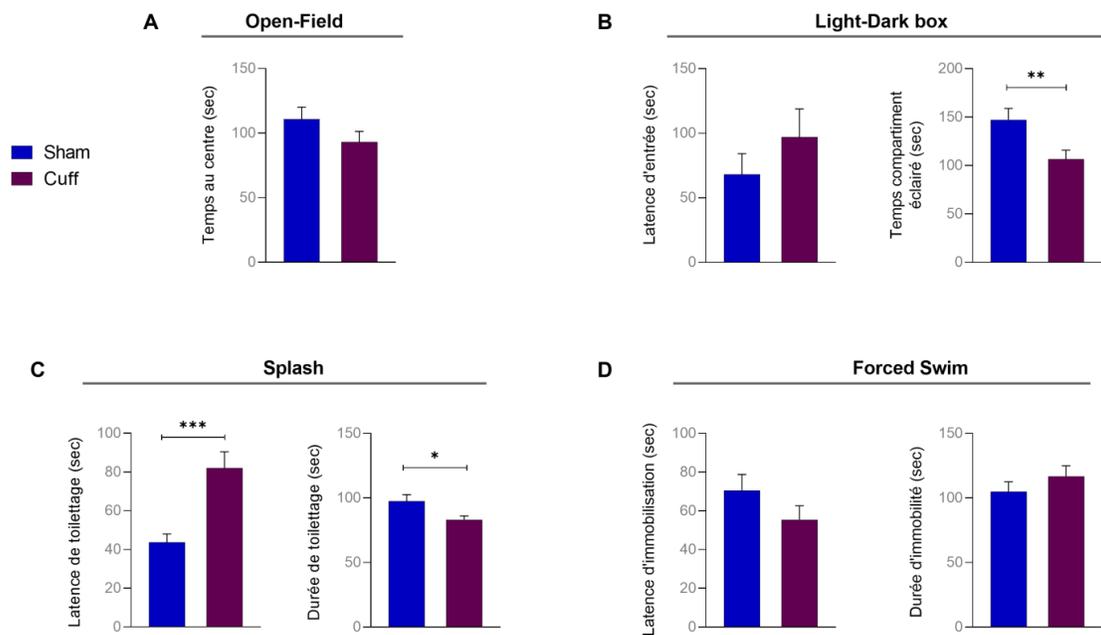


Fig. 41 Evaluation des conséquences émotionnelles de la douleur neuropathique. (A) L'implantation du cuff n'affecte pas le temps passé au centre de l'arène dans le test de l'OF. (B) Alors qu'aucune différence entre groupes n'est observée pour la latence d'entrée dans le compartiment éclairé, les animaux neuropathiques passent significativement moins de temps dans la partie fortement éclairée du LDB, démontrant ainsi un comportement de type anxieux. (C) La compression du nerf sciatique induit une augmentation de la latence de toiletteage et une diminution de la durée de toiletteage dans le test de Splash, indiquant l'émergence d'un phénotype dépressif chez les animaux neuropathiques. (D) Dans le FST, le comportement des animaux neuropathiques ne diffère pas de celui des animaux contrôles, indiqué par une absence d'effet entre groupes au niveau de la latence d'immobilisation et la durée d'immobilité. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM (n=26-30/Sham; n=27-30/Cuff). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, test-t de Student pour comparaison Sham vs Cuff.

Etant donné que deux différentes cohortes utilisées à différents temps ont été incluses dans cette étude afin d'augmenter par la suite les effectifs des groupes d'animaux qui ont été stimulés par la tDCS, les données issues des différents tests comportementaux ont été normalisées en appliquant la méthodologie de z-scoring qui permet de diminuer la variabilité pouvant être causée par des changements subtils dans l'environnement d'hébergement des animaux ou l'environnement dans lequel les différents tests ont été réalisés [Guilloux et al., 2011]. Il a été démontré que cet outil mathématique offre la possibilité de combiner les données de diverses études évaluant la même dimension pathologique permettant ainsi

d'augmenter la sensibilité et la fiabilité du phénotypage comportemental chez la souris [Guilloux et al., 2011; Mekiri et al., 2017].

Pour l'évaluation de la dimension émotionnelle, les données individuelles de chaque souris ont été normalisées par rapport à la moyenne et l'écart-type du groupe de référence qui n'a pas subi l'implantation du manchon autour du nerf sciatique, à savoir le groupe des souris Sham. Le calcul du z-score a été ainsi réalisé en appliquant la formule suivante:

$$Z = \frac{X - \mu}{\sigma}$$

où X représente les données individuelles relevées pour chaque animal dans chacun des tests comportementaux, μ et σ correspondent à la moyenne et l'écart-type du groupe de référence, respectivement. Le z-score ainsi calculé représente donc un score standardisé indiquant de combien une observation dévie par rapport à la moyenne du groupe de référence. La direction des z-scores a été ajustée de sorte qu'une augmentation des valeurs des scores reflète une augmentation du comportement émotionnel. Par exemple, la diminution de l'activité au centre de l'arène de l'OF ou l'augmentation de la latence de toilettage dans le test de Splash ont été converties en un écart-type positif comparé à la moyenne du groupe de référence, indiquant ainsi un état émotionnel accru.

La normalisation des données permet de visualiser que par rapport au groupe de référence (Sham), les animaux neuropathiques Cuff présentent de manière générale des z-scores plus élevés pour chacun des paramètres comportementaux étudiés dans les différents tests réalisés (Fig.42). Cependant, l'analyse statistique aboutit aux mêmes p-valeurs qu'avant la normalisation: moyenne z-temps au centre \pm SEM, Sham: 0.00 ± 0.19 ; Cuff: 0.36 ± 0.17 [t_{student} , $t_{56} = -1.43$, $p > 0.05$] (Fig.42-A), moyenne z-latence d'entrée dans le compartiment éclairé \pm SEM, Sham: 0.00 ± 0.19 ; Cuff: 0.33 ± 0.25 [t_{student} , $t_{56} = -1.07$, $p > 0.05$] et moyenne z-temps passé dans le compartiment éclairé \pm SEM, Sham: 0.00 ± 0.19 ; Cuff: 0.65 ± 0.15 [t_{student} , $t_{56} = -2.74$, $p < 0.01$] (Fig.42-B), moyenne z-latence de toilettage \pm SEM, Sham: 0.00 ± 0.20 ; Cuff: 1.71 ± 0.38 [t_{student} , $t_{51} = -3.97$, $p < 0.001$] et moyenne z-durée de toilettage \pm SEM, Sham: 0.0 ± 0.20 ; Cuff: 0.55 ± 0.11 [t_{student} , $t_{51} = -$

2.47, $p < 0.05$] (**Fig.42-C**), moyenne z-latence d'immobilisation \pm SEM, Sham: 0.00 ± 0.18 ; Cuff: 0.33 ± 0.16 [t_{student} , $t_{58} = -1.37$, $p > 0.05$] et moyenne z-durée d'immobilité \pm SEM, Sham: 0.00 ± 0.18 ; Cuff: 0.29 ± 0.19 [t_{student} , $t_{58} = -1.08$, $p > 0.05$] (**Fig.42-D**).

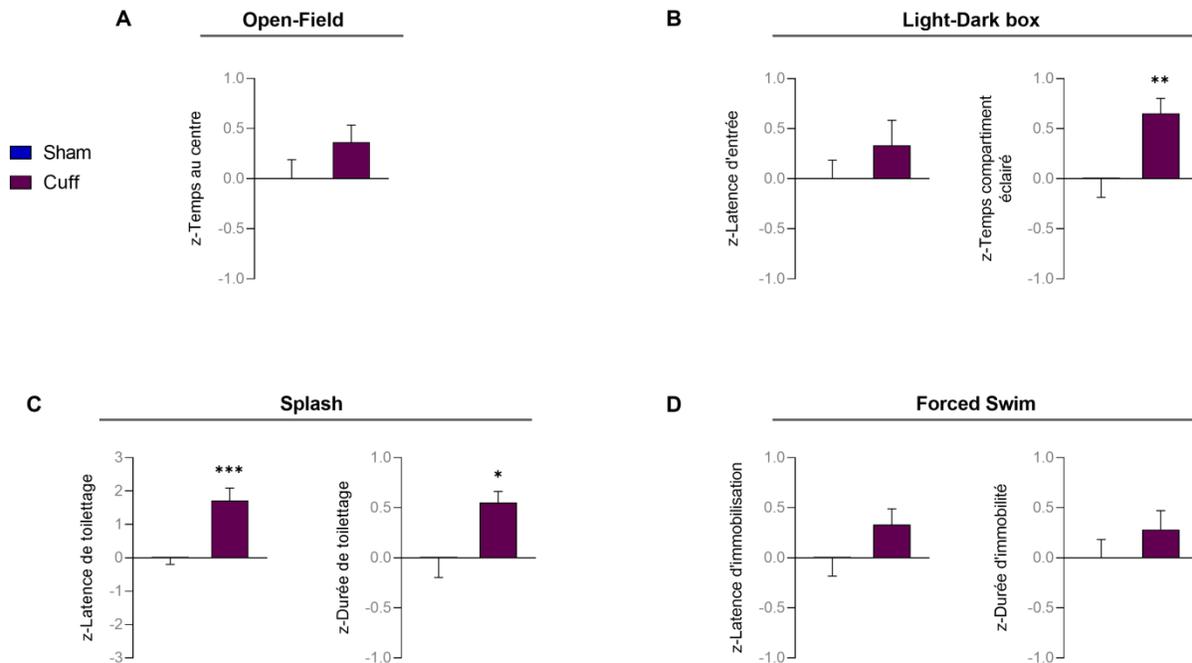


Fig. 42 Normalisation par la méthode de z-scoring des données issues des tests comportementaux réalisés après la compression chronique du nerf sciatique. Les données brutes ont été normalisées en utilisant le groupe de souris n'ayant pas subi la compression chronique du nerf sciatique comme groupe de référence. La z-valeur de chacun des paramètres comportementaux étudiés est obtenue en moyennant les z-scores individuels des souris appartenant d'une part au groupe contrôle Sham et d'autre part au groupe d'animaux neuropathiques Cuff. L'analyse statistique a abouti aux mêmes p-valeurs que celles observées avant la normalisation des données. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM ($n = 26-30/\text{Sham}$; $n = 27-30/\text{Cuff}$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, test-t de Student pour comparaison Sham vs Cuff.

Par la suite, un z-score pour chacun des tests a été calculé. Par exemple, pour le test de l'OF, dans lequel un seul paramètre est étudié, le z-score du test (Z-OF) a été calculé pour chaque animal en utilisant les données normalisées du paramètre «*temps passé au centre*». Pour les tests incluant deux variables dépendants, le z-score du test a été obtenu en moyennant les z-scores des deux variables. A titre d'exemple, le Z-Splash, indiquant l'intensité du comportement dépressif des animaux testés dans le test de Splash, a été obtenu en moyennant les z-scores individuels de chaque souris pour la variable «*latence de toiletteage*» et la variable «*durée de*

toiletage». Enfin, pour étudier l'effet de la compression chronique du nerf sciatique sur la composante émotionnelle, un z-score d'émotivité globale (Z-Emotivité), reflétant l'état émotionnel général des animaux Sham et Cuff, a été calculé en moyennant les z-scores de chacun des quatre tests réalisés: OF, LDB, Splash et FST. Le test de préférence au sucrose, réalisé pour deux concentrations différentes (2.5% dans la cohorte A et 1.5% dans la cohorte B), n'a pas été inclus dans le calcul final du score d'émotivité.

Dans le test de l'OF, aucun effet du cuff sur le paramètre étudié n'est observé: moyenne Z-OF \pm SEM, Sham: 0.00 ± 0.19 ; Cuff: 0.36 ± 0.17 [t_{student} , $t_{56} = -1.43$, $p > 0.05$] (**Fig.43-A**). Un effet significatif de la compression du nerf sciatique est révélé dans les tests de LDB et de Splash, avec les animaux neuropathiques démontrant des z-scores significativement plus élevés que les souris contrôles: moyenne Z-LDB \pm SEM, Sham: 0.00 ± 0.16 ; Cuff: 0.49 ± 0.18 [t_{student} , $t_{56} = -2.03$, $p < 0.05$] (**Fig.43-B**) et moyenne Z-Splash \pm SEM, Sham: 0.00 ± 0.17 ; Cuff: 1.13 ± 0.20 [t_{student} , $t_{51} = -4.24$, $p < 0.001$] (**Fig.43-C**), respectivement. De plus, l'analyse du z-score global du test de FST montre également une tendance à l'augmentation du comportement dépressif des animaux neuropathiques en comparaison au groupe de référence: Z-FST \pm SEM, Sham: 0.00 ± 0.12 ; Cuff: 0.31 ± 0.11 [t_{student} , $t_{58} = -1.88$, $p = 0.07$] (**Fig.43-D**). La combinaison des z-valeurs de ces différents tests met en évidence un score d'émotivité significativement plus élevé chez les souris neuropathiques par rapport aux animaux Sham (moyenne Z-Emotivité \pm SEM, Sham: -0.06 ± 0.11 ; Cuff: 0.60 ± 0.09 [t_{student} , $t_{43} = -4.70$, $p < 0.001$] (**Fig.43-E**), indiquant ainsi un effet délétère de l'implantation du cuff sur l'état émotionnel global.

Pour résumer, la réalisation des différents tests comportementaux met en évidence l'émergence d'un phénotype anxio-dépressif consécutif à l'induction de l'allodynie mécanique causée par la compression chronique du nerf sciatique. Les animaux neuropathiques démontrent notamment un comportement de type anxieux dans le test de LDB, accompagné d'un comportement apparenté à la dépression dans le test de Splash. La normalisation des données par la méthode de z-scoring permet d'augmenter la sensibilité du FST, menant davantage à la révélation d'une tendance à l'augmentation du phénotype dépressif des animaux neuropathiques dans ce test et conduisant ainsi à un effet plus robuste de l'effet du cuff sur l'état émotionnel global des animaux. L'ensemble de ces résultats indiquent ainsi une altération

de la composante émotionnelle après la compression du nerf sciatique et reflètent la comorbidité anxio-dépressive qui est souvent associée en clinique à la douleur neuropathique chronique.

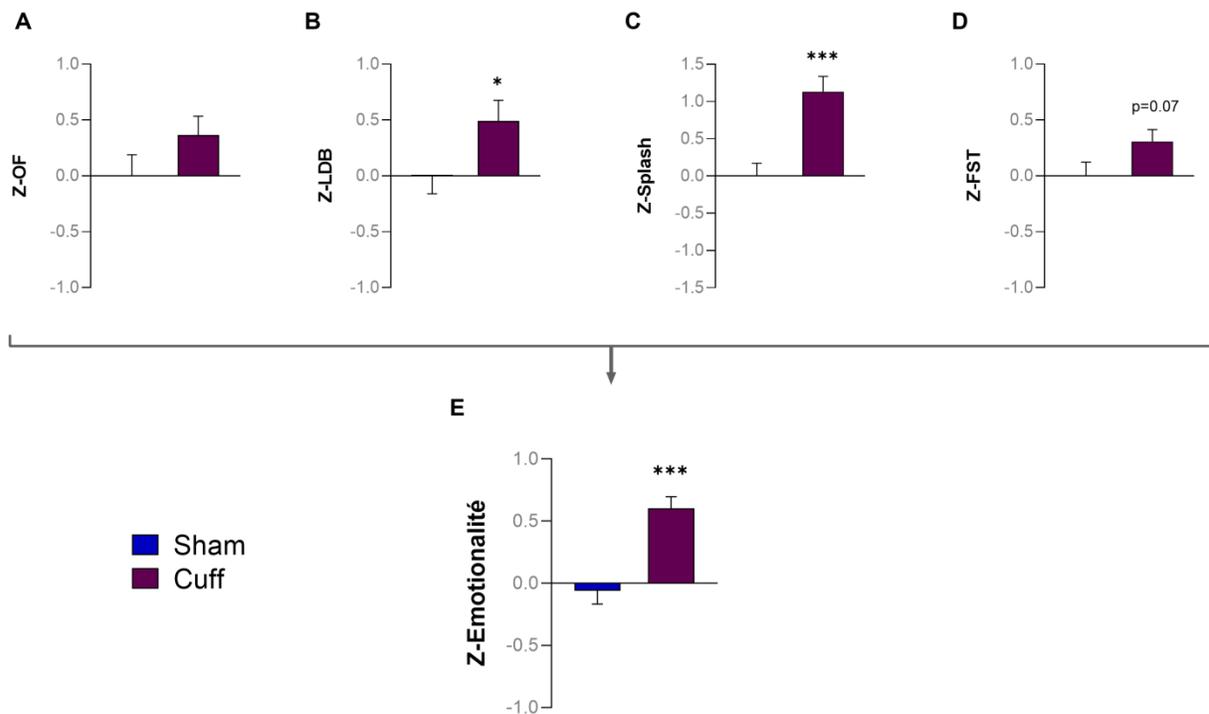


Fig. 43 L'effet de la compression chronique du nerf sciatique sur l'état émotionnel global des animaux. (A, B, C, D) Globalement, les animaux neuropathiques présentent un comportement anxio-dépressif plus prononcé que les souris contrôles dans les différents tests, avec une significativité démontrée dans le LDB et le Splash ainsi qu'une tendance observée dans le FST. (E) Les animaux ayant subi la compression chronique du nerf sciatique sont ainsi plus sensibles à la douleur et développent une comorbidité affective, mise en évidence par un score d'émotionalité significativement plus élevé par rapport aux souris Sham. Les données sont exprimées en moyenne±SEM (n=26-30/Sham; n=27-30/Cuff pour les différents tests et n=23/Sham; n=22/Cuff pour le score d'émotionalité). *p<0.05, ***p<0.001, test-t de Student pour comparaison Sham vs Cuff.

L'évaluation de la consommation d'une solution sucrée par rapport à l'eau a été réalisée en testant deux concentrations différentes. Une solution concentrée à 2.5% de sucrose a été utilisée chez les souris de la cohorte A (Sham, n=10; Cuff, n=18), tandis qu'une concentration plus faible de 1.5% a été testée chez les animaux de la cohorte B (Sham, n=19; Cuff, n=13). Il est considéré que la solution sucrée présente une valeur hédonique agréable pour les rongeurs et permet donc de mesurer la capacité des animaux à ressentir du plaisir lors de sa consommation. Bien que la comparaison entre groupes ne s'avère pas statistiquement significative pour les

deux concentrations testées (moyenne préférence au sucrose 2.5% (%) \pm SEM, Sham: 92.52 \pm 1.62; Cuff: 91.52 \pm 1.71, [MWU, Z=0.53, p>0.05] (Fig.44-A) et moyenne préférence au sucrose 1.5% (%) \pm SEM, Sham: 93.45 \pm 0.90; Cuff: 93.82 \pm 1.17, [MWU, Z=-1.09, p>0.05] (Fig.44-B)), des différences subtiles de préférence peuvent néanmoins être observées. En effet, lorsque comparé à une valeur standard de 50% (neutre), les deux groupes de souris développent une préférence pour la solution sucrée, indépendamment de la concentration utilisée: consommation solution sucrose 2.5% (%) \pm SEM, Sham, Wilcoxon: Z=2.80, p<0.01; Cuff, Wilcoxon: Z=3.72, p<0.001 (Fig.44-A) et consommation solution sucrose 1.5% (%) \pm SEM, Sham, Wilcoxon: Z=3.82, p<0.001; Cuff, Wilcoxon: Z=3.18, p<0.01 (Fig.44-B). Cependant, c'est la significativité statistique de préférence qui diffère en fonction de la concentration de sucrose. Ainsi, les animaux contrôles Sham développent une plus forte préférence pour la solution moins concentrée (p<0.001 vs p<0.01), tandis que les souris neuropathiques Cuff présentent une plus forte préférence pour la solution plus concentrée et une moindre préférence pour la solution moins concentrée (p<0.001 vs p<0.01). Il est envisageable que cette différence subtile de préférence chez les animaux neuropathiques résulte d'une différence du degré d'allodynie mécanique ressentie lors de la réalisation des deux tests: les animaux Cuff utilisés pour tester la solution sucrée à 2.5% présentent une sensibilité mécanique plus prononcée (moyenne sem 7 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 5.00 \pm 0.68; Cuff: 1.93 \pm 0.38, [MWU, Z=3.41, p<0.001]) que celle observée pour les souris neuropathiques utilisées pour tester la solution de sucrose à 1.5% (moyenne sem 7 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 4.60 \pm 0.36; Cuff: 2.54 \pm 0.56, [MWU, Z=2.71, p<0.01] (Fig.44).

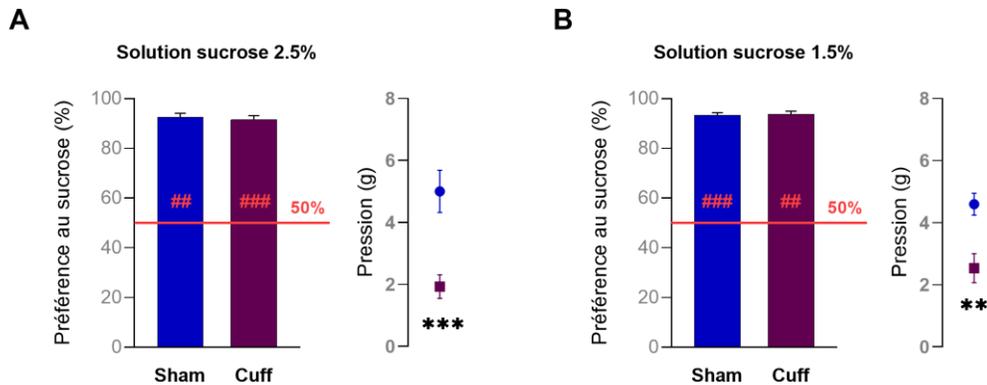


Fig. 44 Test de préférence au sucrose à 2.5% et à 1.5%. (A, B) La compression du nerf sciatique n’influence pas l’appréciation hédonique de la solution sucrée, indépendamment de la concentration utilisée. Les deux tests ont été réalisés pendant la 7^{ème} semaine post-cuff et les résultats de von Frey correspondant à ce délai sont représentés pour chaque cohorte. Les données sont exprimées en moyenne±SEM (n=10/Sham; n=18/Cuff pour la cohorte A et n=19/Sham; n=13/Cuff pour la cohorte B). Tests U de Mann-Whitney pour comparaison entre groupes Sham vs Cuff; ##p<0.01, ###p<0.001, tests de Wilcoxon appariés pour la comparaison à la valeur standard de 50% (représentée par une ligne rouge).

Afin de compléter l’analyse sur les effets comportementaux de la tDCS dans le modèle «Cuff», dans la suite de cette étude une évaluation de l’influence des sessions répétées de stimulation tardive sur le comportement anxio-dépressif des animaux sera réalisée.

2.3. Evaluation du potentiel curatif de la tDCS dans l’atténuation des conséquences affectives induite par la compression chronique du nerf sciatique

A la troisième semaine suivant la dernière session de stimulation, le comportement apparenté à l’anxiété et à la dépression a été évalué à travers 4 différents tests, à savoir l’OF, le NSF, le Splash et le FST (voir Fig.38). Ce délai entre la dernière session de stimulation et le début des tests comportementaux post-stim a été choisi en se basant sur des études précédentes issues de notre laboratoire qui, en utilisant les mêmes paramètres de stimulation, ont démontré des effets bénéfiques de la tDCS observables 3 semaines après la dernière session de stimulation. En particulier, ces travaux ont permis de montrer que la tDCS de polarité anodique permet d’améliorer la mémoire de travail et de diminuer l’envie de consommer («craving») dans un

modèle d'addiction à la nicotine chez la souris [Pedron et al., 2014] et d'atténuer les symptômes dépressifs dans un modèle murin d'anxiété-dépression [Peanlikhit et al., 2017].

Au sein de l'OF (**Fig.45-A**), L'ANOVA de Kruskal-Wallis montre un effet sur le temps passé dans la zone centrale de l'arène: $\chi^2_{[5,58]}=16.89$, $p<0.01$. La comparaison entre groupes révèle que les animaux neuropathiques n'ayant pas été soumis à la stimulation tDCS passent significativement moins de temps au centre du dispositif par rapport aux souris contrôles non stimulées: moyenne temps au centre (sec) \pm SEM, Sham No-stim: 122.55 ± 11.07 ; Cuff No-stim: 66.75 ± 11.02 , [MWU, $Z=2.82$, $p<0.01$]. Bien que la stimulation cathodique entraîne une augmentation du temps passé au centre chez les animaux neuropathiques (moyenne temps au centre (sec) \pm SEM, Cuff-Cathodal: 96.43 ± 14.68), cet effet reste cependant statistiquement non significatif. La polarité anodique n'affecte également pas le comportement anxieux des souris Cuff. La tDCS, indépendamment de la polarité de stimulation, n'influence pas non plus le comportement des souris Sham.

L'ANOVA de Kruskal-Wallis montre une forte tendance de la tDCS à influencer le comportement des animaux évalué dans le test de NSF: $\chi^2_{[5,53]}=11.00$, $p=0.051$ (**Fig.45-B**). Les souris neuropathiques non stimulées passent significativement plus de temps à initier le comportement consommatoire, démontrant ainsi un phénotype anxio-dépressif, par rapport aux animaux contrôles n'ayant pas été soumis à la tDCS: moyenne latence de première consommation (sec) \pm SEM, Sham No-stim: 165.00 ± 36.72 ; Cuff No-stim: 273.50 ± 48.21 , [MWU, $Z=-2.12$, $p<0.05$]. Tandis qu'aucun effet de la tDCS n'ait révélé chez les animaux Sham, les deux polarités de stimulation (anodique et cathodique) montrent une tendance à la diminution de la latence de consommation chez les souris neuropathiques: moyenne latence de première consommation (sec) \pm SEM, Cuff No-stim: 273.50 ± 48.21 ; Cuff-Anodal: 174.82 ± 26.37 , [MWU, $Z=1.90$, $p=0.06$] et Cuff-Cathodal: 152.71 ± 42.49 , [MWU, $Z=1.76$, $p=0.08$], respectivement. Cette réduction de la latence de consommation suite à la tDCS observée chez les souris neuropathiques ne semble pas être liée à un éventuel effet de la stimulation sur l'appétit car la consommation des animaux en cage habituelle, mesurée immédiatement après le test, n'est pas significativement affectée par le traitement: ANOVA de Kruskal-Wallis, $\chi^2_{[2,21]}=2.83$, $p>0.05$.

Concernant le comportement dépressif évalué dans le test de Splash (**Fig.45-C**), L'ANOVA de Kruskal-Wallis ne décèle aucun effet de la tDCS sur les deux paramètres étudiés: latence de toiletteage, $\chi^2_{[5,55]}=8.66$, $p>0.05$ et durée de toiletteage, $\chi^2_{[5,55]}=5.00$, $p>0.05$. Ainsi, la tDCS, indépendamment de la polarité de stimulation, n'a pas d'impact sur l'activité de toiletteage que ça soit chez les animaux Sham ou Cuff.

Dans le FST (**Fig.45-D**), l'ANOVA de Kruskal-Wallis démontre une tendance de la tDCS à influencer la latence d'immobilisation ($\chi^2_{[5,53]}=10.73$, $p=0.06$), mais aucun effet sur la durée d'immobilité ($\chi^2_{[5,53]}=8.13$, $p>0.05$). Chez les souris Sham, bien que les deux polarités de stimulation conduisent à une élévation de la latence d'immobilisation, les animaux ayant été soumis à la tDCS anodique présentent une augmentation significativement plus importante que le groupe contrôle de référence: moyenne latence d'immobilisation (sec) \pm SEM, Sham No-stim: 14.48 ± 4.21 ; Sham-Anodal: 33.00 ± 5.30 , [MWU, $Z=-2.07$, $p<0.05$]. Un tel effet n'est pas observé chez les animaux neuropathiques.

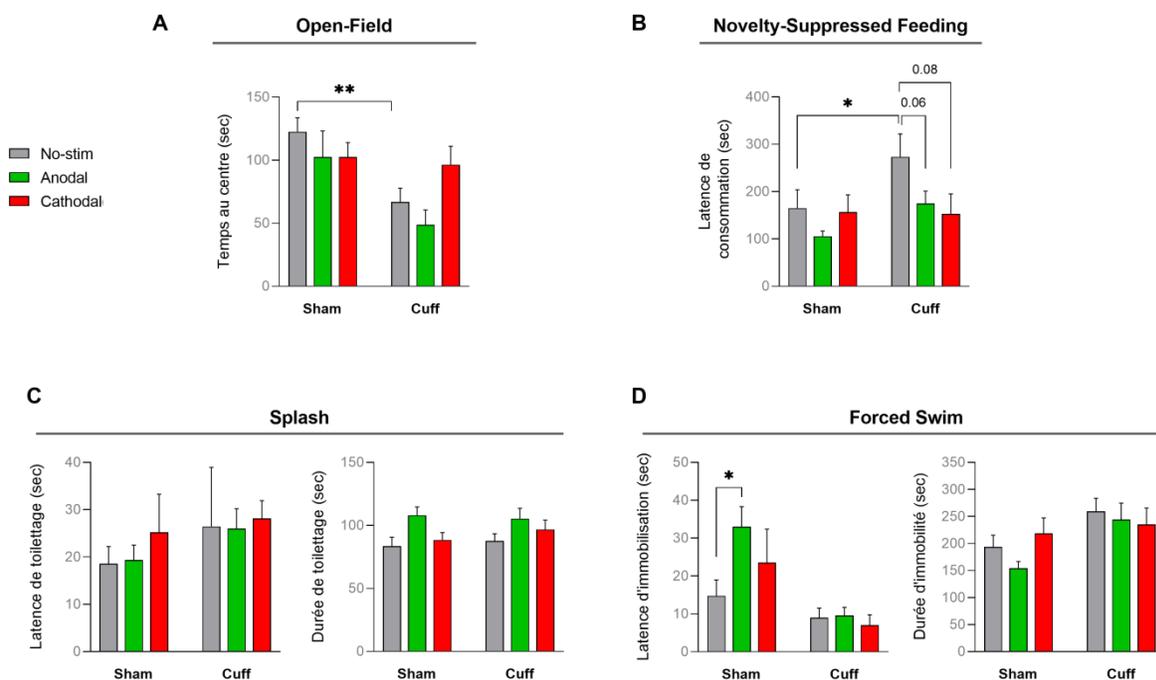


Fig. 45 Evaluation du potentiel curatif de la tDCS sur les conséquences émotionnelles induites par la douleur neuropathique. (A) La tDCS n'a aucun effet sur le phénotype anxieux des animaux neuropathiques dans le test de l'OF. (B) Les deux polarités de stimulation, anodique et cathodique, montrent une tendance à la diminution de la latence de consommation dans le test de NSF, suggérant un effet bénéfique de la tDCS chez les animaux

neuropathiques. (C) Aucun effet de la tDCS, indépendamment de la polarité de stimulation, n'est décelé sur le comportement apparenté à la dépression évalué dans le test de Splash. (D) La stimulation de polarité anodique exerce un effet bénéfique sur le comportement de type dépressif chez les souris contrôles, démontré par une augmentation significative de la latence d'immobilisation dans le FST. Les données sont exprimées en moyenne±SEM (n=9-10/Sham No-stim; n=7-9/Sham-Anodal; n=9-11/Sham-Cathodal; n=9-11/Cuff No-stim; n=10-12/Cuff-Anodal; n=7-8/Cuff-Cathodal). *p<0.05, **p<0.01, ANOVA de Kruskal-Wallis suivie de tests U de Mann-Whitney pour comparaison entre les différents groupes expérimentaux pour chacun des paramètres des tests comportementaux.

Les résultats des tests comportementaux réalisés après la stimulation tDCS montrent dans un premier temps que les animaux neuropathiques présentent toujours une altération du comportement anxio-dépressif, révélée notamment par une baisse du temps passé au centre de l'OF et une augmentation de la latence de consommation dans le NSF. Cependant, les souris neuropathiques ne démontrent aucun phénotype dépressif ni dans le test de Splash ni dans le FST. En se plaçant dans le contexte expérimental (voir Fig.38), les tests de l'OF et de NSF ont été réalisés pendant la 13^{ème} semaine post-cuff, tandis que le Splash et le FST ont eu lieu pendant la 14^{ème} et la 15^{ème} semaine post-cuff, respectivement. En prenant en compte la cinétique de l'allodynie mécanique (voir Fig.39), il semblerait alors que l'effet de la compression chronique du nerf sciatique sur le comportement émotionnel perdure le moment que les animaux présentent une altération de la composante somatosensorielle. Autrement dit, une fois que les souris neuropathiques entrent dans la phase de récupération spontanée, qui commence à se mettre en place à partir de la 14^{ème} semaine post-cuff, l'impact de l'implantation du cuff sur le phénotype émotionnel est également atténué.

Concernant la tDCS, il semblerait qu'elle a un effet bénéfique sur le phénotype anxio-dépressif des animaux neuropathiques, suggéré notamment par une tendance à la diminution de la latence de consommation dans le test de NSF. Chez les souris du groupe contrôle Sham, la stimulation de polarité anodique exerce aussi un effet positif sur le comportement de type dépressif évalué dans le FST, démontré notamment par une augmentation significative de la latence d'immobilisation. Comparé aux résultats du test FST réalisé pendant la 8^{ème} semaine post-cuff (pré-stim), lors de la réplication de ce test pendant la 15^{ème} semaine post-cuff (post-stim), les animaux contrôles présentent une tendance à la baisse des valeurs pour le

paramètre «*latence d'immobilisation*» (moyenne latence d'immobilisation en pré-stim (sec) \pm SEM, Sham: 70.50 ± 8.28 vs moyenne latence d'immobilisation en post-stim (sec) \pm SEM, Sham No-stim: 14.78 ± 4.21 , Wilcoxon: $Z=1.84$, $p=0.07$) et une augmentation significative des valeurs pour le paramètre «*durée d'immobilité*» (moyenne durée d'immobilité en pré-stim (sec) \pm SEM, Sham: 104.83 ± 7.78 vs moyenne durée d'immobilité en post-stim (sec) \pm SEM, Sham No-stim: 193.93 ± 20.26 , Wilcoxon: $Z=2.67$, $p<0.01$), suggérant ainsi une détérioration du comportement émotionnel avec la répétition du test. Les animaux neuropathiques non stimulés semblent également être affectés par l'effet répétition du test FST, démontré notamment par une tendance à la diminution de la latence d'immobilisation (moyenne latence d'immobilisation en pré-stim (sec) \pm SEM, Cuff: 55.47 ± 7.20 vs moyenne latence d'immobilisation en post-stim (sec) \pm SEM, Cuff No-stim: 9.00 ± 2.52 , Wilcoxon: $Z=1.78$, $p=0.07$) et une augmentation significative de la durée d'immobilité (moyenne durée d'immobilité en pré-stim (sec) \pm SEM, Cuff: 116.87 ± 8.03 vs moyenne durée d'immobilité en post-stim (sec) \pm SEM, Cuff No-stim: 259.31 ± 24.32 , Wilcoxon: $Z=2.80$, $p<0.01$). Ainsi, l'effet de la tDCS anodique sur la latence d'immobilisation observé chez les souris contrôles Sham non stimulées est probablement influencé par la répétition du test FST.

La normalisation des données brutes des différents tests comportementaux par la méthode de z-scoring montre les mêmes significativités statistiques que précédemment décrites (Fig.46).

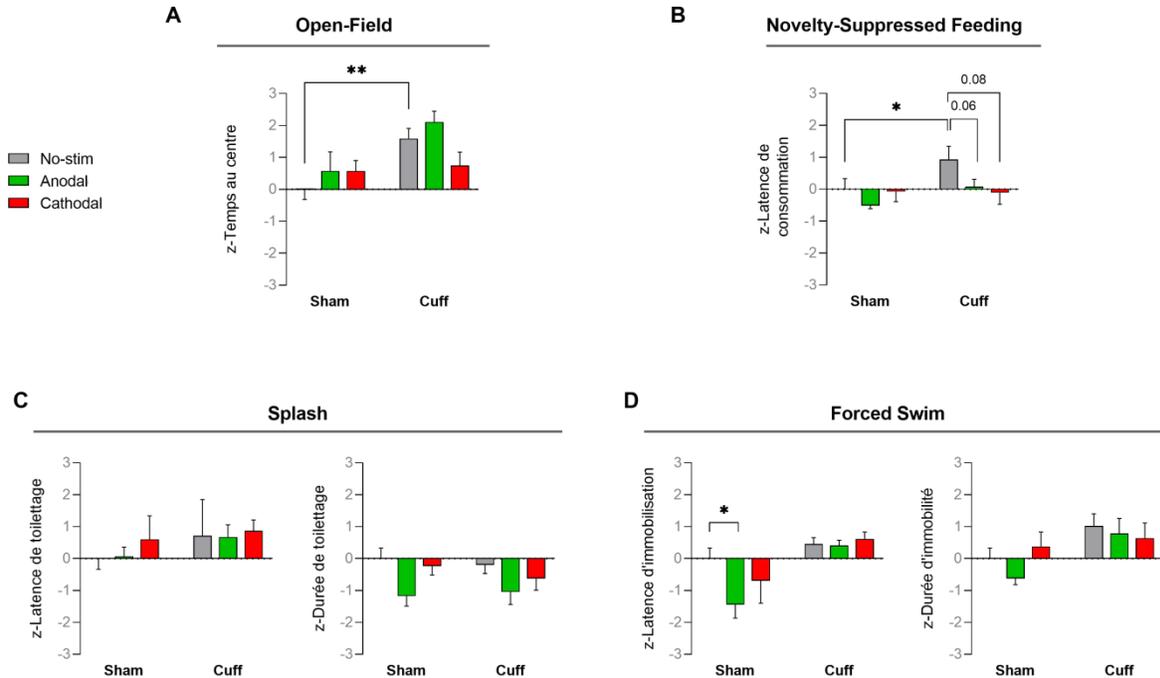


Fig. 46 Normalisation par la méthode de z-scoring des données issues des tests comportementaux réalisés après la stimulation tardive par la tDCS. Les données brutes des différents tests post-stim ont été normalisées en utilisant le groupe Sham No-stim (n'ayant pas subi la compression chronique du nerf sciatique et n'ayant pas reçu de stimulation active) comme groupe de référence. L'analyse statistique des z-scores a abouti aux mêmes p-valeurs que celles observées avant la normalisation. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM (n=9-10/Sham No-stim; n=7-9/Sham-Anodal; n=9-11/Sham-Cathodal; n=9-11/Cuff No-stim; n=10-12/Cuff-Anodal; n=7-8/Cuff-Cathodal). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ANOVA de Kruskal-Wallis suivie de tests U de Mann-Whitney pour comparaison entre les différents groupes expérimentaux pour chacun des paramètres des tests comportementaux.

Les z-scores ont été ensuite moyennés pour obtenir un score spécifique pour chaque test comportemental. Pour étudier l'effet de la tDCS sur la dimension émotionnelle, le score global d'émotivité a été calculé en moyennant les z-scores des 4 tests réalisés. Les z-scores de l'OF et de NSF étant basés sur une seule variable dépendante, l'analyse statistique aboutit aux mêmes p-values que précédemment observées. Ainsi, dans le test de l'OF, les animaux ayant subi la compression du nerf sciatique mais qui n'ont pas été stimulés par la tDCS présentent un état émotionnel significativement plus élevé en comparaison des souris du groupe contrôle de référence: moyenne Z-OF \pm SEM, Sham No-stim: 0.00 ± 0.32 ; Cuff No-stim: 1.59 ± 0.31 , [MWU, $Z = -2.82$, $p < 0.01$] (**Fig.47-A**). Une telle différence entre les deux groupes expérimentaux est aussi démontrée dans le test de NSF: moyenne Z-NSF \pm SEM, Sham No-stim: 0.00 ± 0.32 ; Cuff No-stim: 0.93 ± 0.42 , [MWU, $Z = -2.12$, $p < 0.05$] (**Fig.47-B**). De plus, une tendance à un effet du traitement

tDCS sur le score spécifique du test NSF est révélée, indiquée notamment par des z-scores moins élevés chez les souris neuropathiques ayant reçu des sessions répétées de polarité anodique ($p=0.06$) et de polarité cathodique ($p=0.08$) (par rapport aux souris Cuff non stimulées). Aucun effet, ni de l'implantation du cuff ni du traitement tDCS, sur le comportement dépressif évalué à travers le test de Splash n'est observé, probablement dû en grande partie à une variabilité interindividuelle importante dans les différents groupes d'animaux expérimentaux étudiés (Fig.47-C). Le calcul du score global pour le test de FST (Fig.47-D) permet de mettre en évidence une différence significative du comportement entre les animaux neuropathiques non stimulés et les souris contrôles non stimulées (moyenne Z-FST \pm SEM, Sham No-stim: 0.00 ± 0.28 ; Cuff No-stim: 0.74 ± 0.23 , [MWU, $Z=-2.04$, $p<0.05$]), montrant ainsi que la normalisation des données conduit à une évaluation plus robuste de l'effet de la compression chronique du nerf sciatique sur l'état émotionnel. L'impact des stimulations anodiques répétées sur le comportement de type dépressif des souris contrôles est également normalisé, révélant cette fois-ci une tendance à la baisse: moyenne Z-FST \pm SEM, Sham No-stim: 0.00 ± 0.28 ; Sham-Anodal: -1.03 ± 0.24 , [MWU, $Z=1.96$, $p=0.05$], suggérant que la méthode de z-scoring permet de minimaliser la variabilité induite par la répétition du test et aboutit à un effet plus fiable de l'effet de la tDCS sur le comportement émotionnel.

En ce qui concerne le score d'émotivité globale (Fig.47-E), les animaux neuropathiques non stimulés présentent toujours un état émotionnel plus prononcé que celui des souris contrôles non stimulées: moyenne Z-Emotivité \pm SEM, Sham No-stim: 0.13 ± 0.18 ; Cuff No-stim: 0.93 ± 0.29 , [MWU, $Z=-1.85$, $p=0.06$]. La réduction de la significativité statistique au niveau du score d'émotivité mesuré entre la 6^{ème} et la 8^{ème} semaine post-cuff et celui évalué entre la 13^{ème} et la 15^{ème} semaine post-cuff ($p<0.001$ vs $p=0.06$) est probablement due au fait que le calcul du deuxième score d'émotivité globale inclut les résultats des deux tests comportementaux (Splash et FST) qui ont été réalisés dans la phase de récupération des animaux neuropathiques de l'allodynie mécanique. Pour l'effet de la stimulation tardive, l'ANOVA de Kruskal-Wallis révèle un effet significatif de la tDCS sur le score d'émotivité globale des souris: $\chi^2_{[5,39]}=15.11$, $p<0.01$). La comparaison entre groupes met en effet en évidence une baisse significative d'émotivité chez les souris contrôles ayant été soumises à des

sessions répétées de polarité anodique: moyenne Z-Emotionalité \pm SEM, Sham No-stim: 0.13 ± 0.18 ; Sham-Anodal: -0.58 ± 0.17 , [MWU, $Z=2.38$, $p < 0.05$]. Chez les animaux neuropathiques, l'analyse statistique montre cette fois-ci une forte tendance de la stimulation cathodique à normaliser le comportement émotionnel altéré par la compression chronique du nerf sciatique: moyenne Z-Emotionalité \pm SEM, Cuff No-stim: 0.93 ± 0.29 ; Cuff-Cathodal: 0.18 ± 0.23 , [MWU, $Z=1.87$, $p=0.06$].

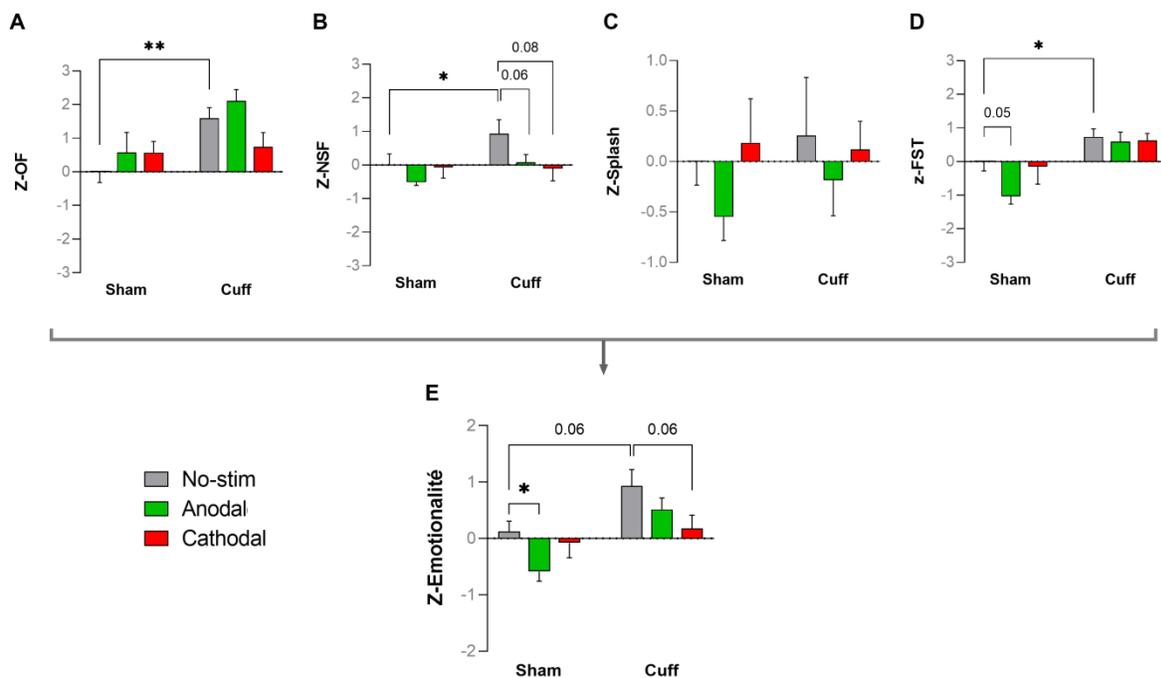


Fig. 47 L'effet des sessions répétées de stimulation tardive par la tDCS sur l'état émotionnel global des animaux. (A, B, C, D) Globalement, les animaux neuropathiques présentent un comportement anxio-dépressif plus prononcé que celui des souris contrôles dans les différents tests, avec une significativité observée dans les tests de l'OF, le NSF et le FST, mais sans aucun effet démontré de la compression chronique du nerf sciatique dans le test de Splash. (E) L'implantation du cuff continue à affecter le comportement émotionnel des animaux, même après un délai éloigné de la chirurgie (13-15 semaines post-cuff), indiquée par une tendance à l'augmentation du score d'émotionalité global des souris neuropathiques par rapport au groupe contrôle de référence. Alors que chez les souris Sham la stimulation de polarité anodique induit une normalisation de l'état émotionnel, chez les animaux Cuff c'est la stimulation cathodique qui démontre un effet potentiellement bénéfique. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM ($n=9-10$ /Sham No-stim; $n=7-9$ /Sham-Anodal; $n=9-11$ /Sham-Cathodal; $n=9-11$ /Cuff No-stim; $n=10-12$ /Cuff-Anodal; $n=7-8$ /Cuff-Cathodal pour les différents tests comportementaux et $n=8$ /Sham No-stim; $n=4$ /Sham-Anodal; $n=7$ /Sham-Cathodal; $n=7$ /Cuff No-stim; $n=8$ /Cuff-Anodal; $n=5$ /Cuff-Cathodal pour le score d'émotionalité global). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, tests U de Mann-Whitney pour comparaison entre les différents groupes expérimentaux.

Etant donné que l'effet de la tDCS sur le score d'émotivité globale des animaux neuropathiques peut être biaisé par la phase de récupération spontanée, ce score a été à nouveau calculé en prenant en compte cette fois-ci uniquement les tests qui ont été réalisés avant le début de cette phase de récupération (en moyennant les z-scores des tests OF et NSF) afin d'essayer de spécifier la validité thérapeutique de la tDCS en condition pathologique (Fig.48). L'analyse statistique de ce nouveau score révèle que les animaux neuropathiques n'ayant pas reçu de stimulation active présentent un phénotype anxio-dépressif significativement plus important que les souris contrôles non stimulées: moyenne Z-Emotivité \pm SEM, Sham No-stim: 0.07 ± 0.28 ; Cuff No-stim: 1.31 ± 0.23 , [MWU, $Z = -2.86$, $p < 0.01$]. L'ANOVA de Kruskal-Wallis décèle un effet de la tDCS tardive sur l'état émotionnel: $\chi^2_{[5,52]} = 17.28$, $p < 0.01$. Bien qu'aucun effet de la stimulation de polarité anodique ne soit démontré en condition pathologique, un effet significatif de la tDCS tardive de polarité cathodique sur le score anxio-dépressif global des animaux neuropathiques est observé: Z-Emotivité \pm SEM, Cuff No-stim: 1.31 ± 0.23 ; Cuff-Cathodal: 0.21 ± 0.27 , [MWU, $Z = 2.54$, $p = 0.01$]. La tDCS, indépendamment de la polarité de stimulation, n'a pas d'impact sur l'émotivité des souris contrôles Sham.

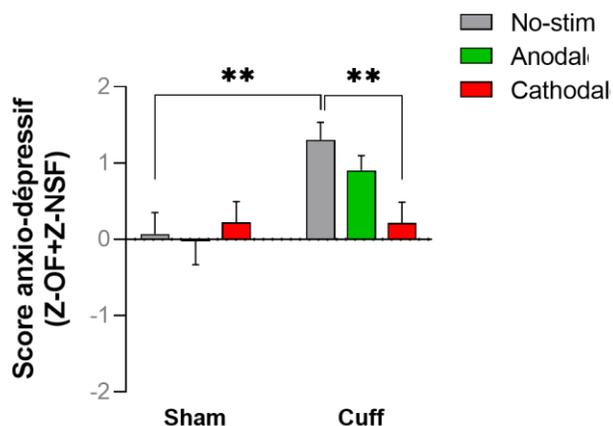


Fig. 48 L'effet de la tDCS tardive sur le comportement anxio-dépressif global des animaux. Les animaux neuropathiques non stimulés démontrent un phénotype anxio-dépressif plus important que les souris contrôles non stimulées, indiqué par un z-score d'émotivité significativement plus élevé. Tandis que la tDCS ne montre aucun effet chez les souris Sham, les sessions répétées de stimulation cathodique permettent de normaliser le comportement émotionnel altéré par la compression chronique du nerf sciatique chez les animaux neuropathiques. Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM (n=9/Sham No-stim; n=7/Sham-Anodal; n=9/Sham-

Cathodal; n=10/Cuff No-stim; n=10/Cuff-Anodal; n=7/Cuff-Cathodal). ** $p \leq 0.01$, tests U de Mann-Whitney pour comparaison entre les différents groupes expérimentaux.

Ce score anxio-dépressif, qui ne prend pas en considération la phase de récupération des animaux neuropathiques ainsi que l'effet de répétition du test de FST, semble donc fournir une analyse plus fiable de l'effet de la compression chronique du nerf sciatique d'une part et de l'effet du traitement tardif par la tDCS d'autre part sur le comportement émotionnel des animaux.

3. Résumé et discussion des résultats obtenus

Dans un premier temps, les résultats de cette étude mettent en évidence que l'implantation unilatérale du manchon en polyéthylène autour du nerf sciatique de la patte postérieure droite induit le développement d'une allodynie mécanique ipsilatérale, confirmant la validité du modèle «*Cuff*» de neuropathie au sein de notre laboratoire. Cette sensibilité accrue en réponse à des stimuli mécaniques normalement non douloureux se maintient à long-terme, perdurant jusqu'à 13 semaines (3 mois) après la chirurgie. Après cette période, le seuil nociceptif des animaux Cuff revient d'une manière spontanée à un niveau comparable à celui des souris contrôles. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature rapportant une cinétique d'évolution similaire de l'allodynie mécanique dans le modèle murin du «*Cuff*» [Benbouzid et al., 2008a; Yalcin et al., 2011]. Si on compare quelques études précliniques utilisant ce modèle de neuropathie chez la souris, il est possible de constater que le seuil nociceptif basal (avant la compression du nerf sciatique) varie entre 4g à 6g. Par exemple, le seuil nociceptif basal chez les souris C57BL/6J de Charles River est généralement de 6g [Benbouzid et al., 2008a; Yalcin et al., 2011; Barthas et al., 2017], tandis que les souris C57BL/6J en provenance de Jackson Laboratory présentent une valeur basale d'environ 4g [Andreoli et al., 2017]. Dans notre étude, les souris C57BL/6J issues de Janvier Labs démontrent un seuil nociceptif basal intermédiaire, à savoir environ 5g. Ces données suggèrent donc que 1) le seuil nociceptif basal peut varier en fonction du fournisseur et que 2) la compression chronique du nerf sciatique permet de modéliser de manière fiable la douleur neuropathique chez l'animal,

objectivée par la mise en place d'une allodynie mécanique à long-terme, indépendamment du fournisseur utilisé. Il faut néanmoins noter que durant les 3 premières semaines suivant la chirurgie, le seuil nociceptif de la patte postérieure controlatérale des animaux neuropathiques est intermédiaire entre celui observé pour la patte arrière ipsilatérale opérée et celui des souris Sham, suggérant que la compression unilatérale du nerf sciatique influence, bien qu'à un moindre degré, la sensibilité mécanique de la patte controlatérale non opérée. De plus, en comparaison au seuil basal, un léger changement de la réponse aux stimuli mécaniques est observé chez les animaux contrôles Sham, laissant à penser que la chirurgie seule peut aussi avoir un impact sur le comportement nociceptif.

Dans le modèle «*Cuff*», les animaux neuropathiques présentent spontanément une résolution de l'allodynie mécanique. Pour autant, le fait que les souris ne démontrent plus de comportement de douleur provoquée (réponse à des stimuli mécaniques) ne signifie pas qu'elles sont dépourvues des signes de douleur spontanée. En effet, certaines études ont notamment mis en évidence que la douleur spontanée persiste au-delà de la disparition de l'allodynie mécanique [Barthas et al., 2015; Sellmeijer et al., 2018]. De plus, Barthas et collègues ont démontré que la lésion du cortex insulaire postérieur supprime le développement de l'allodynie mécanique mais n'affecte pas la douleur spontanée, tandis que la lésion du cortex cingulaire antérieur bloque la douleur spontanée sans impacter l'allodynie mécanique, suggérant donc des mécanismes distincts entre les deux symptômes douloureux induits par la compression chronique du nerf sciatique [Barthas et al., 2015]. Comme précédemment évoqué dans l'introduction de ce manuscrit, le diagnostic de la douleur neuropathique en clinique n'est pas exclusivement basé sur la présence ou l'absence d'une hypersensibilité mécanique. La majorité des patients déclarent souffrir des signes positifs d'origine spontanée se manifestant en absence de tout stimulus, décrits principalement comme des sensations de fourmillements, engourdissements, picotements, démangeaisons [Backonja et Stacey, 2004; Gilron et al., 2015]. La composante spontanée de la douleur neuropathique reste difficilement quantifiable chez les rongeurs. Le plus souvent, elle est appréhendée à travers le test de préférence de place conditionné dans lequel l'animal est conditionné à associer l'injection intrathécale de clonidine (analgésique non morphinique dépourvu de pouvoir addictif) à un environnement particulier

[King et al., 2009; Barthas et al., 2015; Kamoun et al., 2021]. Dans ce test, la clonidine exerce son effet anti-nociceptif uniquement si l'animal présente des signes de douleur spontanée. Si c'est le cas, l'animal aura tendance à passer plus de temps dans le compartiment associé au soulagement de la douleur lors des passages ultérieurs effectués sans la substance analgésique. Il a été proposé que l'évaluation de certains comportements, tels que le redressement exacerbé, le tremblement et le léchage de la patte lésée, la diminution de l'activité locomotrice ainsi que la répartition anormale du poids de l'animal entre les différentes pattes, pourrait permettre une meilleure caractérisation de la douleur spontanée chez le rongeur. Cependant, Mogil et collègues, qui ont étudié ces comportements dans deux modèles de neuropathie (CCI et SNI) en utilisant 22 souches de souris, ont conclu que ces comportements ne permettent pas de détecter de manière fiable la douleur spontanée chez les souris neuropathiques [Mogil et al., 2010]. Afin d'essayer de se rapprocher le plus possible à la condition clinique, une échelle d'expressions faciales a été développée chez la souris (MGS: Mouse Grimace Scale) afin d'essayer d'évaluer le comportement de douleur spontanée [Langford et al., 2010]. Cette échelle est basée sur l'évaluation de cinq caractéristiques faciales permettant de détecter les signes de douleur chez l'animal, tels que la fermeture des yeux, la contraction du museau et des joues, l'étirement des oreilles en arrière et le changement de la position des moustaches en arrière ou en avant du visage. Trois de ces cinq expressions faciales sont similaires à celles observées chez l'Homme, notamment la fermeture des yeux, ainsi que la contraction du nez et des joues. Il est cependant important de noter que ces caractéristiques faciales ont été relevées en analysant des images de souris avant et après l'injection de l'acide acétique conduisant à une constriction abdominale, c'est-à-dire à un stimulus nociceptif d'intensité et de durée modérée. Ainsi, bien que le développement d'un tel outil d'évaluation de la douleur spontanée chez les rongeurs présente un avantage non négligeable pour la découverte de médicaments plus adaptés à la pathologie humaine, son utilisation reste encore à être validée dans des modèles de neuropathie où l'intensité et la durée de la douleur sont beaucoup plus importantes.

Les résultats de von Frey présentés dans cette étude montrent aussi que le protocole de stimulation tardive du cortex frontal gauche affecte le comportement nociceptif des animaux Sham testés. Tandis que la polarité anodique résulte en une diminution relativement soutenue

des seuils nociceptifs de la patte droite, la polarité cathodique mène à une augmentation transitoire du seuil de perception nociceptive de la patte gauche. Si on se base sur les données des travaux de Michael A. Nitsche réalisés chez les sujets sains, il est considéré que les effets à court et à long-terme de la tDCS sont en grande partie dépendants de la polarité de stimulation [Nitsche et Paulus, 2000; Nitsche et al., 2005]. Ainsi, il est possible que lorsque les souris Sham sont soumises à des sessions répétées de polarité anodique cela conduise à une potentialisation de la transmission glutamatergique au sein des circuits neuronaux impliqués dans le traitement nociceptif, résultant donc en une augmentation de l'excitabilité cortico-spinale et une facilitation des voies descendantes excitatrices ce qui en condition physiologique aurait plutôt comme effet d'augmenter la sensibilité mécanique. De manière intéressante, la stimulation de polarité cathodique démontre un effet transitoire seulement sur le seuil nociceptif de la patte gauche. Cet effet peut résulter d'une différence d'évolution du seuil nociceptif entre les deux pattes, qui est probablement due au fait que la patte droite a été soumise à la procédure de chirurgie, tandis que la gauche n'a pas été manipulée. Si on compare les deux pattes, on se rend compte que le seuil nociceptif de la patte gauche présente une diminution progressive au cours du temps qui est plus importante de celle observée pour la patte droite, ce qui pourrait refléter une altération du fonctionnement des mécanismes endogènes d'inhibition de la douleur. Dans ces conditions expérimentales, la tDCS cathodique semble avoir un effet normalisateur permettant de ramener le seuil nociceptif de la patte gauche vers un niveau similaire à celui de la patte droite. En se basant sur les données de l'étude de Huang et collègues qui ont démontré que des projections directes du cortex préfrontal médian (en particulier l'aire prélimbique) sur les neurones de la PAG ventrolatérale sont impliquées dans le contrôle modulateur descendant de la douleur [Huang et al., 2019], il est possible de supposer que la stimulation répétitive du cortex frontal par la polarité cathodique engendrait une réduction de l'activité des neurones glutamatergiques et une potentialisation de l'activité des interneurons GABAergiques à la parvalbumine du cortex préfrontal. Ces interneurons en faisant synapse avec les neurones de la PAG vont permettre la transmission de l'information nociceptive à la RVM et le locus coeruleus qui vont alors inhiber la facilitation de la voie excitatrice descendante vers la corne dorsale de la moëlle épinière, conduisant ainsi à une normalisation de l'excitabilité spinale et

par conséquent du comportement nociceptif. Dimov et collaborateurs qui ont étudié l'effet de la stimulation cathodique (250 μ A, 15min) sur le cortex moteur ont aussi mis en évidence une augmentation du seuil nociceptif mécanique chez des rats naïfs [Dimov et al., 2016]. Cet effet a été accompagné d'une diminution de l'activité neuronale dans la PAG et dans les laminae I et II de la moëlle épinière, ainsi que d'une baisse du niveau d'expression spinal des enképhalines, neuropeptides opioïdes endogènes, confirmant ainsi que la tDCS est capable de moduler les voies descendantes nociceptives. Outre le cortex moteur primaire, Vaseghi et collègues ont démontré chez les sujets sains que la stimulation du cortex somatosensoriel primaire ainsi que du cortex préfrontal dorsolatéral par la tDCS cathodique (0.3mA, 20min) permet également d'augmenter les seuils de perception sensoriel et douloureux [Vaseghi et al., 2015].

Chez les animaux neuropathiques, la tDCS tardive ne démontre aucun effet thérapeutique sur l'allodynie mécanique induite par la compression du nerf sciatique. Ce manque d'efficacité est probablement lié à la chronicité de la douleur. En effet, dans cette étude le traitement par la tDCS a été appliqué dans un stade tardif où les modifications de plasticité maladaptative sont déjà consolidées depuis longtemps, menant à une sensibilisation centrale robuste qui ne peut potentiellement plus être affectée par les stimulations répétitives. Ainsi, il est possible qu'en condition pathologique avancée l'état d'hyperexcitabilité globale du système nerveux soit déjà à son niveau maximal et de ce fait la stimulation de polarité anodique ne puisse exciter davantage un réseau qui est déjà hyperexcité et que l'effet inhibiteur de la stimulation de polarité cathodique ne soit pas assez efficace pour équilibrer la balance excitation/inhibition. Il a été démontré chez le rat que l'injection intrathécale de GABA est capable d'atténuer l'allodynie mécanique lorsqu'il est administré peu de temps après la constriction chronique du nerf sciatique (1 à 2 semaines), alors qu'une application au-delà de ce délai ne démontre aucun effet sur le comportement nociceptif [Eaton et al., 1999]. De plus, Smits et collègues ont mis en évidence que l'efficacité analgésique de la stimulation médullaire dans le modèle de ligature partielle du nerf sciatique chez le rat est dépendante du degré de sévérité de l'allodynie mécanique, qui est considéré à refléter le degré de sévérité de la sensibilisation centrale [Smits et al., 2006]. Plus précisément, les auteurs ont montré que la stimulation médullaire exerce un effet anti-nociceptif rapide et robuste chez les animaux présentant une allodynie mécanique

légère, alors qu'aucun effet thérapeutique suite au traitement n'est observé chez les rats souffrant d'une allodynie sévère. Ces données soulignent donc l'importance du choix de la fenêtre d'intervention et incitent à penser que l'efficacité thérapeutique de la tDCS sur la composante sensori-discriminative de la douleur neuropathique pourrait potentiellement être améliorée si elle est appliquée à un délai plus précoce.

Bien qu'aucun effet analgésique de la tDCS sur le comportement des animaux neuropathiques n'ait été observé dans cette étude, la stimulation de polarité cathodique entraîne une diminution significative du seuil nociceptif pendant la 4^{ème} semaine post-tDCS. La mise en évidence d'un tel effet à ce délai semble avoir son importance. Dans nos conditions expérimentales, les souris neuropathiques commencent à récupérer de l'allodynie mécanique à partir de la 14^{ème} semaine post-cuff (équivalent à la 4^{ème} semaine post-tDCS). Ainsi, il semblerait que la stimulation cathodique interfère avec les mécanismes de récupération qui sont en train de se mettre en place, ce qui a comme effet de retarder la phase de récupération spontanée. Okamoto et collègues [Okamoto et al., 2001] ont montré dans le modèle CCI chez le rat que cette récupération de l'allodynie mécanique est associée à une augmentation d'expression de l'IL-10 qui est une cytokine bien connue pour ses propriétés anti-inflammatoires [Moore et al., 2001; Sabat et al., 2010]. Ceci suggère que la récupération spontanée est probablement soutenue par une résolution de l'inflammation permettant un retour vers un équilibre entre cytokines pro- et anti-inflammatoires. Il serait alors intéressant d'étudier les effets de la tDCS sur les processus inflammatoires aussi bien au niveau central qu'au niveau systémique, ce qui permettrait d'élargir le champ d'application thérapeutique de cette technique non invasive de neuromodulation.

En clinique, la douleur neuropathique est souvent associée à des comorbidités anxio-dépressives [Katona et al., 2005; Radat et al., 2013; Cherif et al., 2020]. Au cours des dernières années, des études précliniques ont mis en évidence qu'il est également possible de modéliser cette altération de la composante affectivo-émotionnelle de la douleur dans différents modèles de neuropathie [Suzuki et al., 2007; Zeng et al., 2008; Yalcin et al., 2011; Alba-Delgado et al., 2013; Caspani et al., 2014; Sellmeijer et al., 2018; Sieberg et al., 2018; Birmann et al., 2019]. Les résultats des différents tests comportementaux réalisés dans cette étude ainsi que le calcul d'un

score d'émotionalité global ont permis de confirmer que la douleur neuropathique, objectivée par la mise en place d'une allodynie mécanique à long-terme, conduit au développement des symptômes anxio-dépressifs comorbides chez les animaux neuropathiques Cuff. Dans nos conditions expérimentales, lorsque les données ne sont pas normalisées par rapport au groupe contrôle, les animaux ayant subi la compression chronique du nerf sciatique commencent à présenter un phénotype anxio-dépressif à partir de la 7^{ème} semaine post-cuff. Cette perturbation de la composante affectivo-émotionnelle est encore évidente jusqu'à la 13^{ème} semaine post-chirurgie, mais disparaît ensuite à partir de la 14^{ème} semaine post-cuff. Comme évoqué précédemment, au premier abord ceci suggère que les conséquences affectives de la douleur neuropathique disparaissent avec la résolution de l'allodynie mécanique. Cependant, lorsque les données sont traitées en appliquant la méthodologie de z-scoring, qui permet d'augmenter la fiabilité des résultats comportementaux, il est possible d'observer que les animaux neuropathiques continuent à démontrer un phénotype dépressif même pendant la 15^{ème} semaine post-cuff, c'est-à-dire en absence d'une hypersensibilité mécanique. En effet, certaines études de la littérature suggèrent que les altérations comportementales induites par l'atteinte nerveuse peuvent persister au-delà du délai de récupération spontanée, à savoir au moins jusqu'à 6 semaines après la normalisation de la sensibilité mécanique [Dimitrov *et al.*, 2014; Sellmeijer *et al.*, 2018]. Il faut néanmoins noter que dans ces études différentes cohortes d'animaux ont été utilisées pour chaque test comportemental, tandis que dans notre étude les deux cohortes d'animaux utilisées ont été systématiquement soumises à plusieurs tests comportementaux. Ainsi, la réalisation de multiples tests sur les mêmes cohortes et la répétition de certains tests ont pu affecter le comportement des animaux et nos résultats sont donc à traiter avec précaution, notamment en ce qui concerne l'évolution temporelle des conséquences anxio-dépressives.

Etant donné que la phase de récupération spontanée peut minimiser l'effet thérapeutique de la tDCS, le calcul final du score d'émotionalité post-stim a uniquement pris en compte les tests comportementaux qui ont été réalisés avant la résolution de l'allodynie mécanique. Le score d'émotionalité global post-stim ainsi obtenu indique que la tDCS, lorsque qu'elle est appliquée au stade tardif, permet d'atténuer le phénotype anxio-dépressif chez les animaux

neuropathiques, démontrant ainsi que le ciblage du cortex frontal présente un intérêt dans la modulation de la composante émotionnelle de la douleur. De manière intéressante, cet effet est uniquement observé suite à des sessions répétées de polarité cathodique. L'idée de tester les effets de la tDCS cathodique dans le modèle «*Cuff*» était fondée sur le fait que la douleur neuropathique est associée à une sensibilité périphérique et centrale qui résulte en une hyperexcitabilité des circuits cérébraux impliqués dans les composantes sensori-discriminative et affectivo-émotionnelle de la douleur. Plusieurs études précliniques ont notamment démontré une potentialisation de l'activité des neurones excitateurs du cortex cingulaire antérieur suite à l'atteinte nerveuse et soulignent l'implication de cette région cérébrale dans la physiopathologie de la douleur chronique [Blom et al., 2014; Zhuo, 2014; Zhao et al., 2018]. De manière importante, il a été mis en évidence que le développement des conséquences anxio-dépressives de la douleur neuropathique est sous-tendu par l'hyperactivité du cortex cingulaire antérieur et que son inhibition optogénétique est capable de supprimer les altérations émotionnelles induites par la compression chronique du nerf sciatique [Barthas et al., 2015; Sellmeijer et al., 2018]. Récemment, il a été aussi montré que l'émergence d'un phénotype dépressif dans le modèle «*Cuff*» est associée à une potentialisation de la connectivité fonctionnelle entre le cortex cingulaire antérieur et l'amygdale basolatérale [Becker et al., 2022]. De plus, le cortex préfrontal est fortement connecté avec l'amygdale basolatérale et participe donc dans la régulation des émotions [Little et Carter, 2013; Neugebauer, 2015]. Au vu de ces études, il est possible que la stimulation de polarité cathodique régule à la baisse l'activité des neurones excitateurs dans le cortex frontal ce qui par conséquent induirait une potentialisation de la transmission inhibitrice. Les interneurones GABAergiques en projetant ensuite vers l'amygdale basolatérale permettront de réduire l'hyperactivité de l'amygdale, ce qui par la suite aurait comme effet de normaliser la connectivité fonctionnelle altérée avec le cortex cingulaire antérieur, menant ainsi à une atténuation des conséquences anxio-dépressives. Bien évidemment, les données comportementales de notre étude ne sont pas suffisantes pour déterminer les mécanismes d'action exacts de la tDCS cathodique et des expériences complémentaires sont nécessaires afin de confirmer les hypothèses avancées dans cette étude. De plus, certaines études cliniques réalisées chez des sujets sains suggèrent que

l'effet inhibiteur de la polarité cathodique peut être transformé en un effet excitateur en fonction de l'intensité et la durée de stimulation utilisées, ce qui complique davantage la compréhension de ses mécanismes d'action [Batsikadze *et al.*, 2013; Mosayebi Samani *et al.*, 2019].

Nos résultats comportementaux suggèrent aussi qu'il est possible de réverser le phénotype anxio-dépressif sans modifier l'allodynie mécanique. De manière similaire, Mariano et collègues ont démontré que la stimulation du cortex cingulaire antérieur par la polarité cathodique pourrait améliorer la dimension affective sans impacter l'intensité de la douleur chez des patients souffrant d'une douleur chronique du bas du dos [Mariano *et al.*, 2019]. Ces résultats suggèrent que soit 1) la stimulation du cortex frontal par la tDCS permet de cibler de manière spécifique la composante affectivo-émotionnelle de la douleur neuropathique mais est inefficace pour moduler la dimension sensori-discriminative qui elle peut être mieux ciblée par la stimulation du cortex moteur primaire soit 2) l'effet de la tDCS est dépendant de l'état d'activité du réseau. Dans cette étude, la tDCS a été appliquée à un stade tardif, c'est-à-dire à un moment où la chronicité de la douleur est déjà bien installée et qu'il y a l'émergence des troubles anxio-dépressifs. Si on considère que les changements de plasticité maladaptative au sein des circuits neuronaux impliqués dans la composante sensori-discriminative de la douleur sont déjà bien établis et que le moment de la stimulation coïncide avec/ou est plus proche des dérégulations qui sont en train de se mettre en place dans les circuits impliqués dans la composante émotionnelle, on peut supposer que la tDCS pourrait normaliser l'hyperexcitabilité du réseau associé au développement des troubles affectifs mais qu'elle n'est pas assez efficace pour traiter les mécanismes d'origine qui ont mené à la sensibilisation périphérique et centrale. Autrement dit, si la tDCS est appliquée à un délai précoce où il y a uniquement l'altération de la composante sensori-discriminative, la stimulation pourrait potentiellement exercer un effet analgésique, mais lorsqu'il y a une dérégulation cumulative des composantes sensori-discriminative et affectivo-émotionnelle la tDCS est uniquement capable d'interférer avec les mécanismes de plasticité maladaptative sous-tendant l'apparition des troubles affectifs.

Pour résumer, l'ensemble des résultats de cette étude mettent en évidence que la compression chronique du nerf sciatique induit une allodynie mécanique à long-terme qui est associée au

développement d'un phénotype anxio-dépressif. Au stade chronique de la pathologie, la tDCS est dépourvue d'un effet analgésique mais semble présenter un potentiel thérapeutique intéressant sur le comportement émotionnel comorbide.

PARTIE II – Approche tDCS préventive

L'approche préventive a été réalisée dans le but d'étudier le potentiel thérapeutique de la tDCS dans la suppression de la mise en place d'une douleur neuropathique chronique et par conséquent la prévention d'apparition des troubles affectifs comorbides.

Le protocole expérimental pour cette étude (Fig.49) a été développé de façon à permettre l'application du traitement par la tDCS à un stade plus proche de la chirurgie de compression du nerf sciatique, à savoir durant la 3^{ème} semaine post-cuff. Ainsi, contrairement à l'étude précédente où les souris ont été stimulées après le développement d'une allodynie mécanique à long-terme et après l'émergence des conséquences émotionnelles, dans cette étude la tDCS a été appliquée au cours de l'installation de la chronicité de la douleur neuropathique et avant l'apparition d'un phénotype anxio-dépressif chez les animaux. La sensibilité mécanique a été évaluée avant et après l'implantation du cuff ainsi qu'après la stimulation par la tDCS. Une batterie de tests (OF, LDB, NSF, Splash et FST) a été réalisée à partir de la 3^{ème} et jusqu'à la 5^{ème} semaine post-tDCS pour étudier l'influence des sessions répétées de stimulation sur l'état émotionnel des souris. A la 8^{ème} semaine post-cuff (correspondant à la 5^{ème} semaine post-tDCS), 20 souris ont été sacrifiées et des échantillons frais (sang, rate, moëlle épinière, cerveau) ont été prélevés pour une analyse ultérieure des marqueurs inflammatoires. A la fin du protocole expérimental (délai: 12 semaines post-chirurgie, équivalent à 9 semaines post-tDCS), les cerveaux perfusés des animaux ont été prélevés et une expérience d'immunohistochimie enzymatique a été réalisée afin d'étudier l'effet de la chirurgie puis de la tDCS sur l'expression des marqueurs gliaux (GFAP, Iba1) dans le cortex cingulaire antérieur et le cortex insulaire postérieur. Des prélèvements sanguins complémentaires ont également été effectués au début et après la compression du nerf sciatique, après 48h et après une semaine de stimulation ainsi

qu'à la fin de l'expérimentation dans la perspective d'explorer l'impact de la procédure d'induction de la neuropathie puis de la tDCS sur les marqueurs sériques de l'inflammation.

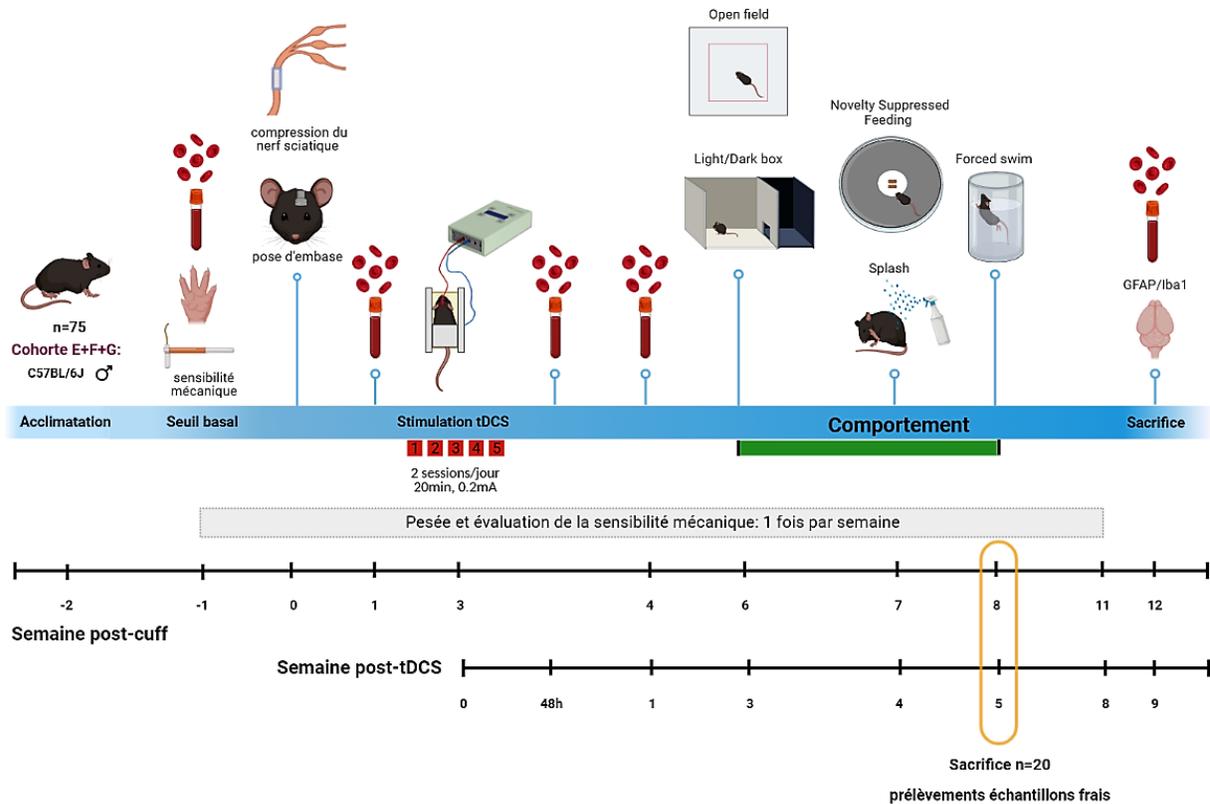


Fig. 49 Représentation schématique du protocole expérimental ayant appliqué la tDCS de façon précoce, à visée préventive, dans un modèle murin de douleur neuropathique chronique. Deux semaines après la chirurgie de compression du nerf sciatique, les animaux ont été soumis à des sessions répétées de stimulation (10 séances, 20min, 0.2mA). A partir de la 3^{ème} semaine post-tDCS, l'état émotionnel des souris a été évalué à travers différents tests comportementaux. Une partie des animaux a été sacrifiée afin de prélever des échantillons frais (sang, rate, moëlle épinière, cerveau) pour une analyse ultérieure des marqueurs inflammatoires. A la fin de l'expérience (12 semaines post-cuff), des cerveaux perfusés ont été prélevés pour l'analyse immunohistochimique des marqueurs gliaux GFAP et Iba1. De manière complémentaire, à différents délais du protocole expérimental, des prélèvements rétro-orbitaires de sang ont été réalisés pour l'analyse des marqueurs inflammatoires sériques. Réalisé avec BioRender®

1. Evaluation comportementale des effets de la compression du nerf sciatique et de la stimulation précoce par la tDCS sur la sensibilité mécanique des animaux

Soixante-quinze souris mâles de souche C57BL/6J (Charles River, L'Arbresle, France) ont été utilisées dans cette étude (poids moyen (g) \pm SEM = 22.58 \pm 0.16). Une souris a été exclue de l'analyse étant donné qu'elle présentait un seuil basal de nociception inférieur à 2g. Quatre animaux n'ont pas supporté l'anesthésiant. Six souris, dont l'embase a été arrachée en cage collective ou durant la stimulation, n'ont pas eu la totalité des sessions de stimulation et ont donc été aussi exclues de l'analyse. Ainsi, le nombre final d'animaux par groupe expérimental était le suivant: Sham, n=28; Cuff, n=36; Sham No-stim, n=13; Sham-Anodal, n=8; Sham-Cathodal, n=7; Cuff No-stim, n=10; Cuff-Anodal, n=16; Cuff-Cathodal, n=10.

Trois cohortes de souris ont été utilisées dans cette étude. Les données brutes issues des différents tests comportementaux ont été normalisées par la méthodologie de z-scoring, comme décrit précédemment.

1.1. L'allodynie mécanique ipsilatérale induite par la compression chronique du nerf sciatique est suivie par une augmentation retardée de la sensibilité mécanique du côté controlatéral

Avant la chirurgie de la compression chronique du nerf sciatique, aucune différence significative au niveau du seuil nociceptif basal de la patte arrière droite opérée n'est observée entre les deux groupes expérimentaux (**Fig.50-A**): moyenne baseline (g) \pm SEM, Sham: 6.48 \pm 0.48; Cuff: 6.84 \pm 0.34, p=0.27. Après la chirurgie, l'ANOVA à mesures répétées décèle un effet du facteur «*condition*» (Sham vs Cuff: $F_{[1,57]}=21.23$, p<0.001) et un effet du facteur «*temps*» (Baseline jusqu'à semaine 2 post-cuff: $F_{[2,114]}=42.83$, p<0.001) ainsi qu'une interaction «*condition*temps*» ($F_{[2,114]}=15.32$, p<0.001). Ainsi, la pose du manchon autour de la branche principale du nerf sciatique induit une allodynie mécanique se définissant par une baisse significative des scores nociceptifs chez les animaux Cuff par rapport au groupe contrôle Sham. L'analyse post-hoc de Duncan révèle notamment des différences entre les deux groupes d'animaux pour les 2 semaines qui suivent la chirurgie: moyenne sem 1 post-cuff (g) \pm SEM, Sham: 4.43 \pm 0.58; Cuff:

2.38±0.33, $p<0.001$; moyenne sem 2 post-cuff (g) ±SEM, Sham: 5.16±0.48; Cuff: 1.78±0.24, $p<0.001$. Pour les besoins du protocole expérimental, ces deux groupes de souris ont été ensuite repartis dans 6 sous-groupes expérimentaux et l'évaluation de la cinétique de l'allodynie mécanique chez les animaux non stimulés par la tDCS a continué à être effectuée à travers des tests statistiques non-paramétriques. Cette analyse met en évidence que l'augmentation de la sensibilité mécanique induite par l'implantation du cuff perdure jusqu'à la 10^{ème} semaine et commence à disparaître à partir de la 11^{ème} semaine post-cuff: moyenne sem 4 post-cuff (g) ±SEM, Sham No-stim: 5.06±0.76; Cuff No-stim: 2.45±0.91, [MWU, $Z=2.21$, $p<0.05$]; moyenne sem 6 post-cuff (g) ±SEM, Sham No-stim: 5.38±0.70; Cuff No-stim: 2.31±0.76, [MWU, $Z=2.50$, $p<0.05$]; moyenne sem 7 post-cuff (g) ±SEM, Sham No-stim: 5.20±0.90; Cuff No-stim: 2.34±0.62, [MWU, $Z=2.14$, $p<0.05$]; moyenne sem 8 post-cuff (g) ±SEM, Sham No-stim: 5.27±1.13; Cuff No-stim: 2.46±0.67, [MWU, $Z=2.10$, $p<0.05$]; moyenne sem 9 post-cuff (g) ±SEM, Sham No-stim: 7.11±0.68; Cuff No-stim: 1.44±0.65, [MWU, $Z=2.98$, $p<0.01$]; moyenne sem 10 post-cuff (g) ±SEM, Sham No-stim: 7.00±0.65; Cuff No-stim: 2.80±1.33, [MWU, $Z=2.17$, $p<0.05$] et moyenne sem 11 post-cuff (g) ±SEM, Sham No-stim: 5.75±0.96; Cuff No-stim: 3.12±1.35, [MWU, $Z=1.72$, $p=0.09$].

Concernant la patte arrière gauche non opérée (**Fig.50-B**), aucune différence statistiquement significative n'est également démontrée pour le seuil nociceptif basal, indiquant que les deux groupes d'animaux présentent une sensibilité mécanique similaire avant la chirurgie: moyenne baseline (g) ±SEM, Sham: 6.07±0.55; Cuff: 6.48±0.40, $p=0.61$. Suite à la chirurgie du cuff, aucun effet du facteur «*condition*» n'est présent (Sham vs Cuff: $F_{[1,59]}=1.52$, $p=0.22$), mais l'ANOVA à mesures répétées met en évidence un effet du facteur «*temps*» (baseline jusqu'à semaine 2 post-cuff: $F_{[2,118]}=11.87$, $p<0.001$) ainsi qu'une tendance à l'interaction entre les deux facteurs «*condition*temps*» ($F_{[2,118]}=2.66$, $p=0.07$). Bien que la comparaison entre groupes ne montre aucune différence statistique du seuil nociceptif jusqu'à la 4^{ème} semaine post-cuff, à partir de la 6^{ème} semaine suivant la chirurgie les animaux appartenant au groupe Cuff présentent une augmentation de la sensibilité mécanique au niveau de leur patte postérieure controlatérale, reflétée notamment par une diminution significative des scores nociceptifs par rapport aux souris contrôles Sham. Cette sensibilité mécanique se maintient jusqu'à la 10^{ème} semaine et

disparaît ensuite à partir de la 11^{ème} semaine post-cuff: moyenne sem 6 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 5.79 \pm 0.69; Cuff No-stim: 3.36 \pm 0.64, [MWU, Z=2.22, p<0.05]; moyenne sem 7 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 6.55 \pm 0.90; Cuff No-stim: 3.24 \pm 0.58, [MWU, Z=2.55, p<0.01]; moyenne sem 8 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 6.18 \pm 0.69; Cuff No-stim: 2.94 \pm 0.36, [MWU, Z=3.12, p<0.01]; moyenne sem 9 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 6.86 \pm 0.40; Cuff No-stim: 2.32 \pm 0.72, [MWU, Z=2.19, p<0.01]; moyenne sem 10 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 6.75 \pm 0.75; Cuff No-stim: 2.96 \pm 1.27, [MWU, Z=2.16, p<0.05] et moyenne sem 11 post-cuff (g) \pm SEM, Sham No-stim: 6.10 \pm 0.80; Cuff No-stim: 4.20 \pm 0.92, [MWU, Z=1.43, p>0.05].

1.2. Effet des sessions répétées de stimulation précoce par la tDCS sur l'allodynie mécanique

Dans cette étude, le protocole de stimulation tDCS a été appliqué pendant la 3^{ème} semaine qui a suivi la chirurgie de compression chronique du nerf sciatique et la sensibilité mécanique des animaux a continué à être évaluée jusqu'à la 8^{ème} semaine post-stim (correspondant à la 11^{ème} semaine post-cuff) (voir Fig.49).

Concernant la patte postérieure droite des animaux Sham (Fig.50-A, groupes des souris Sham), l'ANOVA de Kruskal-Wallis montre un effet de la tDCS sur le seuil nociceptif uniquement pendant la 3^{ème} semaine post-tDCS: $\chi^2_{[2,26]}=8.00$, p<0.05. En effet, comparé au groupe non stimulé, les souris contrôles ayant reçu des stimulations répétées de polarité anodique présentent une augmentation transitoire du score nociceptif qui est observée 3 semaines après la dernière session de stimulation: moyenne sem 3 post-tDCS (g) \pm SEM, Sham No-stim: 5.38 \pm 0.70; Sham-Anodal: 8.57 \pm 0.67, [MWU, Z=-2.50, p<0.05]. Aucun effet de la tDCS de polarité cathodique sur la sensibilité mécanique de la patte arrière droite des souris Sham n'est décelé.

Chez les animaux neuropathiques (Fig.50-A, groupes des souris Cuff), une amélioration de la sensibilité mécanique de la patte arrière ipsilatérale à la compression chronique du nerf sciatique est mise en évidence après des sessions répétées de stimulation anodique. Cette amélioration commence à se mettre en place à partir de la 1^{ère} semaine post-tDCS, indiquée notamment par une tendance à l'augmentation du seuil nociceptif (moyenne sem 1 post-tDCS

(g) \pm SEM, Cuff No-stim: 2.45 ± 0.91 ; Cuff-Anodal: 4.21 ± 0.74 , [MWU, $Z=-1.79$, $p=0.07$]), et se maintient jusqu'à la 6^{ème} semaine post-tDCS: moyenne sem 3 post-tDCS (g) \pm SEM, Cuff No-stim: 2.31 ± 0.76 ; Cuff-Anodal: 4.53 ± 0.63 , [MWU, $Z=-1.98$, $p<0.05$]; moyenne sem 4 post-tDCS (g) \pm SEM, Cuff No-stim: 2.34 ± 0.62 ; Cuff-Anodal: 4.91 ± 0.77 , [MWU, $Z=-2.01$, $p<0.05$]; moyenne sem 5 post-tDCS (g) \pm SEM, Cuff No-stim: 2.46 ± 0.67 ; Cuff-Anodal: 4.89 ± 0.67 , [MWU, $Z=-2.35$, $p<0.05$] et moyenne sem 6 post-tDCS (g) \pm SEM, Cuff No-stim: 1.44 ± 0.65 ; Cuff-Anodal: 4.33 ± 0.85 , [MWU, $Z=-2.31$, $p<0.05$]. La tDCS de polarité cathodique n'a pas d'impact sur l'allodynie mécanique des animaux neuropathiques.

La tDCS, indépendamment de la polarité de stimulation, n'influence pas la sensibilité mécanique de la patte postérieure gauche non opérée chez les souris contrôles Sham (**Fig.50-B**, groupes des souris Sham). Bien que les deux polarités de stimulation (anodique et cathodique) semblent entraîner une élévation des scores nociceptifs chez les animaux neuropathiques, cette augmentation reste cependant non significative par rapport au groupe des souris Cuff non stimulées, indiquant ainsi une absence d'effet de la tDCS sur la sensibilité mécanique de la patte controlatérale à la compression nerveuse (**Fig.50-B**, groupes des souris Cuff).

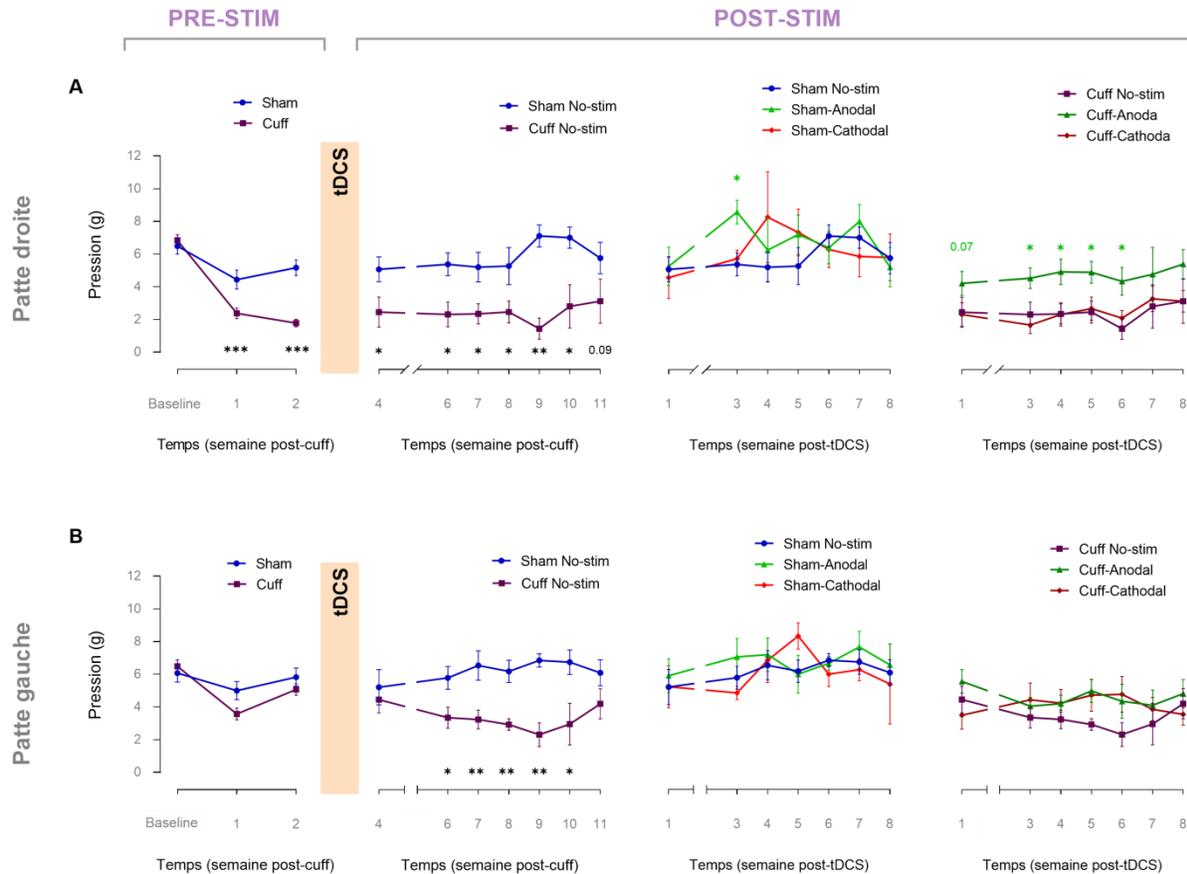


Fig. 50 Evaluation des effets de la compression chronique du nerf sciatique et de la stimulation précoce par la tDCS sur la sensibilité mécanique des animaux. La sensibilité mécanique au niveau de la patte arrière droite opérée et de la patte postérieure gauche non opérée a été évaluée en utilisant le test des filaments de von Frey. La compression unilatérale du nerf sciatique induit une allodynie mécanique à long-terme sur la patte ipsilatérale, suivie d’une bilatéralisation tardive sur la patte controlatérale. Cette allodynie mécanique se maintient pendant 10 semaines après la chirurgie et commence à disparaître à partir de la 11^{ème} semaine post-cuff. Les stimulations répétées de polarité anodique induisent un effet analgésique à long-terme chez les animaux neuropathiques, reflétée par une augmentation des seuils nociceptifs qui commence à se mettre en place dès la 1^{ère} semaine post-tDCS. Un effet similaire de la polarité anodique, mais de nature transitoire, est aussi observé chez les souris contrôles pendant la 3^{ème} semaine post-tDCS. Aucun effet de la stimulation cathodique sur la sensibilité mécanique n’est révélé ni chez les souris contrôles Sham ni chez les animaux neuropathiques, indépendamment de la patte testée. Les données sont exprimées en moyenne±SEM (n=26-28/Sham; n=33-36/Cuff; n=7-13/Sham No-stim; n=5-8/Sham-Anodal; n=4-7/Sham-Cathodal; n=5-10/Cuff No-stim; n=9-16/Cuff-Anodal; n=7-10/Cuff-Cathodal). *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ANOVA à mesures répétées suivie de tests post-hoc de Duncan pour comparaison Sham vs Cuff pour chacune des semaines pré-tDCS; ANOVA de Kruskal-Wallis suivie de tests U de Mann-Whitney pour comparaison entre les différents groupes expérimentaux pour chacune des semaines post-tDCS.

2. Evaluation du potentiel préventif de la stimulation précoce par la tDCS sur l'émergence des troubles affectifs comorbides dans le modèle «Cuff»

Dans cette expérience, la caractérisation du phénotype anxio-dépressif a été réalisée dans le but de vérifier si l'effet analgésique de la stimulation précoce par la tDCS est aussi associé à un effet bénéfique sur le comportement émotionnel des animaux neuropathiques. Autrement dit, est-ce que l'atténuation de l'allodynie mécanique par un traitement précoce par la tDCS pourrait prévenir l'apparition des comorbidités affectives?

Les différents tests comportementaux apparentés à l'anxiété et à la dépression ont été réalisés entre la 6^{ème} et la 8^{ème} semaine post-cuff (= entre la 3^{ème} et 5^{ème} semaine post-tDCS) (voir **Fig.49**). Etant donné que dans l'étude précédente la fiabilité et la robustesse de la méthodologie de z-scoring a été confirmée pour l'évaluation de la composante émotionnelle dans le modèle de neuropathie utilisé, dans cette expérience les résultats des z-scores spécifiques de chaque test seront présentés.

L'ANOVA de Kruskal-Wallis ne montre aucun effet ni de la compression du nerf sciatique ni de la tDCS sur le phénotype anxieux étudié dans le test de l'OF: $\chi^2_{[5,59]}=5.87$, $p>0.05$ (**Fig.51-A**). Dans le test de LDB (**Fig.51-B**), le comportement émotionnel des animaux ayant subi la chirurgie du cuff et qui ont été traités par la tDCS ne diffère pas de celui des souris témoins: $\chi^2_{[5,58]}=6.25$, $p>0.05$. Le comportement de type anxio-dépressif évalué dans le test de NSF n'est également pas affecté par l'implantation du cuff et par la tDCS: $\chi^2_{[5,57]}=5.83$, $p>0.05$ (**Fig.51-C**). Pour les tests apparentés à la dépression, l'analyse de variances de Kruskal-Wallis ne décèle aucune différence statistiquement significative entre groupes pour le test de Splash ($\chi^2_{[5,61]}=8.26$, $p>0.05$) (**Fig.51-D**) et pour le test de FST ($\chi^2_{[5,59]}=4.21$, $p>0.05$) (**Fig.51-E**). Le calcul du score global d'émotivité ne permet pas de mettre en évidence un effet robuste de l'implantation du cuff ni du traitement tDCS sur l'état émotionnel des animaux: $\chi^2_{[5,44]}=3.44$, $p>0.05$ (**Fig.51-F**).

■ No-stim
 ■ Anodal
 ■ Cathodal

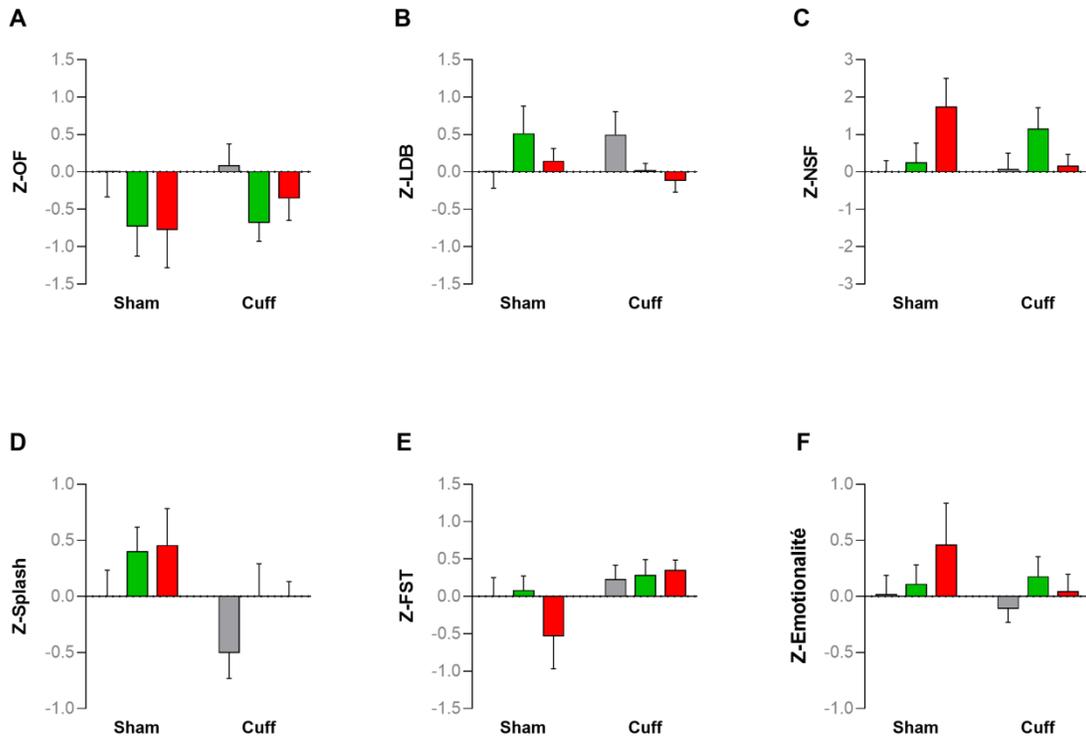


Fig. 51 L'effet des sessions répétées de stimulation précoce par la tDCS sur l'état émotionnel global des animaux. (A, B, C, D, E) De manière générale, les différents tests de comportement réalisés démontrent que le phénotype anxio-dépressif des animaux ayant subi la compression chronique du nerf sciatique est similaire à celui des souris contrôles. La tDCS, indépendamment de la polarité de stimulation, n'exerce aucun effet sur le comportement des souris neuropathiques et des souris témoins. (E) La combinaison des z-scores individuels de chacun des tests en un seul score d'émotionalité global met en évidence l'absence de développement des troubles affectifs chez les animaux neuropathiques et aucun effet des sessions répétées de stimulation précoce par la tDCS sur l'état émotionnel général des animaux dans ces conditions expérimentales. Les données sont exprimées en moyenne±SEM (n=9-13/Sham No-stim; n=6-7/Sham-Anodal; n=5-7/Sham-Cathodal; n=8-10/Cuff No-stim; n=15-16/Cuff-Anodal; n=9-10/Cuff-Cathodal pour les différents tests comportementaux et n=7/Sham No-stim; n=6/Sham-Anodal; n=4/Sham-Cathodal; n=6/Cuff No-stim; n=14/Cuff-Anodal; n=7/Cuff-Cathodal pour le score d'émotionalité global). ANOVA de Kruskal-Wallis pour comparaison de plusieurs échantillons indépendants.

3. Approche immunohistochimique: Etude de l'effet de la tDCS précoce sur les processus neuro-inflammatoires dans le modèle animal de neuropathie

Comme précédemment évoqué dans l'introduction de ce manuscrit, les cellules gliales jouent un rôle important dans la chronicité de la douleur neuropathique et l'une des hypothèses du mécanisme d'action de la tDCS est que son effet thérapeutique s'exerce via une modulation de l'activité gliale. Dans ce contexte, une approche immunohistochimique permettant de quantifier le nombre de cellules immunopositives pour les marqueurs gliaux GFAP et Iba1 a été réalisée afin d'étudier l'effet éventuel de la tDCS précoce sur les processus neuro-inflammatoires dans le modèle animal de neuropathie utilisé dans cette étude. L'analyse de l'expression neurochimique de ces marqueurs a été effectuée à la fois dans le cortex cingulaire antérieur et le cortex insulaire postérieur. En raison de nombreux problèmes techniques et au manque de temps pour l'analyse complète des images, seulement une partie des résultats préliminaires sera présentée ici.

Dans les deux structures cérébrales étudiées, l'ANOVA de Kruskal-Wallis ne montre aucun effet ni de la compression du nerf sciatique ni de la tDCS sur le nombre de cellules GFAP immunopositives: $\chi^2_{[5,44]}=8.24$, $p>0.05$ pour le cortex cingulaire antérieur (**Fig.52-A**) et $\chi^2_{[5,46]}=4.93$, $p>0.05$ pour le cortex insulaire postérieur (**Fig.52-B**). Concernant l'immunomarquage de la protéine microgliale Iba1, l'analyse de variances ne détecte aucun effet de l'implantation du cuff ainsi qu'aucun effet du traitement par la tDCS sur l'activité microgliale du cortex cingulaire antérieur: $\chi^2_{[5,36]}=8.91$, $p>0.05$ (**Fig.52-C**). Cependant, l'ANOVA de Kruskal-Wallis décèle un effet significatif sur la densité cellulaire immunomarkuée dans le cortex insulaire postérieur: $\chi^2_{[5,24]}=11.13$, $p<0.05$ (**Fig.52-D**). En effet, la comparaison entre groupes permet de démontrer que les souris neuropathiques ayant été soumises à des stimulations répétées de polarité anodique présentent une diminution significative du nombre de cellules microgliales Iba1 immunopositives par rapport au groupe d'animaux neuropathiques non stimulés: moyenne nombre de cellules Iba1+ \pm SEM, Cuff No-stim: 202.75 \pm 7.47; Cuff-Anodal: 155.00 \pm 11.40, [MWU, Z=2.13, $p<0.05$].

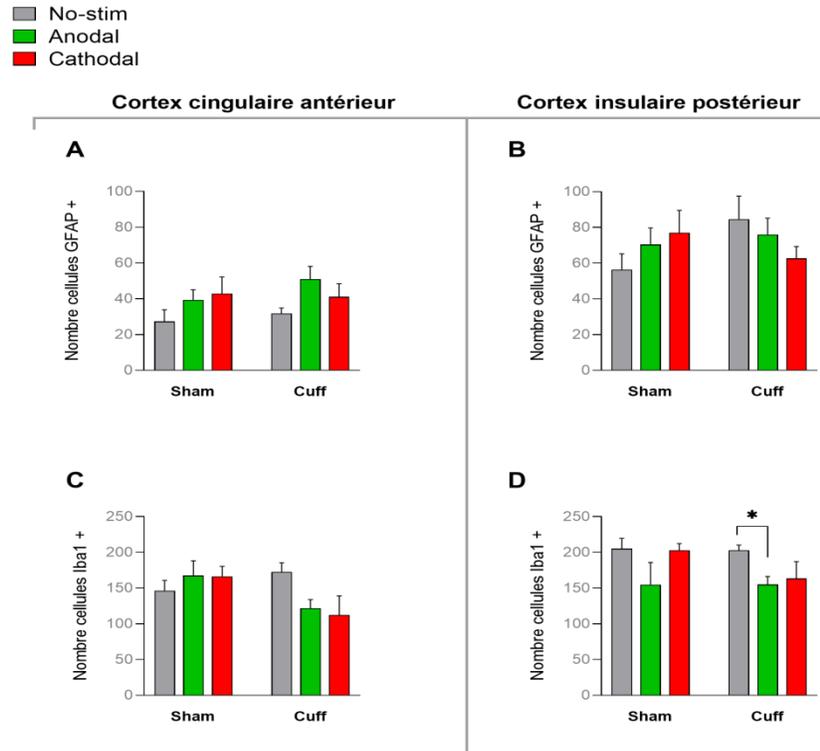


Fig. 52 Quantification de l'expression des marqueurs gliaux GFAP et Iba1 dans le cortex cingulaire antérieur et le cortex insulaire postérieur. (A, B) Aucun effet à la fois de la compression chronique du nerf sciatique et de la tDCS sur le nombre de cellules GFAP immunopositives n'est révélé dans les deux régions cérébrales étudiées. (C, D) Bien qu'aucune modification de l'expression microgliale n'ait observée dans le cortex cingulaire antérieur, la tDCS précoce de polarité anodique induit chez les animaux neuropathiques une baisse significative du nombre de cellules exprimant le marqueur microglial Iba1 dans le cortex insulaire postérieur. Les données sont exprimées en moyenne±SEM (n=8-9/Sham No-stim; n=5-6/Sham-Anodal; n=5-7/Sham-Cathodal; n=3-5/Cuff No-stim; n=8-9/Cuff-Anodal; n=6-9/Cuff-Cathodal pour le cortex cingulaire antérieur et n=4-9/Sham No-stim; n=3-7/Sham-Anodal; n=4-7/Sham-Cathodal; n=4-5/Cuff No-stim; n=6-9/Cuff-Anodal; n=3-9/Cuff-Cathodal pour le cortex insulaire postérieur. *p<0.05, ANOVA de Kruskal-Wallis suivie de tests U de Mann-Whitney pour comparaison entre les différents groupes expérimentaux.

4. Evaluation du degré de motivation des animaux vis-à-vis d'une récompense alimentaire après la compression chronique du nerf sciatique

Afin d'étudier si la compression chronique du nerf sciatique est susceptible d'engendrer des déficits motivationnels, un test de ratio progressif a été réalisé sur une nouvelle cohorte de souris mâles de souche C57BL/6J (Charles River, L'Arbresle, France): n=20, poids moyen (g) ±SEM = 23.17±0.27 au début du protocole expérimental. Une souris a été exclue de l'analyse car s'est étouffée avec les pellets durant la phase d'apprentissage de FR-1. Ainsi, le nombre final

d'animaux par groupe expérimental était le suivant: Sham, n=10; Cuff, n=9. Le comportement de conditionnement opérant a débuté à partir de la 8^{ème} semaine post-cuff et a duré trois semaines. Au fur et à mesure que les animaux accomplissaient le test, ils étaient sacrifiés et leurs cerveaux prélevés (Fig.53).

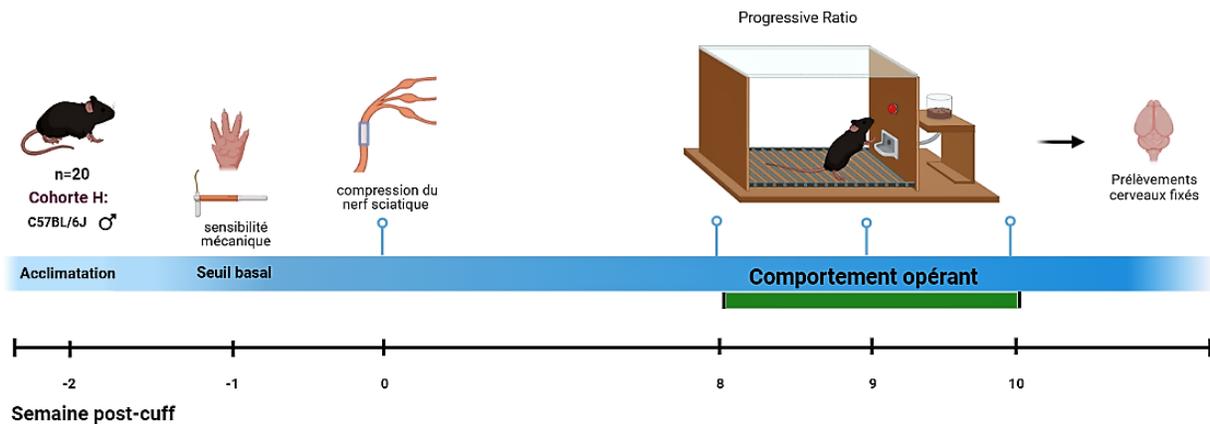


Fig. 53 Représentation schématique du protocole expérimental utilisé pour la réalisation du test de Ratio Progressif. L'évaluation de la motivation des animaux vis-à-vis d'une récompense alimentaire a débutée à partir de la 8^{ème} semaine post-chirurgie. A la fin du protocole expérimental, les cerveaux perfusés ont été prélevés et conservés. Réalisé avec BioRender®

La comparaison du nombre de sessions réalisées par les souris dans la phase d'apprentissage de FR-1 ne révèle aucune différence significative entre les deux groupes expérimentaux: moyenne nombre total de sessions FR-1 \pm SEM, Sham: 4.00 \pm 0.21; Cuff: 5.00 \pm 1.17, [MWU, Z=0.18, p>0.05] (Fig.54-FR1), indiquant que les animaux neuropathiques nécessitent autant de sessions que les souris contrôles pour apprendre la règle de la tâche associative. Ainsi, les souris ayant subi la compression chronique du nerf sciatique présentent des capacités d'apprentissage similaires aux souris témoins. Dans la phase de test (Fig.54-PR), les animaux neuropathiques emploient autant d'effort que les souris contrôles pour obtenir la récompense alimentaire (moyenne nombre total de sessions PR \pm SEM, Sham: 7.40 \pm 1.12; Cuff: 7.22 \pm 1.15, [MWU, Z=0.13, p>0.05]) et stabilisent ainsi leurs performances à un niveau de «*point de rupture*» comparable à celui du groupe contrôle: moyenne BP \pm SEM, Sham: 147.40 \pm 18.87; Cuff: 155.11 \pm 17.54, [MWU, Z=-0.25, p>0.05].

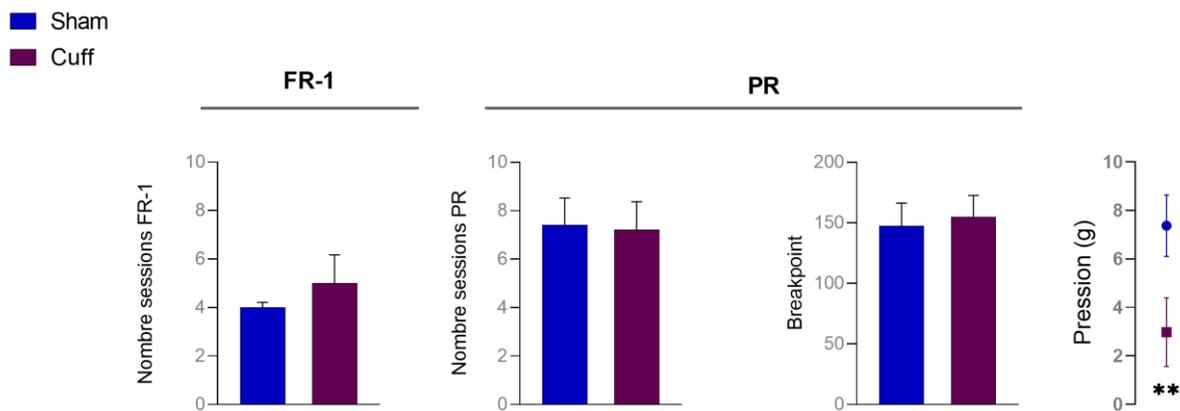


Fig. 54 Evaluation du degré de motivation des animaux vis-à-vis d'une récompense alimentaire par le test de Ratio Progressif. Les animaux neuropathiques requièrent autant de sessions que les souris contrôles pour atteindre le critère d'acquisition dans la phase d'apprentissage de FR-1 et montrent des performances similaires au groupe contrôle durant la phase de test. La compression du nerf sciatique n'affecte pas le comportement motivationnel, indiqué par un «point de rupture» qui ne diffère pas significativement entre les deux groupes expérimentaux, malgré la présence d'une allodynie mécanique chez les animaux neuropathiques. Les données sont exprimées en moyenne±SEM (n=10/Sham; n=9/Cuff. **p<0.01, tests U de Mann-Whitney pour comparaison entre groupes indépendants.

Au vu de ces résultats, la compression du nerf sciatique semble ne pas avoir un effet délétère sur le degré de motivation que les animaux sont prêts à atteindre pour obtenir une récompense alimentaire, bien qu'au début du protocole du conditionnement opérant (c'est-à-dire à la 8^{ème} semaine post-cuff) les animaux du groupe Cuff présentaient une diminution significative de leur seuil nociceptif, confirmant ainsi la présence d'une allodynie mécanique: moyenne sem 8 post-cuff (g) ±SEM, Sham: 7.37±1.27; Cuff: 2.98±1.42, [MWU, Z=2.71, p<0.01] (Fig.54). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Okun et collègues qui en utilisant le modèle du nerf épargné chez le rat ont démontré que la douleur neuropathique chronique n'interfère pas avec les réponses motivationnelles dirigées vers une récompense alimentaire [Okun et al., 2016].

5. Résumé et discussion des résultats obtenus

Dans la présente étude, la compression chronique du nerf sciatique de la patte arrière droite induit bien une allodynie mécanique à long-terme perdurant au moins pendant 10 semaines (≈ deux mois et demi). Après cette période, une récupération spontanée peut être observée chez les animaux neuropathiques. Comparé à l'étude précédente dans laquelle il a été démontré que les animaux Cuff récupèrent à partir de la 14^{ème} semaine post-cuff, la récupération spontanée des animaux neuropathiques utilisés dans la présente étude a lieu à un délai plus précoce, à savoir à partir de la 11^{ème} semaine post-cuff, démontrant ainsi une variation dans le décours temporel de la récupération spontanée en fonction de lot d'animaux utilisé. Il a notamment été rapporté que cette résolution de la douleur évoquée dans le modèle murin du «Cuff» se produit en général entre la 11^{ème} et la 14^{ème} semaine post-opératoire [Sellmeijer et al., 2018], ce qui est en adéquation avec les résultats observés dans ce manuscrit.

De manière inattendue, dans la présente étude la compression du nerf sciatique conduit également à une augmentation de la sensibilité mécanique de la patte arrière controlatérale (non opérée) chez les souris neuropathiques. Bien qu'une bilatéralisation de la douleur dans ce modèle ait été rapportée dans des études antérieures réalisées chez le rat [Mosconi et Kruger, 1996; Pitcher et al., 1999], les données de la littérature concernant l'adaptation de ce modèle chez la souris semblent plutôt converger vers un effet unilatéral de la chirurgie [Yalcin et al., 2011; Tsybalyuk et al., 2019; Sheehan et al., 2021]. Des signes similaires de douleur dans des régions controlatérales, référencés sous le terme de «*mirror-image pain*» ou douleur en miroir, ont également été signalés dans d'autres modèles animaux de neuropathie [Seltzer et al., 1990; Milligan et al., 2003; Mao-Ying et al., 2006; Arguis et al., 2008; Chang et al., 2010]. De plus, en pratique clinique il n'est pas rare que certains individus neuropathiques présentent des signes de dysfonctionnement sensoriel dans des zones du corps autres que celles attribuées à l'atteinte nerveuse [Oaklander et al., 1998; Maleki et al., 2000; Giglio et Gregg, 2018]. Il a notamment été montré chez des patients souffrant d'une douleur unilatérale que le risque de développement extraterritorial de signes neuropathiques se situe entre 33% et 50%, indiquant que la bilatéralisation de la douleur doit être considérée comme une règle plutôt qu'une

exception [Konopka et al., 2012]. Quoi qu'il en soit, il est fort probable que dans nos conditions expérimentales cette propagation de la douleur vers le côté controlatéral à la lésion soit la conséquence d'une accumulation des actes chirurgicaux. Plus précisément, tandis que dans la première étude les souris ont été tout d'abord soumises à l'opération de la compression du nerf sciatique et 4 semaines après à une opération visant à poser l'embase sur la crâne, dans la présente étude les deux chirurgies ont été réalisées en même temps, c'est-à-dire d'abord l'implantation du cuff et directement après la pose d'embase. De ce fait, il est envisageable de penser que les différences de manifestation des signes de l'allodynie mécanique observées entre les deux études soient dues à une différence du niveau d'intensité/de sévérité des actes chirurgicaux réalisés. En d'autres termes, il est possible que le degré de sévérité des deux opérations potentialise l'activité du système immunitaire qui par conséquent amplifierait les mécanismes de sensibilisation périphérique et centrale impliqués dans le développement et le maintien de la douleur neuropathique. Milligan et collègues ont notamment mis en évidence dans un modèle de rat de douleur inflammatoire qu'une forte activation du système immunitaire conduit à une bilatéralisation de la douleur, tandis qu'une réponse immunitaire de plus faible intensité est généralement associée à une allodynie mécanique unilatérale [Milligan et al., 2003]. Ils ont également montré que l'inhibition du métabolisme glial par l'injection intrathécale de fluorocitrate et le blocage de l'activité des cytokines pro-inflammatoires telles que IL-1, IL-6 et TNF α par des antagonistes spécifiques suppriment les signes neuropathiques d'allodynie ipsilatérale mais aussi controlatérale, suggérant ainsi l'implication des médiateurs immunes dans la bilatéralisation de la douleur.

Les résultats de von Frey obtenus dans cette étude mettent aussi en évidence que le changement du seuil nociceptif de la patte arrière controlatérale apparaît à partir de la 6^{ème} semaine post-opératoire, tandis que l'allodynie mécanique au niveau de la patte postérieure ipsilatérale est déjà présente à partir de la 1^{ère} semaine post-cuff chez les animaux neuropathiques. Ceci indique que la bilatéralisation de la douleur se produit de façon retardée, ce qui suggère que les signes neuropathiques controlatéraux apparaissent après que la douleur induite par la lésion initiale est devenue chronique. Cette apparition tardive de l'allodynie mécanique controlatérale pourrait alors résulter d'une reconfiguration morphologique ou

fonctionnelle au niveau des circuits spinaux ou certaines structures cérébrales faisant partie de la «*matrice douleur*». Chang et collaborateurs ont montré que la douleur en miroir observée dans leur modèle de neuropathie (lésion unilatérale de type brûlure) est associée à une augmentation de l'excitabilité spinale et à une élévation de l'activité microgliale dans la corne dorsale controlatérale à la lésion [Chang et al., 2010]. De manière intéressante, ils ont mis en évidence que l'atteinte nerveuse produit initialement une augmentation de l'excitabilité des neurones spinaux du côté ipsilatéral qui se propage ensuite à partir de la 4^{ème} semaine post-opératoire vers le côté controlatéral. Il est alors possible que l'évolution temporelle de l'allodynie controlatérale observée dans le modèle animal utilisé dans la présente étude correspond, au moins en partie, au temps nécessaire pour que ce type de changements fonctionnels se mettent en place. En se basant sur d'autres études de la littérature, il est aussi probable que ce délai correspond à la mise en place d'une prolifération de novo de fibres sympathiques dans les DRG controlatéraux, sous l'influence de facteurs pro-inflammatoires comme le TNF α et le NGF [Chien et al., 2005; Hatashita et al., 2008; Cheng et al., 2015; Liu et al., 2020]. Au niveau supra-spinal, une étude plus récente a démontré que la bilatéralisation de l'allodynie mécanique observée dans le modèle murin de constriction chronique du nerf sciatique (modèle CCI) est sous-tendue par des changements anatomo-fonctionnels dans le cortex cingulaire antérieur [Hu et al., 2021]. Plus précisément, les auteurs ont rapporté une émergence de connexions monosynaptiques entre les neurones de l'hémisphère ipsilatéral et les neurones de l'hémisphère controlatéral, suggérant ainsi une potentialisation au fil du temps de la transmission synaptique entre les deux hémisphères. Le lien de causalité est mis en évidence par le fait que l'inhibition des neurones de projection inter-hémisphériques permet de supprimer la sensation nociceptive de la patte non opérée sans pour autant affecter l'allodynie mécanique de la patte lésée, et que l'inhibition des neurones locaux dans l'hémisphère controlatéral atténue l'allodynie mécanique de la patte lésée sans avoir un impact sur la douleur en miroir de la patte non lésée. Ces résultats mettent aussi en évidence que le cerveau est neuroplastique et qu'il est capable de développer de nouvelles interconnexions permettant de moduler l'efficacité de la transmission synaptique au niveau neuronal, voir à plus grande échelle au niveau d'un réseau cérébral.

Suite à l'application du protocole de stimulation précoce par la tDCS, les résultats de von Frey témoignent d'un effet bénéfique de la polarité anodique sur la sensibilité mécanique des animaux. Tandis que cet effet est de nature courte et transitoire (se maintient uniquement sur une semaine) chez les souris contrôles, il se maintient sur une période de plusieurs semaines chez les animaux neuropathiques. De manière similaire aux résultats de la première étude présentée dans ce manuscrit, une diminution légère du seuil nociceptif de la patte opérée est également observée chez les souris Sham suite à la chirurgie. Bien que cette diminution soit significativement moins importante par rapport à celle observée chez les animaux neuropathiques, elle confirme que l'acte chirurgical en lui-même a un impact sur la perception nociceptive des animaux contrôles. Dans ces conditions expérimentales, la polarité anodique permet d'atténuer l'effet de la chirurgie en ramenant le seuil nociceptif des animaux contrôles à un niveau comparable à celui observé avant l'opération. Ceci suggère que la tDCS, lorsqu'elle est appliquée à un délai proche de la chirurgie, présente un effet anti-inflammatoire permettant probablement de normaliser l'équilibre entre les cytokines pro- et anti-inflammatoires et limiter ainsi les dommages causés par l'opération en maintenant une homéostasie tissulaire normale. Des études menées dans différents modèles animaux de douleur chronique ont notamment démontré que la tDCS est capable de moduler le niveau d'expression de divers médiateurs, tels que l'IL-1 β , l'IL-10 et le TNF α , sous entendant donc une action sur les processus inflammatoires [Spezia Adachi et al., 2012; Cioato et al., 2016]. De manière intéressante, un essai clinique randomisé contrôlé en double aveugle a démontré que la tDCS (2 sessions de 20min, polarité anodique, 2mA, cortex moteur primaire gauche) permet d'améliorer la gestion de la douleur post-opératoire lorsqu'elle est appliquée de manière préventive avant l'opération [Ribeiro et al., 2017], suggérant ainsi que cette technique non invasive de neuromodulation pourrait être une stratégie thérapeutique intéressante pour empêcher la transition d'une douleur aiguë vers une douleur chronique. A l'appui de cette hypothèse viennent les données de von Frey obtenues chez les animaux neuropathiques dans la présente étude qui mettent en évidence un effet analgésique soutenu de la polarité anodique, reflétée par une diminution significative de l'allodynie mécanique jusqu'à la 6^{ème} semaine post-stim. Ainsi, ces résultats indiquent que la stimulation du cortex frontal gauche par la tDCS anodique peut atténuer la sévérité de

progression de la douleur induite par la compression chronique du nerf sciatique. L'absence d'un tel effet analgésique de la polarité anodique dans la première étude présentée dans ce manuscrit résulte probablement du fait que la stimulation n'est pas appliquée au même stade du développement de la douleur neuropathique. En effet, dans la première étude l'effet de la tDCS a été étudié dans la phase chronique lorsque la douleur neuropathique est déjà bien installée tandis que dans la présente étude la tDCS a été appliquée au stade précoce lorsque la chronicité de la douleur est en train de se développer, donc dans le but de prévenir plutôt que de guérir. Les résultats issus des deux études indiquent donc que l'efficacité de la tDCS dépend de la phase du développement de la douleur neuropathique et, qu'en fonction du moment de stimulation, la tDCS peut impacter de manière différente la composante sensori-discriminative et la composante affectivo-émotionnelle. Bien que l'évaluation comportementale des réponses nociceptives ne permettent pas de clarifier les mécanismes d'action sous-tendant cet effet analgésique, il est possible que la stimulation précoce du cortex frontal par la tDCS permette d'interrompre les changements de plasticité maladaptative qui sont en train de se mettre en place en restaurant l'équilibre de la balance excitation/inhibition, notamment dans le cortex insulaire postérieur comme suggéré par nos données préliminaires de l'approche immunohistochimique mettant en évidence une modulation de l'activité microgliale dans cette région cérébrale. Comme précédemment décrit dans l'introduction, les cellules gliales sont largement impliquées dans les mécanismes de sensibilisation périphérique et centrale sous-tendant l'initiation et le maintien de la douleur neuropathique chronique. Les diverses cytokines et chimiokines sont en effet capables de potentialiser la transmission synaptique excitatrice via l'activation de différentes voies de signalisation intracellulaire menant à la phosphorylation et le recrutement des récepteurs glutamatergiques. Les travaux de Qiu et collaborateurs ont notamment mis en évidence chez la souris que la douleur neuropathique est associée à une régulation à la hausse des récepteurs glutamatergiques de type NMDAR et AMPAR dans le cortex insulaire et que le blocage pharmacologique de ces récepteurs, et par conséquent la diminution de l'activité neuronale, permet de supprimer l'allodynie mécanique induite par la ligature du nerf péronéal [Qiu et al., 2013, 2014]. Dans une autre étude, Alonso-Matielo et collègues ont démontré que la stimulation électrique répétitive du cortex insulaire postérieur

(amplitude: 1V, fréquence: 60Hz, largeur d'impulsion: 210µs, intensité de courant: 100µA, durée de stimulation: 15min, 1 session sur 5 jours consécutifs) induit un effet analgésique chez des rats ayant subi une compression chronique du nerf sciatique [Alonso-Matielo et al., 2021]. Les auteurs ont mis en évidence que cet effet anti-nociceptif est associé à une augmentation de l'expression de GAD65 dans le cortex insulaire postérieur et que le blocage pharmacologique des récepteurs GABA_A supprime l'effet bénéfique observé, suggérant une implication possible de ce neurotransmetteur dans les effets de la stimulation électrique. De manière intéressante, aucune modification de l'immunoréactivité astrogliale après la stimulation électrique n'a été rapportée par Alonso-Matielo et collaborateurs, ce qui semble être en accord avec nos résultats immunohistochimiques. Il faut également mentionner que dans nos conditions expérimentales, aucune différence statistiquement significative n'est observée pour le marquage GFAP et Iba1, indépendamment de la structure cérébrale étudiée, entre les animaux neuropathiques non stimulés et les souris contrôles non stimulées. Ceci est probablement lié au délai auquel les cerveaux ont été prélevés, à savoir à la 12^{ème} semaine post-cuff. Les résultats de von Frey démontrent qu'à ce moment les animaux neuropathiques sont déjà dans un stade de récupération spontanée qui est potentiellement associée à une normalisation de la réactivité gliale.

Le changement de la réactivité microgliale dans le cortex insulaire postérieur rapporté dans la présente étude incite à penser que lorsque la tDCS est appliquée sur le cortex frontal, la stimulation n'interfère pas uniquement avec l'activité d'un ensemble limité de neurones localisés au site de la stimulation mais qu'elle est aussi capable d'induire des effets à distance dans des régions cérébrales connues comme faisant partie de la «*matrice douleur*». Une étude récente explorant les bases neuronales de l'effet anti-nociceptif de la tDCS répétitive du cortex frontal a notamment mis en évidence que chez les animaux neuropathiques la polarité anodique conduit à une atténuation à long-terme de l'excitabilité neuronale dans le cortex cingulaire antérieur et médian, le cortex insulaire postérieur, le cortex moteur primaire et la PAG ventrolatérale [Gan et al., 2021a]. Il est supposé que cette réduction de l'excitabilité dans les circuits nociceptifs résulte d'une augmentation de l'activité des neurones inhibiteurs de projection à la somatostatine du cortex préfrontal [Gan et al., 2021a]. Des connexions

anatomiques distinctes identifiées chez des primates non humains ont montré que le cortex insulaire postérieur reçoit principalement des projections du cortex cingulaire médian [Lu et al., 2016]. L'augmentation de la connectivité fonctionnelle entre ces deux régions conduit au recrutement du système PAG-RVM qui facilite la voie nociceptive sérotoninergique (excitatrice) descendante responsable du maintien de l'allodynie mécanique dans deux modèles murins de neuropathie (modèle du nerf épargné et modèle inflammatoire) [Tan et al., 2017]. Il semblerait alors que l'inhibition de l'activité du circuit cortex cingulaire médian-cortex insulaire postérieur-PAG ventrolatérale joue un rôle important dans l'effet analgésique de la tDCS anodique. D'un autre côté, le cortex cingulaire antérieur envoie des projections directes vers la corne dorsale de la moëlle épinière et est ainsi capable de moduler, sans passer par le système PAG-RVM, l'hyperexcitabilité spinale [Chen et al., 2018]. Dans le modèle de douleur chronique de type inflammatoire, Shao et collègues ont montré que l'activation chémo-génétique des neurones GABAergiques du cortex cingulaire antérieur permet de réduire l'activité des neurones pyramidaux excitateurs locaux et par conséquent d'atténuer l'allodynie mécanique et le comportement anxieux associé [Shao et al., 2021]. La diminution de l'activité neuronale du cortex moteur primaire rapportée dans l'étude de Gan et collaborateurs [Gan et al., 2021a] suggère également une possible implication du circuit cortex moteur-thalamus-PAG/RVM dans l'action analgésique de la tDCS anodique [Lima et Fregni, 2008].

Les résultats des tests comportementaux obtenus dans cette étude suggèrent que la présence de l'allodynie mécanique n'est pas forcément associée à une altération de l'état émotionnel des animaux neuropathiques. Ces résultats sont en désaccord avec ceux obtenus dans la première étude présentée dans ce manuscrit où il a été démontré que la compression chronique du nerf sciatique induit l'apparition d'un phénotype anxio-dépressif comorbide. Des résultats contradictoires sont également documentés dans la littérature concernant la caractérisation de l'altération émotionnelle dans divers modèles animaux de douleur neuropathique [Leite-Almeida et al., 2015; Kremer et al., 2021]. La revue de Kremer et collègues, incluant une analyse détaillée de 144 articles, souligne que l'un des facteurs majeurs pouvant expliquer cette divergence des résultats entre les études précliniques est le temps, c'est-à-dire le moment où les tests de comportements sont réalisés. Ainsi, si l'évaluation du comportement émotionnel est

réalisée à un délai très précoce ou très tardif par rapport au moment de l'induction de la douleur, il est fort probable que les différents tests comportementaux résultent en une absence d'altération de la composante émotionnelle. Comme mentionné précédemment, dans le modèle du «*Cuff*» il a été montré que les souris ayant subi la compression chronique du nerf sciatique développent un comportement de type anxieux à partir de la 4^{ème} semaine post-opératoire et présentent un phénotype dépressif entre la 6^{ème} et la 8^{ème} semaine post-chirurgie [Yalcin et al., 2011]. Dans les deux études présentées dans ce manuscrit, ce facteur temps a été pris en compte et tous les tests comportementaux ont été réalisés entre la 6^{ème} et la 8^{ème} semaine post-cuff. Pitzer et collaborateurs ont effectué une étude chronologique des symptômes anxio-dépressifs dans deux modèles murin de neuropathie (modèle de douleur inflammatoire par injection d'adjuvant complet de Freund et le modèle du nerf épargné SNI) et ont mis en évidence que même si les différentes phases du développement de la douleur chronique sont prises en compte et que les tests de comportements sont réalisés durant la période où les animaux présentent une hypersensibilité accrue aux stimuli mécaniques, il est possible de ne pas observer une altération du comportement émotionnel chez les souris C57BL/6J neuropathiques [Pitzer et al., 2019].

Comme discuté auparavant, la manifestation des signes d'allodynie mécanique diffère entre les deux études décrites dans le présent travail. Lorsqu'il n'y a pas d'accumulation des actes chirurgicaux, comme c'est le cas dans la 1^{ère} étude, l'apparition de l'allodynie mécanique est restreinte uniquement au niveau de la patte opérée tandis qu'elle s'étend sur la patte controlatérale lorsque les deux opérations sont réalisées en même temps. Ceci incite à se demander si la bilatéralisation de la douleur observée dans la présente étude est capable de retarder l'apparition des troubles anxio-dépressifs. En d'autres termes, il est possible d'envisager que le système nociceptif soit pleinement engagé dans le traitement de la composante sensori-discriminative de la douleur (de traiter les informations provenant des mécanismes sous-tendant la bilatéralisation) que l'intégration de l'aspect désagréable du ressenti douloureux par les structures cérébrales impliquées dans la composante affectivo-émotionnelle serait retardée. Dans ce cas, le délai auquel les différents tests comportementaux ont été réalisés n'est potentiellement pas adapté à révéler un dysfonctionnement émotionnel et

nécessitent d'être effectués à un délai plus tardif. Cependant, cette affirmation peut être réfutable étant donné que les animaux neuropathiques utilisés dans cette étude présentent une récupération spontanée à partir de la 11^{ème} semaine post-cuff et aucune altération du comportement anxio-dépressif n'est détecté jusqu'à la 8^{ème} semaine post-opératoire, laissant donc ainsi seulement une marge de deux semaines pour la mise en évidence d'une perturbation tardive de la composante affective. Il est aussi important de noter que l'évaluation du comportement émotionnel des animaux dans nos deux études n'est pas basée sur une donnée comportementale unique issue d'un seul test mais plutôt sur une convergence d'observations comportementales provenant des différents tests qui ensemble permettent de définir le phénotype anxio-dépressif. Au vu de ces considérations, il est possible que les lots d'animaux utilisés dans cette seconde étude soient moins vulnérables à développer des troubles affectifs comorbides. D'après les données épidémiologiques [Radat et al., 2013; Cherif et al., 2020], la prévalence des troubles anxieux et dépressifs (20.3%-73.7% et 29.7%-65.6%, respectivement) dans la population neuropathique varie considérablement, ce qui indique que pas tous les patients souffrant d'une douleur chronique d'origine neuropathique développent des comorbidités affectives. Les résultats comportementaux de notre étude peuvent alors refléter cette variabilité interindividuelle existante en clinique où les profils pathologiques des patients neuropathiques diffèrent en fonction de la prévalence des symptômes anxio-dépressifs. Dans nos conditions expérimentales, les différences phénotypiques décrites peuvent être dues à certaines modifications qui ont eu lieu entre les deux études, notamment le changement du fournisseur et le changement dans les conditions d'hébergement. En ce qui concerne le changement du fournisseur, la première étude présentée dans ce manuscrit a été réalisée avec des souris C57BL/6J provenant du Janvier Labs, tandis que pour la deuxième étude des souris C57BL/6J ont été procurées auprès de Charles River Laboratories. Il est alors possible que les réponses comportementales des animaux varient en fonction du fournisseur utilisé. Un tel effet fournisseur-dépendant sur le comportement anxieux évalué dans les tests de l'OF et du LDB a notamment été démontré chez les rats Sprague Dawley issus de trois fournisseurs différents [Tsuda et al., 2020]. Les auteurs ont mis en évidence que les rats Sprague Dawley issus du fournisseur Taconic présentent un phénotype anxieux significativement plus important par

rapport aux rats Sprague Dawley provenant de Charles River ou Envigo, confirmant que des facteurs externes liés au fournisseur peuvent potentiellement impacter les résultats comportementaux. Un autre changement à mentionner est qu'entre les deux études un aménagement des locaux d'animalerie a eu lieu afin de pouvoir accueillir un nombre plus important d'animaux. Par conséquent, alors que pour la première étude les cages des animaux Sham et Cuff ont été séparées sur des portoirs différents, cette séparation n'a pas pu être réalisée pour les souris utilisées dans la seconde étude. Ainsi, des changements éventuels dans la salle d'hébergement, tels que le bruit ou la fréquence d'occupation, ont pu potentiellement influencés le comportement des animaux. Quoi qu'il en soit, en absence d'un trait pathologique anxio-dépressif évident chez les animaux neuropathiques dans cette étude (en comparaison avec les souris contrôles), il est possible que la tDCS échoue de démontrer quelconque effet bénéfique sur l'état émotionnel. D'un autre côté, étant donné que le traitement par la tDCS a été appliqué à un délai relativement proche de la chirurgie de la compression du nerf sciatique, il est probable que les signes anxio-dépressifs n'ont pas pu se développer en raison d'atténuation de l'allodynie mécanique chez les animaux neuropathiques ayant reçu des stimulations répétées de polarité anodique. De ce fait, les résultats de cette étude ne permettent pas d'exclure avec certitude un effet potentiellement bénéfique de la tDCS précoce sur la composante émotionnelle de la douleur.

Pour résumer, les résultats de cette étude mettent en évidence que la compression chronique du nerf sciatique induit une allodynie mécanique à long-terme qui s'étend de manière tardive sur le côté controlatéral. Dans nos conditions expérimentales, cette hypersensibilité mécanique ne conduit pas à l'émergence des troubles anxio-dépressifs comorbides et les animaux neuropathiques ne développent pas non plus des déficits motivationnels. Lorsqu'appliquées de manière précoce, les stimulations répétitives de polarité anodique du cortex frontal induisent un effet analgésique soutenu chez les souris neuropathiques. Cet effet bénéfique s'exerce probablement par une diminution des changements de plasticité maladaptative à travers une régulation des processus neuro-inflammatoires dans des structures cérébrales connues pour être impliquées dans la composante sensori-discriminative de la douleur, telles que le cortex insulaire postérieur.

LIMITES ET PERSPECTIVES

1. Limites

Le travail présenté dans ce manuscrit n'est pas exempt de limites. Au vu des résultats obtenus, l'une des limites majeures est liée à l'absence d'un groupe de comparaison de souris naïves. Le choix de ne pas inclure un tel groupe dans les expérimentations était fondé sur le fait que la majorité des études réalisées sur des modèles animaux de neuropathie utilisent uniquement le groupe Sham comme groupe contrôle. Les animaux Sham ont subi toutes les étapes de la chirurgie de la compression du nerf sciatique (sauf l'implantation du cuff) ainsi que celle de la chirurgie de pose d'embase (sans délivrance du courant). Les résultats obtenus indiquent que la chirurgie en elle-même peut avoir un effet sur le comportement, surtout nociceptif, des animaux Sham, ce qui a probablement mené à des fluctuations importantes au niveau des seuils nociceptifs. Ceci peut s'avérer problématique car ces fluctuations peuvent parfois masquer l'effet du cuff chez les animaux neuropathiques et biaiser ainsi l'interprétation des résultats. De plus, si les animaux du groupe Sham présentent un dysfonctionnement sensoriel, même minime, cela signifie que l'effet de la tDCS n'est plus comparé entre une population pathologique et une population saine de souris contrôles. Il s'avère aussi que la compression du nerf sciatique peut parfois affecter le seuil nociceptif de la patte non opérée. En effet, dans la seconde étude une bilatéralisation de la douleur a été observée chez les animaux neuropathiques, ce qui souligne le fait que l'utilisation de la patte controlatérale comme patte contrôle peut parfois ne pas être le choix judicieux. Toutes ces observations soulignent l'importance d'inclure un groupe d'animaux naïfs (sans chirurgie) dans les expérimentations afin de pouvoir distinguer clairement l'effet de la tDCS sur le comportement des animaux.

Une autre limite est que dans nos études les effets de la compression du nerf sciatique et du traitement tDCS ont été exclusivement évalués chez les animaux mâles, ce qui ne reflète pas la réalité épidémiologique de la prévalence de la douleur chronique où ce sont majoritairement les femmes qui sont les plus concernées [Mogil, 2020]. De plus, les données des méta-analyses semblent indiquer que les femmes sont plus sensibles aux stimuli douloureux et que la réponse aux analgésiques diffère en fonction du sexe [Wiesenfeld-Hallin, 2005; Niesters et al., 2010; Mogil, 2012, 2020]. Ainsi, si la variable sexe n'est pas prise en compte, ceci peut conduire à une

prise en charge inadéquate de la douleur. Bien qu'au cours des dernières années une augmentation du nombre des travaux incluant les deux sexes soit observée, seulement 20% de ces études évaluent le sexe comme une variable expérimentale, c'est-à-dire que dans la majorité des cas les résultats obtenus ne sont toujours pas comparés en fonction du sexe [Will et al., 2017]. D'un point de vue historique, l'utilisation des animaux mâles en recherche préclinique est privilégiée à cause d'une plus grande variabilité des données chez les femelles en raison des fluctuations hormonales, ce qui par conséquent complique l'interprétation et incite les chercheurs à augmenter le nombre d'effectifs afin de valider les résultats obtenus [Smith, 2019]. Néanmoins, ce raisonnement s'avère actuellement quelque part peu justifié étant donné que plusieurs études ont démontré que la phase d'œstrus n'a pas de réel impact sur de nombreux paramètres comportementaux, électrophysiologiques, neurochimiques et histologiques [Prendergast et al., 2014; Becker et al., 2016]. Ainsi, le fait d'inclure des animaux femelles dans la recherche préclinique ne nécessite pas forcément l'utilisation d'un plus grand nombre d'animaux. De ce fait, pour mieux comprendre les mécanismes sous-tendant l'effet de la tDCS et afin d'éviter un risque de généralisation de son effet thérapeutique, il serait nécessaire de compléter nos données expérimentales en utilisant des souris femelles, ce qui permettrait d'améliorer la pertinence translationnelle de cette technique non invasive de neuromodulation dans le traitement de la douleur neuropathique.

Dans nos conditions expérimentales, les souris ont été maintenues éveillées lors des sessions de stimulation dans le but de se rapprocher le plus possible des conditions cliniques ainsi que pour éviter une interaction potentielle entre l'agent anesthésiant (isoflurane) et les effets comportementaux de la tDCS. Il a notamment été démontré dans un modèle de rat de douleur neuropathique (modèle CCI) que les expositions répétitives à l'isoflurane (20 min/ jour, pendant 8 jours) sont capables de potentialiser l'effet analgésique induit par l'acupuncture et l'électroacupuncture ainsi que de modifier le niveau d'expression de NGF et de la protéine S100b (marqueur d'atteinte lésionnelle) dans le nerf sciatique [Spezia Adachi et al., 2018]. L'isoflurane exerce son effet d'anesthésique via une inhibition des récepteurs au glutamate de type NMDAR [Nishikawa et MacIver, 2000]. Étant donné que ces récepteurs sont largement impliqués dans les mécanismes de sensibilisation périphérique et centrale sous-tendant le développement de la

douleur neuropathique, il est possible que l'administration de l'isoflurane interfère avec la réponse nociceptive des animaux. Mishima et collaborateurs ont montré que la stimulation de polarité anodique du cortex visuel chez la souris induit des changements morphologiques de la microglie, notamment une augmentation de la taille du soma [Mishima et al., 2019]. Cependant, une telle modification de la morphologie microgliale a été observée uniquement chez des animaux éveillés mais pas chez les souris qui ont été anesthésiées pendant les sessions de stimulation, suggérant que l'isoflurane pourrait aussi interférer avec les effets de la tDCS via une intervention sur la microglie. Outre son effet sur les mécanismes de la douleur, il semblerait que l'isoflurane peut aussi affecter les résultats des tests comportementaux. Par exemple, il a été rapporté qu'une stimulation unique de polarité anodique permet d'observer un effet antidépresseur dans le test de FST lorsque les animaux ont été stimulés sous anesthésie, mais cet effet n'est plus visible chez les animaux qui ont été éveillés pendant la stimulation [Peanlikhit et al., 2017]. Les données de Peanlikhit et celles de Spezia Adachi mettent ainsi en évidence que l'isoflurane interfère avec les effets de la tDCS, généralement en potentialisant son effet thérapeutique.

Le choix de ne pas anesthésier les animaux pendant les sessions de stimulation implique la réalisation des contentions répétées qui peuvent présenter un facteur de stress important susceptible d'atténuer l'effet thérapeutique de la tDCS. En effet, certaines études montrent qu'un stress de contention chronique conduit à une augmentation de la sensibilité à la douleur, reflétée par l'apparition des signes d'hyperalgésie et d'allodynie mécanique [Bardin et al., 2009; Spezia Adachi et al., 2012]. Il faut néanmoins noter que dans ces études, le stress de contention est appliqué en plaçant l'animal dans un tube en plastique pendant 1h/jour pour une période de 5 ou 11 semaines consécutives, conduisant ainsi à l'apparition des premiers signes de neuropathie à partir de la 2^{ème} semaine du protocole expérimental [Bardin et al., 2009]. Pour notre protocole de stimulation, les souris ont été placées dans des boîtes de contention et maintenues pendant 40min/jour (20min le matin et 20min l'après-midi, avec un intervalle de 4h entre les deux sessions) pendant 5 jours consécutifs. Ces différences dans le mode et la durée de contention ne permettent pas de préciser à quel niveau le stress de contention induit par notre modèle est capable d'impacter les effets de la tDCS. Ceci souligne aussi la nécessité

d'inclure un groupe contrôle de souris naïves (sans chirurgie, sans contention, sans stimulation) dans nos futures expériences. Dans les études présentées dans ce manuscrit, le groupe contrôle était constitué des souris Sham, c'est-à-dire des animaux qui ont subi la même chirurgie et les mêmes contentions que les souris stimulées mais qui n'ont pas reçu de stimulation active. Il est aussi important de mentionner qu'après les sessions de stimulation les animaux n'ont pas été manipulés jusqu'à plusieurs jours ou semaines plus tard. Plus précisément, le premier test post-stim de von Frey a été réalisé une semaine après la fin de la dernière session de stimulation et les tests comportementaux ont débuté à la 3^{ème} semaine post-stim. Ainsi, l'effet que le stress de contention a pu avoir sur le comportement des animaux a probablement été atténué au moment de la réalisation des tests post-stim.

Pour les sessions de stimulation, l'électrode stimulatrice est vissée dans une embase chirurgicalement fixée sur le crâne de l'animal. De ce fait, il est généralement recommandé de placer les souris en cages individuelles après la chirurgie afin d'éviter la dégradation ou le décrochage des embases. Cependant, pour nos expérimentations, nous avons choisi de garder les animaux en cages collectives pour ne pas induire un autre facteur de stress pouvant biaiser les résultats comportementaux. En effet, il a été démontré que l'isolement social mène à une augmentation de la sensibilité à la douleur [Vachon et al., 2013] et induit le développement d'un phénotype anxio-dépressif chez la souris [Ieraci et al., 2016; Lee et al., 2021].

Comme évoqué dans l'introduction, la tDCS conventionnelle présente une faible résolution spatiale et de nouvelles approches technologiques sont en train de se développer afin de pallier ce problème [DaSilva et al., 2015]. Etant donné que dans nos expériences nous n'avons pas procédé à une étude immunohistochimique complète d'un marqueur d'activité neuronale (c-Fos, Zif268, Egr-1...), nous ne pouvons pas spécifier la focalité de la stimulation. Néanmoins, en vue de la modulation de la réactivité microgliale dans le cortex insulaire postérieur induite par la polarité anodique dans notre étude et en se basant sur d'autres données de la littérature [Dimov et al., 2016; Gan et al., 2021a; Gan et al., 2021b], il semble bien que l'effet de la tDCS n'est pas restreint au site de stimulation mais agit également sur des circuits neuronaux impliqués dans le traitement de la douleur. De plus, si on prend en considération le positionnement de l'électrode stimulatrice ainsi que le rapport entre la taille de l'électrode

stimulatrice et le cortex frontal des souris, il est possible que le montage utilisé dans nos expériences ne permette pas d'obtenir une différenciation optimale de la zone stimulée. Ainsi, une contribution du cortex moteur à l'effet analgésique de la tDCS ne peut être totalement exclue dans nos conditions expérimentales. Un autre facteur à prendre en considération est la différence de densité de courant appliquée dans les études cliniques et précliniques. Tandis qu'en clinique la densité de courant est communément de l'ordre de 0.57 A/m^2 (pour une stimulation de 2mA), chez le modèle animal utilisé dans ce manuscrit elle est de 57 A/m^2 . Bien que cette densité de courant soit 100 fois plus élevée de celle actuellement utilisée chez l'Homme, elle ne dépasse pas pour autant les limites de sécurité établies chez la souris (seuil d'induction de lésions cérébrales: 220 A/m^2) [Pikhovych et al., 2016a; Pikhovych et al., 2016b].

Les limites discutées ici sont bien évidemment non exhaustives dû à la complexité de la modélisation de la douleur neuropathique ainsi que de la tDCS chez l'animal. De plus, en raison des différences anatomo-physiologiques entre espèces (conductivité du tissu, épaisseur de la peau et l'os du crâne, taille de la tête, présence ou non de circonvolutions: lissencéphale chez la souris vs gyrencéphale chez l'Homme) et des contraintes techniques inhérentes au modèle animal, il est difficile d'extrapoler les résultats des études précliniques à l'Homme. Bien qu'imparfaites, ces études sont néanmoins nécessaires pour mieux comprendre les effets physiologiques de la tDCS et apprendre davantage sur ses mécanismes d'action, ce qui permettra d'obtenir des résultats plus fiables pouvant augmenter la validité thérapeutique de cette technique de neuromodulation dans la prise en charge de la douleur neuropathique.

2. Perspectives

- **Etude des processus (neuro)-inflammatoires dans le modèle «Cuff» et les modifications induites par la tDCS**

Au cours de ce travail de thèse, plusieurs échantillons frais (sang, rate, moëlle épinière, cerveau) ont été prélevés à différents délais durant les protocoles de tDCS tardive (**Tableau 5**) et tDCS précoce (**Tableau 6**) dans le but de procéder à un phénotypage des cellules immunitaires par cytométrie en flux multiparamétrique dans le modèle «Cuff» et d'étudier les effets modulateurs potentiels de la tDCS sur les processus (neuro)-inflammatoires. Les mesures des marqueurs de

l'inflammation dans les différents échantillons prélevés seront réalisées en collaboration avec les Dr. Francis Bonnefoy et Dr. Sylvain Perruche de l'unité INSERM-1098 «Interaction hôte-greffon-tumeur et Ingénierie cellulaire et génique» de Besançon. Ces analyses permettront d'explorer plus en détails l'hypothèse inflammatoire impliquée dans la physiopathologie de la douleur neuropathique et les résultats obtenus vont enrichir les connaissances sur les modes d'action des nouvelles stratégies thérapeutiques, telles que la tDCS.

Comme précédemment mentionné, une partie des coupes de cerveaux a déjà été traitée par immunohistochimie enzymatique afin de quantifier les marqueurs gliaux GFAP et Iba1. Ces analyses doivent être finalisées ce qui nous permettra d'avoir un aperçu plus précis sur les modifications de la réactivité astrocytaire et microgliale induites par la tDCS dans différentes structures cérébrales faisant partie de la «*matrice douleur*». Il serait intéressant de compléter cette étude par une analyse de Scholl (analyse des caractéristiques morphologiques des cellules) pour déterminer si la douleur neuropathique d'une part et le traitement par la tDCS d'autre part induisent des changements morphologiques des cellules gliales étudiées.

Les résultats escomptés devraient permettre de mieux comprendre les mécanismes à l'origine du développement et du maintien de la douleur chronique d'origine neuropathique, ses relations avec les processus inflammatoires et neuro-inflammatoires et de préciser les modalités et moments opportuns d'utilisation de la tDCS pour la prise en charge des différentes dimensions sensori-discriminative et affective dans une perspective de médecine de précision pour lutter au mieux contre la douleur chronique humaine.

- **Etude de l'effet thérapeutique de la tDCS sur les conséquences cognitives induites par la douleur neuropathique chronique**

Comme déjà mentionné dans l'introduction, la définition de la douleur fait intervenir 4 composantes. Les travaux réalisés jusqu'à présent ont permis d'étudier trois de ces composantes, à savoir la composante sensori-discriminative, affectivo-émotionnelle et comportementale. La 4^{ème} composante qui reflète l'aspect cognitif reste donc à être déterminée. Outre les tests évaluant la mémoire à court- et à long-terme ou la mémoire

spatiale, le développement des paradigmes de conditionnement opérant permettant d'étudier le comportement d'impulsivité et la flexibilité cognitive pourront être envisagés.

Tableau 5 Comptabilisation du nombre d'échantillons biologiques disponible pour l'expérience tDCS tardive et précision des délais de prélèvements

tDCS tardive: souris C57BL/6JRj

Délai de prélèvement	Sang		Tissus frais	
	Sham	Cuff	Sham	Cuff
3 semaines post-cuff	5	5	×	×
5 semaines post-cuff	4	4	5	5
12 semaines post-cuff	5	5	×	×
14 semaines post-cuff	5	5	5	5

Tableau 6 Comptabilisation du nombre d'échantillons biologiques disponible pour l'expérience tDCS précoce et précision des délais de prélèvements

tDCS précoce: souris C57BL/6N

Groupes d'animaux et nombre d'échantillons sanguins									
Délai de prélèvement	Naïves	Sham	Cuff	Sham No-stim	Sham-Anodale	Sham-Cathodale	Cuff No-stim	Cuff-Anodale	Cuff-Cathodale
Baseline: avant chirurgie cuff	25								
1 semaine post-cuff	5	31	32						
3 semaines post-cuff & 48h post-tDCS				15	11	8	13	13	10
4 semaines post-cuff & 1 semaine post-tDCS				15	13	8	13	13	10
6 semaines post-cuff & 3 semaine post-tDCS				5	6	×	5	7	×
8 semaines post-cuff & 5 semaine post-tDCS				4	×	×	5	7	×
12 semaines post-cuff & 9 semaine post-tDCS				10	8	8	9	9	10

Groupes d'animaux et nombre d'échantillons de rate, moelle épinière, cerveaux frais									
Délai de prélèvement	Naïves	Sham	Cuff	Sham No-stim	Sham-Anodale	Sham-Cathodale	Cuff No-stim	Cuff-Anodale	Cuff-Cathodale
1 semaine post-cuff	5	5	4						
3 semaines post-cuff & 48h post-tDCS				5	3	×	4	4	×
4 semaines post-cuff & 1 semaine post-tDCS				5	5	×	4	4	×
6 semaines post-cuff & 3 semaine post-tDCS				5	6	×	5	7	×
8 semaines post-cuff & 5 semaine post-tDCS				4	×	×	5	7	

CONCLUSION

Ce travail de thèse s'est intéressé à savoir si le ciblage du cortex frontal par la tDCS pourrait présenter un intérêt thérapeutique dans le soulagement de l'allodynie mécanique et ses comorbidités anxio-dépressives dans un modèle murin de douleur neuropathique chronique. Les résultats présentés dans ce manuscrit suggèrent que les effets polarité-dépendants de la tDCS varient en fonction du temps d'intervention. Plus précisément, il a été démontré que les stimulations répétées de polarité cathodique permettent d'atténuer l'altération de la composante affectivo-émotionnelle lorsque la chronicité de la douleur est installée depuis longtemps, tandis que la tDCS de polarité anodique présente un effet analgésique lorsqu'elle est appliquée à un stade précoce, c'est-à-dire lorsque les mécanismes de sensibilisation centrale sont en train de se développer. Ces travaux mettent donc en évidence que le cortex frontal semble être une cible corticale intéressante pour étudier les effets de la tDCS non seulement sur la dimension émotionnelle mais également sur la composante sensori-discriminative de la douleur neuropathique. Ils soulignent aussi la nécessité de prendre en considération le degré de chronicité de la douleur lors des études cliniques utilisant la tDCS comme un outil thérapeutique. Malgré les données encourageantes de ce travail de thèse, des études complémentaires sont nécessaires pour rechercher les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-tendant les effets de ce type de stimulation, mécanismes qui permettront potentiellement de développer des stratégies d'intervention individualisées afin de proposer un traitement plus approprié aux patients neuropathiques.

BIBLIOGRAPHIE

- Abbadie, C. et al. (2003)** 'Impaired neuropathic pain responses in mice lacking the chemokine receptor CCR2', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(13), pp. 7947–7952. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1331358100>.
- Abdallat, M. et al. (2021)** 'Centromedian–parafascicular and somatosensory thalamic deep brain stimulation for treatment of chronic neuropathic pain: a contemporary series of 40 patients', *Biomedicines*, 9(7), p. 731. Available at: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9070731>.
- Abd-Elseyed, A. et al. (2019)** 'Neuropathic pain and Kv7 voltage-gated potassium channels: the potential role of Kv7 activators in the treatment of neuropathic pain', *Molecular Pain*, 15, p. 174480691986425. Available at: <https://doi.org/10.1177/1744806919864256>.
- Abreu, V. et al. (2017)** 'Thalamic deep brain stimulation for neuropathic pain: efficacy at three years' follow-up', *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*, 20(5), pp. 504–513. Available at: <https://doi.org/10.1111/ner.12620>.
- Adler, M. and Taxer, B. (2021)** 'Quantitative sensory testing for neuropathic pain and its relevance for physiotherapy', *Schmerz (Berlin, Germany)* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00482-021-00576-z>.
- Ahdab, R. et al. (2010)** 'Comparison of “standard” and “navigated” procedures of TMS coil positioning over motor, premotor and prefrontal targets in patients with chronic pain and depression', *Neurophysiologie Clinique/Clinical Neurophysiology*, 40(1), pp. 27–36. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2010.01.001>.
- Ahn, S. et al. (2019)** 'Identifying and engaging neuronal oscillations by transcranial alternating current stimulation in patients with chronic low back pain: a randomized, crossover, double-blind, sham-controlled pilot study', *The Journal of Pain*, 20(3), p. 277.e1-277.e11. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2018.09.004>.
- Aiyer, R. et al. (2016)** 'Treatment of neuropathic pain with venlafaxine: a systematic review', *Pain Medicine*, p. pnw261. Available at: <https://doi.org/10.1093/pm/pnw261>.
- Akil, H. et al. (1976)** 'Antagonism of stimulation-produced analgesia by naloxone, a narcotic antagonist', *Science (New York, N.Y.)*, 191(4230), pp. 961–962. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1251210>.
- Alba-Delgado, C. et al. (2013)** 'Chronic pain leads to concomitant noradrenergic impairment and mood disorders', *Biological Psychiatry*, 73(1), pp. 54–62. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.06.033>.
- Alles, S.R. et al. (2018)** 'Peripheral nerve injury increases contribution of L-type calcium channels to synaptic transmission in spinal lamina II: Role of $\alpha 2\delta$ -1 subunits', *Molecular Pain*, 14, p. 1744806918765806. Available at: <https://doi.org/10.1177/1744806918765806>.
- Alm, P. and Dreimanis (2013)** 'Neuropathic pain: transcranial electric motor cortex stimulation using high frequency random noise. Case report of a novel treatment', *Journal of Pain Research*, p. 479. Available at: <https://doi.org/10.2147/JPR.S44648>.

- Alonso-Matielo, H. et al. (2021)** 'Electrical stimulation of the posterior insula induces mechanical analgesia in a rodent model of neuropathic pain by modulating GABAergic signaling and activity in the pain circuitry', *Brain Research*, 1754, p. 147237. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147237>.
- de Andrade, D.C. et al. (2011)** 'Neuropharmacological basis of rTMS-induced analgesia: the role of endogenous opioids', *Pain*, 152(2), pp. 320–326. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.10.032>.
- Andrell, P. et al. (2010)** 'Long-term effects of spinal cord stimulation on angina symptoms and quality of life in patients with refractory angina pectoris-results from the European Angina Registry Link Study (EARL)', *Heart*, 96(14), pp. 1132–1136. Available at: <https://doi.org/10.1136/hrt.2009.177188>.
- André-Obadia, N. et al. (2006)** 'Transcranial magnetic stimulation for pain control. Double-blind study of different frequencies against placebo, and correlation with motor cortex stimulation efficacy', *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 117(7), pp. 1536–1544. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2006.03.025>.
- André-Obadia, N. et al. (2008)** 'Pain relief by rTMS: differential effect of current flow but no specific action on pain subtypes', *Neurology*, 71(11), pp. 833–840. Available at: <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000325481.61471.f0>.
- Andreoli, M. et al. (2017)** 'Contribution of amygdala CRF neurons to chronic pain', *Experimental Neurology*, 298, pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.08.010>.
- Antal, A. et al. (2017)** 'Low intensity transcranial electric stimulation: safety, ethical, legal regulatory and application guidelines', *Clinical Neurophysiology*, 128(9), pp. 1774–1809. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.06.001>.
- Apkarian, V.A. et al. (2004)** 'Chronic pain patients are impaired on an emotional decision-making task', *Pain*, 108(1), pp. 129–136. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2003.12.015>.
- Apkarian, A.V. et al. (2005)** 'Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease', *European Journal of Pain*, 9(4), pp. 463–463. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2004.11.001>.
- Araque, A. et al. (1999)** 'Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner', *Trends in Neurosciences*, 22(5), pp. 208–215. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(98\)01349-6](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(98)01349-6).
- Arguis, M. et al. (2008)** 'Contralateral neuropathic pain following a surgical model of unilateral nerve injury in rats', *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, 33(3), pp. 211–216. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.rapm.2007.12.003>.
- Attal, N. et al. (2006)** 'EFNS guidelines on pharmacological treatment of neuropathic pain', *European Journal of Neurology*, 13(11), pp. 1153–1169. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2006.01511.x>.
- Attal, N. and Bouhassira, D. (2010)** 'Stratégies d'évaluation des douleurs neuropathiques', *EMC - Neurologie*, 7(2), pp. 1–10. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0246-0378\(10\)52771-4](https://doi.org/10.1016/S0246-0378(10)52771-4).
- Attal, N. et al. (2016)** 'Safety and efficacy of repeated injections of botulinum toxin A in peripheral neuropathic pain (BOTNEP): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial', *The Lancet. Neurology*, 15(6), pp. 555–565. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00017-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00017-X).
- Attal, N. (2019)** 'Pharmacological treatments of neuropathic pain: the latest recommendations', *Revue Neurologique*, 175(1–2), pp. 46–50. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2018.08.005>.

- B**ackonja, M.-M. and Stacey, B. (2004) 'Neuropathic pain symptoms relative to overall pain rating', *The Journal of Pain*, 5(9), pp. 491–497. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2004.09.001>.
- Bair, M.J. *et al.* (2003) 'Depression and pain comorbidity: a literature review', *Archives of Internal Medicine*, 163(20), p. 2433. Available at: <https://doi.org/10.1001/archinte.163.20.2433>.
- Bajwa, Z.H. *et al.* (2003) 'Anatomy and physiology of pain'. Available at: <https://doi.org/10.1016/B0-44-306557-8/50221-5>.
- Bansal, D. *et al.* (2009) 'Amitriptyline vs. pregabalin in painful diabetic neuropathy: a randomized double blind clinical trial', *Diabetic Medicine*, 26(10), pp. 1019–1026. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2009.02806.x>.
- Barbati, S.A. *et al.* (2020) 'Enhancing plasticity mechanisms in the mouse motor cortex by anodal transcranial direct-current stimulation: the Contribution of nitric oxide signaling', *Cerebral Cortex*, 30(5), pp. 2972–2985. Available at: <https://doi.org/10.1093/cercor/bhz288>.
- Barch, D.M. *et al.* (2019) 'Hippocampal volume and depression among young children', *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 288, pp. 21–28. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.psychresns.2019.04.012>.
- Bardin, L. *et al.* (2009) 'Chronic restraint stress induces mechanical and cold allodynia, and enhances inflammatory pain in rat: relevance to human stress-associated painful pathologies', *Behavioural Brain Research*, 205(2), pp. 360–366. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.07.005>.
- Baron, R. (2009) 'Neuropathic pain: a clinical perspective', in B.J. Canning and D. Spina (eds) *Sensory Nerves*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Handbook of Experimental Pharmacology), pp. 3–30. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-540-79090-7_1.
- Barrot, M. (2012) 'Tests and models of nociception and pain in rodents', *Neuroscience*, 211, pp. 39–50. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.12.041>.
- Barthas, F. *et al.* (2015) 'The anterior cingulate cortex is a critical hub for pain-induced depression', *Biological Psychiatry*, 77(3), pp. 236–245. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.08.004>.
- Barthas, F. *et al.* (2017) 'Cingulate overexpression of mitogen-activated protein kinase phosphatase-1 as a key factor for depression', *Biological Psychiatry*, 82(5), pp. 370–379. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.01.019>.
- Basbaum, A.I. *et al.* (2009) 'Cellular and molecular mechanisms of pain', *Cell*, 139(2), pp. 267–284. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.028>.
- Batsikadze, G. *et al.* (2013) 'Partially non-linear stimulation intensity-dependent effects of direct current stimulation on motor cortex excitability in humans: effect of tDCS on cortical excitability', *The Journal of Physiology*, 591(7), pp. 1987–2000. Available at: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.249730>.
- Battleday, R.M. *et al.* (2014) 'Mapping the mechanisms of transcranial alternating current stimulation: a pathway from network effects to cognition', *Frontiers in Psychiatry*, 5. Available at: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2014.00162>.
- Becker, J.B. *et al.* (2016) 'Female rats are not more variable than male rats: a meta-analysis of neuroscience studies', *Biology of Sex Differences*, 7(1), p. 34. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13293-016-0087-5>.

- Becker, L.J. et al. (2022)** *The basolateral amygdala-anterior cingulate pathway contributes to depression and its comorbidity with chronic pain.* preprint. Neuroscience. Available at: <https://doi.org/10.1101/2022.08.09.503276>.
- Beesdo, K. et al. (2010)** 'Pain associated with specific anxiety and depressive disorders in a nationally representative population sample', *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 45(1), pp. 89–104. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00127-009-0045-1>.
- Beggs, S. and Salter, M.W. (2010)** 'Microglia–neuronal signalling in neuropathic pain hypersensitivity 2.0', *Current Opinion in Neurobiology*, 20(4), pp. 474–480. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2010.08.005>.
- Benbouzid, M. et al. (2008a)** 'Sciatic nerve cuffing in mice: A model of sustained neuropathic pain', *European Journal of Pain*, 12(5), pp. 591–599. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2007.10.002>.
- Benbouzid, M. et al. (2008b)** 'Chronic, but not acute, tricyclic antidepressant treatment alleviates neuropathic allodynia after sciatic nerve cuffing in mice', *European Journal of Pain*, 12(8), pp. 1008–1017. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2008.01.010>.
- Benbouzid, M. et al. (2008c)** 'Delta-opioid receptors are critical for tricyclic antidepressant treatment of neuropathic allodynia', *Biological Psychiatry*, 63(6), pp. 633–636. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.06.016>.
- Bendersky, D. and Yampolsky, C. (2014)** 'Is spinal cord stimulation Safe? A review of its complications', *World Neurosurgery*, 82(6), pp. 1359–1368. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2013.06.012>.
- Bennabi, D. et al. (2014)** 'Transcranial direct current stimulation for memory enhancement: from clinical research to animal models', *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00159>.
- Bennabi, D. et al. (2020)** 'Influence of transcranial direct current stimulation on psychomotor symptoms in major depression', *Brain Sciences*, 10(11), p. 792. Available at: <https://doi.org/10.3390/brainsci10110792>.
- Bennett, G.J. and Xie, Y.-K. (1988)** 'A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man', *Pain*, 33(1), pp. 87–107. Available at: [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(88\)90209-6](https://doi.org/10.1016/0304-3959(88)90209-6).
- Bennett, D.L. et al. (2019)** 'The role of voltage-gated sodium channels in pain signaling', *Physiological Reviews*, 99(2), pp. 1079–1151. Available at: <https://doi.org/10.1152/physrev.00052.2017>.
- Bennett, M. (2000)** 'The concept of long term potentiation of transmission at synapses', *Progress in Neurobiology*, 60(2), pp. 109–137. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(99\)00006-4](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(99)00006-4).
- Bernal, L. and Roza, C. (2018)** 'Hyperpolarization-activated channels shape temporal patterns of ectopic spontaneous discharge in C-nociceptors after peripheral nerve injury', *European Journal of Pain*, 22(8), pp. 1377–1387. Available at: <https://doi.org/10.1002/ejp.1226>.
- Bignami, A. et al. (1972)** 'Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence', *Brain Research*, 43(2), pp. 429–435. Available at: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(72\)90398-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(72)90398-8).
- Bikson, M. et al. (2004)** 'Effects of uniform extracellular DC electric fields on excitability in rat hippocampal slices *in vitro*: modulation of neuronal function by electric fields', *The Journal of Physiology*, 557(1), pp. 175–190. Available at: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.055772>.

- Bikson, M. et al. (2016)** 'Safety of transcranial direct current stimulation: evidence based update 2016', *Brain Stimulation*, 9(5), pp. 641–661. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2016.06.004>.
- Binder, A. and Baron, R. (2016)** 'The pharmacological therapy of chronic neuropathic pain', *Deutsches Ärzteblatt international* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.3238/arztebl.2016.0616>.
- Bindman, L.J. et al. (1964)** 'The action of brief polarizing currents on the cerebral cortex of the rat (1) during current flow and (2) in the production of long-lasting after-effects', *The Journal of Physiology*, 172(3), pp. 369–382. Available at: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1964.sp007425>.
- Birmann, P.T. et al. (2019)** '3-(4-Chlorophenylselanyl)-1-methyl-1H-indole promotes recovery of neuropathic pain and depressive-like behavior induced by partial constriction of the sciatic nerve in mice', *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 54, pp. 126–133. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2019.04.014>.
- Bittar, R.G. et al. (2005)** 'Deep brain stimulation for pain relief: a meta-analysis', *Journal of Clinical Neuroscience*, 12(5), pp. 515–519. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2004.10.005>.
- Biurrun Manresa, J.A. et al. (2015)** 'Dynamic changes in nociception and pain perception after spinal cord stimulation in chronic neuropathic pain patients', *The Clinical Journal of Pain*, 31(12), pp. 1046–1053. Available at: <https://doi.org/10.1097/AJP.000000000000209>.
- Bliss, T.V. and Collingridge, G.L. (2013)** 'Expression of NMDA receptor-dependent LTP in the hippocampus: bridging the divide', *Molecular Brain*, 6(1), p. 5. Available at: <https://doi.org/10.1186/1756-6606-6-5>.
- Blom, S.M. et al. (2014)** 'Nerve injury-induced neuropathic pain causes disinhibition of the anterior cingulate cortex', *Journal of Neuroscience*, 34(17), pp. 5754–5764. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3667-13.2014>.
- Boggio, P.S. et al. (2007)** 'Repeated sessions of noninvasive brain DC stimulation is associated with motor function improvement in stroke patients', *Restorative Neurology and Neuroscience*, 25(2), pp. 123–129. PMID: 17726271. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17726271/>.
- Boggio, P.S. et al. (2008)** 'Modulatory effects of anodal transcranial direct current stimulation on perception and pain thresholds in healthy volunteers: modulation of pain threshold with transcranial direct current stimulation', *European Journal of Neurology*, 15(10), pp. 1124–1130. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2008.02270.x>.
- Boggio, P.S. et al. (2009)** 'Modulation of emotions associated with images of human pain using anodal transcranial direct current stimulation (tDCS)', *Neuropsychologia*, 47(1), pp. 212–217. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2008.07.022>.
- Bouhassira, D. et al. (2004)** 'Development and validation of the Neuropathic Pain Symptom Inventory', *Pain*, 108(3), pp. 248–257. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2003.12.024>.
- Bouhassira, D. et al. (2005)** 'Comparison of pain syndromes associated with nervous or somatic lesions and development of a new neuropathic pain diagnostic questionnaire (DN4)', *Pain*, 114(1), pp. 29–36. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.12.010>.
- Bourin, M. et al. (2007)** 'Animal models of anxiety in mice', *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 21(6), pp. 567–574. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2007.00526.x>.

- Bourquin, A.-F. et al. (2006)** 'Assessment and analysis of mechanical allodynia-like behavior induced by spared nerve injury (SNI) in the mouse', *Pain*, 122(1), pp. 14e1-14e14. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2005.10.036>.
- Braun, R. et al. (2016)** 'Transcranial direct current stimulation accelerates recovery of function, induces neurogenesis and recruits oligodendrocyte precursors in a rat model of stroke', *Experimental Neurology*, 279, pp. 127–136. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2016.02.018>.
- Breivik, H. et al. (2013)** 'The individual and societal burden of chronic pain in Europe: the case for strategic prioritisation and action to improve knowledge and availability of appropriate care', *BMC Public Health*, 13(1), p. 1229. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-1229>.
- Broniec, A. (2016)** 'Analysis of EEG signal by flicker-noise spectroscopy: identification of right-/left-hand movement imagination', *Medical & Biological Engineering & Computing*, 54(12), pp. 1935–1947. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11517-016-1491-z>.
- Brunoni, A.R. et al. (2011)** 'Translational research in transcranial direct current stimulation (tDCS): a systematic review of studies in animals', *revneuro*, 22(4), pp. 471–481. Available at: <https://doi.org/10.1515/rns.2011.042>.
- Bushnell, M.C. et al. (2013)** 'Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain', *Nature Reviews Neuroscience*, 14(7), pp. 502–511. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrn3516>.
- Cabeza, L. et al. (2021)** 'Chronic distress in male mice impairs motivation compromising both effort and reward processing with altered anterior insular cortex and basolateral amygdala neural activation', *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 15, p. 717701. Available at: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.717701>.
- Cambiaghi, M. et al. (2010)** 'Brain transcranial direct current stimulation modulates motor excitability in mice', *European Journal of Neuroscience*, 31(4), pp. 704–709. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07092.x>.
- Cardoso-Cruz, H. et al. (2018)** 'Blockade of dopamine D2 receptors disrupts intrahippocampal connectivity and enhances pain-related working memory deficits in neuropathic pain rats', *European Journal of Pain*, 22(5), pp. 1002–1015. Available at: <https://doi.org/10.1002/ejp.1186>.
- Carlton, S.M. et al. (1991)** 'Neuroma formation and numbers of axons in a rat model of experimental peripheral neuropathy', *Neuroscience Letters*, 131(1), pp. 88–92. Available at: [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(91\)90343-R](https://doi.org/10.1016/0304-3940(91)90343-R).
- Caspani, O. et al. (2014)** 'Tramadol reduces anxiety-related and depression-associated behaviors presumably induced by pain in the chronic constriction injury model of neuropathic pain in rats', *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 124, pp. 290–296. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.06.018>.
- Castillo-Saavedra, L. et al. (2016)** 'Clinically effective treatment of fibromyalgia pain with high-definition transcranial direct current stimulation: phase II open-label dose optimization', *The Journal of Pain*, 17(1), pp. 14–26. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2015.09.009>.
- Cerrahoğlu Şirin, T. et al. (2019)** 'Efficacy and mechanisms of transcranial electrical stimulation in headache disorders', *Neurological Sciences and Neurophysiology*, 36, pp. 57–68. Available at: <https://doi.org/10.5152/NSN.2019.12441>.

- Challa, S.R. (2015)** 'Surgical animal models of neuropathic pain: pros and cons', *International Journal of Neuroscience*, 125(3), pp. 170–174. Available at: <https://doi.org/10.3109/00207454.2014.922559>.
- Chang, Y.-W. et al. (2010)** 'Unilateral focal burn injury is followed by long-lasting bilateral allodynia and neuronal hyperexcitability in spinal cord dorsal horn', *The Journal of Pain*, 11(2), pp. 119–130. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2009.06.009>.
- Chao, T.-H.H. et al. (2018)** 'Plasticity changes in forebrain activity and functional connectivity during neuropathic pain development in rats with sciatic spared nerve injury', *Molecular Brain*, 11(1), p. 55. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13041-018-0398-z>.
- Chen, T. et al. (2018)** 'Top-down descending facilitation of spinal sensory excitatory transmission from the anterior cingulate cortex', *Nature Communications*, 9(1), p. 1886. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04309-2>.
- Chen, J. et al. (2020a)** 'A meta-analysis of transcranial direct current stimulation on substance and food craving: what effect do modulators have?', *Frontiers in Psychiatry*, 11, p. 598. Available at: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00598>.
- Chen, F. et al. (2020b)** 'Hippocampal volume and cell number in depression, schizophrenia, and suicide subjects', *Brain Research*, 1727, p. 146546. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146546>.
- Chenaf, C. et al. (2018)** 'Prevalence of chronic pain with or without neuropathic characteristics in France using the capture–recapture method: a population-based study', *Pain*, 159(11), pp. 2394–2402. Available at: <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001347>.
- Cheng, J.-K. and Ji, R.-R. (2008)** 'Intracellular signaling in primary sensory neurons and persistent pain', *Neurochemical Research*, 33(10), pp. 1970–1978. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11064-008-9711-z>.
- Cheng, H.T. et al. (2009)** 'Nerve growth factor mediates mechanical allodynia in a mouse model of type 2 diabetes', *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 68(11), pp. 1229–1243. Available at: <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181bef710>.
- Cheng, C.-F. et al. (2015)** 'Nerve growth factor–induced synapse-like structures in contralateral sensory ganglia contribute to chronic mirror-image pain', *Pain*, 156(11), pp. 2295–2309. Available at: <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000280>.
- Cherif, F. et al. (2020)** 'Depression prevalence in neuropathic pain and its impact on the quality of life', *Pain Research and Management*, p. 8. Available at: <https://doi.org/10.1155/2020/7408508>.
- Chia, J.S.M. et al. (2016)** 'Zerumbone alleviates chronic constriction injury-induced allodynia and hyperalgesia through serotonin 5-HT receptors', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 83, pp. 1303–1310. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.08.052>.
- Chien, S.Q. et al. (2005)** 'Sympathetic fiber sprouting in chronically compressed dorsal root ganglia without peripheral axotomy', *Journal of Neuropathic Pain & Symptom Palliation*, 1(1), pp. 19–23. Available at: https://doi.org/10.1300/J426v01n01_05.
- Chowdhury, S. et al. (2006)** 'Arc/Arg3.1 interacts with the endocytic machinery to regulate AMPA receptor trafficking', *Neuron*, 52(3), pp. 445–459. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.08.033>.

- Chung, G. et al. (2017)** 'Upregulation of prefrontal metabotropic glutamate receptor 5 mediates neuropathic pain and negative mood symptoms after spinal nerve injury in rats', *Scientific Reports*, 7(1), p. 9743. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09991-8>.
- Ciampi de Andrade, D. et al. (2014)** 'Repetitive transcranial magnetic stimulation induced analgesia depends on N-methyl-d-aspartate glutamate receptors', *Pain*, 155(3), pp. 598–605. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.12.022>.
- Cichon, J. et al. (2018)** 'Spared nerve injury model of neuropathic pain in mice', *BIO-PROTOCOL*, 8(6). Available at: <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2777>.
- Cioato, S.G. et al. (2016)** 'Long-lasting effect of transcranial direct current stimulation in the reversal of hyperalgesia and cytokine alterations induced by the neuropathic pain model', *Brain Stimulation*, 9(2), pp. 209–217. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2015.12.001>.
- Cocco, S. et al. (2018)** 'Role of BDNF signaling in memory enhancement induced by transcranial direct current stimulation', *Frontiers in Neuroscience*, 12, p. 427. Available at: <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00427>.
- Cohen, S.P. and Mao, J. (2014)** 'Neuropathic pain: mechanisms and their clinical implications', *BMJ*, 348(feb05 6), pp. f7656–f7656. Available at: <https://doi.org/10.1136/bmj.f7656>.
- Cohen, S.P. et al. (2016)** 'Anti-nerve growth factor in pain management: current evidence', *Journal of Pain Research*, p. 373. Available at: <https://doi.org/10.2147/JPR.S89061>.
- Cohen, M.J. et al. (2018)** 'Pathophysiology of pain', in *Challenging Neuropathic Pain Syndromes*. Elsevier, pp. 1–5. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48566-1.00001-2>.
- Colleoni, M. and Sacerdote, P. (2010)** 'Murine models of human neuropathic pain', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1802(10), pp. 924–933. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.10.012>.
- Colloca, L. et al. (2017)** 'Neuropathic pain', *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), p. 17002. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.2>.
- Conte, D. et al. (2005)** 'Transmitter content, origins and connections of axons in the spinal cord that possess the serotonin (5-hydroxytryptamine) 3 receptor', *Neuroscience*, 134(1), pp. 165–173. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.02.013>.
- Cooper, T.E. et al. (2017)** 'Morphine for chronic neuropathic pain in adults', *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Edited by Cochrane Pain, Palliative and Supportive Care Group, 2019(5). Available at: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011669.pub2>.
- Costa, R. et al. (2018)** 'Kinin receptors sensitize TRPV4 channel and induce mechanical hyperalgesia: relevance to paclitaxel-induced peripheral neuropathy in mice', *Molecular Neurobiology*, 55(3), pp. 2150–2161. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0475-9>.
- Coull, J.A.M. et al. (2005)** 'BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain', *Nature*, 438(7070), pp. 1017–1021. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature04223>.
- Creutzfeldt, O.D. et al. (1962)** 'Influence of transcortical d-c currents on cortical neuronal activity', *Experimental Neurology*, 5, pp. 436–452. Available at: [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(62\)90056-0](https://doi.org/10.1016/0014-4886(62)90056-0).

- Crosby, N.D. et al. (2015)** 'Burst and tonic spinal cord stimulation differentially activate GABAergic mechanisms to attenuate pain in a rat model of cervical radiculopathy', *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 62(6), pp. 1604–1613. Available at: <https://doi.org/10.1109/TBME.2015.2399374>.
- Cruccu, G. et al. (2016)** 'EAN guidelines on central neurostimulation therapy in chronic pain conditions', *European Journal of Neurology*, 23(10), pp. 1489–1499. Available at: <https://doi.org/10.1111/ene.13103>.
- Crupi, R. et al. (2011)** 'Hypericum perforatum treatment: effect on behaviour and neurogenesis in a chronic stress model in mice', *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(1), p. 7. Available at: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-7>.
- Cui, J.-G. et al. (1997)** 'Spinal cord stimulation attenuates augmented dorsal horn release of excitatory amino acids in mononeuropathy via a GABAergic mechanism', *Pain*, 73(1), pp. 87–95. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(97\)00077-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(97)00077-8).
- Cui, J.-G. et al. (2000)** 'Possible role of inflammatory mediators in tactile hypersensitivity in rat models of mononeuropathy', p. 10. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00331-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00331-6).
-  **Daou, I. et al. (2016)** 'Optogenetic silencing of Nav1.8-positive afferents alleviates inflammatory and neuropathic Pain', *eneuro*, 3(1), p. ENEURO.0140-15.2016. Available at: <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0140-15.2016>.
- Das, V. (2015)** 'An introduction to pain pathways and pain “targets”', in *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. Elsevier, pp. 1–30. Available at: <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.01.003>.
- DaSilva, A.F. et al. (2015)** 'State-of-art neuroanatomical target analysis of high-definition and conventional tDCS montages used for migraine and pain control', *Frontiers in Neuroanatomy*, 9. Available at: <https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00089>.
- David, D.J. et al. (2007)** 'Efficacy of the MCHR1 antagonist N-[3-(1-[4-(3,4-difluorophenoxy)phenyl]methyl)(4-piperidyl))-4-methylphenyl]-2-methylpropanamide (SNAP 94847) in mouse models of anxiety and depression following acute and chronic administration is independent of hippocampal neurogenesis', *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 321(1), pp. 237–248. Available at: <https://doi.org/10.1124/jpet.106.109678>.
- De Ridder, D. et al. (2010)** 'Burst spinal cord stimulation: toward paresthesia-free pain suppression', *Neurosurgery*, 66(5), pp. 986–990. Available at: <https://doi.org/10.1227/01.NEU.0000368153.44883.B3>.
- Decosterd, I. and Woolf, C.J. (2000)** 'Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain', *Pain*, 87(2), pp. 149–158. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00276-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00276-1).
- Deer, T.R. et al. (2017)** 'Dorsal root ganglion stimulation yielded higher treatment success rate for complex regional pain syndrome and causalgia at 3 and 12 months: a randomized comparative trial', *Pain*, 158(4), pp. 669–681. Available at: <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000814>.
- Deng, Z.-D. et al. (2013)** 'Electric field depth–focality tradeoff in transcranial magnetic stimulation: simulation comparison of 50 coil designs', *Brain Stimulation*, 6(1), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2012.02.005>.
- Deogaonkar, M. et al. (2016)** 'Spinal cord stimulation (SCS) and functional magnetic resonance imaging (fMRI): modulation of cortical connectivity with therapeutic SCS', *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*, 19(2), pp. 142–153. Available at: <https://doi.org/10.1111/ner.12346>.

- Deuis, J.R. et al. (2017)** 'Methods used to evaluate pain behaviors in rodents', *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10, p. 284. Available at: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284>.
- Dick, B.D. and Rashiq, S. (2007)** 'Disruption of attention and working memory traces in individuals with chronic pain', *Anesthesia & Analgesia*, 104(5), pp. 1223–1229. Available at: <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000263280.49786.f5>.
- Dimitrov, E.L. et al. (2014)** 'Anxiety- and depression-like behavior and impaired neurogenesis evoked by peripheral neuropathy persist following resolution of prolonged tactile hypersensitivity', *Journal of Neuroscience*, 34(37), pp. 12304–12312. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0312-14.2014>.
- Dimov, L.F. et al. (2016)** 'Top-down effect of direct current stimulation on the nociceptive response of rats', *PLOS ONE*. Edited by A. Antal, 11(4), p. e0153506. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153506>.
- Dissanayaka, T.D. et al. (2018)** 'Sham transcranial electrical stimulation and its effects on corticospinal excitability: a systematic review and meta-analysis', *Reviews in the Neurosciences*, 29(2), pp. 223–232. Available at: <https://doi.org/10.1515/revneuro-2017-0026>.
- Djoughri, L. (2006)** 'Spontaneous pain, both neuropathic and inflammatory, is related to frequency of spontaneous firing in intact C-fiber nociceptors', *Journal of Neuroscience*, 26(4), pp. 1281–1292. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3388-05.2006>.
- D'Mello, R. and Dickenson, A.H. (2008)** 'Spinal cord mechanisms of pain', *British Journal of Anaesthesia*, 101(1), pp. 8–16. Available at: <https://doi.org/10.1093/bja/aen088>.
- Dmochowski, J.P. et al. (2011)** 'Optimized multi-electrode stimulation increases focality and intensity at target', *Journal of Neural Engineering*, 8(4), p. 046011. Available at: <https://doi.org/10.1088/1741-2560/8/4/046011>.
- Dolhem, R. (2008)** 'The history of electrostimulation in rehabilitation medicine', *Annales De Readaptation Et De Medecine Physique: Revue Scientifique De La Societe Francaise De Reeducation Fonctionnelle De Readaptation Et De Medecine Physique*, 51(6), pp. 427–431. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.annrmp.2008.04.004>.
- Dongyang, L. et al. (2021)** 'Posterior-superior insular deep transcranial magnetic stimulation alleviates peripheral neuropathic pain — a pilot double-blind, randomized cross-over study', *Neurophysiologie Clinique*, 51(4), pp. 291–302. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2021.06.003>.
- Dowdall, T. et al. (2005)** 'Comparison of five different rat models of peripheral nerve injury', *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 80(1), pp. 93–108. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.10.016>.
- Dowdle, L.T. et al. (2018)** 'Single pulse TMS to the DLPFC, compared to a matched sham control, induces a direct, causal increase in caudate, cingulate, and thalamic BOLD signal', *Brain Stimulation*, 11(4), pp. 789–796. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.02.014>.
- Drevets, W.C. (2001)** 'Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders', *Current Opinion in Neurobiology*, 11(2), pp. 240–249. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(00\)00203-8](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(00)00203-8).
- Drevets, W.C. et al. (2002)** 'Glucose metabolism in the amygdala in depression: relationship to diagnostic subtype and plasma cortisol levels', *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71(3), pp. 431–447. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(01\)00687-6](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00687-6).

Duric, V. et al. (2010) 'A negative regulator of MAP kinase causes depressive behavior', *Nature Medicine*, 16(11), pp. 1328–1332. Available at: <https://doi.org/10.1038/nm.2219>.

Dworkin, R.H. et al. (2007) 'Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations', *Pain*, 132(3), pp. 237–251. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2007.08.033>.

Dworkin, R.H. et al. (2010) 'Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: an overview and literature update', *Mayo Clinic Proceedings*, 85(3), pp. S3–S14. Available at: <https://doi.org/10.4065/mcp.2009.0649>.

Eaton, M.J. et al. (1999) 'A single intrathecal injection of GABA permanently reverses neuropathic pain after nerve injury', *Brain Research*, 835(2), pp. 334–339. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01564-4](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01564-4).

Eaton, S.L. et al. (2013) 'Total protein analysis as a reliable loading control for quantitative fluorescent western blotting', *PLoS ONE*. Edited by P.J. Kahle, 8(8), p. e72457. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072457>.

Ellis, A. and Bennett, D.L.H. (2013) 'Neuroinflammation and the generation of neuropathic pain', *British Journal of Anaesthesia*, 111(1), pp. 26–37. Available at: <https://doi.org/10.1093/bja/aet128>.

Eng, L.F. et al. (1971) 'An acidic protein isolated from fibrous astrocytes', *Brain Research*, 28(2), pp. 351–354. Available at: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(71\)90668-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(71)90668-8).

Erichsen, H.K. and Blackburn-Munro, G. (2002) 'Pharmacological characterisation of the spared nerve injury model of neuropathic pain', *Pain*, 98(1), pp. 151–161. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(02\)00039-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(02)00039-8).

Eroglu, C. et al. (2009) 'Gabapentin receptor alpha2delta-1 is a neuronal thrombospondin receptor responsible for excitatory CNS synaptogenesis', *Cell*, 139(2), pp. 380–392. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.025>.

Faедda, G.L. et al. (2010) 'The origins of electroconvulsive therapy: Prof. Bini's first report on ECT', *Journal of Affective Disorders*, 120(1–3), pp. 12–15. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2009.01.023>.

Faria, P. et al. (2011) 'A finite element analysis of the effect of electrode area and inter-electrode distance on the spatial distribution of the current density in tDCS', *Journal of Neural Engineering*, 8(6), p. 066017. Available at: <https://doi.org/10.1088/1741-2560/8/6/066017>.

Field, M.J. et al. (2006) 'Identification of the alpha2-delta-1 subunit of voltage-dependent calcium channels as a molecular target for pain mediating the analgesic actions of pregabalin', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(46), pp. 17537–17542. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0409066103>.

Filho, P.R.M. et al. (2016) 'Transcranial direct current stimulation (tDCS) reverts behavioral alterations and brainstem BDNF level increase induced by neuropathic pain model: long-lasting effect', *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 64, pp. 44–51. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.06.016>.

Finnerup, N.B. et al. (2005) 'Algorithm for neuropathic pain treatment: an evidence based proposal', *Pain*, 118(3), pp. 289–305. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2005.08.013>.

- Finnerup, N.B. et al. (2010)** 'The evidence for pharmacological treatment of neuropathic pain', *Pain*, 150(3), pp. 573–581. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.06.019>.
- Finnerup, N.B. et al. (2015)** 'Pharmacotherapy for neuropathic pain in adults: a systematic review and meta-analysis', *The Lancet Neurology*, 14(2), pp. 162–173. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70251-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70251-0).
- Finnerup, N.B. et al. (2021)** 'Neuropathic pain: from mechanisms to treatment', *Physiological Reviews*, 101(1), pp. 259–301. Available at: <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2019>.
- Fitzcharles, M.-A. et al. (2021)** 'Nociplastic pain: towards an understanding of prevalent pain conditions', *The Lancet*, 397(10289), pp. 2098–2110. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00392-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00392-5).
- Fontaine, D. et al. (2009)** 'Efficacy and safety of motor cortex stimulation for chronic neuropathic pain: critical review of the literature: clinical article', *Journal of Neurosurgery*, 110(2), pp. 251–256. Available at: <https://doi.org/10.3171/2008.6.17602>.
- François, A. et al. (2015)** 'The low-threshold calcium channel Cav3.2 determines low-threshold mechanoreceptor function', *Cell Reports*, 10(3), pp. 370–382. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.12.042>.
- Franken, G. et al. (2021)** 'Conventional dorsal root ganglion stimulation in an experimental model of painful diabetic peripheral neuropathy: a quantitative immunocytochemical analysis of intracellular γ -aminobutyric acid in dorsal root ganglion neurons', *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*, 24(4), pp. 639–645. Available at: <https://doi.org/10.1111/ner.13398>.
- Franzini, A. et al. (2008)** 'Long-term chronic stimulation of internal capsule in poststroke pain and spasticity', *Stereotactic and Functional Neurosurgery*, 86(3), pp. 179–183. Available at: <https://doi.org/10.1159/000120431>.
- Fregni, F. et al. (2005)** 'Transcranial direct current stimulation of the unaffected hemisphere in stroke patients', *Neuroreport*, 16(14), pp. 1551–1555. Available at: <https://doi.org/10.1097/01.wnr.0000177010.44602.5e>.
- Fregni, F. et al. (2006a)** 'A randomized, sham-controlled, proof of principle study of transcranial direct current stimulation for the treatment of pain in fibromyalgia', *Arthritis & Rheumatism*, 54(12), pp. 3988–3998. Available at: <https://doi.org/10.1002/art.22195>.
- Fregni, F. et al. (2006b)** 'A sham-controlled, phase II trial of transcranial direct current stimulation for the treatment of central pain in traumatic spinal cord injury', *Pain*, 122(1), pp. 197–209. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.02.023>.
- Fregni, F. et al. (2006c)** 'Treatment of major depression with transcranial direct current stimulation', *Bipolar Disorders*, 8(2), pp. 203–204. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2006.00291.x>.
- Fregni, F. et al. (2021)** 'Evidence-based guidelines and secondary meta-analysis for the use of transcranial direct current stimulation in neurological and psychiatric disorders', *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 24(4), pp. 256–313. Available at: <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyaa051>.
- Freyenhagen, R. et al. (2019)** 'Current understanding of the mixed pain concept: a brief narrative review', *Current Medical Research and Opinion*, 35(6), pp. 1011–1018. Available at: <https://doi.org/10.1080/03007995.2018.1552042>.

Fritsch, B. et al. (2017) 'Transcranial electrical brain stimulation in alert rodents', *Journal of Visualized Experiments*, (129), p. 56242. Available at: <https://doi.org/10.3791/56242>.

Galhardoni, R. et al. (2019) 'Insular and anterior cingulate cortex deep stimulation for central neuropathic pain: disassembling the percept of pain', *Neurology*, p. 10.1212/WNL.0000000000007396. Available at: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000007396>.

Galliot, E. et al. (2012) 'Fear-like behavioral responses in mice in different odorant environments: trigeminal versus olfactory mediation under low doses', *Behavioural Processes*, 90(2), pp. 161–166. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2012.01.002>.

Gan, Z. et al. (2021a) 'Repetitive non-invasive prefrontal stimulation reverses neuropathic pain via neural remodelling in mice', *Progress in Neurobiology*, 201, p. 102009. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2021.102009>.

Gan, Z. et al. (2021b) 'Suppression of neuropathic pain and comorbidities by recurrent cycles of repetitive transcranial direct current motor cortex stimulation in mice', *Scientific Reports*, 11(1), p. 9735. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89122-6>.

Gao, Y.-J. et al. (2009) 'JNK-induced MCP-1 production in spinal cord astrocytes contributes to central sensitization and neuropathic pain', *Journal of Neuroscience*, 29(13), pp. 4096–4108. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3623-08.2009>.

Gao, Y.-J. and Ji, R.-R. (2010) 'Targeting astrocyte signaling for chronic pain', 7(4), p. 12. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2010.05.016>.

Garcia-Larrea, L. and Bastuji, H. (2018) 'Pain and consciousness', *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 87, pp. 193–199. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.10.007>.

Gaskell, H. et al. (2016) 'Oxycodone for neuropathic pain in adults', *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Edited by Cochrane Pain, Palliative and Supportive Care Group, 2016(7). Available at: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010692.pub3>.

George, M.S. et al. (1994) 'Prefrontal cortex dysfunction in clinical depression', *Depression*, 2(2), pp. 59–72. Available at: <https://doi.org/10.1002/depr.3050020202>.

Gibson, W. et al. (2017) 'Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for neuropathic pain in adults', *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Edited by Cochrane Pain, Palliative and Supportive Care Group, 2021(3). Available at: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011976.pub2>.

Gibson, W. et al. (2019) 'Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for chronic pain - an overview of Cochrane reviews', *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Preprint]. Edited by Cochrane Pain, Palliative and Supportive Care Group. Available at: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011890.pub3>.

Gierthmühlen, J. and Baron, R. (2016) 'Neuropathic Pain', *Seminars in Neurology*, 36(5), pp. 462–468. Available at: <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584950>.

Giglio, J.A. and Gregg, J.M. (2018) 'Development of mirror pain following trigeminal nerve injury: a case report and review of neuropathic mechanisms', *GENERAL DENTISTRY*, p. 6. PMID: 29303763. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29303763/>.

- Gilron, I. et al. (2015)** 'Neuropathic pain: principles of diagnosis and treatment', *Mayo Clinic Proceedings*, 90(4), pp. 532–545. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2015.01.018>.
- Girach, A. et al. (2019)** 'Quality of life in painful peripheral neuropathies: a systematic review', *Pain Research and Management*, 2019, pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1155/2019/2091960>.
- Gold, M.S. et al. (2003)** 'Redistribution of Na^v 1.8 in uninjured axons enables neuropathic pain', *The Journal of Neuroscience*, 23(1), pp. 158–166. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-01-00158.2003>.
- Goldberg, D.S. and McGee, S.J. (2011)** 'Pain as a global public health priority', *BMC Public Health*, 11(1), p. 770. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2458-11-770>.
- Gonçalves, L. et al. (2008)** 'Neuropathic pain is associated with depressive behaviour and induces neuroplasticity in the amygdala of the rat', *Experimental Neurology*, 213(1), pp. 48–56. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.04.043>.
- Gong, N. et al. (2018)** 'Injury-induced maladaptation and dysregulation of calcium channel $\alpha_2\delta$ subunit proteins and its contribution to neuropathic pain development', *British Journal of Pharmacology*, 175(12), pp. 2231–2243. Available at: <https://doi.org/10.1111/bph.13930>.
- Gopalsamy, B. et al. (2017)** 'Antiallodynic and antihyperalgesic activities of zerumbone via the suppression of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in a mouse model of neuropathic pain', *Journal of Pain Research*, 10, pp. 2605–2619. Available at: <https://doi.org/10.2147/JPR.S143024>.
- Gopalsamy, B. et al. (2019)** 'Experimental characterization of the chronic constriction injury-induced neuropathic pain model in mice', *Neurochemical Research*, 44(9), pp. 2123–2138. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02850-0>.
- Gosselin, R.D. et al. (2005)** 'Constitutive expression of CCR2 chemokine receptor and inhibition by MCP-1/CCL2 of GABA-induced currents in spinal cord neurones', *Journal of Neurochemistry*, 95(4), pp. 1023–1034. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03431.x>.
- Gray, A.L. et al. (2015)** 'Sex differences in glutamate receptor gene expression in major depression and suicide', *Molecular Psychiatry*, 20(9), pp. 1057–1068. Available at: <https://doi.org/10.1038/mp.2015.91>.
- Grosprêtre, S. et al. (2021)** 'Effect of transcranial direct current stimulation on the psychomotor, cognitive, and motor performances of power athletes', *Scientific Reports*, 11(1), p. 9731. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89159-7>.
- Guan, Y. et al. (2010)** 'Spinal cord stimulation-induced analgesia', *Anesthesiology*, 113(6), pp. 1392–1405. Available at: <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181fcd95c>.
- Guida, F. et al. (2020)** 'Behavioral, biochemical and electrophysiological changes in spared nerve injury model of neuropathic pain', *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), p. 3396. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms21093396>.
- Guilloux, J.-P. et al. (2011)** 'Integrated behavioral z-scoring increases the sensitivity and reliability of behavioral phenotyping in mice: Relevance to emotionality and sex', *Journal of Neuroscience Methods*, 197(1), pp. 21–31. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2011.01.019>.
- Guo, W. et al. (2014)** 'Spinal 5-HT₃ receptors mediate descending facilitation and contribute to behavioral hypersensitivity via a reciprocal neuron-glia signaling cascade', *Molecular Pain*, 10, p. 35. Available at: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-10-35>.

Guzowski, J.F. et al. (2000) 'Inhibition of activity-dependent Arc protein expression in the rat hippocampus impairs the maintenance of long-term potentiation and the consolidation of long-term memory', *The Journal of Neuroscience*, 20(11), pp. 3993–4001. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-11-03993.2000>.

Hadjjat, Y. et al. (2018) 'Pain associated with health and economic burden in France: results from recent National Health and Wellness Survey data', *ClinicoEconomics and Outcomes Research*, Volume 10, pp. 53–65. Available at: <https://doi.org/10.2147/CEOR.S148405>.

Hains, B.C. (2004) 'Altered sodium channel expression in second-order spinal sensory neurons contributes to pain after peripheral nerve injury', *Journal of Neuroscience*, 24(20), pp. 4832–4839. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0300-04.2004>.

Hardaway, F.A. et al. (2018) 'Deep brain stimulation-related infections: analysis of rates, timing, and seasonality', p. 8. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuros/nyx505>.

Harrison, M. et al. (2013) 'Vertebral landmarks for the identification of spinal cord segments in the mouse', *NeuroImage*, 68, pp. 22–29. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.11.048>.

Hatashita, S. et al. (2008) 'Contralateral neuropathic pain and neuropathology in dorsal root ganglion and spinal cord following hemilateral nerve injury in rats', *Spine*, 33(12), pp. 1344–1351. Available at: <https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181733188>.

He, W.-J. et al. (2012) 'Spinal P2X7 receptor mediates microglia activation-induced neuropathic pain in the sciatic nerve injury rat model', *Behavioural Brain Research*, 226(1), pp. 163–170. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.09.015>.

Heimrath, K. et al. (2020) 'Transcranial direct current stimulation (tDCS) over the auditory cortex modulates GABA and glutamate: a 7 T MR-spectroscopy study', *Scientific Reports*, 10(1), p. 20111. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77111-0>.

Heinricher, M.M. et al. (2009) 'Descending control of nociception: specificity, recruitment and plasticity', *Brain Research Reviews*, 60(1), pp. 214–225. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2008.12.009>.

Herr, K. (2004) 'Neuropathic pain: a guide to comprehensive assessment', *Pain Management Nursing*, 5, pp. 9–18. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pmn.2004.10.004>.

Herwig, U. et al. (2003) 'Using the international 10-20 EEG system for positioning of transcranial magnetic stimulation', *Brain Topography*, 16(2), pp. 95–99. Available at: <https://doi.org/10.1023/B:BRAT.0000006333.93597.9d>.

Hide, I. et al. (2000) 'Extracellular ATP triggers tumor necrosis factor- α release from rat microglia', *Journal of Neurochemistry*, 75(3), pp. 965–972. Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2000.0750965.x>.

Honore, P. et al. (2006) 'A-740003 [N-(1-[(cyanoimino)(5-quinolinylamino) methyl]amino)-2,2-dimethylpropyl)-2-(3,4-dimethoxyphenyl)acetamide], a novel and selective P2X7 receptor antagonist, dose-dependently reduces neuropathic pain in the rat', *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 319(3), pp. 1376–1385. Available at: <https://doi.org/10.1124/jpet.106.111559>.

Hu, Yifeng et al. (2010) 'Amitriptyline rather than lornoxicam ameliorates neuropathic pain-induced deficits in abilities of spatial learning and memory', *European Journal of Anaesthesiology*, 27(2), pp. 162–168. Available at: <https://doi.org/10.1097/EJA.0b013e328331a3d5>.

Hu, X. et al. (2020) 'Inhibition of P2X7R in the amygdala ameliorates symptoms of neuropathic pain after spared nerve injury in rats', *Brain, Behavior, and Immunity*, 88, pp. 507–514. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.04.030>.

Hu, S.-W. et al. (2021) 'Contralateral projection of anterior cingulate cortex contributes to mirror-image pain', *The Journal of Neuroscience*, 41(48), pp. 9988–10003. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0881-21.2021>.

Huang, J. et al. (2019) 'A neuronal circuit for activating descending modulation of neuropathic pain', *Nature Neuroscience*, 22(10), pp. 1659–1668. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0481-5>.

Huang, J. et al. (2020) 'Early Treatment with Temporary Spinal Cord Stimulation Effectively Prevents Development of Postherpetic Neuralgia', *Pain Physician*, 23(2), pp. E219–E230. PMID: 32214307. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32214307/>.

IASP (Accessed: 11 June 2022) 'Terminology | International Association for the Study of Pain', *International Association for the Study of Pain (IASP)*. Available at: <https://www.iasp-pain.org/resources/terminology/>.

Ieraci, A. et al. (2016) 'Social isolation distress induces anxious-depressive-like behavior and alterations of neuroplasticity-related genes in adult male mice', *Neural Plasticity*, 2016, pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1155/2016/6212983>.

Islam, N. et al. (1995) 'Increase in the calcium level following anodal polarization in the rat brain', *Brain Research*, 684(2), pp. 206–208. Available at: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00434-R](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00434-R).

Ito, D. et al. (1998) 'Microglia-specific localisation of a novel calcium binding protein, Iba1', *Molecular Brain Research*, 57(1), pp. 1–9. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(98\)00040-0](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(98)00040-0).

Jackson, M.P. et al. (2017) 'Safety parameter considerations of anodal transcranial Direct Current Stimulation in rats', *Brain, Behavior, and Immunity*, 64, pp. 152–161. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.04.008>.

Jaggi, A.S. et al. (2011) 'Animal models of neuropathic pain', *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 25(1), pp. 1–28. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2009.00801.x>.

Janssen, S.P. et al. (2012) 'Decreased intracellular GABA levels contribute to spinal cord stimulation-induced analgesia in rats suffering from painful peripheral neuropathy: the role of KCC2 and GABAA receptor-mediated inhibition', *Neurochemistry International*, 60(1), pp. 21–30. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2011.11.006>.

Ji, R.-R. et al. (2013) 'Glia and pain: is chronic pain a gliopathy?', *Pain*, 154(Supplement 1), pp. S10–S28. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.06.022>.

Jin, Y. et al. (2015) 'High frequency repetitive transcranial magnetic stimulation therapy for chronic neuropathic pain: a meta-analysis', *Pain Physician*, 18(6), pp. E1029–1046. PMID: 26606017. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26606017/>.

Johnson, M.I. and Bjordal, J.M. (2011) 'Transcutaneous electrical nerve stimulation for the management of painful conditions: focus on neuropathic pain', *Expert Review of Neurotherapeutics*, 11(5), pp. 735–753. Available at: <https://doi.org/10.1586/ern.11.48>.

Jones, M.G. *et al.* (1999) 'A role for nerve growth factor in sympathetic sprouting in rat dorsal root ganglia', *Pain*, 79(1), pp. 21–29. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(98\)00142-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(98)00142-0).

Kahle, K.T. *et al.* (2008) 'Roles of the cation–chloride cotransporters in neurological disease', *Nature Clinical Practice Neurology*, 4(9), pp. 490–503. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncpneuro0883>.

Kallewaard, J.W. *et al.* (2021) '10 kHz spinal cord stimulation for the treatment of failed back surgery syndrome with predominant leg pain: results from a prospective study in patients from the dutch healthcare system', *Pain Practice*, 21(5), pp. 490–500. Available at: <https://doi.org/10.1111/papr.12973>.

Kamoun, N. *et al.* (2021) 'Long-lasting analgesic and neuroprotective action of the non-benzodiazepine anxiolytic etifoxine in a mouse model of neuropathic pain', *Neuropharmacology*, 182, p. 108407. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108407>.

Kapural, L. *et al.* (2015) 'Novel 10-kHz high-frequency therapy (HF10 therapy) is superior to traditional low-frequency spinal cord stimulation for the treatment of chronic back and leg pain', *Anesthesiology*, 123(4), pp. 851–860. Available at: <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000774>.

Kapural, L. *et al.* (2016) 'Comparison of 10-kHz high-frequency and traditional low-frequency spinal cord stimulation for the treatment of chronic back and leg pain: 24-month results from a multicenter, randomized, controlled pivotal trial', *Neurosurgery*, 79(5), pp. 667–677. Available at: <https://doi.org/10.1227/NEU.0000000000001418>.

Kasanetz, F. and Nevian, T. (2021) 'Increased burst coding in deep layers of the ventral anterior cingulate cortex during neuropathic pain', *Scientific Reports*, 11(1), p. 24240. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03652-7>.

Kataoka, A. *et al.* (2009) 'Activation of P2X7 receptors induces CCL3 production in microglial cells through transcription factor NFAT', *Journal of Neurochemistry*, 108(1), pp. 115–125. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05744.x>.

Katona, C. *et al.* (2005) 'Pain symptoms in depression: definition and clinical significance', *Clinical Medicine*, 5(4), pp. 390–395. Available at: <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.5-4-390>.

Kawasaki, Y. *et al.* (2008) 'Cytokine mechanisms of central sensitization: distinct and overlapping role of Interleukin-1 β , Interleukin-6, and Tumor Necrosis Factor- α in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord', *Journal of Neuroscience*, 28(20), pp. 5189–5194. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3338-07.2008>.

Keller, A.F. *et al.* (2007) 'Transformation of the output of spinal lamina I neurons after nerve injury and microglia stimulation underlying neuropathic pain', *Molecular Pain*, 3, pp. 1744–8069-3–27. Available at: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-3-27>.

Khedr, E.M. (2005) 'Longlasting antalgic effects of daily sessions of repetitive transcranial magnetic stimulation in central and peripheral neuropathic pain', *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 76(6), pp. 833–838. Available at: <https://doi.org/10.1136/jnnp.2004.055806>.

Kia, H.K. *et al.* (1995) 'Localization of 5-HT₃ receptors in the rat spinal cord: immunohistochemistry and in situ hybridization', *Neuroreport*, 6(2), pp. 257–261. Available at: <https://doi.org/10.1097/00001756-199501000-00008>.

- Kiguchi, N. et al. (2010)** 'CC-chemokine MIP-1 α in the spinal cord contributes to nerve injury-induced neuropathic pain', *Neuroscience Letters*, 484(1), pp. 17–21. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.07.085>.
- Kim, M.S. et al. (2017)** 'Repeated anodal transcranial direct current stimulation induces neural plasticity-associated gene expression in the rat cortex and hippocampus', *Restorative Neurology and Neuroscience*, 35(2), pp. 137–146. Available at: <https://doi.org/10.3233/RNN-160689>.
- Kim, S. and Chung, J. (1992)** 'An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat', *Pain*, 50(3), pp. 355–363. Available at: [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90041-9](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90041-9).
- King, T. et al. (2009)** 'Unmasking the tonic-aversive state in neuropathic pain', *Nature Neuroscience*, 12(11), pp. 1364–1366. Available at: <https://doi.org/10.1038/nn.2407>.
- Kiliç, M. et al. (2014)** 'Effects of transcutaneous electrical nerve stimulation in patients with peripheral and central neuropathic pain', *Journal of Rehabilitation Medicine*, 46(5), pp. 454–460. Available at: <https://doi.org/10.2340/16501977-1271>.
- Klinkova, A. et al. (2020)** 'The clinical outcomes in patients with critical limb ischemia one year after spinal cord stimulation', *Annals of Vascular Surgery*, 62, pp. 356–364. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2018.12.093>.
- Kobayashi, K. et al. (2011)** 'Induction of the P2X7 receptor in spinal microglia in a neuropathic pain model', *Neuroscience Letters*, 504(1), pp. 57–61. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.08.058>.
- Kodama, D. et al. (2011)** 'Increased hippocampal glycine uptake and cognitive dysfunction after peripheral nerve injury', *Pain*, 152(4), pp. 809–817. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.12.029>.
- Koenigs, M. and Grafman, J. (2009)** 'The functional neuroanatomy of depression: distinct roles for ventromedial and dorsolateral prefrontal cortex', *Behavioural Brain Research*, 201(2), pp. 239–243. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.03.004>.
- Kold, S. and Graven-Nielsen, T. (2022)** 'Modulation Of Experimental Prolonged Pain and Sensitization Using High-Definition Transcranial Direct Current Stimulation: A Double-Blind, Sham-Controlled Study', *The Journal of Pain*, p. S1526590022000347. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2022.01.012>.
- Komori, N. et al. (2007)** 'Proteomics study of neuropathic and nonneuropathic dorsal root ganglia: altered protein regulation following segmental spinal nerve ligation injury', *Physiological Genomics*, 29(2), pp. 215–230. Available at: <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00255.2006>.
- Konopka, K.-H. et al. (2012)** 'Bilateral sensory abnormalities in patients with unilateral neuropathic pain: quantitative sensory testing (QST) study', *PLoS ONE*. Edited by S. Eldabe, 7(5), p. e37524. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037524>.
- Korai, S.A. et al. (2021)** 'Neurobiological after-effects of low intensity transcranial electric stimulation of the human nervous system: from basic mechanisms to metaplasticity', *Frontiers in Neurology*, 12, p. 587771. Available at: <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.587771>.
- Kortteenniemi, A. et al. (2017)** 'Progression of adverse effects over consecutive sessions of transcranial direct current stimulation', *Clinical Neurophysiology*, 128(12), pp. 2397–2399. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.09.112>.

- Kremer, M. et al. (2021)** 'How to study anxiety and depression in rodent models of chronic pain?', *European Journal of Neuroscience*, 53(1), pp. 236–270. Available at: <https://doi.org/10.1111/ejn.14686>.
- Kriek, N. et al. (2017)** 'Preferred frequencies and waveforms for spinal cord stimulation in patients with complex regional pain syndrome: a multicentre, double-blind, randomized and placebo-controlled crossover trial', *European Journal of Pain*, 21(3), pp. 507–519. Available at: <https://doi.org/10.1002/ejp.944>.
- Kroenke, K. et al. (2011)** 'Reciprocal relationship between pain and depression: a 12-month longitudinal analysis in primary care', *The Journal of Pain*, 12(9), pp. 964–973. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2011.03.003>.
- Kumar, A. et al. (2018)** 'Neuropathic pain models caused by damage to central or peripheral nervous system', *Pharmacological Reports*, 70(2), pp. 206–216. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.09.009>.
- Kumar, A. et al. (2021)** 'Neuronavigation based 10 sessions of repetitive transcranial magnetic stimulation therapy in chronic migraine: an exploratory study', *Neurological Sciences*, 42(1), pp. 131–139. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10072-020-04505-3>.
- Kuo, M.-F. et al. (2007)** 'Focusing effect of acetylcholine on neuroplasticity in the human motor cortex', *Journal of Neuroscience*, 27(52), pp. 14442–14447. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4104-07.2007>.
- Kuo, H.-I. et al. (2013)** 'Comparing cortical plasticity induced by conventional and high-definition 4 × 1 ring tDCS: a neurophysiological study', *Brain Stimulation*, 6(4), pp. 644–648. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2012.09.010>.
- Kuo, H.-I. et al. (2016)** 'Chronic enhancement of serotonin facilitates excitatory transcranial direct current stimulation-induced neuroplasticity', *Neuropsychopharmacology*, 41(5), pp. 1223–1230. Available at: <https://doi.org/10.1038/npp.2015.270>.
- Kuo, H.-I. et al. (2017)** 'Acute and chronic effects of noradrenergic enhancement on transcranial direct current stimulation-induced neuroplasticity in humans: long-term impact of noradrenaline on neuroplasticity', *The Journal of Physiology*, 595(4), pp. 1305–1314. Available at: <https://doi.org/10.1113/JP273137>.
- LaBuda, C.J. and Little, P.J. (2005)** 'Pharmacological evaluation of the selective spinal nerve ligation model of neuropathic pain in the rat', *Journal of Neuroscience Methods*, 144(2), pp. 175–181. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.11.008>.
- Lai, J. et al. (2002)** 'Inhibition of neuropathic pain by decreased expression of the tetrodotoxin-resistant sodium channel, NaV1.8', *Pain*, 95(1), pp. 143–152. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(01\)00391-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(01)00391-8).
- Langford, D.J. et al. (2010)** 'Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse', *Nature Methods*, 7(6), pp. 447–449. Available at: <https://doi.org/10.1038/nmeth.1455>.
- Leadley, R.M. et al. (2012)** 'Chronic diseases in the European Union: the prevalence and health cost implications of chronic pain', *Journal of Pain & Palliative Care Pharmacotherapy*, 26(4), pp. 310–325. Available at: <https://doi.org/10.3109/15360288.2012.736933>.
- Lee, B.H. et al. (2000)** 'An animal model of neuropathic pain employing injury to the sciatic nerve branches', *NeuroReport*, 11(4), pp. 657–661. Available at: <https://doi.org/10.1097/00001756-200003200-00002>.

- Lee, M. et al. (2015)** 'Activation of corticostriatal circuitry relieves chronic neuropathic pain', *Journal of Neuroscience*, 35(13), pp. 5247–5259. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3494-14.2015>.
- Lee, J.-S. et al. (2021)** 'A comparison of isolation stress and unpredictable chronic mild stress for the establishment of mouse models of depressive disorder', *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14, p. 616389. Available at: <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.616389>.
- Lefaucheur, J.-P. et al. (2020)** 'Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): an update (2014–2018)', *Clinical Neurophysiology*, 131(2), pp. 474–528. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2019.11.002>.
- Lefèvre, Y. et al. (2015)** 'Neuropathic pain depends upon d-serine co-activation of spinal NMDA receptors in rats', *Neuroscience Letters*, 603, pp. 42–47. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.07.010>.
- Leite-Almeida, H. et al. (2012)** 'Differential effects of left/right neuropathy on rats' anxiety and cognitive behavior', *Pain*, 153(11), pp. 2218–2225. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2012.07.007>.
- Leite-Almeida, H. et al. (2015)** 'Animal models for the study of comorbid pain and psychiatric disorders', in D.P. Finn and B.E. Leonard (eds) *Modern Trends in Psychiatry*. S. Karger AG, pp. 1–21. Available at: <https://doi.org/10.1159/000435929>.
- Leong, M.L. et al. (2011)** 'Neuronal loss in the rostral ventromedial medulla in a rat model of neuropathic pain', *Journal of Neuroscience*, 31(47), pp. 17028–17039. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1268-11.2011>.
- Levendoglu, F. et al. (2004)** 'Gabapentin is a first line drug for the treatment of neuropathic pain in spinal cord injury', *Spine*, 29, pp. 743–51. Available at: <https://doi.org/10.1097/01.BRS.0000112068.16108.3A>.
- Levy, D. and Zochodne, D.W. (2000)** 'Increased mRNA expression of the B1 and B2 bradykinin receptors and antinociceptive effects of their antagonists in an animal model of neuropathic pain', *Pain*, 86(3), pp. 265–271. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00256-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00256-6).
- Li, S. et al. (2017)** 'BDNF contributes to spinal long-term potentiation and mechanical hypersensitivity via Fyn-mediated phosphorylation of NMDA receptor GluN2B subunit at tyrosine 1472 in rats following spinal nerve ligation', *Neurochemical Research*, 42(10), pp. 2712–2729. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2274-0>.
- Liebetanz, D. (2002)** 'Pharmacological approach to the mechanisms of transcranial DC-stimulation-induced after-effects of human motor cortex excitability', *Brain*, 125(10), pp. 2238–2247. Available at: <https://doi.org/10.1093/brain/awf238>.
- Liebetanz, D. et al. (2006)** 'Anticonvulsant effects of transcranial direct-current stimulation (tDCS) in the rat cortical ramp model of focal epilepsy', *Epilepsia*, 47(7), pp. 1216–1224. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00539.x>.
- Liebetanz, D. et al. (2009)** 'Safety limits of cathodal transcranial direct current stimulation in rats', *Clinical Neurophysiology*, 120(6), pp. 1161–1167. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.01.022>.
- Lima, M.C. and Fregni, F. (2008)** 'Motor cortex stimulation for chronic pain', p. 10. Available at: <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000314649.38527.93>.

- Linderoth, B. et al. (1994)** 'Gamma-aminobutyric acid is released in the dorsal horn by electrical spinal cord stimulation: an in vivo microdialysis study in the rat', *Neurosurgery*, 34(3), pp. 484–488; discussion 488–489. Available at: <https://doi.org/10.1227/00006123-199403000-00014>.
- Lindia, J.A. et al. (2005)** 'Relationship between sodium channel NaV1.3 expression and neuropathic pain behavior in rats', *Pain*, 117(1), pp. 145–153. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2005.05.027>.
- Little, J.P. and Carter, A.G. (2013)** 'Synaptic mechanisms underlying strong reciprocal connectivity between the medial prefrontal cortex and basolateral amygdala', *The Journal of Neuroscience*, 33(39), pp. 15333–15342. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2385-13.2013>.
- Liu, P. et al. (2020)** 'The delayed-onset mechanical pain behavior induced by infant peripheral nerve injury is accompanied by sympathetic sprouting in the dorsal root ganglion', *BioMed Research International*, 2020, pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1155/2020/9165475>.
- Lu, C. et al. (2016)** 'Insular cortex is critical for the perception, modulation, and chronification of pain', *Neuroscience Bulletin*, 32(2), pp. 191–201. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12264-016-0016-y>.
- Luscher, C. and Malenka, R.C. (2012)** 'NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD)', *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(6), pp. a005710–a005710. Available at: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005710>.
- Lyndon, G.J. et al. (2019)** 'Efficacy of venlafaxine extended release in major depressive disorder patients: effect of baseline anxiety symptom severity', *International Clinical Psychopharmacology*, 34(3), pp. 110–118. Available at: <https://doi.org/10.1097/YIC.0000000000000256>.
- Ma, W. and Eisenach, J.C. (2003)** 'Chronic constriction injury of sciatic nerve induces the up-regulation of descending inhibitory noradrenergic innervation to the lumbar dorsal horn of mice', *Brain Research*, 970(1–2), pp. 110–118. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(03\)02293-5](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(03)02293-5).
- Ma, X. et al. (2021)** 'Activation of ephrinb1/EPHB2/MAP-2/NMDAR mediates hippocampal neurogenesis promoted by transcranial direct current stimulation in cerebral-ischemic mice', *NeuroMolecular Medicine*, 23(4), pp. 521–530. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12017-021-08654-2>.
- Magrinelli, F. et al. (2013)** 'Neuropathic pain: diagnosis and treatment', *Practical Neurology*, 13(5), pp. 292–307. Available at: <https://doi.org/10.1136/practneurol-2013-000536>.
- Mai, C.-L. et al. (2019)** 'Differential regulation of GSK-3 β in spinal dorsal horn and in hippocampus mediated by interleukin-1 β contributes to pain hypersensitivity and memory deficits following peripheral nerve injury', *Molecular Pain*, 15, p. 1744806919826789. Available at: <https://doi.org/10.1177/1744806919826789>.
- Maleki, J. et al. (2000)** 'Patterns of spread in complex regional pain syndrome, type I (reflex sympathetic dystrophy)', *Pain*, 88(3), pp. 259–266. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00332-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00332-8).
- Malmberg, A.B. and Basbaum, A.I. (1998)** 'Partial sciatic nerve injury in the mouse as a model of neuropathic pain: behavioral and neuroanatomical correlates', *Pain*, 76(1), pp. 215–222. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(98\)00045-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(98)00045-1).
- Mao-Ying, Q.-L. et al. (2006)** 'A rat model of bone cancer pain induced by intra-tibia inoculation of Walker 256 mammary gland carcinoma cells', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 345(4), pp. 1292–1298. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.04.186>.

- Marchand, S. (2008)** 'The physiology of pain mechanisms: from the periphery to the brain', *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 34(2), pp. 285–309. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2008.04.003>.
- Mariano, T.Y. et al. (2019)** 'Transcranial direct current stimulation for affective symptoms and functioning in chronic low back pain: a pilot double-blinded, randomized, placebo-controlled trial', *Pain Medicine*, 20(6), pp. 1166–1177. Available at: <https://doi.org/10.1093/pm/pny188>.
- Martin, L. et al. (2013)** 'A pilot functional MRI study of the effects of prefrontal rTMS on pain perception', *Pain Medicine (Malden, Mass.)*, 14(7), pp. 999–1009. Available at: <https://doi.org/10.1111/pme.12129>.
- Mathivanan, S. et al. (2016)** 'Bradykinin induces TRPV1 exocytotic recruitment in peptidergic nociceptors', *Frontiers in Pharmacology*, 7, p. 178. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00178>.
- Matsuo, H. et al. (2014)** 'Early transcutaneous electrical nerve stimulation reduces hyperalgesia and decreases activation of spinal glial cells in mice with neuropathic pain', *Pain*, 155(9), pp. 1888–1901. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2014.06.022>.
- Maves, T.J. et al. (1993)** 'Possible chemical contribution from chromic gut sutures produces disorders of pain sensation like those seen in man', *Pain*, 54(1), pp. 57–69. Available at: [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(93\)90100-4](https://doi.org/10.1016/0304-3959(93)90100-4).
- Max, M.B. et al. (1987)** 'Amitriptyline relieves diabetic neuropathy pain in patients with normal or depressed mood', *Neurology*, 37(4), pp. 589–596. Available at: <https://doi.org/10.1212/wnl.37.4.589>.
- Maxwell, D.J. et al. (2003)** 'Characterisation of axon terminals in the rat dorsal horn that are immunoreactive for serotonin 5-HT3A receptor subunits', *Experimental Brain Research*, 149(1), pp. 114–124. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00221-002-1339-7>.
- May, E.S. et al. (2021)** 'Modulating brain rhythms of pain using transcranial alternating current stimulation (tACS) - a Sham-controlled study in healthy human participants', *The Journal of Pain*, 22(10), pp. 1256–1272. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2021.03.150>.
- McKelvey, L. et al. (2013)** 'Nerve growth factor-mediated regulation of pain signalling and proposed new intervention strategies in clinical pain management', *Journal of Neurochemistry*, 124(3), pp. 276–289. Available at: <https://doi.org/10.1111/jnc.12093>.
- McLachlan, E.M. et al. (1993)** 'Peripheral nerve injury triggers noradrenergic sprouting within dorsal root ganglia', *Nature*, 363(6429), pp. 543–546. Available at: <https://doi.org/10.1038/363543a0>.
- McNicol, E.D. et al. (2013)** 'Opioids for neuropathic pain', *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Preprint]. Edited by Cochrane Pain, Palliative and Supportive Care Group. Available at: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006146.pub2>.
- McNicol, E.D. et al. (2017)** 'Methadone for neuropathic pain in adults', *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Edited by Cochrane Pain, Palliative and Supportive Care Group, 2021(1). Available at: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD012499.pub2>.
- McPhee, M.E. and Graven-Nielsen, T. (2021)** 'Medial prefrontal high-definition transcranial direct current stimulation to improve pain modulation in chronic low back pain: a pilot randomized double-blinded placebo-controlled crossover trial', *The Journal of Pain*, 22(8), pp. 952–967. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2021.02.012>.

- McWilliams, L.A. et al. (2003)** 'Mood and anxiety disorders associated with chronic pain: an examination in a nationally representative sample', *Pain*, 106(1), pp. 127–133. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(03\)00301-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(03)00301-4).
- McWilliams, L.A. et al. (2004)** 'Depression and anxiety associated with three pain conditions: results from a nationally representative sample', *Pain*, 111(1), pp. 77–83. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.06.002>.
- Medeiros, P. et al. (2020)** 'Characterization of the sensory, affective, cognitive, biochemical, and neuronal alterations in a modified chronic constriction injury model of neuropathic pain in mice', *Journal of Neuroscience Research*, 98(2), pp. 338–352. Available at: <https://doi.org/10.1002/jnr.24501>.
- Medeiros, P. et al. (2021)** 'An adapted chronic constriction injury of the sciatic nerve produces sensory, affective, and cognitive impairments: a peripheral mononeuropathy model for the study of comorbid neuropsychiatric disorders associated with neuropathic pain in rats', *Pain Medicine*, 22(2), pp. 338–351. Available at: <https://doi.org/10.1093/pm/pnaa206>.
- Mekiri, M. et al. (2017)** 'Chronic corticosterone administration effects on behavioral emotionality in female c57bl6 mice.', *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 25(2), pp. 94–104. Available at: <https://doi.org/10.1037/pha0000112>.
- Melo, L. et al. (2021)** 'Dosage-dependent impact of acute serotonin enhancement on transcranial direct current stimulation effects', *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 24(10), pp. 787–797. Available at: <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyab035>.
- Melzack, R. and Casey, K. (1968)** 'Sensory, motivational, and central control determinants of pain. Kenshalo DR, editor. The skin senses: proceedings. Springfield (Illinois): Charles C', *Thomas*, pp. 423–443. Available at: https://www.researchgate.net/publication/233801589_Sensory_Motivational_and_Central_Control_Determinants_of_Pain.
- Melzack, R. (2001)** 'Pain and the neuromatrix in the brain', *Journal of Dental Education*, 65(12), pp. 1378–1382. Available at: <https://doi.org/10.1002/j.0022-0337.2001.65.12.tb03497.x>.
- Menetski, J. et al. (2007)** 'Mice overexpressing chemokine ligand 2 (CCL2) in astrocytes display enhanced nociceptive responses', *Neuroscience*, 149(3), pp. 706–714. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.08.014>.
- Meuwissen, K.P.V. et al. (2020a)** 'Burst and tonic spinal cord stimulation both activate spinal GABAergic mechanisms to attenuate pain in a rat model of chronic neuropathic pain', *Pain Practice*, 20(1), pp. 75–87. Available at: <https://doi.org/10.1111/papr.12831>.
- Meuwissen, K.P.V. et al. (2020b)** 'Active recharge burst and tonic spinal cord stimulation engage different supraspinal mechanisms: a functional magnetic resonance imaging study in peripherally injured chronic neuropathic rats', *Pain Practice*, 20(5), pp. 510–521. Available at: <https://doi.org/10.1111/papr.12879>.
- Mhalla, A. et al. (2011)** 'Long-term maintenance of the analgesic effects of transcranial magnetic stimulation in fibromyalgia', *Pain*, 152(7), pp. 1478–1485. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.01.034>.
- Millan, M.J. (2002)** 'Descending control of pain', *Progress in Neurobiology*, p. 120. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(02\)00009-6](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(02)00009-6).

- Milligan, E.D. et al. (2003)** 'Spinal glia and proinflammatory cytokines mediate mirror-image neuropathic pain in rats', *The Journal of Neuroscience*, 23(3), pp. 1026–1040. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-03-01026.2003>.
- Mishima, T. et al. (2019)** 'Transcranial direct current stimulation (tDCS) induces adrenergic receptor-dependent microglial morphological changes in mice', *eneuro*, 6(5), p. ENEURO.0204-19.2019. Available at: <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0204-19.2019>.
- Mizumura, K. et al. (2009)** 'Excitation and sensitization of nociceptors by bradykinin: what do we know?', *Experimental Brain Research*, 196(1), pp. 53–65. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00221-009-1814-5>.
- Mo, J.-J. et al. (2019)** 'Motor cortex stimulation: a systematic literature-based analysis of effectiveness and case series experience', *BMC Neurology*, 19(1), p. 48. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12883-019-1273-y>.
- Mogil, J.S. et al. (2010)** 'Hypolocomotion, asymmetrically directed behaviors (licking, lifting, flinching, and shaking) and dynamic weight bearing (gait) changes are not measures of neuropathic pain in mice', p. 15. Available at: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-6-34>.
- Mogil, J.S. (2012)** 'Sex differences in pain and pain inhibition: multiple explanations of a controversial phenomenon', *Nature Reviews Neuroscience*, 13(12), pp. 859–866. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrn3360>.
- Mogil, J.S. (2020)** 'Qualitative sex differences in pain processing: emerging evidence of a biased literature', *Nature Reviews Neuroscience*, 21(7), pp. 353–365. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0310-6>.
- Moisset, X. et al. (2020a)** 'Pharmacological and non-pharmacological treatments for neuropathic pain: systematic review and French recommendations', *Revue Neurologique*, 176(5), pp. 325–352. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2020.01.361>.
- Moisset, X. et al. (2020b)** 'Neurostimulation methods in the treatment of chronic pain', *Journal of Neural Transmission*, 127(4), pp. 673–686. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00702-019-02092-y>.
- Moliadze, V. et al. (2012)** 'Close to threshold transcranial electrical stimulation preferentially activates inhibitory networks before switching to excitation with higher intensities', *Brain Stimulation*, 5(4), pp. 505–511. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2011.11.004>.
- Moliadze, V. et al. (2010)** 'Electrode-distance dependent after-effects of transcranial direct and random noise stimulation with extracephalic reference electrodes', *Clinical Neurophysiology*, 121(12), pp. 2165–2171. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2010.04.033>.
- Monai, H. et al. (2016)** 'Calcium imaging reveals glial involvement in transcranial direct current stimulation-induced plasticity in mouse brain', *Nature Communications*, 7(1), p. 11100. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncomms11100>.
- Mondino, M. et al. (2014)** 'Can transcranial direct current stimulation (tDCS) alleviate symptoms and improve cognition in psychiatric disorders?', *The World Journal of Biological Psychiatry*, 15(4), pp. 261–275. Available at: <https://doi.org/10.3109/15622975.2013.876514>.
- Montoya, A. et al. (2016)** 'The noradrenergic paradox: implications in the management of depression and anxiety', *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, p. 541. Available at: <https://doi.org/10.2147/NDT.S91311>.

- Moon, J.-Y. et al. (2015)** 'Spinal sigma-1 receptor activation increases the production of d-serine in astrocytes which contributes to the development of mechanical allodynia in a mouse model of neuropathic pain', *Pharmacological Research*, 100, pp. 353–364. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.08.019>.
- Moore, K.W. et al. (2001)** 'Interleukin-10 and the Interleukin-10 receptor', *Annual Review of Immunology*, 19(1), pp. 683–765. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.683>.
- Moore, K.A. et al. (2002)** 'Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord', *The Journal of Neuroscience*, 22(15), pp. 6724–6731. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-15-06724.2002>.
- Moreno-Duarte, I. et al. (2014)** 'Transcranial electrical stimulation', in *The Stimulated Brain*. Elsevier, pp. 35–59. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404704-4.00002-8>.
- Mori, N. et al. (2022)** 'Analgesic effects of repetitive transcranial magnetic stimulation at different stimulus parameters for neuropathic pain: a randomized study', *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*, 25(4), pp. 520–527. Available at: <https://doi.org/10.1111/ner.13328>.
- Moriyama, T. et al. (2005)** 'Sensitization of TRPV1 by EP1 and IP reveals peripheral nociceptive mechanism of prostaglandins', *Molecular Pain*, 1, p. 3. Available at: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-1-3>.
- Mosayebi Samani, M. et al. (2019)** 'Titrating the neuroplastic effects of cathodal transcranial direct current stimulation (tDCS) over the primary motor cortex', *Cortex*, 119, pp. 350–361. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2019.04.016>.
- Mosconi, T. and Kruger, L. (1996)** 'Fixed-diameter polyethylene cuffs applied to the rat sciatic nerve induce a painful neuropathy: ultrastructural morphometric analysis of axonal alterations', *Pain*, 64(1), pp. 37–57. Available at: [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(95\)00077-1](https://doi.org/10.1016/0304-3959(95)00077-1).
- Mothet, J.P. et al. (2000)** 'D-serine is an endogenous ligand for the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(9), pp. 4926–4931. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.97.9.4926>.
- Muley, M.M. et al. (2016)** 'Preclinical assessment of inflammatory pain', *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 22(2), pp. 88–101. Available at: <https://doi.org/10.1111/cns.12486>.
- Mutso, A.A. et al. (2012)** 'Abnormalities in hippocampal functioning with persistent pain', *Journal of Neuroscience*, 32(17), pp. 5747–5756. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0587-12.2012>.
- Nasser, P. et al. (2015)** 'A framework for categorizing electrode montages in transcranial direct current stimulation', *Frontiers in Human Neuroscience*, 9. Available at: <https://doi.org/10.3389/fnhum.2015.00054>.
- Nekhendzy, V. et al. (2006)** 'The role of the craniospinal nerves in mediating the antinociceptive effect of transcranial electrostimulation in the rat', *Anesthesia & Analgesia*, 102(6), pp. 1775–1780. Available at: <https://doi.org/10.1213/01.ANE.0000219588.25375.36>.
- Neri, F. et al. (2020)** 'A novel tDCS sham approach based on model-driven controlled shunting', *Brain Stimulation*, 13(2), pp. 507–516. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2019.11.004>.

- Neugebauer, V. (2015)** 'Amygdala pain mechanisms', in H.-G. Schaible (ed.) *Pain Control*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Handbook of Experimental Pharmacology), pp. 261–284. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-662-46450-2_13.
- Nicholas, M. et al. (2019)** 'The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain', *Pain*, 160(1), pp. 28–37. Available at: <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001390>.
- Niesters, M. et al. (2010)** 'Do sex differences exist in opioid analgesia? A systematic review and meta-analysis of human experimental and clinical studies', *Pain*, 151(1), pp. 61–68. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.06.012>.
- Nishikawa, K. and MacIver, M.B. (2000)** 'Excitatory synaptic transmission mediated by NMDA receptors is more sensitive to isoflurane than are non-NMDA receptor-mediated responses', *Anesthesiology*, 92(1), pp. 228–228. Available at: <https://doi.org/10.1097/00000542-200001000-00035>.
- Nitsche, M.A. and Paulus, W. (2000)** 'Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation', *The Journal of Physiology*, 527(3), pp. 633–639. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00633.x>.
- Nitsche, M.A. and Paulus, W. (2001)** 'Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans', *Neurology*, 57(10), pp. 1899–1901. Available at: <https://doi.org/10.1212/WNL.57.10.1899>.
- Nitsche, M.A. et al. (2003a)** 'Level of action of cathodal DC polarisation induced inhibition of the human motor cortex', *Clinical Neurophysiology*, 114(4), pp. 600–604. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1388-2457\(02\)00412-1](https://doi.org/10.1016/S1388-2457(02)00412-1).
- Nitsche, M. A. et al. (2003b)** 'Pharmacological modulation of cortical excitability shifts induced by transcranial direct current stimulation in humans', *The Journal of Physiology*, 553(1), pp. 293–301. Available at: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049916>.
- Nitsche, M.A. et al. (2004)** 'MRI study of human brain exposed to weak direct current stimulation of the frontal cortex', *Clinical Neurophysiology*, 115(10), pp. 2419–2423. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.05.001>.
- Nitsche, M.A. et al. (2005)** 'Modulating parameters of excitability during and after transcranial direct current stimulation of the human motor cortex: cortical excitability and tDCS', *The Journal of Physiology*, 568(1), pp. 291–303. Available at: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.092429>.
- Nitsche, M.A. et al. (2006)** 'Dopaminergic modulation of long-lasting direct current-induced cortical excitability changes in the human motor cortex: dopamine in human neuroplasticity', *European Journal of Neuroscience*, 23(6), pp. 1651–1657. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04676.x>.
- Nitsche, M.A. et al. (2007)** 'Shaping the effects of transcranial direct current stimulation of the human motor cortex', *Journal of Neurophysiology*, 97(4), pp. 3109–3117. Available at: <https://doi.org/10.1152/jn.01312.2006>.
- Nitsche, M.A. et al. (2008)** 'Transcranial direct current stimulation: state of the art 2008', *Brain Stimulation*, 1(3), pp. 206–223. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2008.06.004>.
- Nitsche, M.A. et al. (2009)** 'Serotonin affects transcranial direct current–induced neuroplasticity in humans', *Biological Psychiatry*, 66(5), pp. 503–508. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.03.022>.

Nitsche, M.A. and Bikson, M. (2017) 'Extending the parameter range for tDCS: safety and tolerability of 4 mA stimulation', *Brain Stimulation*, 10(3), pp. 541–542. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2017.03.002>.

Nollet, M. et al. (2013) 'Models of depression: unpredictable chronic mild stress in mice', *Current Protocols in Pharmacology*, 61(1). Available at: <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0565s61>.

Noohi, S. and Amirjalali, S. (2016) 'History, studies and specific uses of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in treating epilepsy', 10(1), p. 8. PMID: 27057180. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27057180/>.

Oaklander, A.L. et al. (1998) 'Unilateral postherpetic neuralgia is associated with bilateral sensory neuron damage', *Annals of Neurology*, 44(5), pp. 789–795. Available at: <https://doi.org/10.1002/ana.410440513>.

Oatway, M.A. et al. (2004) 'The 5-HT₃ receptor facilitates at-level mechanical allodynia following spinal cord injury', *Pain*, 110(1), pp. 259–268. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.03.040>.

Obreja, O. et al. (2002) 'IL-1 beta potentiates heat-activated currents in rat sensory neurons: involvement of IL-1RI, tyrosine kinase, and protein kinase C', *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 16(12), pp. 1497–1503. Available at: <https://doi.org/10.1096/fj.02-0101com>.

Obreja, O. et al. (2005) 'Fast modulation of heat-activated ionic current by proinflammatory interleukin 6 in rat sensory neurons', *Brain*, 128(7), pp. 1634–1641. Available at: <https://doi.org/10.1093/brain/awh490>.

O'Connor, A.B. (2009) 'Neuropathic pain: quality-of-life impact, costs and cost effectiveness of therapy', *PharmacoEconomics*, 27(2), pp. 95–112. Available at: <https://doi.org/10.2165/00019053-200927020-00002>.

Ohn, S.H. et al. (2012) 'Neural correlates of the antinociceptive effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on central pain after stroke', *Neurorehabilitation and Neural Repair*, 26(4), pp. 344–352. Available at: <https://doi.org/10.1177/1545968311423110>.

Okamoto, K. et al. (2001) 'Pro- and Anti-inflammatory Cytokine Gene Expression in Rat Sciatic Nerve Chronic Constriction Injury Model of Neuropathic Pain', *Experimental Neurology*, 169(2), pp. 386–391. Available at: <https://doi.org/10.1006/exnr.2001.7677>.

Okun, A. et al. (2016) 'Hedonic and motivational responses to food reward are unchanged in rats with neuropathic pain', *Pain*, 157(12), pp. 2731–2738. Available at: <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000695>.

Onakpoya, I.J. et al. (2019) 'Benefits and harms of pregabalin in the management of neuropathic pain: a rapid review and meta-analysis of randomised clinical trials', *BMJ Open*, 9(1), p. e023600. Available at: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-023600>.

Ostergard, T. et al. (2014) 'Motor cortex stimulation for chronic pain', *Neurosurgery Clinics of North America*, 25(4), pp. 693–698. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.nec.2014.06.004>.

Paganol, R.L. et al. (2011) 'Transdural motor cortex stimulation reverses neuropathic pain in rats: a profile of neuronal activation', *European Journal of Pain*, 15(3), p. 268.e1-268.e14. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2010.08.003>.

- Palazzo, E. et al. (2015)** 'MMPIP, an mGluR7-selective negative allosteric modulator, alleviates pain and normalizes affective and cognitive behavior in neuropathic mice', *Pain*, 156(6), pp. 1060–1073. Available at: <https://doi.org/10.1097/j.pain.000000000000150>.
- Palm, U. et al. (2016)** 'Effects of transcranial random noise stimulation (tRNS) on affect, pain and attention in multiple sclerosis', *Restorative Neurology and Neuroscience*, 34(2), pp. 189–199. Available at: <https://doi.org/10.3233/RNN-150557>.
- Paoletti, P. (2011)** 'Molecular basis of NMDA receptor functional diversity: NMDA receptor functional diversity', *European Journal of Neuroscience*, 33(8), pp. 1351–1365. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07628.x>.
- Parent, A. (2004)** 'Giovanni Aldini: from animal electricity to human brain stimulation', *Canadian Journal of Neurological Sciences / Journal Canadien des Sciences Neurologiques*, 31(4), pp. 576–584. Available at: <https://doi.org/10.1017/S0317167100003851>.
- Park, H. et al. (2015)** 'Essential role of presynaptic NMDA receptors in activity- dependent BDNF secretion and corticostriatal LTP', p. 29. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.10.045>.
- Patel, R. and Dickenson, A.H. (2016)** 'Mechanisms of the gabapentinoids and $\alpha 2 \delta$ -1 calcium channel subunit in neuropathic pain', *Pharmacology Research & Perspectives*, 4(2), p. e00205. Available at: <https://doi.org/10.1002/prp2.205>.
- Paxinos, G. and Franklin, K.B.J. (2001)** 'The mouse brain in stereotaxic coordinates', p. 350. 2nd Edition, Academic Press, San Diego.
- Peanlikhit, T. et al. (2017)** 'The antidepressant-like effect of tDCS in mice: a behavioral and neurobiological characterization', *Brain Stimulation*, 10(4), pp. 748–756. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2017.03.012>.
- Pedron, S. et al. (2014)** 'Repeated transcranial direct current stimulation prevents abnormal behaviors associated with abstinence from chronic nicotine consumption', *Neuropsychopharmacology*, 39(4), pp. 981–988. Available at: <https://doi.org/10.1038/npp.2013.298>.
- Pedron, S. et al. (2017)** 'Transcranial direct current stimulation produces long-lasting attenuation of cocaine-induced behavioral responses and gene regulation in corticostriatal circuits: tDCS decreases cocaine effects', *Addiction Biology*, 22(5), pp. 1267–1278. Available at: <https://doi.org/10.1111/adb.12415>.
- Pedron, S. et al. (2020)** 'Open-tES: An open-source stimulator for transcranial electrical stimulation designed for rodent research', *PLOS ONE*. Edited by Y. Abreu-Villaça, 15(7), p. e0236061. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236061>.
- Pedron, S. et al. (2022)** 'Transcranial direct current stimulation (tDCS) reduces motivation to drink ethanol and reacquisition of ethanol self-administration in female mice', *Scientific Reports*, 12(1), p. 198. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03940-2>.
- Pei, Q. et al. (2019)** 'Repetitive transcranial magnetic stimulation at different frequencies for postherpetic neuralgia: a double-blind, Sham-controlled, randomized trial', *Pain Physician*, 22(4), pp. E303–E313. PMID: 31337172. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31337172/>.
- Peng, W.W. et al. (2019)** 'Neurobiological mechanisms of TENS-induced analgesia', *NeuroImage*, 195, pp. 396–408. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.03.077>.

- Pereira, E.A.C. et al. (2013)** 'Elevated gamma band power in humans receiving naloxone suggests dorsal periaqueductal and periventricular gray deep brain stimulation produced analgesia is opioid mediated', *Experimental Neurology*, 239, pp. 248–255. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.10.017>.
- Pérez-Borrego, Y.A. et al. (2014)** 'Pain treatment using tDCS in a single patient: tele-medicine approach in non-invasive brain stimulation', *Brain Stimulation*, 7(2), pp. 334–335. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2013.11.008>.
- Petersen, E.A. et al. (2021)** 'Effect of high-frequency (10-kHz) spinal cord stimulation in patients with painful diabetic neuropathy: a randomized clinical trial', *JAMA Neurology*, 78(6), p. 687. Available at: <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2021.0538>.
- Peyron, R. et al. (2007)** 'Motor cortex stimulation in neuropathic pain. Correlations between analgesic effect and hemodynamic changes in the brain. A PET study', *NeuroImage*, 34(1), pp. 310–321. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.08.037>.
- Pikhovych, A. et al. (2016a)** 'Transcranial direct current stimulation in the male mouse to promote recovery after stroke', *Laboratory Animals*, 50(3), pp. 212–216. Available at: <https://doi.org/10.1177/0023677215610708>.
- Pikhovych, A. et al. (2016b)** 'Transcranial direct current stimulation modulates neurogenesis and microglia activation in the mouse brain', *Stem Cells International*, 2016, pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1155/2016/2715196>.
- Pitcher, G.M. et al. (1999)** 'Nerve constriction in the rat: model of neuropathic, surgical and central pain', *Pain*, 83(1), pp. 37–46. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(99\)00085-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(99)00085-8).
- Pitzer, C. et al. (2019)** 'Inflammatory and neuropathic pain conditions do not primarily evoke anxiety-like behaviours in C57BL/6 mice', *European Journal of Pain*, 23(2), pp. 285–306. Available at: <https://doi.org/10.1002/ejp.1303>.
- Podda, M.V. et al. (2016)** 'Anodal transcranial direct current stimulation boosts synaptic plasticity and memory in mice via epigenetic regulation of Bdnf expression', *Scientific Reports*, 6(1), p. 22180. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep22180>.
- Poole, H.M. et al. (2009)** 'Development and preliminary validation of the NePIQoL: a quality-of-life measure for neuropathic pain', *Journal of Pain and Symptom Management*, 37(2), pp. 233–245. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2008.01.012>.
- Porsolt, R.D. et al. (1978)** 'Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments', *European Journal of Pharmacology*, 47(4), pp. 379–391. Available at: [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(78\)90118-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(78)90118-8).
- Prendergast, B.J. et al. (2014)** 'Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research', *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 40, pp. 1–5. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.01.001>.
- Purpura, D.P. and McMurtry, J.G. (1965)** 'Intracellular activities and evoked potential changes during polarization of motor cortex', *Journal of Neurophysiology*, 28(1), pp. 166–185. Available at: <https://doi.org/10.1152/jn.1965.28.1.166>.

- Qiu, S. et al. (2013)** 'An increase in synaptic NMDA receptors in the insular cortex contributes to neuropathic pain', *Science Signaling*, 6(275). Available at: <https://doi.org/10.1126/scisignal.2003778>.
- Qiu, S. et al. (2014)** 'GluA1 phosphorylation contributes to postsynaptic amplification of neuropathic pain in the insular cortex', *Journal of Neuroscience*, 34(40), pp. 13505–13515. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1431-14.2014>.
- Quesada, C. et al. (2020)** 'New procedure of high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation for central neuropathic pain: a placebo-controlled randomized crossover study', *Pain*, 161(4), pp. 718–728. Available at: <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001760>.
- Radat, F. et al. (2013)** 'Psychiatric co-morbidities in patients with chronic peripheral neuropathic pain: a multicentre cohort study: psychiatric co-morbidities and neuropathic pain', *European Journal of Pain*, p. n/a-n/a. Available at: <https://doi.org/10.1002/j.1532-2149.2013.00334.x>.
- Rahman, W. et al. (2006)** 'Depletion of endogenous spinal 5-HT attenuates the behavioural hypersensitivity to mechanical and cooling stimuli induced by spinal nerve ligation', *Pain*, 123(3), pp. 264–274. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.02.033>.
- Raja, S.N. et al. (2020)** 'The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises', *Pain*, 161(9), pp. 1976–1982. Available at: <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>.
- Rajji, T.K. (2019)** 'Transcranial magnetic and electrical stimulation in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a review of randomized controlled trials', *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 106(4), pp. 776–780. Available at: <https://doi.org/10.1002/cpt.1574>.
- Ramer, M.S. and Bisby, M.A. (1997)** 'Rapid sprouting of sympathetic axons in dorsal root ganglia of rats with a chronic constriction injury', *Pain*, 70(2), pp. 237–244. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(97\)03331-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(97)03331-9).
- Ranieri, F. et al. (2012)** 'Modulation of LTP at rat hippocampal CA3-CA1 synapses by direct current stimulation', *Journal of Neurophysiology*, 107(7), pp. 1868–1880. Available at: <https://doi.org/10.1152/jn.00319.2011>.
- Rasche, D. et al. (2006)** 'Deep brain stimulation for the treatment of various chronic pain syndromes', *Neurosurgical Focus*, 21(6), pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.3171/foc.2006.21.6.10>.
- Raskin, J. et al. (2005)** 'A double-blind, randomized multicenter trial comparing duloxetine with placebo in the management of diabetic peripheral neuropathic pain', *Pain Medicine*, 6(5), pp. 346–356. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1526-4637.2005.00061.x>.
- Reed, T. and Cohen Kadosh, R. (2018)** 'Transcranial electrical stimulation (tES) mechanisms and its effects on cortical excitability and connectivity', *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 41(6), pp. 1123–1130. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10545-018-0181-4>.
- Reeve, A.J. et al. (2000)** 'Intrathecal administered endotoxin or cytokines produce allodynia, hyperalgesia and changes in spinal cord neuronal responses to nociceptive stimuli in the rat', *European Journal of Pain*, 4(3), pp. 247–257. Available at: <https://doi.org/10.1053/eujp.2000.0177>.

- Renthal, W. (2015)** 'Pain genetics', in *Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease*. Elsevier, pp. 1089–1100. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410529-4.00090-5>.
- Rexed, B. (1952)** 'The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat', *The Journal of Comparative Neurology*, 96(3), pp. 415–495. Available at: <https://doi.org/10.1002/cne.900960303>.
- Ribeiro, H. et al. (2017)** 'Preoperative transcranial direct current stimulation: exploration of a novel strategy to enhance neuroplasticity before surgery to control postoperative pain. A randomized sham-controlled study', *PLOS ONE*. Edited by A. Avenanti, 12(11), p. e0187013. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187013>.
- Richardson, N.R. and Roberts, D.C.S. (1996)** 'Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy', *Journal of Neuroscience Methods*, 66(1), pp. 1–11. Available at: [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(95\)00153-0](https://doi.org/10.1016/0165-0270(95)00153-0).
- Riganello, F. et al. (2021)** 'Addressing pain for a proper rehabilitation process in patients with severe disorders of consciousness', *Frontiers in Pharmacology*, 12, p. 628980. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.628980>.
- Rigaud, M. et al. (2008)** 'Species and strain differences in rodent sciatic nerve anatomy: implications for studies of neuropathic pain', *Pain*, 136(1), pp. 188–201. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2008.01.016>.
- Robb, L.P. et al. (2017)** 'Evaluation of spinal cord stimulation on the symptoms of anxiety and depression and pain intensity in patients with failed back surgery syndrome', *Irish Journal of Medical Science (1971 -)*, 186(3), pp. 767–771. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11845-017-1565-4>.
- Robinson, M.J. et al. (2009)** 'Depression and pain', *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 14(13), pp. 5031–5051. Available at: <https://doi.org/10.2741/3585>.
- Ronchetti, S. et al. (2017)** 'Association of inflammatory mediators with pain perception', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 96, pp. 1445–1452. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.12.001>.
- Rose, K. et al. (2011)** 'Transcriptional repression of the M channel subunit Kv7.2 in chronic nerve injury', *Pain*, 152(4), pp. 742–754. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.12.028>.
- Rossi, S. et al. (2021)** 'Safety and recommendations for TMS use in healthy subjects and patient populations, with updates on training, ethical and regulatory issues: Expert Guidelines', *Clinical Neurophysiology*, 132(1), pp. 269–306. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2020.10.003>.
- Russo, J.F. and Sheth, S.A. (2015)** 'Deep brain stimulation of the dorsal anterior cingulate cortex for the treatment of chronic neuropathic pain', *Neurosurgical Focus*, 38(6), p. E11. Available at: <https://doi.org/10.3171/2015.3.FOCUS1543>.
- Sabat, R. et al. (2010)** 'Biology of interleukin-10', *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 21(5), pp. 331–344. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2010.09.002>.
- Sabino, G.S. et al. (2008)** 'Release of endogenous opioids following transcutaneous electric nerve stimulation in an experimental model of acute inflammatory pain', *The Journal of Pain*, 9(2), pp. 157–163. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2007.09.003>.

- Sampson, S.M. et al. (2011)** 'The use of slow-frequency prefrontal repetitive transcranial magnetic stimulation in refractory neuropathic pain', *The Journal of ECT*, 27(1), pp. 33–37. Available at: <https://doi.org/10.1097/YCT.0b013e31820c6270>.
- Samuels, B.A. and Hen, R. (2011)** 'Novelty-suppressed feeding in the mouse', in T.D. Gould (ed.) *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice*. Totowa, NJ: Humana Press (Neuromethods), pp. 107–121. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-61779-313-4_7.
- Sang, K. et al. (2018)** 'Plastic change of prefrontal cortex mediates anxiety-like behaviors associated with chronic pain in neuropathic rats', *Molecular Pain*, 14, p. 174480691878393. Available at: <https://doi.org/10.1177/1744806918783931>.
- Sato, J. and Perl, E.R. (1991)** 'Adrenergic excitation of cutaneous pain receptors induced by peripheral nerve injury', *Science*, 251(5001), pp. 1608–1610. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.2011742>.
- Schatzberg, A.F. (2003)** 'Efficacy and tolerability of duloxetine, a novel dual reuptake inhibitor, in the treatment of major depressive disorder', p. 8. PMID: 14552654. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14552654/>.
- Schmalbruch, H. (1986)** 'Fiber composition of the rat sciatic nerve', *The Anatomical Record*, 215(1), pp. 71–81. Available at: <https://doi.org/10.1002/ar.1092150111>.
- Schmidt, R. et al. (1995)** 'Novel classes of responsive and unresponsive C nociceptors in human skin', *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 15(1 Pt 1), pp. 333–341. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-01-00333.1995>.
- Scholz, J. (2005)** 'Blocking caspase activity prevents transsynaptic neuronal apoptosis and the loss of inhibition in lamina II of the dorsal horn after peripheral nerve injury', *Journal of Neuroscience*, 25(32), pp. 7317–7323. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1526-05.2005>.
- Scholz, J. and Woolf, C.J. (2007)** 'The neuropathic pain triad: neurons, immune cells and glia', *Nature Neuroscience*, 10(11), pp. 1361–1368. Available at: <https://doi.org/10.1038/nn1992>.
- Scholz, J. et al. (2019)** 'The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain', *Pain*, 160(1), pp. 53–59. Available at: <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001365>.
- Schu, S. et al. (2014)** 'A prospective, randomised, double-blind, placebo-controlled study to examine the effectiveness of burst spinal cord stimulation patterns for the treatment of failed back surgery syndrome', *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*, 17(5), pp. 443–450. Available at: <https://doi.org/10.1111/ner.12197>.
- Sellmeijer, J. et al. (2018)** 'Hyperactivity of anterior cingulate cortex areas 24a/24b drives chronic pain-induced anxiodepressive-like consequences', *The Journal of Neuroscience*, 38(12), pp. 3102–3115. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3195-17.2018>.
- Seltzer, Z. et al. (1990)** 'A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury', *Pain*, 43(2), pp. 205–218. Available at: [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(90\)91074-S](https://doi.org/10.1016/0304-3959(90)91074-S).
- Serchov, T. (2016)** 'Sucrose preference test to measure anhedonic behaviour in mice', *Bio-protocol* 6 (19): e1958. Available at: <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1958>.
- Serpell, M. (2006)** 'Anatomy, physiology and pharmacology of pain', p. 4. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.mpsur.2006.08.002>.

- SFETD (2017)** 'Livre blanc de la douleur 2017, Société française d'étude et de traitement de la douleur - APHP DAJDP'. Available at: <http://affairesjuridiques.aphp.fr/textes/livre-blanc-de-la-douleur-2017-societe-francaise-detude-et-de-traitement-de-la-douleur/> (Accessed: 24 October 2022).
- Shao, F. et al. (2021)** 'Anxiolytic effect of GABAergic neurons in the anterior cingulate cortex in a rat model of chronic inflammatory pain', *Molecular Brain*, 14(1), p. 139. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00849-9>.
- Sharma, G. and Roy Chowdhury, S. (2019)** 'Enhancement in focality of non-invasive brain stimulation through high definition (HD) anodal transcranial direct current stimulation (tDCS) techniques', in *2019 IEEE Conference on Computational Intelligence in Bioinformatics and Computational Biology (CIBCB)*. 2019 IEEE Conference on Computational Intelligence in Bioinformatics and Computational Biology (CIBCB), Siena, Italy: IEEE, pp. 1–5. Available at: <https://doi.org/10.1109/CIBCB.2019.8791447>.
- Sheehan, G.D. et al. (2021)** 'Thermal hyperalgesia and dynamic weight bearing share similar recovery dynamics in a sciatic nerve entrapment injury model', *Neurobiology of Pain*, 10, p. 100079. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ynpai.2021.100079>.
- Shields, S.D. et al. (2003)** 'Spared nerve injury model of neuropathic pain in the mouse: a behavioral and anatomic analysis', *The Journal of Pain*, 4(8), pp. 465–470. Available at: [https://doi.org/10.1067/S1526-5900\(03\)00781-8](https://doi.org/10.1067/S1526-5900(03)00781-8).
- Shigemoto-Mogami, Y. et al. (2001)** 'Mechanisms underlying extracellular ATP-evoked interleukin-6 release in mouse microglial cell line, MG-5', *Journal of Neurochemistry*, 78(6), pp. 1339–1349. Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00514.x>.
- Shiratori, M. et al. (2010)** 'P2X7 receptor activation induces CXCL2 production in microglia through NFAT and PKC/MAPK pathways: P2X7 mediated CXCL2 release', *Journal of Neurochemistry*, 114(3), pp. 810–819. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06809.x>.
- Sieberg, C.B. et al. (2018)** 'Neuropathic pain drives anxiety behavior in mice, results consistent with anxiety levels in diabetic neuropathy patients', *PAIN Reports*, 3(3), p. e651. Available at: <https://doi.org/10.1097/PR9.0000000000000651>.
- Sims-Williams, H. et al. (2017)** 'Deep brain stimulation of the periaqueductal gray releases endogenous opioids in humans', *NeuroImage*, 146, pp. 833–842. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.08.038>.
- Smits, H. et al. (2006)** 'Effect of spinal cord stimulation in an animal model of neuropathic pain relates to degree of tactile "allodynia"', *Neuroscience*, 143(2), pp. 541–546. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.08.007>.
- Smith, B.H. et al. (2007)** 'Health and quality of life associated with chronic pain of predominantly neuropathic origin in the community', *Clin J Pain*, 23(2), p. 7. Available at: <https://doi.org/10.1097/01.ajp.0000210956.31997.89>.
- Smith, J.C. (2019)** 'A review of strain and sex differences in response to pain and analgesia in mice', *Comparative Medicine*, 69(6), p. 11. Available at: <https://doi.org/10.30802/AALAS-CM-19-000066>.
- Smolinsky, A.N. et al. (2009)** 'Analysis of grooming behavior and its utility in studying animal stress, anxiety, and depression', in T.D. Gould (ed.) *Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice*. Totowa, NJ: Humana Press (Neuromethods), pp. 21–36. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9_2.

- Sogabe, S. et al. (2013)** 'Mesocortical dopamine system modulates mechanical nociceptive responses recorded in the rat prefrontal cortex', *BMC Neuroscience*, 14(1), p. 65. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2202-14-65>.
- Song, Z. et al. (2009)** 'Pain relief by spinal cord stimulation involves serotonergic mechanisms: an experimental study in a rat model of mononeuropathy', *Pain*, 147(1), pp. 241–248. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2009.09.020>.
- Song, Z. et al. (2011)** 'Spinal 5-HT receptors that contribute to the pain-relieving effects of spinal cord stimulation in a rat model of neuropathy', *Pain*, 152(7), pp. 1666–1673. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.03.012>.
- Song, Z. et al. (2013a)** 'Exploration of supraspinal mechanisms in effects of spinal cord stimulation: role of the locus coeruleus', *Neuroscience*, 253, pp. 426–434. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.09.006>.
- Song, Z. et al. (2013b)** 'The rostroventromedial medulla is engaged in the effects of spinal cord stimulation in a rodent model of neuropathic pain', *Neuroscience*, 247, pp. 134–144. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.05.027>.
- Spezia Adachi, L.N. et al. (2012)** 'Reversal of chronic stress-induced pain by transcranial direct current stimulation (tDCS) in an animal model', *Brain Research*, 1489, pp. 17–26. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.10.009>.
- Spezia Adachi, L.N. et al. (2018)** 'Isoflurane and the analgesic effect of acupuncture and electroacupuncture in an animal model of neuropathic pain', *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 11(3), pp. 97–106. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jams.2018.01.004>.
- Stafford, J. et al. (2018)** 'AMPA receptor translocation and phosphorylation are induced by transcranial direct current stimulation in rats', *Neurobiology of Learning and Memory*, 150, pp. 36–41. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.11.002>.
- Stagg, C.J. et al. (2009)** 'Polarity-sensitive modulation of cortical neurotransmitters by transcranial stimulation', *Journal of Neuroscience*, 29(16), pp. 5202–5206. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4432-08.2009>.
- Stępień, A. et al. (2020)** 'Paroxysmal extreme pain disorder in family with c.3892G > T (p.Val1298Phe) in the SCN9A gene mutation – case report', *BMC Neurology*, 20(1), p. 182. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12883-020-01770-9>.
- Stewart, V. et al. (2022)** 'Practitioners' experiences of deteriorating personal hygiene standards in people living with depression in Australia: a qualitative study', *Health & Social Care in the Community*, 30(4), pp. 1589–1598. Available at: <https://doi.org/10.1111/hsc.13491>.
- Stiller, C.O. et al. (1996)** 'Release of gamma-aminobutyric acid in the dorsal horn and suppression of tactile allodynia by spinal cord stimulation in mononeuropathic rats', *Neurosurgery*, 39(2), pp. 367–374; discussion 374-375. Available at: <https://doi.org/10.1097/00006123-199608000-00026>.
- Sun, L. et al. (2021)** 'Spinal cord stimulation and treatment of peripheral or central neuropathic pain: mechanisms and clinical application', *Neural Plasticity*. Edited by G. Sansevero, 2021, pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1155/2021/5607898>.

Suzuki, T. et al. (2007) 'Experimental neuropathy in mice is associated with delayed behavioral changes related to anxiety and depression', *Anesthesia & Analgesia*, 104(6), pp. 1570–1577. Available at: <https://doi.org/10.1213/01.ane.0000261514.19946.66>.

Takano, Y. et al. (2011) 'A rat model for measuring the effectiveness of transcranial direct current stimulation using fMRI', *Neuroscience Letters*, 491(1), pp. 40–43. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.01.004>.

Tan, L.L. et al. (2017) 'A pathway from midcingulate cortex to posterior insula gates nociceptive hypersensitivity', *Nature Neuroscience*, 20(11), pp. 1591–1601. Available at: <https://doi.org/10.1038/nn.4645>.

Tanwar, S. et al. (2020) 'Repetitive transcranial magnetic stimulation of the prefrontal cortex for fibromyalgia syndrome: a randomised controlled trial with 6-months follow up', *Advances in Rheumatology*, 60(1), p. 34. Available at: <https://doi.org/10.1186/s42358-020-00135-7>.

Tazawa, T. et al. (2015) 'Spinal cord stimulation modulates supraspinal centers of the descending antinociceptive system in rats with unilateral spinal nerve injury', *Molecular Pain*, 11, pp. s12990-015–0039. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12990-015-0039-9>.

Terney, D. et al. (2008) 'Increasing human brain excitability by transcranial high-frequency random noise stimulation', *Journal of Neuroscience*, 28(52), pp. 14147–14155. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4248-08.2008>.

Teti Mayer, J. et al. (2019) 'Efficacy of transcranial direct current stimulation in reducing impulsivity in borderline personality disorder (TIMBER): study protocol of a randomized controlled clinical trial', *Trials*, 20(1), p. 347. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13063-019-3427-z>.

Todd, A.J. (2010) 'Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn', *Nature Reviews Neuroscience*, 11(12), pp. 823–836. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrn2947>.

Trang, T. et al. (2009) 'P2X4-receptor-mediated synthesis and release of brain-derived neurotrophic factor in microglia is dependent on calcium and p38-Mitogen-Activated Protein Kinase activation', *Journal of Neuroscience*, 29(11), pp. 3518–3528. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5714-08.2009>.

Treede, R.-D. et al. (2019) 'Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP classification of chronic pain for the International Classification of Diseases (ICD-11)', *Pain*, 160(1), pp. 19–27. Available at: <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001384>.

Tsuda, M. et al. (2003) 'P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury', *Nature*, 424(6950), pp. 778–783. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature01786>.

Tsuda, M.C. et al. (2020) 'Vendor differences in anxiety-like behaviors in female and male Sprague Dawley rats', *Physiology & Behavior*, 227, p. 113131. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113131>.

Tsymbalyuk, S. et al. (2019) 'Brivaracetam attenuates pain behaviors in a murine model of neuropathic pain', *Molecular Pain*, 15, p. 174480691988650. Available at: <https://doi.org/10.1177/1744806919886503>.

Tulleuda, A. et al. (2011) 'TRESK channel contribution to nociceptive sensory neurons excitability: modulation by nerve injury', *Molecular Pain*, 7, pp. 1744-8069-7–30. Available at: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-30>.

Turk, D.C. et al. (2016) 'Assessment of psychosocial and functional impact of chronic pain', *The Journal of Pain*, 17(9), pp. T21–T49. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2016.02.006>.

Tyrtysnaia, A.A. et al. (2017) 'Adult hippocampal neurogenesis in neuropathic pain and alkyl glycerol ethers treatment', *Acta Histochemica*, 119(8), pp. 812–821. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2017.10.007>.

Tyrtysnaia, A. and Manzhulo, I. (2020) 'Neuropathic pain causes memory deficits and dendrite tree morphology changes in mouse hippocampus', *Journal of Pain Research*, Volume 13, pp. 345–354. Available at: <https://doi.org/10.2147/JPR.S238458>.

Uher, T. and Bob, P. (2013) 'Neuropathic pain, depressive symptoms, and C-reactive protein in sciatica patients', *International Journal of Neuroscience*, 123(3), pp. 204–208. Available at: <https://doi.org/10.3109/00207454.2012.746335>.

Ulmann, L. et al. (2008) 'Up-regulation of P2X4 receptors in spinal microglia after peripheral nerve injury mediates BDNF release and neuropathic pain', *Journal of Neuroscience*, 28(44), pp. 11263–11268. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2308-08.2008>.

Vachon, P. et al. (2013) 'Alleviation of chronic neuropathic pain by environmental enrichment in mice well after the establishment of chronic pain', *Behavioral and Brain Functions*, 9(1), p. 22. Available at: <https://doi.org/10.1186/1744-9081-9-22>.

Valle, A. et al. (2009) 'Efficacy of anodal transcranial direct current stimulation (tDCS) for the treatment of fibromyalgia: results of a randomized, sham-controlled longitudinal clinical trial', *Journal of Pain Management*, 2(3), pp. 353–361. PMID: PMC3002117. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21170277/>.

van Hecke, O. et al. (2014) 'Neuropathic pain in the general population: A systematic review of epidemiological studies', *Pain*, 155(4), pp. 654–662. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.11.013>.

Van Schuerbeek, A. et al. (2021) 'Effects of repeated anodal transcranial direct current stimulation on auditory fear extinction in C57BL/6J mice', *Brain Stimulation*, 14(2), pp. 250–260. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brs.2021.01.005>.

Vaseghi, B. et al. (2015) 'Differential effects of cathodal transcranial direct current stimulation of prefrontal, motor and somatosensory cortices on cortical excitability and pain perception - a double-blind randomised sham-controlled study', *European Journal of Neuroscience*. Edited by G. Thut, 42(7), pp. 2426–2437. Available at: <https://doi.org/10.1111/ejn.13043>.

Vasquez, E. and Vanegas, H. (2000) 'The antinociceptive effect of PAG-microinjected dipyrone in rats is mediated by endogenous opioids of the rostral ventromedial medulla', *Brain Research*, 854(1–2), pp. 249–252. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)02303-3](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)02303-3).

Verge, G.M. et al. (2004) 'Fractalkine (CX3CL1) and fractalkine receptor (CX3CR1) distribution in spinal cord and dorsal root ganglia under basal and neuropathic pain conditions', *European Journal of Neuroscience*, 20(5), pp. 1150–1160. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03593.x>.

Villamar, M.F. et al. (2013) 'Focal modulation of the primary motor cortex in fibromyalgia using 4×1-ring high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS): immediate and delayed analgesic effects of

cathodal and anodal stimulation', *The Journal of Pain*, 14(4), pp. 371–383. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2012.12.007>.

von Hehn, C.A. et al. (2012) 'Deconstructing the neuropathic pain phenotype to reveal neural mechanisms', *Neuron*, 73(4), pp. 638–652. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.02.008>.

Vranken, J.H. et al. (2008) 'Pregabalin in patients with central neuropathic pain: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of a flexible-dose regimen', *Pain*, 136(1), pp. 150–157. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2007.06.033>.

van der Wal, S. et al. (2015) 'Behavior of neuropathic pain in mice following chronic constriction injury comparing silk and catgut ligatures', *SpringerPlus*, 4(1), p. 225. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1009-4>.

 **Walker, A.K. et al. (2014)** 'Neuroinflammation and comorbidity of pain and depression', *Pharmacological Reviews*. Edited by L.C. Daws, 66(1), pp. 80–101. Available at: <https://doi.org/10.1124/pr.113.008144>.

Wall, P.D. and Sweet, W.H. (1967) 'Temporary abolition of pain in man', *Science (New York, N.Y.)*, 155(3758), pp. 108–109. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.155.3758.108>.

Wang, H. and Wessendorf, M.W. (2002) 'Mu- and delta-opioid receptor mRNAs are expressed in periaqueductal gray neurons projecting to the rostral ventromedial medulla', *Neuroscience*, 109(3), pp. 619–634. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(01\)00328-1](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(01)00328-1).

Ware, J.E. and Sherbourne, C.D. (1992) 'The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection', *Medical Care*, 30(6), pp. 473–483. PMID: 1593914. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1593914/>.

Ware, J.E. et al. (1996) 'A 12-item Short-Form Health Survey: construction of scales and preliminary tests of reliability and validity', *Medical Care*, 34(3), pp. 220–233. Available at: <https://doi.org/10.1097/00005650-199603000-00003>.

Waxman, S.G. et al. (1994) 'Type III sodium channel mRNA is expressed in embryonic but not adult spinal sensory neurons, and is reexpressed following axotomy', *Journal of Neurophysiology*, 72(1), pp. 466–470. Available at: <https://doi.org/10.1152/jn.1994.72.1.466>.

Wei, F. et al. (2010) 'Molecular depletion of descending serotonin unmasks its novel facilitatory role in the development of persistent pain', *Journal of Neuroscience*, 30(25), pp. 8624–8636. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5389-09.2010>.

Weiner, D.K. et al. (2006) 'The relationship between pain, neuropsychological performance, and physical function in community-dwelling older adults with chronic low back pain', *Pain Medicine*, 7(1), pp. 60–70. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1526-4637.2006.00091.x>.

Wiesenfeld-Hallin, Z. (2005) 'Sex differences in pain perception', *Gender Medicine*, 2(3), pp. 137–145. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1550-8579\(05\)80042-7](https://doi.org/10.1016/S1550-8579(05)80042-7).

Wild, K.D. et al. (2007) 'Antibodies to nerve growth factor reverse established tactile allodynia in rodent models of neuropathic pain without tolerance', *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 322(1), pp. 282–287. Available at: <https://doi.org/10.1124/jpet.106.116236>.

Will, T.R. et al. (2017) 'Problems and progress regarding sex bias and omission in neuroscience research', *eneuro*, 4(6), p. ENEURO.0278-17.2017. Available at: <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0278-17.2017>.

Wilson, T.D. et al. (2019) 'Dual and opposing functions of the central amygdala in the modulation of pain', *Cell Reports*, 29(2), pp. 332-346.e5. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.09.011>.

Woolf, C.J. (2010) 'What is this thing called pain?', *Journal of Clinical Investigation*, 120(11), pp. 3742-3744. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI45178>.

Wu, G. et al. (2002) 'Degeneration of myelinated efferent fibers induces spontaneous activity in uninjured C-fiber afferents', *The Journal of Neuroscience*, 22(17), pp. 7746-7753. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-17-07746.2002>.

Wu, F. et al. (2012) 'Down-regulation of GAP-43 by inhibition of caspases-3 in a rat model of neuropathic pain', p. 8. PMID: PMC3484482. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3484482/>.

Wu, Z. et al. (2017) 'Activation of KCNQ channels suppresses spontaneous activity in dorsal root ganglion neurons and reduces chronic pain after spinal cord injury', *Journal of Neurotrauma*, 34(6), pp. 1260-1270. Available at: <https://doi.org/10.1089/neu.2016.4789>.

Wu, B. et al. (2018) 'A novel SCN9A mutation (F826Y) in primary erythromelalgia alters the excitability of Nav1.7', *Current Molecular Medicine*, 17(6). Available at: <https://doi.org/10.2174/1566524017666171009105029>.

Xie, W. et al. (2013) 'Knockdown of sodium channel NaV1.6 blocks mechanical pain and abnormal bursting activity of afferent neurons in inflamed sensory ganglia', *Pain*, 154(8), pp. 1170-1180. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2013.02.027>.

Xu, L. et al. (2016) 'Advances in the treatment of neuropathic pain', in C. Ma and Y. Huang (eds) *Translational Research in Pain and Itch*. Dordrecht: Springer Netherlands (Advances in Experimental Medicine and Biology), pp. 117-129. Available at: https://doi.org/10.1007/978-94-017-7537-3_9.

Yalcin, I. et al. (2009) 'Beta2-adrenoceptors are essential for desipramine, venlafaxine or reboxetine action in neuropathic pain', *Neurobiology of Disease*, 33(3), pp. 386-394. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.11.003>.

Yalcin, I. et al. (2011) 'A time-dependent history of mood disorders in a murine model of neuropathic pain', *Biological Psychiatry*, 70(10), pp. 946-953. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.07.017>.

Yalcin, I. et al. (2014a) 'Emotional consequences of neuropathic pain: insight from preclinical studies', *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 47, pp. 154-164. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.08.002>.

Yalcin, I. et al. (2014b) 'The Sciatic Nerve Cuffing Model of Neuropathic Pain in Mice', *Journal of Visualized Experiments*, (89), p. 51608. Available at: <https://doi.org/10.3791/51608>.

Yan, X. et al. (2014) 'Interleukin-1 beta enhances endocytosis of glial glutamate transporters in the spinal dorsal horn through activating protein kinase C', *Glia*, 62(7), pp. 1093-1109. Available at: <https://doi.org/10.1002/glia.22665>.

- Yang, S. and Chang, M.C. (2021)** 'Transcranial direct current stimulation for the management of neuropathic pain: a narrative review', *Pain Physician*, 24(6), pp. E771–E781. PMID: 34554695. Available at: <https://www.painphysicianjournal.com/linkout?issn=&vol=24&page=E771>.
- Yu, T.-H. et al. (2019)** 'Transcranial direct current stimulation induces hippocampal metaplasticity mediated by brain-derived neurotrophic factor', *Neuropharmacology*, 144, pp. 358–367. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.11.012>.
- Zanetti, F. (2018)** 'Contretemps et contrepoints au mesmérisme. Savoirs et acteurs des marges à la fin de l'Ancien Régime', *Annales historiques de la Révolution française*, 391(1), pp. 57–80. Available at: <https://www.cairn.info/revue-Annales-historiques-de-la-revolution-francaise-2018-1-page-57.htm>.
- Zappasodi, F. et al. (2018)** 'Safety and effects on motor cortex excitability of five cathodal transcranial direct current stimulation sessions in 25 hours', *Neurophysiologie Clinique*, 48(2), pp. 77–87. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2017.09.002>.
- Zeng, Q. et al. (2008)** 'Exacerbated mechanical allodynia in rats with depression-like behavior', *Brain Research*, 1200, pp. 27–38. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.01.038>.
- Zhang, R.-X. et al. (2008)** 'IL-1ra alleviates inflammatory hyperalgesia through preventing phosphorylation of NMDA receptor NR-1 subunit in rats', *Pain*, 135(3), pp. 232–239. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pain.2007.05.023>.
- Zhang, K. et al. (2019)** 'A safety study of 500 μ A cathodal transcranial direct current stimulation in rat', *BMC neuroscience*, 20(1), p. 40. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12868-019-0523-7>.
- Zhang, A. et al. (2020a)** 'Functional connectivity of the prefrontal cortex and amygdala is related to depression status in major depressive disorder', *Journal of Affective Disorders*, 274, pp. 897–902. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.05.053>.
- Zhang, H. et al. (2020b)** 'Spinal CCL2 promotes pain sensitization by rapid enhancement of NMDA-induced currents through the ERK-GluN2B pathway in mouse lamina II neurons', *Neuroscience Bulletin*, 36(11), pp. 1344–1354. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12264-020-00557-9>.
- Zhang, K. et al. (2020c)** 'tDCS accelerates the rehabilitation of MCAO-induced motor function deficits via neurogenesis modulated by the Notch1 signaling pathway', *Neurorehabilitation and Neural Repair*, 34(7), pp. 640–651. Available at: <https://doi.org/10.1177/1545968320925474>.
- Zhao, R. et al. (2018)** 'Neuropathic pain causes pyramidal neuronal hyperactivity in the anterior cingulate cortex', *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12, p. 107. Available at: <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00107>.
- Zhao, X. et al. (2020)** 'Anodal and cathodal tDCS modulate neural activity and selectively affect GABA and glutamate syntheses in the visual cortex of cats', *The Journal of Physiology*, 598(17), pp. 3727–3745. Available at: <https://doi.org/10.1113/JP279340>.
- Zhuo, M. (2014)** 'Long-term potentiation in the anterior cingulate cortex and chronic pain', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1633), p. 20130146. Available at: <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0146>.
- Zigmond, A.S. and Snaith, R.P. (1983)** 'The Hospital Anxiety and Depression Scale', *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 67(6), pp. 361–370. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x>.

Zilliox, L.A. (2017) 'Neuropathic pain', *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 23(2, Selected Topics in Outpatient Neurology), pp. 512–532. Available at: <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000462>.

Zuo, Y. et al. (2003) 'Inflammation and hyperalgesia induced by nerve injury in the rat: a key role of mast cells', *Pain*, 105(3), pp. 467–479. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(03\)00261-6](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(03)00261-6).