

ROUSSEL UCLAF :

UNE RECHERCHE DE POINTE
AU SERVICE
DE LA SANTE HUMAINE
ET DE LA NATURE.

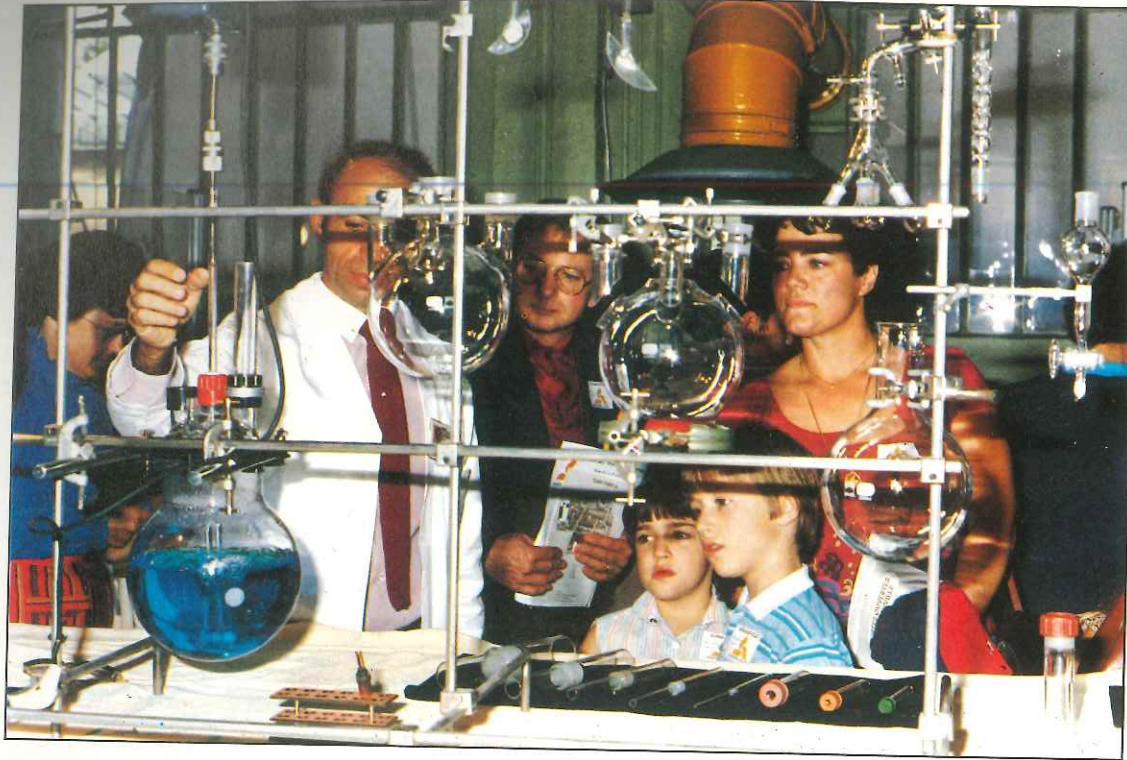


PHOTO J. ROUX

Principaux
domaines
de recherche
du Groupe
Roussel Uclaf

Santé humaine

- Système cardiovasculaire
- Système nerveux central
- Antibiotiques
- Antiinflammatoires et analgésiques
- Gériatrie
- Psychotropes

Santé animale

- Anabolisants
- Antiparasitaires

Santé végétale

- Insecticides biodégradables
- Herbicides et régulateurs de croissance

Biotechnologie

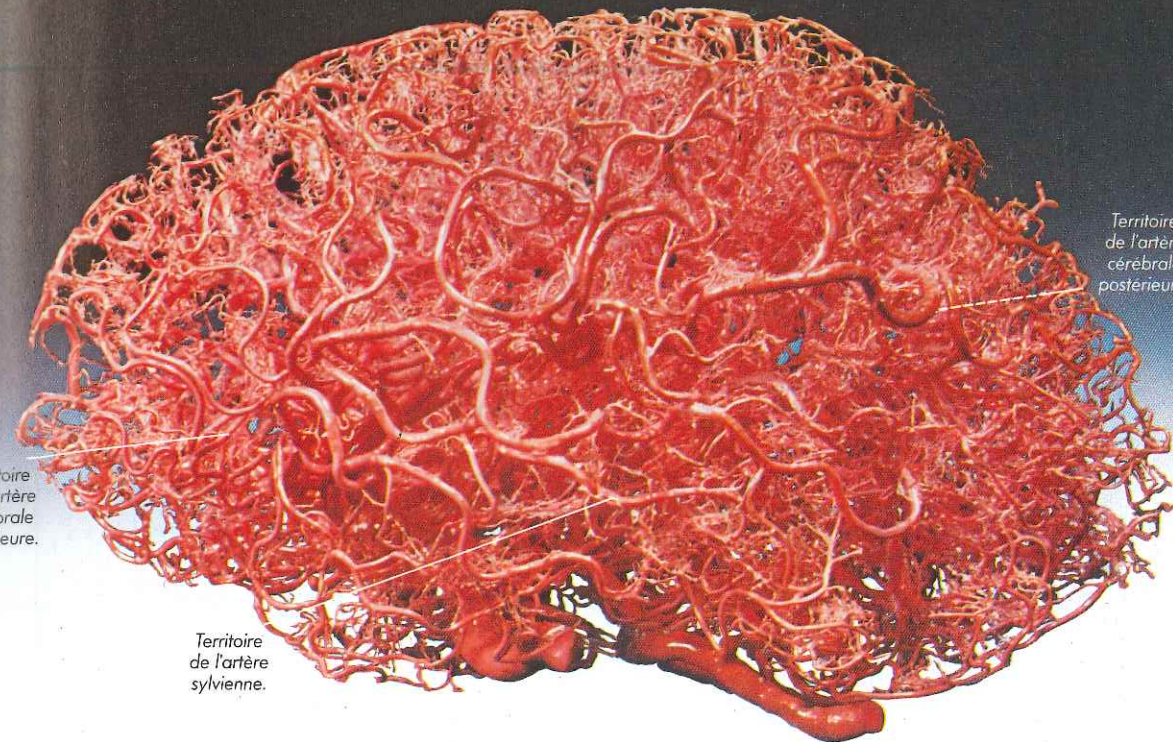
Centres
de Recherches :

- Romainville
- Marseille
- Osny
- Swindon (U.K.)
- Milan

 **ROUSSEL UCLAF**
35, Boulevard des Invalides
75007 Paris

SERMION **Alpha-bloquant**
nicergoline

**Point d'impact pharmacologique :
les alpha-récepteurs vasculaires.**



Territoire
de l'artère
cérébrale
postérieure.

Territoire
de l'artère
cérébrale
antérieure.

Territoire
de l'artère
sylvienne.

SERMION

**améliore les conditions
hémodynamiques cérébrales du sujet âgé**



PROPRIÉTÉS : Le SERMION est un alpha-bloquant qui présente 3 propriétés complémentaires : accroissement du débit artériel, encéphalique notamment ; augmentation de l'utilisation de l'oxygène et du glucose par la cellule cérébrale ; action anti-agrégante plaquettaire.

INDICATIONS : Le SERMION est proposé dans : les troubles relevant d'une pathologie cérébrale d'origine ischémique, les manifestations de l'artérite des membres inférieurs.

EFFETS INDÉSIRABLES : Très rarement : épigastralgies discrètes ou douleurs à type de crampes (moins de 1% des cas) ; bouffées vasomotrices et/ou sensations de vertige, survenant généralement en orthostatisme (moins de 2% des cas).

POSOLOGIE : Habituellement 3 gélules (à avaler telles quelles) ou 3 lyocs (à prendre après dissolution dans un demi-verre d'eau ou d'une autre boisson) par jour, en 3 prises avant les repas. Coût moyen de traitement journalier : F 5,00

PRÉSENTATIONS : Tube de 30 gélules dosées à 5 mg de nicergoline. **PRIX : F 46,80** + S.H.P. - A.M.M. 314 880.3. Etui de 30 lyocs dosés à 5 mg de nicergoline. **PRIX : F 52,30** + S.H.P. - A.M.M. 317 064.2. Pour ces 2 présentations : tableau C - Remb. S.S. 70% - Collectivités.

SPECIA Département Cardiovasculaires :
16, rue Clisson, 75646 PARIS CEDEX 13.
Tél. : (1) 584.11.33. 

tanakan

EXTRAIT DE GINKGO BILOBA



FORME ET PRÉSENTATION

Soluté buvable : flacon de 30 ml avec doseur volumétrique.

COMPOSITION

Extrait de Ginkgo biloba p. 100 ml : 4 g ;
p. flacon : 1,2 g. Excipient : (pour 100 ml)
essence de citron soluble 0,75 ml,
essence d'orange soluble 0,75 ml,
saccharinate de sodium 0,500 g. Soluté
hydro-alcoolique titrant environ 55°.

PROPRIÉTÉS

Le Tanakan, extrait concentré, standardisé et titré de feuilles de Ginkgo biloba, est caractérisé par un ensemble de propriétés pharmacologiques se traduisant notamment par :

- une augmentation de l'irrigation tissulaire grâce à son activité :
- sur la circulation artérielle ; *chez l'animal* : protection du débit cérébral après embolisation par microsphères, diminution de la réaction hypertensive à l'adrénaline, augmentation du débit des coronaires ; *chez l'homme* : augmentation de la perfusion distale ou céphalique vérifiée par rhéographie, radiocirculographie, hyperhémie provoquée, etc.
- sur la circulation capillaire ; *chez l'animal* : inhibition de l'hyperperméabilité capillaire provoquée par la bradykinine et l'histamine ou se développant dans les syndromes anaphylactoïdes ; *chez l'homme* : normalisation de la perméabilité capillaire et renforcement de la résistance capillaire dans les œdèmes cycliques idiopathiques.
- sur la circulation veineuse ; *chez l'animal* : contraction de la veine isolée, proportionnellement à la dose ; à forte dose, rétablissement du tonus veineux de la veine relâchée spontanément, effet régulateur de la capacité veineuse en réponse aux modifications posturales de la pression veineuse centrale ; *chez l'homme* : analyse des courbes de rhéocéphalographie.
- une activation du métabolisme énergétique de la cellule se manifestant :
- chez l'animal* : par une meilleure captation du glucose par la cellule et par une augmentation de la synthèse d'ATP ; par un effet stabilisateur membranaire, anti-exsudatif, anti-œdémateux ; par une protection contre les effets de l'anoxie, par une amélioration de l'électrogénèse cérébrale ; *chez l'homme* : par une augmentation de la consommation du glucose par le cerveau et de la consommation d'O₂.
- une diminution du risque thrombotique microcirculatoire vérifié :

chez l'animal : protection contre la thrombose plaquettaire provoquée par l'ADP, le lactate de Na ou la stimulation électrique ; protection contre la dyspnée aiguë provoquée par la perfusion d'arachidonate de Na ; *chez l'homme* : diminution nette de l'agrégation des plaquettes humaines incubées en présence de Tanakan.

INDICATIONS

- Les troubles psycho-comportementaux de la sénescence : troubles de la mémoire, baisse de l'efficacité intellectuelle, troubles de la vigilance, troubles de l'humeur et de la sociabilité.
- Proposé dans : certains troubles vasculaires périphériques de la microcirculation : œdèmes cycliques idiopathiques.
 - Les manifestations cliniques de l'artériopathie des membres inférieurs : douleurs à la marche, douleurs de décubitus, troubles trophiques. N.B. : essais cliniques contrôlés, sous réserves de critiques méthodologiques, mettant en évidence des différences significatives au plan statistique qui suggèrent une activité thérapeutique.
 - Les séquelles d'accidents vasculaires cérébraux ou de traumatismes crâniens.
 - Certains syndromes vertigineux et/ou acouphènes, certaines baisses de l'acuité auditive, d'origine ischémique présumée.
 - Les déficits rétinien de mécanisme vraisemblablement ischémique.

PRÉCAUTION

Tanakan n'est pas un antihypertenseur et ne peut remplacer ou éviter le traitement de l'hypertension artérielle par les médications spécifiques.

EFFETS INDÉSIRABLES

Les effets indésirables signalés sont rares : troubles digestifs, troubles cutanés, céphalées.

MODE D'EMPLOI ET POSOLOGIE

1 dose = 1 ml = 40 mg d'extrait pur.
Posologie usuelle : 3 doses (= 3 ml) par jour, diluées dans un demi-verre d'eau, à prendre au moment des repas.
Coût du traitement journalier : 4,47 F.
A.M.M. 316 324.0 - Commercialisé depuis 1975.
Prix : 44,70 F (flacon de 30 ml) - Remboursé Sécurité Sociale à 70% - Collect.

IPSEN

Institut de Produits de Synthèse et d'Extraction Naturelle
30, rue Cambronne - 75015 Paris - Tél. : (1) 734.10.95
R.C. Paris B 692.015.514 - S.A. au Capital de 20.000.000 F

EDITORIAL

Concept de barrière hémato-encéphalique, structure et fonction

J. C. Depresseux

Depresseux JC - 53

La notion de *structure* se conçoit en biologie à divers niveaux, depuis celui de la macromolécule jusqu'à celui de l'organisme.

Les recherches portant sur la barrière hémato-encéphalique, dont le lecteur trouvera écho dans ce numéro, sont très significatives du mouvement actuel des sciences biologiques, où le concept de *structure* dépasse largement la référence à la description anatomique, pour devenir un instrument conceptuel d'analyse et d'interprétation de notions de *fonction*.

Dans de nombreux cas, en effet, la description d'une structure se fait au travers d'un *modèle*, au cours d'une démarche hypothético-déductive, et elle trouve à ce stade une expression symbolique, plutôt qu'anatomique ou histologique, sous une formulation sémantique d'ailleurs parfois trompeuse.

Un modèle est ainsi développé et décrit, puis une "épuration" en est conçue, généralement pour permettre l'analyse et l'interprétation de données numériques ; il sert ensuite de support à un programme expérimental qui, secondairement, peut le valider et confirmer l'utilité conceptuelle et technique des hypothèses mises en oeuvre à travers lui.

Le modèle le plus simple décrit la barrière hémato-encéphalique comme une limite sang-tissu, douée de propriétés de *sélectivité* "tout-ou-rien", interprétées en termes de protection du milieu intérieur cérébral.

Un peu plus complexe est son interprétation en fonction de sa *perméabilité* à des molécules de liposolubilités ou d'hydrophilies variées.

A un niveau plus élaboré encore, se font jour les notions de diffusion facilitée et de transport actif, avec participation des cellules de la barrière hémato-encéphalique à des fonctions de *régulation*.



Torental[®] 400

du globule rouge
à l'oxygénation tissulaire

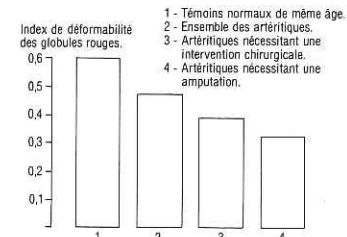
Pentoxifylline.

LE GLOBULE ROUGE EST LE VECTEUR DE L'OXYGÈNE VERS LES TISSUS

Dans la circulation capillaire la déformabilité des globules rouges est un facteur essentiel de l'apport d'oxygène aux tissus.

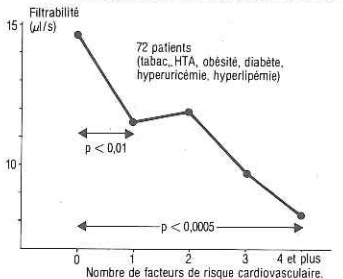
DANS L'ARTÉRIOPATHIE DES MEMBRES INFÉRIEURS, LA DÉFORMABILITÉ DES GLOBULES ROUGES EST RÉDUITE DES LES PREMIERS STADES DE L'ISCHÉMIE (1)

De plus les facteurs de risque vasculaire réduisent déjà la déformabilité des globules rouges (2).



Valeur pronostique de la réduction de la déformabilité des globules rouges.

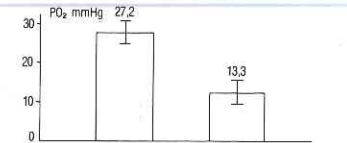
1 - D'après J. Dormandy et coll., IV^e Séminaire du Groupe de travail sur la filtration érythrocytaire, 13-15 septembre 1979, 123-135.



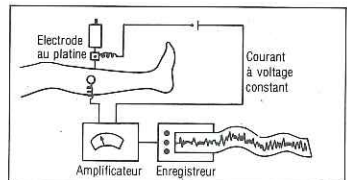
2 - D'après G. Lagrue et coll., Nouv. Presse Méd., 1979, 8, 4079-4081.

LA RÉDUCTION DE LA DÉFORMABILITÉ DES GLOBULES ROUGES SE TRADUIT PAR UNE ISCHÉMIE TISSULAIRE

Cela a été vérifié directement par mesure de la PO₂ dans le muscle du mollet chez l'artériopathe (3).



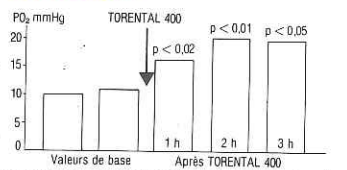
La PO₂ musculaire est diminuée de moitié chez l'artériopathe par rapport au sujet sain.



Dispositif expérimental pour mesurer la PO₂ musculaire dans le muscle tibial antérieur (3).

3 - D'après A.M. Ehrly, Angiology, 1977, 28, 101-108.

TORENTAL 400 NORMALISE LA DÉFORMABILITÉ DES GLOBULES ROUGES (4) ET AUGMENTE SIGNIFICATIVEMENT L'OXYGÉNATION TISSULAIRE (5)



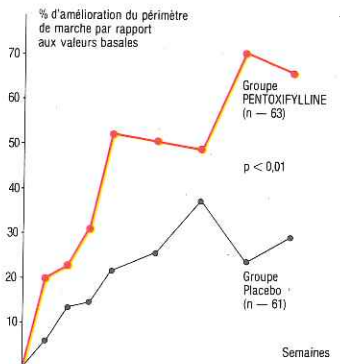
4 - D'après R. Schubotz et coll., Curr. Med. Res. Opin., 1977, 4, 609.

5 - D'après A.M. Ehrly, IRCS, Med. Sci., 1982, 10, 401-402.

TORENTAL 400 ET ARTÉRIOPATHIE DES MEMBRES INFÉRIEURS

Ces différentes actions de TORENTAL 400 sont associées à des résultats significatifs dans l'artériopathie des membres inférieurs (6).

TORENTAL 400 améliore significativement le périmètre de marche. Cela a été démontré chez des artériopathes de stade II dans une étude très rigoureuse, prolongée sur 6 mois, en double aveugle contre Placebo, après sevrage de 6 semaines de tout médicament vasoactif et stabilisation du périmètre de marche.



Porcentage moyen d'amélioration par rapport aux valeurs de base pour tous les patients inclus.

6 - D'après I. Horowitz, Actualités d'Angéologie, 1982, 7, 31-34. D'après J.M. Porter et coll., Am. Heart J., 1982, 104, 66-72.

POSOLOGIE

La posologie du TORENTAL 400 est simple :



- 2 comprimés par jour :

 - 1 comprimé le matin,
 - 1 comprimé le soir.

- 3 comprimés par jour dans les cas graves.

C'est le plus fréquemment dans une seconde démarche qu'une relation entre structure, cellulaire ou moléculaire, et fonction est l'objet d'un plan de recherches interdisciplinaires plus approfondies.

Les exemples de ce type de démarche abondent dans le cas de l'investigation de la barrière hémato-encéphalique : la sélectivité de la barrière, interprétée à la lumière du caractère particulier des jonctions intercellulaires de l'épithélium du lit capillaire cérébral; la perméabilité différentielle de cet endothélium, mise en corrélation avec la structure moléculaire de ses membranes luminale et abluminale; l'expression même du coefficient perméabilité surface caractérisant la diffusibilité des molécules à travers la barrière, où le concept de surface, exprimé en cm²/gr, n'a, à l'heure actuelle, reçu aucune corrélation anatomique précise; la notion, enfin, de transfert facilité ayant fait l'objet d'une description formelle par analogie avec les équations de Michaelis-Menten, mais restant encore à être élucidée dans ses détails moléculaires.

Enfin, de nombreuses difficultés persistent encore en physiopathologie, en recherches cliniques et en recherches thérapeutiques, étant donné précisément que la relation structure - fonction elle-même peut y être complètement perturbée et nécessite de nouveaux modèles et stratégies, impliquant des notions supplémentaires, telles que celles de rupture de barrière, de dysrégulation et de panne métabolique.

Un regard sur l'évolution globale de ces recherches fait apparaître deux traits qui méritent d'être soulignés.

D'une part, à mesure que sont franchis des degrés de complexité croissante dans l'organisation du système sang-tissu cérébral, la structure en est discutée en des termes faisant de plus en plus appel à la référence moléculaire.

D'autre part, l'élucidation de la relation structure-fonction progresse grâce à une méthodologie d'un caractère transdisciplinaire croissant.

COMPOSITION - PRESENTATION : Boîte de 20 comprimés dragéifiés à effet prolongé dosés à 400 mg de Pentoxifylline. Excipient : hydroxyéthylcellulose, polyvinylpyrrolidone, talc, stéarate de magnésium, Enrobage : saccharose, talc, gomme arabique, oxyde de titane, silice colloïdale, érythrosine, polyéthylène glycol 6000. Remarque : le Torental 400 contient par comprimé 4 fois plus de principe actif que le Torental (comprimés dragéifiés à 100 mg). **SORT DU MÉDICAMENT** : Résorption lente : 2 prises par jour, une le matin, une le soir, sont suffisantes pour maintenir l'efficacité clinique sur l'ensemble du nyctémère. La concentration sanguine maximale est obtenue deux à trois heures après la prise, puis elle s'abaisse de moitié dans les deux heures qui suivent pour rester constante jusqu'à la 13^e heure après l'ingestion. Une accumulation de métabolites est possible en cas d'insuffisance rénale sévère. **PROPRIÉTÉS PHARMACOLOGIQUES** : Restitue aux globules rouges leur déformabilité, diminuée dans l'artérite, facilite leur passage au travers des capillaires de faible diamètre et accroît ainsi l'irrigation des tissus ischémisés; possède également une action de relaxation sur la fibre musculaire lisse des vaisseaux. **INDICATIONS** : Proposé dans les manifestations de l'artérite des membres inférieurs (claudication intermittente). Cette indication est proposée à partir d'un essai clinique contrôlé, bien conçu et réalisé, mettant en évidence des différences significatives au plan statistique qui suggère une activité thérapeutique. **CONTRE-INDICATIONS** : Ne pas employer Torental 400 dans la phase aiguë de l'infarctus du myocarde. **PRÉCAUTIONS D'EMPLOI** : Prudence en cas d'hypotension. En cas d'insuffisance rénale sévère, il paraît prudent de diminuer la posologie. **INTERACTIONS MÉDICAMENTEUSES** : Le Torental 400 peut être associé aux anticoagulants, aux vasodilatateurs et aux antihypertenseurs. L'association avec les antihypertenseurs et les vasodilatateurs peut être potentialisée par l'administration de fortes doses de Torental 400, en particulier chez le sujet très âgé. (La posologie sera adaptée si nécessaire.) Torental 400 ne remplace pas le traitement de l'hypertension artérielle. **EFFETS INDÉSIRABLES** : Des effets indésirables digestifs peuvent survenir exceptionnellement en début de traitement. Des réactions cutanées sont exceptionnellement observées. **POSOLOGIE** : 1 à 3 comprimés par jour de préférence au cours des repas. En moyenne : 1 comprimé le matin et 1 comprimé le soir. La posologie forte (3 comprimés à midi) permet d'atteindre des concentrations sanguines suffisantes pour traiter les cas les plus difficiles, sans avoir recours à la voie parentérale (chez le sujet très âgé se reporter au paragraphe Interactions Médicamenteuses). **Coût de traitement journalier** : 2,04 F à 6,13 F. Torental 400 - Comprimés dragéifiés - A.M.M. 322-757-2 - Tableau C - Commercialisé depuis 1980 - Prix : 40,80 F + SHP - Remboursement Sécurité Sociale : 70 % - Agréé collectivités.



Laboratoires HOECHST

3, avenue du Général-de-Gaulle - 92800 PUTEAUX - Tél. : (1) 778.15.15

Techniques histologiques et histochimiques de mise en évidence de la barrière hémato-encéphalique

C. Bouchaud

Laboratoire de Cytologie, E.R.A. C.N.R.S. 884, Université Pierre et Marie Curie, 75230 Paris Cedex 05

Reçu le 4 juillet 1983

RESUME

Les principales techniques morphologiques de mise en évidence de la barrière hémato-encéphalique aux protéines sont commentées et discutées. On peut considérer aujourd'hui que les deux meilleures méthodes pour la démonstration des barrières cérébrales et de leurs éventuelles lésions sont celles basées sur l'utilisation *in vivo* des colorants acides du type bleu Evans couplés à l'albumine ou de la peroxydase du raifort. Les colorants acides sont bien adaptés à une étude anatomique alors que la peroxydase apporte des résultats aussi bien en microscopie photonique qu'électronique.

MOTS CLEFS

Barrière hémato-encéphalique, colorants, peroxydase, protéines, traceurs

La possibilité qu'offre l'histologie d'administrer à des animaux des molécules repérables (traceurs) permet de démontrer directement les barrières qui existent dans l'organisme, tant au niveau des tissus qu'au niveau des ultrastructures.

Dès 1885, Ehrlich constatait le comportement particulier du cerveau envers *les colorants acides administrés par voie vasculaire*. Ces colorants paraissent sans effet sur le cerveau alors que les autres organes sont normalement colorés. Ehrlich excluait la présence de barrières empêchant les colorants de pénétrer dans le parenchyme cérébral. Pour lui, l'échec de la coloration des cellules nerveuses centrales était expliqué par leur absence d'affinité pour le colorant. Il fallut attendre les expériences de Goldmann (1909, 1913) pour comprendre qu'il existait en fait un obstacle à la pénétration du colorant au niveau de l'endothélium vasculaire: l'administration par voie ventriculaire, dans le liquide céphalo-rachidien, d'un colorant acide, le bleu trypan, provoque une coloration bleue du parenchyme cérébral, au moins dans les zones péri-ventriculaires; il y a donc bien affinité du colorant pour le tissu cérébral. Goldmann put aussi observer que l'obstacle existant pour le bleu trypan protège le système nerveux central des actions nocives de molécules étrangères à l'organisme: le bleu trypan administré par voie intra-parenchymateuse se révèle ainsi 100 fois plus toxique que par voie vasculaire chez le lapin. Par ailleurs, Goldmann notait la coloration bleue des plexus après administration intra-veineuse du colorant ce qui implique que les capillaires choroïdiens ont des propriétés de perméabilité analogues à celles des organes périphériques.

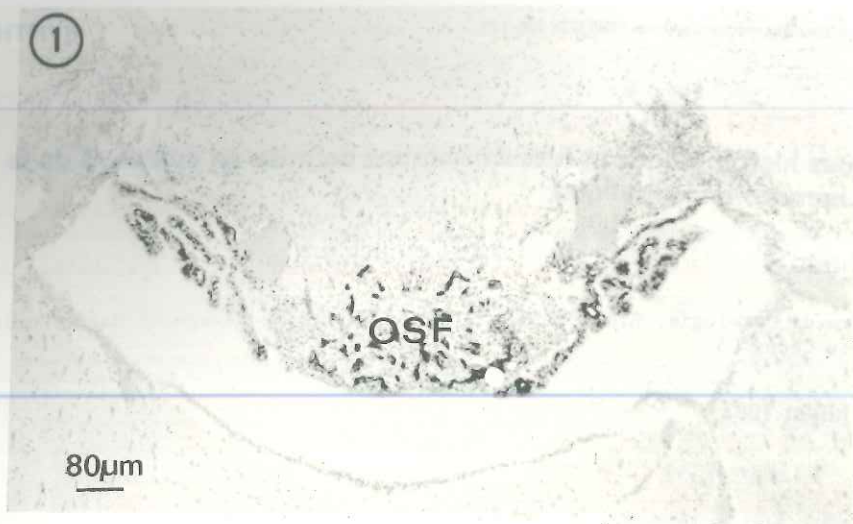
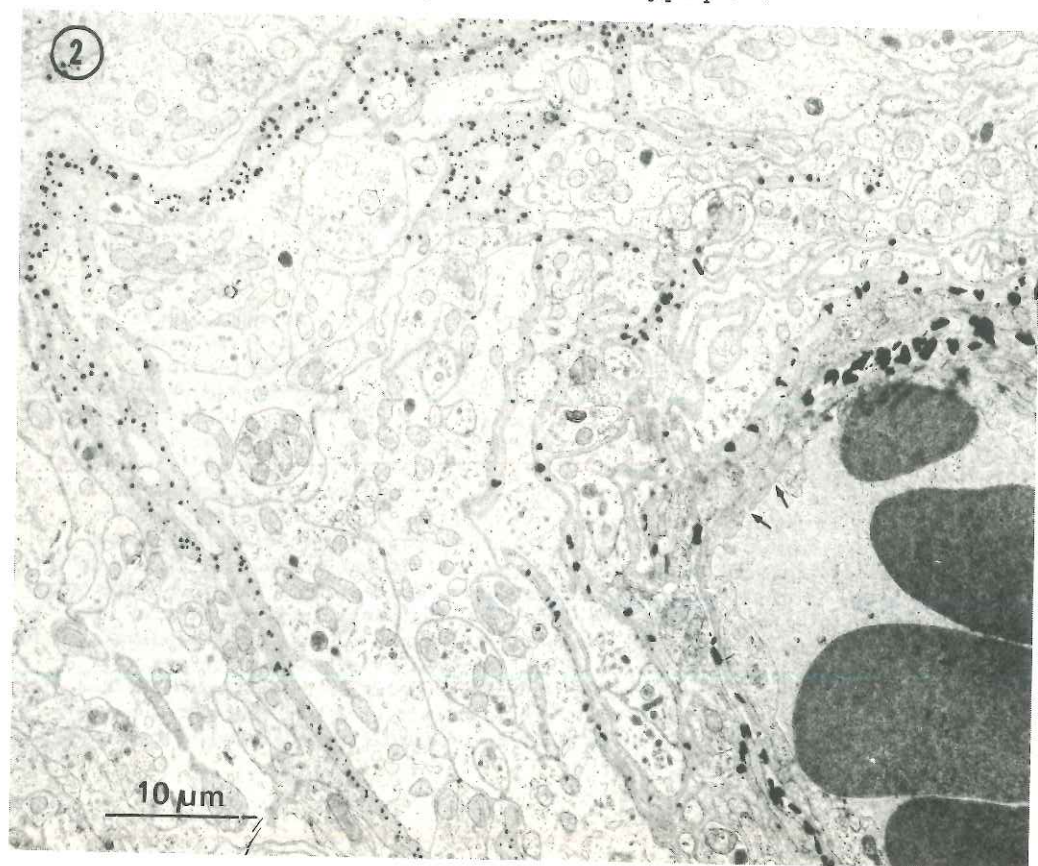


Fig. 1 et 2- Mise en évidence de la diffusion du complexe protéine-argent à partir des capillaires de l'organe subfornical du rat en microscopie photonique (fig. 1) et électronique (fig. 2). Noter en (1) l'existence d'une B.H.E. dans le parenchyme cérébral "typique".



On voit donc que l'utilisation *in vivo* de certains colorants histologiques a conduit dès 1913 à conclure à la présence d'un obstacle au colorant entre le sang et le parenchyme cérébral et à la possibilité de le court-circuiter par administration dans le liquide céphalo-rachidien ventriculaire. En outre, elle a permis de décrire chez les Mammifères toute une série de structures cérébrales dépourvues de barrière hémato-encéphalique (B.H.E.): plexus choroïdes, neurhypophyse, éminence médiane, épiphyse, organe subfornical, organe vasculaire de la *lamina terminalis*, *area postrema* (Bouchaud, 1975). Toutes ces structures font partie des organes circumventriculaires (Hofer, 1965)*.

Les colorants acides utilisés *in vivo* sont particulièrement adaptés à l'examen anatomique puisque les zones cérébrales qui leur sont perméables sont faciles à distinguer à la dissection; en particulier, cette méthode est favorable à la mise en évidence des lésions pathologiques ou expérimentales de la B.H.E. On considère aujourd'hui que la barrière observée dans les expériences de longue durée est en fait une B.H.E. à une protéine puisque les colorants se complexent *in vivo* avec des protéines plasmatiques, essentiellement l'albumine. La méthode classique est celle préconisée par Wislocki et Leduc (1952): Les petits animaux de laboratoire reçoivent par voie intrapéritonéale 1 ml d'une solution à 1% de bleu trypan, 6 fois, 1 jour sur 2. Le sacrifice de l'animal a lieu 2 jours après la dernière administration. La tendance actuelle est d'abrèger la durée des traitements en administrant à l'animal, de préférence par voie intraveineuse, une solution de bleu Evans à 1%-albumine de boeuf à 5% dans une solution physiologique (1 ml/100 g), 5 à 30 mn avant le sacrifice. C'est généralement l'extravasation du bleu Evans-albumine qui est ainsi utilisée pour une démonstration d'une lésion de la vascularisation cérébrale (Rosengren et al., 1977). Cette fuite peut être aisément observée sur des coupes à congélation de matériels fixés au formaldéhyde. A un niveau histologique plus fin, le dépôt de colorant est souvent faible et les préparations peu contrastées. Notons toutefois que le bleu alcian donne des contrastes satisfaisants en microscopie électronique; c'est ainsi que Møllgard et Saunders (1975) ont pu suggérer l'existence à partir des espaces péricapillaires et intercellulaires d'un transport de ce colorant par le reticulum endoplasmique lisse des cellules choroïdiennes.

Wislocki et Leduc (1952) ont également introduit une autre méthode de démonstration de la B.H.E. en appliquant une technique d'argyrisme expérimental qui consiste à traiter des rongeurs de laboratoire durant plusieurs mois par une boisson donnée *ad libitum* (solution de 0.15% de nitrate d'argent dans de l'eau distillée). Le dépôt d'argent dans les zones cérébrales dépourvues de B.H.E. est alors d'autant plus important que l'expérience est poursuivie plus longtemps. On peut éventuellement pratiquer sur ces animaux les injections au bleu trypan. Les localisations des deux traceurs se révèlent légèrement différentes, le bleu trypan ayant une répartition principalement intracellulaire contrairement au dépôt d'argent qui se localise surtout sur les lames basales péricapillaires des organes circumventriculaires. Le nitrate d'argent qui s'est lui aussi complexé *in vivo* à des protéines plasmatiques permet des observations macroscopiques mais surtout au microscope photonique ou électronique (Fig. 1 et 2); les grains d'argent apparaissent comme des agrégats en microscopie photonique où ils sont spécialement apparents avec un condensateur à fond noir ou comme des petits points très denses aux électrons avec un diamètre de 3 à 30 nm. La molécule repérable étant peu diffusible a permis des observations originales, par exemple sur l'organe subfornical dont seuls les capillaires "en vrille" de la région caudale sont perméables au traceur (Bouchaud, 1974). Notons que certaines espèces comme le cobaye sont extrêmement sensibles à l'argent et meurent dès qu'elles boivent la solution de traceur. A notre connaissance, il n'y a pas eu d'examen cytologique des aires circumventriculaires d'hommes victimes d'argyrisme accidentel.

* Parmi ces organes, seul l'organe sous-commissural possède une B.H.E. (Weindl et Joynt, 1973; Bouchaud, 1975).

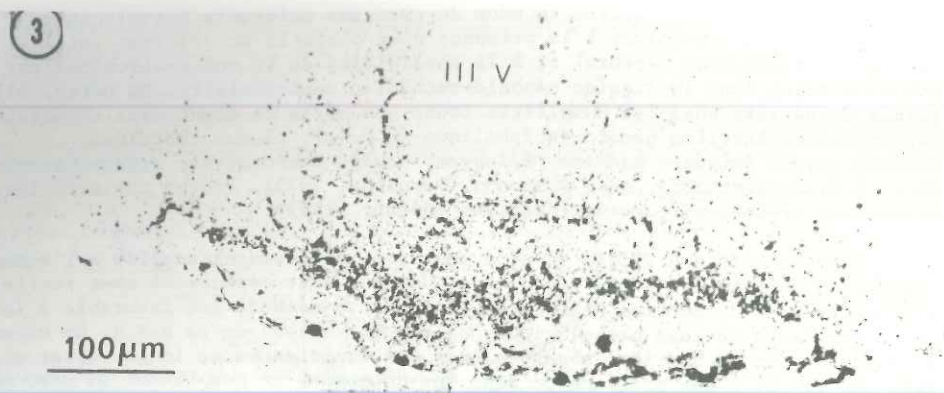


Fig. 3- Radioautographie de cerveau de rat au niveau de l'éminence médiane, après injection vasculaire de ³H-5-hydroxytryptamine: les capillaires s'y montrent sélectivement perméables.

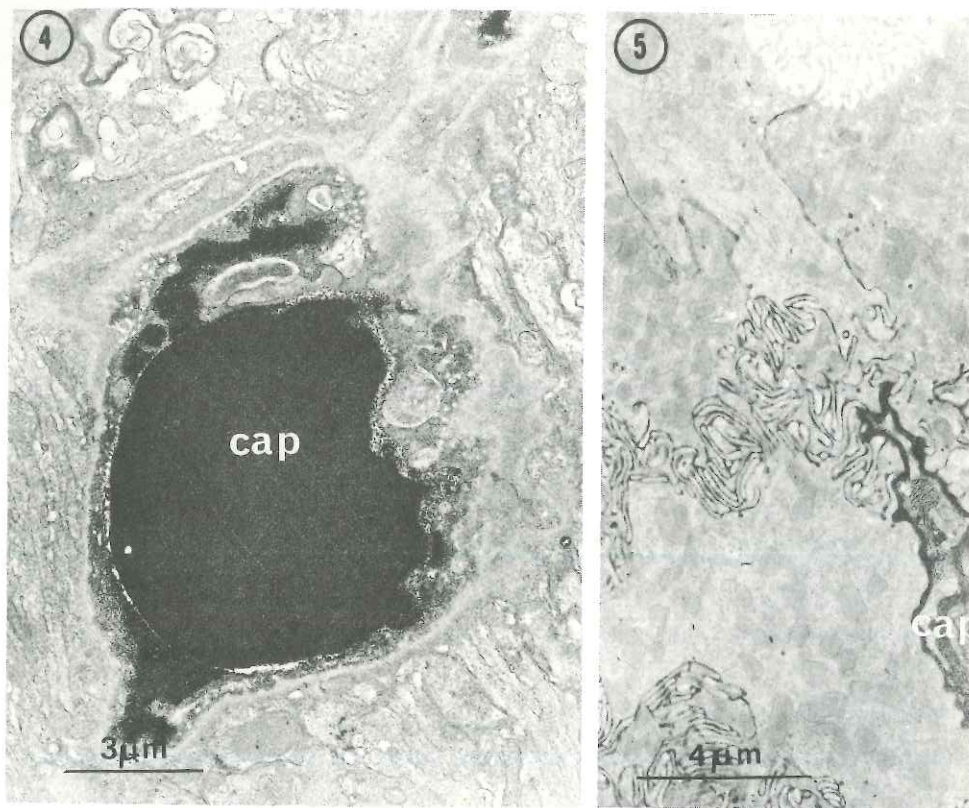


Fig. 4 et 5- Après injection vasculaire de H.R.P., les capillaires du parenchyme cérébral se révèlent imperméables au traceur (fig.4) contrairement à ceux du plexus choroïde (fig.5).

Une autre méthode permet de démontrer l'existence d'une B.H.E. aux protéines; il s'agit de l'administration par voie vasculaire d'albumine couplée à la fluorescéine (Klatzo et al., 1962). Cette méthode, très sensible, utilise des coupes de tissus observées au microscope à fluorescence. Il est ainsi possible d'observer si le traceur peut diffuser ou non dans le parenchyme cérébral; c'est de cette manière qu'Olsson et al. (1968) ont pu montrer que la B.H.E. est déjà en place au 15ème jour de la vie foetale chez le rat.

L'utilisation de molécules radioactives, généralement marquées au tritium, permet aussi de mettre en évidence les zones cérébrales qui leur sont perméables. Ces molécules (ou leurs métabolites) sont détectées par radioautographie (Fig. 3). Il convient, bien entendu, d'utiliser des molécules qui ne diffusent pas par la voie trans-endothéliale. Les molécules utilisées sont très souvent des amines biogènes comme la ³H-5-hydroxytryptamine; après administration vasculaire, on peut constater qu'il existe une B.H.E. pour cette substance (Bouchaud, 1972), comme d'ailleurs pour la dopamine et la noradrénaline, puisque seuls les organes circumventriculaires en sont imprégnés. Cette observation a une application très importante: on sait que ces amines sont des médiateurs du système nerveux central et qu'elles peuvent être captées par les neurones sérotoninergiques ou leurs terminaisons. La radioautographie est donc un outil particulièrement efficace pour l'identification de ces neurones. En principe, la technique ne peut être appliquée, après administration vasculaire de ces traceurs, que dans les organes circumventriculaires dont les capillaires leur sont perméables. Pour les autres structures centrales, il faut recourir à l'administration dans le liquide céphalo-rachidien ou à l'administration intra-parenchymateuse, en particulier pour les neurones éloignés des ventricules ou de la membrane limitante externe; ces deux méthodes court-circuitent la B.H.E. Compte-tenu du prix des molécules radioactives et de la longueur de la technique, on ne peut la conseiller de manière courante. Elle est toutefois bien adaptée à la démonstration de la B.H.E. chez des petits animaux de laboratoire; à la différence des autres techniques étudiées ici, elle peut être appliquée à d'autres molécules que des protéines.

La méthode de choix est l'utilisation de la peroxydase du raifort (*horseradish peroxidase*, H.R.P.). Depuis 1967, cette molécule protéique d'un diamètre de 5 à 6 nm et d'un poids moléculaire voisin de 50 000 a permis de mettre en évidence les barrières aux protéines qui existent dans l'organisme. C'est un traceur peu toxique, particulièrement adapté à la microscopie photonique et électronique. Il a permis de préciser les deux barrières cérébrales aux protéines: l'une au niveau des endothéliums des capillaires du parenchyme cérébral "typique" (présentant entre cellules contiguës des jonctions de type tight et ayant une très faible activité de pinocytose), l'autre au niveau des épendymes particuliers des organes circumventriculaires (présence de jonctions tight responsables de la barrière sang-liquide céphalo-rachidien). Les résultats obtenus avec la H.R.P. ont pu être largement étendus à d'autres molécules voisines telles que microperoxydase, cytochrome c, lactoperoxydase, etc... Chez les petits animaux de laboratoire, on utilise des administrations vasculaires de 1 mg de H.R.P. pour 0.5 ml de chlorure de sodium à 0.9% par 100 g de poids. Le sacrifice a lieu de 5 à 30 mn après et il est généralement conseillé de fixer l'animal par perfusion vasculaire d'un mélange tamponné de glutaraldéhyde et de paraformaldéhyde. La technique de détection des activités peroxydasiques est celle de Graham et Karnovsky (1966). On prendra soin de manipuler avec précaution la 3-3' diaminobenzidine qui est un réactif réputé cancérigène. On peut considérer que l'usage de la H.R.P. a détrôné dans le domaine de l'étude des barrières d'autres traceurs comme les substances colloïdales de type ferritine.

Plus récemment, on a pu appliquer des techniques immunohistochimiques pour la mise en évidence de barrières dans l'organisme, non seulement au niveau du cerveau mais aussi d'autres organes (poumon, oeil, etc...). Ces méthodes sont basées sur les propriétés antigéniques de la H.R.P.: *in vivo*, les animaux injectés avec cette protéine fabriquent des anticorps anti-H.R.P. qu'il est possible de mettre en évidence histochimiquement (Druet et al., 1978). La détection de ces immunoglobulines G a permis de démontrer que les résultats obtenus avec la H.R.P. exogène reflètent bien la diffusion ou l'absence de diffusion dans l'oeil ou dans le cerveau des protéines endogènes (Baloyannis et Gonatas, 1978; Hirsch et al., 1980; Fleury, 1982).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Baloyannis, S.J. et Gonatas, N.K.(1979): Distribution of anti-H.R.P. antibodies in the central nervous system of immunized rats after disruption of the blood-brain barrier. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 38, 519-531.
- Bouchaud, C.(1972): Démonstration par radioautographie de l'existence d'une barrière hémato-encéphalique pour la 5-hydroxytryptamine. *C.R. Acad. Sc.* 275, 975-978.
- Bouchaud, C.(1974): Différences régionales dans la perméabilité des capillaires de l'organe subfornical. *Bull. Ass. Anat.* 58, 491-499.
- Bouchaud, C.(1975): Données ultrastructurales sur la perméabilité des capillaires des organes circumventriculaires du cerveau. *J. Microscopie* 24, 45-58.
- Brightman, M.W. et Reese T.S.(1969): Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. *J. Cell Biol.* 40, 648-677.
- Druet, P., Bariety, J., Laliberte, F., Bellon, B., Belair, M.F. et Paing, M.(1978): Distribution of heterologous antiperoxidase antibodies and their fragments in the superficial renal cortex of normal Wistar rats. An ultrastructural study. *Lab. Investig.* 39, 623-631.
- Ehrlich, P.(1885): Das Sauerstoff Bedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. A. Hirschwald, éd., Berlin.
- Fleury, J.(1982): Localisation des immunoglobulines de type G dans l'encéphale du rat normal. Etude ultrastructurale. Thèse Université Paris VI.
- Goldmann, E.E.(1909): Die äussere und innere Sekretion des gesunden und kranken Organismus in lichte der "vitalen Färbung". *Beitr. Klin. Chir.* 64, 192-265.
- Goldmann, E.E.(1913): Vitalfärbung am Zentralnervensystem. *Abh. Kön. Preus. Akad. Wissensch.* 1, 1-60.
- Graham, R.C. et Karnovsky, M.J.(1966): The early stage of absorption of injected H.R.P. in the proximal tubes of the mouse kidney: ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.* 14, 291-302.
- Hashimoto, P.H. et Hama, K.(1968): An electron study on protein uptake into brains regions devoid of the blood-brain barrier. *Med. J. Osaka Univ.* 18, 331-346.
- Hirsch, M., Bellon, B., Hartmann, C.H.G., Keller, N. et Druet, P.(1980): Localization of autologous antiperoxidase antibodies in the anterior uvea of the rabbit eye. *Exp. Eye Res.*, 30, 253-260.
- Hofer, H.(1965): Circumventrikuläre Organe des Zwischenhirns. *Primatologia.* 2, 1-104
- Klatzo, I., Miquel, J. et Otenasek, R.(1962): The application of fluorescein labelled serum proteins (F.L.S.P.) to the study of vascular permeability in the brain. *Acta Neuropath.* 2, 144-160.
- Møllgard, K. et Saunders, N.R.(1975): Complex tight junctions of epithelial and of endothelial cells in early foetal brain. *J. Neurocytol.* 4, 453-468.
- Olsson, Y., Klatzo, I. Sovrander, P. et Steinwall, O.(1968): Blood-brain barrier to albumin in embryonic, newborn and adult rats. *Acta Neuropath.* 10, 117-122.
- Rosengren L., Persson L. et Johanson B.(1977): Enhanced blood-brain barrier leakage to Evans blue-labelled albumin after air embolism in ethanol-intoxicated rats. *Acta Neuropath.* 38, 149-152.
- Weindl A. et Joynt R.J.(1973): Barrier properties of the subcommissural organ. *Arch. Neurol.* 29, 16-22.

Wislocki, G.B. et Leduc, E.M.(1952): Vital staining of the hematoencephalic barrier by silver nitrate and trypan blue, and cytological comparisons of the neurohypophysis, pineal body, area postrema, intercolumnar tubercle and supraoptic crest. *J. Comp. Neurol.* 96, 371-413.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué dans le cadre d'une convention de la Direction des Recherches, Etudes et Techniques (D.R.E.T.) N° 82/218.

Histological and histochemical techniques for the demonstration of the blood-brain barrier

C. Bouchaud

Laboratoire de Cytologie, E.R.A. C.N.R.S. 884, Université Pierre et Marie Curie, 75230 Paris Cedex 05

The main morphological methods used for the demonstration of the blood-brain barrier to proteins are exposed and discussed. The best techniques available at the present time are those based on the use *in vivo* of acidic dyes like Evans blue-albumin or horseradish peroxidase (H.R.P.). Acidic dyes are well suited for anatomical studies whereas H.R.P. provides good results for both photonic and electron microscopy.

Les caractéristiques morphologiques de la barrière hémato-encéphalique au niveau des capillaires du parenchyme cérébral: mise en évidence du rôle des jonctions serrées

P. Delorme

Laboratoire de Neurobiologie Fonctionnelle
Université des Sciences et Techniques de Lille
59655 VILLENEUVE D'ASCQ CEDEX, France

Reçu le 30 sept 1983

RESUME

Les capillaires du parenchyme cérébral sont le siège d'une perméabilité sélective désignée sous le terme de barrière hémato-encéphalique.

Le support morphologique de cette barrière est localisé dans l'endothélium de ces capillaires et consiste en l'absence de transfert vésiculaire significatif et, surtout, en l'existence de jonctions serrées organisées en *zonulae occludentes*.

Le rôle de barrière joué par ces jonctions au niveau des capillaires du télencéphale du Poulet, notamment, a pu être mis en évidence en utilisant la peroxydase du Raifort, comme traceur, dans trois situations expérimentales : injections intravasculaires (1) chez le Poussin et (2) chez l'embryon de Poulet et (3) perfusion ventriculo-cisternale chez le Poussin.

L'organisation, ou non, des jonctions serrées en *zonulae occludentes* entre les cellules endothéliales rend compte des changements de perméabilité de la paroi capillaire aux molécules de peroxydase au cours du développement et explique l'imperméabilité des capillaires cérébraux du tissu nerveux adulte à l'enzyme.

MOTS CLEFS - KEY WORDS

Barrière hémato-encéphalique - Jonctions serrées - *Macula occludens* - *Zonula occludens* - Peroxydase du Raifort.

Toute substance, présente dans le sang circulant au niveau de l'encéphale, peut atteindre les cellules nerveuses en suivant plusieurs voies (Figure 1).

- Les voies les plus complexes partent des réseaux capillaires localisés soit dans les plexus choroïdes (Fig. 1 : 2), soit dans la dure-mère (Fig. 1 : 3). Dans un cas comme dans l'autre, la substance doit d'abord se frayer un passage au travers des différentes couches cellulaires qui séparent le sang du liquide

céphalo-rachidien. Ensuite, elle pénètre dans le tissu nerveux en traversant soit l'épendyme (Fig. 1 : 2A), soit la pie-mère (Fig. 1 : 2,3-B) avant de parvenir, après avoir circulé dans les espaces extracellulaires du parenchyme cérébral, aux neurones.

- La voie la plus directe, celle au travers de laquelle se réalise l'essentiel des transferts de nutriments destinés aux neurones et des déchets issus de leur métabolisme, se situe au niveau du réseau capillaire qui irrigue le parenchyme cérébral lui-même (Fig. 1 : 1).

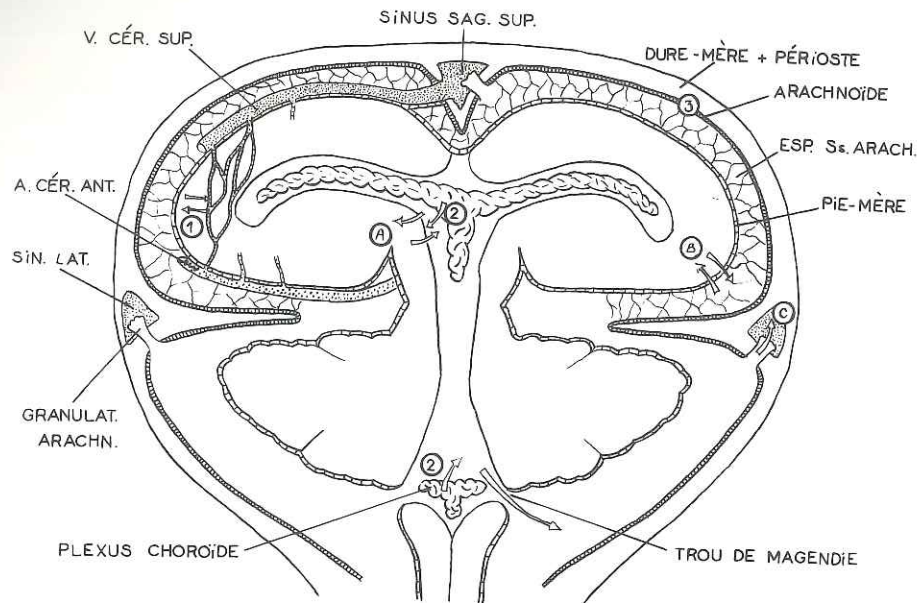


Figure 1 - Schéma des différentes voies de diffusion.

Les substances quittent le sang à partir des réseaux capillaires 1 (parenchyme cérébral), 2 (plexus choroïdes) ou 3 (ensemble dure-mère - arachnoïde) pour gagner le tissu nerveux soit directement (1), soit indirectement (2 et 3) en traversant l'épendyme (A) ou la pie-mère (B) après avoir été véhiculées, dans ces deux derniers cas, par le liquide céphalo-rachidien. Elles peuvent regagner la circulation sanguine grâce aux villosités arachnoïdiennes (C).

Ce réseau capillaire est extrêmement dense puisque, selon CRONE (1963), il y aurait 240 cm² de surface capillaire dans 1 gramme de tissu nerveux cortical. Une telle surface est, certes, un avantage puisqu'elle facilite la pénétration du glucose et de l'oxygène dont le tissu nerveux est particulièrement avide. Mais elle constitue, en revanche, un danger, puisqu'elle peut, tout aussi bien, permettre l'entrée de substances indésirables dans le parenchyme cérébral.

La protection du tissu nerveux, vis-à-vis de ces substances indésirables, est assurée par des caractéristiques structurales d'une part, métaboliques d'autre part. Dans ce rapport, il ne sera question que des premières.

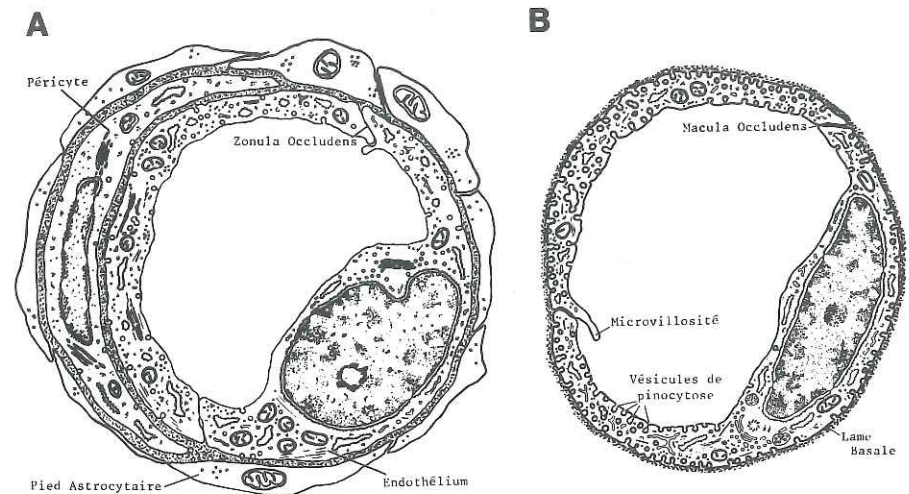


Figure 2 - Schémas de capillaires continus du parenchyme cérébral (A) et du myocarde (B) (modifiés d'après LENTZ).

Il faut noter l'existence d'une gaine de pieds astrocytaires autour des capillaires du tissu nerveux, la rareté des vésicules de pinocytose et l'organisation des jonctions serrées en *zonulae occludentes*. Les capillaires musculaires présentent, par contre, un transfert vésiculaire très important et leurs jonctions serrées sont organisées en *maculae occludentes*.

Les capillaires cérébraux (Figure 2A) sont des capillaires de type continu (MAJNO, 1965). Cela signifie qu'ils sont constitués par une assise de cellules endothéliales parfaitement contiguës. Cette assise est toujours entourée par une lame basale qui, parfois, se dédouble pour enserrer un péricyte. En cela, ils ressemblent à d'autres capillaires continus tels que ceux décrits dans des tissus musculaires comme le myocarde (Fig. 2B), mais là s'arrêtent les points communs. En effet, les capillaires continus du parenchyme cérébral ont, de plus, la particularité d'être enveloppés par une gaine continue de pieds astrocytaires (DELORME et coll., 1968). Par ailleurs, deux caractéristiques morphologiques importantes séparent fondamentalement ces capillaires cérébraux (REESE et KARNOVSKY, 1967 ; BRIGHTMAN et REESE, 1969 ; DELORME et coll., 1970) de ceux du myocarde, par exemple (KARNOVSKY, 1967 ; 1968).

- la première est l'absence de transfert vésiculaire significatif dans les capillaires cérébraux alors qu'il est très important dans les capillaires myocardiques (Fig. 2A et B). Lors de perturbations pathologiques telles qu'hypertension (WESTERGAARD et BRØNDSTED, 1975 ; NAG et coll., 1977, VAN DEURS et AMTORP, 1978 ; KNOX et coll., 1980 ; WESTERGAARD, 1980a), convulsions épileptiques (LORENZO et coll., 1975 ; WESTERGAARD et coll., 1978), ischémie (WESTERGAARD et coll., 1976), oedème cérébral (SASAKI et coll., 1977) ou lors de dysfonctionnements cérébraux provoqués par intoxication au mercure (WARE et coll., 1974) ou à l'éthanol après lésion (PERSSON et coll., 1978), le nombre de vésicules de pinocytose peut s'accroître jusque huit fois (NAG et coll., 1979). Il convient toutefois de préciser que ce transfert vésiculaire accru est observé, par la plupart des auteurs, dans des segments artériolaires et non au niveau des capillaires. Pour WESTERGAARD (1980b), l'augmentation du transfert vésiculaire résulterait d'un accroissement local de la pression sanguine dû à la libération de sérotonine, ou d'un composé apparenté, qui influencerait directement ou indirectement la membrane plasmique de l'endothélium, causant la formation de vésicules. Quoiqu'il en soit, l'augmentation de ce phénomène semble être une réponse systématique de l'endothélium vasculaire (essentiellement extracapillaire au niveau cérébral), à l'agression (DELORME, 1983a et b).

- la seconde réside dans l'organisation des jonctions serrées (tight junctions) qui unissent leurs cellules endothéliales. Ces jonctions serrées sont organisées en *zonulae occludentes* entre les cellules endothéliales des capillaires du parenchyme cérébral alors qu'elles le sont en *maculae occludentes* dans les capillaires myocardiques. Il est évident que cette organisation des jonctions serrées en *zonulae occludentes*, au niveau des capillaires cérébraux, isole totalement la lumière des vaisseaux de l'espace extracellulaire du parenchyme cérébral et constitue un obstacle important pour les échanges qui pourraient se faire entre les deux compartiments par la voie intercellulaire.

L'imperméabilité de la paroi des capillaires cérébraux aux protéines (et donc le rôle essentiel joué par les jonctions serrées dans cette perméabilité) a pu être mise en évidence essentiellement lorsque GRAHAM et KARNOVSKY (1966) ont adopté la technique de visualisation de la peroxydase du Raifort (Horseradish peroxidase = HRP) à la microscopie électronique. La peroxydase du Raifort est une molécule dont la masse moléculaire est approximativement de 40 000 daltons et le diamètre d'environ 5 nm. Lorsqu'elle est administrée par quelque voie que ce soit, sa distribution au bout d'un certain temps donne une idée de la façon selon laquelle elle peut diffuser d'un point à un autre, d'un compartiment à un autre. Sa diffusion donne l'image de ce que peut être la diffusion de molécules de masse moléculaire égale ou inférieure à la sienne ; son blocage est le reflet de celui des molécules de masse moléculaire égale ou supérieure à la sienne.

L'utilisation de cette enzyme, à diffusion exclusivement extracellulaire, pour l'étude de la perméabilité de la paroi capillaire, implique qu'elle soit généralement administrée par voie intravasculaire. Les animaux sont sacrifiés à des intervalles de temps variables, après l'administration, de façon à pouvoir préciser les différents étages de la progression éventuelle de l'enzyme au travers des couches cellulaires. Après fixation des tissus, par perfusion ou par immersion, et élaboration de très fines coupes de tissu, la peroxydase est révélée à l'aide de 3-3'diamino benzidine, en présence d'eau oxygénée.

BRIGHTMAN (1967), REESE et KARNOVSKY (1967), BODENHEIMER et BRIGHTMAN (1968), BRIGHTMAN et REESE (1969), BRIGHTMAN et coll. (1970) ont appliqué cette technique à l'étude de la perméabilité des capillaires du tissu nerveux de diverses espèces animales adultes (Necture, Amblystome, Rat et Souris, notamment).

En ce qui nous concerne, pour démontrer le rôle joué par les *zonulae occludentes*, nous avons également utilisé ce protocole et nous avons administré la peroxydase du Raifort, chez le Poulet, dans trois situations expérimentales :

- en injection intravasculaire, chez le Poussin de 30 jours, dont la maturation cérébrale est proche de celle de l'adulte (DELORME et coll., 1970) ;

- en perfusion ventriculo-cisternale chez ces animaux du même âge, afin de contourner la paroi vasculaire et de préciser l'intervention éventuelle d'autres structures, voisines du capillaire, dans la barrière aux protéines (DELORME et coll., 1975) ;

- en injection intravasculaire chez l'embryon de Poulet dont on connaît la plus grande perméabilité des vaisseaux cérébraux (LAJTHA, 1957) afin de préciser :

- . si cette perméabilité, supérieure à celle observée chez l'adulte, concerne les protéines ;
- . si oui
 - quelles en sont les raisons ?
 - à partir de quel moment cette perméabilité diminue puis disparaît (DELORME et coll., 1970) ?

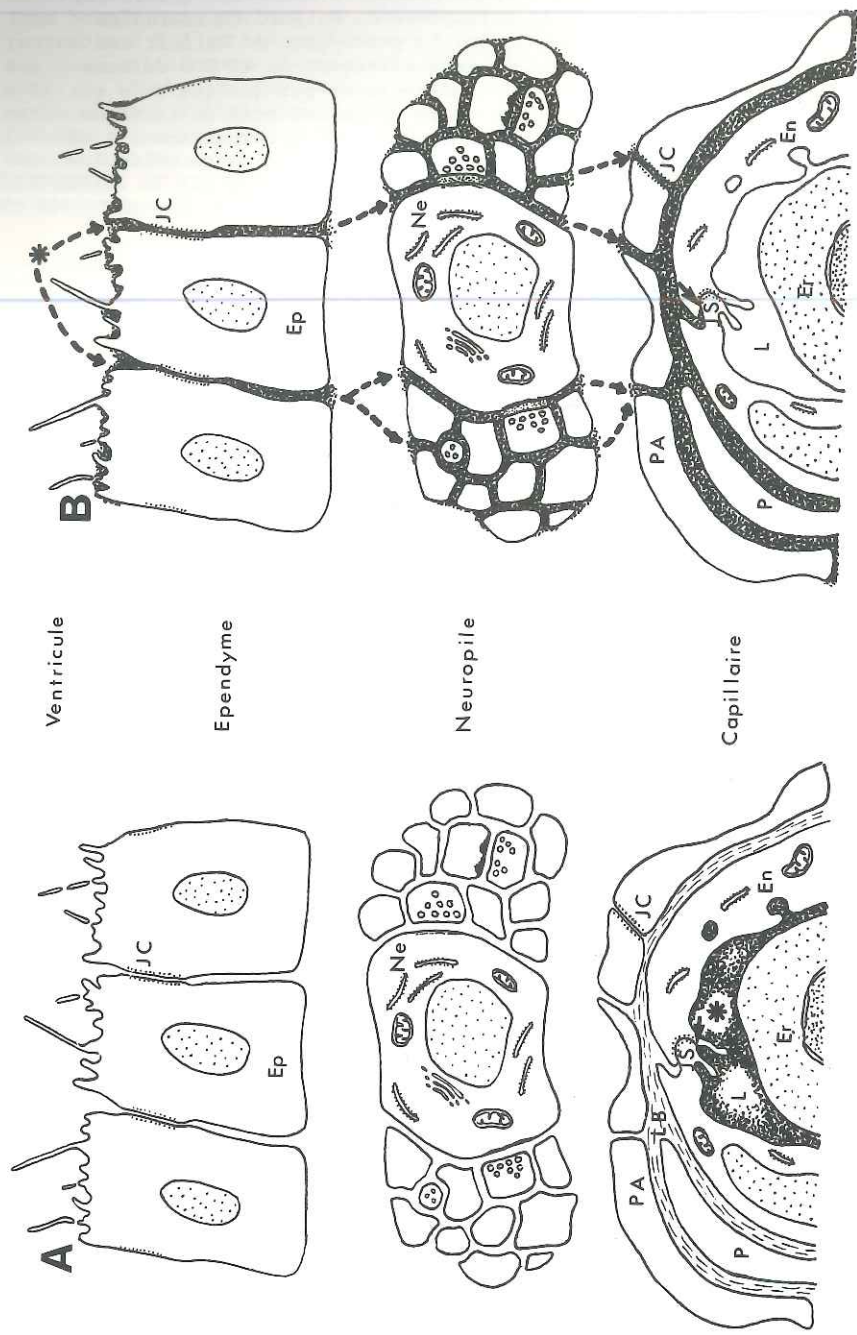


Figure 3 - Diffusion de la peroxydase du Raifort administrée chez le Poulet adulte par injection intravasculaire (A) ou par perfusion ventriculo-cisternale (B). La localisation de l'astérisque (*) indique le mode d'administration. Les zones renfermant de l'enzyme sont représentées en pointillés denses. Les flèches pleines désignent les sites de blocage (A et B). Les flèches en tirets (B) figurent les voies de diffusion de l'enzyme. En = endothélium, Ep = épendymocyte, Er = érythrocyte, JC = jonction communicante, JS = jonction serrée, L = lumière, LB = lame basale, Ne = neurone, P = péricyote, PA = pied astrocytaire.

Chez le Poulet, l'injection intravasculaire de la solution de HRP est pratiquée dans la veine humérale. Les animaux sont ensuite sacrifiés à des intervalles de temps allant de 2 à 20 min. Quelle que soit la durée laissée à la diffusion de l'enzyme, les mêmes observations sont faites (Fig. 3A). La peroxydase remplit tous les espaces laissés libres entre les érythrocytes et la paroi capillaire. Elle envahit toutes les invaginations de la paroi, s'infiltré entre les cellules endothéliales, mais vient buter sur la face apicale (luminale ou interne) de la jonction serrée qui réunit ces cellules contiguës. Les rares vésicules de pinocytose renfermant de l'enzyme ne peuvent pas rendre compte d'un transfert vésiculaire significatif. La peroxydase est dans l'incapacité de gagner le neuropile.

La perfusion ventriculo-cisternale se réalise par implantation d'une aiguille de verre, sur appareil stéréotaxique, dans le ventricule latéral. L'excès de liquide s'échappe, avec le liquide céphalo-rachidien, par une incision pratiquée, en arrière du crâne, au niveau de la *cisterna magna* (DELORME et coll., 1975). La perfusion de la solution de HRP dure de 60 à 90 minutes, après quoi les animaux sont sacrifiés.

Au cours de la perfusion (Fig. 3B), la peroxydase s'infiltré entre les cellules épendymaires qui ne sont réunies, çà et là, que par des jonctions communicantes ou "gap junctions" (BRIGHTMAN et REESE, 1969). Ensuite, elle diffuse dans tous les espaces extracellulaires du neuropile, et finit par arriver à proximité de capillaires. Là, elle se glisse entre les pieds astrocytaires, qui, eux aussi, ne sont réunis que par des jonctions communicantes localisées, et imprègne la lame basale. De là, elle pénètre entre les cellules endothéliales pour être finalement à nouveau bloquée sur la face basale ou externe (Fig. 3B, flèche) des jonctions serrées de la paroi capillaire.

Chez l'embryon de Poulet, les résultats intéressants ont été obtenus entre le 5e et 10e jours d'incubation. C'est au cours de cette période que le réseau vasculaire se met en place dans le télencéphale (KISS, 1964). A ce moment, il est possible d'observer de nombreux bourgeons vasculaires et capillaires néoformés (Fig. 4) au niveau de la paroi desquels les jonctions serrées ne sont pas encore organisées en *zonulae occludentes*. Il existe souvent des zones de contact entre cellules endothéliales voisines qui, lorsqu'elles sont observées en coupes sériées, possèdent encore, dans un ou plusieurs plans successifs, un espace intercellulaire reliant la lumière du vaisseau à l'espace extracellulaire du parenchyme nerveux et qui, dans d'autres plans, présentent l'aspect classique de jonctions

serrées. On passe donc en fait, au cours de la maturation des capillaires cérébraux par un stade de jonctions de type *macula occludens* qui, par occlusion progressive des espaces intercellulaires subsistant, aboutit au type *zonula occludens* (DELORME, 1972).

Chez ces embryons, l'injection de solution de HRP se réalise dans les vaisseaux chorio-allantoïdiens (DELORME et coll., 1970). Dans du tissu télencéphalique fixé quelques minutes après le début de l'injection, il est possible de constater (Fig. 5) que la peroxydase sort de la lumière des capillaires en diffusant entre les cellules endothéliales (flèches) et gagne le tissu nerveux où elle est particulièrement visible dans les zones où les espaces extracellulaires sont peu importants.

Les résultats, obtenus lors de ces trois séries expérimentales, sont résumés dans le tableau I.

EXPERIENCES		JONCTIONS SERREES		OBSERVATIONS
		Z.O.	M.O.	
ADULTE	INJECTION INTRAVASCULAIRE	X		BLOCAGE AU NIVEAU DE LA FACE LUMINALE DE LA JONCTION
	PERFUSION VENTRICULO-CISTERNALE	X		BLOCAGE AU NIVEAU DE LA FACE BASALE DE LA JONCTION
EMBRYON	INJECTION INTRAVASCULAIRE		X	DIFFUSION

Tableau I - Résumé des résultats obtenus lors des différentes expériences réalisées chez le Poussin et l'embryon de Poulet.

Les observations effectuées permettent d'affirmer que ce sont ces jonctions serrées qui, secondées par l'absence de transfert vésiculaire significatif, assurent, lorsqu'elles sont organisées en *zonulae occludentes* (ce qui est le cas dans la paroi des capillaires du tissu nerveux de l'animal adulte), l'imperméabilité de la paroi des capillaires aux molécules de taille égale ou supérieure à celle de la HRP.

Le rôle des jonctions serrées, qui vient d'être mis en évidence au niveau de l'endothélium des capillaires du parenchyme cérébral, a également été démontré dans d'autres régions du système nerveux au niveau desquelles le réseau capillaire est susceptible de laisser pénétrer des substances circulantes. Il s'agit, en l'occurrence des plexus choroïdes, de l'ensemble dure mère-arachnoïde et des nerfs périphériques.

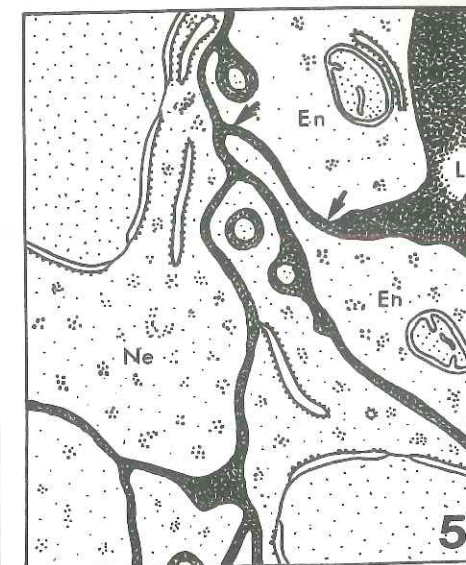
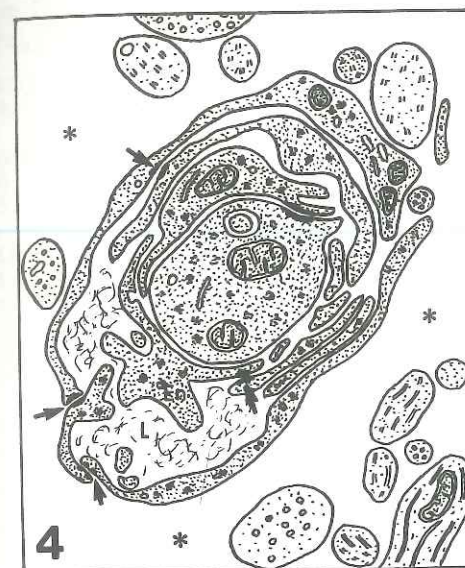


Figure 4 - Schéma d'un capillaire néoformé réalisé à partir d'une microphotographie prise dans le télencéphale d'un embryon de Poulet de 10 jours d'incubation (Grossissement : x 12 000). Certaines zones de contact (flèches) entre cellules endothéliales (En) possèdent encore un espace intercellulaire mettant en communication la lumière (L) et les espaces extracellulaires (*) du tissu nerveux particulièrement importants dans cette région.

Figure 5 - Schéma, représentant la diffusion de la peroxydase du Raifort administrée par voie intravasculaire, réalisé à partir d'une microphotographie prise dans le télencéphale d'un embryon de Poulet de 6 jours d'incubation (Grossissement : x 40 000). L'enzyme, figurée par les pointillés denses, a gagné le tissu nerveux en diffusant entre les cellules endothéliales (En) à partir de la lumière (L). A ce stade de développement, les jonctions serrées sont organisées temporairement en *maculae occludentes* laissant, comme ici, subsister un espace intercellulaire (flèches).

Les capillaires présents dans les plexus choroïdes ou dans la dure-mère sont de type fenêtré. Ce type de capillaire, caractéristique par ailleurs des glandes endocrines, est connu pour sa grande perméabilité. La peroxydase du Raifort, administrée par voie intraveineuse, traverse facilement leur paroi et se retrouve très rapidement dans les espaces intercellulaires de ces régions. Toutefois, en aucun cas, le traceur n'est observé dans le liquide céphalo-rachidien ventriculaire ou sous-arachnoïdien. L'obstacle morphologique, qui s'oppose au passage de la HRP, est, là encore, constitué par l'existence de jonctions serrées, organisées en *zonulae occludentes*, localisées dans la région apicale des cellules de l'épithélium choroïdien (BOUVIER et BOUCHAUD, 1978 ; BRIGHTMAN, 1967, 1975 ; BRIGHTMAN et coll., 1970 ; VAN DEURS, 1976) ou entre les cellules de la couche moyenne de l'arachnoïde (NABESHIMA, 1971 ; NABESHIMA et coll., 1975).

Dans les nerfs périphériques, les fibres nerveuses sont protégées vis-à-vis de substances exogènes par un double système jonctionnel. Les capillaires de l'endonèvre sont identiques, en tout, à ceux du parenchyme cérébral et en possèdent donc les propriétés morphologiques et physiologiques. Par contre, ceux de l'épinèvre et du périnèvre, bien que de type continu, sont perméables à la peroxydase du Raifort. L'enzyme, qui s'en échappe, n'atteint cependant pas l'endonèvre car un système de *zonulae occludentes* existe entre les cellules du périnèvre (BURKEL, 1967 ; OLSSON et REESE, 1971 ; AKERT et coll., 1976 ; OLDFORS et SOURANDER, 1978).

En définitive, dans toutes les régions du système nerveux qui possèdent une barrière hémio-encéphalique efficace, l'obstacle morphologique à la diffusion de molécules de taille relativement importante est constitué par ces jonctions serrées organisées en *zonulae occludentes*. La localisation de ces systèmes jonctionnels varie selon les régions considérées, mais ils sont toujours présents et jouent un rôle important dans la protection du tissu nerveux contre de nombreuses substances hydrosolubles indésirables.

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie Mesdames J. BERNARD et Y. DODEY de leur assistance technique.

REFERENCES

- AKERT, C., SANDRI, C., WEIBEL, E.R., PEPER, K., MOOR, H. (1976) : The fine structure of the perineural endothelium. Cell Tiss. Res., 165, 281-295.
- BODENHEIMER, T.S. et BRIGHTMAN, M.W. (1968) : A blood-brain barrier to peroxidase in capillaries surrounded by perivascular spaces. Amer. J. Anat., 122, 249-267.
- BOUVIER, D. et BOUCHAUD, C. (1978) : Tight junctions of the rat choroid plexus epithelium revealed by freeze-fracture. Biol. Cell., 31, 109-112.
- BRIGHTMAN, M.W. (1968) : The intracerebral movement of proteins injected into blood and cerebrospinal fluid of mice. In Brain Barrier Systems, Eds LAJTHA, A. and FORD, D.H., Progr. Brain Res., Elsevier, Amsterdam, 29, pp 19-37.
- BRIGHTMAN, M.W. (1975) : Ultrastructural characteristics of adult choroid plexus : relation to the blood-cerebrospinal fluid barriers to proteins. In The choroid plexus in health and disease, Eds NETSKY, M.G. and SHUANGSATI, S., University Press of Virginia, pp 86-112.

BRIGHTMAN, M.W. et REESE, T.S. (1969) : Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. J. Cell Biol., 40, 648-677.

BRIGHTMAN, M.W., REESE, T.S. et FEDER, N. (1970) : Assessment with the electron-microscope of the permeability to peroxidase of cerebral endothelium and epithelium in mice and sharks. In Capillary permeability, Eds CRONE, C. and LASSEN, N.A., Academic Press, New York, pp 468-476.

BURKEL, W.E. (1967) : The histological fine structure of perineurium. Anat. Rec., 158, 177-190.

CRONE, C. (1963) : The permeability of capillaries in various organs as determined by use of the "indicator diffusion" method. Acta Physiol. Scand., 58, 292-305.

DELORME, P. (1972) : Différenciation ultrastructurale des jonctions intercellulaires de l'endothelium des capillaires télencéphaliques chez l'embryon de Poulet. Z. Zellforsch., 133, 571-582.

DELORME, P. (1983a) : Etude ultrastructurale de l'ischémie aigüe au niveau cérébral. Effets du 5023 SE. Presse Med., 12, 830-838.

DELORME, P. (1983b) : Etude ultrastructurale de l'ischémie aigüe au niveau périphérique. Effets du 5023 SE. Presse Med., 12, 839-843.

DELORME, P., GAYET, J. et GRIGNON, G. (1970) : Ultrastructural study on transcapillary exchanges in the developing telencephalon of the Chicken. Brain Res., 22, 269-283.

DELORME, P., GAYET, J. et GRIGNON, G. (1975) : Diffusion of horseradish peroxidase perfused through the lateral ventricle of the Chick telencephalon. Cell Tiss. Res., 157, 535-540.

DELORME, P., GRIGNON, G. et GAYET, J. (1968) : Ultrastructure des capillaires dans le télencéphale du Poulet au cours de l'embryogenèse et de la croissance postnatale. Z. Zellforsch., 87, 592-602.

GRAHAM, R.C. et KARNOVSKY, M.J. (1966) : The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney ; ultrastructural cytochemistry by a new technique. J. Histochem. Cytochem., 14, 291-302.

KARNOVSKY, M.J. (1967) : The ultrastructural basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer. J. Cell Biol., 35, 213-236.

KARNOVSKY, M.J. (1968) : The ultrastructural basis of transcapillary exchanges. J. Gen. Physiol., 52, 648-958.

KISS, F.A. (1964) : Experimental stimulation of vascularization of brain tissue in Chick embryos. Acta Biol. Acad. Sci. Hung., 15, 181-190.

KNOX, C.A., YATES, R.D., CHEN, I.L. et KLARA, P.M. (1980) : Effects of aging on the structural and permeability characteristics of cerebrovasculature in normotensive and hypertensive strains of rats. Acta Neuropathol. (Berl.), 51, 1-13.

LAJTHA, A. (1957) : The development of the blood-brain barrier. J. Neurochem., 1, 216-227.

LORENZO, A.V., HEDLEY-WHYTE, E.T., EISENBERG, H.M. et HSU, D.W. (1975) : Increased penetration of horseradish peroxidase across the blood-brain barrier induced by Metrazol seizures. Brain Res., 88, 136-140.

MAJNO, G. (1965) : Ultrastructure of the vascular membrane. In Handbook of Physiology, Section 2, Circulation, Vol. 3, Eds HAMILTON, W.F. and DOW, P., American Physiological Society, Washington, pp 2293-2375.

NABESHIMA, S. (1971) : Morphological basis of meningeal barriers to peroxidase. Anat. Rec., 169, 384.

NABESHIMA, S., REESE, T.S., LANDIS, D.M.D. and BRIGHTMAN, M.W. (1975) : Junctions in the meninges and marginal glia. J. Comp. Neurol., 164, 127-170.

NAG, S., ROBERTSON, D.M. et DINSDALE, H.B. (1977) : Cerebral cortical changes in acute experimental hypertension : an ultrastructural study. Lab. Invest., 36, 150-161.

NAG, S., ROBERTSON, D.M. et DINSDALE, H.B. (1979) : Quantitative estimate of pinocytosis in experimental acute hypertension. Acta Neuropathol. (Berl.), 46, 107-116.

OLDFORS, A., SOURANDER, P. (1978) : Barriers of peripheral nerve towards exogenous peroxidase in normal and protein-deprived Rats. Acta Neuropathol. (Berl.), 43, 129-134.

OLSSON, Y., REESE, T.S. (1971) : Permeability of vasa nervorum and perineurium in mouse sciatic nerve studied by fluorescence and electron microscopy. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 30, 105-119.

PERSSON, L.I., ROSENGREN, L.E. et HANSSON, H.A. (1978) : Ultrastructural studies on blood-brain barrier dysfunction around cerebral stab wounds, aggravated by acute ethanol intoxication. Acta Neurol. Scandinav., 57, 405-417.

REESE, T.S. et KARNOVSKY, M.J. (1967) : Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. J. Cell Biol., 34, 207-217.

SASAKI, S., FERSZT, R. et CERVÓS-NAVARRO, J. (1977) : Transendothelial vesicular transport of protein in brain edema induced by ultraviolet irradiation. Acta Neuropathol. (Berl.), 40, 207-212.

VAN DEURS, B. (1976) : Choroid plexus absorption of horseradish peroxidase from the cerebral ventricles. J. Ultrastruct. Res., 55, 400-416.

VAN DEURS, B. et AMTORP, O. (1978) : Blood-brain barrier in rats to the hemepptide microperoxidase. Neuroscience, 3, 737-748.

WARE, R.A., CHANG, L.W. et BURKHOLDER, P.M. (1974) : An ultrastructural study on the blood-brain barrier dysfunction following mercury intoxication. Acta Neuropathol. (Berl.), 30, 211-224.

WESTERGAARD, E. (1980a) : Transport of microperoxidase across segments of cerebral arterioles under normal conditions. Neuropathol. Appl. Neurobiol., 6, 267-277.

WESTERGAARD, E. (1980b) : Ultrastructural permeability properties of cerebral microvasculature under normal and experimental conditions after application of tracers. In Advances in Neurology, vol. 28, Brain Edema, Eds CERVÓS-NAVARRO, J. et FERSZT, R., Raven Press, New York, 55-74.

WESTERGAARD, E. et BRØNDSTED, H.E. (1975) : The effect of acute hypertension on the vesicular transport of proteins in cerebral vessels. In Proc. VII. Int. Congress of Neuropathology Eds KORNYEY, S., TARISKA, S. et GOSZTONYI, G., Excerpta Medical, Amsterdam, 619-622.

WESTERGAARD, E., GO, G., KLATZO, I. et SPATZ, M. (1976) : Increased permeability of cerebral vessels to horseradish peroxidase induced by ischemia in Mongolian gerbils. Acta Neuropathol. (Berl.), 35, 307-325.

WESTERGAARD, E., HERTZ, M.M. et BOLWIG, T.G. (1978) : Increased permeability to horseradish peroxidase across cerebral vessels, evoked by electrically induced seizures in the rat. Acta Neuropathol. (Berl.), 41, 73-80.

Morphological characteristics of blood-brain barrier at the level of brain capillaries: role of tight junctions

P. Delorme

Laboratoire de Neurobiologie Fonctionnelle
Université des Sciences et Techniques de Lille
59655 VILLENEUVE D'ASCQ CEDEX, France

SUMMARY

The brain capillaries are characterized by a selective permeability termed blood-brain barrier.

The morphological support of this barrier is located within the endothelium of these capillaries. It consists in the absence of a significant vesicular transport and, chiefly, in the existence of tight junctions organized in *zonulae occludentes*.

In order to investigate the role of these junctions at the level of the capillaries of the Chick telencephalon, horseradish peroxidase was used, as a tracer, in three experimental cases : intravascular injection (1) in the Chicken and (2) in the Chick embryo and (3) ventriculo-cisternal perfusion in the Chicken.

The organization of the tight junctions in *maculae occludentes* or in *zonulae occludentes* between the endothelial cells accounts for the changes of permeability of the brain capillary wall to peroxidase during embryogenesis and post-natal development and explains the impermeability of the capillaries of the adult nervous tissue to the enzyme.

Transport du substrats métaboliques à travers la barrière hémato-encéphalique

J. M. Lefauconnier

INSERM - Unité de Neurotoxicologie (U.26)
200, rue du Faubourg Saint Denis - 75475 Paris cedex 10 - France -

Reçu le 19 juillet 1983

RESUME

Dans le sens sang-cerveau, neuf systèmes de transport par diffusion facilitée ont été décrits pour les substrats métaboliques : un pour les hexoses, quatre pour les acides aminés, un pour les acides monocarboxyliques, un pour la choline et deux pour les précurseurs des acides nucléiques. Dans le sens cerveau-sang, il existe, de plus, des systèmes de transport actif. L'étape de transport hémato-encéphalique peut jouer un rôle important dans la régulation de l'utilisation des substrats métaboliques par le cerveau. Cette régulation peut être à court terme (modification d'activité fonctionnelle cérébrale) ou à plus long terme (développement, modifications nutritionnelles prolongées et divers états pathologiques chroniques).

MOTS CLEFS

Barrière hémato-encéphalique, capillaire cérébral, transport biologique, hexoses, acides aminés, acides monocarboxyliques, corps cétoniques.

INTRODUCTION

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est située à l'interface sang-espace extracellulaire cérébral. Ce terme évoque immédiatement une restriction de perméabilité. Cependant, si cette caractéristique a frappé les premiers observateurs, il est apparu que cette restriction devait être sélective car, ainsi que l'écrivait Krogh en 1946 : "Si les vitesses de pénétration d'un certain nombre de substances, y compris les ions, sont sévèrement ralenties, d'autres passent avec la plus grande facilité".

Les interfaces sang-cerveau et sang-LCR (siège de la barrière hémato-liquidienne) ont en effet un double rôle : 1/ maintenir une homéostasie très étroite du milieu extracellulaire cérébral, différent du milieu plasmatique et du milieu extracellulaire des autres organes ; ceci implique des restrictions de perméabilité, 2/ fournir en quantité adéquate les substrats nécessaires au métabolisme cérébral, très actif ; ceci implique une grande capacité de transport. C'est à ce second aspect que nous nous intéresserons dans cette revue.

Le siège précis de la BHE a été discuté par les morphologistes. L'étude de la diffusion de différents traceurs macromoléculaires, introduits par voie sanguine ou ventriculaire a permis de montrer que la BHE était localisée aux cellules endothéliales des capillaires cérébraux et à leurs jonctions (Reese et Karnovsky, 1967 ;

Delorme et coll., 1975 ; Revue : Van Deurs, 1980). Les caractéristiques de l'endothélium capillaire cérébral (existence de jonctions intercellulaires serrées étanches, absence de fenestrations, très faibles transferts vésiculaires et pinocytose) le font se comporter comme une membrane continue. Cette caractéristique du capillaire cérébral a été amplement confirmée par les expériences physiologiques : la perméabilité de la BHE à l'eau (Eichling et coll., 1974), aux substances hydrophiles de faible poids moléculaire comme le mannitol ou l'inuline (Ohno et coll., 1978), aux substances lipophiles (Revue : Brodie et Hogben, 1957) sont celles d'une double couche lipidique. Enfin, la résistance électrique de l'endothélium capillaire cérébral de grenouille est élevée et de l'ordre de grandeur de celle d'une membrane cellulaire ou d'un épithélium comportant des jonctions intercellulaires étanches (Crone et Olesen, 1982). Le transport transcapillaire qui, dans la plupart des organes est paracellulaire, devient donc transcellulaire dans le cerveau.

La barrière hémato-liquidienne est localisée à l'épithélium des plexus choroïdes, dont les cellules sont aussi unies par des jonctions serrées (plus perméables cependant que celles du capillaire cérébral). En revanche, les capillaires des plexus choroïdes comportent des fenestrations. Avant de pénétrer dans le système nerveux central, une substance de petit poids moléculaire doit donc traverser les membranes de la cellule endothéliale des capillaires cérébraux ou de la cellule épithéliale des plexus choroïdes.

Suivant la nature de la molécule, le transport à travers une membrane peut se faire (Fig.1) : 1/ à travers la double couche lipidique, suivant un processus de diffusion simple. La vitesse de transport net (V) est alors proportionnelle au gradient de concentration de part et d'autre de la membrane. Le coefficient de proportionnalité (coefficient de perméabilité-surface) est le produit de la surface capillaire (S) et d'un coefficient de perméabilité (P) qui dépend surtout de la lipophilie de la molécule. Les substances lipophiles (thiopental) traversent donc très facilement les membranes, les substances hydrophiles (mannitol), très lentement. Ce type de transport est celui de la majorité des médicaments, 2/ à l'aide d'un transporteur protéique. Les molécules hydrophiles que sont la plupart des substrats métaboliques, ne peuvent traverser les membranes que grâce à une interaction réversible avec des protéines membranaires avec lesquelles elles possèdent une certaine complémentarité de structure. Le mécanisme précis par lequel ces protéines (appelées transporteurs), permettent la translocation des substrats métaboliques n'est pas parfaitement élucidé. Si le transport se fait sans apport d'énergie, il est appelé diffusion facilitée et se fait dans le sens du gradient de concentration. Il en est ainsi pour la plupart des substrats métaboliques (oses, acides aminés...), dans le sens sang-cerveau. Si le transport nécessite de l'énergie, il est appelé transport actif et peut se faire contre le gradient de concentration. Il en est ainsi par exemple du transport du potassium dans le sens espace extracellulaire cérébral (concentration : 2,4 mEq)-sang (concentration : 4,5 mEq), qui se fait grâce à l'hydrolyse de l'ATP par l'ATPase sodium, potassium-dépendante (Eisenberg et Suddith, 1979).

Le second type de transport est caractérisé par sa stéréospécificité, sa saturabilité et une courbe de vitesse de transport en fonction de la concentration en substance transportée ressemblant à une courbe de réaction enzymatique. Elle est donc caractérisée par une vitesse maximale de transport (V_m), correspondant à la saturation des transporteurs, et par une constante (K_m), similaire à la constante de Michaelis et égale à la concentration en substrat pour laquelle la vitesse de transport est la moitié de la vitesse maximale. Plus ce K_m est faible, plus la substance transportée a d'affinité pour le transporteur. Les valeurs relatives de ce K_m et de la concentration en substrat ont une grande importance physiologique. Si la concentration en substrat est proche du K_m , ses variations influent sur la vitesse de transport. Il en est ainsi du transport sang-cerveau de glucose. Si la concentration plasmatique est très supérieure au K_m , la vitesse de transport est constante,

quelle que soit la concentration plasmatique. Il en est probablement ainsi du transport sang-cerveau des acides aminés.

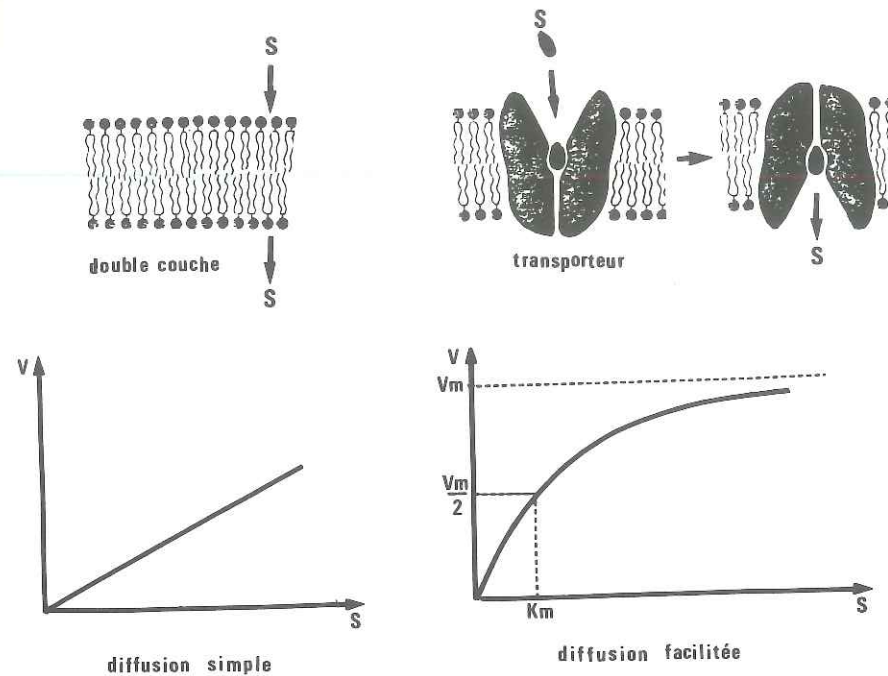


Figure 1. Représentation des deux possibilités de transport transmembranaire pour un substrat métabolique: par diffusion simple à travers la double couche lipidique, par diffusion facilitée grâce à un transporteur protéique.

En fait, le transport hémato-encéphalique est plus complexe qu'un simple transport transmembranaire, puisque, pour passer du sang à l'espace extracellulaire cérébral, une substance doit franchir successivement la membrane luminale, le cytoplasme et la membrane abluminale de la cellule endothéliale. La traversée du cytoplasme est une barrière supplémentaire pour certaines molécules qui peuvent y être dégradées par des enzymes cytoplasmiques. Il en est ainsi des neurotransmetteurs et de certains de leurs précurseurs (Bertler et coll., 1966).

Il existe actuellement de plus en plus d'indications pour penser que les membranes luminales et abluminales sont différentes. Drewes et Lidinski (1980) ont montré que leur composition protéique était différente et Betz et coll. (1980) que la réparti-

tion des enzymes variait d'une membrane à l'autre. La cellule endothéliale des capillaires cérébraux est donc polarisée et ressemble ainsi aux cellules épithéliales des plexus choroïdes, de l'intestin ou du rein. Cette polarité cellulaire est nécessaire pour que puissent se produire des transports actifs transcellulaires. Les transports actifs qui ont été localisés dans la cellule endothéliale (transport de potassium, transport de certains acides aminés) se trouvent dans la membrane abluminale et fonctionnent probablement in vivo dans le sens cerveau-sang, contre le gradient de concentration.

METHODES D'ETUDE DU TRANSPORT DE SUBSTRATS METABOLIQUES A TRAVERS LA BHE

Le transport d'une substance à travers la BHE est caractérisé par trois vitesses : les vitesses d'influx, d'efflux et de transport net. Le transport net, différence entre l'influx et l'efflux, correspond à la vitesse d'incorporation de la substance dans le métabolisme cérébral.

1/ Mesure de l'influx.

Pour mesurer la vitesse d'influx d'une substance dans le cerveau, il faut opérer sur des temps très courts. Trois types de méthodes répondent à cette exigence :

a/ La diffusion de l'indicateur. Cette méthode a été adaptée par Crone (1963) à l'étude du transport à travers les capillaires cérébraux. Dans cette technique, la substance dont on veut étudier la perméabilité (T) est injectée sous forme d'embolie dans la carotide commune, en même temps qu'une substance de référence (R) restant purement intravasculaire. Les concentrations respectives de (R) et (T) sont mesurées dans le sang veineux efférent pendant un temps de quelques secondes. La courbe de radioactivité en fonction du temps est alors tracée pour les deux substances. Si la substance étudiée est transportée dans le cerveau, sa concentration relative dans le sang efférent est d'abord plus basse que celle de la substance de référence qui n'est pas transportée. Après le transit de l'embolie à travers le lit capillaire, la substance de référence a une concentration nulle dans le sang veineux, tandis que débute l'efflux de la substance étudiée. La valeur mesurée est l'extraction (Et) qui, calculée sur la première partie des courbes, rend compte de l'influx de la substance étudiée :

$$Et = \frac{Cr - Ct}{Cr} = 1 - \frac{Ct}{Cr}, \text{ Cr étant la concentration de la substance de référence}$$

et Ct, celle de la substance étudiée dans le sang veineux efférent. Cette extraction correspond à la proportion de la substance qui a pénétré par rapport à celle qui était disponible pour le transport.

b/ La méthode d'Oldendorf (1970). Dans cette méthode, au contraire de la précédente, la substance de référence est librement diffusible. Elle est marquée au tritium alors que la substance étudiée est marquée au ^{14}C (ou inversement). Les deux substances sont injectées en même temps dans la carotide commune. La radioactivité est mesurée dans le cerveau de 5 à 15 secondes après l'injection. La valeur déterminée est l'index de pénétration cérébrale : Ic ou "Brain Uptake Index" (BUI) :

$$Ic = \frac{\frac{^{14}\text{C}}{^3\text{H}} \text{ cerveau}}{\frac{^{14}\text{C}}{^3\text{H}} \text{ embolie}} \times 100$$

On peut voir que cet index est égal au rapport de l'extraction de la substance étudiée (^{14}C cerveau/ ^{14}C embolie) à celle de la substance de référence.

c/ Injections intraveineuses. L'injection intraveineuse de la substance étudiée se fait sous forme d'embolie ou de perfusion très brève et l'animal est sacrifié de 20 secondes à 3 minutes après l'injection, suivant la technique et la substance étudiée. La vitesse de transport est calculée à partir de la radioactivité cérébrale et de la courbe d'évolution en fonction du temps de la radioactivité spécifique plasmatique. Ce type de méthode a été utilisé par exemple par Banôs et coll. (1973) (perfusion), par Ohno et coll. (1978), Hawkins et coll. (1982) (embolie). Gjedde (1980) injecte en même temps que la substance étudiée une substance de référence qui lui permet de mesurer simultanément le débit sanguin cérébral.

2/ Mesure du transport net.

Le transport net est obtenu en mesurant la différence artério-veineuse en substance (Ca-Cv) et le débit sanguin cérébral (F). La vitesse de transport net (V) est égale au produit de ces deux valeurs $V = (Ca - Cv) \times F$.

3/ Etudes in vitro.

Toutes les méthodes précédentes ont apporté un grand nombre de renseignements sur les systèmes de transport de la membrane luminale, dans le sens sang-cerveau. En revanche, s'il existe des techniques d'étude du transport dans le sens cerveau-sang (méthode du lavage "wash-out", perfusion ventriculo-cisternale), celles-ci peuvent être limitées, car il est souvent impossible de distinguer dans le résultat final le siège précis de l'efflux : capillaires cérébraux, plexus choroïdes, diffusion dans le LCR drainé à travers les villosités arachnoïdiennes. Ces méthodes sont donc utilement complétées par des études in vitro sur plexus choroïdes isolés ou sur capillaires isolés. Il est possible que, dans un proche avenir, on puisse aussi obtenir des informations par des études de transport sur cellules endothéliales de capillaires cérébraux en culture (Cancilla et DeBault, 1983 ; Betz et coll., 1983).

4/ Méthodes utilisables chez l'homme.

La méthode de diffusion de l'indicateur peut être utilisée chez l'homme (Lassen et coll., 1971). La possibilité, apparue récemment, d'obtenir des isotopes radioactifs à vie courte et de les détecter par caméra à positron, est d'un grand intérêt. Elle permet, en effet, l'étude du devenir chez l'homme de molécules biologiques et non plus seulement la distribution de traceurs radiomarqués étrangers à l'organisme. C'est ainsi que l'on a pu mesurer la vitesse d'utilisation cérébrale de glucose (Phelps et coll., 1979, Baron et coll., 1982) ou le transport et l'incorporation dans les protéines d'un acide aminé (Bustany et coll., 1981).

TRANSPORT DE GLUCOSE

Il doit parvenir en quantité importante au cerveau afin d'alimenter le métabolisme énergétique cérébral dont il est le substrat presque exclusif chez l'adulte, dans les conditions physiologiques.

1/ Description du système de transport.

En mesurant l'extraction de glucose par diffusion de l'indicateur, Crone (1965) a montré qu'elle diminuait lorsque l'on augmentait la quantité de glucose dans le liquide injecté. Ce transport était donc saturable, ce qui le différenciait du transport de glucose à travers les capillaires des autres organes. Ces résultats ont été amplement confirmés et précisés par de nombreuses autres études in vivo (Revue : Lund-Andersen, 1979). Les études les plus récentes sur capillaires isolés

donnent des résultats concordant avec ceux qui ont été obtenus in vivo.

Le transport transcapillaire de glucose est : a/ saturable, b/ stéréospécifique, puisque le D-glucose, le D-mannose, le D-galactose, ainsi que certains analogues structuraux non physiologiques (2 déoxyglucose, 3 méthylglucose) sont transportés tandis que des oses très voisins, le L-glucose et le fructose, ne le sont pas, c/ inhibé par la cytochalasine B, la phlorétine et, à un degré moindre, par la phlorizine, d/ indépendant du sodium et non inhibé dans les capillaires isolés par les inhibiteurs métaboliques et l'ouabaïne, e/ non modifié par l'insuline pour la majorité des auteurs (Revue : Lund-Andersen). Ce transport n'est donc pas un transport actif comme, par exemple, celui que l'on observe dans les cellules intestinales, mais il se fait par diffusion facilitée comme dans l'érythrocyte où son effet est d'équilibrer les concentrations de part et d'autre de la membrane. La mesure des constantes cinétiques de transport, Km et Vm, a donné des résultats variables d'un laboratoire à l'autre pour des raisons méthodologiques (Revue : Lund-Andersen, 1979). Cependant, chez l'animal anesthésié, un Vm de 1,5 $\mu\text{mol}/\text{min.}/\text{g}$ et un Km de 5 à 9 mM, c'est-à-dire proches de la concentration plasmatique en glucose, semblent probables. Pour la plupart des auteurs, le transport de glucose est la somme d'un transport saturable et d'un transport non saturable. Gjedde (1981) a proposé l'existence de deux transporteurs, l'un à haute affinité et faible capacité, l'autre à faible affinité, haute capacité. Ce dernier, n'étant pas saturé aux concentrations physiologiques en substrat, aurait pu être confondu avec un transport non saturable. Contrairement au transport transcapillaire, le transport de glucose à travers les plexus choroïdes est probablement actif (Revue : Lund-Andersen, 1979).

2/ Modifications rapides.

Dans les conditions physiologiques, l'influx de glucose, environ 1 à 1,5 $\mu\text{mol}/\text{min.}/\text{g}$, est quantitativement important par rapport à la concentration cérébrale qui est de 2 $\mu\text{mol}/\text{g}$ environ. Ceci entraîne un renouvellement très rapide du glucose cérébral. Cremer et coll. (1981) ont en effet calculé que 65% environ du glucose était renouvelé par minute. Ce chiffre rend compte de la mauvaise tolérance cérébrale à l'hypoglycémie.

La vitesse de transport net du glucose : 0,3 $\mu\text{mol}/\text{min.}/\text{g}$ (Kety, 1957) est inférieure à la vitesse d'influx. L'étape limitante de l'utilisation de glucose est donc probablement l'entrée dans le métabolisme, c'est-à-dire, la phosphorylation catalysée par l'hexokinase. Cette enzyme ayant un Km très bas (40 μM) est saturée à la concentration cérébrale physiologique en glucose (2 mM). Il se produit physiologiquement un efflux correspondant aux 2/3 environ de l'influx ; il se fait par diffusion facilitée, par l'intermédiaire d'un système de transport ayant les mêmes caractéristiques que le système d'influx.

On sait, depuis les travaux de Sokoloff et coll. (1977), qu'il existe une différence importante dans l'utilisation métabolique de glucose suivant les régions du cerveau et, à l'intérieur d'une même région, suivant l'état fonctionnel. Il a été aussi montré qu'il existait un couplage entre l'activité fonctionnelle, le débit sanguin régional et l'utilisation de glucose (Revue : Sokoloff, 1981). Le problème se pose de savoir par quel mécanisme se fait l'augmentation du transport net, nécessaire pour répondre aux besoins métaboliques accrus dans les régions cérébrales dont l'activité est augmentée ou dans certaines circonstances pathologiques telles les crises épileptiques. Une augmentation du transport net peut se produire par diminution de l'efflux. Cependant, certaines augmentations importantes d'activité impliquent une utilisation métabolique supérieure à celle que l'on peut obtenir ainsi. L'augmentation de transport net, dans ces conditions, nécessite une augmentation de l'influx. Cremer et coll. (1981) ont montré qu'il existe effectivement une augmentation de l'influx de glucose lorsque l'utilisation croît en réponse à une activité fonctionnelle accrue. Dans leurs expériences, le rapport entre influx et utili-

sation était constant et voisin de 2/1. De plus, Hawkins et coll. (1983) ont montré qu'il existait une différence d'influx d'une zone cérébrale à l'autre et que dans les différentes zones, il existait une forte corrélation entre influx et consommation de glucose.

Quel est alors le mécanisme de couplage entre débit sanguin, métabolisme énergétique et influx de glucose ? Une hypothèse a été émise à plusieurs reprises : l'augmentation de l'activité fonctionnelle entraînerait une augmentation du nombre de capillaires perfusés (Bolwig et coll., 1977 ; Lund-Andersen, 1979 ; Gjedde, 1983, Hawkins et coll., 1983). Ce recrutement capillaire permettrait l'accroissement à la fois du débit sanguin cérébral et de l'influx de glucose, par augmentation du nombre de transporteurs disponibles. De même, la différence de densité capillaire d'une région cérébrale à l'autre pourrait rendre compte de la différence d'influx suivant les régions (Hawkins et coll., 1983). Le travail morphométrique de Weiss et coll. (1982) donne des arguments à ces hypothèses. Ces auteurs ont en effet mesuré la longueur, la surface et le volume des capillaires par unité de volume tissulaire dans différentes régions cérébrales par une technique qui leur permettait à la fois de quantifier le nombre total de capillaires et le nombre de capillaires perfusés. Ils ont observé que, dans leurs conditions d'anesthésie, seulement la moitié des capillaires étaient perfusés ; si l'animal était asphyxié, 90% des capillaires devenaient perfusés. Ces auteurs n'ont pas trouvé de différence de densité capillaire d'une zone à l'autre s'ils étudiaient une région relativement étendue. Par contre, à l'intérieur d'une même région (cortex), il apparaissait une grande différence dans la densité capillaire de la substance blanche et de la substance grise (rapport de 1/2).

3/ Modifications prolongées.

En plus de ces modifications rapides en réponse à une modification de l'activité fonctionnelle, il existe des modifications du transport de glucose qui sont probablement liées à une modification du nombre de transporteurs dans la paroi capillaire a/ lors du développement : Moore et coll. (1971), Daniel et coll. (1978), Cremer et coll. (1976), ont montré qu'il existe une augmentation de la vitesse maximale de transport de glucose, ce qui traduit probablement une augmentation du nombre de transporteurs. Cette augmentation est contemporaine d'une modification du métabolisme cérébral : passage d'une utilisation importante de corps cétoniques chez l'animal immature à l'utilisation presque exclusive de glucose chez l'animal mature, b/ lors d'une hyperglycémie chronique : Gjedde et Crone (1981) ont montré que chez des rats atteints d'hyperglycémie chronique, la vitesse maximale de transport de glucose à travers la BHE diminuait du tiers, diminution qu'ils ont attribuée à une répression de la synthèse du transporteur en réponse, soit à l'élévation plasmatique de glucose, soit à la diminution de l'insuline plasmatique. Ces résultats ont été confirmés par Mc Call et coll. (1982).

TRANSPORT DES ACIDES AMINES

Le cerveau a besoin d'un apport continu en acides aminés pour la synthèse protéique, la synthèse de peptides, la synthèse de catécholamines et de sérotonine. La capacité de transport des membranes des cellules cérébrales est supérieure à celle de la BHE, le transport à travers celle-ci est donc limitant pour la pénétration des acides aminés dans les cellules (Pardridge et coll., 1975).

1/ Description des systèmes de transport.

Le transport des acides aminés à travers les capillaires cérébraux, contrairement à celui des hexoses, comporte plusieurs systèmes de transport. Il est asymétrique et le passage à travers la membrane luminale dans le sens sang-cerveau est différent du passage à travers la membrane abluminale dans le sens cerveau-sang.

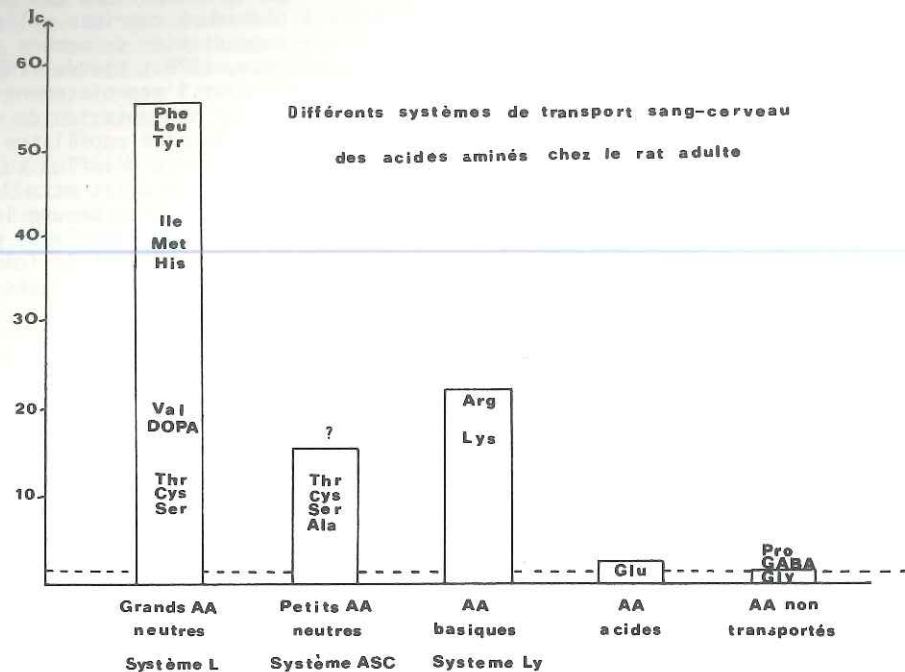


Figure 2. Schéma des différents systèmes de transport des acides aminés à travers le capillaire cérébral, dans le sens sang-cerveau.

a/ *Transport transcapillaire, dans le sens sang-cerveau* (Figure 2). Les premiers résultats d'Oldendorf (1971) ont montré que l'extraction des acides aminés essentiels est plus importante que celle des acides aminés qui peuvent être synthétisés in situ. Les études de Richter et Wainer (1971), Yudilevitch et coll. (1972), Banós et coll. (1973, 1974), Wade et Katzman (1975), Oldendorf et Szabo (1976), ont montré qu'il existait trois systèmes de transport dans la membrane luminale. Un premier système transporte les grands acides aminés neutres et a les mêmes caractéristiques que le système de transport décrit par Christensen et mis en évidence dans un grand nombre de types cellulaires (1979). Un second système transporte les acides aminés basiques et un troisième système transporte les acides aminés acides (acide glutamique, aspartique). Il est de très faible capacité et probablement inhibé aux concentrations plasmatiques habituelles. Sershen et Lajtha (1979) ont suggéré qu'il existait aussi un système de transport des petits acides aminés neutres

(système ASC).

La concentration des acides aminés dans le LCR, probablement proche de la concentration dans le liquide extracellulaire cérébral, est très inférieure à leur concentration dans le plasma sauf pour la glutamine. L'influx des acides aminés suit donc le gradient de concentration et ne nécessite pas d'apport d'énergie.

Le système de transport des grands acides aminés neutres (système L) est quantitativement le plus important ; il transporte en particulier les précurseurs des neurotransmetteurs : tyrosine, tryptophane, DOPA. Les Km des acides aminés transportés sont voisins des concentrations plasmatiques (Pardridge et Oldendorf, 1975). Comme il n'existe qu'un seul transporteur pour un grand nombre d'acides aminés, des phénomènes de compétition se produisent. Pardridge (1977) a ainsi montré que l'influx cérébral d'un acide aminé n'est pas déterminé seulement par sa concentration plasmatique et son affinité pour le transporteur, mais aussi par la concentration plasmatique et l'affinité pour le transporteur des autres acides aminés neutres.

b/ *Transport transcapillaire dans le sens cerveau-sang*. Sershen et Lajtha (1976), Hjelte et coll. (1978) ont montré que les capillaires isolés transportaient les grands acides aminés neutres. Betz et Goldstein (1978), d'autre part, ont observé que ces mêmes préparations transportaient l'acide α -méthylisobutyrique, acide aminé synthétique caractéristique d'un système de transport des petits acides aminés neutres (système A). Hwang et coll. (1983) ont montré qu'il en est de même pour la proline. Il existe donc, dans les capillaires isolés, un système de transport des petits acides aminés neutres qui se trouve probablement situé sur la membrane abluminale et transporte les acides aminés dans le sens cerveau-sang, contre le gradient de concentration. Le sodium est nécessaire et il est probablement transporté avec l'acide aminé. Ce cotransport de sodium dans le sens de son gradient de concentration fournirait l'énergie nécessaire au transport de l'acide aminé dans le sens opposé à son gradient de concentration.

c/ *Transport à travers les plexus choroïdes*. Les systèmes de transport A, ASC et L des acides aminés ont été décrits dans les plexus choroïdes, ainsi qu'un système de transport des acides aminés acides et probablement basiques (Coben et coll., 1971) et du GABA (Snodgrass et Lorenzo, 1973). Certains de ces acides aminés sont transportés dans le sens LCR-sang contre un gradient de concentration. Deux hypothèses ont été proposées pour rendre compte de ce transport actif. Il pourrait se faire par l'intermédiaire de la gammaglutamyltranspeptidase particulièrement active dans les plexus choroïdes (Okonkwo et coll., 1974) ou bien par cotransport de l'acide aminé et du sodium.

Comme pour le glucose, il existe des modifications rapides et des modifications prolongées du transport des acides aminés.

2/ Modifications rapides du transport.

Certaines modifications sont particulières aux acides aminés et résultent du phénomène de compétition de ces acides aminés pour leur transporteur. La vitesse d'influx peut ainsi varier rapidement sous l'influence de facteurs purement nutritionnels, tels le régime ou la concentration d'insuline, qui modifient les concentrations relatives des acides aminés dans le plasma. La concentration cérébrale d'un acide aminé peut ainsi diminuer parce que sa concentration plasmatique diminue ou parce que la concentration plasmatique des acides aminés compétiteurs augmente. Bien que la synthèse protéique soit l'utilisation principale de ces acides aminés, il ne semble pas qu'elle soit physiologiquement affectée par ce type de modifications. En effet, le Km de l'incorporation des acides aminés dans la synthèse protéique est inférieur à la concentration cérébrale en acides aminés libres. En revanche, dans la phénylcétonurie, la concentration plasmatique en phénylalanine est

si élevée qu'elle entraîne, par compétition, une diminution de la pénétration cérébrale des autres acides aminés neutres et de la synthèse protéique, comme l'ont montré Bustany et coll. (1981).

A l'opposé, l'autre utilisation des acides aminés, la synthèse de neurotransmetteurs, est sous la dépendance de ces phénomènes de compétition. Les travaux de Wurtman et Fernstrom (1975) ont en effet montré que la synthèse de sérotonine dépendait du rapport dans le plasma de la concentration du tryptophane à la somme de la concentration des acides aminés compétiteurs : tyrosine, phénylalanine, leucine, isoleucine, valine. Ceci est expliqué par le fait que la tryptophane hydroxylase, première enzyme de la voie de synthèse de la sérotonine, a un Km proche de la concentration cérébrale en tryptophane, qui influe ainsi sur la vitesse de synthèse. Cette concentration elle-même est fonction de l'influx de tryptophane qui, ainsi que nous l'avons vu, dépend à la fois de la concentration plasmatique de l'acide aminé et de celle de ses compétiteurs.

Ce phénomène peut-être jouer un rôle dans l'effet de certains médicaments. Markowitz et Fernstrom (1977) ont, par exemple, remarqué que l'efficacité antihypertensive de l'alphaméthylidopa variait chez le rat, suivant que le repas précédant l'administration du médicament était riche en hydrates de carbone ou en protéines. Il est donc probable que l'alphaméthylidopa pénètre par le transporteur des grands acides aminés neutres et que ceux-ci, par compétition, modifient sa pénétration cérébrale.

3/ Modifications prolongées du transport.

Le transport des acides aminés se modifie au cours du développement (Sershen et Lajtha, 1976 ; Banós et coll., 1978 ; Pardridge et Mietus, 1982 ; Lefauconnier et Trouvé, 1983). On considère souvent que la BHE est incomplète chez l'animal immature. Les différences observées dans le transport de certains métabolites montrent, au contraire, que la sélectivité de leur transport est aussi grande, mais qu'elle est différente (Braun et coll., 1980). Les acides aminés peu ou non transportés chez l'animal adulte (glycine, GABA, acide glutamique) le sont peu chez l'animal immature. Les index de pénétration cérébrale des grands acides aminés neutres sont peu différents chez l'animal adulte et immature ; en revanche, les index de pénétration cérébrale des petits acides aminés neutres transportés par le système ASC sont très supérieurs chez l'animal immature (Lefauconnier et Trouvé, 1983). Les index de pénétration cérébrale des acides aminés basiques décroissent beaucoup au cours du développement (Cornford, 1982).

Dans certaines conditions pathologiques, L'anastomose porto-cave expérimentale est utilisée comme modèle de maladie hépatique humaine. On sait qu'elle s'accompagne d'une élévation des concentrations cérébrales des acides aminés aromatiques. James et coll. (1978) ont montré que cette augmentation n'était pas due à la diminution plasmatique des acides aminés à chaîne latérale (qui sont leurs compétiteurs pour le transport), mais surtout à l'augmentation considérable de l'activité du transporteur des acides aminés neutres. Cette modification d'activité du transport a été confirmée par Zanchin et coll. (1979) et Mans et coll. (1979), mais contestée par Huet et coll. (1981).

Au cours des cirrhoses humaines sans encéphalopathie, le rapport de la concentration des acides aminés dans le LCR à leur concentration dans le plasma est augmenté pour tous les acides aminés. Lorsque l'encéphalopathie apparaît, ce rapport augmente encore davantage pour les acides aminés aromatiques, alors que celui des autres acides aminés reste stable. Ceci est un argument indirect pour l'existence, aussi dans l'encéphalopathie hépatique humaine, d'une augmentation d'activité du transporteur des grands acides aminés neutres (Cangiano et coll. 1981).

Il existe des manifestations neurologiques ou une arriération mentale dans un certain nombre d'anomalies congénitales du transport des acides aminés (Segal, 1976).

On ne sait pas si elles sont dues à des anomalies du transport sang-cerveau des acides aminés comparables à celles qui existent dans le tubule rénal.

TRANSPORT DES ACIDES MONOCARBOXYLIQUES

Les acides monocarboxyliques, dont la longueur de chaîne est supérieure à 4 carbones, pénètrent de façon prédominante par diffusion passive. En revanche, il existe pour les acides à courte chaîne, un système de diffusion facilitée dans les capillaires cérébraux.

1/ Description du système de transport.

a/ Acides pyruvique et lactique. Leur transport est stéréospécifique (Nemoto et Sveringhaus, 1971), saturable (Daniel et coll., 1972) et permet le transport des acides acétique, L-lactique, pyruvique, propionique et butyrique (Oldendorf, 1973). Le Km du transporteur du L-lactate est voisin de la concentration plasmatique (Cremer et coll., 1979).

b/ Corps cétoniques. Ces composés peuvent être utilisés par le cerveau lorsque leur concentration s'élève dans des circonstances physiologiques (allaitement) ou pathologiques (jeûne, diabète). Leur transport sang-cerveau est saturable (Gjedde et Crone, 1975) et stéréospécifique (Moore et coll., 1976). Il semble probable que le transport de ces composés cétoniques se fasse par le même système de transport que celui du lactate et du pyruvate (Cremer et coll., 1976).

Le transport net, mesuré par différence artérioveineuse, d'acide lactique et pyruvique a été trouvé négatif (Daniel et coll., 1972). Ceci indique que l'efflux est supérieur à l'influx et l'on peut supposer que le système de transport est symétrique et sert surtout à éliminer le lactate produit par le métabolisme cérébral. En revanche, le transport net des corps cétoniques est voisin de l'influx (Daniel et coll., 1972). Il n'y aurait donc pas d'efflux. Ces acides sont donc utilisés par le cerveau à une vitesse égale à leur transport qui est ainsi l'étape limitante de leur utilisation métabolique. Il a été suggéré par Cremer et coll. (1976) que le système pourrait fonctionner en échangeant une molécule d'un corps cétonique, transportée du plasma dans le cerveau, contre une molécule de lactate transportée en sens inverse.

2/ Modifications du transport.

Au cours du développement, l'activité de ce système diminue (Moore et coll., 1976 ; Cremer et coll., 1976, 1979). Cette diminution est contemporaine d'une modification du métabolisme énergétique cérébral, le combustible principal étant les corps cétoniques chez l'animal immature alors que c'est le glucose chez l'adulte. Le transport des corps cétoniques augmente après un jeûne prolongé (Gjedde et Crone, 1975). En revanche, après anastomose porto-cave expérimentale, le transport sang-cerveau des acides monocarboxyliques diminue (Sarna et coll., 1979).

AUTRES SYSTÈMES DE TRANSPORT CAPILLAIRE

Il a été également décrit un système de transport pour la *choline* (Diamond, 1971) ; Cornford et coll., 1978) et deux systèmes de transport pour les *précurseurs des acides nucléiques* (Cornford et Oldendorf, 1975). L'un transporte l'adénine et l'autre certains nucléosides puriques (adénosine, guanosine, inosine) et pyrimidiques (uridine). Le système de transport de l'adénosine a aussi été identifié sur des préparations de capillaires isolés (Wu et Phillis, 1982).

En conclusion, la revue des différentes caractéristiques du transport hémato-encéphalique a permis de montrer qu'il existe une grande sélectivité dans la pénétration cérébrale des substrats métaboliques, que - dans un certain nombre de circonstances - l'étape de transport peut avoir un rôle limitant pour l'utilisation de ces substances par le cerveau et enfin, que dans une certaine mesure, les capacités de transport peuvent s'adapter aux besoins métaboliques de ce dernier.

Les lecteurs intéressés par ce sujet pourront trouver des informations complémentaires dans les ouvrages de Rapoport (1976) et Bradbury (1979) et dans les revues générales de Pardridge et Oldendorf (1977) et Lefauconnier et Hauw (sous presse).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BAÑOS G., DANIEL P.M., MOORHOUSE S.R., PRATT O.E. (1973) : The influx of amino-acids into the brain of the rat in vivo : the essential compared with some non-essential amino-acids. Proc. R. Soc. Lond. B., 183, 59-70.
- BAÑOS G., DANIEL P.M., PRATT O.E. (1974) : Saturation of a shared mechanism which transports L-arginine and L-lysine into the brain of the living rat. J. Physiol., 236, 29-41.
- BAÑOS G., DANIEL P.M., PRATT O.E. (1978) : The effect of age upon the entry of some amino-acids into the brain and their incorporation into cerebral proteins. Develop. Med. Child. Neurol., 20, 335-346.
- BARON J.C., LEBRUN-GRANDIE Ph., COLLARD Ph., CROUZEL C., MESTELAN G., BOUSSER M.G. (1982) : Non invasive measurement of blood flow, oxygen consumption and glucose utilization in the same brain regions in man by positron emission tomography : concise communication. J. Nucl. Med., 23, 391-399.
- BERTLER A., FALCK B., OWMAN C., ROSENGREN E. (1966) : The localization of monoaminergic blood-brain barrier mechanisms. Pharmacol. Rev., 18, 369-385.
- BETZ A.L., BOWMAN P.D., GOLDSTEIN G.W. (1983) : Hexose transport in microvascular endothelial cells cultured from bovine retina. Exp. Eye Res., 36, 269-277.
- BETZ A.L., FIRTH J.A., GOLDSTEIN G.W. (1980) : Polarity of the blood-brain barrier: distribution of enzymes between the luminal and antiluminal membranes of brain capillary endothelial cells. Brain Res., 192, 17-28.
- BETZ A.L., GOLDSTEIN G.W. (1978) : Polarity of the blood-brain barrier : neutral amino acid transport into isolated brain capillaries. Science, 202, 225-227.
- BOLWIG T.G., HERTZ M.D. et HOLM-JENSEN J. (1977) : Blood-brain barrier permeability during electroshock seizures in the rat. Eur. J. Clin. Invest., 7, 95-100.
- BRADBURY M. (1979) : The concept of a blood-brain barrier. Wiley et sons.
- BRAUN L.D., CORNFORD E.M., OLDENDORF W.H. (1980) : Newborn rabbit blood-brain barrier is selectively permeable and differs substantially from the adult. J. Neurochem., 34, 147-152.
- BRODIE B.B., HOGBEN C.A.M. (1957) : Some physico-chemical factors in drug action. J. Pharm. Pharmacol., 9, 345-380.
- BUSTANY P., SARGENT T., SAUDUBRAY J.M., HENRY J.F., COMAR D. (1981) : Regional human brain uptake and protein incorporation of ¹⁴C-L-methionine studied in vivo with PET. J. Cereb. Blood. Flow Metab., 1, Suppl.1, S 17-18.
- CANCILLA P.A., DEBAULT L.E. (1983) : Neutral amino acid transport properties of cerebral endothelial cells in vitro. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 42, 191-199.
- CANGIANO C., CASCINO A., FIACCADORI F., RIGGIO O., ROSSI FANELLI F., CAPOCACCIA L. (1981) : Is the blood-brain barrier really intact in portal-systemic encephalopathy ? The Lancet, 1 (8234), 1367.
- CHRISTENSEN H.N. (1979) : Developments in amino acid transport, illustrated for the blood-brain barrier. Biochem. Pharmacol., 28, 1989-1992.
- COBEN L.A., COTLIER E., BEATY C., BECKER B. (1971) : Transport of amino acids by rabbit choroid plexus in vitro. Brain Res., 30, 67-82.
- CORNFORD E.M., BRAUN L.D., OLDENDORF W.H. (1978) : Carrier mediated blood-brain transport of choline and certain choline analogs. J. Neurochem., 30, 299-308.
- CORNFORD E.M., BRAUN L.D., OLDENDORF W.H. (1982) : Developmental modulations of blood-brain barrier permeability as an indicator of changing nutritional requirement in the brain. Pediatr. Res., 16, 324-328.
- CORNFORD E.M., OLDENDORF W.H. (1975) : Independent blood-brain barrier transport systems for nucleic acid precursors. Biochim. Biophys. Acta, 394, 211-219.
- CREMER J.E., BRAUN L., OLDENDORF W.H. (1976) : Changes during development in transport processes of the blood-brain barrier. Biochim. Biophys. Acta, 448, 633-637.
- CREMER J.E., CUNNINGHAM V.J., PARDRIDGE W.M., BRAUN L.D., OLDENDORF W.H. (1979) : Kinetics of blood-brain barrier transport of pyruvate, lactate and glucose in suckling, weanling and adult rats. J. Neurochem., 33, 439-445.
- CREMER J.E., RAY D.E., SARNA G.S., CUNNINGHAM V.J. (1981) : A study of the kinetic behaviour of glucose based on simultaneous estimates of influx and phosphorylation in brain regions of rats in different physiological states. Brain Res., 221, 331-342.
- CRONE C. (1963) : The permeability of capillaries in various organs, as determined by the "indicator diffusion" method. Acta Physiol. Scand., 58, 292-305.
- CRONE C. (1965) : Facilitated transfer of glucose from blood into brain tissue. J. Physiol., 181, 103-113.
- CRONE C., OLESEN S.P. (1982) : Electrical resistance of brain microvascular endothelium. Brain Res., 241, 49-55.
- DANIEL P.M., LOVE E.R., MOORHOUSE S.R., PRATT O.E., WILSON P. (1972) : The movement of ketone bodies, glucose, pyruvate and lactate between the blood and the brain of rats. J. Physiol., 221, 22-23P.
- DANIEL P.M., LOVE E.R., PRATT O.E. (1978) : The effect of age upon the influx of glucose into the brain. J. Physiol., 274, 141-148.

- DELORME P., GAYET I., GRIGNON G. (1975) : Diffusion of horseradish peroxidase perfused through the lateral ventricle of the chick telencephalon. Cell. Tissue Res., 157, 535-540.
- DIAMOND I. (1971) : Choline metabolism in brain. The role of choline transport and the effects of phenobarbital. Arch. Neurol., 24, 333-339.
- DREWES L.D., LIDINSKI W.A. (1980) : Studies of cerebral capillary endothelial membrane. In : "The cerebral microvasculature", Eds EISENBERG H.M. and SUDDITH R.L., Plenum Press, New-York and London, pp 17-27.
- EICHLING J.O., RAICHLER M.E., GRUBB R.L., TER-POGOSSIAN M.P. (1974) : Evidence of the limitations of water as a freely diffusible tracer in brain of the rhesus monkey. Circ. Res., 35, 358-363.
- EISENBERG H.M., SUDDITH R.L. (1979) : Cerebral vessels have the capacity to transport sodium and potassium. Science, 206, 1083-1085.
- GJEDDE A. (1980) : Rapid steady-state analysis of blood-brain glucose transfer in rats. Acta Physiol. Scand., 108, 331-339.
- GJEDDE A. (1981) : High- and low-affinity transport of D-glucose from blood to brain. J. Neurochem., 36, 1463-1471.
- GJEDDE A. (1983) : Modulation of substrate transport to the brain. Acta Neurol. Scand. 67, 3-25.
- GJEDDE A., CRONE C. (1975) : Induction processes in blood-brain transfer of ketone bodies during starvation. Am. J. Physiol., 229, 1165-1169.
- GJEDDE A., CRONE C. (1981) : Blood-brain glucose transfer : repression in chronic hyperglycemia. Science, 214, 456-457.
- HAWKINS R.A., MANS A.M., DAVIS D.W., HIBBARD L.S., LU D.M. (1983) : Glucose availability to individual cerebral structures is correlated to glucose metabolism. J. Neurochem. 40, 179-190.
- HAWKINS R.A., MANS A.M., and BIEBUYCK J.F. (1982) : Amino acid supply to individual cerebral structures in awake and anesthetized rats. Am. J. Physiol. 242, E1-E11.
- HJELLE J.T., BAIRD-LAMBERT J., CARDINALE G., SPECTOR S., UDENFRIEND S. (1978) : Isolated microvessels : the blood-brain barrier in vitro. Proc. Nat. Acad. Sci. US. 75, 4544-4548.
- HUET P.M., POMIER-LAYRARGUES G., DUGUAY L., DU SOUICH P. (1981) : Blood-brain transport of tryptophan and phenylalanine : effect of portocaval shunt in dogs. Am. J. Physiol., 241, G 163-169.
- HWANG S.M., MILLER M., SEGAL S. (1983) : Uptake of (¹⁴C) proline by isolated rat brain capillaries. J. Neurochem. 40, 317-323.
- JAMES J.H., ESCOURROU J., FISHER J.E. (1968) : Blood-brain neutral amino acid transport activity is increased after portocaval anastomosis. Science, 200, 1395-1397.
- KETY S.S. (1957) : The general metabolism of the brain in vivo. In : Metabolism of the nervous system. Ed. RICHTER D., Pergamon Press, London, pp 221-237.
- KOLBER A.R., BAGNELLI C.R., KRIGMAN M.R., HAYWARD J. and MORELL P. (1979) : Transport of sugars into microvessels isolated from rat brain : a model for the blood-brain barrier. J. Neurochem., 33, 419-432.
- KROGH A. (1946) : The active and passive exchanges of inorganic ions through the surfaces of living cells and through living cells and through living membranes generally. Proc. R. Soc. B., 133, 140-200.
- LASSEN N.A., TRAP-JENSEN J., ALEXANDER S.C., OLESEN J. et PAULSON O.B. (1971) : Blood-brain barrier studies in man using the double-indicator method. Am. J. Physiol., 220, 1627-1633.
- LEFAUCONNIER J.M., HAUW J.J. (sous presse) : Barrière hémato-encéphalique. II - Données physiologiques. Rev. Neurol.
- LEFAUCONNIER J.M., TROUVE R. (1983) : Developmental changes in the pattern of amino acid transport at the blood-brain barrier in rats. Develop. Brain Res. 6, 175-182.
- LUND-ANDERSEN H. (1979) : Transport of glucose from blood to brain. Physiol. Rev., 59, 305-352.
- MCCALL A.L., MILLINGTON W.R., WURTMAN J.R. (1982) : Metabolic fuel and amino acid transport into the brain in experimental diabetes mellitus. Proc. Nat. Acad. Sci. US. 79, 5406-5410.
- MCGALE E.H.F., PYE I.F., STONIER C., HUTCHINSON E.C., ABER G.M. (1977) : Studies of the inter-relationship between cerebrospinal fluid and plasma amino acid concentrations in normal individuals. J. Neurochem., 29, 291-297.
- MANS A.M., BIEBUYCK J.F., SAUNDERS S.J., KIRSCH R., HAWKINS R.A. (1979) : Tryptophan transport across the blood-brain barrier during acute hepatic failure. J. Neurochem. 33, 409-418.
- MARKOVITZ D.C., FERNSTROM J.D. (1977) : Diet and uptake of aldomet by the brain : competition with natural large neutral amino acids. Science, 197, 1014-1015.
- MOORE T.J., LIONE A.P., REGEN D.M., TARPLEY H.L., RAINES P.L. (1971) : Brain glucose metabolism in the newborn rat. Am. J. Physiol., 221, 1746-1753.
- MOORE T.J., LIONE A.P., SUGDEN M.C., REGEN M. (1976) : β -hydroxybutyrate transport in rat brain : developmental and dietary modulations. Am. J. Physiol. 230, 619-630.
- NEMOTO E.M., SVERINGHAUS J.W. (1971) : The stereospecific influx permeability of rat blood-brain barrier (BBB) to lactic acid (LA). Clin. Res. 19, 146.
- OHNO K., PETTIGREW K.D., RAPOPORT S.I. (1978) : Lower limit of cerebrovascular permeability to non-electrolytes in the conscious rat. Am. J. Physiol., 235, H 299-307.
- OKONKWO P.O., ORLOWSKI M., GREEN J.P. (1974) : Enzymes of the γ -glutamyl cycle in the choroid plexus and brain. J. Neurochem., 22, 1503-1508.
- OLDENDORF W.H. (1970) : Measurement of brain uptake of radiolabeled substances using a tritiated water internal standard. Brain Res., 24, 372-376.

- OLDENDORF W.H. (1971) : Brain uptake of radiolabeled amino-acids, amines and hexoses after arterial injection. Am. J. Physiol., 221, 1629-1639.
- OLDENDORF W.H. (1973) : Carrier-mediated blood-brain barrier transport of short-chain monocarboxylic organic acids. Am. J. Physiol., 224, 1450-1453.
- OLDENDORF W.H., SZABO J. (1976) : Amino acid assignment to one of three blood-brain barrier amino acid carriers. Am. J. Physiol., 230, 94-98.
- PARDRIDGE W.M. (1977) : Kinetics of competitive inhibition of neutral amino acid transport across the blood-brain barrier. J. Neurochem. 28, 103-108.
- PARDRIDGE W.M. (1979) : The role of blood-brain barrier transport of tryptophan and other neutral amino acids in the regulation of substrate-limited pathways of brain amino acid metabolism. J. Neurol. Transm. Suppl. 15, 43-54.
- PARDRIDGE W.M., CONNOR J.D., CRAWFORD I.L. (1975) : Permeability changes in the blood-brain barrier : causes and consequences. C.R.C. Crit. Rev. Toxicol., 3, 159-199.
- PARDRIDGE W.M., MIETUS L.J. (1982) : Kinetics of neutral amino-acid transport through the blood-brain barrier of the newborn rabbit. J. Neurochem. 38, 955-962.
- PARDRIDGE W.M., OLDENDORF W.H. (1975) : Kinetic analysis of blood-brain barrier transport of amino acids. Biochim. Biophys. Acta, 401, 128-136.
- PARDRIDGE W.M., OLDENDORF W.H. (1977) : Transport of metabolic substrate through the blood-brain barrier. J. Neurochem. 28, 5-12.
- PHELPS M.E., HUANG S.C., HOFFMAN E.J., SELIN C., SOKOLOFF L., KUHL D.E. (1979) : Tomographic measurement of local cerebral glucose metabolic rate in humans with (F-18) 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose : validation of method. Ann. Neurol., 6, 371-388.
- REESE T.S., KARNOVSKY M.J. (1967) : Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. J. Cell. Biol., 34, 207-217.
- RICHTER J.J., WAINER A. (1971) : Evidence for separate systems for the transport of neutral and basic amino acids across the blood-brain barrier. J. Neurochem., 18, 613-620.
- RAPOPORT S.I. (1976) : Blood-brain barrier in physiology and medicine. Raven Press, New-York.
- SARNA G.S., BRADBURY M.W.B., CREMER J.E., LAI J.C.K., TEAL H.M. (1979) : Brain metabolism and specific transport at the blood-brain barrier after portocaval anastomosis in the rat. Brain Res., 160, 69-83.
- SEGAL S. (1976) : Disorders of renal amino acid transport. New Engl. J. Med., 294, 1044-1051.
- SHERSHEN H., LAJTHA A. (1976) : Capillary transport of amino acid in the developing brain. Exp. Neurol., 53, 465-474.
- SERSHEN H., LAJTHA A. (1979) : Inhibition pattern by analogs indicates the presence of ten or more transport systems for amino acids in brain cells. J. Neurochem., 32, 719-726.
- SNOODGRASS S.R., LORENZO A.V. (1973) : Transport of GABA from the perfused ventricular system of the cat. J. Neurochem., 20, 761-769.
- SOKOLOFF L., REIVICH M., KENNEDY C., DES ROSIERS M.H., PATLAK C.S., PETTIGREW K.D., SAKURADA O., SHINOHARA M. (1977) : The (¹⁴C) deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization : theory, procedure and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. J. Neurochem., 28, 897-916.
- SOKOLOFF L. (1981) : Relationships among local functional activity, energy metabolism and blood flow in the central nervous system. Fed. Proc. 40, 2311-2316.
- VAN DEURS B. (1980) : Structural aspects of brain barriers, with special reference to the permeability of the cerebral endothelium and choroidal epithelium. Internat. Rev. Cytology, 65, 117-192.
- WEISS H.R., BUCHWEITZ E., MURTHA T.J., AULETTA M. (1982). Quantitative regional determination of morphometric indices of the total and perfused capillary network in the rat brain. Circ. Res., 51, 494-503.
- WU P.H., PHILLIS J.W. (1982) : Uptake of adenosine by isolated rat brain capillaries. J. Neurochem., 38, 687-690.
- YUDILEVITCH D.L., DE ROSE N., SEPULVEDA F.U. (1972) : Facilitated transport of amino acids through the blood-brain barrier of the dog studied in a single capillary circulation. Brain Res., 44, 459-578.
- WURTMAN R.J., FERNSTROM J.D. (1975) : Control of brain monoamine synthesis by diet and plasma amino acids, Am. J. Clin. Nutr., 28, 638-647.
- ZANCHIN G., RIGOTTI P., DUSSINI N., VASSANELLI P., BATTISTIN L. (1979) : Cerebral amino acid levels and uptake in rats after portocaval anastomosis. II Regional studies in vivo. J. Neurosci. Res. 4, 301-310.

Substrate transport through the blood-brain barrier

J. M. Lefauconnier

INSERM - Unité de Neurotoxicologie (U. 26)
200, rue du Faubourg Saint Denis - 75475 Paris cedex 10 - France -

Nine carrier transport systems have been described for blood-brain transport of metabolic substrates : one for hexoses, four for amino acids, one for monocarboxylic acids, one for choline and two for nucleic acid precursors. Brain-blood active transport systems have also been described. Hemato-encephalic transport may play an important role in the regulation of the utilization of metabolic substrates by brain. Both short-term (functional alterations of cerebral activity) and long-term (development, long lasting nutritional alterations, several chronic pathological states) regulation has been described.

Effet du Naftidrofuryl sur l'oedème cérébral vasogénique chez le lapin

N. Avéret, M. Rigoulet, F. Cohadon

Université de Bordeaux II, 33076 Bordeaux Cedex, France

Reçu le 18 mai 1983

RESUME

Ce travail se propose d'étudier l'effet du Naftidrofuryl sur un modèle animal d'oedème cérébral vasogénique. L'oedème vasogénique induit une inhibition incompétitive de la succinodéshydrogénase. L'administration intraveineuse de la drogue accroît la vitesse maximale de désydrogénation du succinate et la constante de Michaelis chez les animaux sains et chez les animaux porteurs d'oedème. Dans ce dernier cas, un traitement au Naftidrofuryl deux heures avant le sacrifice des animaux permet de restaurer totalement la capacité respiratoire des mitochondries isolées oxydant le succinate. Cet effet, spécifique de la succinodéshydrogénase, pourrait permettre de lever l'inhibition fonctionnelle de cette étape du cycle de Krebs et jouerait ainsi un rôle métabolique intéressant.

MOTS CLEFS

Naftidrofuryl, oedème cérébral vasogénique, succinodéshydrogénase, métabolisme oxydatif mitochondrial.

INTRODUCTION

L'étude biochimique de l'oedème cérébral vasogénique met en évidence des perturbations importantes du métabolisme oxydatif liées en particulier à une inhibition de l'activité succinodéshydrogénase. Or, il a été montré que le Naftidrofuryl a, dans certaines conditions, la propriété d'augmenter l'activité de cette enzyme. Ce travail se propose donc d'examiner dans quelle mesure l'utilisation du Naftidrofuryl dans l'oedème vasogénique pourrait restaurer le niveau d'activité de la succinodéshydrogénase et par voie de conséquence améliorer le métabolisme oxydatif.

Le Naftidrofuryl [(naphthyl-1')-3(tétrahydrofurfuryl-2'')-2 propionate de N-diéthyl-amino-2''' ethyle, oxalate acide] (NF) est un agent spasmolytique vasodilatateur utilisé lors du traitement d'ischémies cérébrales ou périphériques (Fontaine et coll., 1968). Les études effectuées sur différents modèles animaux montrent clairement que l'administration de Naftidrofuryl entraîne une augmentation du métabolisme oxydatif tissulaire (Meynaud et coll., 1973a). Ces mêmes auteurs (Meynaud et coll., 1973b) ont mis en évidence *in vitro* un effet activateur du Naftidrofuryl sur la succinodéshydrogénase qui pourrait expliquer l'accroissement du métabolisme énergétique observé *in vivo*.

L'œdème cérébral se définit comme un enrichissement en eau du parenchyme, responsable de l'augmentation du volume tissulaire. Une telle inflation liquidienne constitue une caractéristique histopathologique majeure de nombreux cas d'accidents cérébraux aigus.

Le modèle expérimental induit par lésion cryogénique initialement décrit par Klatzo (1967) représente l'un des meilleurs exemples de la forme vasogénique de cette pathologie. Dans ce cas l'évènement initial est une rupture de la barrière hémocéphalique qui permet le passage dans l'espace extracellulaire de molécules qui en sont normalement exclues et entraîneront par osmose l'œdème de cet espace extracellulaire. Les observations en microscopie électronique (Torack et coll., 1959 ; Foroglou et coll., 1972) montrent, après quelques heures, un œdème intracellulaire probablement responsable, en dehors de son effet de masse, de détériorations fonctionnelles concomitantes. La genèse et le développement de cette phase intracellulaire de l'œdème a fait l'objet des travaux de notre équipe. L'étude biochimique de l'œdème cérébral vasogénique chez le lapin nous a permis de décrire des pertes d'activité affectant la plupart des systèmes enzymatiques liés aux membranes, directement ou indirectement impliqués dans le maintien des équilibres ioniques cellulaires : l'Adénosine-Triphosphatase activée par le sodium et le potassium ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase) de la membrane plasmique et certains composants des oxydations phosphorylantes mitochondriales tels que l'Adénosine-Triphosphate-Synthétase (ATP-synthétase) et la chaîne des cytochromes (Rigoulet et coll., 1979). L'examen du métabolisme énergétique mitochondrial, lors de l'œdème, montre une limitation fonctionnelle du cycle de Krebs par l'étape enzymatique catalysée par la succinodéshydrogénase (Rigoulet et coll., 1983).

Ainsi, le développement d'un œdème vasogénique est associé à des altérations métaboliques, plus particulièrement à une diminution de l'activité succinodéshydrogénase. Cette dernière constatation nous a conduit au présent travail qui se proposera d'examiner des possibilités de restauration de l'activité succinodéshydrogénase, par le Naftidrofuryl, et plus généralement l'action de cette drogue sur le phénomène œdémateux.

MATERIEL ET METHODES

Induction de l'œdème

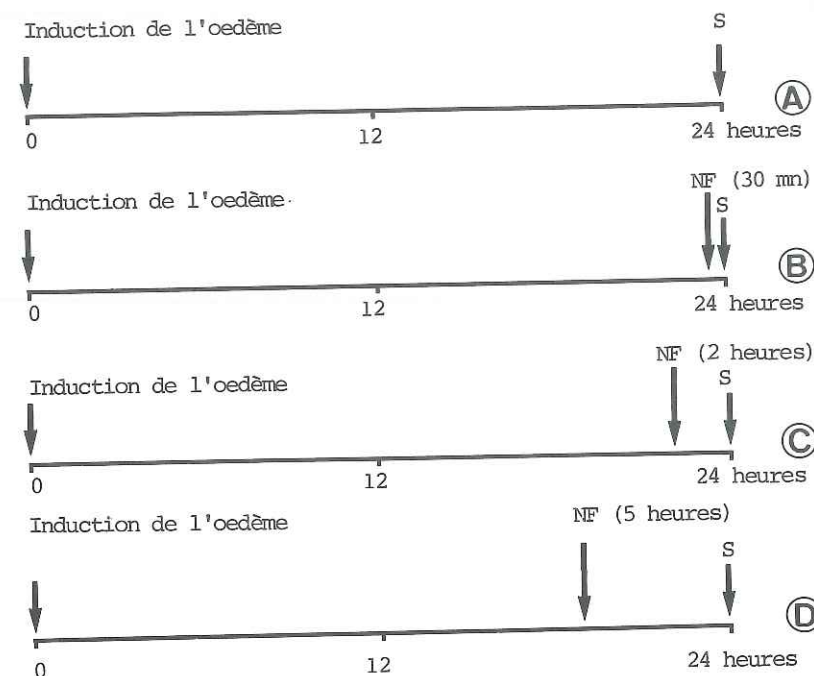
Cent sept lapins (Croisés Garenne) d'un poids moyen de 2,5 kg ont été anesthésiés par injection intraveineuse de Chlorhydrate de Kétamine (10 mg/kg). Selon la technique décrite par Klatzo (1967) une lésion cryogénique a été provoquée au niveau des régions frontale, pariétale, pariéto-occipitale et temporale, en quatre sites distincts par application d'une cryode à azote liquide (diamètre : 4 mm) pendant 35 secondes, au contact de l'os intact. La Figure 1 définit les différentes séquences horaires régissant les injections intraveineuses de Naftidrofuryl (0,5 mg de Naftidrofuryl dilué dans 2,5 ml de sérum physiologique par kg). Le moment du sacrifice, intervenant par arrêt cardiaque, a été fixé à la 24ème heure après l'agression par le froid, lorsque l'œdème intracellulaire est déjà nettement développé.

Quantification de l'œdème

Le paramètre le plus représentatif de l'évolution de l'œdème est la teneur en eau de l'hémisphère cérébral considéré qui peut être estimée par la différence entre le poids du tissu frais et celui, résiduel, obtenu par déshydratation pendant 24 heures à l'étuve à 120°C. Afin de suivre son enrichissement en eau, nous considérerons le rapport teneur en eau/poids sec d'un tissu donné par l'expression :

$$r = \frac{\text{Poids du tissu frais} - \text{Poids du tissu déshydraté}}{\text{Poids du tissu déshydraté}}$$

Figure 1. Modalités d'injection du Naftidrofuryl



NF, injection de Naftidrofuryl ; S, sacrifice de l'animal

- (A) animaux porteurs d'œdème non traités
- (B) animaux porteurs d'œdème traités 30 minutes
- (C) animaux porteurs d'œdème traités 2 heures
- (D) animaux porteurs d'œdème traités 5 heures

Fractionnement cellulaire

Les hémisphères cérébraux sont rapidement prélevés et déposés dans une solution contenant 0,25 M saccharose, 10 mM tris(hydroxyméthyl)-amino-méthane (Tris) et 0,5 mM d'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) à pH 7,4 et à 4°C. Chaque hémisphère, découpé en petits fragments, est lavé trois fois. Après homogénéisation, la suspension est centrifugée à 4°C pendant 3 minutes à 2000 g. La mesure de l'activité $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase est effectuée sur le culot appelé "fraction C" ainsi obtenu. Les mitochondries sont isolées à partir du surnageant selon la méthode décrite par Clark et Nicklas (1970). Aucune différence significative n'affecte le rendement d'obtention de ces organelles provenant d'hémisphères sains ou œdématisés.

Contrôle de la vitesse de respiration mitochondriale par la méthode polarographique

Une électrode de Clark, composée d'une cathode en platine et une anode en argent, baignant dans une solution de chlorure de potassium à demi-saturée, permet de connaître la quantité d'oxygène contenue dans un mélange réactionnel, puisque l'oxygène, diffusant à travers un film de téflon, est réduit au niveau de la cathode polarisée à - 0,8 volt. Dans les conditions expérimentales retenues, une stricte proportionnalité relie la concentration en oxygène du milieu réactionnel et le signal observé.

En pratique, 2 mg de protéines mitochondriales sont mis en suspension dans 3 ml de la solution suivante : 0,20 M saccharose, 20 mM Tris, 15 mM chlorure de potassium (KCl), 0,3 % de serum albumine de boeuf et 0,3 mM EDTA à pH 7,2 et 25°C. L'addition de substrat respiratoire, tel que le succinate, induit une vitesse de consommation de l'oxygène dite respiratoire contrôlée, ou état 4 selon la terminologie introduite par Chance et Williams (1955). L'addition d'adénosine diphosphate (ADP) et de phosphate (Pi) provoque une accélération de la respiration (état 3) dans la mesure où la synthèse de l'adénosine triphosphate (ATP) est couplée à l'activité respiratoire. Une fois l'ADP consommé, il y a retour à l'état 4.

Le rapport des vitesses de consommation de l'oxygène : celle de l'état 3 et celle de l'état 4 reflète la capacité de couplage lors des phosphorylations oxydatives mitochondriales et définit le contrôle respiratoire (C.R.).

Teneur en cytochromes mesurée par spectrophotométrie différentielle

Une suspension mitochondriale est versée à part égale (5 mg protéines dans 2,5 ml) dans les deux cuves d'un spectrophotomètre (Perkin Elmer modèle 356 double faisceau, double longueur d'onde). Le dithionite, agent réducteur est ajouté dans la cuve échantillon et l'eau oxygénée dans la cuve de référence : le spectre réduit contre oxydé permet d'estimer la concentration en cytochromes par différence d'absorbance de la suspension à deux longueurs d'onde. Les coefficients d'extinction molaire utilisés sont ceux retenus par Clark et Nicklas (1970).

Activité succinodéshydrogénase (E C 1. 3 99.1.)

La succinodéshydrogénase a été mesurée selon la technique proposée par Singer et collaborateurs (1966) à laquelle nous avons apporté de légères modifications. Les mitochondries (1 mg protéines) sont incubées pendant 10 minutes dans le milieu suivant : 0,12 M phosphate de potassium, 3,75 mM de cyanure de potassium et 0,625 mg de roténone, pH 7,4 contenant 3 mg de Triton X 100 par mg de protéines. Par la suite, des concentrations variables de succinate de sodium et 0,225 mM de 2,6-dichlorophénol indophénol (DCIP) sont ajoutés. La réaction débute lors de l'addition de 1,6 mM de phénazine méthosulfate (PMS). La réduction du DCIP par la PMS est enregistrée à 37°C et 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre SP8-100 Philips (coefficient d'extinction molaire du DCIP : $\epsilon_{600} = 21000$ unités de densité optique $M^{-1} \cdot cm^{-1}$).

Autres techniques utilisées

Les activités $Na^+ - K^+ - ATPase$ et $ATPase$ mitochondriale ont été mesurées comme décrit précédemment (Rigoulet et coll., 1979). La concentration en protéines a été déterminée par la méthode du biuret.

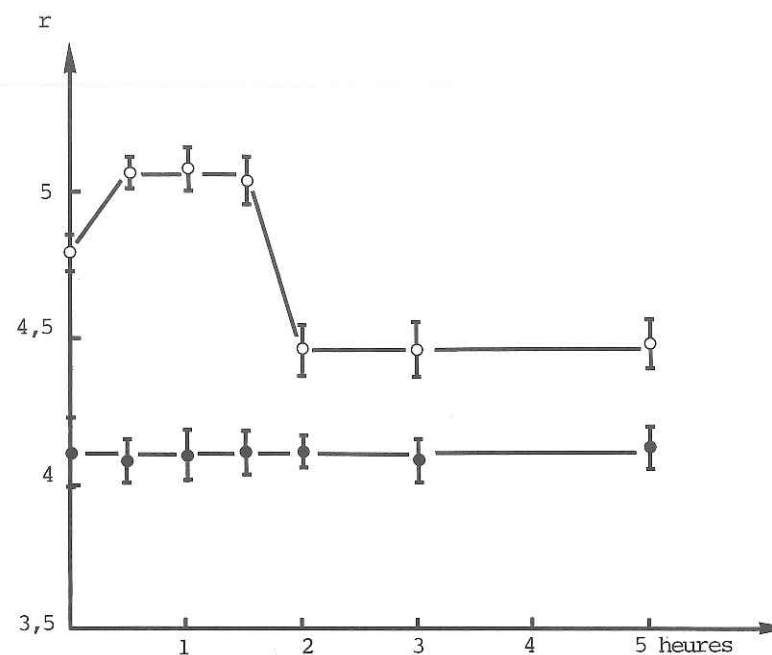
RESULTATS

Effet du Naftidrofuryl sur la teneur en eau du tissu

Le sacrifice des animaux 24 h après la lésion cryogénique et 30 mn à 5 h après l'injection du Naftidrofuryl a permis d'observer une variation biphasique de la teneur en eau du tissu. La Figure 2 montre que le traitement ne modifie pas la valeur de r des cerveaux sains ($r = 4,1$); par contre lors de l'oedème, l'administration du Naftidrofuryl fait passer l'eau tissulaire de $r = 4,8$ dans un hémis-

phère oedématisé non traité (+ 11,7 %) à 5,05 après 30 minutes de traitement (+ 12,4 %), ce niveau élevé persiste pendant 1 heure. Deux heures après l'injection r se stabilise à une valeur inférieure ($r = 4,45$) à celle caractérisant l'oedème 24 heures non traité ($r = 4,80$) (+ 10,85 % au lieu de + 11,70 %). Ceci correspond à une résorption significative et durable de la quantité d'eau tissulaire.

Figure 2. Effet du Naftidrofuryl sur la teneur en eau du tissu cérébral.



$$r = \frac{\text{Poids du tissu frais} - \text{Poids du tissu déshydraté}}{\text{Poids du tissu déshydraté}}$$

Le temps 0 est le moment de l'injection du Naftidrofuryl. Les animaux sont sacrifiés 30 minutes, 1 heure, 1 heure 30, 2 heures, 3 heures ou 5 heures après injection de la drogue (voir Fig. 1). Chaque point est la moyenne de cinq expériences.

○ — Hémisphères oedémateux après traitement au Naftidrofuryl

● — Hémisphères d'animaux sains traités dans les mêmes conditions que les animaux porteurs d'oedème

Effet du Naftidrofuryl sur le métabolisme énergétique cellulaire

Rico et collaborateurs (1974), utilisant des molécules marquées, ont pu constater que le Naftidrofuryl atteignait sa concentration maximale dans le tissu cérébral deux heures après son injection. Nous avons donc choisi d'analyser l'effet de la drogue sur le métabolisme énergétique cellulaire selon cette modalité de traitement (Fig. 1c).

Les déséquilibres ioniques caractéristiques de la phase intracellulaire de l'œdème peuvent être à priori la conséquence d'au moins deux types de perturbations : a) une altération fonctionnelle de la $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase qui constituerait une cause directe ; b) une diminution importante de la production d'énergie, entraînant secondairement une inhibition de l'activité $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase par défaut d'ATP : en effet, le fonctionnement de cette enzyme nécessite, dans le cerveau sain, environ 70 % de l'énergie cellulaire disponible sous forme chimique (Whittam, 1962).

Nous avons montré antérieurement que ces deux phénomènes : altérations directe de la $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase et diminution des oxydations phosphorylantes sont observés conjointement lors d'un œdème vasogénique. L'effet du Naftidrofuryl sur ces deux processus doit être examiné.

L'administration de Naftidrofuryl à des animaux sains et porteurs d'œdème ne modifie pas l'activité $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase mesurée sur la "fraction C" (Tabl. I). Ce produit ne semble pas avoir d'effet direct sur la pompe ionique plasmique, alors même qu'il favorise la résorption de l'eau tissulaire.

Tableau I. Activité $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase après traitement au Naftidrofuryl

"Fraction C" provenant d'animaux	Nombre d'animaux	Activité $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase sensible à l'ouabaïne $\text{nmol Pi} \cdot \text{mn}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{prot.}$
Sains	8	155 ± 14
Sains traités 2 h	6	150 ± 15
Après 24 h d'œdème	5	104 ± 10
Après 24 h d'œdème traités 2 h	6	107 ± 12

1 mg de protéines de la "fraction C" est ajouté dans un milieu contenant : 120 mM de chlorure de sodium, 30 mM de chlorure de potassium, 20 mM de Tris, 5 mM EDTA et 3 mM de chlorure de magnésium à pH 7,4 et 37°C. L'addition de 3 mM d'ATP induit la réaction, arrêtée à des temps déterminés par 0,3 M d'acide trichloracétique. L'apparition du phosphate minéral est déterminée selon la méthode de Summer (1944). L'ATPase sensible à l'ouabaïne est définie comme la différence entre les activités mesurées en absence et en présence de 1 mM de cet inhibiteur.

L'enregistrement in vitro de la consommation d'oxygène par des mitochondries isolées constitue le meilleur test fonctionnel de l'ensemble des systèmes multienzymes impliqués dans les oxydations phosphorylantes. L'utilisation de différents substrats respiratoires permet de localiser à l'intérieur de telle ou telle séquence réactionnelle la cible d'un activateur ou d'un inhibiteur.

Le tableau III montre que :

La vitesse de respiration contrôlée (état 4), pour un substrat considéré, est constante quelle que soit l'origine des mitochondries (tissu sain ou œdématisé, traité ou non traité).

L'œdème provoque une diminution importante de la capacité respiratoire maximale des mitochondries (état 3), plus sévère sur succinate que sur glutamate + malate.

Lorsque les animaux porteurs d'œdème sont traités, la consommation d'oxygène à l'état 3 induite par le succinate est restaurée totalement et spécifiquement. Aucun changement n'est observé dans les mitochondries provenant de cerveaux sains, aucune amélioration n'est décelable quand le substrat utilisé est le glutamate + malate.

Tableau II. Effet du Naftidrofuryl sur l'activité respiratoire des mitochondries isolées.

Substrats respiratoires	Mitochondries isolées de cerveaux	Vitesse respiratoire (natomes $0 \cdot \text{mn}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{prot.}$)		Contrôle respiratoire Etat 3/Etat 4
		Etat 4	Etat 3	
Succinate (en présence de 10 µg de roténone)	Sains (12)	42 ± 5	198 ± 15	4,7
	Sains traités 2 h (11)	42 ± 6	194 ± 12	4,6
	Oedématisés (11)	44 ± 6	132 ± 10	3,0
	Oedématisés traités 2 h (11)	38 ± 6	196 ± 20	5,2
Glutamate + Malate	Sains (6)	20 ± 3	102 ± 10	5,0
	Sains traités 2 h (6)	22 ± 4	108 ± 11	4,9
	Oedématisés (5)	21 ± 3	76 ± 9	3,6
	Oedématisés traités 2 h (6)	20 ± 3	75 ± 9	3,8

Le nombre d'expériences effectuées est consigné entre parenthèse dans la deuxième colonne.

Les mitochondries (2 mg de protéines) sont mises en suspension dans une solution contenant : 0,20 M Saccharose, 20 mM Tris, 15 mM KCl, 5 mM PiK, 0,3 % de sérum albumine de boeuf et 0,3 mM EDTA à pH 7,2 et 25°C.

L'état 4 est enregistré après addition de 3 mM de substrat respiratoire : soit succinate en présence de 10 µg de roténone, soit glutamate et malate.

L'état 3 est obtenu en ajoutant 0,13 mM d'ADP.

Ainsi, cette première approche du métabolisme oxydatif mitochondrial permet de situer l'une des cibles du Naftidrofuryl, lors de l'œdème cérébral, sur le complexe de la succino-oxydase. Cependant, une investigation plus détaillée de chaque étape enzymatique participant à l'oxydation du succinate par l'oxygène est nécessaire pour identifier le niveau d'action précis de la drogue.

La teneur en cytochromes des mitochondries isolées n'est pas modifiée de façon significative après 24 heures d'œdème ou par traitement au Naftidrofuryl (Tabl. III).

L'activité ATPasique mitochondriale, fortement altérée par l'œdème, reste insensible à l'administration de ce produit (Tabl. III).

Tableau III. Teneur en cytochromes et activité ATPasique des mitochondries isolées

Mitochondries isolées de cerveaux	Teneur en cytochromes (nmoles.mg ⁻¹ prot.)			ATPase sensible à l'oligomycine (nmoles Pi.mn ⁻¹ .mg ⁻¹ prot.)
	a + a ₃	b	c + c ₁	
Sains (12)	0,24 ± 0,04	0,30 ± 0,07	0,36 ± 0,08	132 ± 11
Sains traités 2 h (7)	0,22 ± 0,06	0,32 ± 0,08	0,39 ± 0,09	130 ± 10
Oedématisés (7)	0,20 ± 0,05	0,26 ± 0,07	0,32 ± 0,08	64 ± 5
Oedématisés traités 2 h (8)	0,21 ± 0,06	0,28 ± 0,06	0,34 ± 0,07	66 ± 7

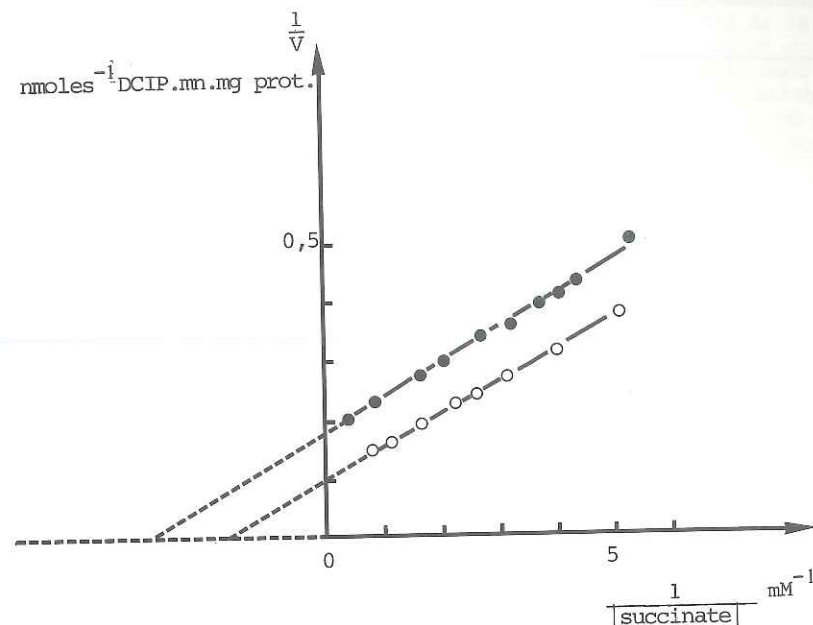
Le nombre d'expériences effectuées est consigné entre parenthèses dans la première colonne.

Une suspension mitochondriale (10 mg) est versée à part égale dans les deux cuves d'un spectrophomètre. L'oxydation maximale est obtenue par addition de 10 µl d'eau oxygénée à 10 % dans l'une des cuves, la réduction est maximale après addition de dithionite de sodium. Le spectre de différence permet de quantifier les cytochromes de la chaîne respiratoire.

Activité ATPasique mitochondriale : les mitochondries (1 mg de protéines) sont mises en suspension dans 1 ml du milieu suivant : 0,2 M KCl, 2 mM de chlorure de magnésium, 10 mM Tris pH 8,4 à 30°C. La réaction débute par addition de 5 mM d'ATP. Les protéines sont précipitées à des temps déterminés par l'acide trichloracétique 0,1 M.

L'ATPase sensible à l'oligomycine est définie comme la différence entre les activités mesurées en absence et en présence de 6,25 µg de cet inhibiteur.

Figure 3. Représentation de Lineaweaver et Burk de l'activité succinodéshydrogénase



Les mitochondries (1mg protéines) sont incubées pendant 10 minutes dans le milieu suivant : 3,75 mM de cyanure de potassium ; 0,625 mg de roténone et 0,12 M de phosphate de potassium contenant 3 mg de Triton X 100/mg de protéines. Puis, des concentrations variables de succinate de sodium et 0,225 mM de DCIP sont ajoutés. La réaction est induite par addition de 1,6 mM de PMS.

- — ● hémisphère oedémateux non traité
- — ○ hémisphère sain non traité

La Figure 3 illustre le type de modification de l'activité succinodéshydrogénase mesurée sur les mitochondries isolées de cerveaux sain ou oedématisé. Cette représentation en double inverse indique que les deux paramètres cinétiques : vitesse maximale (V_m) et constante de Michaelis (K_M) varient de façon telle que le rapport V_m/K_M demeure à peu près constant (Tabl. IV). Ce tableau montre que le Naftidrofuryl induit, *in vivo*, une augmentation du V_m à la fois sur l'enzyme de l'animal sain et de l'animal porteur d'œdème (respectivement 22 % et 76 %). Dans ces deux cas, le V_m atteint alors une valeur identique et supérieure à celle obtenue lors des expériences contrôles. On observe également, après traitement, un accroissement du K_M de la succinodéshydrogénase des cerveaux sain et malade, caractérisant une perte d'affinité de l'enzyme pour son substrat.

Tableau IV. Action du traitement au Naftidrofuryl sur l'activité succinodéshydrogénase

Mitochondries isolées de cerveaux	Nombre d'animaux	Activité succinodéshydrogénase	
		V_m (nmoles DCIP.mn ⁻¹ .mg ⁻¹ prot)	K_M (mM)
Sains	9	110 ± 12	0,41 ± 0,1
Sains traités 2 h	10	132 ± 10	0,80 ± 0,15
Oedématiés	10	76 ± 10	0,30 ± 0,08
Oedématiés traités 2 h	9	139 ± 11	0,76 ± 0,16

Les paramètres cinétiques donnés dans ce tableau représentent les moyennes obtenues à partir de courbes semblables à celles présentées dans la Figure 3.

DISCUSSION

L'effet du Naftidrofuryl sur la quantité d'eau tissulaire peut être interprété dans le cadre de l'action pharmacologique connue de la drogue sur le lit vasculaire cérébral : toute vasodilatation dans un foyer entraîne dans un premier temps une exagération de la fuite liquidienne vasogénique et dans un deuxième temps une accélération de la résorption. L'effet net, jugé à distance du début du traitement, est évidemment favorable.

Les travaux de Meynaud et collaborateurs (1973b) mettent en évidence un effet spécifique *in vitro* du Naftidrofuryl sur l'activité succinodéshydrogénase. Notre étude, réalisée *in vivo* sur des animaux sains et porteurs d'oedème semble indiquer que cette enzyme, du point de vue métabolisme énergétique, est la seule cible de ce produit. Cependant, si dans ces deux types d'expériences le Naftidrofuryl a un effet activateur, la caractérisation cinétique de son mécanisme d'action paraît différente *in vitro* et *in vivo*. En toute rigueur, une analyse cinétique plus détaillée serait nécessaire pour préciser la nature exacte de cette activation. Toutefois, l'intérêt thérapeutique de cette substance réside essentiellement dans les possibilités d'une amélioration de l'ensemble du métabolisme oxydatif par l'accélération de la succinodéshydrogénase.

Lors d'un processus général mettant en jeu plusieurs réactions catalysées, une étape enzymatique peut être considérée comme limitante lorsque l'augmentation ou la diminution de la concentration en cette enzyme provoque l'augmentation ou la diminution de la vitesse de l'ensemble du processus dans lequel est impliquée l'enzyme (Rognstad, 1979). Dans le cerveau sain, le traitement n'a aucune conséquence mesurable sur les oxydations phosphorylantes mitochondriales (Tabl. II). Ceci indique l'absence de limitation fonctionnelle du cycle de Krebs au niveau de l'oxydation du succinate. Par contre, lors de l'oedème, la stimulation de

l'activité succinodéshydrogénase par le Naftidrofuryl retient sur l'ensemble du métabolisme oxydatif, puisque l'activité succino-oxydase est ainsi totalement restaurée (Tabl. II). Ce résultat confirme l'existence d'un contrôle de la production d'énergie mitochondriale par la succinodéshydrogénase (Rigoulet et coll., 1983). La restauration de cette activité par le Naftidrofuryl léverait donc une telle contrainte. Cette action de la drogue paraît très spécifique.

Parmi toutes les altérations métaboliques provoquées par l'oedème : $Na^+ - K^+ - ATPase$, $ATPase$ mitochondriale, succinodéshydrogénase, seule cette dernière est restaurée par l'action *in vivo* du Naftidrofuryl.

Dans des conditions physiologiques, des cycles transmembranaires sont capables de court-circuiter l'étape catalysée par la succinodéshydrogénase (Borst, 1963 ; Dennis et Clark, 1978 ; Berry, 1980). Dans certains états pathologiques, l'hypothèse de leur intervention a été proposée (Dennis et Clark, 1978 ; Eboli et Galeotti, 1981). Dans le cas de l'oedème vasogénique, la production d'énergie des mitochondries isolées oxydant le glutamate et le malate est essentiellement assurée par la navette aspartate-malate (Rigoulet et coll., 1983). L'absence d'action du Naftidrofuryl sur la vitesse de respiration des mitochondries en présence de glutamate + malate pourrait être ainsi expliquée et confirmée, d'autre part, la spécificité du produit pour la succinodéshydrogénase elle-même.

CONCLUSION

Ce travail met en évidence deux types d'action du Naftidrofuryl sur l'oedème cérébral : 1) la drogue modifie la teneur en eau du tissu qui définit le degré de l'oedème. Dans un premier temps, l'oedème est transitoirement augmenté (+ 12, 4 %). Après 2 heures, (temps déjà repéré du pic de concentration cérébrale de la drogue) l'oedème est significativement et durablement diminué (+ 10,8 %). Ces effets peuvent être interprétés comme liés à l'action vasodilatatrice du Naftidrofuryl. 2) La drogue augmente de façon importante et spécifique l'activité de la succinodéshydrogénase, enzyme clef du cycle de Krebs. Cette augmentation apparaît chez l'animal sain aussi bien que chez l'animal porteur d'oedème. Chez l'animal sain cette augmentation n'a aucun effet stimulant sur la respiration alors que dans l'oedème la respiration mitochondriale se trouve restaurée à son niveau normal. Cette deuxième action est contemporaine du début de la résorption de l'oedème. La drogue apparaît donc capable de lever l'inhibition de la succinodéshydrogénase caractéristique de l'oedème. L'intérêt de cette action sur le bilan énergétique global n'est peut être pas décisif puisqu'il semble que dans ces conditions pathologiques des cycles vicariants interviennent pour sauvegarder en partie la production d'énergie. Cependant, la réactivation du cycle de Krebs permet bien entendu un rendement énergétique très supérieur et d'autre part permet la formation de nombreux intermédiaires métaboliques dépendants de ce cycle et indispensables aux synthèses de la cellule.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Berry, M.N. (1980) : The Function of Energy-dependent Redox Reactions in Cell Metabolism. *F.E.B.S. Letters*. 117, 106-120.
- Borst, P. (1963) : Hydrogen Transport and Transport . In *Fonctionnelle und Morphologische Organization der Zelle*, ed. Karlson, P., Berlin, Springer-Verlag, pp 137-162.
- Chance, B. et Williams, G.R. (1955) : Respiratory Enzymes in Oxidative Phosphorylation. Part 3, The Steady State. *J. Biol. Chem.* 217, 409-427.
- Clark, J.B. et Nicklas, W.J. (1970) : The Metabolism of Rat Brain Mitochondria : Preparation and Characterization. *J. Biol. Chem.* 245, 4724-4731.

Dennis, S.C. et Clark, J.B. (1978) : The Regulation of Glutamate Metabolism by Tricarboxylic Acid-cycle Activity in Rat Brain Mitochondria. Biochem. J. 172, 155-162.

Eboli, M.L. et Galeotti, T. (1981) : Evidence of the Occurrence of the Malate-citrate Shuttle in Intact Ehrlich Ascites Tumor Cells. Biochim. Biophys. Acta. 638, 75-79.

Fontaine, L., Grand, M., Chabert, J., Szarvasi, E. et Bayssat, M. (1968) : Pharmacologie Générale d'une Substance Nouvelle Vasodilatatrice : le Naftidrofuryl. Chim. Thérap. 6, 463-469.

Foroglou, Ch., Dolivo, M., Zander, E. et Foroglou, G. (1972) : Etude sur l'Oedème Cérébral en Microscopie Electronique. Brain Res. 38, 267-278.

Klatzo, I. (1967) : Neuropathological Aspects of Brain Edema. J. Neuropath. Exp. Neurol. 26, 1-14.

Meynaud, A., Grand, M. et Fontaine, L. (1973a) : Modifications Circulatoires et Métaboliques Produites par le Naftidrofuryl dans le Domaine Cérébral. In L'Ischémie Cérébrale dans le Territoire Carotidien, eds Géraud J., Lazorthes G. et Bès A., Toulouse, pp 475-478.

Meynaud, A., Grand, M. et Fontaine, L. (1973b) : Effect of Naftidrofuryl Upon Energy Metabolism of the Brain. Arzneimittelforsch. 23, 1431-1436.

Rico, A.G., Godfrain, J.C., Burgat-Sacaze, M., Bernard, P., Braun, J.P., Fontaine, L. et Belleville, L. (1974) : Contribution à l'Etude du Métabolisme du Naftidrofuryl à l'Aide du Carbone Radio-actif. Dosage par Scintillation Liquide après Administration à des Rats. Autoradiographie de Souris. Thérapie. 29, 281-293.

Rigoulet, M., Guérin, B., Cohadon, F. et Vandendriessche, M. (1979) : Unilateral Brain Injury in the Rabbit : Reversible and Irreversible Damage of the Membranal ATPases. J. Neurochem. 32, 535-541.

Rigoulet, M., Avéret, N. et Cohadon, F. (1983) : Energy Producing Machinery in Vasogenic Brain Edema. Neurochem. Pathol. vol. 1, 43-57.

Rognstad, R. (1979) : Rate-limiting Step in Metabolic Pathways. J. Biol. Chem. 254, 1875-1878.

Singer, T.P., Rocca, E. et Kearney, E.B. (1966) : Fumarate Reductase Succinate and NADH Dehydrogenase of Yeast : Properties and Biosynthesis. In Flavins and Flavoproteins, ed Slater, E.C., Elsevier Publishing Company, Amsterdam-London-New-York, pp 391-426.

Summer, J.B. (1944) : A method for Colorimetric Determination of Phosphorus. Science N.Y. 100, 413-414.

Torack, R., Terry, R.D. et Zimmermann, H.M. (1959) : The Fine Structure of Cerebral Fluid Accumulation. I - Swelling Secondary to Cold Injury. Am. J. Path. 35, 1135-1147.

Wheeler, K.P., Walker, J.A. et Barker, D.M. (1975) : Lipid Requirement of the Membrane Sodium-Plus-Potassium Ion-dependent Adenosine Triphosphatase System. Biochem. J. 146, 713-722.

Whittam, R. (1962) : The Dependence of the Respiration of Brain Cortex on Active Cation Transport. Biochemistry. 82, 205-212.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce aux crédits alloués par le Centre National de la Recherche Scientifique (ERA 843) et l'Université de Bordeaux II. Les auteurs remercient le Laboratoire Oberval qui leur a gracieusement fourni le Naftidrofuryl.

Effect of Naftidrofuryl on vasogenic brain edema in the rabbit N. Avéret, M. Rigoulet, F. Cohadon

N Avéret, M Rigoulet and F Cohadon
Université de Bordeaux II, 33076 Bordeaux Cedex, France

The present study has been designed to test Naftidrofuryl effect on an animal model of vasogenic brain edema. The effect of Naftidrofuryl on water/dry weight ratio (quantitative evaluation of edema per se) follows a biphasic course leading to an enhancement of edema during the first 90 min after injection, afterwards followed by a decrease in edema. This result is in keeping with the well documented action of this vasodilator agent on cerebral circulation.

Vasogenic brain edema induces an uncompetitive inhibition of succinate-dehydrogenase activity. Intravenous administration of Naftidrofuryl increases V_m and K_M of this enzyme activity both in normal and edematous brain. Thus in edematous animals treated two hours before sacrifice, the succinate-dehydrogenase is more effective than in non treated normal animals and this better efficiency is apparent at mitochondrial respiratory activity level. This effect specific of succinate-dehydrogenase could contribute to restoration of Krebs cycle function and play an important metabolic role.

Appréciation de l'effet du mannitol par la tomosphygmographie cérébral ultrasonore

M. Parini*, J. M. Lepetit**, M. Dumas***, P. Tapie**

* Service de Réanimation Médicale (Pr R. Gay), CHU Dupuytren, 87031 Limoges Cédex, France

** Service d'EEG-échographie (Dr P Tapie), CHU Dupuytren, 87031 Limoges Cédex, France

*** Service de Neurologie (Pr M Dumas), CHU Dupuytren, 87031 Limoges Cédex, France

Reçu le 2 juin 1983

RESUME

L'utilisation du Mannitol en tant qu'agent osmotique est classique. Son mode d'action suppose une soustraction liquidienne en zone cérébrale saine (barrière hémato-encéphalique intacte). Ceci autorise une amélioration du débit sanguin cérébral. La visualisation des effets du Mannitol est difficile en dehors de méthodes indirectes et globales (isotopes, mesure de la pression intra-crânienne). La TSCU réalise un enregistrement du pouls cérébral par zones de 1 cm de profondeur, du cortex au troisième ventricule. Des index pulsométriques (IP) sont ainsi définis. Cinq malades (trois tumeurs cérébrales, deux ramollissements ischémiques, en phase oedémateuse) ont été enregistrés avant l'administration de Mannitol (1 g.kg^{-1} en dix minutes, IV) puis après 30 minutes, une heure et 36 heures. La représentation des IP montre l'efficacité du produit, confirmée par les mouvements de l'écho A (structures médianes). L'effet "rebond" du produit est confirmé.

MOTS CLEFS

Mannitol, ultrasons, tomosphygmographie, exploration fonctionnelle cérébrale.

INTRODUCTION

L'oedème cérébral est dangereux car il entraîne une augmentation du volume cérébral à l'intérieur de l'espace clos qu'est la boîte crânienne. Ceci entraîne progressivement une augmentation de la pression intra-crânienne (PIC). Dans ces situations, le Mannitol joue un rôle décisif. En déshydratant le tissu sain, il permet de "faire de la place" au processus compressif, ce qui améliore la condition circulatoire cérébrale. On gagne ainsi du temps pour effectuer un geste étiologique. Le mode d'action d'un produit osmotique suppose une soustraction liquidienne en zone cérébrale à barrière hémato-encéphalique (BHE) saine (Rottenberg, 1977). La BHE joue là un rôle de membrane semi perméable. L'eau intracellulaire passe dans le secteur vasculaire en suivant le gradient osmotique imposé par le Mannitol.

L'amélioration supposée des conditions circulatoires cérébrales est difficile à apprécier. Seules des méthodes indirectes ou globales en rendent compte (mesure de PIC, isotopes ...). Pour apprécier la dynamique circulatoire intra-cérébrale lors de l'administration de Mannitol, des enregistrements tomosphygmographiques ont été réalisés chez cinq patients.

MATERIEL ET METHODES

Cinq patients ont été enregistrés. Les caractéristiques de cet effectif sont regroupées dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques de la population étudiée (n = 5)

	Déviation écho A avant mannitol
1 - Mr DEC., 32 ans, sténose carotidienne droite, hyperlipémie, ramollissement sylvien droit	5 mm par la droite
2 - Mr BEL., 67 ans, sténose carotidienne droite ramollissement sylvien droit	5 mm par la droite
3 - Mr DEB., 76 ans, métastase pariéto-occipitale gauche, cancer de vessie	4 mm par la gauche
4 - Mr DAU., 68 ans, métastase frontale gauche, cancer du colon	6 mm par la gauche
5 - Mmr PRA., 71 ans, métastase frontale gauche, cancer du rein	4 mm par la gauche

Le principe de la tomosphygmographie cérébrale ultrasonore (TSCU) est d'enregistrer le pouls cérébral à des profondeurs successives, centimètre par centimètre, du cortex vers le troisième ventricule (Lepetit, 1976) (figure 1). La détection du pouls cérébral se fait au moyen d'une sonde à ultrasons émettrice-réceptrice fonctionnant en régime pulsé. La sonde est placée en position supra-auriculaire, perpendiculaire au plan sagittal du crâne. Un dispositif émetteur engendre les trains d'impulsions excitatrices ; un dispositif amplificateur et correcteur de gain recueille le signal. Le gain est augmenté suivant la profondeur de la zone explorée pour compenser l'atténuation des échos par les tissus. Un dispositif extrait la modulation des échos par la poussée systolique. La surface réfléchissante est actuellement non déterminée. Un filtre permet la restitution de la modulation à partir des valeurs échantillonnées à la fréquence de répétition des émissions ultrasonores. Le prototype actuellement en fonction est en cours de perfectionnement (informatisation et automatisations). Chez le sujet normal, l'enregistrement TSCU montre une symétrie, zone par zone, d'un hémisphère par rapport à l'autre (figure 2).

La quantification du signal recueilli se fait en moyennant l'amplitude du "pulsogramme" sur environ une minute d'enregistrement. On obtient ainsi un chiffre qui représente un index pulsométrique (IP), ceci pour chaque zone. Les zones explorées sont :

- cm 3 + 4 : cortico-sous-corticale,
- cm 3 + 4 + 5 : sylvienne superficielle,
- cm 5 + 6 + 7 : sylvienne profonde,
- cm 3 → 7 : sylvienne totale,
- cm 8 + 9 : vertébro-basilaire,
- cm 3 → 9 : pulsativité hémisphérique totale.

Une gamme de couleurs chaudes et froides, par rapport à une couleur de référence attribuée au chiffre normal pour chaque zone, permet une représentation visuelle imagée. Ne sont représentées ici que les variations des index sous forme de gra-

phiques. Les valeurs des index pulsométriques ont été obtenues en regroupant les hémisphères lésés d'une part et non lésés d'autre part.

ZONES
EXPLORÉES
EN
T.S.C.U.

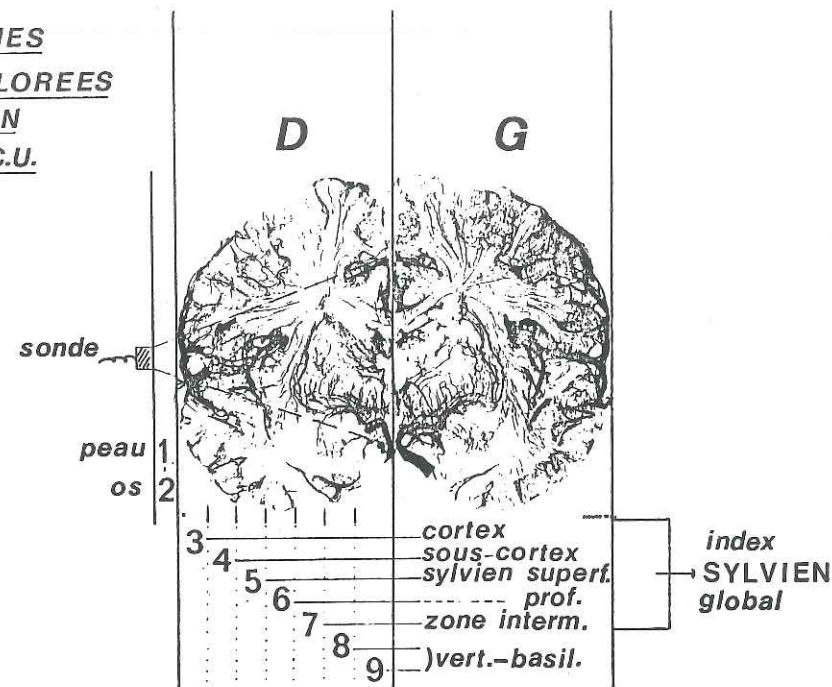


Figure 1 : Représentation schématique des zones cérébrales explorées par la sonde à ultrasons. Celle-ci est placée en position supra-auriculaire perpendiculaire au plan sagittal du cerveau. Les chiffres représentent les centimètres successivement scrutés de la surface (peau) à la profondeur (structures médianes).

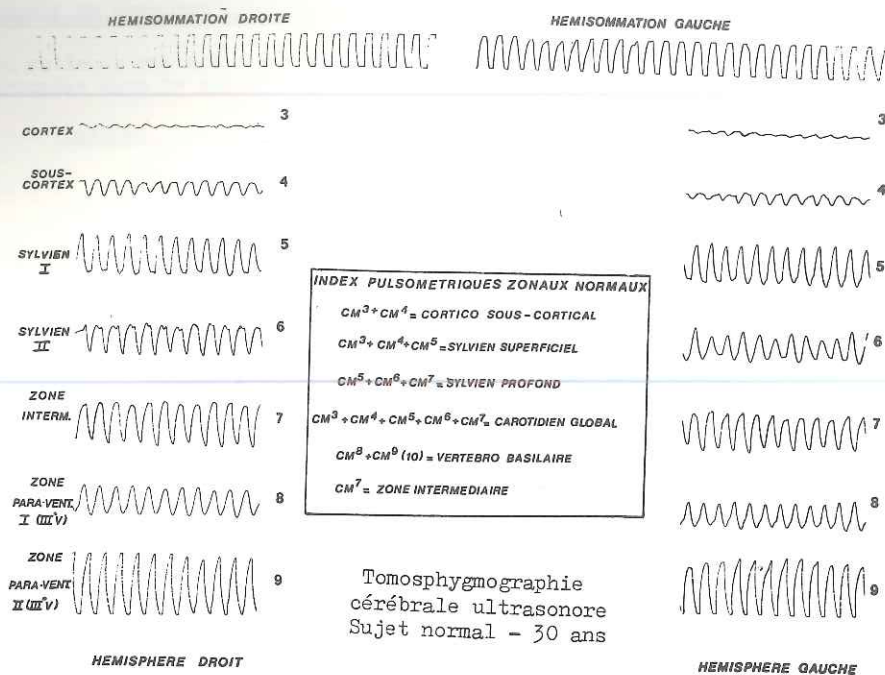


Figure 2 : Représentation d'un enregistrement TSCU chez un sujet normal.
Hémisommation : pulsativité hémisphérique totale.

Les patients ont été enregistrés avant Mannitol, puis 25 minutes, 60 minutes, 36 heures après Mannitol. La dose administrée a été de un gramme par kilo de poids corporel en vingt minutes, par voie intra-veineuse. Parallèlement, une mesure de l'écho A a été faite lors de chaque enregistrement TSCU. Les patients étaient en position horizontale, au repos. Tous étaient conscients et en respiration spontanée. Il n'y a pas eu de modification des fonctions vitales.

Les chiffres obtenus sont exprimés ± 2 SEM (standard error mean). L'effectif est trop faible pour une recherche statistique utile.

RESULTATS :

En figure 3, est représentée la pulsativité hémisphérique totale. En figure 4, est représentée la pulsativité sylvienne totale et le mouvement observé des structures médianes (écho A). On voit que les IP des hémisphères lésés s'améliorent dans un premier temps à la 25ème minute puis s'infléchissent à nouveau pour atteindre des valeurs proches de leur valeur de départ à la 60ème minute. Dans le même temps, se produit une image en miroir du côté de l'hémisphère non lésé dont les IP sont plus hauts. La déviation de l'écho A régresse parallèlement à l'amélioration des IP du côté lésé. Elle augmente lors de la baisse des IP du côté lésé.

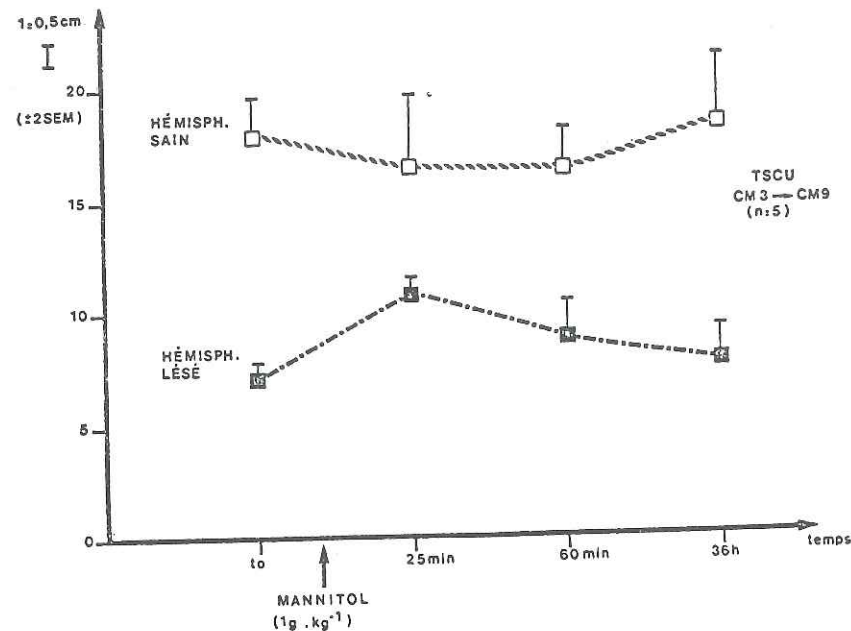


Figure 3 : Index pulsométriques hémisphériques (cm 3 à cm 9) avant et après mannitol, côté lésé et non lésé.

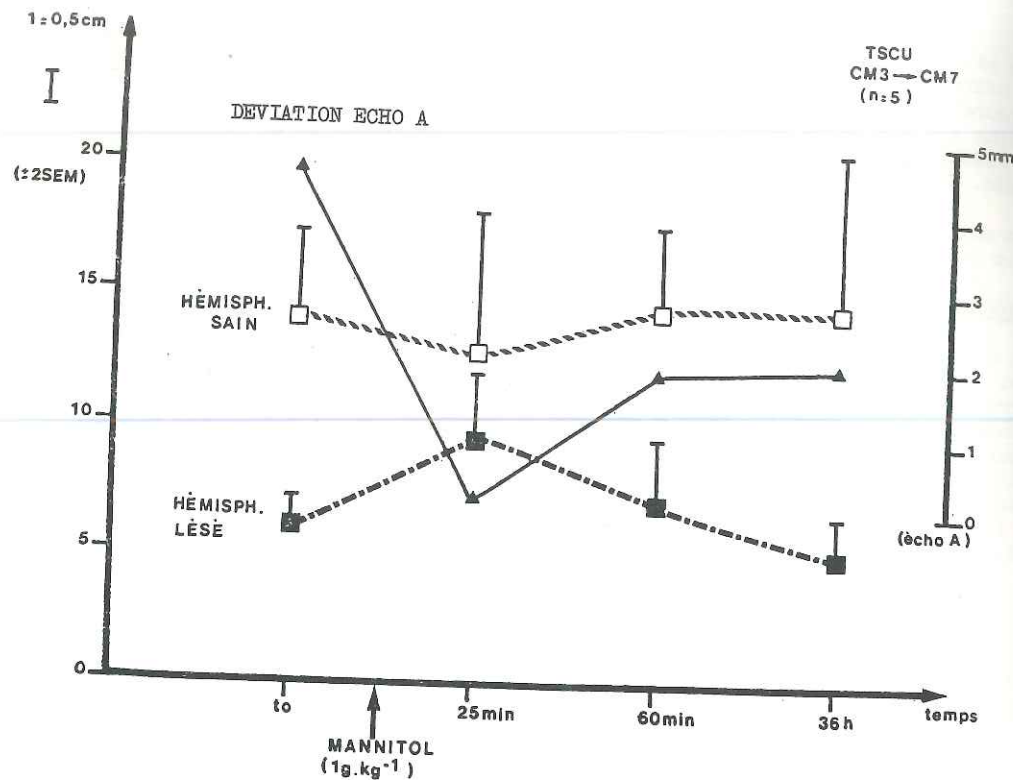


Figure 4: Index pulsométriques sylviens (cm 3 à cm 7) avant et après mannitol, côté lésé et non lésé. Représentation conjointe des mouvements de l'écho A.

DISCUSSION

Le pouls cérébral offre des renseignements utilisables pour le clinicien. En effet, sa qualité dépend de facteurs à la fois hémodynamiques, vasculaires et tissulaires. La détection ultrasonore du pouls cérébral remonte aux débuts de l'échographie (Leksell, 1955). Elle a été confirmée par différents auteurs mais l'exploitation clinique n'a pas été réalisée. J M Lepetit et Coll. ont progressivement développé et amélioré la captation du pouls cérébral par ultrasons et l'ont appliqué à la pratique clinique.

Les index pulsométriques (IP) représentent une "qualité" du pouls. Cette "qualité" intègre des données locales concernant l'environnement d'un vaisseau, sa paroi, son contenu. Elle est en relation étroite avec toute pathologie d'un ou plusieurs de ces facteurs. Notre expérience clinique de tous les jours montre que le malade va d'autant mieux que ses IP tendent vers la normale. Cette normale a été définie, zone par zone, sur la base de l'exploration de 141 sujets sains (Lepetit, 1983).

L'effet du Mannitol peut être apprécié par la TSCU. Dans le groupe exploré, les IP de l'hémisphère non lésé sont supérieurs à ceux de l'hémisphère lésé, à tous moments. L'augmentation des IP du côté lésé se fait en même temps que se produit une diminution des IP du côté présumé sain. Elle est concomitante d'un retour de l'écho A en position médiane.

L'hypothèse d'action du Mannitol est de déshydrater le tissu sain pour "faire de la place" au tissu oedémateux. Ceci améliore les conditions circulatoires cérébrales (Rottenberg, 1977). Cette hypothèse explique les mouvements des IP que l'on constate. Le recentrage de l'écho A témoignerait alors de l'existence de zones tissulaires à BHE intacte au sein de la zone d'oedème. Elles participeraient au processus d'amélioration de la perfusion sanguine locale. La baisse secondaire des IP de l'hémisphère lésé se produit simultanément avec un déplacement des structures médianes. Ceci peut correspondre à un effet "rebond" du Mannitol. La facilité de circulation qu'a entraîné le produit dans un premier temps par soustraction liquidienne des tissus sains, disparaît dans un second temps avec probablement un mouvement d'eau inverse, du secteur vasculaire au secteur cellulaire. L'importance clinique de ce phénomène n'est pas négligeable (Rottenberg, 1977) et se trouve confirmée ici.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Leksell L. (1955) : Echo-encephalography. *Acta Chir. Scand.* 110, 301-315
- Lepetit J.M., Chanchole S., Dany A., Ravon R., Bokor J., Pefferkorn J.P. (1976) : Nouvelle technique d'exploration fonctionnelle cérébrale : le captage centimétrique ultrasonore de la pulsativité cérébrale. *Rev. EEG Neurophysiol.* 6, 400-407
- Lepetit J.M., Parini M., Dumas M., Tapie P., Lemoine J. (1983) : La tomosphygmographie cérébrale ultrasonore (TSCU) : application chez 141 sujets sains. Non publié.
- Rottenberg D.A., Hurwitz B.J., Posner J.B. (1977) : The effect of oral glycerol on intraventricular pressure in man. *Neurology* 27, 600-608

Evaluation of mannitol action by ultrasonic cerebral tomosphygmography

M. Parini, J. M. Lepetit, M. Dumas, P. Tapie

* Service de Réanimation Médicale (Pr R Gay), CHU Dupuytren, 87031 Limoges Cédex, France

** Service d'EEG-échographie (Dr P Tapie), CHU Dupuytren, 87031 Limoges Cédex, France

*** Service de Neurologie (Pr M Dumas), CHU Dupuytren, 87031 Limoges Cédex, France

The use of mannitol as an osmotic agent is classical. It works removing brain water from healthy areas (intact blood - brain - barrier), improving cerebral blood flow. A visualisation of the mannitol effects is difficult; only global means are used (isotopes, intracranial pressure recording...). UCTS records cerebral pulsatility by one centimeter large areas, from the cortex to the third ventricle. By this way are pulsometric indexes (PI) collected. Five patients (three with brain tumor, two with stroke) were screened before an intravenous administration of mannitol, and 30 minutes, one hour and 36 hours later. The PI show the efficacy of mannitol. The "rebound" effect of the mannitol is documented.

KEY WORDS

Mannitol, ultrasounds, tomosphygmography, brain functional investigation.

Variations des débits sanguins cérébraux après anastomose extra-crânienne: possibilité d'une prévision du gain hémodynamique

B. L. Philippon, F. Buisson

Centre de Médecine Nucléaire (Service du Pr M. BERGER), BP Lyon-Montchat, 69394 LYON Cédex 03, France

Reçu le 28 sept 1983

RESUME

Des mesures des Débits Sanguins Cérébraux régionaux ont été réalisées sur 33 patients ischémiques, avant et après anastomose extra-intracrânienne unilatérale. La méthode utilisée est l'inhalation de Xénon 133 sous une gamma caméra. Les résultats obtenus peuvent être corrélés avec le degré de fonctionnement (ou de non fonctionnement) des suppléances sanguines à partir de l'hémisphère non opéré.

MOTS CLEFS

Débit Sanguin Cérébral, anastomose extra-intracrânienne, suppléances

INTRODUCTION

La chirurgie de revascularisation par anastomose extra-intracrânienne (AEIC) est l'un des traitements possibles dans les ischémies cérébrales, en particulier celles causées par des lésions inaccessibles à l'endartériectomie carotidienne. L'efficacité à terme de cette intervention est d'ailleurs discutée (Déruy, 1983) et fait l'objet d'une étude multicentrique internationale, sous l'égide du "National Institute of Health" américain.

Pour le seul domaine des variations hémodynamiques cérébrales produites par l'intervention, il existe d'assez nombreuses études. Les résultats en sont peu concluants. Les premiers travaux de Schmiedeck (1976) ont été obtenus avec l'injection intra-artérielle de Xénon 133. Les patients justiciables d'une AEIC présentant des lésions oblitérantes du territoire carotidien intracrânien, les mesures pré et post opératoires des Débits Sanguins Cérébraux (DSC) ne peuvent se faire de façon comparable: injection dans la carotide interne en pré-opératoire, montrant l'étendue du territoire oblitéré; injection par l'externe en post-opératoire, dévoilant le seul territoire anastomosé à partir de la circulation superficielle. Il est ainsi impossible de quantifier la variation hémodynamique réelle. L'effet des suppléances par le polygone de Willis ou par les anastomoses pie-mériennes notamment n'est pas déterminé.

La méthode de mesure des DSC par inhalation de Xénon 133, développée par Obrist (1975) peut donc ici être préférée. Les résultats publiés actuellement sont cependant caractérisés par une assez grande dispersion, avec des augmentations et des diminutions des DSC. Aucun des auteurs (Laurent 1979, Meyer 1982, Halsey 1982,

De Weerd 1982) n'obtient de résultats aisément interprétables, ni en fonction de l'état clinique, ni même de la logique de l'hémodynamique cérébrale.

Le travail ici entrepris postule que l'interprétation des modifications pré/post-opératoires des DSC dans les AEIC ne peut se faire qu'en tenant compte du rôle joué par les suppléances interhémisphériques. Dans ce travail préalable, seules les variations de DSC suivant l'intervention seront envisagées. Seuls les critères hémodynamiques seront pris en compte, sans regard sur les données cliniques : l'objectif est d'abord de prouver que les résultats des mesures de DSC obéissent à une logique interne.

PATIENTS ET METHODE

L'étude a porté sur 33 patients, 30 hommes et 3 femmes, ayant tous effectué un ou plusieurs accidents ischémiques cérébraux. Le degré de gravité de ces accidents est très variable : 23 % d'accidents ischémiques transitoires (régression totale en moins de 24 h) mais 39 % d'ischémies de type non régressif. L'âge moyen des patients est de 54 ± 10 ans (moyenne et écart-type). Les mesures des DSC pré-opératoires ont toutes été effectuées en dehors de la phase aiguë de l'accident ischémique, soit au moins 1 semaine après. Tous les patients sélectionnés possédaient les signes cliniques d'une ischémie cérébrale unilatérale, ou dominante sur l'hémisphère opéré. Ils ont tous fait l'objet d'examen (s) angiographique (s), dont les résultats étaient décisifs pour l'indication opératoire. Les deuxième mesures des DSC post-opératoires étaient faites en moyenne une semaine après l'intervention et, au plus, 15 jours après la première mesure.

La méthode de mesure des DSC utilisée a été précédemment décrite (Philippon 1980, 1981). Elle repose sur l'inhalation brève (1,5 mn en circuit fermé) de Xénon 133 sous une gamma caméra. Les courbes cérébrales sont enregistrées à partir de l'ouverture du circuit spirométrique et pendant 3,5 mn. Les calculs des DSC sont faits par déconvolution des courbes cérébrales par la courbe de concentration artérielle. Cette dernière est obtenue à partir de la courbe de concentration radioactive dans l'air expiré (Obrist 1975). Les calculs des DSC sont faits selon un modèle de clearance monoexponentiel, assimilable à l'index de pente initiale de Risberg (1975). L'utilisation d'une gamma caméra avec un collimateur spécial, de haute efficacité, permet de réaliser des images dynamiques, où la délimitation des zones d'ischémie est facile.

Les paramètres pris en compte dans cette étude sont, pour les valeurs pré-opératoires : le DSC hémisphérique de l'hémisphère opéré (\bar{D}_1), le DSC régional de la zone la plus ischémisée sur cet hémisphère (\bar{D}_{1-}), le DSC hémisphérique de l'hémisphère controlatéral (\bar{D}_{01}), le rapport $H = \bar{D}_{01} / \bar{D}_1$ des deux hémisphères.

En post-opératoire, on a appelé Δ le pourcentage de variation hémisphérique du côté opéré, c'est-à-dire

$$\Delta = 100 \frac{\bar{D}_2 - \bar{D}_1}{\bar{D}_1}$$

avec \bar{D}_2 , débit hémisphérique post-opératoire.

De même, on appelle δ le pourcentage de variation de la zone la plus ischémisée, soit

$$\delta = 100 \frac{\bar{D}_2^- - \bar{D}_1^-}{\bar{D}_1^-}$$

Toutes les mesures de DSC sont faites avec la mesure simultanée de la pCO_2 par en-

registrement capnographique. Les mesures pré et post-opératoires montrant des variations de pCO_2 excédant $\pm 5\%$ ont été rejetées de la série.

RESULTATS

Le tableau I présente les résultats moyens des mesures de DSC pré et post-opératoires.

Tableau I. DSC avant et après Anastomose Extra-Intracrânienne

	Pré-opératoire	Post-opératoire
Hémisphère opéré	$30,9 \pm 6,2$	$32,2 \pm 7$
Hémisphère opposé	$36,1 \pm 5,2$	$36,2 \pm 4,5$
Zône la plus ischémisée	$25,7 \pm 6,1$	$28,2 \pm 5,5$

(DSC en ml/mn/100 g, 33 sujets)

Les valeurs moyennes sont donc peu différentes avant et après l'intervention. Seule est significative l'augmentation des régions d'ischémie, au sens du test de Wilcoxon. Les situations individuelles sont cependant très variables : dans les 19 augmentations des DSC hémisphériques du côté opéré, on relève des variations allant jusqu'à + 64 % ; dans les 14 diminutions ou invariances, aucune ne dépasse 29 %. Dans le sous-groupe des patients à DSC initial, côté opéré (\bar{D}_1) supérieur à 35 ml/mn/100 g, on constate 100 % de diminutions post-opératoires. Inversement, 13 des 14 malades à \bar{D}_1 inférieur à 30 ml/mn/100 g voient leur DSC augmenter après l'intervention.

Ces remarques conduisent à corréler numériquement le pourcentage de variation Δ avec les valeurs initiales \bar{D}_1 et, éventuellement, le rapport des deux hémisphères H.

Le tableau II montre les résultats pour les valeurs hémisphériques des calculs de corrélations simples et partielles entre les quantités définies plus haut Δ , \bar{D}_1 et H.

Tableau II. Coefficients de corrélations simples et partielles pour les valeurs hémisphériques des DSC

	Corrélations simples		Corrélations partielles (*)	
	\bar{D}_1	H	\bar{D}_1	H
Δ	- 0,63	+ 0,608	- 0,365	+ 0,362
α	< 0,01	< 0,01	< 0,05	< 0,05

(*) par exemple entre Δ et \bar{D}_1 à H constante

La validité des corrélations partielles autorise un calcul de régression multiparamétrique entre ces 3 variables. On obtient :

$$\Delta (\%) = 6,2 - 1,4 \bar{D}_1 + 37,4 H \quad R^2 = 0,48 \quad (1)$$

relation prouvant que le gain hémodynamique est d'autant plus élevé que le DSC (\bar{D}_1) du côté opéré était bas avant l'intervention et que, par ailleurs, le rapport entre les DSC des 2 hémisphères (H) était défavorable à cet hémisphère. Cet effet

est évidemment à attribuer au fonctionnement des suppléances interhémisphériques.

Des calculs similaires sont réalisables sur la variation (δ) des débits des zones d'ischémie. Les résultats figurent dans le tableau III.

Tableau III. Corrélations entre δ , \bar{D}_1 et H

	Corrélations simples		Corrélations partielles	
	\bar{D}_1	H	\bar{D}_1	H
δ	- 0,666	+ 0,513	- 0,556	+ 0,291
α	< 0,01	< 0,01	< 0,01	> 0,10 (n.s)

Le pourcentage de variation du DSC de la zone d'ischémie est donc en relation inverse avec le DSC initial, \bar{D}_1 , de cette zone, comme pour les valeurs hémisphériques. Par contre, le calcul de corrélations partielles montre que cette variation est sans rapport avec le DSC de l'hémisphère controlatéral.

La figure 1 présente un exemple de résultats individuels avant et après AEIC et compare la variation Δ mesurée avec celle calculable à partir des seules valeurs initiales par la formule 1. Sur l'ensemble des mesures, le coefficient de corrélation entre valeurs mesurées et valeurs prédites par la formule 1 est de 0,69 ($r = \sqrt{R^2}$).

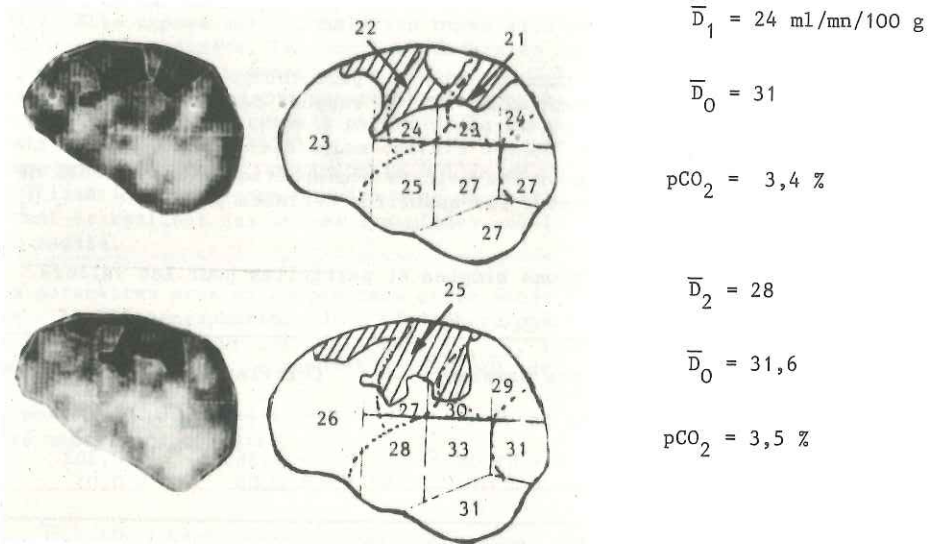


Figure 1. Exemple des variations de DSC mesurées chez un patient de 57 ans après AEIC.

Le patient a eu plusieurs crises comitiales généralisées. L'artériographie montrait une oblitération complète de la carotide interne gauche, avec des suppléances par la vertébrale droite uniquement. La scintigraphie décelait une zone hyperfixante fronto-pariétale supérieure gauche, au même emplacement que l'hypodensité visible au scanner X.

DISCUSSION

Le résultat le plus étonnant de cette étude réside dans le nombre assez élevé de diminutions ou invariances du DSC hémisphérique post-opératoire : 42 % des cas. Comme cela a déjà été souligné, l'importance quantitative de ces non-augmentations n'est, d'ailleurs, pas du tout comparable aux améliorations de DSC (moyenne des diminutions : $7,7 \% \pm 7,4$ alors que la moyenne des augmentations est $21,3 \% \pm 17,7$).

L'existence de ces diminutions, d'amplitude modérée, est confirmée dans les travaux de J. Laurent (1979), A. W. De Weerd (1982) et J.S. Meyer (1982). Sur l'ensemble des 56 cas étudiés par ces trois auteurs, on trouve 32 % de diminutions ou non variations en post-opératoire.

L'interprétation des résultats pourrait résider dans le fait (bien évident sur un plan théorique) que l'intervention redistribue les apports sanguins sur l'hémisphère lésé. Cette redistribution modifie la fraction du DSC en provenance des suppléances interhémisphériques. Ce rôle joué par les suppléances dans la variation post-opératoire est lisible dans la relation 1, où apparaît le rapport des DSC des deux hémisphères.

Nous proposons le schéma d'interprétation suivant, en accord avec nos résultats statistiques :

1er cas (le plus fréquent de la série) : les patients possèdent des suppléances peu fonctionnelles et l'anastomose AEIC réalisée est très perméable.

En préopératoire, l'abaissement du DSC du côté de l'oblitération est donc important par rapport à l'autre hémisphère. L'opération augmente beaucoup ce DSC, directement par l'anastomose nouvelle (cas $\bar{D}_1 \ll \bar{D}_{01}$, $H > 1$, $\Delta \gg 0$).

2ème cas : patients possédant des suppléances très efficaces et AEIC très perméable

En préopératoire, les deux DSCr hémisphériques sont normaux, ou peu abaissés et de façon presque égale, par le jeu des suppléances.

En post-opératoire, l'apport de sang par l'anastomose créée rend inutile celui qui provenait des suppléances. Les DSC ne varient pas ou peu (cas $\bar{D}_1 \approx \bar{D}_{01}$, $H \approx 1$, $\Delta \approx 0$).

3ème cas : patients possédant des suppléances très efficaces et AEIC peu perméable.

En préopératoire, les DSC hémisphériques sont, comme au cas 2, presque égaux.

En post-opératoire, l'apport de sang par l'anastomose est faible. Il est cependant suffisant pour rétablir une pression positive depuis l'hémisphère opéré et, donc, supprimer l'apport sanguin par les suppléances. Le DSC du côté opéré peut alors être inférieur à sa valeur préopératoire (cas $\bar{D}_1 \approx \bar{D}_{01}$, $H \approx 1$, $\Delta < 0$).

Le 4ème cas, suppléances non efficaces, AEIC peu perméable, ne paraît pas se rencontrer dans notre série.

CONCLUSION

Un tel schéma reste évidemment embryonnaire et demande à être confronté, cas par cas, avec la visualisation angiographique de la perméabilité et des suppléances et de l'anastomose chirurgicale. Cette confrontation sera délicate car la visualisation d'une anastomose perméable angiographiquement ne signifie pas forcément, dans

un territoire athéromateux, une considérable amélioration du débit sanguin capillaire tel que le mesure le Xénon.

Dans une certaine mesure et sur un nombre de cas plus élevé, des relations du type de la formule (1) devraient permettre une prévision de la variation de DSC post-opératoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Déruty, R. (1983) : L'anastomose extra-intracrânienne dans le traitement de l'ischémie cérébrale. *Neurochirurgie*. 29, 175-190
- De Weerd, A.W., Veering, M.M., Mosmans, P.C.M., Van Huffelen, A.C., Tulleken, C.A. F. (1982) : Effect of the STA-MCA arterial anastomosis on EEG and Cerebral Blood Flow. *Stroke*. 13, 674-679
- Halsey, J.H., Moranwetz, R.B., Blauenstein, U.V. (1982) : The hemodynamic effect of STA-MCA Bypass. *Stroke*. 13, 163-167
- Laurent, J., Lawner, P., O'Comor, M., Hungerbuhler, J., Obrist, W., Golberg, H. and Gordon, J. (1979) : Correction of intracerebral Steal by Extracranial/intracranial Anastomosis. *Acta Neurol. Scand. sup.*, 496-497
- Meyer, J.S., Nakajima, S., Okabe, T., Amano, T., Centeno, R., Lee, Y.Y., Levine, J., Levinthal, R., Rose, J. (1982) : Redistribution of Cerebral Blood Flow following STA-MCA By-pass in patients with hemispheric Ischemia. *Stroke*. 13, 774-784
- Obrist, W.D., Thompson, H.K., Wang, H.S., Wilkinson, W.E. (1975) : Regional Cerebral Blood Flow estimated by 133Xe inhalation. *Stroke*. 6, 245-256
- Philippon, B.L. (1980) : Image fonctionnelle simple de l'ischémie cérébrale par la méthode de la gamma caméra avec inhalation de Xénon 133. *Int. J. Nucl. Med. Biol.* 7, 340-346
- Philippon, B.L., Compingt, D.L., Boussert, F., Hajlani, M. (1981) : Deux images dynamiques des Débits Sanguins Cérébraux régionaux obtenues par inhalation de Xénon 133 : application aux accidents vasculaires cérébraux. *J. Fr. Bioph. Med. Nucl.* 5, 159-167
- Risberg, J., Ali, Z., Wilson, E. (1975) : Regional Cerebral Blood Flow by 133Xe inhalation. Preliminary evaluation of an Initial Slope Index in patients with unstable flow compartments. *Stroke*. 6, 42-148
- Schmiedeck, P., Gratzl, O., Spetzler, R., Steinhoff, H., Enzenbach, R., Brendel, W., Margath, F. (1974) : Blood Flow and Cerebral Revascularization. *J. Neurosurg.* 44, 303-312

REMERCIEMENTS

Nous remercions les Docteurs DERUTY et SINDOU, neurochirurgiens à l'Hôpital Neurologique de LYON, qui ont permis la réalisation de cette étude.

Variations of cerebral blood flow after STA-MCA bypass: a possibility to evaluate hemodynamic improvements

B. L. Philippon, F. Buisson

Centre de Médecine Nucléaire (Service du Pr BERGER) BP Lyon - Montchat, 69394 LYON Cédex 3, France

ABSTRACT

rCBF measurements have been realized on 33 ischemic patients before and after STA-MCA bypass owing to the 133 Xe inhalation method with a gamma camera.

The results can be correlated with the degree of a good or non working of colateral circulation on the operated side.

KEY WORDS

Cerebral Blood Flow, STA-MCA Bypass, hemodynamic improvements

Valeur pronostic du débit sanguin cérébral dans l'hémorragie méningée spontanée

G. Géraud*, A. Guëll*, M. Trémoulet**, A. Bès*

*Service de Neurologie, CHU Rangueil, 31054 Toulouse Cédex, France

**Service de Neurochirurgie, CHU Purpan, 31059 Toulouse Cédex, France

Reçu le 2 juin 1983

RESUME

Soixante-quatorze mesures du débit sanguin cérébral (DSC) ont été réalisées par la méthode d'inhalation du Xénon 133 dans 50 cas d'hémorragie méningée spontanée. Nous avons trouvé une corrélation entre l'état clinique et les valeurs de DSC, mais dans un nombre non négligeable de cas, ont été mis en évidence des DSC moyens très abaissés ou des foyers ischémiques, sans que l'état clinique ne le laisse prévoir. Il n'y a aucune corrélation entre le vasospasme vu à l'angiographie et les foyers ischémiques détectés par la méthode isotopique. Les valeurs moyennes de DSC, mesurées dans les deux premières semaines de la maladie, ont été significativement plus élevées chez les patients qui ont eu une évolution sans complications, et ceci quel que soit l'état clinique de ces malades au moment de la mesure du DSC. Le chiffre de 60 ml/100g/mn, pour le débit de la substance grise a semblé être une valeur seuil, en-dessous de laquelle le risque de complication est plus élevé. A l'inverse, chaque fois que le DSC cortical a été supérieur à 70 ml, l'évolution a été favorable. Ainsi, la mesure du DSC paraît avoir un intérêt pronostic, pouvant apporter une aide précieuse dans la stratégie thérapeutique à mener devant de tels malades.

MOTS CLEFS

Hémorragie méningée, débit sanguin cérébral, inhalation Xénon 133, vasospasme.

INTRODUCTION

Les relations entre les valeurs de DSC et l'état de conscience, l'existence de signes neurologiques en foyer ou d'un vasospasme vu à l'angiographie ont été établies par plusieurs équipes (Ferguson et coll., 1972; Grubb et coll., 1977; Heilbrun et coll., 1972; James, 1968; Pitts et coll., 1977; Symon et coll., 1972). Si intéressantes qu'elles soient sur le plan physiopathologique, ces études n'avaient qu'un intérêt pratique limité dans la mesure où elles ne cherchaient pas à établir la valeur pronostique de cette méthode. Seul Nilsson (1977) signalait qu'une réduction de plus de 40 % du DSC pré-opératoire était associée à une évolution défavorable. Ishii, plus récemment (1979), aboutissait à la même conclusion.

Le développement de la mesure atraumatique du DSC par inhalation ou injection intraveineuse de Xénon 133 et la mise au point récente d'appareillages fiables et maniabiles ont donné un regain d'intérêt à ce problème et ont suscité ces dernières

années de nouvelles publications (Brawanski et coll., 1982 ; Ferguson et coll., 1981 ; Memory et coll., 1980 ; Meyer et coll., 1982 et Weir et coll., 1978).

La question essentielle qui reste posée est : la mesure atraumatique du DSC a-t-elle une valeur pronostique et, si oui, quelle est sa place par rapport à la simple évaluation clinique et aux données de l'angiographie ? C'est à ce problème pratique que nous nous sommes intéressés dans ce travail.

MATERIEL ET METHODE

Cinquante patients (20 hommes, 30 femmes) ayant présenté une hémorragie méningée ont été étudiés. L'âge moyen de cette population était de 48 ± 12 ans (extrêmes de 21 à 68 ans). Sur des critères cliniques, ces patients ont été répartis en 3 groupes : grade I, syndrome méningé sans troubles de la conscience, sans signes neurologiques focalisés (29 cas) ; grade II, confusion mentale ou obnubilation sans signes neurologiques en foyer (14 cas) ; grade III, troubles de la conscience et signes déficitaires localisés (7 cas). Les malades dans le coma ont été exclus de cette étude.

Une angiographie a été pratiquée dans tous les cas : 39 fois sur 50, elle a mis en évidence un ou plusieurs anévrysmes : dans 11 cas, l'anévrysme était situé à la terminaison de la carotide interne - dans 11 cas, sur l'artère communicante antérieure - dans 5 cas, sur la bifurcation sylvienne - dans 7 cas, sur une autre artère - enfin dans 5 cas, il y avait plusieurs anévrysmes. Un vasospasme a été mis en évidence chez 19 malades (38 %), 9 fois localisé et modéré, 7 fois multifocal, 3 fois diffus. Une tomодensitométrie a été réalisée chez 35 patients, a montré la présence de sang dans les citernes de la base dans 19 cas, un hématorne intracérébral dans 4 cas, une hydrocéphalie active dans 5 cas.

Soixante-quatorze mesures du débit sanguin cérébral (DSC) ont été faites chez ces 50 patients par la méthode d'inhalation du Xenon 133 mise au point par Obrist (1975) et Risberg (1975) et utilisant un système multisonde à 32 détecteurs (16 par hémisphère) (Hommel, 1981). Deux paramètres sont calculés à partir des courbes de décroissance de la radioactivité cérébrale :

- F1 en ml/100 g/mn qui est assimilé au débit de la substance grise (modèle bicompartimental) ; sa valeur est comprise entre 70 et 80 ml/100 g/mn chez le sujet normal, au repos et en l'absence de toute stimulation physique ou sensorielle.
- I.S.I. (Initial Slope Index) calculé entre la 2ème et la 3ème minute de la courbe de clearance quand il existe une instabilité compartimentale (modèle monocompartimental) : la valeur normale est comprise entre 40 et 50.

Nous avons considéré qu'il existait un foyer d'oligémie lorsque le DSC local était abaissé de plus de 15 % (par rapport à la moyenne de l'hémisphère) dans au moins 3 détecteurs voisins. Cette valeur seuil de 15 % a été choisie car on estime, avec cette technique de mesure du DSC, que les variations des débits locaux deviennent significatives à partir de 10 %. A chaque mesure de DSC, ont été appréciés le grade clinique, la pCO2 et la pression artérielle moyenne (PAM). Chez les 50 malades, excepté 6, la première mesure du DSC a été réalisée dans les 12 premiers jours suivant l'hémorragie méningée.

Vingt-sept malades ont été opérés, tous ont eu un clippage anévrysmal. Les autres ne l'ont pas été soit parce qu'une malformation artérielle n'avait pas été mise en évidence, soit parce que leur état clinique a été jugé trop grave.

Les méthodes statistiques habituelles ont été utilisées, notamment l'analyse de variance, le test du T de Student et le test du χ^2 . Ont été considérés comme significatifs les résultats donnés avec un risque d'erreur inférieur à 5 %.

RESULTATS

Corrélations avec les débits sanguins cérébraux (Tab.I)

Les 74 valeurs de DSC ont été corrélées avec le grade clinique des malades au moment de la mesure du DSC : la valeur moyenne des DSC est significativement abaissée chez les patients de grade III, alors qu'il n'y a pas de différence entre les malades de grade I et II. Cette réduction du DSC ne s'explique ni par une modification de pCO2 ou de PAM, ni par une différence d'âge. La présence d'un foyer oligémique est plus fréquente chez les patients de grade III ; néanmoins, chez ceux de grades I et II, qui n'ont pas de signes neurologiques en foyer, on trouve dans 30 à 55 % des cas une zone d'hypoperfusion, que l'on peut qualifier "d'oligémie focale silencieuse".

Tableau I. Corrélations entre le grade clinique et les valeurs de débit sanguin cérébral. 74 mesures de DSC ont été réalisées chez les 50 patients.

Grade clinique	n	F1 (ml/100g/mn)	ISI (ml/100g/mn)	Foyer oligémique (%)	
				0	+
I	35	65,5 ± 13,6 ⁺	38,2 ± 6,6	24 (70)	11 (30)
II	20	67,8 ± 19	38,8 ± 13,2	9 (45)	11 (55)
III	19	53,4 ± 11,7	31,6 ± 8	4 (21)	15 (79)
Test statistique		F = 5,49 *p < 0,05	F = 3,96 *p < 0,05	$\chi^2 = 11,69$ p < 0,01	

+ moyenne ± SD

Si on considère pour chaque malade le DSC le plus proche du moment de l'angiographie, on trouve chez les 19 patients qui ont un vasospasme une réduction moyenne significative de F1 par rapport aux 31 patients sans vasospasme (59,6 ± 8,3 contre 68,5 ± 17,8 ml/100g/mn ; p < 0,05). Par contre, ni l'intensité, ni l'étendue du vasospasme n'influent sur les chiffres du débit sanguin, mais ceci est peut-être dû à un nombre trop réduit de cas.

Influence de l'âge des malades (Tab.II)

L'âge des malades influe sur les valeurs de DSC : en ne prenant en compte que le premier débit sanguin pratiqué chez chaque patient, on constate que la moyenne de ces DSC est plus basse chez les sujets de 50 ans ou plus, par rapport aux plus jeunes. Le coefficient de corrélation entre âge et premier DSC est de - 0,37 pour

Tableau II. Influence de l'âge des malades sur les paramètres cliniques, hémodynamiques et angiographiques.

Age	n	Grade clinique			r D.S.C. initial F1 (ml/100g/mn)	Foyer oligémique		Spasme	
		I	II	III		0	+	0	+
<50 ans	25	13	9	3	70,5 ± 18,1 ⁺	15	10	16	9
≥50 ans	25	16	5	4	60,9 ± 11,6	15	10	14	11
Test statistique		$\chi^2 = 1,60$ NS			t = 2,24 p < 0,05	$\chi^2 = 0$ NS		$\chi^2 = 0,59$ NS	

+ moyenne ± SD NS = non significatif

F1 ($p < 0,01$) et de $-0,36$ pour ISI ($p < 0,05$). Par contre, il n'a pas été possible dans cette étude de mettre en évidence une influence de l'âge sur les autres paramètres, en particulier sur le grade clinique, sur la présence d'un foyer oligémique ou d'un vasospasme.

Corrélations avec le devenir des malades (Tab. III)

Ces 50 malades ont été répartis en 3 groupes en fonction de leur état clinique au moment de la sortie de l'hôpital : 31 avaient récupéré sans séquelles, 13 présentaient un déficit moteur, aphasique ou intellectuel, 6 d'entre eux étaient morts en cours d'hospitalisation. L'âge de ces patients ne semble pas avoir influé sur leur devenir, puisque les moins et les plus de 50 ans se répartissent de façon à peu près égale dans les 3 groupes évolutifs.

Tableau III. Corrélations entre le devenir des 50 malades et les paramètres cliniques et hémodynamiques.

Devenir	n	Age (ans)		Grade clinique			r D.S.C. initial	
		<50	>50	I	II	III	F1 (ml/100g/mn)	ISI
Récupération	31	17	14	19	10	2	71,9 ± 16*	41 ± 11,2
Séquelles	13	5	8	8	3	2	58,2 ± 8,4	36,9 ± 4,3
Décès	6	3	3	2	1	3	50,1 ± 8	32,6 ± 4,4
Test statistique	$\chi^2 = 0,98$ NS		$\chi^2 = 8,14$ NS			F = 8,97 * $p < 0,05$; $p < 0,01$		F = 2,44 NS

* moyenne ± SD NS = non significatif

Le grade clinique initial, tel qu'il avait été évalué lors de la première mesure du DSC (effectuée dans la très grande majorité des cas dans les 12 premiers jours), est pauvrement corrélé avec le devenir des malades : 19 patients sur 29 de grade I (66 %) ont récupéré sans séquelles mais, à l'opposé, 74 % de ceux qui ont eu un devenir défavorable (séquelles et décès) appartenaient initialement aux grades I et II ; de plus, les 7 patients initialement en grade III se répartissent de façon égale dans les 3 groupes de devenir.

Par contre, les débits sanguins cérébraux initiaux se sont révélés plus élevés chez les malades qui ont récupéré complètement que chez ceux qui ont eu des séquelles ou qui sont morts (fig. 1). Les valeurs moyennes sont significativement différentes pour F1 qui représente le débit cortical. Pour l'ISI, on observe la même tendance mais moins marquée. Si on prend comme valeur seuil 60 ml/100 g/mn pour F1 et 35 pour l'ISI, on constate que, en dessous de ce seuil, le risque de faire une complication est beaucoup plus élevé ; sur les 18 malades qui ont eu un débit cortical inférieur à cette valeur, 12 ont eu une évolution compliquée et tous les sujets décédés se situaient en dessous de ce seuil critique, sauf un dont le débit moyen était égal à 60,3 ml. A l'inverse, lorsque le débit cortical a dépassé 70 ml, l'évolution a été dans tous les cas favorable. Les différences des valeurs moyennes de DSC entre les trois groupes évolutifs, ne s'expliquent ni par une modification de la pCO₂ artérielle ni par une modification de la PAM. La présence d'un foyer oligémique a été plus fréquente en cas d'évolution défavorable qu'en cas de récupération, alors que le même type de comparaison n'est pas significatif pour le vasospasme.

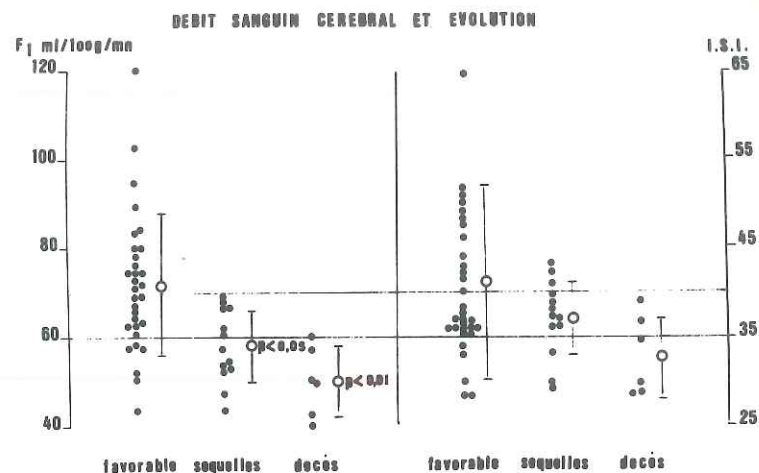


Figure 1. Débit sanguins cérébraux initiaux des 50 malades en fonction de leur devenir ultérieur. F1 représente le débit cortical. ISI est assimilable à un débit moyen.

Corrélation avec le devenir des 27 malades opérés (Tab. IV)

Pour des raisons d'effectif, nous avons subdivisé ces 27 opérés en deux groupes, l'un d'évolution favorable (19 cas), l'autre avec des complications post-opératoires, 8 cas dont 2 décès. Ni l'âge, ni l'état clinique, ni la présence ou l'absence d'un vasospasme ne sont corrélés significativement avec le devenir. Par contre, on retrouve une diminution significative du DSC cortical initial chez les sujets qui ont eu des complications ; de même, la constatation d'un foyer oligémique est plus fréquente dans ce groupe que chez les sujets qui ont eu des suites opératoires simples.

Tableau IV. Corrélations entre le devenir des 27 malades opérés et les paramètres hémodynamiques.

Evolution	n	Age (ans)	DSC (F1) ml/100g/mn	Foyer	
				0	+
Favorable	19	47,4 ± 13,2 ⁺	68,8 ± 11,6	15	4
Complications et Décès	8	51,6 ± 11	52,7 ± 8,6	1	7
Test statistique	t = 0,80 NS		t = 3,54 p < 0,01	$\chi^2 = 10,30$ p < 0,01	

+ moyenne ± SD NS = non significatif

DISCUSSION

Comme beaucoup d'autres auteurs (Ferguson et coll., 1981; Ishii, 1979; Merory et coll., 1980; et Pitts et coll., 1977), nous avons trouvé une certaine corrélation entre les valeurs de DSC et l'état clinique des malades : ceux qui étaient à la fois obnubilés et déficitaires avaient en moyenne une réduction de 30 % du débit cérébral par rapport aux autres. Mais il nous semble plus intéressant d'insister sur les discordances pouvant exister entre les paramètres cliniques et hémodynamiques : parmi les malades en grade I, c'est-à-dire conscients et non déficitaires, nous avons trouvé chez certains des valeurs anormalement basses de DSC : 31 % avaient un DSC inférieur à la valeur de 60 ml/100g/mn. A l'inverse, 57 % des malades en grade II ou III avaient un chiffre de débit sanguin supérieur à cette valeur seuil. Il nous semble que l'étude de l'hémodynamique cérébrale chez ces patients peut apporter des résultats complémentaires et, en particulier, comme Ferguson le fait remarquer (1981), permettre de détecter des malades à risque ayant une perfusion cérébrale insuffisante, alors que rien ne le laissait prévoir sur l'état clinique.

L'analyse des débits sanguins locaux peut apporter également de précieux renseignements : chez les 7 malades qui présentaient des signes cliniques focalisés, il y a eu dans tous les cas une zone d'ischémie ou d'oligémie concordante ; l'intérêt de ce type de mesure atraumatique est de pouvoir suivre chez un malade donné l'évolution d'un tel foyer ischémique et de la comparer à l'évolution clinique. Mais il a pu exister également des discordances entre données cliniques et hémodynamiques : ainsi 30 % des patients de grade I et 55 % des patients de grade II présentaient, lors du DSC initial, un foyer oligémique sans traduction clinique. Chez 4 malades, ce foyer oligémique a été mis en évidence quelques jours avant l'apparition d'un déficit clinique concordant.

Meyer et coll. (1982) ont récemment insisté sur l'influence de l'âge des patients : ils constatent une réduction de DSC et un devenir moins favorable chez les sujets de plus de 50 ans. Comme eux, nous avons constaté qu'il existait une corrélation inverse entre l'âge et les débits sanguins mais, à la différence de ces auteurs, nous n'avons pas mis en évidence de relation entre l'âge des malades et leur devenir (Tab.III) : les sujets de 50 ans ou plus n'ont pas eu une évolution significativement différente des autres. Nous pouvons en conclure que, dans notre population, la réduction de DSC observée chez les sujets ayant eu une évolution défavorable n'était pas la conséquence d'un âge plus avancé.

Dans la plupart des études antérieures, il est fait état d'une relation entre spasme et réduction du DSC (Ferguson et coll., 1981; et Pitts et coll., 1977). Nous avons trouvé également une diminution du DSC moyen chez les sujets qui étaient porteurs d'un spasme, mais il ne nous a pas été possible de corrélérer cette réduction de débit avec l'intensité du spasme. Cependant, ayant exclu de cette étude les malades dans le coma, nous n'avons eu que très peu de spasmes sévères et étendus, 3 cas seulement. Par ailleurs, il n'y a pas eu corrélation systématique entre le spasme vu à l'angiographie et un foyer oligémique détecté à l'examen hémodynamique : ces deux méthodes n'explorent pas le même territoire vasculaire ; l'angiographie montre surtout les artères de la base et de la corticalité, l'inhalation de Xénon 133 mesure la perfusion tissulaire, c'est-à-dire la circulation distale. On sait que le rétrécissement de la lumière artérielle doit atteindre plus de 80 % pour qu'il y ait un retentissement sur la circulation d'aval. On conçoit donc que vasospasme angiographique et foyer ischémique puissent être dissociés et, qu'en fin de compte, les données de l'angiographie ne donnent pas un reflet fidèle de la perfusion tissulaire cérébrale, donc du risque d'ischémie.

Nous arrivons enfin au problème essentiel de ce travail, à savoir le devenir des malades et la recherche de facteurs de pronostic : nous avons vu que ni l'âge des patients, ni la constatation d'un vasospasme, ni l'importance du saignement ou la localisation de l'anévrisme ne semblent avoir joué un rôle déterminant dans l'évolution de nos malades (Tab.III). Nous n'avons pas trouvé non plus de corrélation significative entre le grade clinique initial et le devenir. Nous ne voulons pas dire pour autant que l'état clinique n'a pas de valeur pronostique, en particulier pour les résultats de la chirurgie. Ce serait aller à l'encontre d'une notion bien établie et d'une expérience quotidienne. Mais nous devons constater que, dans cette étude, il y a eu corrélation significative entre le DSC mesuré dans les deux premières semaines de la maladie et le devenir des patients à la fin de leur hospitalisation, alors qu'une telle corrélation n'a pu être mise en évidence avec l'état clinique initial. Ceci reste vrai lorsqu'on ne prend en considération que les 27 malades qui ont subi une intervention chirurgicale (Tab.IV).

La figure 2 illustre ce qui précède, en montrant les valeurs pronostiques comparées du grade clinique et des DSC tels qu'ils ont été évalués dans les premiers jours de la maladie : la moyenne des DSC a été supérieure à 70 ml/100g/mn chez les sujets dont l'évolution a été favorable, quel que soit l'état clinique des malades au moment de la mesure du DSC ; à l'inverse, le DSC s'est situé aux alentours de 55 ml/100g/mn chez les malades qui ont eu des complications ou qui sont décédés, qu'ils aient été en grade I ou en grade II ou III.

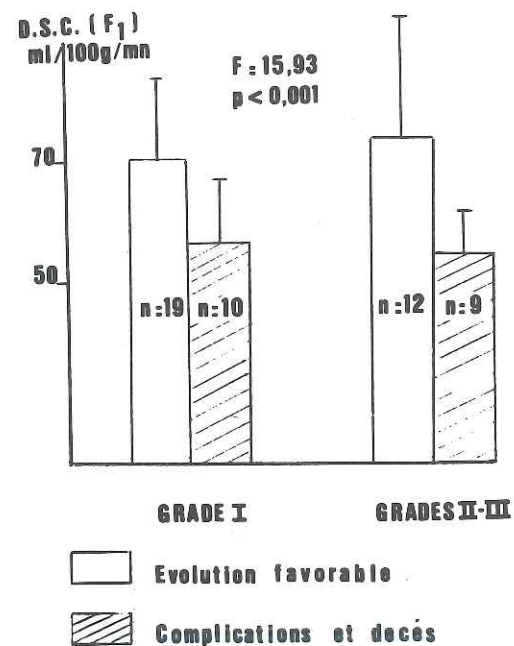


Figure 2. Valeur pronostique comparée du grade clinique et des DSC initiaux évalués dans les premiers jours suivant une hémorragie méningée. (moyenne $9,7 \pm 9,6$ jours).

L'intérêt pronostic des mesures hémodynamiques cérébrales dans l'hémorragie méningée a été avancé par plusieurs auteurs (Ferguson et coll., 1981; Ishii, 1979; Meyer et coll., 1982; et Nilsson, 1977) : dans ces travaux, les valeurs de DSC sont abaissées chez les sujets qui ont une évolution défavorable. Cette diminution se situe entre 25 et 40 % selon les études, les valeurs absolues sont très variables en fonction de la technique de mesure et du mode de calcul utilisés. Ishii (1979), par méthode intracarotidienne, et Meyer et coll. (1982), par méthode d'inhalation, estiment que le seuil critique se situe à 30 ml/100g/mn, mais ceci correspond au débit moyen et non au débit de la substance grise. Dans notre étude, le seuil critique semble se situer à 60 ml pour le débit cortical et à 35 ml pour le débit moyen, tel qu'il est apprécié par la méthode de calcul ISI.

Cette étude confirme donc la valeur pronostic de la mesure du DSC dans l'hémorragie méningée. Grâce à son caractère atraumatique, cette méthode de mesure par inhalation peut être sans inconvénient répétée chez un même malade. Ces résultats nous amènent à proposer une nouvelle chronologie des examens complémentaires dans les hémorragies méningées en faisant précéder l'angiographie d'une mesure du DSC et à déterminer le moment opératoire quand le DSC cortical se situe au-dessus d'une valeur seuil qui, avec notre appareillage, se situe à 60 ml/100g/mn.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Brawanski, A., Gaab, B.A., Brockhorn, J., Haubitz, I. (1982) : Atraumatic rCBF measurement : an aid in the timing of surgery and the management of spasm following SAH. *Acta Neurochir. (Wien)* 63, 43-51.
- Ferguson, G.G., Harper, A.M., Fitch, W., Rowan, J.O., Jennett, B. (1972) : Cerebral blood flow measurements after spontaneous subarachnoid haemorrhage. *Eur.Neurol.* 8, 15-22.
- Ferguson, G.G., Farrar, J.K., Meguro, K., Peerless, S.J., Drake, C.G., Barnett, H.J.M. (1981) : Serial measurements of CBF as a guide to surgery in patients with ruptured intracranial aneurysms. *J.Cereb.Blood Flow Metabol.* 1, Suppl. 1, S518-S519.
- Grubb, R.L., Raichle, M.E., Eichling, J.O., Gado, M.H. (1977) : Effects of subarachnoid haemorrhage on cerebral blood volume, blood flow and oxygen utilization in humans. *J.Neurosurg.* 46, 446-453.
- Heilbrun, N.P., Olesen, J., Lassen, N.A. (1972) : Regional cerebral blood flow studies in subarachnoid haemorrhage. *J.Neurosurg.* 37, 36-44.
- Hommel, M. (1981) : L'accident vasculaire cérébral ischémique en phase aiguë. Mesure du DSC par inhalation de 133 Xénon. Thèse, Grenoble.
- Ishii, R. (1979) : Regional cerebral blood flow in patients with ruptured intracranial aneurysms. *J.Neurosurg.* 50, 587-594.
- James, I.M. (1968) : Changes in cerebral blood flow and in systemic arterial pressure following spontaneous subarachnoid haemorrhage. *Clin.Sci.Mol.Med.* 35, 11-22.
- Merory, J., Thomas, D.J., Humphrey, P.R.D., Du Boulay, G.H., Marshall, J., Ross Russell, R.W., Symon, L., Zilkha, E. (1980) : Cerebral blood flow after surgery for recent subarachnoid haemorrhage. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiat.* 43, 214-221.
- Meyer, C.H.A., Lowe, D., Meyer, M., Richardson, P.L., Neil-Dwyer, G. (1982) : Subarachnoid haemorrhage : older patients have low cerebral blood flow. *Br.Med.J.*, ii 1149-1152.
- Nilsson, B.W. (1977) : Cerebral flow in patients with subarachnoid haemorrhage studied with an intravenous isotope technique. Its clinical significance in the timing of surgery of cerebral arterial aneurysms. *Acta Neurochir.* 37, 33-48.
- Obrist, W.D., Thompson, H.K., Wang, W.S., Wilkinson, W.E. (1975) : Regional cerebral blood flow estimated by 133 Xenon inhalation. *Stroke* 6, 245-256.
- Pitts, L.H., MacPherson, P., Wyper, D.J., Jennett, W.B. (1977) : Cerebral blood flow, angiographic cerebral vasospasm and subarachnoid haemorrhage. *Acta Neuro. Scand.* 56, 334-335.

- Risberg, J., Ali, Z., Wilson, E.M., Wills, E.L., Halsey, J.H. (1975) : Regional cerebral blood flow by 133 Xenon inhalation. *Stroke* 6, 142-148.
- Symon, L., Ackerman, R., Bull, J.W.D., Du Boulay, E.P.G.H., Marshall, J., Rees, J., Ross Russell, R. (1972) : The use of the Xenon clearance method in subarachnoid haemorrhage. *Eur.Neurol.* 8, 8-14.
- Weir, B., Menon, D., Overton, T. (1978) : Regional cerebral blood flow in patients with aneurysms : estimation by Xenon 133 inhalation. *Can.J.Neurol.Sci.* 5, 301-305.

The prognostic value of atraumatic CBF measurement in subarachnoid hemorrhage G. Géraud, A. Guëll, M. Trémoulet, A. Bès

Seventy four measurements of cerebral blood flow (CBF) were performed using the Xenon 133 inhalation method in 50 cases of spontaneous subarachnoid hemorrhage. This method is non-traumatic, reproducible and dependable. A correlation was found between clinical condition and CBF values, but in a number of cases which cannot be dismissed, very low mean CBF values or ischemic foci were revealed where clinical state gave no indication of same. A poor correlation appeared between vasospasm seen by angiography and ischemic foci detected by isotopic technique. Patients' age influenced CBF values but not clinical evolution.

CBF values, measured in the first two weeks of illness, were significantly higher in those patients having favorable outcome, whatever their clinical state at the time of CBF measurement (comas excluded). The figure of 60 ml/100 g/min. for mean cortical flow seemed to be a critical level below which risk of complications was greater. Conversely, in every case where mean cortical flow measured above 70 ml, outcome was favorable. Thus, CBF measurement promises to be a valuable prognostic tool, playing an important role in the therapeutic strategy for this type of patient.

Etude scanographique des infarctus cérébraux après inhalation d'un mélange de xénon et de krypton inertes

A. M. Bidabé*, F. Floras*, P. Macrez*, M. Ekutsu*, M. Sabathié**,
J. M. Caillé*

*Service de Neuroradiologie - Hôpital Pellegrin-Tripode - 33076 BORDEAUX Cedex
**Département d'Anesthésie-Réanimation - Hôpital Pellegrin-Tripode - 33076 BORDEAUX

Reçu le 27 juillet 1983

RESUME

Le Xénon et le Krypton inertes ont déjà été utilisés avec succès comme agent de contraste en tomodynamométrie. Après inhalation le Xénon et le Krypton diffusent librement dans tous les tissus en particulier dans le tissu cérébral à cause de leur haute liposolubilité. Comme l'Iode ils modifient le coefficient d'atténuation et donnent un excellent contraste sur les coupes scanographiques, compte tenu de leur numéro atomique élevé 54 (Xe), 36 (Kr). Cinq patients présentant des infarctus cérébraux datant de 6 à 10 jours ont été examinés par scanographie : - avant contraste, après contraste iodé (Télébrix 38) - après inhalation d'un mélange Xe, Kr (Xe 55 % - Kr 45 %). Ce mélange a été préféré au Xénon pur pour des raisons économiques et pour diminuer les propriétés anesthésiques du Xénon. Le Xénon à ces concentrations subanesthésiques est un marqueur faible. A haute concentration son intérêt majeur, dans le cas d'infarctus récent, est d'ordre pronostique. Il détermine la viabilité d'une région en évaluant la perfusion tissulaire, mais son coût et ses propriétés anesthésiques sont toujours à considérer.

MOTS CLEFS

Tomodynamométrie, opacification, Xénon, Krypton, infarctus

KEY WORDS

Computed tomography, cerebral infarcts, Xenon, Krypton, enhancement

INTRODUCTION

En 1953 une première étude expérimentale (Badano-Repetto, 1953) montre qu'au niveau des poumons du chien le Xénon stable inhalé (Xe S) est plus opaque aux rayons X que l'air. Cependant, si cette radio-opacité est certaine, elle reste faible. En 1962 Rockoff et Mendelsohn étudient les caractéristiques radiologiques du Xe S sur un phantom simulant la cage thoracique humaine. Les propriétés physiques et physiologiques sont définies. Les qualités radio-opaques du Xe S sont précisées pour insister sur la "pâleur de l'opacité" qui conduit à avoir quelques doutes quant à l'utilisation courante dans les conditions habituelles de la radio-

logie. Quatre ans plus tard Winckler et Spira (1966) confirment la radio-opacité du Xénon en utilisant des chambres hyperbares. A 3 ou 4 atmosphères le Xénon atteint la radio-opacité de l'eau. Il est évident qu'un tel impératif va limiter son utilisation courante. Mais dix ans plus tard Winckler et coll. (1977) constatent qu'en tomodynamométrie (TDM) l'augmentation du coefficient d'atténuation (densité) provoquée par l'inhalation d'un gaz inerte tel que le Xénon ou le Krypton est largement suffisante pour considérer ces gaz comme un moyen de contraste original par rapport aux produits de contraste conventionnels à base d'Iode.

MATERIEL ET METHODE

Cinq patients présentant un infarctus cérébral récent c'est-à-dire datant de moins de dix jours ont fait l'objet d'une étude scanographique (Tableau I)

Cas	Sexe	Age	Date de l'examen par rapport à l'accident (jours)	Données tomodynamométriques
1	M	57	9	Ramollissement occipital gauche
2	M	55	7	Ramollissement frontal gauche fronto-pariétal droit
3	M	68	4	Ramollissement sylvien superficiel gauche + séquelles d'un infarctus ancien temporal droit
4	M	64	9	Ramollissement sylvien profond gauche
5	M	70	4	Ramollissement sylvien total droit avec syndrome de masse

Tableau I. Données clinique et T.D.M. des patients

Tout sujet présentant des troubles respiratoires ou un état confusionnel a été refusé. Les patients ne sont pas prémédiqués, et sont placés sur la table d'un scanographe ND 8000 (C.G.R.) de haute résolution (matrice 256 x 256). Afin d'éviter les effets de dilution du mélange Xe - Kr - Oxygène avec l'azote nous procédons à l'évacuation de l'azote tissulaire en faisant respirer au patient de l'oxygène pur. Nous utilisons un circuit respiratoire ouvert comprenant un masque placé de façon étanche sur le visage du patient et connecté à une valve sans rebreathing type Ambu. Le circuit est équipé d'un analyseur d'oxygène type Teledyne. L'oxygène est délivré (Fi O₂ : 100 %), selon le débit correspondant à la ventilation minute du patient, durant dix minutes. Pendant ce temps nous effectuons les coupes tomodynamométriques standard et choisissons les plans de coupe qui seront les plans de référence pour les examens suivants. Ces coupes seront répétées à intervalle aussi court que possible (temps d'acquisition : 40 secondes + temps de traitement des données : 10 secondes) pendant les six minutes d'inhalation du mélange (Xénon : 55 % - Krypton : 45 %) à la concentration maximum de 63 % dans l'oxygène puis durant la période d'élimination du mélange que nous fixons arbitrairement entre 10 et

15 minutes. Durant le temps d'examen la pression artérielle, la fréquence cardiaque, l'amplitude et la fréquence respiratoire sont notées. A la fin de l'examen le sujet est interrogé dans le but de noter ses impressions. Une demi-heure plus tard les mêmes plans de coupe seront visualisés après injection de produit iodé : 120 ml de Télébrix 38.

Les données tomodynamométriques recueillies concernent les mesures de densité en unités Hounsfield (HU) des zones pathologiques, des zones situées en périphérie immédiate, des zones situées à distance et des cavités ventriculaires. L'étude est effectuée pour chacun des trois examens scanographiques.

RESULTATS

1 - Etude de l'infarctus récent.

La figure 1 est l'illustration d'un cas de l'étude (cas n° 2). Les zones hypodenses pathologiques voient leur densité augmenter par le Xe S au centre (6 HU) comme en périphérie (5 HU). L'injection de contraste iodé ne produit aucune opacification. Les coefficients d'atténuation des zones situées à distance ne sont modifiées ni par l'inhalation de Xe S, ni par l'injection de contraste iodé.

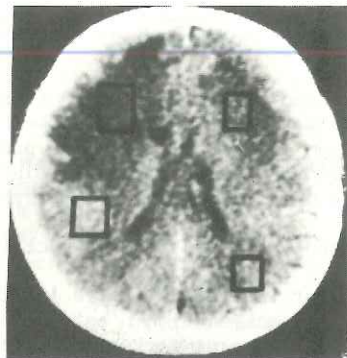
2 - Etude d'un infarctus récent et d'une zone de nécrose vasculaire.

La présentation du cas n° 3 sur la figure 2 offre l'intérêt de montrer une zone hypodense dont le coefficient d'atténuation n'est pas augmenté par le Xe S. Cette zone infarctée a vis-à-vis du Xe S un comportement différent de la zone hypodense du cas n° 2. La zone de faible densité correspondant à un infarctus ancien ayant évolué vers un ilôt nécrotique se comporte comme la cavité ventriculaire. Il s'agit bien d'une cavité kystique de résorption. La densité de la substance blanche pariétale augmente de 10 HU lors de l'inhalation de Xe S.

3 - Etude de l'opacification différentielle de la substance blanche et de la substance grise.

L'augmentation des coefficients d'atténuation dépendent de deux facteurs :
 - la concentration des gaz inertes dans le mélange inhalé selon la loi de Henry.
 - le pourcentage de graisse dans les tissus nerveux. Notre étude a montré une augmentation de 23 à 33 % de la densité de la substance blanche et 16 % de la densité de la substance grise. Pour Winckler et coll. (1977) il y a corrélation linéaire entre le pourcentage de graisse dans un tissu et l'augmentation de son coefficient d'atténuation.

Au cours de l'étude l'utilisation du mélange Xe-Kr à la concentration maximum de 63 % dans l'oxygène n'a posé aucun problème à l'anesthésiste. Après les cinq premières minutes d'inhalation des fourmillements des extrémités et une augmentation de l'amplitude respiratoire sont apparus dans tous les cas. Aucun autre signe clinique n'a été noté, contrairement à Foley et coll. (1978) et Haugton et coll. (1980). Nous attribuons cette absence bénéfique d'effets secondaires au fait que le Kr entre pour 45 % dans le mélange gazeux. Par ailleurs aucune modification des paramètres hémodynamiques n'a été enregistrée.



	SCAN SIMPLE	Xe - Kr 67 %	TELEBRIX 38 120 ml
Zone hypodense droite	24	30*	24
Zone hypodense gauche	27	32*	27
Zone frontière droite	34	39*	37
Lobe pariétal droit	32	34	33
Lobe pariétal gauche	31	32	31

Figure 1. Coupe tomodensitométrique d'un infarctus cérébral récent après 5 minutes d'inhalation d'un mélange Xe-Kr à 63 %
Tableau de mesure des coefficients d'atténuation des différentes régions, sans contraste, après inhalation de Xe S, après injection intra-veineuse de Télébrix 38.

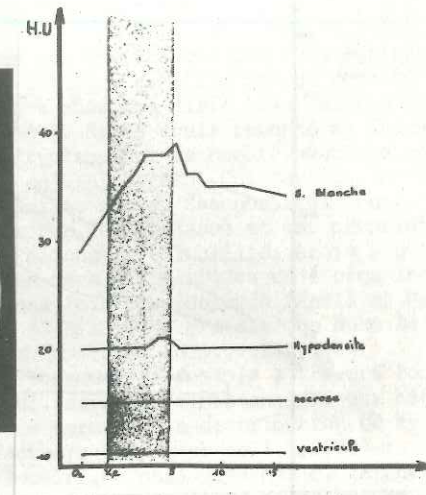
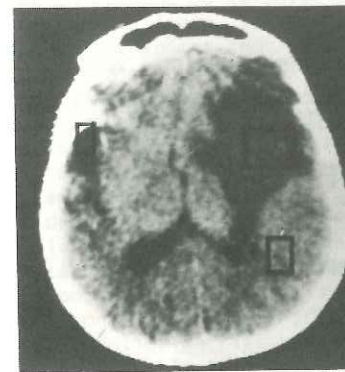


Figure 2. Coupe tomodensitométrique visualisant un infarctus sylvien superficiel gauche et un îlot de nécrose séquellaire à droite.
Le diagramme adjacent représente les modifications des coefficients d'atténuation de ces différentes régions durant 5 minutes d'inhalation de Xe-Kr et durant l'élimination du mélange.

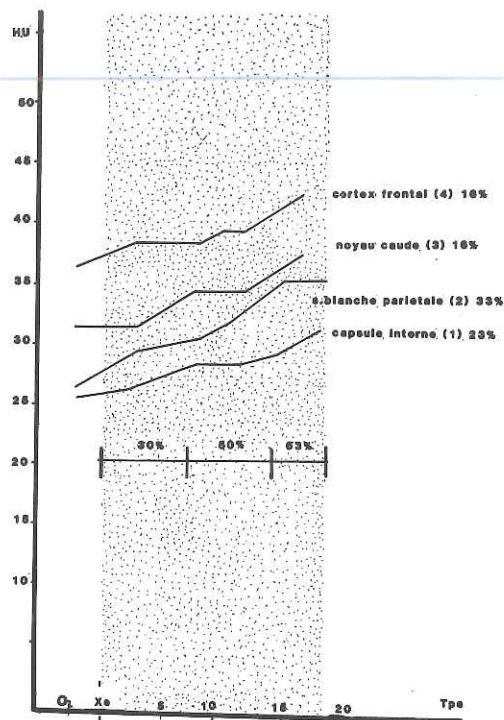


Figure 3. Augmentation progressive des coefficients d'atténuation de la substance blanche (1-2) et de la substance grise (3-4) au cours de l'inhalation pendant 17 minutes d'un mélange Xe-Kr à doses progressivement croissantes (30 à 63 %).

DISCUSSION

Un rappel bref sur les produits de contraste utilisés en tomodynamométrie encéphalique nous paraît nécessaire pour situer le Xénon inerte. Les atomes d'Iode et de Xénon ont des nombres atomiques très proches (53 et 54) ainsi que des constantes d'énergie maximum voisines (33 Kev et 34,6 Kev). Ils ont par ailleurs le même spectre d'absorption aux rayons X utilisés en TDM (120 à 140 Kev), mais par ailleurs ce sont des éléments tout à fait différents.

L'Iode est un marqueur densitométrique de l'espace extra-cellulaire cérébral : il ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique. Deux facteurs contribuent à l'opacification par un produit de contraste iodé : le compartiment vasculaire et la diffusion extravasculaire de l'Iode s'il n'y a pas de barrière hémato-encéphalique ou si elle est anormale (Caillé et coll., 1980). Cette observation est essentielle pour différencier le "marqueur iode" du "marqueur Xénon".

Le Xénon est un élément de la série des gaz inertes qui comprend également le Radon, le Krypton, l'Argon, le Néon et l'Hélium dans l'ordre de densité décroissante. Le Xénon est le gaz dont le nombre atomique élevé (54) lui confère le plus haut coefficient d'absorption aux rayons X. Après avoir renoncé au Radon, gaz rare et radio-actif, nous avons utilisé le Krypton dont le nombre atomique égal à 36 lui donne les propriétés radio-opaques déjà signalées. Ces deux gaz présentent une haute liposolubilité et un rapport huile/eau élevé. Ces qualités leur confèrent deux propriétés : une fixation élective sur les graisses et des propriétés anesthésiques. La liposolubilité du Xe S explique la solubilité, trois à quatre fois plus élevée dans la cellule nerveuse que dans les liquides de l'organisme (Kendall et Moseley, 1981). Le Xénon est donc deux fois plus soluble (Veall et Mallet, 1978) dans la substance blanche qui contient 14 à 23 % de graisse que dans la substance grise qui en contient seulement 4 à 8 % (White et coll., 1968). Après inhalation le mélange Xe-Kr est librement diffusible à travers tous les tissus, en particulier le tissu cérébral, circule faiblement lié aux hématies et traverse la barrière hémato-encéphalique normale. La distribution du Xe S au niveau des tissus nerveux dépend de quatre facteurs (Meyer et coll., 1980) : a) la concentration du Xe S inhalé (Winckler et coll., 1976), b) le coefficient de partage entre le tissu cérébral et le sang, qui dépend de la nature du tissu (Drayer et coll., 1980), c) la solubilité du Xe S dans le sang artériel, d) le débit sanguin cérébral régional.

Deux ordres de commentaires peuvent être déduits de l'utilisation du Xe en scanographie :

1. Le Xénon et le Krypton sont des marqueurs du tissu cérébral. Le Xe S peut être décelé en tomodynamométrie à une concentration de 20 %, mais le coefficient d'atténuation est peu modifié. Comme l'augmentation en densité est linéairement corrélée à la pression partielle du Xe S dans l'air inspiré, il est souhaitable d'utiliser des concentrations élevées, de l'ordre de 70 % (Zilkha et coll. 1978) ; mais l'utilisation du Xénon à une telle concentration est limitée par deux facteurs : ses propriétés anesthésiques, son coût très élevé. C'est la raison pour laquelle nous avons choisi d'utiliser un mélange de Xénon (55 %) et Krypton (45 %). Le mélange distribué à 63 % dans l'oxygène a donné des augmentations des coefficients d'atténuation de 9 à 10 HU dans la substance blanche et de 4 à 5 HU dans la substance grise. A une concentration de 70 % Pullicino et coll. (1979) obtiennent une opacification de 20 HU dans la substance blanche et de 12 HU dans la substance grise. La distribution du Xe-Kr aux tissus, donc le degré d'opacification, dépend de deux facteurs principaux : la quantité de Xénon qui atteint le tissu, fonction du débit sanguin de ce tissu et la nature du tissu. Dans notre étude les collections liquidienues, les cavités kystiques de résorption

n'ont pas fixé le Xénon. Ceci est dû à l'absence de perfusion dans ces régions. Le Xe S diffuse très lentement dans les zones avasculaires.

Dans le cas où la lésion ischémique hypodense sur le scan sans contraste, voit son coefficient d'absorption augmenter au cours de l'inhalation de Xe S (Fig. 1) on peut penser que le débit sanguin de cette région est encore suffisant pour assurer l'apport du Xe S. Il s'agit d'infarctus récent. L'Iode dans ce cas ne produit aucune opacification car il n'y a pas encore de lésion grave de la barrière hémato-encéphalique. Entre la deuxième et la quatrième semaine les infarctus cérébraux sont opacifiés par l'Iode (Caillé et coll. 1979) car la barrière est gravement lésée.

Les résultats de notre étude sont en accord avec le travail de Du Boulay et coll. (1979). Au sein d'un infarctus c'est la faiblesse ou l'absence d'opacification par le Xe S (Fig. 2) qui signifie pauvreté ou absence de perfusion. Une fixation faible de Xénon pour les tissus peut être due soit à des tissus anormaux avec perfusion normale, soit à un débit sanguin localement diminué, soit à l'association de ces deux facteurs, le second étant prépondérant dans les infarctus récents. La définition de zones qui fixent anormalement peu le Xe S au sein d'une région ischémique peut avoir une valeur pronostique en permettant de déterminer la viabilité d'un tissu (Radue et Kendall, 1978a) : une fixation de Xénon très faible ou inexistante traduit l'absence de perfusion d'où l'évolution vers la nécrose.

Le Xe S est un indicateur du débit sanguin cérébral régional. L'étude des variations de densité sur des coupes tomodynamométriques sériées données par un scanner rapide, et des mesures corrélées des concentrations de Xe S dans l'air expiré a permis à Ono et coll. (1979) puis Drayer et coll. (1980) de décrire une méthode de mesure du débit sanguin cérébral. Meyer et coll. (1980) appliquent cette méthode autoradiographique en mesurant la concentration du Xe S dans l'air expiré par thermo-conductivité tandis que Dhawan et coll. (1982) utilisent la spectrométrie de masse. Malgré ces améliorations successives Rottenberg et coll. (1982) dénoncent les raisons multiples d'erreurs (variations de 20 à 45 %) d'une telle méthode de calcul.

Cependant, s'il ne peut donner des valeurs absolues de débit, le Xe S est capable d'indiquer des variations de perfusion locale.

2. La fixation préférentielle du Xe S sur la substance blanche expliquée par sa liposolubilité permet d'obtenir une opacification importante des régions très myélinisées comme la moëlle cervicale (Pullicino et coll. 1979) ou les régions encéphaliques profondes. A concentration suffisante (70 %) le Xe S opacifie ces régions plus nettement que le contraste iodé.

Tout processus pathologique qui modifie l'élément myélinique ne peut être visualisé par le scanner sans injection et souvent bien médiocrement par l'injection d'Iode. Les lésions de démyélinisation, d'encéphalomyélite, de sclérose en plaque fixent mal le Xe S. Il y a diminution relative du coefficient d'absorption de ces lésions par rapport aux zones saines (Radue et Kendall, 1978b). Par méthode de soustraction il y a possibilité de mettre en évidence sur les plans de coupe des plaques démyélinisées ou de noter leur accentuation par rapport aux coupes réalisées sans contraste.

Dans les leucodystrophies et les mucopolysaccharidoses l'opacification par le Xe S est normale (Kendall et Moseley, 1981).

Les résultats publiés par Haughton et coll. (1980) sont beaucoup moins optimistes quant à l'efficacité du Xe S. Dans cette étude le Xe S est utilisé à doses subanesthésiques (concentrations inférieures à 50 %). Dans ces conditions le Xe S n'améliore pas la définition des plaques de sclérose et ne permet pas la détection de plaques nouvelles.

CONCLUSION

Au terme de cette présentation nous insistons sur le fait qu'à dose subanesthésique le mélange Xe-Kr permet d'obtenir une opacification trop modérée pour pouvoir être pris en compte dans les investigations tomodynamométriques courantes. Nos conclusions corroborent les résultats de Desbleds et coll. (1983), qui actuellement testent différents nouveaux mélanges gazeux à base de Xe.

La liposolubilité du Xe S le rend capable de diagnostiquer des pathologies démyélinisantes, mais à des concentrations qui mettent en cause son coût et ses effets hypnotiques. Cette indication préférentielle va être remise en question lorsque les possibilités de la Résonance Magnétique Nucléaire vont être quotidiennement exploitées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Badano-Repetto, J.L. (1953) : Nuevo prodedimiento de diagnostico radiologico con un gas opaco. Bol. Soc. Cir. Uruguay, 24, 452-458
- Caillé, J.M., Guibert, F., Bidabé, A.M., Billerey, J., Piton, J. (1979) : Enhancement of cerebral infarcts with CT. Computerized Tomography, 4, 73-77
- Caillé, J.M., Salamon, G. (1980) : Computerized Tomography, ed. Caillé J.M. and Salamon G., Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, pp. 3-293
- Collins, V. (1976) : Pharmacology of inorganic gas anesthetic Xenon. In Principles of anesthesiology, 2nd Edn, ed Lea and Febiger, Philadelphia, pp. 1541-1542
- Cullen, S.C., Gross, E.G. (1951) : The anesthetic properties of Xenon in animals and human beings, with additional observations on Krypton. Science, 113, 580-582.
- Desbleds, M., Desbleds, M.Th. (1983) : Utilisation du Xénon au cours des examens tomodynamométriques encéphaliques en pratique journalière. Information publiée dans La Presse Médicale, 12, n° 19
- Dhawan, V., Goldiner, P., Ray, C., Conti, J., Rottenberg, D.A. (1982) : Mass spectrometric measurement of end-tidal xenon concentration for clinical stable xenon/computerized tomography cerebral blood flow studies. Biomedical Mass Spectrometry, 9, 241-245
- Drayer, B.P., Wolfson, S.K., Reinmuth, O.M., Dujovny, M., Boehnke, M., Cook, E.E. (1978) : Xenon enhanced CT for analysis of cerebral integrity, perfusion and blood flow. Stroke, 9, 123-130
- Drayer, B.P., Gur, D., Wolfson, S.K., Cook, E.E. (1980) : Experimental xenon enhancement with CT imaging: cerebral applications. AJR, 134, 39-44
- Du Boulay, G.H., Radue, E.W., Thomas, D.J., Kendall, B.E. (1979) : Plain, iohalate-enhanced and Xenon-enhanced CT in cerebral infarction. In Cerebrovascular diseases. 11th Princeton Conference. Eds Nelson, Price, T.R. Raven, New York, pp. 57-69
- Foley, W.D., Haughton, V.M., Schmidt, J., Wilson, C.R. (1978) : Xenon contrast enhancement in computed body tomography. Radiology, 129, 219-220
- Haughton, V.M., Donegan, J.H., Walsh, P.R., Syvertsen, A., Williams, A. (1980) : A clinical evaluation of xenon enhancement for computed tomography. Invest. Radiol. 15, 160-163
- Kendall, B.E., Moseley, I.F. (1981) : Le Xénon, moyen de contraste pour tomodynamométrie. Principes et applications actuelles. J. Neuroradiology, 8, 3-12

Lawrence, J.H., Loomis, W.F., Tobias, C.A., Turpin, F.H. (1946) : Preliminary observations on the narcotic effect of Xenon with a review of values for solubilities of gases in water and oils. J. Physiol., 105, 197-199

Lazarev, N.V., Lyublina, E.I., Madasskaya, R.Y. (1948) : Abst. from Leningrad Research Inst. Ind. hyg. Fiziol. Zhur., J. Physiol. U.S.S.R., 34, 131

Meyer, J.S., Hayman, L.A., Yamamoto, M., Sakai, F., Nakajima, S. (1980) : Local cerebral blood flow measured by CT after stable xenon inhalation. AJR, 135, 239-251

Morris, L.E., Knott, J.R., Pittinger, C.B. (1955) : Electroencephalographic and blood gas observations in human surgical patients during xenon anesthesia. Anesthesiology, 16, 312-319

Ono, H., Morijam, T., Mori, K. (1979) : Measurement of regional cerebral blood flow by sequential xenon enhanced CT scan. In Cerebral blood flow and metabolism, eds Goth, F., Nagai, H., H., Tazaki, Y. Acta Neurol Scand (Suppl 2), 60, 220-221

Pittinger, C.B., Moyers, J., Cohen, S.C., Featherstone, R.M., Gross, E.G. (1953) : Clinicopathologic studies associated with xenon anesthesia. Anesthesiology, 14, 10-17

Pittinger, C.B., Faulconer, A., Knott, J.R., Pender, J.W., Morris, L.E., Bickford, R.G. (1955) : Electroencephalographic and other observations in monkeys during xenon anesthesia at elevated pressures. Anesthesiology, 16, 551-563

Pullicino, P., Du Boulay, G.H., Kendall, B.E. (1979) : Xenon enhancement for computed tomography of the spinal cord. Neuroradiology, 18, 63-66

Radue, E.W., Kendall, B.E. (1978a) : Xenon enhancement in tumours and infarcts. Neuroradiology, 16, 224-224

Radue, E.W., Kendall, B.E. (1978b) : Iodine and Xenon enhancement of Computed Tomography (CT) in multiple sclerosis (MS). Neuroradiology, 15, 153-158

Rockoff, S.D., Mendelsohn, N.L. (1962) : Evaluation of xenon as a gaseous roentgenographic contrast material. Am. Rev. Resp. Dis., 26, 434-438

Rottenberg, D.A., Lu, H.C., Kearfott, K.J. (1982) : The in vivo autoradiographic measurement of regional cerebral blood flow using stable Xenon and Computerized tomography : The effect of tissue heterogeneity and computerized tomography noise. J. Cereb. Blood Flow Metabol., 2, 173-177

Steward, A., Allott, P.R., Cowles, A.C., Mapleson, W.W. (1973) : Solubility coefficients for inhaled anesthetics for water, oil and biological media. Br. J. Anesthesiol., 45, 282-293

Veall, N., Mallet, B.L. (1978) : The partition of trace amounts of Xenon between human blood and brain tissues at 37°C. Phys. Med. Biol., 10, 375-380

White, A., Handler, P., Smith, E. (1968) : Principles of Biochemistry. New York Mc Graw-Hill Co., pp. 859

Winkler, S.S., Spira, J. (1966) : Radiopacity of Xenon under hyperbaric conditions. Am. J. Roentgenol. 96, 1035-1040

Winkler, S.S., Holden, J.E., Sackett, J.F., Flemming, D.C., Alexander, S.C. (1976) : Xenon and Krypton as Radiographic Inhalation contrast media with computerized tomography: Preliminary note. Invest. Radiol., 12, 19-20

Winkler, S.S., Sackett, J.F., Holden, J.E., Flemming, D.C., Alexander, S.C., Madsen, M., Kimmel, R.I. (1977) : Xenon inhalation as an adjunct to computerized tomography of the brain: Preliminary study. Invest. Radiol., 12, 15-18

Zilkha, E., Kendall, B.E., Hayward, L.L.R., Radue, E.W., Ingram, G.S. (1978) : Diagnosis of subdural haematoma by computed axial tomography: use of Xenon inhalation for contrast enhancement. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 41, 370-373

Clinical evaluation of xenon krypton enhancement of computed tomography in cerebral infarcts

A M Bidabé*, P Floras*, P Macrez*, M Ekutsu*, M Sabathié**, J M Caillé*

*Service de Neuroradiologie - Hôpital Pellegrin-Tripode - 33076 BORDEAUX Cedex
**Département Anesthésie-Réanimation - Hôpital Pellegrin-Tripode - 33076 BORDEAUX

Stable Xenon and Krypton are inert gases which are radiopaque by virtue of their relatively high atomic number (54 and 36). Unlike Xenon, Krypton has no anaesthetic properties. Like iodine both gases increase attenuation coefficient (Hounsfield Units) in computed tomography. They cross the normally brain blood barrier and are freely diffusible in brain tissue. Their solubility is proportional to fat content. Five patients with recent infarcts were scanned : - without contrast medium (as plain scans), - during and after Xe-Kr mixture inhalation, - after Telebrix 38. A supply of Krypton 45 % and Xe 55 % was made available and an 63 % mixture with oxygen was given. The major advantage of the Krypton supply is the reduction of Xenon which is very expansive and an anaesthetic agent. Xenon, at this subanaesthetic concentration provide a very low degree of contrast enhancement. The main application in recent infarction should be of value in follow-up of patients and prognosis of tissue viability, using high concentration of Xenon. But the use of Xenon to these investigations must be balanced against its high cost and its anaesthetic effects.

COMMUNIQUES

HOMMAGE A JEAN BOBON

Deux revues, les Feuilletts Psychiatriques de Liège et les Acta Psychiatrica Belgica ont dédié plusieurs de leurs numéros à Jean Bobon afin de lui rendre hommage à l'occasion de son éméritat.

Les numéros ont été réunis en volume de "Mélanges" dont voici la table des matières :

Table des matières

Feuilletts psychiatriques de Liège (vol. 16, n° 1/2, 1983)

Propos sur la schizophrénie par J. PAQUAY

Gradiva et transfert par F. CROUFER

Intérêt et difficultés de l'internationalisation de la mesure de la psychopathologie par l'échelle AMDP par D.P. BOBON

Quelques expressions de la bipolarité maniaco-dépressive par C. MORMONT
lo sono sempre vista par C. DEMOULIN

Traitement de la dépression en milieu hospitalier par M. PARENT

Nouvelles perspectives dans le diagnostic et le traitement de la pathologie anxieuse par M. ANSSEAU

De la psycho-relaxation aux psycho-relaxants par M. BREULET

Quelques considérations sur le corps, le psychodrame et la psychanalyse par Elisabeth CROUFER-NORTH

Première application et modification de l'échelle d'anxiété d'Hamilton-Lecomte par C. BRONCKART, C. MORMONT, D.P. BOBON et J. LECOMTE

Abord psychologique de l'enfant énurétique par Paule LABAR et Régine AREND-DUFRASNE

Le tabou de la manipulation en psychothérapie par G. HOUGARDY

Il y a jargonaphasie et jargonaphasie par R. HUVELLE

L'acquisition du langage, livre de M-L MOREAU ET M. RICHELLE présenté par H. COLLON

Le plan BEVERIDGE. A propos d'un anniversaire, 40 ans après par B. XHENSEVAL
Quelques réflexions à propos du Ballet Petrushka de Maurice BEJART par Arlette LECOQ

La criminologie aux prises avec les données personnelles par G. KELLENS

Essais sélectifs des antidépresseurs sur l'activité spontanée des neurones monoaminergiques par A. DRESSE

Acta Psychiatrica belgica (vol. 83, n° 2 et 3, 1983).

TITECA J. Introduction en guise d'hommage à Jean BOBON	83
SARTORIUS N. (Genève). La classification : une optique internationale.....	88
SUTTER J. (Marseille). Aperçu historique de la psychopathologie française	104
PICHOT P. (Paris). Situation du diagnostic et de la classification dans les années 1980. La France et la tradition francophone	115
LEHMANN H.E. (Montréal). De Binet et Wundt aux mesures neuro-psychologiques et aux échelles de comportement	135
HEIMANN H. (Tübingen). De Kraepelin au système AMDP	147
HAMILTON M. (Leeds). Us et abus des échelles d'évaluation et des statistiques en psychopharmacologie	155
LUCCIONI H. (Marseille). Quelques mots sur la quantification de la clinique dans la recherche en psychiatrie	163
DONGIER M. (Montréal). Recherche clinique en psychiatrie. Perspectives d'avenir	169
BERNER P., KATSCHNIG H. ET LENZ G. (Wien). Sémiologie et nosologie	181
DOR J. (Paris). Jean BOBON et la psychopathologie du langage	197
POUSSEUR H. (Liège). Vers une technologie jardinière	207
VOLMAT R. et BELIN Cl.J. (Besançon). Expression graphique des deux grandes névroses : l'hystérique et l'obsessionnelle	220
JANSSEN P.A.J. (Beerse). La recherche pharmaceutique	233
DENIKER P. (Paris). Médicaments antipsychotiques et drogues inductrices de psychoses	239
LECOMTE J., FRANCHIMONT P., FORTHOMME P. et WOOLF N. (Liège). Les marqueurs des états de contrainte de nature affective	255
CASSANO G.B., CONTI L. et MASSIMETTI G. (Pise). Recherches psychopharmacolo- giques multicentriques et banque de données	267
SANCHEZ BLANQUE A., GIRALDEZ REVUELTA E. et LOPEZ PLAZA J. (Zaragoza). Les influences psychosociales dans le déclenchement de la schizophrénie. Une étude au moyen du système AMDP	282
LUMINET D. (Liège). L'alexithymie. Un nouveau syndrome ?	289
SHEPHERD M. (London). La découverte de la nature de la pellagre. Leçons d'une recherche épidémiologique et psychiatrique remarquable	295
Principales publications du Professeur Jean BOBON	304

Le volume peut être obtenu en passant commande à C. MORMONT,
Clinique Psychiatrique Universitaire, rue Saint-Laurent 58,
4000 Liège et en versant la somme de 1.500 francs au compte
n° 240-0470554-11, intitulé Mélanges à Jean Bobon.

GRUPO DI STUDIO DI ANESTESIA E RIANIMAZIONE PER LA NEUROCHIRURGICA
E LA NEUROLOGIA (Pdt V. BORRONI)

et

ASSOCIATION DE NEURO-ANESTHESIE REANIMATION DE LANGUE FRANCAISE
(Pdt L. CAMPAN Sr)

Réunion commune TURIN, 5 et 6 avril 1984.

THEME : La pression intracrânienne et ses implications en neuro-
anesthésie et réanimation.

1^{ère} journée : Réanimation et hypertension intracrânienne.

- Conférences :

- . implications cliniques et pronostiques de l'HIC
- . indications du monitoring de la PIC
- . choix de la technique de monitoring de la PIC
- . méthodes thérapeutiques de l'HIC

- Communications sur le thème.

2^{ème} journée : Anesthésiologie et hypertension intracrânienne.

- Table ronde :

- . phases critiques de l'anesthésie
- . pharmacologie actuelle : bilan et perspectives
- . techniques de ventilation
- . méthodes de surveillance

- Communications sur le thème.

Date limite d'envoi des résumés : 31 janvier 1984.

au Secrétariat Scientifique : Pr R. URCIUOLI,
Istituto di Neurochirurgia
Via Cherasco 15
10126 TURIN

Contact pour le France : G. BOULARD, Hôpital Pellegrin,
33076 BORDEAUX CEDEX

Marseille, les 22 et 23 juin 1984.

AVANT PROGRAMME.

Les thèmes retenus sont :

- . La Circulation et le Métabolisme du Cerveau Agé
- . Communication et Mémoire au cours du 3^e Age

Des communications libres sur des sujets de Neurogériatrie et de Gériatopsychiatrie sont prévues.

Les propositions de communications (1 page dactylographiée) sur les différents thèmes doivent être adressées au Secrétariat du Congrès avant le 1^{er} mars 1984.

Un comité de lecture se réserve le droit de limiter et de publier les travaux présentés.

Le Secrétariat peut se charger du logement.
Les hôtels sont proposés selon proximité et moyens de transport.
Préciser le type de chambre et le nombre de nuits lors de l'inscription.

Le montant des droits (comprenant frais d'inscription, déjeuner du vendredi, repas officiel du vendredi soir, pauses-café, etc.) est de :

- . Participants : 900 F
- . Accompagnants : 500 F

Le chèque, libellé à l'ordre de l'A.R.E.N.E.P., est à adresser, de même que les demandes de renseignements et les propositions de communication au Secrétariat du Congrès.

Secrétariat du Congrès : Service des Maladies
du Système Nerveux
Hôpital Saint-Joseph
13285 MARSEILLE CEDEX 8
Tél. : (91) 94.95.00/94.95.48

Instructions aux auteurs

L'objectif de " CIRCULATION ET METABOLISME DU CERVEAU " est de diffuser rapidement l'information scientifique de pointe parmi chercheurs et cliniciens dans le domaine de la connaissance de la circulation et du métabolisme du cerveau et des thérapeutiques correspondantes, dans le cadre de la francophonie et vers l'extérieur.

Le Journal accepte pour publication des textes rédigés en français et en anglais, avec un résumé détaillé dans l'autre langue.

Les RUBRIQUES REDACTIONNELLES principales sont les suivantes :

ARTICLE ORIGINAL : travail original, fondamental ou clinique, apportant une contribution à la connaissance de la circulation et du métabolisme du cerveau et aux thérapeutiques correspondantes.

SYNTHESE : exposé actuel, critique et exhaustif d'un thème de recherche ou de clinique (le titre de la synthèse est à soumettre, avant l'envoi du texte, au Bureau de Rédaction, ce type de contribution se faisant généralement à la demande de la Rédaction).

EN BREF : observation expérimentale/clinique significative ou résultats résolument nouveaux, publiés de manière préliminaire, en vue d'une prise d'antériorité (1 à 2 pages).

Les textes seront soumis de manière anonyme à l'avis de deux membres du Comité de Lecture du Journal.

La DACTYLOGRAPHIE des textes sera réalisée sur feuilles à grille, en vue de leur reproduction photographique ; les feuilles à grille et les intructions aux auteurs détaillées sont disponibles sur simple demande à la Rédaction ;

J.C. DEPRESSEUX
Circulation et Métabolisme du Cerveau
Unité Médicale du Cyclotron
Sart-Tilman B 30
B 4000 LIEGE.

téléphone : 32 (41) 561687 & 562361