

DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **11 juillet 2025**

Nom de famille et prénom de l'auteur. e : **Madame Rita EL KHOURY**

Titre de la thèse : Établissement d'un modèle in vitro différencié de la barrière hémato-encéphalique du primate non humain et analyse du tri endosomal pour étudier la délivrance cérébrale de médicaments par transcytose médiée par les récepteurs.

Résumé



Pour assurer un microenvironnement cérébral régulé nécessaire au fonctionnement optimal du système nerveux central, deux interfaces biologiques majeures contrôlent les échanges entre le cerveau et la circulation systémique : la barrière hémato-encéphalique (BHE) située au niveau de l'endothélium cérébral et la barrière sang-liquide cérébrospinal située au niveau de l'épithélium des plexus choroïdes. Ces interfaces limitent fortement la biodisponibilité cérébrale des médicaments, compliquant le traitement de maladies neurodégénératives, neuro-inflammatoires, neuro-infectieuses et psychiatriques. Le ciblage de la transcytose médiée par récepteur (TMR) semble être une stratégie efficace pour délivrer des macromolécules au cerveau. Néanmoins, le développement de cette approche est freiné par le manque de connaissance sur le tri endosomal qui se produit dans les cellules endothéliales cérébrales (CEC) et qui oriente le vecteur thérapeutique vers le recyclage, la dégradation ou l'exocytose abluminale. Les modèles in vitro de la BHE sont utiles pour générer ces connaissances et tester les stratégies de délivrance cérébrale de médicaments macromoléculaires par TMR. Mais les modèles actuels posent des problèmes en termes de transposition à l'homme, de conservation des caractéristiques des CEC ou de reproductibilité. L'objectif de cette thèse était de développer un modèle in vitro de BHE généré par culture primaire des CEC isolées à partir de tissu cérébral de primate non-humain (PNH), le singe *Macaca fascicularis*,

puis de l'utiliser pour développer une méthode robuste de quantification de la distribution de macromolécules dans les différents compartiments vésiculaire des CEC. Nous avons développé ce modèle de BHE à partir de préparations cryopréservées de capillaires cérébraux de PNH. Le modèle a été validé par sa faible perméabilité au saccharose corrélée à la localisation péricellulaire des protéines de jonctions serrées, son niveau limité de formation de fibres de stress ainsi que par la polarité du transport dépendant du transporteur d'efflux ABCG2. Le modèle est reproductible entre les différentes préparations cellulaires générées à partir de chaque animal. Nous avons ensuite évalué l'expression des récepteurs impliqués dans la TMR par RT-qPCR et spectrométrie de masse. Cette étude a été menée en parallèle sur des préparations de capillaires cérébraux et des plexus choroïdes de singe et de rat, afin de déterminer les capacités de TMR respectives des deux interfaces sang-cerveau. Des différences inter-espèces ont été relevées concernant l'abondance relative des récepteurs entre les deux barrières. Ces récepteurs sont tous exprimés dans les CEC de PNH en culture, avec une abondance protéique inférieure à celle mesurée dans les capillaires isolés. Nous avons enfin établi une méthode précise de quantification du trafic intracellulaire de macromolécules dans les CEC, basée sur une analyse de colocalisation avec les marqueurs vésiculaires des différents compartiments endosomaux par microscopie confocale. A titre de preuve de concept, nous nous sommes focalisés sur la voie de transcytose liée au récepteur de la transferrine, couramment ciblé pour l'administration de macromolécules. Nous avons suivi le devenir de son ligand endogène : l'holo-transferrine, et montré son internalisation préférentielle dans des vésicules recouvertes de clathrine et sa colocalisation principale avec les endosomes de recyclage. Ce modèle cellulaire primate de la BHE, associé à l'analyse quantitative du tri intracellulaire, devrait s'avérer un outil précieux pour optimiser la conception de vecteurs thérapeutiques cliniquement pertinents pour permettre la délivrance cérébrale de médicaments par TMR.

Mots-clés :

Culture primaire de primate non-humain, Barrière hémato-encéphalique, Transcytose médiée par récepteur, Tri endosomal,