

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2021

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Étude morphologique des lésions encéphaliques et hypothalamiques
présentes chez quatre patients décédés des suites d'une infection par
le SARS-CoV2.**

Présentée et soutenue publiquement le 11 Octobre 2021 à 16h
au Pôle Formation
par **Julie DEWISME**

JURY

Président :

Madame le Professeur Emmanuelle LETEURTRE

Assesseurs :

Monsieur le Docteur Vincent PREVOT

Monsieur le Docteur Thibaud LEBOUVIER

Monsieur le Docteur Grégory KUCHCINSKI

Directeur de thèse :

Monsieur le Professeur Claude-Alain MAURAGE

Avertissement

**La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises
dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs**

Sommaire :

RÉSUMÉ	1
INTRODUCTION	3
I. <u>Généralités sur le Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV2)</u>	3
<i>I.1. Les Coronavirus</i>	3
<i>I.2. Le SARS-CoV2</i>	4
II. <u>Diffusion du SARS-CoV2</u>	5
<i>II.1. Transmission interhumaine</i>	5
<i>II.2. L'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine 2 (ACE2)</i>	5
<i>II.3. Réplication virale</i>	6
III. <u>Les symptômes liés à l'infection par le SARS-CoV2</u>	7
<i>III.1. Les symptômes non neurologiques</i>	7
<i>III.2. Les symptômes neurologiques</i>	8
IV. <u>Éléments de physiopathologie de l'infection par SARS-CoV2</u>	8
<i>IV.1. Les lésions vasculaires</i>	9
IV.1.a. <u>Endothéliopathie</u>	9
IV.1.b. <u>Thromboses</u>	9
<i>IV.2. État inflammatoire et orage cytokinique</i>	9
<i>IV.3. ACE2</i>	12
V. <u>SARS-CoV2 et SNC</u>	14
<i>V.1. Détection</i>	14
<i>V.2. Hypothèses des mécanismes d'entrée dans le SNC</i>	14
V.2.a. <u>La voie rétrograde</u>	14
V.2.b. <u>La voie hématogène</u>	14
V.2.c. <u>Les organes circumventriculaires (OCV)</u>	15
V.2.d. <u>Les leucocytes</u>	15
VI. <u>Lésions macroscopiques et histologiques cérébrales de patients décédés de la COVID-19</u>	15
<i>VI.1. Les lésions vasculaires</i>	15
<i>VI.2. Les lésions inflammatoires</i>	16
<i>VI.3. Signes de souffrance cérébrale</i>	16
VII. <u>COVID-19 et hypothalamus</u>	17
<i>VII.1. L'axe hypothalamo-hypophysaire</i>	17

VII.2.	<i>La posthypophyse</i>	18
VII.3.	<i>SARS-CoV2 et axe gonadotrope</i>	19
VII.4.	<i>SARS-CoV2 et axe corticotrope</i>	20
VII.5.	<i>SARS-CoV2 et axe thyroïdienne</i>	21
VII.6.	<i>SARS-CoV2 et axe lactotrope</i>	22
VII.7.	<i>SARS-CoV2 et axe somatotrope</i>	22
VII.8.	<i>SARS-CoV2 et ADH</i>	23
VIII.	<u>Synthèse et objectifs</u>	24
PATIENTS ET MÉTHODES		25
I.	<u>Patients</u>	25
I.1.	<i>Patient infecté n°1 (PI1)</i>	25
I.2.	<i>Patient infecté n°2 (PI2)</i>	26
I.3.	<i>Patient infecté n°3 (PI3)</i>	27
I.4.	<i>Patient infecté n°4 (PI4)</i>	28
I.5.	<i>Patient contrôle n°1 (PC1)</i>	29
I.6.	<i>Patient contrôle n°2 (PC2)</i>	30
II.	<u>Modalités d'autopsie</u>	33
III.	<u>Parcours des tissus</u>	33
IV.	<u>RT-PCR</u>	35
V.	<u>Études radiologiques post-mortem</u>	36
V.1.	<i>IRM 3T</i>	36
V.2.	<i>IRM 7T</i>	37
V.3.	<i>Modalités d'interprétation</i>	38
VI.	<u>Particularités de la prise en charge des hypothalamus</u>	38
VII.	<u>Techniques histologiques</u>	39
VII.1.	<i>Les prélèvements</i>	39
VII.2.	<i>Les colorations</i>	39
VII.3.	<i>Études immunohistochimiques (IHC)</i>	40
VII.4.	<i>Études en immunofluorescence (IF)</i>	41
VIII.	<u>Modalités d'interprétation des résultats</u>	42
VIII.1.	<i>Définition des lésions histologiques</i>	42
VIII.2.	<i>Recherche de lésions neurodégénératives</i>	43
VIII.3.	<i>Interprétation des IHC</i>	43
VIII.4.	<i>Interprétation des IF</i>	44
RÉSULTATS		44

I.	<u>Microbiologie</u>	44
	<i>I.1. RT-PCR SARS-CoV2</i>	44
	<i>I.2. Autres études en Virologie</i>	45
	<i>I.3. Bactériologie</i>	45
II.	<u>Histologie des organes</u>	46
	<i>II.1. Les poumons</i>	46
	<i>II.2. Le cœur</i>	46
	<i>II.3. Le tube digestif</i>	46
	<i>II.4. Le foie</i>	46
	<i>II.5. La rate</i>	47
	<i>II.6. La thyroïde</i>	47
	<i>II.7. Les reins</i>	47
	<i>II.8. Autres organes</i>	47
III.	<u>Histologie et immunohistochimie des cerveaux hors hypothalamus</u>	47
	<i>III.1. Patient infecté n°1 (PI1)</i>	48
	III.1.a. <u>Signes de souffrance cérébrale</u>	48
	III.1.b. <u>Lésions vasculaires</u>	48
	III.1.c. <u>Bulbe olfactif</u>	49
	III.1.d. <u>Lésions de neurodégénérescence</u>	49
	<i>III.2. Patient infecté n°2 (PI2)</i>	50
	III.2.a. <u>Signes de souffrance cérébrale</u>	50
	III.2.b. <u>Lésions vasculaires</u>	51
	III.2.c. <u>Bulbe olfactif</u>	52
	III.2.d. <u>Lésions de neurodégénérescence</u>	52
	<i>III.3. Patient infecté n°3 (PI3)</i>	53
	III.3.a. <u>Signes de souffrance cérébrale</u>	53
	III.3.b. <u>Lésions vasculaires</u>	54
	III.3.c. <u>Bulbe olfactif</u>	54
	III.3.d. <u>Lésions de neurodégénérescence</u>	55
	<i>III.4. Patient infecté n°4 (PI4)</i>	57
	III.4.a. <u>Signes de souffrance cérébrale</u>	57
	III.4.b. <u>Lésions vasculaires</u>	57
	III.4.c. <u>Bulbe olfactif</u>	58
	III.4.d. <u>Lésions de neurodégénérescence</u>	58
	<i>III.5. Patient contrôle n°1 (PC1)</i>	60

III.5.a.	<u>Signes de souffrance cérébrale</u>	60
III.5.b.	<u>Lésions vasculaires</u>	60
III.5.c.	<u>Bulbe olfactif</u>	61
III.5.d.	<u>Lésions de neurodégénérescence</u>	61
III.6.	<i>Patient contrôle n°2 (PC2)</i>	62
III.6.a.	<u>Signes de souffrance cérébrale</u>	62
III.6.b.	<u>Lésions vasculaires</u>	62
III.6.c.	<u>Bulbe olfactif</u>	63
III.6.d.	<u>Lésions de neurodégénérescence</u>	63
III.7.	<i>Distribution globale des lésions chez les PI et PC</i>	67
III.7.a.	<u>Lésions parenchymateuses non ischémiques ni hémorragiques</u> 67	67
III.7.b.	<u>Les lésions ischémiques et hémorragiques</u>	67
III.7.c.	<u>Infiltrats cellulaires périvasculaires</u>	68
IV.	<u>Histologie et immunofluorescence des hypothalamus</u>	70
IV.1.	<i>Morphologie</i>	70
IV.2.	<i>IF</i>	71
IV.2.a.	<u>ACE2</u>	71
IV.2.b.	<u>IBA-1</u>	73
IV.2.c.	<u>Spike</u>	75
V.	<u>IRM 3T</u>	76
V.1.	<i>Artefacts liés à la technique</i>	76
V.2.	<i>Interprétation des imageries post-mortem</i>	77
V.3.	<i>Comparaison avec l'histologie.</i>	78
VI.	<u>IRM 7T</u>	79
DISCUSSION	80
I.	<u>La constance des lésions vasculaires</u>	81
II.	<u>Lien avec l'angiopathie amyloïde</u>	83
III.	<u>Les particularités de l'hypothalamus</u>	85
LIMITES DE L'ETUDE	86
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	87
REFERENCES	89
ANNEXE	100

Liste des abréviations

ACE2	Enzyme de Conversion de l'Angiotensine 2
ACTH	Adrenocorticotropique Hormone
ADH	Hormone anti-diurétique
ARN	Acide ribonucléique
AVC	Accidents vasculaires cérébraux
BA	Aire de Brodmann
βA4	Peptide amyloïde β4
BHE	Barrière hémato-encéphalique
CIVD	Coagulation intravasculaire disséminée
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
CRAM	Critical illness associated microbleed
DNF	Dégénérescences neurofibrillaires
DTI	Représentation de tenseur de diffusion
ECPV	Espaces clairs périvasculaires
EEG	Électroencéphalogramme
EM	Éminence médiane
FLAIR	Fluid Attenuated Inversion Recovery
FSH	Follicle Stimulating Hormone
GH	Growth hormone
HES	Hémalun-Erythrosine-Safran
HTA	Hypertension artérielle
IF	Immunofluorescence
IHC	Immunohistochimie
IMC	Indice de masse corporelle
IOT	Intubation oro-trachéale
IRM	Imagerie par résonance magnétique

LCR	Liquide céphalo-rachidien
LH	Luteinizing Hormone
LT	Lymphocytes T
MA	Maladie d'Alzheimer
OCV	Organes circumventriculaires
PC	Patient contrôle
PI	Patient infecté
PRL	Prolactine
Protéine S	Protéine Spike
RT-PCR	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
SARS-CoV	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus
SARS-CoV2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SB	Substance blanche
SDRA	Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë
SG	Substance grise
SNC	Système nerveux central
SRAA	Système Rénine-Angiotensine-Aldostérone
SWI	Susceptibility Weighted Imaging
T	Tesla
TBS	Tris Buffered saline
TE	Temps d'écho
TMPRSS2	Transmembrane Protéinase Serine 2
TR	Temps de répétition
TSH	Thyréostimuline
T3	Tri-iodothyronine
T4	Tetra-iodothyronine

RÉSUMÉ

Introduction : Le SARS-CoV2 est un virus de la famille des *Coronavirus* responsable de la COVID-19. Les premiers symptômes sont majoritairement respiratoires mais il existe des symptômes neurologiques centraux et périphériques. Le virus a déjà été mis en évidence dans le SNC par l'intermédiaire de la protéine Spike qui lui permet de pénétrer dans les cellules via le récepteur de l'ACE2. Le passage du SARS-CoV2 dans le SNC pourrait se faire par voie rétrograde ou hématogène et notamment via les organes circumventriculaires. L'hypothalamus a un rôle central dans la régulation neuroendocrine et il existe des premières descriptions cliniques de désordres de l'axe hypothalamo-hypophysaires dans le cadre de la COVID-19. L'identification de lésions hypothalamiques chez des patients décédés de la COVID-19 pourrait permettre d'expliquer ces désordres.

Méthodes : Les tissus cérébraux de quatre patients décédés de la COVID-19 ont été prélevés dans le cadre de la cohorte LICORNE. Ceux de deux patients contrôles décédés en réanimation ont été étudiés dans le cadre de la collection Lille Neurobank. Les cerveaux ont été fixés en Formol puis étudiés en IRM 3T. Les hypothalamus ont été prélevés et deux d'entre eux ont été étudiés en IRM 7T. Nous avons réalisé une étude en IHC sur les encéphales et une étude en IF sur les hypothalamus.

Résultats : L'étude des encéphales a montré pour les quatre patients infectés des lésions de nature vasculaire sans localisation préférentielle et d'intensité variable (microhémorragies, hématome, lacune de type I ou II et hémorragie méningée). Chez l'un des patients il existait une vascularite granulomateuse accompagnant une angiopathie amyloïde pure. Il n'a pas été montré de lésion histologique récurrente de la région hypothalamique. L'ACE2 était exprimée par l'épithélium des plexus choroïdes, la paroi des vaisseaux non fenêtrés et les cellules gliales et neuronales. Il existait également une immunoréactivité pour la protéine Spike dans la région hypothalamique pour trois des PI.

Conclusion: Cette étude préliminaire a montré des lésions vasculaires cérébrales chez des

patients décédés de la COVID-19 d'intensités variées pouvant réaliser un tableau de *critical illness associated microbleed*. Elle rapporte pour la première fois à notre connaissance le cas d'un patient décédé d'une vascularite granulomateuse compliquant une angiopathie amyloïde et faisant suite à une infection par le SARS-CoV2. Nous avons confirmé l'expression d'ACE2 dans la région hypothalamique, qui pourrait être une zone de passage du virus.

INTRODUCTION

I. Généralités sur le Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV2)

I.1. *Les Coronavirus*

La famille des *Coronavirus* est une famille de virus connue depuis 1965 caractérisée par la présence d'une Glycoprotéine S capsulaire correspondant à la protéine Spike (ou protéine S), qui lui donne un aspect en couronne en microscopie électronique (Figure 1). Elle est liée à une glycoprotéine transmembranaire (ou protéine M) qui a pour rôle de stabiliser la capsule (1). Il s'agit de virus à acide ribonucléique (ARN) simple brin positif dont le brin d'ARN est associé à une nucléocapside (ou protéine N) de forme hélicoïdale (Figure 2) (2).

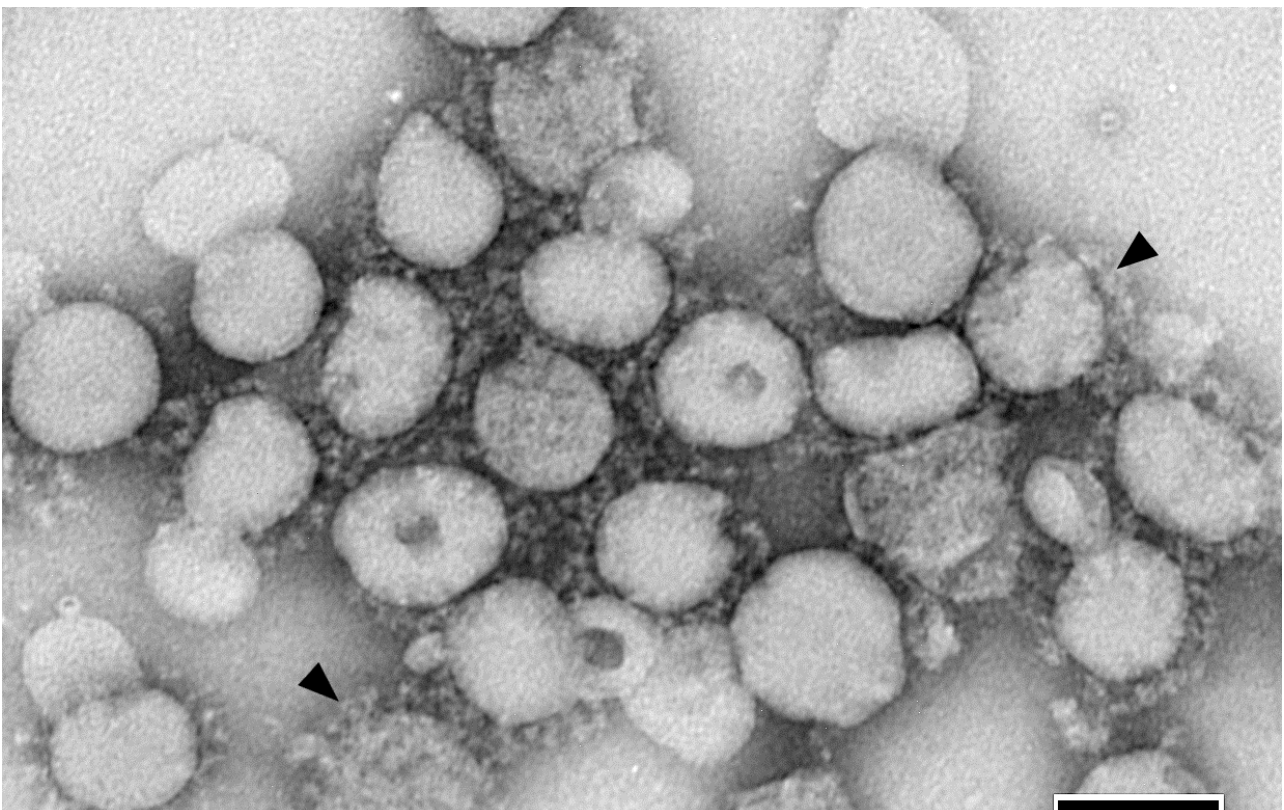


Figure 1 : Image négative d'un grand nombre de virions du SARS obtenue par microscopie électronique à transmission à partir d'un isolat de culture tissulaire. Les protéines S sont pointées par les flèches noires (photo issue de la bibliothèque d'images de santé publique des Centres pour le contrôle et la prévention des maladies) (3).

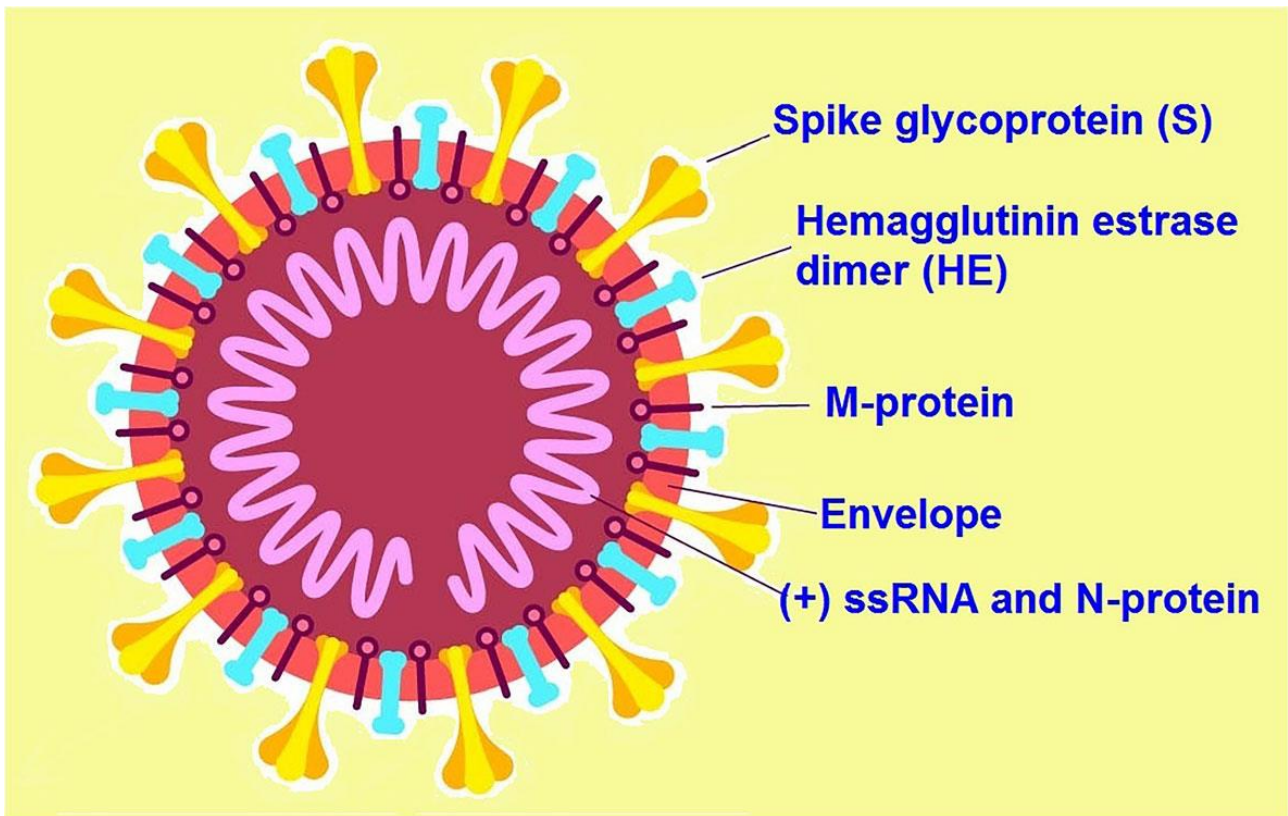


Figure 2 : Schéma de la structure du SARS-CoV2. (Esakandari et al (2)).

Il existe quatre sous familles de *Coronavirus* : alpha, bêta, gamma et delta. Ce sont les virus appartenant aux groupes alpha et bêta qui sont contaminants pour les mammifères dont l'Homme alors que ceux des groupes gamma et delta sont infectants principalement pour les oiseaux. Parmi les *Coronavirus* touchant les mammifères il semble que ce soit les virus du groupe bêta qui soient responsables d'infections sévères. Les deux virus les plus représentatifs de ce groupe sont le Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) apparu en 2002 - 2003 et le Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) apparu en 2012 (2,4).

1.2. Le SARS-CoV2

Un cluster de patients atteints d'une infection pulmonaire sévère d'étiologie inconnue a été rapporté pour la première fois en Décembre 2019 dans la région de Wuhan en Chine. Très vite la source de cette infection est apparue comme étant un virus du groupe bêta de la famille des *Coronavirus* initialement appelé 2019-nCoV puis renommé SARS-CoV2 suite

à sa ressemblance génétique avec le SARS-CoV. Ce virus est responsable de la Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) et s'est très rapidement répandu sur l'ensemble du globe au point que l'état de pandémie mondiale ait été déclaré par l'Organisation Mondiale de la Santé le 11 Mars 2020 (5,6).

II. Diffusion du SARS-CoV2

II.1. Transmission interhumaine

Le mécanisme principal de transmission interhumaine du SARS-CoV2 semble être la contamination par l'inhalation de gouttelettes et d'aérosols de patients infectés et par le biais de surfaces inertes contaminées (7).

II.2. L'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine 2 (ACE2)

Une fois inhalé ou ingéré, le virus va cibler les cellules exprimant l'ACE2 à leur surface. L'ACE2 est le récepteur principal de la protéine S. Elle est exprimée dans de nombreux tissus comme ceux du poumon (pneumocytes de type I et II) et le tube digestif mais aussi dans les vaisseaux (endothélium et paroi musculaire lisse), le rein et le système nerveux central (SNC) (cellules gliales et neurones) (8–11).

L'ACE2 est associée à une protéine transmembranaire : la Transmembrane Protéine Serine 2 (TMPRSS2) qui serait nécessaire à l'invasion de la cellule hôte par le virus en favorisant le clivage de la protéine S et la fusion de la capsule du virus avec la membrane cytoplasmique de la cellule cible (Figure 3) (12,13).

D'autres récepteurs seraient également susceptibles de permettre la pénétration du virus dans l'organisme comme la Cathepsine L, CD147, la Neuropilin-1 ou la Basigin. La Cathepsine L qui est présente dans la microglie et la Neuropilin-1 dans les cellules endothéliales (14).

II.3. Réplication virale

Une fois que le virus a pénétré la cellule hôte, la protéine S est clivée et l'ARN est libéré dans le cytoplasme. Il va alors être partiellement traduit par les ribosomes de la cellule infectée en de nouvelles protéines virales afin de former avec le réticulum endoplasmique un complexe de « réplication-transcription ». Dans ce complexe, l'ARN simple brin positif est ensuite copié par l'ARN Polymérase virale :

- Soit en ARN simple brin négatif pour qu'il serve de matrice et puisse être de nouveau transcrit en ARN simple brin positif.
- Soit en séquences d'ARN de plus petite taille dites « subgénomiques » qui codent pour des protéines virales de structures

L'ARN positif ainsi transcrit sera incorporé dans une nouvelle capsid issue de la traduction des ARN subgénomiques pour former un nouveau virion (15–17).

Les virions vont former des corps d'inclusions intracytoplasmiques et vont finir par être libérés suite à la lyse de la cellule infectée (Figure 3).

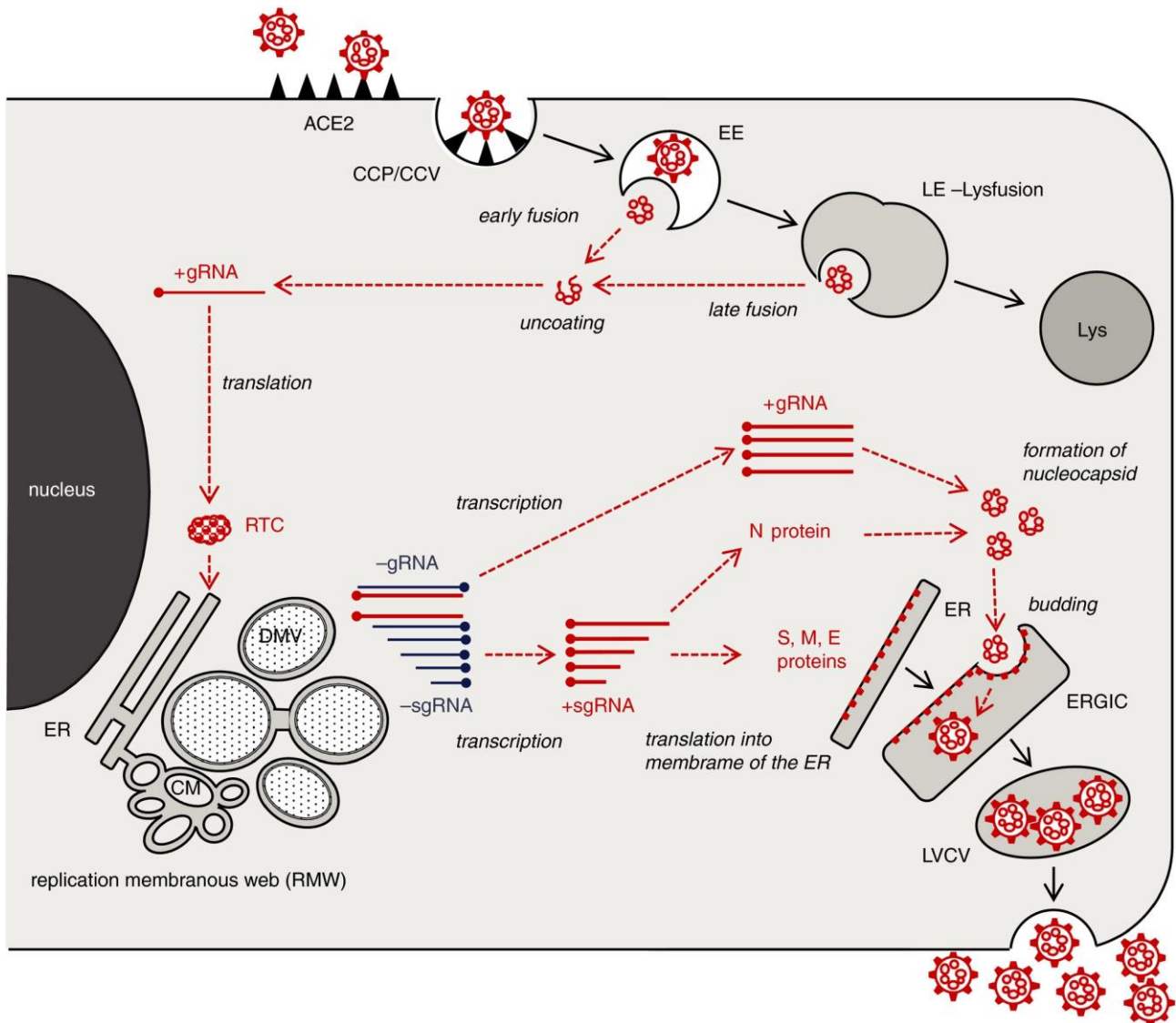


Figure 3 : Schéma des mécanismes d'entrée du SARS-CoV2 dans une cellule hôte et des mécanismes de réplication virale. +gRNA : ARN simple brin positif ; RTC : complexe de « répliation-transcription » ; ER : réticulum endoplasmique ; -gRNA : ARN simple brin négatif ; sgRNA : ARN sub-génomique. (Hopfer et al) (17).

III. Les symptômes liés à l'infection par le SARS-CoV2

La COVID-19 est responsable d'une grande variété de symptômes qui peuvent s'expliquer par la large distribution du récepteur de l'ACE2 dans l'organisme.

III.1. *Les symptômes non neurologiques*

Les symptômes les plus fréquents au diagnostic sont les symptômes respiratoires représentés en premier lieu par la toux et la dyspnée, et les signes généraux avec l'hyperthermie, la fatigue et les myalgies. De façon non exceptionnelle les patients peuvent présenter une symptomatologie digestive sous la forme de douleurs abdominales, diarrhées

et/ou vomissements. Il est aussi fréquemment décrit des symptômes touchant la sphère ORL à type d'odynophagies, de rhinorrhées ou d'otalgies (18,19).

L'évolution de la maladie peut se faire vers la guérison ou vers l'aggravation des symptômes notamment respiratoires avec l'apparition d'une dyspnée voire d'une détresse respiratoire. Dans les formes les plus sévères les patients peuvent présenter une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), un syndrome d'activation macrophagique et l'atteinte pulmonaire peut évoluer vers le Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë (SDRA) et la fibrose pulmonaire.

III.2. Les symptômes neurologiques

De nombreux symptômes neurologiques ont été décrits chez les patients atteints du SARS-CoV2 avec une incidence de 26 à 56% selon les articles et le stade de la maladie (18,20,21). D'une part il existe des atteintes neurologiques périphériques avec au premier plan des lésions des nerfs périphériques, des racines (syndrome de Guillain Barré) et les nerfs crâniens (contribuant à l'anosmie et l'agueusie). Cliniquement ces atteintes se traduisent par des névralgies faciales et ou des déficits moteurs périphériques (22–24). D'autre part il existe des atteintes neurologiques centrales à type de céphalées, vertiges, déficits sensitivo-moteurs, troubles de conscience ou crises épileptiques. Ces symptômes sont parfois liés à des accidents vasculaires cérébraux (AVC) ou à des thromboses veineuses cérébrales. De plus certains patients présentent un échec de sevrage de la ventilation mécanique malgré une amélioration de l'atteinte pulmonaire qui pourrait être due à une dysfonction centrale des fonctions respiratoires (10,14,21,25–29).

IV. Éléments de physiopathologie de l'infection par SARS-CoV2

Les patients atteints de la COVID-19 ont une augmentation importante du fibrinogène, des D-Dimères et des cytokines pro-inflammatoires qui sont associées à un état pro-coagulant pouvant aller jusqu'à la CIVD et aboutir au décès du patient (30). Pour expliquer l'orage

cytokinique et les lésions vasculaires décrites dans les infections au SARS-Cov2, il faut combiner plusieurs mécanismes.

IV.1. Les lésions vasculaires

IV.1.a. Endothéliopathie

Le virus pénètre les vaisseaux via l'ACE2 qui est exprimée sur les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses des parois vasculaires et va engendrer les lésions endothéliales (30,31). Ces lésions aboutissent à une dysfonction endothéliale et à un état pro-coagulant avec une surexpression du facteur de Von-Willebrand (VWF) et du Facteur VIII (FVIII) et une faible diminution de l'expression de l'*A Disintegrin And Metalloprotease with ThromboSpondin type 1 repeats* (ADAMTS 13) le tout pouvant aboutir à une augmentation du risque thrombotique avec l'activation de l'agrégation plaquettaire (32).

IV.1.b. Thromboses

Les thromboses veineuses profondes sont les thromboses les plus fréquemment retrouvées. Elles peuvent être liées à une activation localisée de l'agrégation plaquettaire, ou à une activation systémique généralisée, secondairement à l'inflammation et aux lésions endothéliales (30,33).

Des thromboses artérielles considérées comme rares dans les pathologies infectieuses sont décrites dans l'infection par SARS-CoV2 et semblent associées à la Bêta 2 Glycoprotéine ou à des anticorps de type lupique tels que les Anti-cardiolipines (30,34, 35).

IV.2. État inflammatoire et orage cytokinique

L'orage cytokinique est dû à une surproduction de cytokines pro-inflammatoires et à une activation excessive du système immunitaire en réponse à une infection. Il a été mis en évidence chez des patients qui présentaient des formes graves de COVID-19. Il favoriserait

l'évolution des lésions pulmonaires vers un SDRA ainsi que l'apparition de lésions multiviscérales sévères (36).

En effet, au début de l'infection, pour limiter la propagation du virus dans l'organisme, il existe une activation du système immunitaire inné et des lymphocytes T (LT) CD4+ et CD8+ associée à une production de cytokines pro-inflammatoires comme l'Interleukine-2 (IL-2), IL-6, IL-8, IL-10, l'Interféron- γ (IFN- γ), le *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), le *Granulocyte-Colony Stimulating Factor* (G-CSF) et le *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1). Ces cytokines recrutent d'autres leucocytes de l'immunité innée et adaptative. Cette activation doit normalement être contre balancée par l'activation de lymphocytes T régulateurs et la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires (37). Or dans les formes graves de COVID-19, il peut exister une lymphopénie prédominant sur les lymphocytes T et notamment les T régulateurs, associée à une neutrophilie qui pourrait être à l'origine de la prévalence de l'orage cytokinique. L'infection par SARS-CoV2 dérégule donc le fonctionnement du système immunitaire (37–39).

Il existe plusieurs hypothèses pour expliquer la lymphopénie : une destruction directe des LT par le virus via l'expression de l'ACE2 ; une consommation du réservoir T suite à l'intensité de l'inflammation et la production de lymphocytes T épuisés ; la destruction des organes hématopoïétiques par le virus (36,40). Secondairement à l'état inflammatoire il est observé une augmentation du fibrinogène qui pourrait lui aussi augmenter le risque de thrombose (Figure 4) (41).

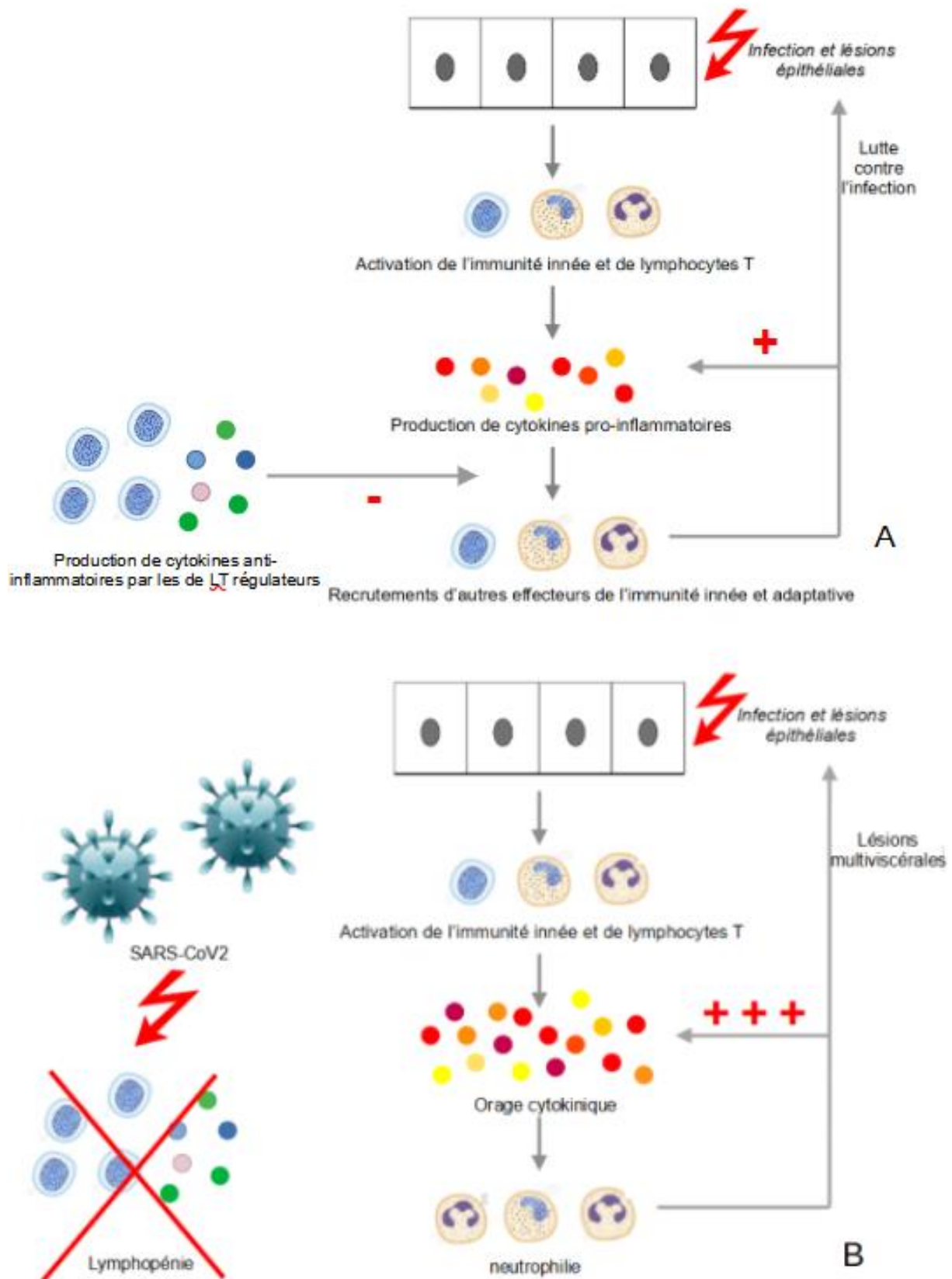


Figure 4 : Schéma du mécanisme de l'orage cytokinique dans la COVID-19. A : réaction normale du système immunitaire à une infection ; **B :** réponse du système immunitaire en cas d'orage cytokinique dans l'infection par le SARS-CoV2.

IV.3. ACE2

L'ACE2 est impliquée dans la régulation du système Rénine-Angiotensine-Aldostérone (SRAA). L'angiotensinogène, produit par le foie, est clivé en Angiotensine 1 par la rénine.

L'ACE et l'ACE2 sont des enzymes distinctes :

- L'enzyme de Conversion de l'Angiotensine (ACE), physiologiquement, clive l'Angiotensine 1 en Angiotensine 2. L'Angiotensine 2 a un rôle hypertensif et pro-inflammatoire.
- L'ACE2 à l'inverse a physiologiquement pour rôle de diminuer la concentration en Angiotensine 2 en hydrolysant l'Angiotensine 1 en Ang (1-9)) et l'Angiotensine 2 en Ang (1-7) (2,42). Ang (1-9) et Ang (1-7) vont tous deux avoir un effet vasodilatateur et anti-inflammatoire via les récepteurs Mas (Figure 5) (43,44).

Le SARS-CoV2 en se fixant sur l'ACE2 est donc responsable d'un déséquilibre du rapport Angiotensine1/Angiotensine 2. Par la diminution de l'expression d'ACE2 il y a une augmentation de la concentration en Angiotensine 2 et une diminution de la synthèse d'Ang (1-9) et Ang (1-7). L'infection par SARS-CoV2 a donc un effet pro-inflammatoire avec une augmentation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL1, l'IL-6, et le TNF et un effet vasoconstricteur. L'état pro-inflammatoire et la vasoconstriction aboutissent à un état pro-coagulant. Ces données sont similaires chez les souris *ACE2-knock-out* chez qui il existe des dysfonctionnements endothéliaux et une augmentation des cytokines pro-inflammatoires (30,31,45,46).

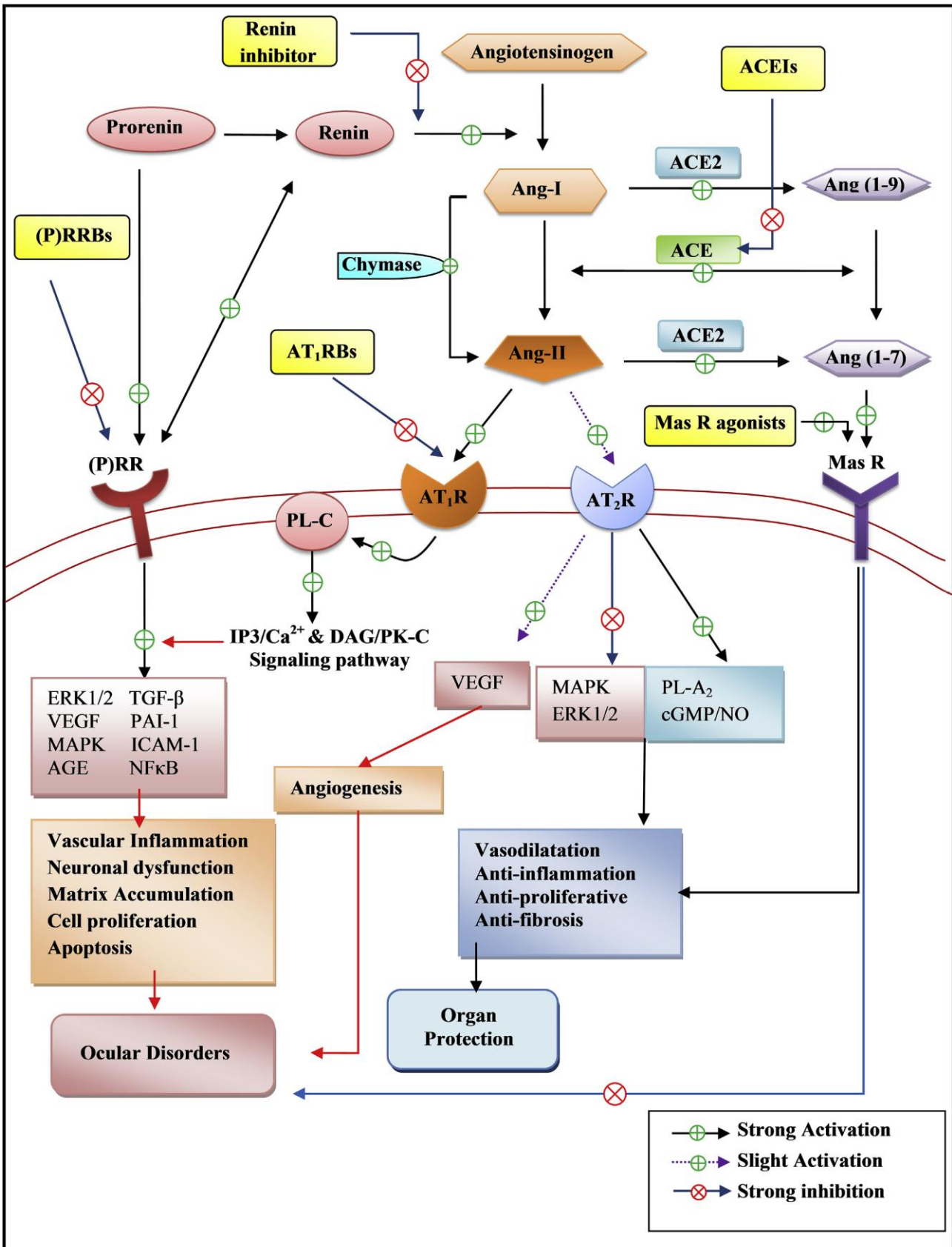


Figure 5 : Schéma du rôle d'ACE2 dans la régulation du SRAA. (Choudhary et al) (42)

V. SARS-CoV2 et SNC

V.1. *Détection*

La présence du virus dans le SNC a été mise en évidence par la détection soit de protéines virales par techniques d'immunohistochimie ou immunofluorescence, soit de l'ARN virale par RT-PCR ou enfin par étude en microscopie électronique (10,14,47).

V.2. *Hypothèses des mécanismes d'entrée dans le SNC*

V.2.a. La voie rétrograde

La contamination par le virus se ferait majoritairement par voie respiratoire : les premiers symptômes neurologiques classiquement déclarés sont l'anosmie et l'agueusie. Il en résulte l'hypothèse selon laquelle il y pourrait y avoir dès le premier contact avec le virus une infection des cellules sustentaculaires du neuroépithélium olfactif suivi d'un transport rétrograde par les axones depuis le nerf olfactif jusqu'au cortex entorhinal en passant par le bulbe olfactif. Le virus se propagerait ensuite vers le cortex cérébral. Le lobe frontal pourrait aussi être touché par diffusion directe du SARS-CoV2 de par sa proximité anatomique avec le bulbe olfactif (25,48–50).

V.2.b. La voie hématogène

L'endothélium et les cellules musculaires lisses des parois vasculaires expriment l'ACE2 et peuvent donc être infectés par le virus. Il s'ensuivrait des lésions endothéliales aboutissant à une rupture de la barrière hémato-encéphalique (BHE). De plus l'infection par SARS-CoV2 induirait un état pro-inflammatoire du tissu cérébral qui pourrait également être à l'origine d'une dysfonction de la BHE (vasodilatation et une perte de la perméabilité capillaire). Il n'est néanmoins pas mis en évidence d'ARN viral en *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et en cas de

positivité elle correspondrait à une contamination sanguine chez des patients avec une virmie positive (46,48,51,52).

V.2.c. Les organes circumventriculaires (OCV)

Ce sont des structures cérébrales neuroendocrines proches du troisième et du quatrième ventricule. Dans ces régions l'endothélium des capillaires est de type fenêtré, contrairement à l'endothélium continu de la majeure partie du système nerveux. A ce niveau la barrière entre sang et tissus nerveux est assurée grâce à des cellules épendymaires et gliales (les tanocytes) qui vont capter les signaux chimiques présents dans la circulation générale et les transmettre aux cellules neuronales (53,54). Les OCV sont au nombre de quatre chez l'Homme : l'organe vasculaire de la lame tectale, l'organe subfornical, l'area postrema et l'éminence médiane (EM) de l'hypothalamus (55). Or l'hypothalamus exprime le récepteur de l'ACE2 et possède d'étroites connexions avec le bulbe olfactif (48,49). Il est donc possible que le SARS-CoV2 pénètre dans le SNC via le bulbe olfactif de par la perméabilité plus grande des OCV.

V.2.d. Les leucocytes

La dernière hypothèse est celle du « cheval de Troie » : le virus infecterait des leucocytes à distance du SNC et pénétrerait secondairement dans le cerveau (10,49).

VI. Lésions macroscopiques et histologiques cérébrales de patients décédés de la COVID-19

Les lésions histologiques cérébrales chez des patients décédés de la COVID-19 peuvent être divisées en trois catégories :

VI.1. Les lésions vasculaires

Selon les différents auteurs, on retrouve des hémorragies pouvant être périvasculaires ou intra-parenchymateuses, juxta-corticales ou prédominant dans la substance blanche (SB) et pouvant aller de la microhémorragie à l'hématome avec un cas décrit de Critical Illness Microbleed (CRAM). En fonction des cas elles peuvent prédominer dans le cortex frontal, le thalamus, le corps calleux, le cervelet ou le tronc cérébral ou être non systématisées (56–60). Il est également décrit des cas d'hémorragies sous-arachnoïdiennes (61).

Il existe en outre des lésions ischémiques sous formes d'infarctus ou de foyers d'ischémie, associées ou non à des microthrombi et/ou à des lésions endothéliales et/ou des vaisseaux momifiés (14,51,56,58,59,61–65).

Il est enfin évoqué des extravasations périvasculaires d'hématies et des élargissements des espaces clairs périvasculaires (ECPV) avec sidérophages (57,64).

VI.2. Les lésions inflammatoires

Dans la majorité des cas il est décrit des infiltrats inflammatoires de LT à prédominance périvasculaires parfois associés à une infiltration de la méninge (52,58–60,62,64).

Il semble aussi exister fréquemment une activation de la microglie avec parfois des nodules microgliaux ou une neuronophagie (14,51,58,59,64,65). Une gliose astrocytaire réactionnelle s'y associerait.

VI.3. Signes de souffrance cérébrale

Des signes de souffrance cérébrale sont décrits dès l'examen macroscopique avec un œdème cérébral, des signes d'engagement et une décoloration de la SB et de la substance grise (SG) (59,62–65).

Microscopiquement il est décrit des lésions de dommage axonal associées à un œdème du neuropile et un élargissement des ECPV (63).

Dans les régions cérébrales les plus touchées il existe des secteurs de démyélinisation

pouvant aller jusqu'à des descriptions radiologiques d'Encéphalomyélite Aiguë Disséminée (ADEM) (66,67).

Enfin dans de rares cas il est décrit la présence d'une « glie d'Alzheimer de type 2 », neurones sombres ischémiques dans le secteur CA1 du cortex hippocampique, des oligodendrocytes apoptotiques et dans un cas la présence de mégacaryocytes extramédullaires (14,59,61,62,64) ;

VII. COVID-19 et hypothalamus

Comme expliqué précédemment les OCV et notamment la région hypothalamique expriment ACE2 et sont une porte d'entrée potentielle du SARS-CoV2 dans le SNC et pourraient être endommagés suite à l'infection (68,69).

VII.1. L'axe hypothalamo-hypophysaire

L'activité des neurones de l'hypothalamus est régulée par une boucle de rétrocontrôle selon la concentration sanguine en hormones provenant des organes endocrines périphériques. En réponse, ils régulent la concentration en neurohormones afin de permettre à l'organisme de rester dans un état d'homéostasie. Les neurohormones hypothalamiques sont libérées dans un premier réseau capillaire via l'éminence médiane puis vont circuler dans le système porte hypophysaire jusque l'antéhypophyse qui va lui-même sécréter dans la circulation générale d'autres hormones qui vont moduler la sécrétion endocrine périphérique.

Ainsi une baisse de la concentration hormonale dans la circulation générale est susceptible d'entraîner une augmentation de la production d'hormones hypothalamo-hypophysaires. A l'inverse une augmentation de la sécrétion endocrine périphérique est susceptible de causer une diminution de la production d'hormones hypothalamo-hypophysaires par rétro-contrôle négatif. Un rétro-contrôle négatif a aussi lieu entre

l'hypophyse et l'hypothalamus (Figure 6).

Il existe cinq axes hypothalamo-hypophysaires principaux (tableau I).

- Gonadotrope avec un effet sur les organes sexuels ;
- Corticotrope avec un effet sur le cortex surrénalien ;
- Thyrotrope avec un effet sur la thyroïde ;
- Lactotrope avec un effet sur la glande mammaire ;
- Somatotrope avec un effet global sur de nombreux organes.

Tableau I : Description des hormones de l'axe hypothalamo-hypophysaire (70).

Axe	Hormone hypothalamique	Hormone hypophysaire	Hormone périphérique
Gonadotrope	Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH)	Follicle Stimulating Hormone (FSH) et Luteinizing Hormone (LH)	Oestradiol, Progestérone et Testostérone
Corticotrope	Corticotropin Releasing Hormone (CRH)	Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH)	Cortisol
Thyrotrope	Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH)	Thyréostimuline (TSH)	Tri-iodothyronine et Tétrai-iodothyronine (T3 et T4)
Lactotrope	Dopamine (-) et TRH (+)	Prolactine (PRL)	/
Somatotrope	Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH)	Growth Hormone (GH)	Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)

L'axe lactotrope est une exception car il est constamment inhibé par la Dopamine.

En cas de levée d'inhibition la PRL va directement agir sur la glande mammaire sans organe effecteur périphérique (71,72).

VII.2. La posthypophyse

Elle est aussi appelée neurohypophyse. Elle a une origine embryologique différente de l'antéhypophyse et correspond davantage à un prolongement de l'hypothalamus. Con-

trairement à l'antéhypophyse elle ne produit pas d'hormone mais stocke des neurohormones produites par l'hypothalamus et principalement l'hormone antidiurétique (ADH) et l'ocytocine (73).

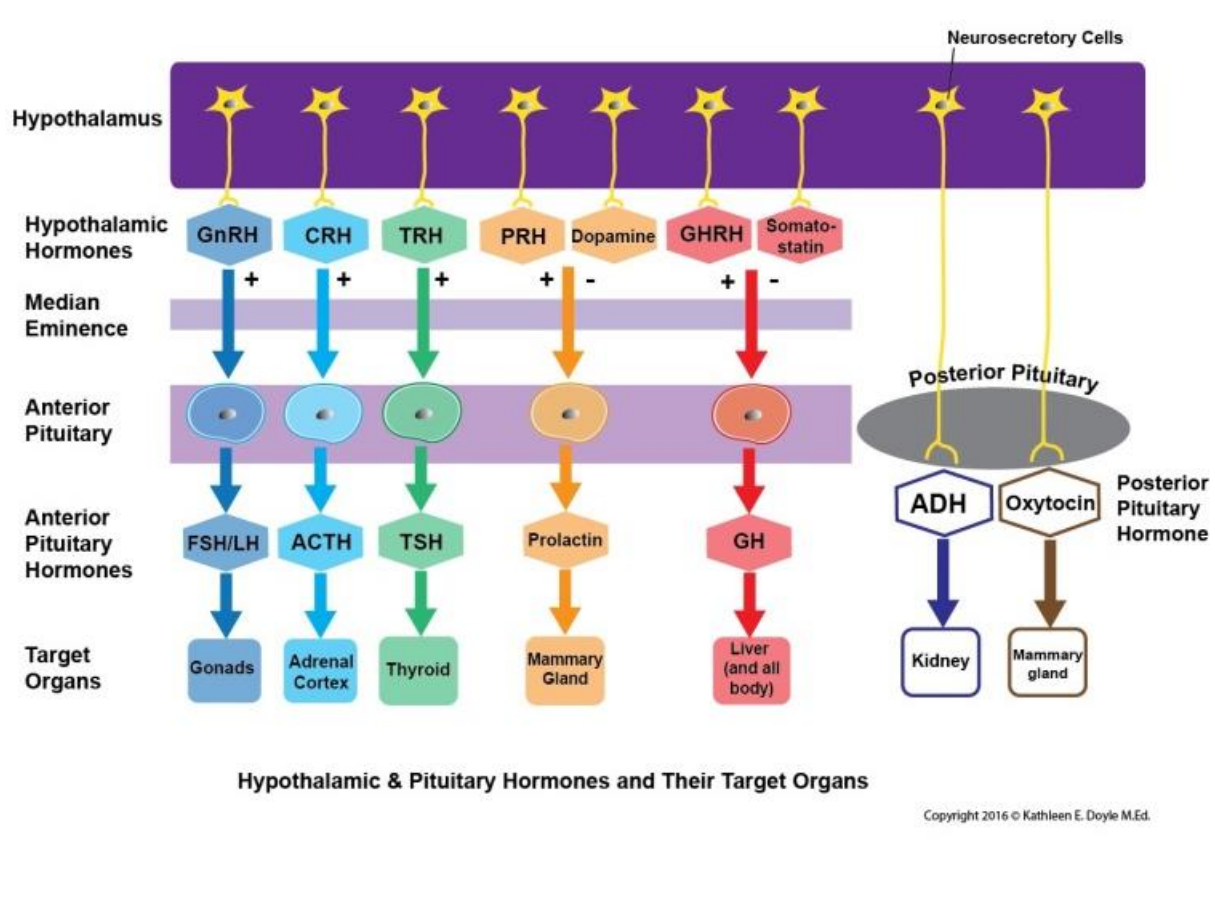


Figure 6 : Hormones hypothalamo-hypophysaires et leurs organes cibles (El Sayed et al) (71)

VII.3. SARS-CoV2 et axe gonadotrope

Chez l'homme une diminution de la concentration sanguine en testostérone a été montrée suite à une infection par le SARS-CoV2. Cette diminution serait proportionnelle à la gravité de l'infection (74,75). L'origine centrale ou périphérique de cet hypogonadisme n'est pas résolue.

En effet les cellules de Leydig, les cellules de Sertoli et les spermatogonies expriment ACE2 et TMPRSS2 et peuvent donc être des cibles potentielles de l'infection (76). De plus il a été décrit des cas d'orchites chez des patients décédés de la COVID-19 (77). Des études ont montré une augmentation de la production de la LH et de la FSH parallèlement à une

diminution de la Testostérone faisant plutôt supposer une origine périphérique de l'hypogonadisme (75,78,79). Une autre étude a en revanche montré une diminution de la concentration sanguine en LH et FSH en parallèle d'une diminution de la Testostérone allant à l'encontre des études précédentes et suggérant une origine centrale à l'hypogonadisme par une atteinte hypothalamique ou hypophysaire (80).

Moins d'études rapportent les liens entre COVID-19 et fertilité féminine. Les ovocytes et les cellules de la granulosa expriment également ACE2 et pourraient donc être infectés par le virus (81). Dans une étude, les auteurs ont comparé la concentration en œstrogènes, en hormone anti-müllérienne (AMH), en LH et en FSH chez des patientes infectées à des patientes non infectées issues d'une base de données de patientes qui avaient déjà eu des tests de fertilité. Il a été mis en évidence une diminution significative de la concentration en AMH chez les patientes infectées avec une augmentation en parallèle de la LH et de la FSH mais sans diminution de la concentration en œstrogènes. Devant la normalité du taux d'œstrogènes les auteurs concluent que l'augmentation de la LH et de la FSH pourrait être due à des lésions centrales de l'axe hypothalamo-hypophysaire et la diminution de l'AMH serait liée à une atteinte périphérique des cellules de la granulosa (82).

VII.4. SARS-CoV2 et axe corticotrope

L'axe hypothalamo-hypophysaire a un rôle dans l'équilibre de l'état inflammatoire de l'organisme en modulant la sécrétion de CRH/ACTH/Cortisol en fonction de la concentration sanguine en cytokines pro-inflammatoires et notamment en IL-6 (49). Une augmentation de la concentration sanguine en ACTH et en Cortisol est donc attendue chez les patients atteints d'un COVID-19 grave en réponse à l'orage cytokinique. Plusieurs études relatent néanmoins des cas d'hypocorticisme central secondaire à une infection par le SARS-CoV2 (78,83–85).

Il existe plusieurs hypothèses à cet hypocorticisme. Le SARS-CoV (vague de 2002-2003) est connu pour avoir des séquences d'acides-aminés très semblables à celles de

l'ACTH et il existe des réactions croisées entre les anticorps visant le virus et l'ACTH aboutissant à une destruction de l'ACTH. En effet, l'ACTH est constitué de 39 acides aminés. Les 24 premiers sont responsables de l'activité stéroïdogène et sont constants. À l'inverse les 18 derniers sont très variables entre les espèces et sont responsables de l'immunogénicité de l'ACTH (86). Il est possible que le même mécanisme se produise avec le SARS-CoV2 devant la ressemblance de génome entre les deux virus (87,88).

Une autre hypothèse est l'apparition d'un déficit en corticostéroïdes liée à une maladie grave ou *critical illness-related corticosteroid insufficiency* secondaire à une production accrue lors de la réanimation de glucocorticoïdes. Ce déficit est responsable d'une perte du cycle nyctéméral et de l'interconnexion entre le cortex surrénalien et l'axe hypothalamo-hypophysaire (78,89).

Enfin, une équipe rapporte des anomalies parallèles de production de PRL et d'ACTH chez des patients COVID graves et non graves. Une autre équipe retrouve des anomalies associées de production d'ACTH et de TSH chez un patient à distance de l'infection, laissant supposer une atteinte centrale de l'axe hypothalamo-hypophysaire (83,90).

Il est toutefois important de noter que les études sur l'axe corticotrope sont difficiles à mener. En effet la corticothérapie à forte dose est la principale thérapeutique de la COVID-19 sévère, rendant difficile l'interprétation des dosages sanguins.

VII.5. SARS-CoV2 et axe thyroïdienne

Les patients infectés par le SARS-CoV2 présentent plusieurs types d'atteinte de la thyroïde.

Tout d'abord des thyroïdites aiguës et subaiguës associées à une thyrotoxicose pouvant évoluer secondairement vers l'hypothyroïdie ont été prouvées histologiquement dans des séries autopsiques (87,91). Ces thyroïdites évolueraient le plus souvent de façon favorable après la guérison de l'infection.

Chez certains patients il persiste une hypothyroïdie qui pourrait être due soit à des

séquelles de l'atteinte thyroïdiennes, soit à une atteinte centrale de l'axe hypothalamo-hypophysaire par le virus entraînant une insuffisance hypophysaire puis thyroïdienne (91,92).

Une autre atteinte thyroïdienne des patients hospitalisés en réanimation est le syndrome euthyroïdien ou syndrome de T3 basse. Il s'agit d'un syndrome développé chez des patients euthyroïdiens hospitalisés en réanimation caractérisé par une diminution première de la concentration plasmatique en T3 suivie d'une diminution de la sécrétion de TSH. La concentration sanguine en T4 reste à l'inverse dans les limites de la normale. La sévérité de ce syndrome serait proportionnelle à la gravité de la pathologie sous-jacente et serait un mécanisme adaptatif d'épargne énergétique. Son origine encore partiellement élucidée serait multifactorielle avec l'implication de l'orage cytokinique et de la concentration sanguine en IL-6 (93). Plusieurs études ont montré ce syndrome chez des patients présentant des formes graves de la COVID-19 (92,94).

Min Chen et al ont évalué la fonction thyroïdienne chez 50 patients hospitalisés à la suite d'une infection à SARS-CoV2 et l'ont comparée à celles de patients témoins sains et de patients témoins hospitalisés pour une affection respiratoire de même gravité mais non liée à la COVID-19. Dans cette série 34 % des patients infectés par le SARS-CoV2 présentaient une diminution isolée de la TSH, significativement différente du groupe contrôle. Selon les auteurs, cette diminution ne serait pas uniquement due à un syndrome euthyroïdien, et il pourrait s'agir d'un effet viral direct sur les cellules de l'axe hypothalamo-hypophysaire (95).

VII.6. SARS-CoV2 et axe lactotrope

A notre connaissance seul l'article de *Wei Ting Gu et al* rapporte des anomalies concomitantes de production de la PRL et de l'ACTH (83).

VII.7. SARS-CoV2 et axe somatotrope

Une faible concentration sanguine en IGF1 et potentiellement en GH pourrait être de

mauvais pronostic chez les patients présentant une forme sévère de COVID 19 (96). De plus, il est décrit une résistance à la GH des récepteurs périphériques chez des patients hospitalisés en soins intensifs, ce qui pourrait expliquer une baisse de la concentration en IGF1 chez ces patients (97).

A notre connaissance, il n'existe pas d'études sur l'impact du SARS-CoV2 sur l'axe somatotrope.

Lan Wei et al s'étaient intéressés aux modifications histologiques de l'hypophyse chez des patients décédés des suites d'une infection par le SARS-CoV et avaient montré par immunohistochimie une diminution du nombre de cellules exprimant la GH, la TSH et l'ACTH pouvant laisser supposer un même effet du SARS-CoV2 sur l'hypophyse (98).

VII.8. SARS-CoV2 et ADH

Le Syndrome de Sécrétion inapproprié en ADH (SIADH) est caractérisé par une hyponatrémie euvolémique associée à une hypo-osmolalité plasmatique et une hyper-osmolalité urinaire secondaire à une sécrétion excessive d'ADH (99). Ce syndrome est décrit chez de nombreux patients infectés par le SARS-CoV2, soit comme seule manifestation de la maladie, soit associée aux symptômes habituels (100–103). Deux hypothèses principales sont émises concernant l'étiologie du SIADH.

La première implique un relargage d'ADH secondairement à l'orage cytokinique et notamment à l'IL-6 (104). Cette idée est soutenue par une relation inverse entre la concentration sanguine en IL-6 et en sodium chez des patients COVID-19 et par le fait que le SIADH ne soit pas uniquement causé par le SARS-CoV2 mais aussi par d'autres affections pulmonaires (105,106).

Une autre hypothèse est que le SIADH pourrait être lié à une atteinte de l'organe subfornical. En effet cet organe joue un rôle de *sensor* de signaux impliqués dans la régulation de la tension artérielle et des fonctions cardiovasculaires. Selon un modèle d'organoïde, il établirait des connexions synaptiques avec les noyaux paraventriculaires et supra-

optiques de l'hypothalamus qui sont responsables de la sécrétion en ADH. L'organe subfornical et l'hypothalamus pourraient voir leur fonctionnement perturbé par une perte neuronale à médiation virale ou par la neuro-inflammation (107).

VIII. Synthèse et objectifs

La large distribution d'ACE2 dans les cellules de l'organisme permet au SARS-CoV2 d'infecter de nombreux organes. La COVID-19 est donc à l'origine de symptômes variés avec notamment des atteintes neurologiques périphériques ou centrales fréquentes. Les lésions cérébrales sont variées avec notamment des AVC et de thromboses veineuses cérébrales. De plus de récentes études cliniques mettent en évidence des altérations de l'homéostasie des hormones régulées par l'axe hypothalamo-hypophysaire. La physiopathologie de ces anomalies est mal connue et il existe peu de données dans la littérature.

Différentes techniques ont déjà montré la présence du SARS-CoV2 dans le SNC. Il existe plusieurs hypothèses quant au passage du virus dans le SNC avec en particulier la voie hématogène via les OCV dont la région hypothalamique fait partie.

L'étude de l'encéphale de patients décédés de la COVID-19 dans plusieurs séries autopsiques a retrouvé des lésions histologiques majoritairement de nature vasculaire ou inflammatoire. Cependant à notre connaissance aucune équipe ne s'est intéressée à la morphologie de la région hypothalamique chez des patients décédés de la COVID-19.

Nous nous sommes proposés de réaliser une étude morphologique histologique et radiologique de l'encéphale et de l'hypothalamus de patients décédés de la COVID-19 en les comparant avec ceux de patients contrôles décédés en réanimation. Les objectifs étaient (1) de décrire les lésions encéphaliques présentes chez ces patients (2) d'étudier plus précisément les potentielles lésions de la région hypothalamique.

PATIENTS ET MÉTHODES

I. Patients

De Mai à Décembre 2020, une autopsie complète a été réalisée chez quatre patients décédés des suites d'une infection par le SARS-CoV2 au Centre Hospitalier Universitaire de Lille. L'infection a été confirmée au minimum par une RT-PCR nasopharyngée. L'utilisation des tissus a été approuvée dans le cadre de la cohorte Lille Coronavirus Network (DC 2020-3980).

Les contrôles sont issus des organes et du cerveau de deux patients non infectés par le virus, décédés au cours d'une hospitalisation en Réanimation et fournis par le centre de ressources biologiques français certifié de Lille (Neurobank Lille DC-2008-642).

Une déclaration à la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL) (déclaration numéro MAR21-947) a été faite concernant l'utilisation des données cliniques.

Les données cliniques des patients sont résumées dans le tableau II.

1.1. Patient infecté n°1 (P11)

Il s'agit d'un homme de 63 ans au seul antécédent d'hypothyroïdie supplémentée dans un contexte de maladie de Basedow. Son seul facteur de risque vasculaire était une obésité de grade 1 avec un IMC à 30,4 kg/m². Il était autonome pour toutes les activités de la vie quotidienne.

Ses premiers symptômes consistaient en un syndrome pseudo-grippal. A J7 du début des symptômes, il a présenté une détresse respiratoire le motivant à consulter aux Urgences. En raison d'une dégradation respiratoire, il a été transféré en Réanimation à J8 où il a bénéficié d'une intubation oro-trachéale (IOT). Le diagnostic de pneumopathie hypoxémiante à SARS-CoV2 était confirmé par RT-PCR. De J14 à J27 il bénéficiait de la

pose d'une *Extracorporeal Membrane Oxygenation* (ECMO) veino-veineuse. A J27 le scanner thoracique montrait une atteinte supérieure à 75 % du volume du parenchyme pulmonaire. L'hospitalisation en réanimation s'est compliquée de plusieurs épisodes de sepsis et de chocs septiques nécessitant plusieurs lignes d'antibiothérapie ainsi que d'une insuffisance rénale aiguë anurique requérant la mise en place d'une hémodialyse. A J36 des premiers symptômes la RT-PCR SARS-CoV2 sur une aspiration trachéo-bronchique était négative.

A l'arrêt des sédations à J44, le patient ne présentait pas de signes d'éveil. Le tracé de l'électroencéphalogramme (EEG) réalisé dans ce contexte était artéfacté et mal organisé, globalement ralenti mais asymétrique en amplitude avec des anomalies plus marquées à gauche sans activité épileptiforme. Il n'était pas réalisé d'imagerie cérébrale.

A J47 des premiers symptômes, il décédait d'une défaillance multi-viscérale.

L'autopsie était réalisée après un délai post-mortem de 45h.

1.2. Patient infecté n°2 (PI2)

Il s'agit d'un homme de 82 ans. Ses principaux antécédents étaient marqués par une angiopathie amyloïde sporadique Abéta (5 mois avant le décès, son MMS était à 28/30), une neuropathie sensitive des quatre membres prédominants aux membres inférieurs (d'étiologie inconnue), une fibrillation atriale ayant bénéficié d'une fermeture de l'auricule gauche et un adénome prostatique. Ses facteurs de risque vasculaires étaient une hypertension artérielle traitée (HTA), un surpoids (IMC à 28kg/m²) et un tabagisme sévère depuis 1976 évalué à 20 Paquets-Années (PA). Son traitement à domicile comportait SOTALOL, TELMISARTAN, LAMOTRIGINE, ALFUZOSINE et DUTASTERIDE. Cinq mois avant le décès il était autonome pour les activités élémentaires et élaborées de la vie quotidienne.

Une RT-PCR nasopharyngée était réalisée au décours d'un épisode d'hyperthermie et

d'altération de l'état général associé à une prostatite aiguë et revenait positive au SARS-CoV2. Au cours des semaines suivantes le patient a présenté une aggravation progressive de son état neurologique à type de troubles de la marche avec chutes et de troubles phasiques. A J60 de la RT-PCR il était hospitalisé en service de Neurologie Conventiennelle. Le scanner cérébral montrait de multiples lésions ischémiques punctiformes disséminées associées à des hémorragies sous arachnoïdiennes bilatérales. L'IRM cérébrale confirmait ces observations. L'EEG réalisé dans le même temps retrouvait un aspect d'encéphalopathie non spécifique.

A J64, il a de nouveau présenté une aggravation de son état neurologique avec l'apparition d'une obnubilation. Le scanner cérébral retrouvait alors une majoration en taille et en nombre des hémorragies méningées fronto-pariéto-temporales à prédominance supérieure avec apparition de dépôts hématiques déclives au sein des cornes occipitales ventriculaires.

Le patient est décédé à J67 de sa RT-PCR positive dans les suites d'une majoration de ses troubles de la vigilance.

L'autopsie était réalisée après un délai post-mortem de 96h.

1.3. Patient infecté n°3 (PI3)

Il s'agit d'une femme de 63 ans. Son principal antécédent était une granulomatose avec polyangéite avec atteinte rénale, neurologique centrale, ORL et ophtalmique. Son seul facteur de risque vasculaire était une hypertension artérielle traitée. Son traitement à domicile comportait du RITUXIMAB, de l'ATOVAQUONE, du PERINDOPRIL, de l'ACIDE ACETYLSALICYLIQUE, du LATANOPROST et de l'ESOMEPRAZOLE.

Ses premiers symptômes consistaient en un syndrome pseudo-grippal avec anosmie, agueusie et diarrhées. Une première RT-PCR SARS-CoV2 nasopharyngée revenait positive à J2 du début des symptômes. A J20 un premier scanner thoracique était réalisé et montrait des condensations pulmonaires des segments 3 et 6 droits en verre dépoli. A J25 elle était

hospitalisée en service conventionnel pour dyspnée. Le scanner thoracique de contrôle retrouvait une atteinte pulmonaire estimée de 25 à 50 % du parenchyme. A J32 elle a présenté une dégradation respiratoire motivant son transfert en Réanimation. Elle a bénéficié d'une IOT à J44, date de la dernière RT-PCR nasopharyngée positive au SARS-CoV2.

Le séjour en réanimation a été marqué par une aspergillose pulmonaire invasive. A J54 elle conservait une virémie SARS-CoV2 positive.

A J57 du premier symptôme la patiente est décédée d'un choc septique dans un contexte d'hypoxémie réfractaire.

L'autopsie était réalisée après un délai post-mortem de 17h.

1.4. Patient infecté n°4 (PI4)

Il s'agit d'un homme de 59 ans. Ses seuls antécédents étaient une HTA traitée, une obésité de grade 1 (IMC à 30,0kg/m²) et un tabagisme sevré en 2016 (estimé à 30 PA). Son traitement à domicile comportait triple thérapie anti-hypertensive.

Sa première RT-PCR SARS-CoV2 nasopharyngée positive était réalisée après un contage. Il est admis en service conventionnel à J7 de la PCR suite à l'apparition d'une dyspnée avec oxygéo-requérance. Il est transféré en réanimation à J28 au décours d'une dégradation respiratoire. Il a bénéficié d'une IOT à J33.

Le séjour en réanimation était marqué par un choc septique, une aspergillose pulmonaire invasive, une rhabdomyolyse sévère compliquée d'une insuffisance rénale aiguë nécessitant des séances d'épuration extrarénale continue, et une réactivation des virus d'Epstein-Barr (EBV) et Cytomégalovirus (CMV). A J63, une amélioration sur le plan respiratoire a permis une levée des sédations. Il n'a pas présenté de signes d'éveil au décours. L'EEG réalisé dans ce contexte montrait un tracé de souffrance cérébrale diffuse, réactif aux stimulations nociceptives. L'IRM cérébrale mettait en évidence de multiples lésions hémorragiques infra et supratentorielles associées à des lésions ischémiques

éparses et une hémorragie sous arachnoïdienne de faible abondance, le tout faisant évoquer une vascularite ou une atteinte secondaire à une coagulopathie.

A J73 il ne présentait plus de virémie à SARS-CoV2. A J74 de la première RT-PCR positive le patient est décédé d'un choc septique sur translocation digestive sur iléite dans un contexte de coma profond irrémédiable.

L'autopsie était réalisée après un délai post-mortem de 24h.

1.5. Patient contrôle n°1 (PC1)

Il s'agit d'un homme de 69 ans. Ses antécédents étaient une artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI) et de glaucome chronique. Ses facteurs de risque vasculaire étaient un diabète de type 2 insulino-requérant, une HTA traitée, une obésité de grade 1 (IMC à 31,0kg/m²). Son traitement à domicile comportait du SPIRONOLACTONE, de l'INSULINE GLARGINE (dite « insuline lente »), de la METFORMINE, de la GABAPENTINE et l'association BUDESONIDE + FORMOTEROL en inhalation. Il était autonome pour les activités de la vie quotidienne.

Il a été hospitalisé service de médecine conventionnelle pour la prise en charge pour la prise en charge d'un sepsis à point de départ urinaire suspecté. Il existait un doute sur l'existence d'une hémopathie. La RT-PCR nasopharyngée réalisée à l'entrée était négative pour le SARS-CoV2. Le sondage a demeure était traumatique et à l'origine de la formation d'un urinome secondairement infecté évoluant vers une gangrène de Fournier. Dans ce cadre il était transféré en Réanimation à J12 de son hospitalisation. Au décours de l'hospitalisation il a présenté une fluctuation de son état de conscience avec une première IRM cérébrale mettant en évidence une atrophie cortico-sous-corticale diffuse. Il a présenté une pneumopathie d'inhalation nécessitant un IOT à J21 de l'hospitalisation. A J29 il présentait un retard d'éveil avec un EEG montrant un tracé évocateur d'une encéphalopathie métabolique non spécifique. A J34 une nouvelle IRM cérébrale montrait des lésions ischémiques récentes sus et sous tentorielles associées à quelques lésions

hémorragiques sur un probable mécanisme embolique. A J35 un EEG retrouvait une souffrance cérébrale diffuse aréactive non spécifique aggravée par rapport au précédent tracé. En parallèle le patient a présenté une nécrose de verge prise en charge chirurgicalement et de multiples ulcérations cutanées et masses spléniques et pulmonaires faisant évoquer soit un *Pyoderma Gangrenosum*, soit un processus infectieux. Au final, l'étiologie du sepsis initial reste indéterminée et aucune hémopathie sous-jacente n'a pu être prouvée.

Il décédait à J39 du début de l'hospitalisation.

L'autopsie était réalisée après un délai post-mortem de 21h.

1.6. Patient contrôle n°2 (PC2)

Il s'agit d'un homme de 62 ans. Ses principaux antécédents sont des accidents vasculaires cérébraux ischémiques capsulo-ventriculaire et para-ventriculaire gauches en 2012 et 2017, une cardiopathie hypertensive et une cryptorchidie droite. Ses facteurs de risque vasculaires sont une HTA traitée, une dyslipidémie, une intoxication tabagique chronique (non quantifiée), une intoxication éthylique (déclarée à 10g par jour). Son IMC est inconnu. Son traitement à domicile comportait du PERINDOPRIL, de l'AMLODIPINE, de l'URAPIDIL, de l'ACEBUTOLOL, de l'ACIDE ACETYLSALICYLIQUE et du PANTOPRAZOLE. Il était sous curatelle et bénéficiait du passage d'un Infirmier Diplômé d'Etat (IDE).

Il a été retrouvé en état de choc hémodynamique par son IDE, révélant une gangrène de Fournier. Il est hospitalisé dans un centre hospitalier périphérique où la prise en charge a consisté en une IOT, une stabilisation de l'état hémodynamique, une prise en charge chirurgicale de parage des tissus nécrotiques. Il est transféré le même jour en réanimation au CHU de Lille pour la réalisation d'une oxygénothérapie hyperbare. Dans le même temps, la RT-PCR nasopharyngée à SARS-CoV2 revenait négative. Devant une évolution défavorable, il bénéficie d'une nouvelle prise en charge chirurgicale au cours de laquelle

une néoplasie rectale été suspectée. Les sédations sont levées à partir de J7. Devant l'absence de signes d'éveil, des imageries cérébrales étaient réalisées, retrouvant des lésions ischémiques constituées semi-récentes bilatérales multi-territoriales et des lésions ischémiques dans les territoires vertébro-basilaire et carotidiens (notamment lésions occipitales bilatérales, temporale droite, pariétale supérieure et pré-centrale gauche) ainsi qu'une hyperdensité mésencéphalique.

A J25 devant la gravité de l'état clinique et l'absence de réveil il était décidé un arrêt des thérapeutiques. Le patient est décédé à J25 du début de l'hospitalisation et du début des symptômes.

L'autopsie était réalisée après un délai post-mortem de 19h.

Tableau II : Résumé des caractéristiques cliniques des patients

Patient	Âge	Sexe	IMC	Durée entre la 1ère PCR positive et le décès	Durée entre la 1ère PCR positive et la 1ère négative	Durée de séjour en réanimation	Durée de séjour en service conventionnel	Délai post-mortem avant l'autopsie	Cause du décès	Causes associées au décès	Comorbidités
infecté n°1	63 ans	H	30 kg/m ²	39 jours	29 jours	40 jours	0 jours	45 heures	Défaillance multiviscérale	Absence de réveil ; Atteinte du parenchyme pulmonaire supérieure à 75 % ayant nécessité de l'ECMO ; Multiples chocs septiques	Maladie de Basedow
infecté n°2	82 ans	H	28 kg/m ²	67 jours	/	0 jours	8 jours	96 heures	Troubles de la vigilance	Multiples hémorragies méningées ;	Neuropathies sensitives des 4 membres ; fibrillation atriale avec fermeture de l'auricule gauche ; HTA
infecté n°3	63 ans	F	20 kg/m ²	55 jours	positive au décès	25 jours	7 jours	17 heures	Choc septique dans un contexte d'hypoxémie refractaire	Aspergillose pulmonaire invasive ; Atteinte du parenchyme pulmonaire évaluée à 25-50 %	Granulomatose avec polyangéite
infecté n°4	59 ans	H	30 kg/m ²	74 jours	73 jours	46 jours	4 jours	24 heures	Choc septique sur translocation digestive sur iléite	Multiples lésions cérébrales hémorragiques et ischémique ; hémorragie méningée diffuse ; absence de réveil	HTA
contrôle n°1	69 ans	H	31 kg/m ²	/	/	27 jours	12 jours	21 heures	Choc septique sur gangrène de Fournier	Lésions ischémiques cérébrales sus et sous tentorielles ; inhalation massive ;	AOMI ; glaucome chronique
contrôle n°2	62 ans	H	NC	/	/	25 jours	0 jours	19 heures	Choc septique sur fongémie à <i>Candida</i>	Gangrène de Fournier ; Lésion mésentérique ; multiples lacunes séquellaires des noyaux gris centraux	AVC capsulo-ventriculaire et para-ventriculaire gauche ; HTA compliquée d'une cardiopathie ; dyslipidémie ;

II. Modalités d'autopsie

Avant la réalisation de l'autopsie il était effectué une vérification systématique de l'absence de contre-indication légale à sa réalisation : absence d'obstacle médico-légal et interrogation du Registre National des Refus.

Les autopsies étaient réalisées à la chambre mortuaire dans une salle dédiée avec respect des normes sanitaires. Les opérateurs (deux anatomopathologistes seniors pour les patients infectés et un senior et un interne pour les patients témoins) étaient munis des équipements de protections individuels (gants anti-coupure, tablier jetable, manchettes jetables, masque, charlotte et lunettes) qui étaient renforcés pour les patients infectés (combinaisons entièrement couvrantes et masques FFP3).

L'ensemble des organes et l'encéphale étaient prélevés pour tous les patients.

III. Parcours des tissus

Immédiatement après avoir été prélevés, des fragments d'organes et de cortex cérébral et cérébelleux étaient transmis en Virologie et en Bactériologie tandis que d'autres échantillons étaient cryopréservés de façon systématique. Le reste des tissus était fixé en formol à 4 % tamponné au minimum deux jours, à l'exception des encéphales qui étaient fixés pendant une durée minimale d'un mois.

Les échantillons d'organes étaient inclus en paraffine et suivaient la procédure usuelle de diagnostic des autopsies médico-scientifiques réalisées dans le service (Figure 7).

La prise en charge des tissus nerveux était plus complexe et il n'était pas possible de la standardiser, du fait de l'étalement des prélèvements dans le temps et de la grande fragilité des tissus prélevés chez certains patients.

Pour PI1, PI2 et PC2 l'hypothalamus était prélevé avant toute autre manipulation du SNC pour être pris en charge différemment du reste de l'encéphale (cf infra). Le reste de

l'encéphale était ensuite étudié en IRM 3 Tesla (3T) puis largement échantillonné et inclus en blocs de paraffine.

Pour PI3, PI4 et PC1 l'hypothalamus était laissé en place ce qui a permis d'étudier la totalité de l'encéphale en IRM 3 Tesla. Les hémisphères cérébraux et la fosse postérieure sans l'hypothalamus étaient ensuite échantillonnés et inclus en blocs de paraffine. Les hypothalamus ont en parallèle été analysés en IRM 7 Tesla (7T) pour les PI4 et PC1 puis congelés

La chronologie finale est résumée dans la Figure 8.

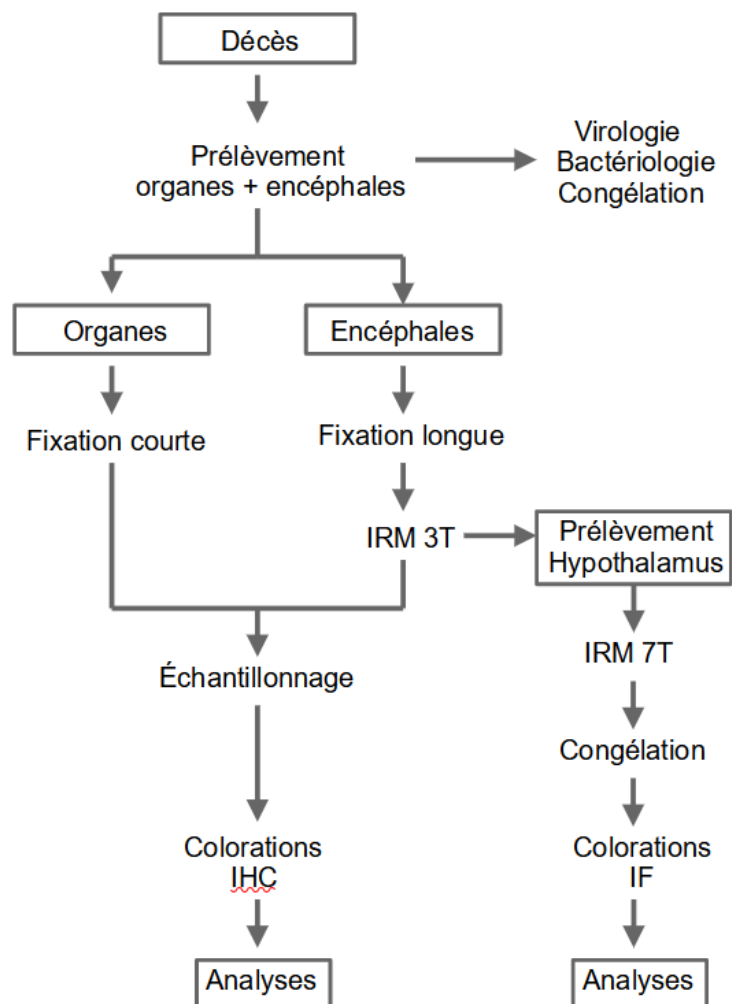


Figure 7 : Logigramme de la prise en charge idéale des prélèvements

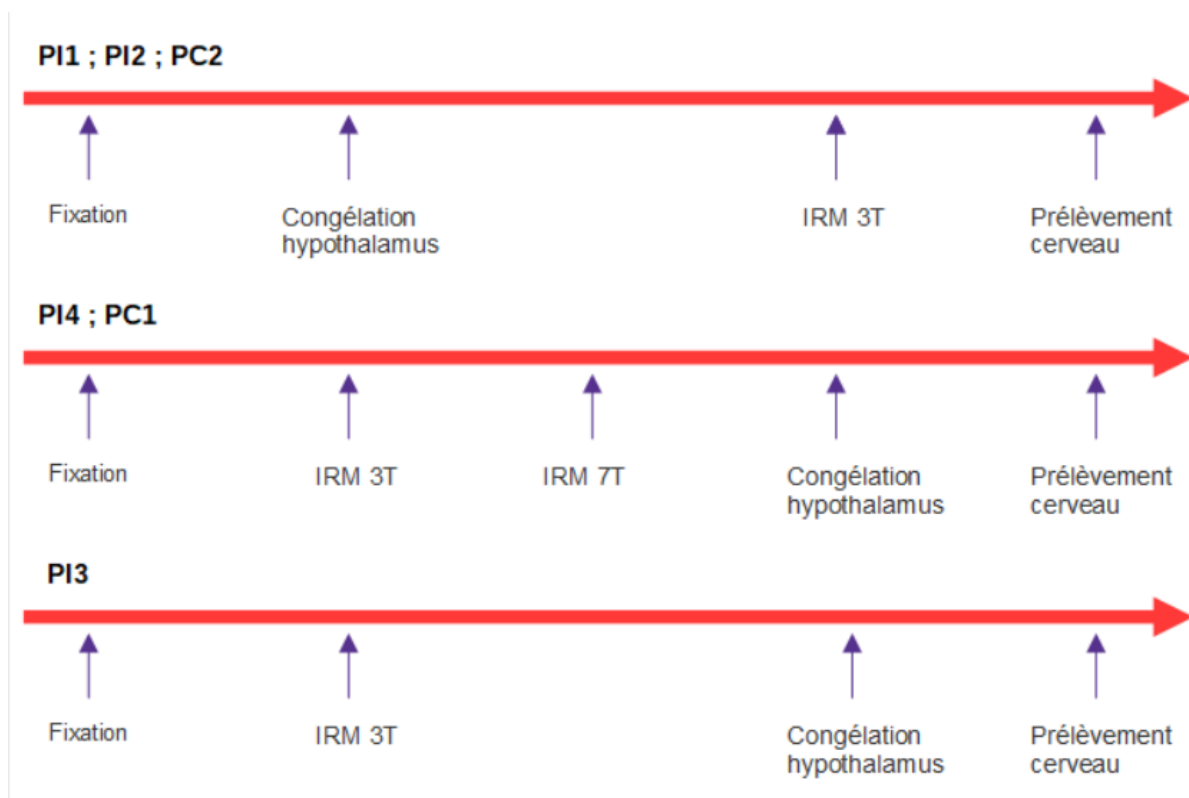


Figure 8 : Frises chronologiques du parcours des encéphales en fonction des patients

IV. RT-PCR

Le SARS-CoV2 étant un virus à ARN la détection de son matériel génétique est faite grâce à une technique de RT-PCR. Une portion de l'ARN choisie par une amorce est dans un premier temps rétro-transcrit en acide désoxyribonucléique (ADN) par une enzyme appelée la Transcriptase Inverse. Dans un second temps une deuxième enzyme, l'ADN Polymérase va catalyser la synthèse d'un second brin d'ADN complémentaire du premier brin d'ADN pour obtenir un ADN double brin. Une technique de PCR classique est alors utilisée afin de doubler la quantité d'ADN à chaque cycle en suivant successivement une étape de dénaturation, d'hybridation et d'élongation. Des sondes spécifiques d'une séquence d'ADN liées à un fluorophores permettent la détection de l'ADN amplifié en temps réel.

La RT-PCR post-mortem a été réalisée uniquement pour les patients infectés, sur des échantillons non fixés de plusieurs organes et d'au moins un échantillon encéphalique.

Pour les patients infectés n°1 et 2 la recherche a été réalisée par une RT-PCR en temps réel grâce au kit RealStar® SARS-Cov2 RT-PCR kit 1,0 de la société Altona dont les sondes détectent l'ARN spécifique de la lignée B-béta-coronavirus (gène E cible) et au SARS-Cov2 (gène S cible)

Pour les patient infectés n°3 et 4 la recherche a été réalisée par une RT-PCR temps réel, grâce au kit de détection VIASURE SARS-Cov2 (régions ORF1ab et N gène) de la société CerTest Biotec dont les sondes détectent l'ARN de deux régions spécifiques du SARS-Cov2 : ORF1ab et le gène N.

Pour chaque kit les résultats ont été comparés à un témoin positif et à un témoin négatif

V. Études radiologiques post-mortem

V.1. *IRM 3T*

Les acquisitions ont été réalisées sur une IRM 3 Tesla Achieva TX sur les cerveaux fixés par le formol 4 % tamponné et plongés dans de l'eau distillée dans un contenant en plastique après avoir passé au moins 6 heures sous une cloche à vide pour limiter les artefacts dus aux bulles d'air.

Sur tous les cerveaux il a été réalisé une séquence 3DT1, 3DT2, FLAIR et SWI. Une séquence DTI a été ajoutée sur les cerveaux entiers avec hypothalamus.

Les paramètres des séquences sont résumés dans le tableau III ci-dessous.

Tableau III : Paramètres des séquences de l'IRM 3T.

Séquences Paramètres	FLAIR	DTI	3D T1 EG	3D T2 ES	SWI
Voxel (mm)	1 x 1 x 1	2 x 2 x 2	0,7 x 0,7 x 0,7	0,8 x 0,8 x 0,8	0,6 x 0,6 x 1,2
TE (ms)	395	89	5,3	269	Séquence multi-écho 5,3 / 11,5 / 17,7 / 23,9
TR (ms)	5000	5300	11	2500	28
Angle de bascule	90°	78°	8°	90°	17°
Temps d'inversion	1650	/	/	/	/

V.2. IRM 7T

Les acquisitions ont été réalisées sur la micro-IRM 7 Tesla (Bruker, Biospec, Ettlingen ; financée en 2007 dans le cadre du *Contrat de Plan Etat-Région par le fond européen de développement régional* distribué à la région Nord-Pas de Calais). Une antenne émettrice -réceptrice de 72 mm de diamètre interne a été utilisée pour la réalisation des images.

Cette IRM étant initialement dédiée à l'étude du petit animal la taille maximale du prélèvement devait être de 10 x 5 x 3 cm, raison pour laquelle seul l'hypothalamus a pu être étudié. Pour améliorer le contraste le prélèvement était plongé dans un milieu hydrophobe adapté à cet usage (Fomblin, Sigma-Aldrich) au cours des acquisitions.

En l'absence de recul sur l'impact du milieu hydrophobe et devant un risque théorique d'échauffement des tissus secondaire à un temps d'acquisition long potentiellement délétère pour la qualité des études histologiques il a été décidé de n'étudier que l'hypothalamus de PI4 et PC1.

Les paramètres des séquences sont résumés dans le tableau IV ci-dessous.

Tableau IV : Paramètres des séquences de l'IRM 7T.

Séquences Paramètres	Echo de spin (T2 « like »)	Echo de gradient (T2*)
TR/TE (ms)	10000 / 17	350 / 10
NA (nombre d'average ou d'excitation)	6	16
temps d'acquisition (min)	51	47
épaisseur de coupe	0,5 mm jointif	1 mm jointif
FOV/Matrix (Field of view)	51,2 mm / 512	51,2 mm / 512
résolution spatiale dans le plan de coupe (μm)	100	100

V.3. Modalités d'interprétation

L'ensemble des images ont été interprétées par un unique radiologue expérimenté (G.K).

Une microhémorragie était définie comme une hémorragie intra-parenchymateuse de moins de 5 mm ; un hématome comme une hémorragie intra-parenchymateuse de plus de 5 mm. Une lacune était définie comme une lésion ischémique de moins de 20 mm et un infarctus comme une lésion ischémique de plus de 20 mm.

VI. Particularités de la prise en charge des hypothalamus

Après avoir été fixés, les hypothalamus étaient plongés dans une solution de sucrose à 25 % afin d'éviter la formation de cristaux de glace dans les tissus lors de la congélation. En cas de passage dans du Fomblin (PI4 et PC1), l'hypothalamus était dans un premier temps rincé dans une solution tampon (*Tris Buffered saline* ; TBS).

Ils étaient ensuite placés dans le milieu d'enrobage (*Optimal Cutting Temperature* OCT) afin d'améliorer l'orientation des tissus pour la coupe. L'hypothalamus enrobé était alors congelé à -80°C . Il était ensuite coupé au cryostat en coupes de 20 μm d'épaisseur qui étaient toutes successivement récupérées sur lame de verre avant d'être colorées ou étudiées en immunofluorescence.

VII. Techniques histologiques

VII.1. Les prélèvements

Les organes ont été échantillonnés de façon systématique selon les protocoles habituels du laboratoire.

En ce qui concerne l'encéphale, pour tous les patients les régions étudiées ont été au moins : le bulbe olfactif, le lobe frontal (aire de Brodmann 10 (BA 10) ; BA 8-9 et BA 4), le lobe pariétal (BA 39 ou BA 40), le pôle et le rebord inférieur du lobe temporal (BA 38 et BA 20-21), le lobe occipital (BA 18, BA 17 ou BA 19), l'insula, le corps calleux, le noyau caudé, le pallidum, le thalamus, l'hippocampe, le mésencéphale, le cervelet (hémisphères et noyau dentelé) et la protubérance. D'autres zones ont également été explorées en fonction des particularités de chaque patient.

VII.2. Les colorations

Les colorations ont été faites soit sur bloc de paraffine soit sur bloc de tissus fixés puis congelés.

Les blocs de paraffine ont été coupés au microtome en coupes de 3 µm d'épaisseur.

Les coupes ont été étalées sur lames de verre puis séchées avant d'être colorées dans un premier temps par l'Hémalun-Erythrosine-Safran (HES). En fonction des premières données morphologiques des colorations complémentaires ont été réalisées pour compléter le diagnostic.

Les différentes colorations et techniques sont décrites dans le tableau V ci-dessous

Tableau V : Caractéristiques des colorations utilisées.

Nom	Réactifs	Technique	Objectif
HES	Hémalun (MAYER) Erythrosine Safran	Coloration sur l'automate SAKURA	Coloration cyto- architecturale
Luxol	Luxol fast blue Carbonate de lithium Crésyl violet	Coloration manuelle	Coloration des gaines de myéline en bleu
Perls	Ferrocyanure Acide Chlorhydrique Rouge nucléaire	Coloration sur l'automate SAKURA	Coloration du fer ferrique en bleu
Rouge Congo	Hémalun Rouge Congo NaCl/NaOH	Coloration sur l'automate BSS ROCHE/VENTANA	Coloration de la substance amyloïde en rouge

VII.3. Études immunohistochimiques (IHC)

Les techniques immunohistochimiques ont été faites par un automate Benchmark Ultra (Roche Ventana, ville d'origine, Meylan, France). Dans un premier temps les blocs de paraffine étaient coupés au microtome en coupes de 4 µm d'épaisseur. Celles-ci étaient déposées sur lame puis déparaffinées du xylène. Pour faciliter la détection de l'antigène par l'anticorps primaire, les sites de fixation antigéniques étaient démasqués soit par chaleur (CC1), soit par méthode enzymatique (Protéase 3) afin de casser les ponts méthylène dont la formation est due à la fixation par le formol. Les lames étaient ensuite incubées à 37 C° avec l'anticorps primaire pendant une durée variant selon l'anticorps. L'anticorps secondaire était révélé par méthode enzymatique utilisant des polymères de peroxydase de raifort et la diaminobenzidine (DAB). Enfin les lames étaient contre-colorées par l'hématoxyline.

Tableau VI : Résumé des caractéristiques des IHC utilisées

Nom	Clone	Fabriquant	Dilution	Hôte	Demasquage	Incubation
β A4	6F/3D	Dako	1/20	Souris	CC1	64 min
CD138	B-A38	Ventana Roche	prédilué	Souris	CC1	32 min
CD20	L26	Bio SB	1/150	Souris	CC1	32 min
CD3	LN10	Leica	1/100	Souris	CC1	32 min
CD68	KP1	Dako	1/250	Souris	CC1	20 min
CMV	CCH2+ DD G9	Dako	1/40	Souris	CC1	40 min
LMP1	CS1-4	Dako	1/100	Souris	CC1	32 min
NF	2F11	Dako	1/50	Souris	CC1	32 min
Olig2	EP112	Epitomics	1/1000	Lapin	CC1	32 min
Prion	12F10	SPI BIO	1/200	Souris	CC1	32 min
P62	3/P62 LCK LIGAND	Biosciences	1/50	Souris	CC1	60 min
Synaptophysine	SP 11	Ventana Roche	prédilué	Lapin	CC1	32 min
Synucléine	LB509	Invitrogen	1/100	Souris	CC1 + P3	32 min
TAU	AT8	Thermo Scientific	1/250	Souris	CC1	32 min
TDP43	Poly	Proteintech	1/1500	Lapin	CC1	20 min

Légende : β A4 : Béta-amyloïde4 qui reconnaît préférentiellement les peptides A β 40 et A β 42 ; CD : Cluster de Différenciation ; CMV : Cytomégalovirus ; LMP1 : Latent Membrane Protein-1 ; NF : neurofilaments ; TAU : protéine TAU Phospho-PHF-tau pSer202/Thr205 (AT8) ; TDP43 : TAR DNA-Binding Protein 43 ; Olig2 : facteur de transcription exprimé par les oligodendrocytes

VII.4. Études en immunofluorescence (IF)

Toutes les études en IF ont été réalisées manuellement en collaboration avec l'équipe « Development & Plasticity of the Neuroendocrine Brain » de l'unité Inserm UMR-S 1172 du CHU de Lille.

L'immunofluorescence a été réalisée sur des tissus fixés puis congelés et coupés en coupes de 20 μ m d'épaisseur et étalées sur lames en verre. Pour faciliter la fixation des anticorps primaires les épitopes étaient démasqués par incubation à 70°C des lames dans

du TBS. On procédait ensuite à une étape de blocage pour minimiser les liaisons non spécifiques par le sérum non immun d'un animal de la même espèce que l'un de ceux ayant produit l'un des anticorps secondaires (en l'occurrence l'âne), dilué dans du TBS - Triton. Plusieurs anticorps primaires différents pouvaient être mis sur la même coupe (incubation à 4°C 48h). Les anticorps primaires étaient rincés en TBS puis les lames étaient incubées avec les anticorps secondaires (fournisseur : ThermoFisher pour la protéine S et ACE2 et Jackson Laboratoires pour IBA1) 2 heures à température ambiante. Les lames étaient rincées puis contre-colorées au DAPI (fournisseur : Sigma). Enfin afin d'atténuer l'auto fluorescence des tissus, les lames étaient traitées au Noir Soudan (108,109).

Tableau VII : Résumé des caractéristiques des anticorps primaires

Anticorps	Clone	Fabriquant	Dilution	Hôte
Protéine Spike	GTX632604	GeneTex	1/200	Souris
ACE2	ab15348	Abcam	1/200	Lapin
IBA-1	ab5076	Abcam	1/200	Chèvre

Légende : IBA-1 : *Ionized calcium binding adaptor molecule 1*

VIII. Modalités d'interprétation des résultats

VIII.1. *Définition des lésions histologiques*

Afin d'uniformiser l'interprétation des lésions vasculaires en radiologie et histologie, les seuils de taille utilisés par les Neuroradiologues étaient privilégiés pour la définition des microhémorragies, hématomes, lacunes et infarctus (cf supra) :

On distinguait deux sous-types de lacunes :

- Le type I qui correspondait à des ischémies anciennes ;
- Le type II à des cicatrices cavitaires de microhémorragies anciennes.

Un espace clair périvasculaire était défini par une cavité claire arrondie autour d'une

artère, de morphologie normale, tapissée d'un revêtement pial qui revêt physiologiquement l'adventice du vaisseau (110).

VIII.2. Recherche de lésions neurodégénératives

Du fait de l'âge des patients il nous avait semblé essentiel d'étudier les lésions neurodégénératives associées.

L'étude de la protéine TAU avait pour but de mettre en évidence des agrégats de neurofibrilles TAU phosphorylées dans les neurones (dégénérescences neurofibrillaires (DNF)), dans les dendrites (*neuropil threads*), et dans les axones (couronne des plaques séniles). En cas de mise en évidence de telles lésions il était réalisé une évaluation de l'intensité des dépôts selon les stades de Braak (6 stades).

L'expression de β A4 dans la paroi des vaisseaux méningés et corticaux superficiels faisait évoquer le diagnostic d'angiopathie amyloïde. Le dépôt extracellulaire de peptide A β pouvait être focal en plaque (cœur des plaques séniles) ou diffus. En cas de mise en évidence de dépôts focaux l'étude de leur localisation menait à l'élaboration d'une phase de Thal (5 phases).

Pour TDP 43, un marquage cytoplasmique était considéré comme positif alors qu'un marquage nucléaire diffus correspondait à un marquage physiologique

Pour la Synucléine la présence d'agrégats intracellulaires neuronaux ou gliaux était considérée comme positive.

Pour la P62 un marquage dense intracytoplasmique était considéré comme positif.

VIII.3. Interprétation des IHC

Pour CD3, CD20, CD68 et CD138 un marquage membranaire était considéré comme positif. Pour le Prion une accumulation diffuse extracellulaire était considérée comme positive. Pour le Neurofilament une perte de l'architecture en fins filaments des axones était considérée comme pathologique. Pour CMV un marquage d'une inclusion intranucléaire

était considéré comme positif. Pour LMP1 et la Synaptophysine un marquage cytoplasmique était considéré comme positif. Pour Olig2 un marquage du noyau était considéré comme positif.

VIII.4. Interprétation des IF

Pour ACE2 et la protéine Spike, une fluorescence de n'importe quelle structure cellulaire était considérée comme positive.

L'anticorps anti-IBA-1 marquait le cytoplasme des cellules microgliales ou macrophagiques.

RÉSULTATS

I. Microbiologie

I.1. RT-PCR SARS-CoV2

Tous les résultats sauf pour PI3 étaient négatifs.

Pour PI1 la RT-PCR à la recherche du SARS-CoV2 a été faite sur le myocarde, l'épanchement péricardique, le contenu trachéo-bronchique, le parenchyme pulmonaire, l'épanchement pleural, un ganglion lymphatique médiastinal, la thyroïde, le rein, le foie, l'intestin grêle, le rectum, les lobes frontaux et temporaux et le cervelet. Pour toutes ces localisations la recherche était négative.

Pour PI2 la RT-PCR à la recherche du SARS-CoV2 a été faite sur le myocarde, la trachée, les bronches, le parenchyme pulmonaire, le rein, le foie et le cerveau. Pour toutes ces localisations la recherche était négative.

Pour PI3 la RT-PCR à la recherche du SARS-CoV2 a été réalisée sur le myocarde, l'épanchement péricardique, l'écouvillonnage trachéal, la bronche, le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA), le parenchyme pulmonaire, des ganglions lymphatiques, le rein, le foie,

la rate, l'intestin, les selles, les lobes frontaux et temporaux et le cortex cérébelleux. Pour toutes ces localisations la recherche de SARS-CoV2 était positive. L'étude macroscopique des prélèvements en virologie précisait la présence d'une contamination sanguine dans toutes les localisations sauf dans les selles et le LBA.

Pour PI4 la RT-PCR à la recherche du SARS-CoV2 a été faite sur le myocarde, la trachée, la bronche, le parenchyme pulmonaire, le rectum et le lobe frontal. Pour toutes ces localisations la recherche était négative.

1.2. Autres études en Virologie

En plus des RT-PCR SARS-CoV2 dont les résultats ont été décrits dans le paragraphe précédent, il avait aussi été réalisé :

- pour PI4 une recherche par PCR de l'ADN de EBV et de CMV dans l'intestin qui était revenue positive
- Pour PI4 des recherches par PCR de l'ADN de Herpès Simplex Virus-1 (HSV-1), HSV-2, Varicelle Zona Virus (VZV), Herpesvirus Humain type 6 (HHV6) A, HHV6 B, EBV et de CMV et de l'ARN d'Entérovirus sur le cortex cérébral qui étaient négatives.
- Pour PC1 une recherche par PCR de l'ADN de HSV-1, HSV-2, VZV et CMV et de l'ARN d'Entérovirus sur le cortex cérébral qui était négative.

1.3. Bactériologie

Pour PI3 une étude en bactériologie conventionnelle du poumon et les cultures étaient stériles après 30 jours.

Pour PC1 la valve aortique, le liquide péricardique et le contenu d'un abcès pulmonaire étaient infectés par *Pseudomonas Aeruginosa*.

II. Histologie des organes

II.1. Les poumons

PI1, PI3 et PI4 présentait des lésions de dommage alvéolaire aigu associées à des foyers de pneumopathie fibrineuse en voie d'organisation ou organisée avec pour certains des microthrombi.

PI2 avait une pneumopathie et une bronchite aiguë bilatérale sans autres lésions histologiques.

PC1 avait de multiples abcès pulmonaires en lien avec une infection à *Pseudomonas Aeruginosa*.

Les poumons n'avaient pas été étudiés pour PC2.

II.2. Le cœur

Chez PI1 il y avait une discrète péricardite lymphocytaire. Aucune lésion cardiaque n'était présente chez les autres patients.

II.3. Le tube digestif

Les muqueuses œsophagiennes, gastriques, duodénales, grêliques et coliques étaient lytiques chez tous les patients.

Chez PI4 il était mis en évidence une péritonite en regard du colon et de l'intestin grêle.

L'étude de la muqueuse rectale de PC2 montrait un adénocarcinome lieberkühnien infiltrant bien différencié.

II.4. Le foie

Chez PI1, PI3 et PI4 il existait une stéatose évaluée de 5 à 50 % avec un foie de choc pour PI4.

Il n'était pas mis en évidence d'anomalie histologique chez PI2 et PC1.

Le foie du PC2 n'avait pas été étudié.

II.5. La rate

L'étude histologique de la rate était normale pour tous les patients sauf pour PC1 qui avait deux abcès dont le contenu n'avait pas été envoyé en bactériologie.

II.6. La thyroïde

Le parenchyme thyroïdien de PI1 était majoritairement fibreux avec une atrophie des vésicules thyroïdiennes résiduelles. Celui de PI3 était infiltré par un infiltrat inflammatoire d'intensité modérée à prédominance lymphocytaire associé à des foyers de métaplasie oncocytaire.

Il n'était pas mis en évidence d'anomalie significative chez les autres patients.

II.7. Les reins

En plus des lésions rénales chroniques il était montré :

- une nécrose tubulaire aiguë chez PI4 et PC1
- une capillarite pré-tubulaire lymphocytaire chez le PI1

II.8. Autres organes

L'étude histologique des surrénales, du pancréas, de la moelle osseuse et des ganglions médiastinaux était sans particularité.

III. Histologie et immunohistochimie des cerveaux hors hypothalamus

Les résultats seront présentés sous deux angles.

Dans un premier temps les patients seront analysés un par un. Afin de faciliter la lecture, nous avons décidé de regrouper sous le terme de « souffrance cérébrale » l'œdème cérébral, l'élargissement des ECPV, l'étude de la microglie, les lésions de dommage axonal et la démyélinisation.

Dans un second temps nous réaliserons une analyse globale regroupant les différentes lésions rencontrées.

III.1. Patient infecté n°1 (PI1)

III.1.a. Signes de souffrance cérébrale

De façon diffuse on mettait en évidence un œdème de la SB et de la SG associé à un élargissement des espaces périvasculaires. Ces lésions prédominaient dans le pallidum, le thalamus et la substance noire ainsi qu'au niveau du lobe frontal et pariétal. Elles étaient moins marquées au niveau de la fosse postérieure.

L'étude immunohistochimique par l'anticorps anti-CD68 mettait en évidence une activation de la microglie avec des nodules microgliaux notamment dans le lobe frontal. Il existait des lésions de dommage axonal confirmées par l'étude immunohistochimique par l'anticorps anti-NF. Cette dernière montrait des rétractions axonales avec des axones gonflés et tortueux avec de rares inclusions axonales notamment dans les lobes frontal et occipital et dans le thalamus (Figure 10 A).

La coloration de Luxol ne montrait pas de démyélinisation en dehors des zones de lésions ischémiques.

III.1.b. Lésions vasculaires

Au niveau du lobe pariétal droit (BA 40) et en occipital droit (BA 19) il existait une hémorragie sous-arachnoïdienne avec infiltration des couches corticales les plus superficielles en occipital sur 9 mm le long du ruban cortical.

Sur l'ensemble des prélèvements ayant porté sur les lobes, l'hippocampe et la substance noire on dénombrait au total une vingtaine de microhémorragies intra-parenchymateuses qui mesuraient de 1 à 5 mm situées dans la SB ou proche de la jonction SG/SB. Elles étaient associées à des lacunes de type II qui mesuraient de 0,5 à 4,5 mm (Figure 10 B). La nature hémosidérinique des pigments au sein des lacunes était confirmée par la coloration du Perl

(Figure 10 C). On notait également quatre hématomes intra-parenchymateux :

- de 30 mm à la partie supérieure de l'hémisphère cérébelleux droit, en voie d'organisation (Figure 10 D);
- de 16 mm en regard de la capsule interne droite ;
- de 7 mm en BA 8-9 droit ;
- de 11 mm en frontal postérieur droit.

On observait un infarctus récent du noyau dentelé gauche de taille non déterminable sur lame et qui n'avait pas été vu lors de l'examen macroscopique.

On notait enfin la présence d'extravasations d'hématies au pourtour d'un vaisseau intra-parenchymateux dans le thalamus droit.

Il n'était pas retrouvé de thrombose.

III.1.c. Bulbe olfactif

Présence d'une microhémorragie de 0,5 mm de grand axe dans le bulbe olfactif.

III.1.d. Lésions de neurodégénérescence

Il n'était pas retrouvé de marquage pathologique par les anticorps anti- peptide β A4, TDP-43, Synucléine, P62 et Prion. Nous avons mis en évidence des neurites très fins marqués par l'anticorps anti-Protéine TAU dans l'hippocampe.

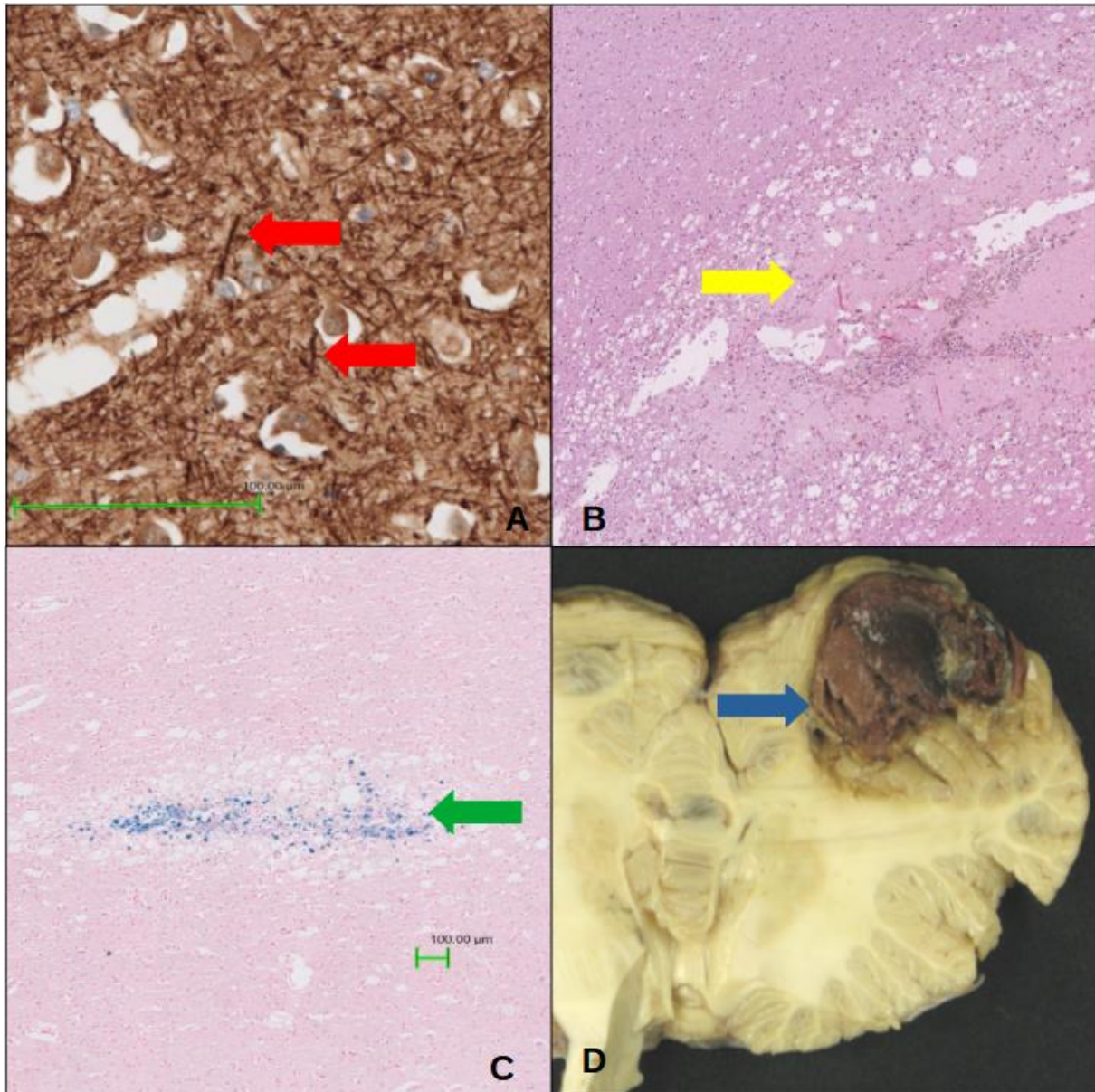


Figure 10 : Lésions macroscopiques et histologiques du PI1. A : mise en évidence par l'anticorps anti-NF de lésions de dommage axonal (flèches rouges) (x400) **B :** microhémorragie en BA8-9 droit (flèche jaune) (x40). **C :** lacune de type II à la coloration du Perls avec coloration en bleu des pigments d'hémosidérine au centre de la lésion (flèche verte) (x40) **D :** hématome de 30 mm de grand axe de la partie supérieure de l'hémisphère cérébelleux droit (flèche bleue).

III.2. Patient infecté n°2 (PI2)

III.2.a. Signes de souffrance cérébrale

Les signes de souffrance cérébrale étaient peu marqués et se limitaient à un léger œdème de la SB dans l'hippocampe et le noyau basal associé à des discrets élargissements des ECPV qui prédominaient dans le noyau caudé, le pallidum et le striatum.

L'étude immunohistochimique par l'anticorps anti-CD68 ne mettait pas en évidence d'activation de la microglie. L'anticorps anti-NF ne montrait pas de lésion de dommage axonal. Il n'y avait pas de démyélinisation en dehors des zones ischémiques.

III.2.b. Lésions vasculaires

Sur l'ensemble des prélèvements centrés sur la méninge en supra et infratentorial il existait une hémorragie sous arachnoïdienne associée à une infiltration plurifocale des couches corticales superficielles.

Cette hémorragie était développée dans un contexte d'infiltration de la méninge par un infiltrat inflammatoire majoritairement constitué de macrophages et de lymphocytes marqués par l'anticorps anti-CD20 avec des granulomes avec cellules géantes multinucléées en périphérie des vaisseaux (Figure 11 A et B). Les parois des artères et des veines arachnoïdiennes étaient épaissies et infiltrées par un matériel éosinophile non coloré par le Rouge Congo mais intensément marqué par l'anticorps anti- β A4 (Figure 11 C et D). Cet infiltrat était également présent dans la paroi de quelques vaisseaux corticaux superficiels. Localement on mettait en évidence des thromboses parfois reperméabilisées des vaisseaux arachnoïdiens.

De rares lacunes de type I millimétriques étaient présentes en temporal et de micro-hémorragies dans l'hippocampe et le noyau basal.

Dans la méninge et le cortex superficiel quelques artères et veines montraient des signes de vasculite avec une infiltration de toute l'épaisseur de leur paroi par des lymphocytes.

Enfin il existait de façon plurifocale une extravasation d'hématies au pourtour des vaisseaux en hémisphérique, dans les noyaux gros centraux et dans le mésencéphale.

III.2.c. Bulbe olfactif

Il n'y avait pas de lésion significative au sein du bulbe olfactif.

III.2.d. Lésions de neurodégénérescence

Il n'était pas retrouvé de marquage pathologique par les anticorps ciblant TDP-43, Synucléine, P62 et Prion.

L'anticorps anti-peptide β A4 marquait la paroi des vaisseaux arachnoïdiens et corticaux superficiels sans dépôt focal ou diffus au sein du parenchyme.

L'anticorps anti-Protéine TAU mettait en évidence un réseau neuritique en frontal, temporal et dans le mésencéphale avec des dégénérescences neurofibrillaires temporales (isocortex) et hippocampiques ainsi que des fantômes cellulaires à ce niveau sans perte neuronale.

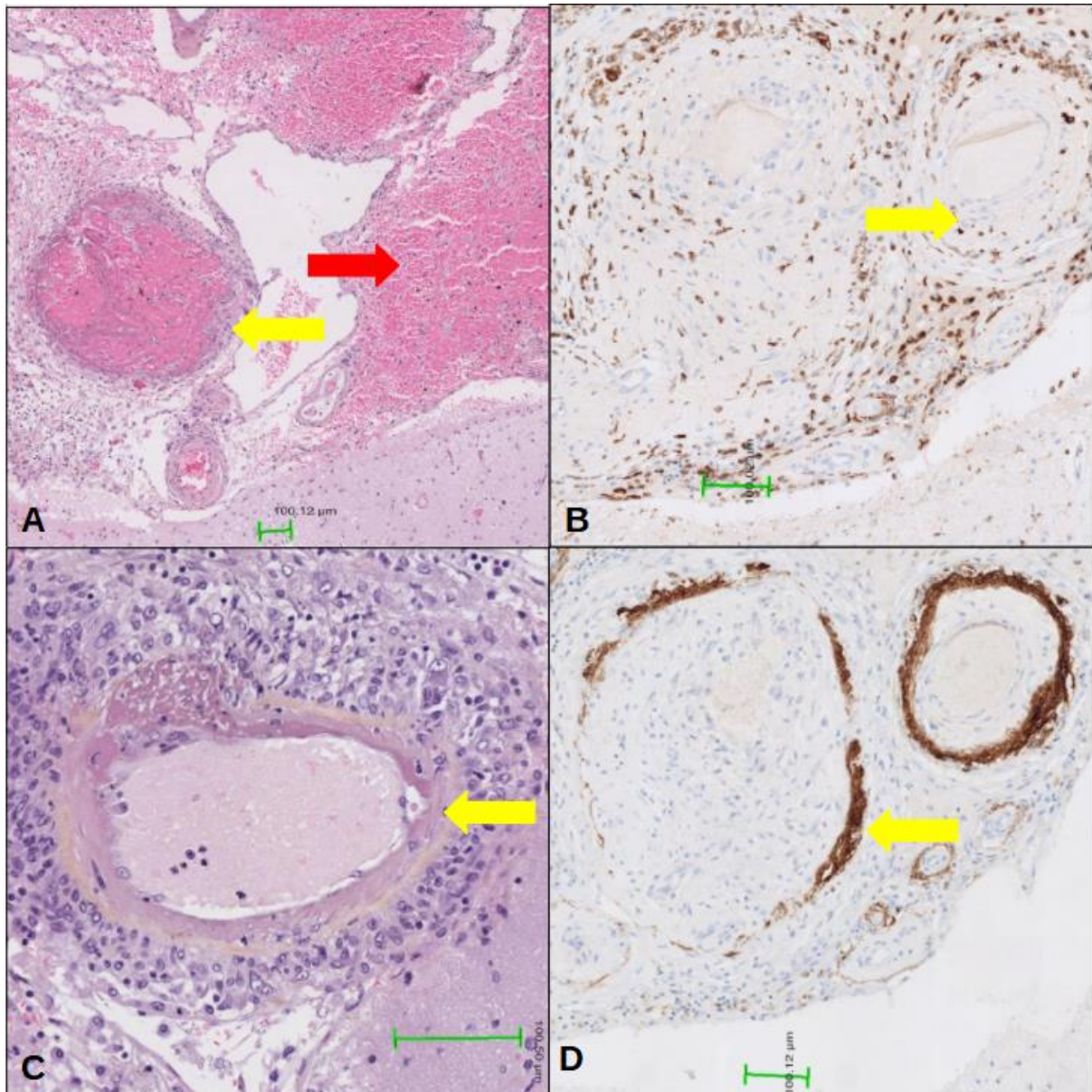


Figure 11 : Lésions histologiques du PI2. A : hémorragie sous arachnoïdienne (flèche rouge) développée dans un contexte d'infiltrat inflammatoire de la méninge à prédominance macrophagique et lymphocytaire (flèche jaune)(x40) **B :** marquage par l'anticorps anti-CD68 de l'infiltrat macrophagique au sein des vaisseaux arachnoïdiens (flèche jaune) (x100) **C :** réaction inflammatoire granulomateuse périvasculaire avec infiltrat de la paroi vasculaire par un matériel éosinophile (flèche jaune) (x200) **D :** marquage par l'anticorps anti-peptide β A4 des dépôts amyloïdes dans la paroi des vaisseaux méningés et parenchymateux superficiels (flèche jaune) (x40).

III.3. Patient infecté n°3 (PI3)

III.3.a. Signes de souffrance cérébrale

De façon diffuse on mettait en évidence un œdème de la SB et de la SG associé à un élargissement des ECPV. Ces lésions prédominaient dans le thalamus, la substance

noire, le corps calleux, le putamen, le pallidum ainsi qu'au niveau des lobes frontaux et pariétaux. Elles étaient moins marquées au niveau de la fosse postérieure excepté dans le bulbe. L'étude immunohistochimique par l'anticorps anti-CD68 mettait en évidence une activation de la microglie avec des nodules microgliaux notamment dans les lobes frontaux, pariétaux et dans le bulbe olfactif (Figure 12 B). Il existait de rares lésions de dommage axonal confirmées par l'étude immunohistochimique par l'anticorps anti-NF dans le bulbe olfactif (Figure 12 C).

III.3.b. Lésions vasculaires

Au niveau des lobes pariétal droit, temporal droit et occipital gauche ainsi qu'en regard du bulbe olfactif il existait une hémorragie sous arachnoïdienne de faible abondance sans infiltration du cortex en regard.

Au niveau de la SB en BA 21 droit, en région pédonculopontine et au niveau du gyrus supra marginal droit de rares microhémorragies intra-parenchymateuses qui mesuraient 1 à 4 mm, sans lacune de type II et sans hématome, étaient présentes. L'hémosidérine au sein des microhémorragies était colorée par la technique de Perls.

On observait enfin deux lacunes de type I de 1,5 mm de la capsule interne gauche et de 5 mm dans la SB en périphérie du noyau caudé (Figure 12 D). On notait la présence d'une extravasation d'hématies au pourtour d'un vaisseau intra-parenchymateux basi-frontal gauche. On ne retrouvait pas d'infarctus ni de thrombose.

III.3.c. Bulbe olfactif

Le bulbe olfactif était congestif et œdémateux (Figure 12 E) L'étude immunohistochimique par les anticorps anti-CD4 et CD20 ne montrait pas d'infiltrat inflammatoire lymphocytaire

III.3.d. Lésions de neurodégénérescence

Il n'était pas retrouvé de marquage pathologique par les anticorps anti-TDP-43, Synucléine, P62 et Prion. On mettait en évidence quelques neurites très fins marqués par l'anticorps anti-Protéine TAU dans le l'isocortex temporal. L'anticorps anti-peptide- β A4, montrait des dépôts focaux et diffus, peu sévères dans l'isocortex temporal.

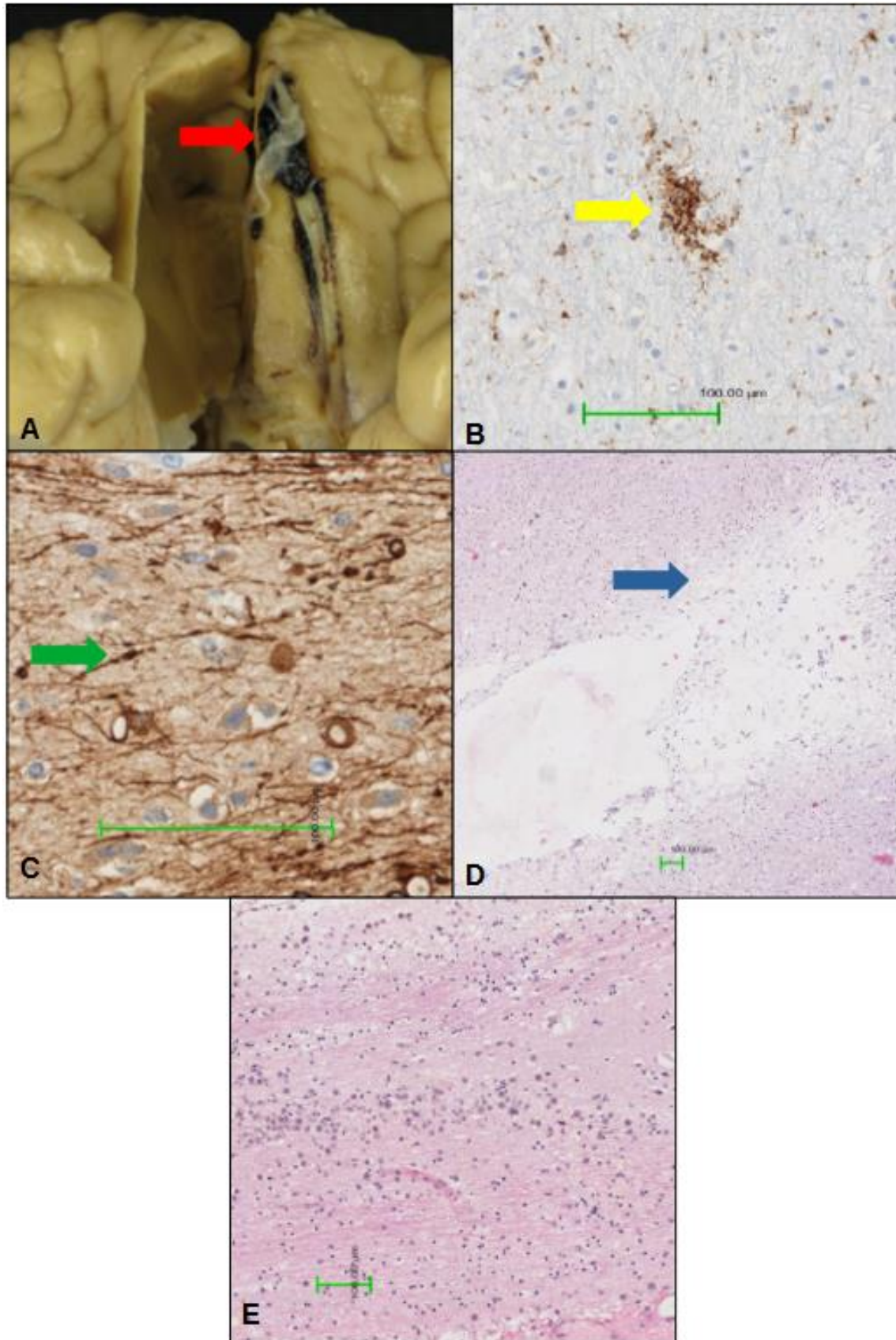


Figure 12 : Lésions macroscopiques et histologiques du PI3. A : bulbe olfactif gauche hémorragique (flèche rouge) **B** : nodule microglial en BA4 droit mis en évidence par l'anticorps anti-CD68 (flèche jaune) (x200) **C** : lésions de dommage axonal dans le bulbe olfactif mises en évidence par l'anticorps anti-NF (flèche verte) (x400) **D** : lacune de type I de 5 mm de grand axe proche du noyau caudé (flèche bleue) (x40). **E** : œdème et congestion du bulbe olfactif (x100).

III.4. Patient infecté n°4 (PI4)

III.4.a. Signes de souffrance cérébrale

L'œdème de la SB et de la SG était intense et diffus et associé à un élargissement des ECPV (Figure 13 B). Ces lésions prédominaient en frontal, dans l'insula, dans les radiations optiques, le corps calleux et le noyau caudé. Elles étaient moins marquées dans le bulbe et le mésencéphale. L'étude immunohistochimique par l'anticorps anti-CD68 mettait en évidence une activation de la microglie avec des nodules microgliaux notamment dans le lobe frontal et le noyau de Luys. Il existait des lésions de dommage axonal confirmées par l'étude immunohistochimique par l'anticorps anti-NF qui montrait des rétractions axonales avec des axones tortueux dans l'insula.

La coloration par le Luxol ne révélait pas de foyer de démyélinisation en dehors des zones de lésions ischémiques.

III.4.b. Lésions vasculaires

Sur l'ensemble des prélèvements centrés sur la méninge il existait une hémorragie sous arachnoïdienne associée à une infiltration segmentaire des couches corticales superficielles (Figure 13 A).

Sur l'ensemble des prélèvements effectués sur le parenchyme on dénombrait une cinquantaine de microhémorragies intra-parenchymateuses majoritairement situées dans la SB mais parfois à la jonction SB/SG qui mesuraient de 0,5 à 5 mm associées à des lacunes de type II qui mesuraient d'1 à 3 mm (Figure 13 C). La nature hémossidérinique des pigments au sein des lacunes était confirmée par la coloration du Perls. On notait également trois hématomes intra-parenchymateux :

- de 8 mm dans BA 38 gauche
- de 7 mm dans BA 4 gauche
- de 6 mm dans le corps calleux antérieur

On observait enfin une dizaine de lacunes de type I qui mesuraient 0,5 à 3 mm réparties sur les lobes frontal et occipital, les noyaux gris centraux et la protubérance (Figure 13 D). On ne retrouvait pas d'infarctus ni de thrombose. Des extravasations d'hématies étaient visibles au pourtour de certains vaisseaux dans l'hippocampe et le pallidum (Figure 13 E).

III.4.c. Bulbe olfactif

Le bulbe olfactif était œdémateux avec une microhémorragie de 1 mm.

III.4.d. Lésions de neurodégénérescence

Il n'était pas retrouvé de marquage pathologique par les anticorps dirigés contre le peptide β A4, TDP-43, Synucléine, P62, Prion, LMP1 et CMV. On mettait en évidence des neurites très fins marqués par l'anticorps anti-Protéine TAU dans le cortex entorhinal.

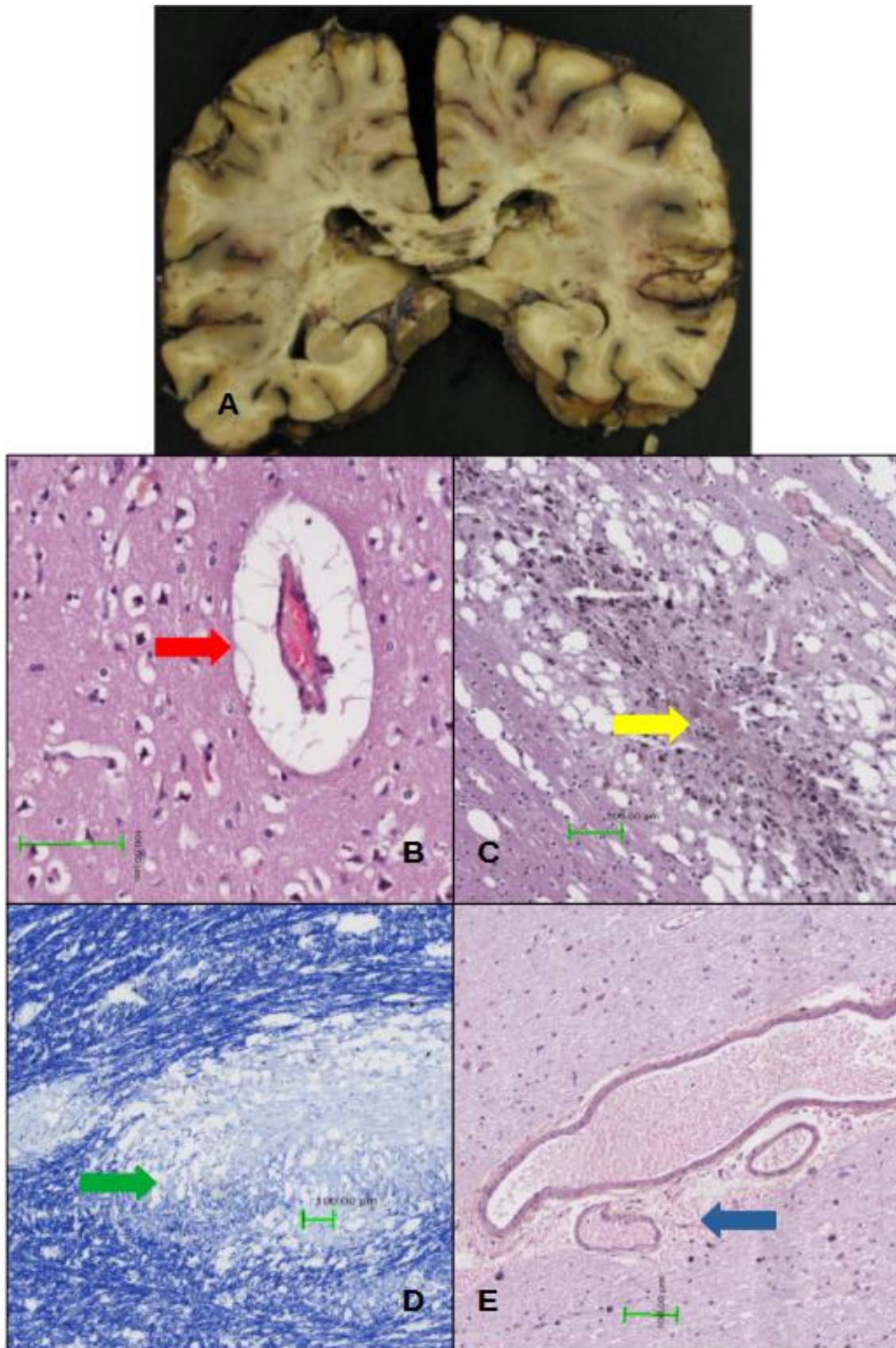


Figure 13 : Lésions macroscopiques et histologiques du PI4. A : coloration orangée de la SB et SG associée à de multiples lésions hémorragiques punctiformes et à un comblement hémorragique des sillons traduisant une hémorragie méningée diffuse. **B :** espace clair périvasculaire et œdème marqué de la SB en frontal gauche (x200) (flèche rouge) **C :** lacune de type II en BA9 gauche (flèche jaune) (x100) **D :** foyer de démyélinisation à la coloration par le Luxol dans une

lacune de type I (flèche verte) (x50). E : extravasation d'hématies en périvasculaire dans le pallidum droit (flèche bleue) (x100).

III.5. Patient contrôle n°1 (PC1)

III.5.a. Signes de souffrance cérébrale

Il était mis en évidence un œdème de la SB associé à de légers élargissements des ECPV. Ces signes de souffrance cérébrale étaient surtout visibles dans le putamen, le noyau caudé, le thalamus, le lobe temporal et le mésencéphale.

Il existait des lésions de dommage axonal confirmées par l'étude immunohistochimique par l'anticorps anti-NF qui montrait des rétractions axonales avec des axones tortueux dans le lobe frontal (Figure 14 A).

Il n'était pas retrouvé de démyélinisation en dehors des zones de lésions ischémiques (coloration par le Luxol).

III.5.b. Lésions vasculaires

En regard du sillon frontal moyen gauche (F2) il existait une hémorragie sous arachnoïdienne de faible abondance sans infiltration du cortex en regard.

Il n'y avait aucune microhémorragie intra-parenchymateuse, ni aucune lacune de type I ou II.

On retrouvait trois lésions ischémiques aiguës, de taille non définissable sur lame, frontale gauche (BA 4 et BA 10), temporale droite et dans le noyau de Luys gauche. Elles se caractérisaient par une démyélinisation, un aspect dissocié de la SB et un aspect spongieux des couches corticales 1 à 3 avec une perte neuronale (Figure 14 B).

Il existait une extravasation d'hématies au pourtour de vaisseaux dans le pallidum et le noyau caudé, et une thrombose sous-ventriculaire dans le noyau caudé.

III.5.c. Bulbe olfactif

Le bulbe olfactif était hypercellulaire sans hémorragie ni œdème. Les cellules en excès n'exprimaient pas en immunohistochimie CD45, CD68, Olig2 ni la synaptophysine. En raison de leur morphologie, il s'agissait néanmoins probablement d'oligodendrocytes et de neurones en voie d'apoptose.

III.5.d. Lésions de neurodégénérescence

Il n'était pas retrouvé de marquage pathologique par les anticorps anti- peptide β A4, Synucléine et Prion.

On mettait en évidence des neurites très fins et quelques agrégats marqués par l'anticorps anti-Protéine TAU dans BA38 et dans l'isocortex (BA 20/21), et des dégénérescences neurofibrillaires dans le cortex entorhinal et pré-entorhinal (stade I de Braak).

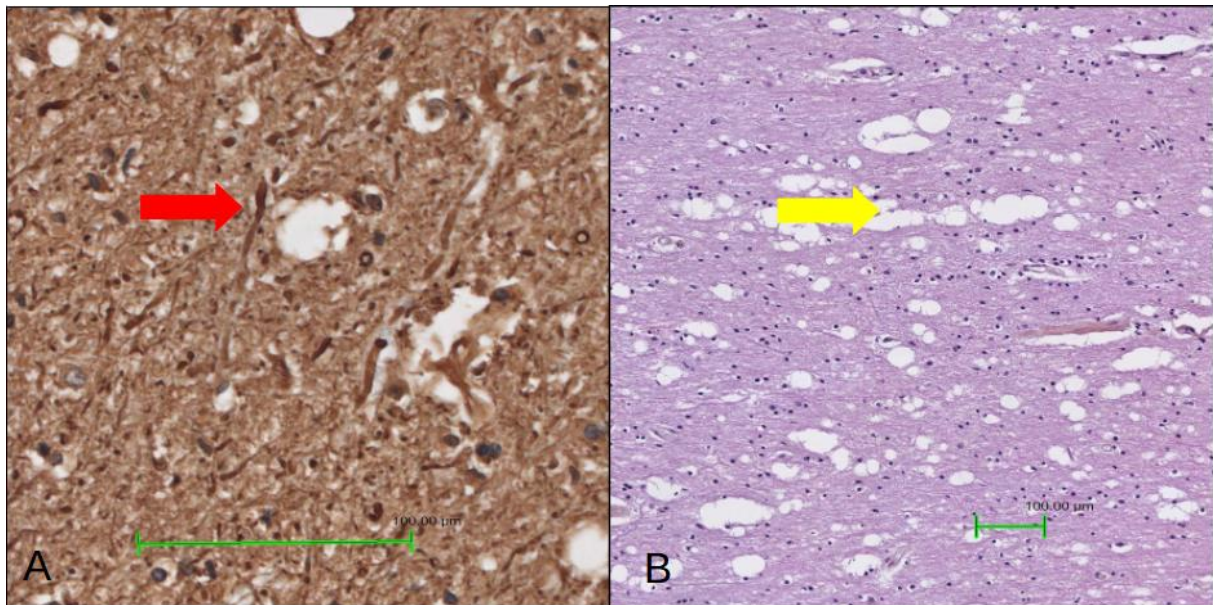


Figure 14 : Lésions histologiques du PC1. A : lésions de dommage axonal en BA4 gauche mise en évidence par l'anticorps anti-NF (flèche rouge) (x400) **B :** signes d'ischémie aiguë de la SB en BA4 gauche (flèche jaune) (x100)

III.6. Patient contrôle n°2 (PC2)

III.6.a. Signes de souffrance cérébrale

Il était mis en évidence un œdème de la SB associé à des élargissements périvasculaires. Ces signes de souffrance cérébrale étaient surtout visibles dans les lobes temporal, pariétal et occipital, le pallidum, le noyau caudé et le thalamus.

Il existait des lésions de dommage axonal confirmées par l'étude immunohistochimique par l'anticorps anti-NF qui montrait des rétractions et ruptures de continuité des axones dans le corps calleux et la partie inférieure du mésencéphale.

La coloration par le Luxol ne révélait pas de secteur de démyélinisation en dehors zones de lésions ischémiques.

III.6.b. Lésions vasculaires

Il n'était pas mis en évidence d'hémorragie méningée. Un hématome en voie d'organisation de 1,5 cm de grand axe était présent dans la partie supérieure de la protubérance avec une perte neuronale et un œdème au pourtour (Figure 15 A et B). Dans le cortex cérébelleux, à la jonction SB/SG, il existait une microhémorragie de 0,25 mm de grand axe. On notait une lacune de type I d'1 mm dans le mésencéphale inférieur et une lacune de type II de 2 mm dans le thalamus postérieur.

Des lésions ischémiques semi-récents de taille non définissable sur lame étaient présentes dans les régions hippocampiques droite et gauche, occipitale gauche (BA18) et dans l'insula gauche (Figure 15 C). Des séquelles d'ischémies anciennes étaient visibles dans le noyau caudé gauche, le locus niger et le pallidum droit (Figure 15 D).

On notait la présence d'extravasations périvasculaires d'hématies en BA20-21 gauche, dans le thalamus postérieur et le mésencéphale bas.

III.6.c. Bulbe olfactif

Le bulbe olfactif présentait un léger œdème sans infiltrat inflammatoire.

III.6.d. Lésions de neurodégénérescence

Il n'était pas retrouvé de marquage pathologique par les anticorps anti-Synucléine et P62. Les lésions de vieillissement observées étaient de deux ordres :

- d'une part des lésions habituelles dans leur mode d'extension dans le cerveau d'un patient sexagénaire (notamment : dépôts diffus et très peu focaux d'A β dans l'isocortex temporal et occipital, neuropile threads peu abondants et ébauches de dégénérescences neurofilbrillaires dans BA38 et dans l'hippocampe ;
- d'autre part, des lésions situées au pourtour de l'infarctus sous-insulaire : de nombreuses plaques séniles et des dépôts diffus exprimant la β A4, et des neuropiles threads plus abondants que ceux observés dans BA38 et quelques plaques neuritiques marqués par l'anticorps anti-TAU.

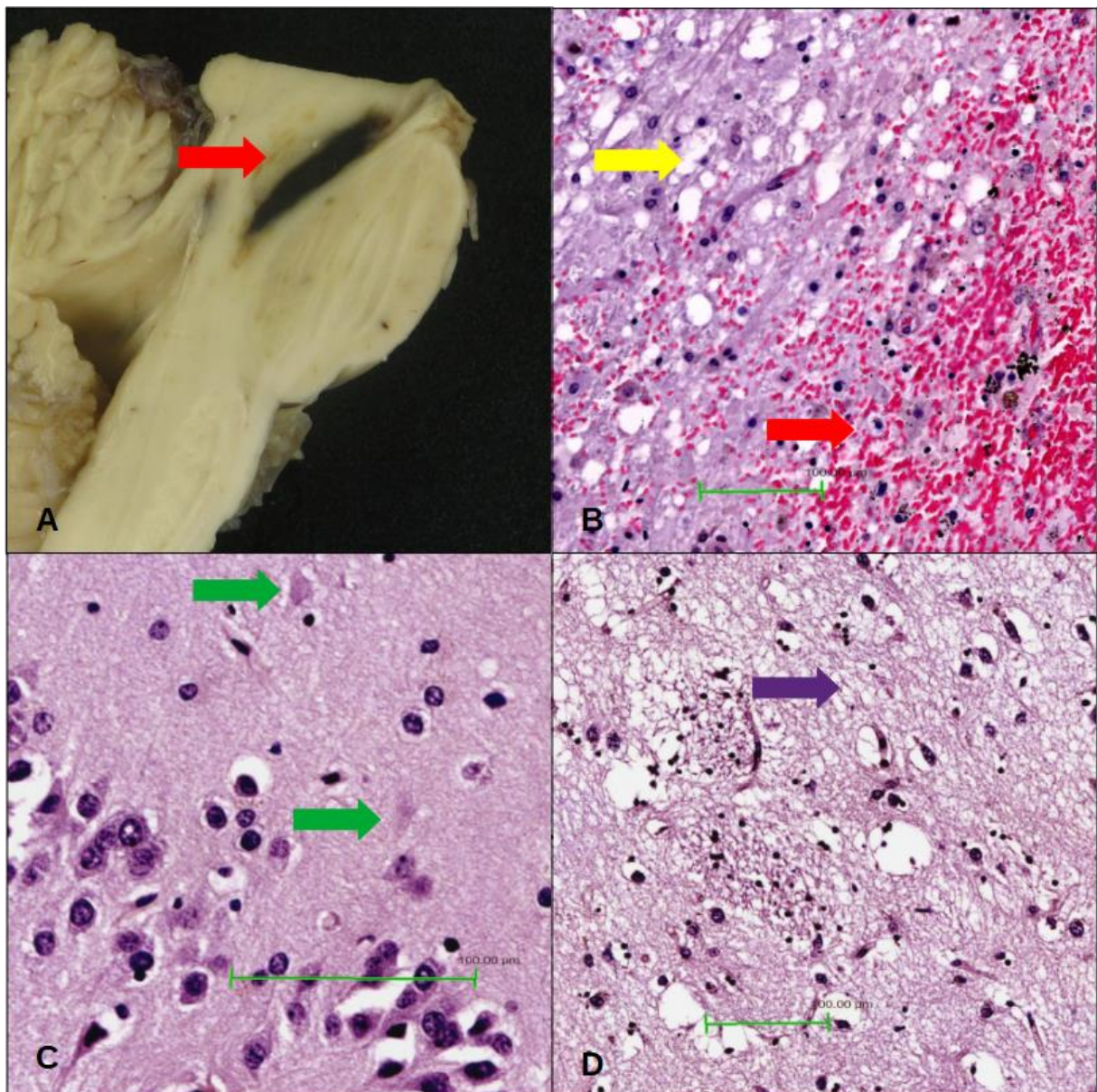
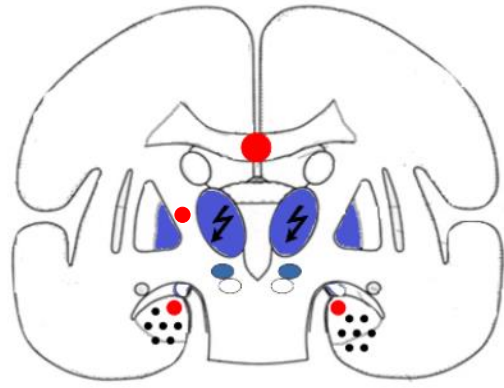
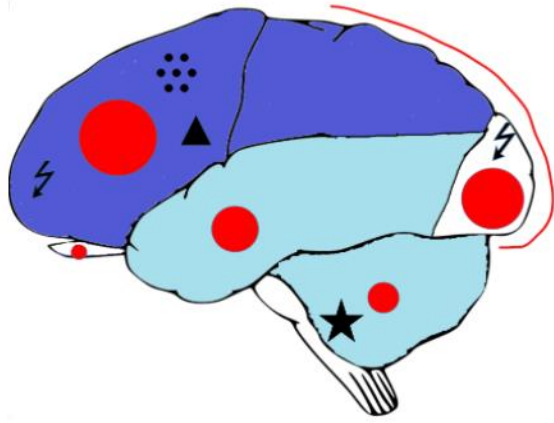
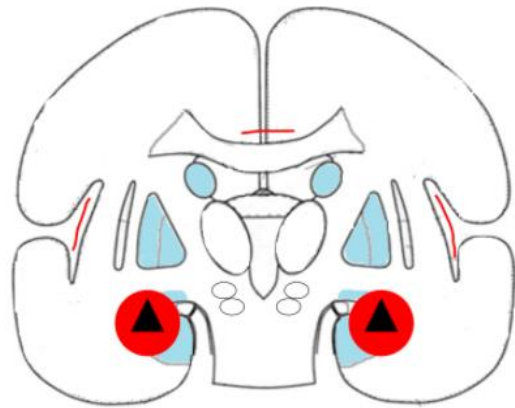
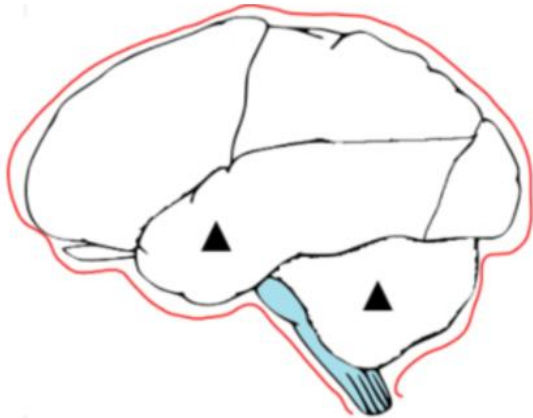


Figure 15 : Lésions macroscopiques et histologiques du PC2. A : hématome de 1,5 cm de grand axe de la partie supérieure de la protubérance (flèche rouge) **B** : hématome de la partie haute de la protubérance (flèche rouge) avec une perte neuronale et un œdème au pourtour (flèche jaune) (x400) **C** : lésions ischémiques de l'hippocampe gauche avec des neurones sombres (flèches vertes) (x400) **D** : séquelles d'ischémie ancienne du noyau caudé gauche (flèche bleue) (x200).

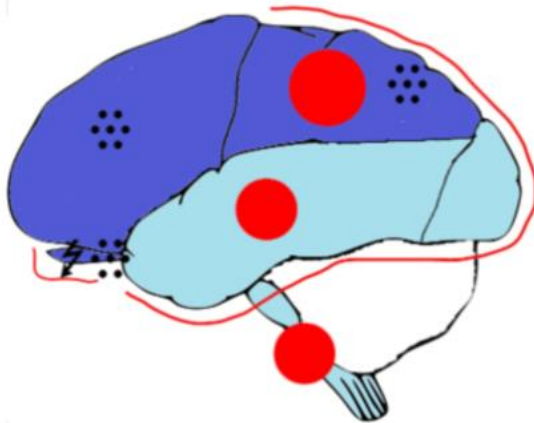
La distribution des lésions vasculaires chez chaque patient est résumée sur la Figure 16.
Patient infecté n°1



Patient infecté n°1

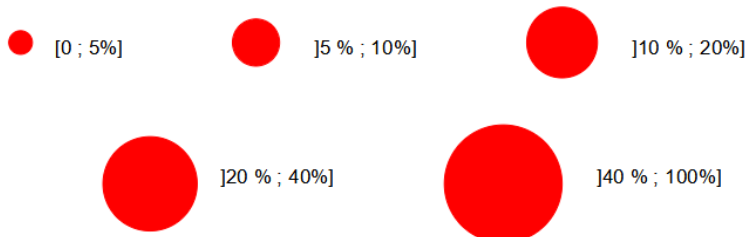


Patient infecté n°2

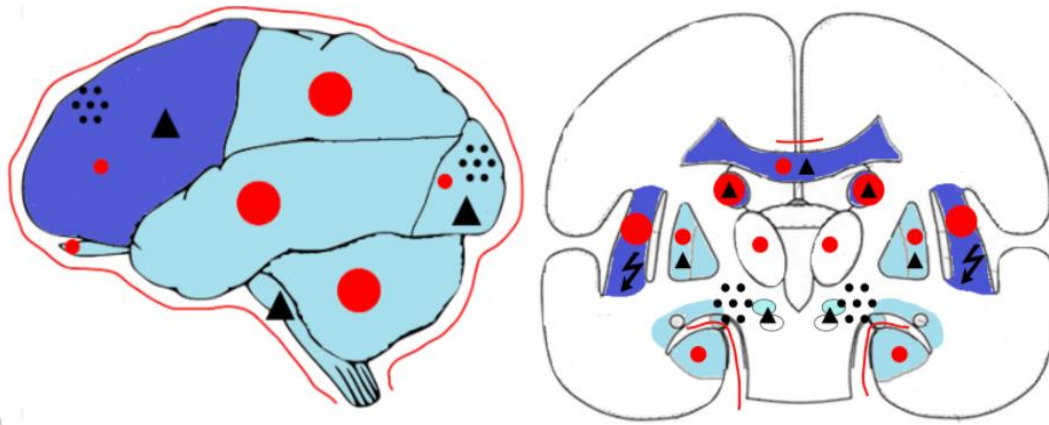


Patient infecté n°3

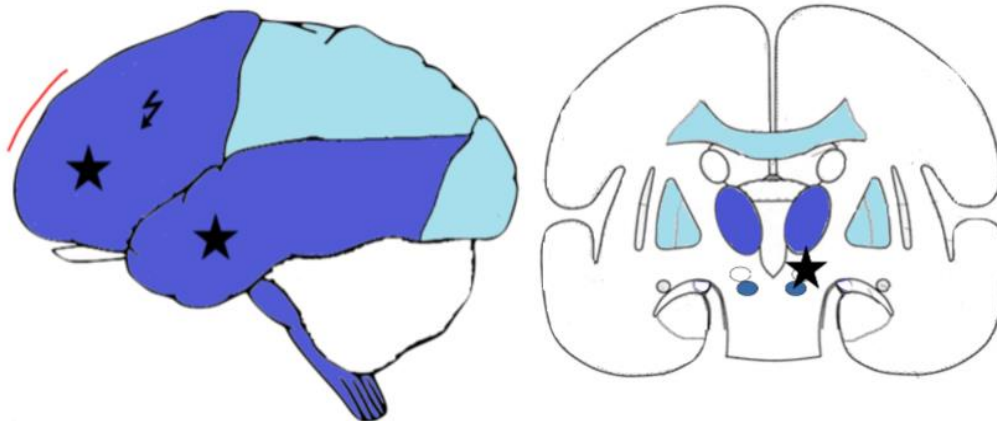
Pourcentage du nombre total de micro-hémorragies, lacunes de type II et hématomes vus sur lames :



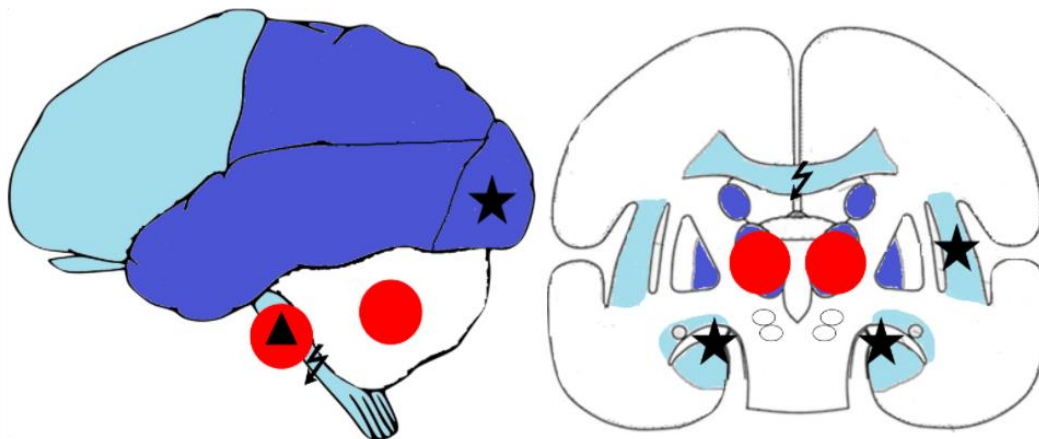
Hémorragie méningée : —



Patient infecté n°4



Patient contrôle n°1



Patient contrôle n°2

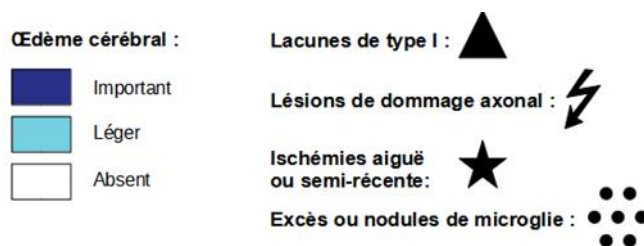


Figure 16 : Représentation schématique des localisations des différentes lésions histologiques chez l'ensemble des patients : sur une vue latérale et une coupe frontale de Charcot.

III.7. Distribution globale des lésions chez les PI et PC

III.7.a. Lésions parenchymateuses non ischémiques ni hémorragiques

La totalité des patients infectés avaient un œdème de la SG et SB associé à un élargissement des ECPV répartis dans l'ensemble des régions de l'encéphale analysées avec une prédominance dans le lobe frontal, dans BA20/21, BA40, l'hippocampe et le mésencéphale avec la substance noire. Dans ces régions au moins 3 PI sur 4 présentaient ces signes (tableau VIII A).

Les deux PC présentaient les mêmes signes (tableau VIII B) et en comparant les régions cérébrales atteintes entre les PC et les PI il apparaissait que seuls la capsule interne, le pallidum, le thalamus, le cervelet avec le noyau dentelé et la protubérance de PI étaient atteints sans que ce ne soit le cas pour les PC (tableau VIII C). Parmi ces régions, seul le pallidum avait des signes de souffrance cérébrale pour au moins 3 des PI.

Trois PI avaient des signes d'activation de la microglie (excès ou nodules microgliaux) qui étaient répartis dans les lobes frontaux, temporaux et occipitaux avec uniquement des nodules en frontal (BA10 et BA4) ainsi que pour un patient dans le bulbe olfactif et l'hippocampe (tableau VIII A). Aucun des deux PC n'avait de signe d'activation de la microglie (tableau VIII B).

Des lésions de dommage axonal étaient au moins visibles dans une région chez trois des PI et les deux PC (tableau VIII A et C).

Il n'était retrouvé de démyélinisation ni chez les PI ni chez les PC.

III.7.b. Les lésions ischémiques et hémorragiques

Chez tous les PI, on mettait en évidence une hémorragie méningée avec pour au moins trois PI sur quatre une localisation en regard du bulbe olfactif, du lobe temporal, pariétal et occipital (tableau VIII A). Seul un PC avait une hémorragie méningée, en regard de BA10 et BA8/9 (tableau VIII B).

Des microhémorragies et/ou lacunes de type II étaient présentes chez tous les PI, autant au niveau des lobes, des noyaux gris centraux et de la fosse postérieure avec deux PI sur quatre qui avaient une microhémorragie dans le bulbe olfactif (tableau VIII A). Chez les PC ces types de lésions étaient moins fréquents et uniquement visibles dans le cortex cérébelleux et le thalamus (tableau VIII B).

Les hématomes étaient uniquement présents chez les PI1, PI3 et PI4, sans localisation préférentielle (tableau VIII A). Un seul hématome était visible chez l'un des PC, au niveau de la protubérance (tableau VIII B).

Chez tous les PI on montrait des lacunes de type I dans les lobes, les noyaux gris centraux et la fosse postérieure mais pas dans le bulbe olfactif (tableau VIII A). Chez les PC on mettait en évidence une seule lacune de type I dans le mésencéphale (tableau VIII B).

Un infarctus aigu ou subaigu était présent dans le noyau dentelé d'un des PI. Plusieurs étaient visibles chez les PC en frontal, occipital, dans l'insula et dans l'hippocampe (tableau VIII A).

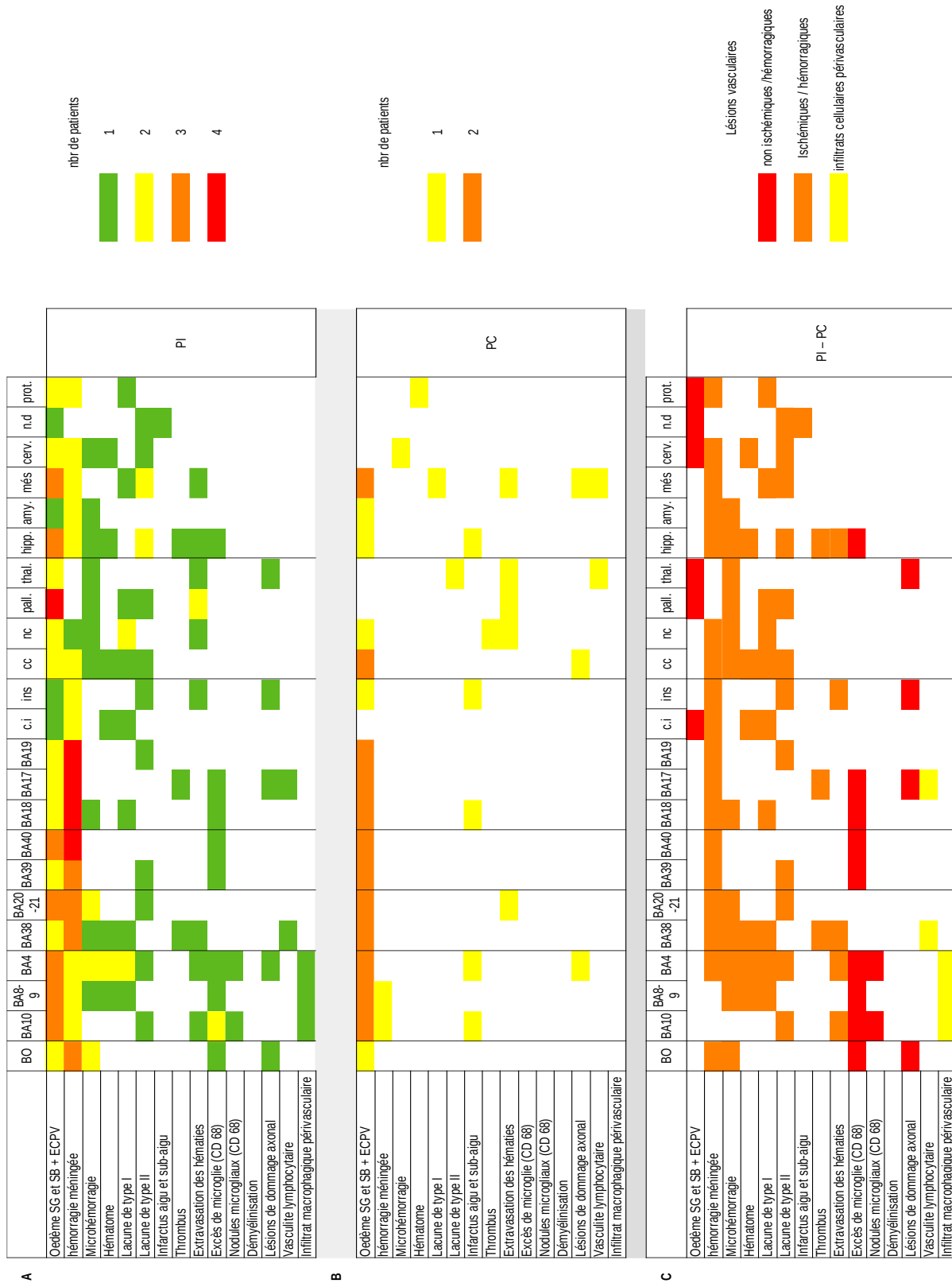
Des thrombi étaient visibles chez au moins un PI en frontal, occipital et dans l'hippocampe (tableau VIII). Un thrombus était trouvé chez l'un des PC dans le pallidum (tableau VIII B).

Chez tous les PI et PC il était mis en évidence des extravasations d'hématies. Après comparaison entre les PI et PC, ces lésions étaient présentes exclusivement chez les PI dans BA-10, BA-4, B-A38, dans l'insula et l'hippocampe (tableau VIII C).

III.7.c. Infiltrats cellulaires périvasculaires

Les infiltrats macrophagiques et lymphocytaires périvasculaires étaient présents chez un PI (tableau VIII A). Un infiltrat lymphocytaire vasculaire était visible chez un PC dans le thalamus et le mésencéphale (tableau VIII B).

Tableau VIII : Synthèse de la distribution des lésions histologiques



Légende : Cal : calcarine ; c.i : capsule interne ; ins : insula ; cc : corps calleux ; nc : noyau caudé ; pall : pallidum ; thal : thalamus ; hipp : hippocampe ; amy : amygdale ; més : mésencéphale ; cerv : cortex cérébelleux ; n.d : noyau dentelé ; prot : protubérance. **A : chez les patients infectés ; B : chez les patients contrôles ; C : chez les patients infectés mais pas chez les patients contrôles.**

IV. Histologie et immunofluorescence des hypothalamus

IV.1. Morphologie

Après coloration par le HES et le Luxol, il n'y avait pas de particularité histologique dans l'hypothalamus de PI1, PI3 et PC1.

Chez PI1 on mettait en évidence une lacune de type II de 1 mm en supérieur droit, proche du fornix. Elle était associée à trois microhémorragies :

- une de 2 mm de grand axe dans la SB en dessous du fornix gauche
- une de 1 mm de grand axe à droite et au-dessus de l'EM,
- une de 3 mm de grand axe dans le septum pellucidum (Figure 17).

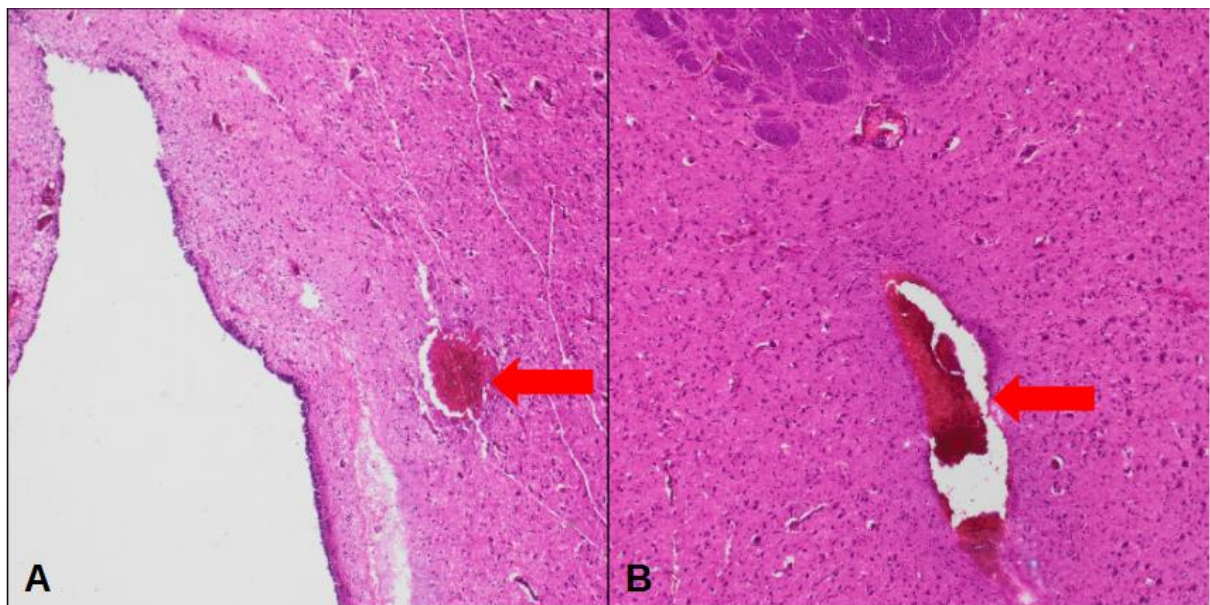


Figure 17 : **A** : microhémorragie de 1 mm proche de l'EM (flèche rouge) (x40) **B** : microhémorragie de 2 mm proche du fornix (flèche rouge) (x100).

Chez PI2 il existait, comme pour le reste de l'encéphale, un infiltrat inflammatoire lymphocytaire et macrophagique de la méninge, avec une prédominance au pôle inférieur associé à un renforcement de l'infiltrat macrophagique en périvasculaire. Le caractère macrophagique de l'infiltrat était confirmé par l'étude en immunofluorescence par l'anticorps anti-IBA-1 (Figure 18).

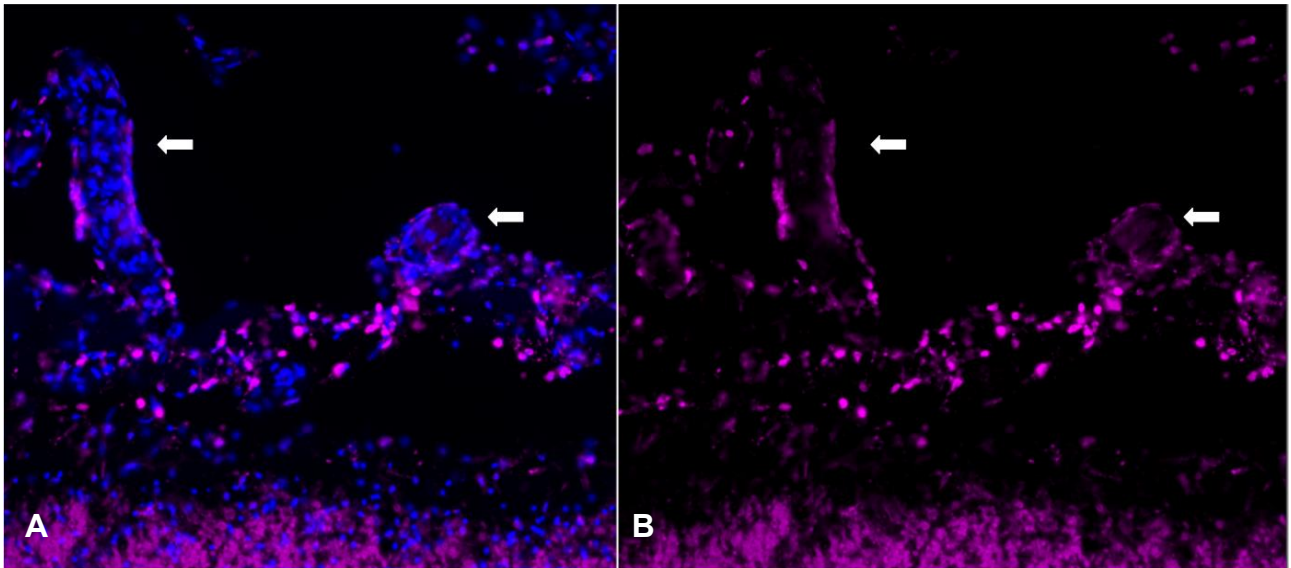


Figure 18 : Infiltrat macrophagique de la méninge avec un renforcement périvasculaire au pôle inférieur de la région hypothalamique entre l'éminence médiane et le tractus optique chez PI2. Les flèches blanches pointent les vaisseaux arachnoïdiens. A: les noyaux sont colorés en bleu par le DAPI et les macrophages/microglie sont mis en évidence par l'anticorps anti-IBA1 marqué par un fluorophore rose. B: même localisation que la photo gauche mais avec suppression du signal des noyaux.

Chez PC2 il y avait une extravasation extracapillaire d'hématies associée à une vasculite lymphocytaire d'un vaisseau à gauche et en dessous de la commissure antérieure dans la SB.

IV.2. IF

IV.2.a. ACE2

Dans un premier temps il avait été réalisé une étude en immunofluorescence pour confirmer la présence d'ACE2 dans l'hypothalamus. ACE2 était exprimée dans les cellules gliales (notamment les astrocytes et les tanocytes), dans les neurones et dans l'épithélium des plexus choroïdes (Figure 19). Elle était également exprimée dans la paroi de certains vaisseaux, mais pas au niveau des capillaires fenêtrés de l'éminence médiane, ni dans la microglie (Figure 20).

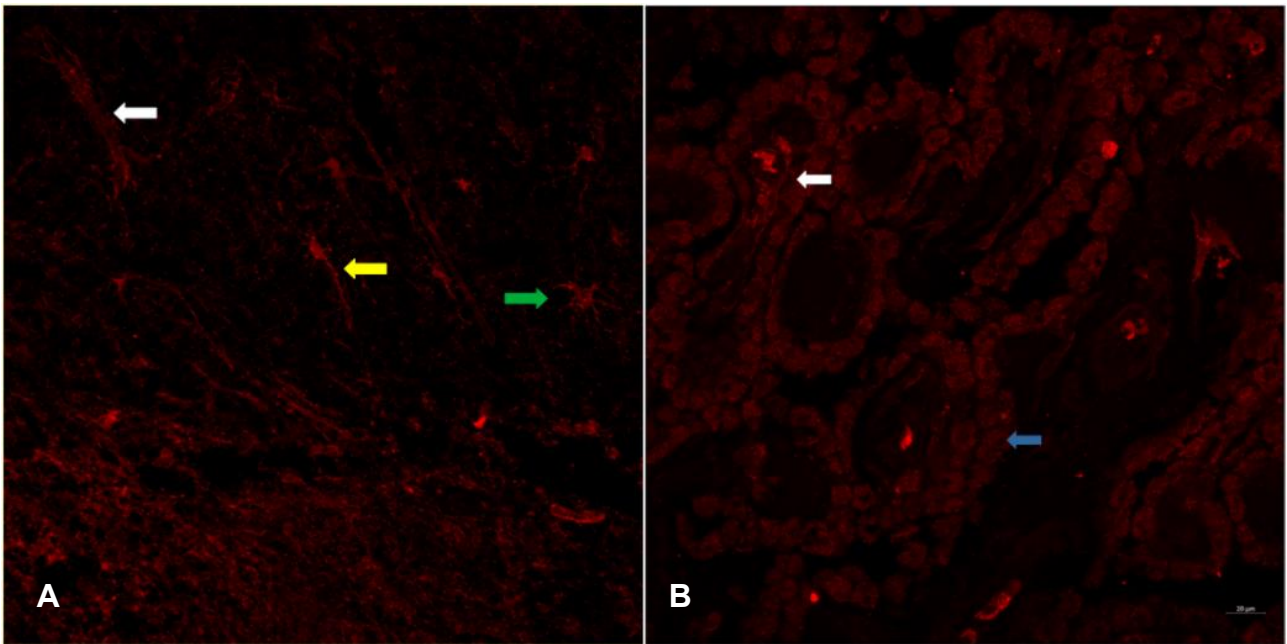


Figure 19 : Étude en immunofluorescence de la présence d'ACE2 dans la région hypothalamique. Anticorps anti-ACE2 mis en évidence par un fluorophore rouge. Flèche blanche : vaisseaux ; flèche jaune : neurone ; flèche verte : astrocyte ; flèche bleue : épithélium des plexus choroïdes **A** : prise chez PC2 hors de l'EM. **B** : prise chez PI1.

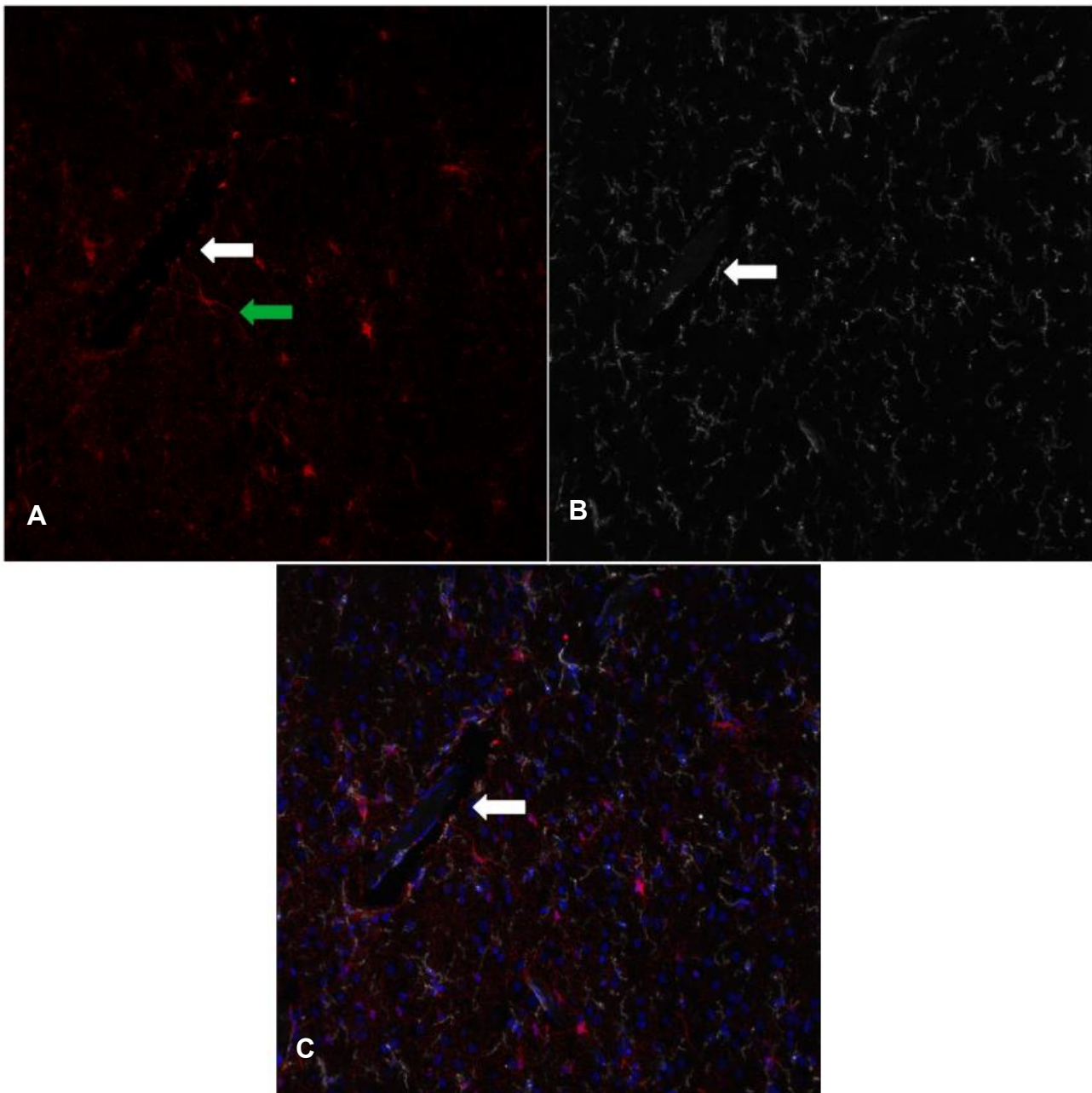


Figure 20 : Étude en immunofluorescence de la présence d'ACE2 dans la région de l'EM chez PC2. Noyaux colorés par le DAPI ; Anticorps anti-ACE2 mis en évidence par un fluorophore rouge ; Anticorps anti-IBA1 mis en évidence par un fluorophore blanc. **A** : absence de marquage des parois d'un vaisseau fenêtré (flèche blanche). Marquage d'un astrocyte au contact du vaisseau (flèche verte). **B** : microglie en quantité importante. **C** : pas d'expression d'ACE2 par la microglie.

IV.2.b. IBA-1

Chez tous les patients infectés il existait des variations de la densité en microglie mais de façon non homogène entre les patients. Chez le PI1 il y avait uniquement une augmentation du nombre de cellules microgliales le long de la paroi du troisième ventricule ainsi qu'entre l'EM et le tractus optique (Figure 21 A). Chez les PI2, PI3 et PI4 le nombre de

cellules microgliales était augmenté dans tout l'hypothalamus avec une prédominance le long du troisième ventricule et dans l'EM chez le P13 et sans prédominance pour le P14 (Figure 21 B).

Chez les patients contrôles, le nombre des cellules exprimant IBA-1 était augmenté chez PC2 mais pas chez PC1 (Figure 21 C).

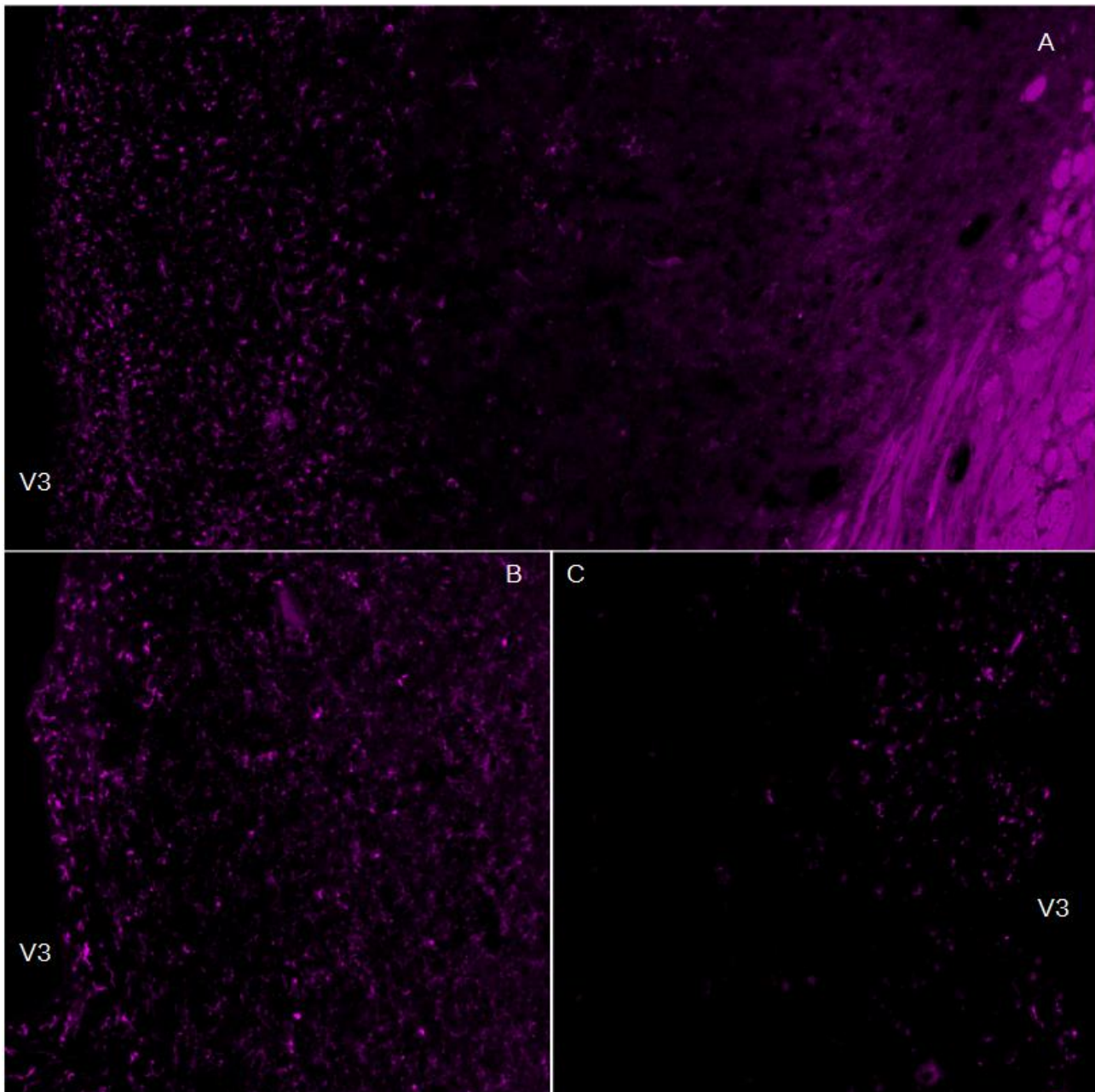


Figure 21 : Étude en immunofluorescence par l'anticorps anti-IBA1 de la microglie dans la région hypothalamique. Anticorps anti-IBA1 mis en évidence par un fluorophore violet. **A** : augmentation du nombre de cellules microgliales le long de la paroi du V3 chez P11. **B** : augmentation diffuse du nombre de cellules microgliales chez P14. **C** : cellules microgliales en nombre moins important chez PC1.

IV.2.c. Spike

L'étude en immunofluorescence par l'anticorps anti-Spike était positive pour les PI1, PI3 et PI4. Au niveau de l'éminence médiane il était mis en évidence un marquage des cellules gliales avec une expression de la protéine Spike par les astrocytes et les tanocytes au contact des vaisseaux fenêtrés. Un marquage de la protéine Spike était également visible dans l'épithélium des plexus choroïdes et dans la paroi des vaisseaux au centre des villosités choroïdiennes (Figure 22).

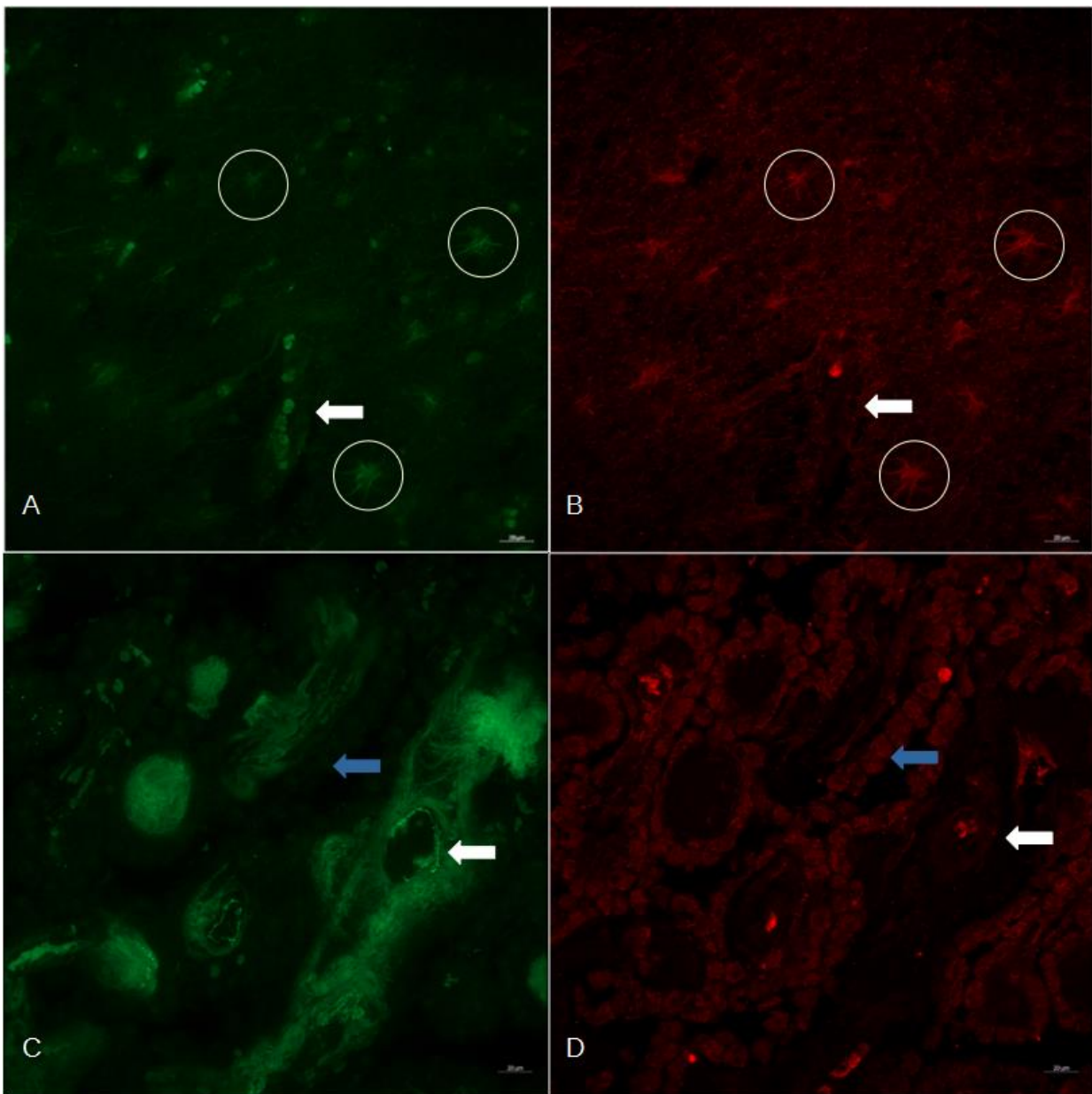


Figure 22 : étude en immunofluorescence de l'expression de la protéine Spike dans la région hypothalamique. Anticorps anti-ACE2 mis en évidence par un fluorophore rouge ; Anticorps anti-Spike mis en évidence par un fluorophore vert. **A et B** : co-expression par les astrocytes de la protéine Spike et de ACE2 dans l'EM (cercles blancs) avec un astrocyte exprimant Spike au contact

d'un vaisseau fenestré (flèche blanche). **C et D** : co-expression dans la paroi des vaisseaux choroïdiens (flèche blanche) et dans les cellules choroïdiennes (flèche bleue) de la protéine Spike et de ACE2.

V. IRM 3T

V.1. *Artefacts liés à la technique*

La fixation par le Formol influençait fortement le contraste de l'image, notamment en pondération T1 avec un front de fixation bien visible dont le niveau variait en fonction de la durée de fixation. (Figure 24 A).

Malgré le passage sous une cloche à vide il persistait de très nombreux artefacts dus aux hyposignaux secondaires à la présence de bulles d'air, notamment au sein des ventricules cérébraux et des sillons corticaux. Ceci rendait difficile leur distinction avec les hyposignaux secondaires par exemple à des microhémorragies. (Figure 24 B et C)

L'hypothalamus de certains patients avait déjà été prélevé, entraînant plus de difficultés pour l'orientation dans l'espace et la disposition de l'encéphale dans le contenant. (Figure 24 C et D)

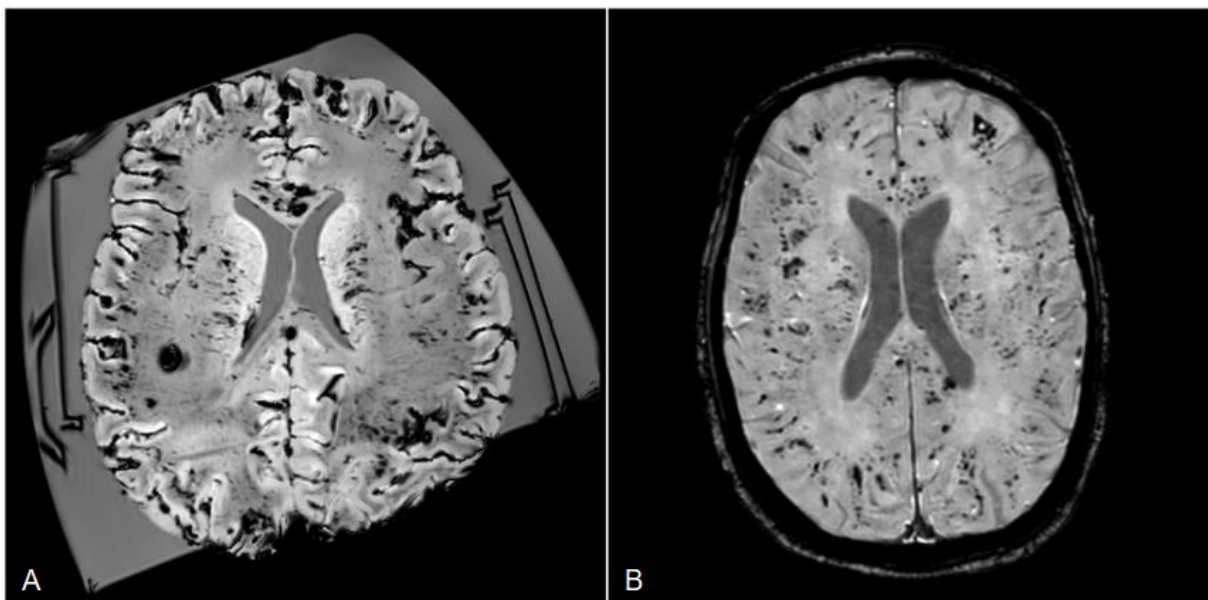


Figure 23 : Comparaison IRM pré et post mortem de PI4. A : IRM post mortem, coupe axiale, séquence SWI **B** : IRM pré mortem, coupe axiale, séquence SWI TE 0, TR 52ms

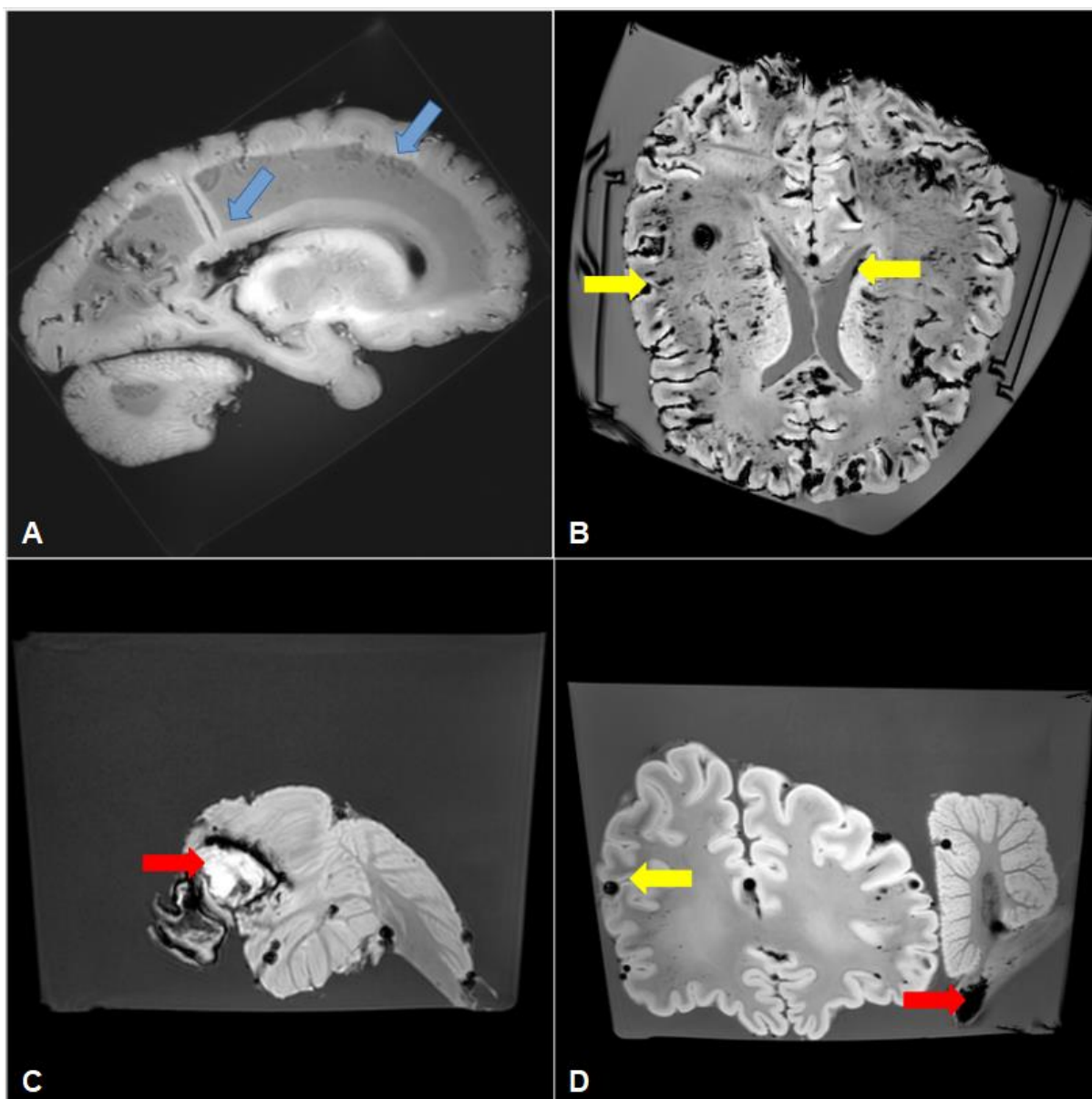


Figure 24 : Particularités d'interprétation des IRM 3T. flèche bleue : anomalie de signal due au front de fixation par le formol ; flèche jaune : hyposignal secondaire aux bulles d'air ; flèche rouge : hématome **A** : Séquence 3DT1, coupe para sagittale de PI4. **B** : séquence SWI, coupe axiale, PI4. **C** : séquence SWI, coupe axiale, hématome de l'hémisphère cérébelleux droit, PI1. **D** : séquence SWI, coupe frontale, hématome de la protubérance haute, PC2.

V.2. *Interprétation des imageries post-mortem*

PI1, PI3 et PI4 présentait à des degrés divers un même schéma de lésions associant des hypersignaux de la SB en séquence 3DT2 et T2 FLAIR et des hyposignaux en SWI.

Pour PI4 ces hyposignaux avaient une topographie particulière : jonction SG/SB

sous-corticale, splénium du corps calleux, capsule interne et pédoncules cérébelleux moyens.

Pour PI3 ces lésions étaient moins marquées et les hyposignaux ne touchaient que la protubérance et les pédoncules cérébelleux moyens.

PI1 avait une atteinte d'intensité intermédiaire entre PI3 et PI4 avec une atteinte de la protubérance, des pédoncules cérébelleux moyens et de la SB superficielle en supra tentoriel à la jonction SB/SG.

Les hypersignaux de la SB étaient décrits comme pouvant correspondre à un œdème, une gliose ou une démyélinisation.

Les hyposignaux en SWI pouvaient être des microhémorragies, des microthrombi, des micro-anévrysmes ou des amas de macrophages riches en fer.

PI2 se distinguait des autres patients par ses atteintes. Ses anomalies étaient plutôt évocatrices d'atteintes de la vascularisation superficielle supratentorielle.

Pour PC1, l'aspect de l'encéphale était différent de celui des PI. En plus des lésions ischémiques on voyait des hyposignaux de faible volume en SWI, peu nombreuses, sous-corticales mais de topographie frontale. On montrait enfin beaucoup de calcifications lenticulaires pouvant également correspondre à des hémorragies.

La leptoméninge ne pouvait pas être étudiée en l'absence d'injection de produit de contraste.

V.3. Comparaison avec l'histologie.

Chez les PI les anomalies de signaux de la SB correspondaient davantage à de l'œdème cérébral plutôt qu'à des secteurs de démyélinisation.

Les hyposignaux SWI correspondaient à des microhémorragies ou à des lacunes de

type II. Pour confirmer le fait que ces lésions IRM ne pouvaient pas correspondre à des nodules de microglie, une coloration complémentaire par le Perls avait été réalisée et ne retrouvait pas de dépôts d'hémosidérine au centre des nodules.

Chez PC 1 on montrait des parois vasculaires calcifiées dans le pallidum, sans hémorragies associées.

VI. IRM 7T

Chez PI4 il existait des hyposignaux hypothalamiques en séquences T2 « like » et T2* qui étaient initialement non visibles en IRM3T. Ces hyposignaux correspondaient bien à des microhémorragies en étude histologique (Figure 25). Il n'y avait en revanche pas d'anomalie de la substance blanche sous réserve de l'absence de séquence T1.

Chez PC1 il n'était pas montré d'anomalie hypothalamique, ce qui était concordant avec l'étude histologique.

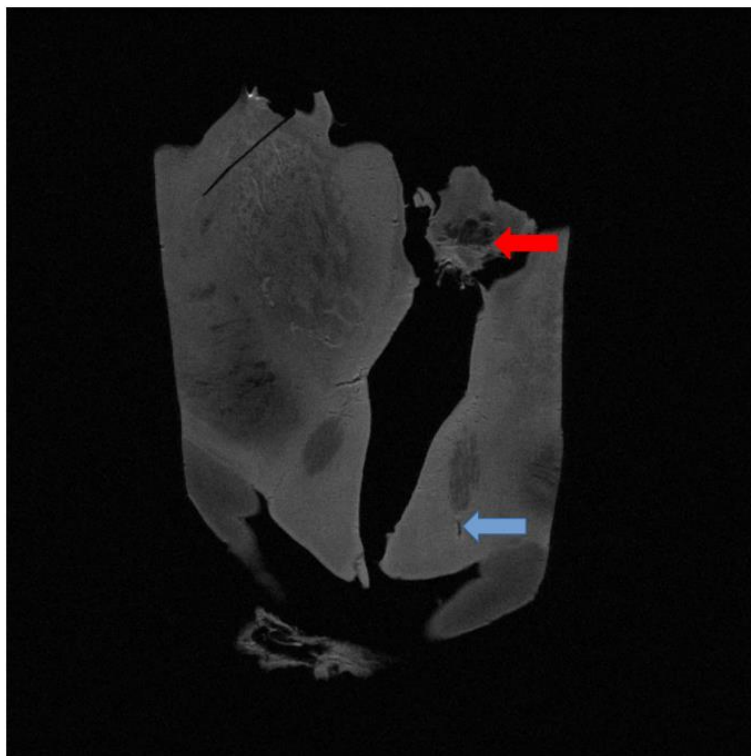


Figure 25 : Hypothalamus de PI4 en IRM 7T, coupe frontale, séquence T2 « like » Flèche rouge : hyposignal dans le septum pellucidum ; flèche bleue : hyposignal sous le fornix gauche correspondant en histologie à des microhémorragies (cf Figure 17 B)

DISCUSSION

La COVID-19 est une maladie récente dont les conséquences sont encore mal connues notamment sur le plan neuropathologique. Dans ce travail nous avons étudié histologiquement et radiologiquement les lésions cérébrales présentes chez quatre patients décédés dans les suites d'une infection grave à SARS-CoV2 et les avons comparées avec celles de patients contrôles décédés en réanimation en dehors de de tout contexte infectieux lié à la COVID-19. En raison de premières descriptions cliniques de possibles conséquences de l'infection par le SARS-CoV2 sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, nous nous sommes intéressés à la région hypothalamique.

Chez les PI nous avons mis en évidence des lésions vasculaires, majoritairement hémorragiques et notamment des microhémorragies sans localisations préférentielles. Ce type de lésions n'était pas retrouvé chez les PC qui avaient plutôt des lésions vasculaires ischémiques.

PI2 était différent des autres PI et a présenté une vascularite granulomateuse compliquant une angiopathie amyloïde pure.

Aucune lésion spécifique n'a été retrouvée dans l'hypothalamus des PI. Nous avons en revanche confirmé la présence de l'ACE2 dans cette région et nous y avons mis en évidence une immunoréactivité pour la protéine Spike.

De cette étude se dégagent trois particularités.

I. La constance des lésions vasculaires

Les patients infectés n°1, 3 et 4 avaient un âge proche et partageaient le même profil d'histoire clinique (détresse respiratoire, IOT et décès en réanimation). L'examen histologique montrait pour ces trois patients les mêmes types d'atteinte du parenchyme pulmonaire correspondant aux lésions pulmonaires de la COVID-19 décrites dans la littérature (58). Au niveau de l'encéphale, l'étude histologique mettait en évidence des lésions vasculaires ischémiques de petite taille et hémorragiques avec des intensités différentes pour chaque patient ; PI3 semblant présenter l'atteinte la moins sévère et PI4, l'atteinte la plus sévère. Ces lésions n'avaient pas de localisation préférentielle. Ces lésions vasculaires pourraient être :

- soit d'origine artérielle pour les lacunes de type I et de type II, les microhémorragies et les élargissements des ECPV (110). Elles pourraient être dues à des processus emboliques entraînant une occlusion d'une artère perforante (lacunes de type I) ou à des lésions des parois artérielles en elles-mêmes entraînant une discontinuité dans la BHE.
- soit d'origine plurifactorielle pour l'œdème de la SB, les lésions de dommage axonal et les extravasations d'hématies (111).

Pour PI4 ces lésions correspondaient à un tableau de Critical illness-associated microbleed (CRAM ou CIAM) défini radiologiquement par de très nombreuses microhémorragies touchant notamment le corps calleux, la capsule interne, la substance blanche juxtacorticale et les pédoncules cérébelleux moyens (112). Ce tableau été classiquement décrit dans l'œdème cérébral de haute altitude et de façon plus générale dans un contexte de détresse respiratoire sévère et d'ECMO (113,114). Il n'est pas lié à une étiologie en particulier mais pourrait être favorisé par l'hypoxie, une microangiopathie ou des microthrombi

et/ou à des troubles de la coagulation (CIVD) (112,115). Ce tableau a plus récemment été décrit chez des patients décédés à la suite d'un COVID-19 grave (56).

Ces résultats sont concordants avec ceux de la littérature. Les méta-analyses sur les anomalies cérébrales des patients atteints de la COVID-19 visibles en IRM et scanner décrivent majoritairement des hémorragies intra-parenchymateuses, des microhémorragies, des infarctus et des anomalies de la SB à type de leucoencéphalopathie sans localisation préférentielle (116,117). Les mêmes constatations sont faites dans les méta-analyses de séries autopsiques avec en plus des descriptions de thromboses et de lésions de dommage axonal et de méningo-encéphalite (118,119).

On retrouvait également des lésions vasculaires au niveau du bulbe olfactif de ces trois PI. Ce n'est pas la première fois que des lésions histologiques vasculaires du bulbe olfactif sont décrites dans un contexte d'infection par le SARS-CoV2 (120). Il a en plus déjà été décrit des lésions de nature inflammatoire (astroglie, activation de la microglie, infiltrat lymphocytaire) (65). Des cas d'atrophies du bulbe olfactif ont aussi été rapportés en IRM (121,122).

Chez les trois patients PI1, PI3 et PI4, des anomalies cérébrales secondaires à l'hypoxémie prolongée telles que déjà décrites dans la littérature (perte des cellules pyramidales, de Purkinje et/ou des neurones des différents couches du cortex cérébral ; leucoencéphalopathie) n'ont pas été observées (123–125).

Les lésions des PI diffèrent de celles retrouvées chez les PC. En effet, les PI présentaient plus de microhémorragies que les PC. A l'inverse on mettait en évidence plus de lésions ischémiques à types d'infarctus aigus ou subaigus chez les PC.

II. Lien avec l'angiopathie amyloïde

PI2 a des particularités cliniques différentes de celles des trois autres défunts infectés. Il était plus âgé et n'avait pas été hospitalisé en réanimation. Son parenchyme pulmonaire n'avait pas de lésion caractéristique d'une infection par le SARS-CoV2 et l'étude histologique de l'encéphale montrait une angiopathie amyloïde pure avec une réaction granulomateuse au contact.

Le cas d'une patiente de 88 ans aux antécédents de maladie d'Alzheimer (MA) ayant présenté une aggravation de son état neurologique après avoir été infectée par le SARS-CoV2 a déjà été décrit. Une IRM avait été réalisée retrouvant de multiples hémorragies cérébrales avec un pattern évocateur d'angiopathie amyloïde. Au moment de la rédaction de cet article, l'évolution clinique était favorable chez cette patiente (126). Une autre équipe rapporte l'histoire d'une patiente de 38 ans aux antécédents de MA précoce secondaire à une duplication hétérozygote du gène du précurseur de la protéine amyloïde (APP) et sans facteur de risque vasculaire. Elle avait été hospitalisée dans un contexte d'aggravation rapide de son état neurologique suite à un AVC hémorragique frontal droit. Dans le même temps elle présentait une infection symptomatique à SARS-CoV2 prouvée par RT-PCR nasopharyngée (127).

La prévalence de l'angiopathie amyloïde augmente avec l'âge. Selon l'estimation de certains auteurs elle serait de l'ordre de 2% entre 64 ans et 75 ans, de 12 % vers 85 ans et pourrait aller jusque 75 % des patients âgés de plus de 90 ans. Elle semble être étroitement liée à la MA de sorte que la prévalence de l'angiopathie amyloïde pourrait atteindre 80 % à l'étude des cerveaux autopsiés dans le cadre de la MA (128).

Une présentation particulière de l'angiopathie amyloïde déjà connue est l'angéite liée à A β (A β -related angiitis ou ABRA). Elle est caractérisée par un infiltrat inflammatoire transmural souvent granulomateux des vaisseaux dans un contexte d'angiopathie amyloïde (129). La prévalence de ce sous type d'angiopathie amyloïde semble mal connue. Une équipe a étudiée sa prévalence dans une série autopsique de 78 patients diagnostiqués comme ayant des dépôts vasculaires d'A β . Dans cette série 49 % des patients avaient une inflammation vasculaire et parmi eux 36 % avaient des lésions classées dans le spectre de l'ABRA (130). Ce type de réaction pourrait avoir une étiologie auto-immune (131).

Des cas de vascularites cérébrales ont déjà été rapportés des suites de la COVID-19 mais à notre connaissance il n'y a pas de description de cas de vascularite granulomateuse cérébrale liée au SARS-CoV2 hors rares cas d'artérites à cellules géantes (132–134).

Ce type de réaction rappelle également le cas de patients atteints de MA ayant été vaccinés par le vaccin « AN-1792 ». Ce vaccin avait pour but d'entraîner une réponse immunitaire contre le peptide amyloïde A β -42 présent dans les plaques séniles. Des signes de régression des plaques étaient effectivement constatés. En parallèle le taux d'A β 42 augmentait dans la paroi des vaisseaux et l'essai pour ce vaccin a dû être arrêté précocement suite à la survenue de plusieurs cas de méningo-encéphalites aseptiques (135,136). L'autopsie cérébrale de l'un de ces patients a permis de montrer un infiltrat lymphocytaire à prédominance de LT de la méninge associé à un infiltrat macrophagique de la méninge et de la SB (137). Il a été suspecté que cette réaction était due à une activation trop importante du système immunitaire vis à vis du peptide A β 42.

Devant la faible incidence de l'angiopathie amyloïde cérébrale pure et de l'ABRA dans la population générale et devant les quelques descriptions de vascularites et d'hémorragies cérébrales chez des patients aux antécédents de MA infectés par le SARS-CoV2, nous pouvons nous poser la question d'un possible lien entre la COVID-19 de PI2 et l'aggravation de son angiopathie amyloïde sans pouvoir l'affirmer devant le peu de données dans la littérature à ce sujet.

III. Les particularités de l'hypothalamus

Il n'a pas été mis en évidence de lésion histologique ou radiologique majeure au niveau de l'hypothalamus hormis quelques microhémorragies chez PI4. Chez l'ensemble des PI et des PC, ACE2 était bien exprimée dans les neurones, les vaisseaux des plexus choroïdes et les capillaires non fenestrés de l'hypothalamus. Ces résultats sont corroborés par des données non encore publiées du laboratoire UMRS 1172, reposant d'une part sur la probabilité d'expression déduite de l'analyse biostatistique de bases de données publiques (Allen Human Brain Atlas) et, d'autre part sur l'étude de l'hypothalamus de hamsters (pre-print, S.Nampoothiri et al). Cette expression pourrait être le prérequis d'un possible passage du virus par voie hématogène dans ces régions. En revanche, nous n'avons pas trouvé d'expression d'ACE2 par l'endothélium des vaisseaux fenestrés de l'EM. Cependant les cellules gliales au contact de ces vaisseaux exprimaient ACE2, suggérant aussi une possibilité de passage du SARS-CoV2 par cette voie. La mise en évidence d'une immunoréactivité pour la protéine Spike dans l'EM et dans les plexus choroïdes n'est cependant pas suffisante pour d'affirmer le passage du virus par cette voie.

Une autre façon de montrer la présence du SARS-CoV2 dans la région hypothalamique et l'EM pourrait être de disséquer ces régions et d'y chercher le virus par RT-PCR (sous réserve d'éliminer une contamination sanguine). Une première équipe a déjà tenté de

cartographier en RT-PCR 16 régions cérébrales de 25 patients décédés et notamment le bulbe olfactif, la région de l'EM et les plexus choroïdes. Seuls 4 patients avaient une amplification en RT-PCR au-dessus du seuil dont 2 au niveau du bulbe olfactif. Il n'était cependant pas possible de conclure sur ces seules données et devant l'absence de lésion histologique détectée en parallèle (138).

Une autre idée pourrait être de s'intéresser non pas à la morphologie de l'hypothalamus mais aux possibles modifications épigénétiques secondaires à la présence du virus dans cette région (139,140).

LIMITES DE L'ETUDE

Il s'agit d'une étude préliminaire réalisée sur un petit nombre de patients dont les autopsies ont été demandées de façon sporadique ne permettant pas de déterminer l'ensemble des lésions cérébrales pouvant être rencontrées dans le cadre d'une infection à SARS-CoV2. Néanmoins l'ensemble des patients autopsiés au CHU de Lille dans le cadre de la COVID-19 ont pu être inclus dans ce travail.

L'interprétation des résultats est limitée par le petit nombre de patients avec la difficulté d'imputer à la COVID-19 toutes les lésions cérébrales constatées chez les PI. En effet ce travail est réalisé sur des patients ayant présenté une infection à SARS-CoV2 dont la particulière gravité a entraîné leur décès. Il s'agissait par ailleurs de sujets présentant des comorbidités importantes (polyangéite traitée par RITUXIMAB (PI3)) et les interactions de ces différents facteurs avec l'infection grave à SARS-CoV2 est aujourd'hui inconnue. On est en droit de se demander si les mêmes lésions pourraient être retrouvées chez des patients survivants avec un autre profil clinique. L'inclusion de PC avait pour but de limiter une éventuelle confusion entre les lésions cérébrales secondaires à la réanimation et celles secondaires à l'infection par le SARS-CoV2.

Une partie de notre travail portait sur l'étude de la région hypothalamique. Cependant nous n'avons pas pu étudier tous les hypothalamus en IRM 7T en raison du caractère expérimental de ce protocole limitant les interprétations possibles. Cependant, la qualité des techniques histologiques effectuées sur les deux hypothalamus étudiés en IRM 7T n'a pas été détériorée et il serait donc possible à l'avenir de réitérer ce type d'étude.

Nous avons choisi de ne pas étudier l'hypophyse. En effet, le temps de fixation long aurait détérioré la qualité des études immunohistochimiques et il aurait été difficile d'étudier les différents sous-types de cellules neuroendocrines. Par ailleurs la tige pituitaire doit être sectionnée lors du prélèvement du cerveau. En outre l'étude de l'hypophyse d'un point de vue fonctionnel doit se faire sur un modèle dynamique.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Cette étude de cohorte prospective Lilloise a mis en évidence chez des patients décédés des suites d'une infection par le SARS-CoV2 l'existence de lésions cérébrales de nature vasculaire à prédominance hémorragique sans localisation préférentielle pouvant prendre une intensité différente en fonction du patient et pouvant aller jusqu'à réaliser un tableau de CRAM. Chez l'un des patients infectés nous avons montré une vascularite granulomateuse accompagnant une angiopathie amyloïde pure, cause du décès du patient. Ce type de lésions apparues dans les suites d'une infection par le SARS-CoV2 n'est, à notre connaissance, pas décrit dans la littérature.

Nous avons également pour la première fois étudié de façon plus spécifique l'hypothalamus de ces patients. Nous n'avons pas mis en évidence d'anomalie morphologique redondante chez les quatre patients infectés. Néanmoins nous avons confirmé l'expression d'ACE2 dans la région hypothalamique, qui pourrait être une zone de passage possible du virus.

Néanmoins, il s'agit d'une étude préliminaire. En effet, la limite principale de cette

étude est le petit nombre de patients ne permettant pas la généralisation des résultats à une plus grande population.

Suite à ces résultats il nous semble important

- De poursuivre l'étude de l'impact de la COVID-19 sur l'hypothalamus en menant des études morphologiques sur des séries autopsiques de grande taille avec un recrutement multicentrique
- De compléter les études morphologiques par des études moléculaires et en particulier épigénétiques afin de ne pas méconnaître d'autres mécanismes potentiels de lésions hypothalamiques.
- D'assurer un suivi clinique neurologique et endocrinien des patients ayant survécu à une forme grave de la COVID-19.

REFERENCES

1. Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatr.* 2020;87(4):281-6.
2. Esakandari H, Nabi-Afjadi M, Fakkari-Afjadi J, Farahmandian N, Miresmaeili S-M, Bahreini E. A comprehensive review of COVID-19 characteristics. *Biol Proced Online.* 2020;22:19.
3. Details - Public Health Image Library(PHIL) [Internet]. [cité 7 août 2021]. Disponible sur: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=15530>
4. Chen S-C, Olsthoorn RCL, Yu C-H. Structural phylogenetic analysis reveals lineage-specific RNA repetitive structural motifs in all coronaviruses and associated variations in SARS-CoV-2. *Virus Evol.* 16 juin 2021;7(1):veab021.
5. Dev Kumar G, Mishra A, Dunn L, Townsend A, Oguadinma IC, Bright KR, et al. Biocides and Novel Antimicrobial Agents for the Mitigation of Coronaviruses. *Front Microbiol.* 23 juin 2020;11:1351.
6. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 20 févr 2020;382(8):727-33.
7. Zhang R, Li Y, Zhang AL, Wang Y, Molina MJ. Identifying airborne transmission as the dominant route for the spread of COVID-19. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 30 juin 2020;117(26):14857-63.
8. Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *J Virol.* 17 mars 2020;94(7).
9. Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, Lely AT, Navis GJ, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol.* juin 2004;203(2):631-7.
10. Zhou Z, Kang H, Li S, Zhao X. Understanding the neurotropic characteristics of SARS-CoV-2: from neurological manifestations of COVID-19 to potential neurotropic mechanisms. *J Neurol.* août 2020;267(8):2179-84.
11. Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H. Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host-Virus Interaction, and Proposed Neurotropic Mechanisms. *ACS Chem Neurosci.* 1 avr 2020;11(7):995-8.
12. Djomkam ALZ, Olwal CO, Sala TB, Paemka L. Commentary: SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Front Oncol.* 2020;10:1448.
13. Welcome MO. Neuropathophysiology of coronavirus disease 2019: neuroinflammation and blood brain barrier disruption are critical pathophysiological processes that contribute to the clinical symptoms of SARS-CoV-2 infection. :25.
14. Lou JJ, Movassaghi M, Gordy D, Olson MG, Zhang T, Khurana MS, et al. Neuropathology of COVID-19 (neuro-COVID): clinicopathological update. *Free Neuropathol.* 18

janv 2021;2.

15. Comas-García M. Packaging of Genomic RNA in Positive-Sense Single-Stranded RNA Viruses: A Complex Story. *Viruses*. 13 mars 2019;11(3):253.
16. Stratégies de Réplication des virus à ARN [Internet]. [cité 14 mars 2021]. Disponible sur: <http://www.microbiologybook.org/French-virology/virol-french4.htm>
17. Hopfer H, Herzig MC, Gosert R, Menter T, Hench J, Tzankov A, et al. Hunting coronavirus by transmission electron microscopy – a guide to SARS-CoV-2-associated ultrastructural pathology in COVID-19 tissues. *Histopathology*. 2021;78(3):358-70.
18. Sisó-Almirall A, Brito-Zerón P, Conangla Ferrín L, Kostov B, Moragas Moreno A, Mes- tres J, et al. Long Covid-19: Proposed Primary Care Clinical Guidelines for Diagnosis and Disease Management. *Int J Environ Res Public Health*. 20 avr 2021;18(8):4350.
19. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, Place S, Van Laethem Y, Cabaraux P, Mat Q, et al. Clinical and Epidemiological Characteristics of 1,420 European Patients with mild-to-moderate Coronavirus Disease 2019. *J Intern Med*. 30 avr 2020;10.1111/joim.13089.
20. Romero-Sánchez CM, Díaz-Maroto I, Fernández-Díaz E, Sánchez-Larsen Á, Layos-Romero A, García-García J, et al. Neurologic manifestations in hospitalized patients with COVID-19: The ALBACOVID registry. *Neurology*. 25 août 2020;95(8):e1060-70.
21. Montalvan V, Lee J, Bueso T, De Toledo J, Rivas K. Neurological manifestations of COVID-19 and other coronavirus infections: A systematic review. *Clin Neurol Neurosurg*. juill 2020;194:105921.
22. Daia C, Scheau C, Neagu G, Andone I, Spanu A, Popescu C, et al. Nerve conduction study and electromyography findings in patients recovering from Covid-19 – Case report. *Int J Infect Dis*. févr 2021;103:420-2.
23. Acharya S, Thibault M, Lee J, Taha O, Morpurgo AJ, Kshetree BK, et al. COVID-19-Induced Left Sciatic Neuropathy Requiring Prolonged Physical Medicine and Rehabilitation. *Cureus*. 13(6):e15803.
24. De Gennaro R, Gastaldo E, Tamborino C, Baraldo M, Casula N, Pedrali M, et al. Selective cranial multineuritis in severe COVID-19 pneumonia: two cases and literature review. *Neurol Sci*. 30 janv 2021;1-6.
25. Bilinska K, Butowt R. Anosmia in COVID-19: A Bumpy Road to Establishing a Cellular Mechanism. *ACS Chem Neurosci*. 5 août 2020;11(15):2152-5.
26. Baig AM. Computing the Effects of SARS-CoV-2 on Respiration Regulatory Mechanisms in COVID-19. *ACS Chem Neurosci*. 19 août 2020;11(16):2416-21.
27. Khedr EM, Shoyb A, Mohamed KO, Karim AA, Saber M. Case Report: Guillain-Barré Syndrome Associated With COVID-19. *Front Neurol*. 2021;12:678136.
28. Viatgé T, Noel-Savina E, Prévot G, Faviez G, Plat G, De Boissezon X, et al. Syndrome de Parsonage-Turner compliquant une infection sévère à SARS-CoV-2. *Rev Mal Respir* [Internet]. 26 juin 2021 [cité 7 août 2021]; Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8233958/>

29. Korkmaz MÖ, Güven M. Unilateral Vocal Cord Paralysis Case Related to COVID-19. *Sn Compr Clin Med.* 23 juill 2021;1-3.
30. Iba T, Connors JM, Levy JH. The coagulopathy, endotheliopathy, and vasculitis of COVID-19. *Inflamm Res Off J Eur Histamine Res Soc Al.* déc 2020;69(12):1181-9.
31. Kumar A, Narayan RK, Kumari C, Faiq MA, Kulandhasamy M, Kant K, et al. SARS-CoV-2 cell entry receptor ACE2 mediated endothelial dysfunction leads to vascular thrombosis in COVID-19 patients. *Med Hypotheses.* déc 2020;145:110320.
32. Escher R, Breakey N, Lämmle B. ADAMTS13 activity, von Willebrand factor, factor VIII and D-dimers in COVID-19 inpatients. *Thromb Res.* août 2020;192:174-5.
33. Steadman E, Fandaros M, Yin W. SARS-CoV-2 and Plasma Hypercoagulability. *Cell Mol Bioeng.* 28 juin 2021;1-10.
34. Lodigiani C, Iapichino G, Carenzo L, Cecconi M, Ferrazzi P, Sebastian T, et al. Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. *Thromb Res.* juill 2020;191:9-14.
35. Thachil J. Lessons learnt from COVID-19 coagulopathy. *Ejhaem.* 17 mai 2021;10.1002/jha2.228.
36. Yang L, Xie X, Tu Z, Fu J, Xu D, Zhou Y. The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Signal Transduct Target Ther.* 7 juill 2021;6(1):1-20.
37. TUFAN A, AVANOĞLU GÜLER A, MATUCCI-CERINIC M. COVID-19, immune system response, hyperinflammation and repurposing antirheumatic drugs. *Turk J Med Sci.* 21 avr 2020;50(3):620-32.
38. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 12 mars 2020;ciaa248.
39. Mahmoud Salehi Khesht A, Karpisheh V, Qubais Saeed B, Olegovna Zekiy A, Yapanto LM, Nabi Afjadi M, et al. Different T cell related immunological profiles in COVID-19 patients compared to healthy controls. *Int Immunopharmacol.* août 2021;97:107828.
40. Tan L, Wang Q, Zhang D, Ding J, Huang Q, Tang Y-Q, et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduct Target Ther.* 27 mars 2020;5:33.
41. Satre Buisson L. Coagulopathie associée au COVID-19 : les éléments essentiels pour l'anesthésiste-réanimateur. *Prat En Anesth Reanim.* sept 2020;24(4):190-5.
42. Choudhary R, Kapoor MS, Singh A, Bodakhe SH. Therapeutic targets of renin-angiotensin system in ocular disorders. *J Curr Ophthalmol.* mars 2017;29(1):7-16.
43. Ekholm M, Kahan T. The Impact of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System on Inflammation, Coagulation, and Atherothrombotic Complications, and to Aggravated COVID-19. *Front Pharmacol.* 17 juin 2021;12:640185.
44. Santos RAS, Sampaio WO, Alzamora AC, Motta-Santos D, Alenina N, Bader M, et al.

The ACE2/Angiotensin-(1–7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1–7). *Physiol Rev.* 1 janv 2018;98(1):505-53.

45. Thomas MC, Pickering RJ, Tsorotes D, Koitka A, Sheehy K, Bernardi S, et al. Genetic Ace2 deficiency accentuates vascular inflammation and atherosclerosis in the ApoE knockout mouse. *Circ Res.* 1 oct 2010;107(7):888-97.
46. Fotuhi M, Mian A, Meysami S, Raji CA. Neurobiology of COVID-19. *J Alzheimers Dis JAD.* 2020;76(1):3-19.
47. Magro CM, Mulvey J, Kubiak J, Mikhail S, Suster D, Crowson AN, et al. Severe COVID-19: A multifaceted viral vasculopathy syndrome. *Ann Diagn Pathol.* févr 2021;50:151645.
48. Franca RA, Uggla L, Guadagno E, Russo D, Caro MDBD. Neuroinvasive potential of SARS-CoV2 with neuroradiological and neuropathological findings: is the brain a target or a victim? *APMIS.* 2021;129(2):37-54.
49. Mussa BM, Srivastava A, Verberne AJM. COVID-19 and Neurological Impairment: Hypothalamic Circuits and Beyond. *Viruses.* 17 mars 2021;13(3):498.
50. Chaná-Cuevas P, Salles-Gándara P, Rojas-Fernandez A, Salinas-Rebolledo C, Milán-Solé A. The Potential Role of SARS-COV-2 in the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Front Neurol.* 2020;11:1044.
51. Fisicaro F, Di Napoli M, Liberto A, Fanella M, Di Stasio F, Pennisi M, et al. Neurological Sequelae in Patients with COVID-19: A Histopathological Perspective. *Int J Environ Res Public Health.* 3 févr 2021;18(4).
52. Zubair AS, McAlpine LS, Gardin T, Farhadian S, Kuruvilla DE, Spudich S. Neuropathogenesis and Neurologic Manifestations of the Coronaviruses in the Age of Coronavirus Disease 2019 A Review. *JAMA Neurol.* 1 août 2020;77(8):1018-27.
53. Roth J, Harré E-M, Rummel C, Gerstberger R, Hübschle T. Signaling the brain in systemic inflammation: role of sensory circumventricular organs. *Front Biosci J Virtual Libr.* 1 janv 2004;9:290-300.
54. Prevot V, Nogueiras R, Schwaninger M. Chapter 16 - Tanycytes in the infundibular nucleus and median eminence and their role in the blood–brain barrier. In: Swaab DF, Kreier F, Lucassen PJ, Salehi A, Buijs RM, éditeurs. *Handbook of Clinical Neurology* [Internet]. Elsevier; 2021 [cité 8 juill 2021]. p. 253-73. (The Human Hypothalamus; vol. 180). Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128201077000161>
55. Furube E, Ishii H, Nambu Y, Kurganov E, Nagaoka S, Morita M, et al. Neural stem cell phenotype of tanycyte-like ependymal cells in the circumventricular organs and central canal of adult mouse brain. *Sci Rep.* 18 févr 2020;10:2826.
56. Kirschenbaum D, Imbach LL, Rushing EJ, Frauenknecht KBM, Gascho D, Ineichen BV, et al. Intracerebral endotheliitis and microbleeds are neuropathological features of COVID-19. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 29 nov 2020;
57. Solomon IH, Normandin E, Bhattacharyya S, Mukerji SS, Keller K, Ali AS, et al. Neuropathological Features of Covid-19. *N Engl J Med* [Internet]. 12 juin 2020 [cité 14 mars

2021]; Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7304421/>

58. Hofman P, Copin M-C, Tauziède-Espariat A, Adle-Biassette H, Fortarezza F, Passeron T, et al. Les lésions histologiques associées à l'infection par le SARS-CoV-2. *Ann Pathol.* févr 2021;41(1):9-22.
59. Mukerji SS, Solomon IH. What can we learn from brain autopsies in COVID-19? *Neurosci Lett.* 18 janv 2021;742:135528.
60. Al-Dalahmah O, Thakur KT, Nordvig AS, Prust ML, Roth W, Lignelli A, et al. Neuronophagia and microglial nodules in a SARS-CoV-2 patient with cerebellar hemorrhage. *Acta Neuropathol Commun.* 26 août 2020;8(1):147.
61. Jensen MP, Le Quesne J, Officer-Jones L, Teodòsio A, Thaventhiran J, Ficken C, et al. Neuropathological findings in two patients with fatal COVID-19. *Neuropathol Appl Neurobiol.* févr 2021;47(1):17-25.
62. Conklin J, Frosch MP, Mukerji S, Rapalino O, Maher M, Schaefer PW, et al. Cerebral Microvascular Injury in Severe COVID-19. *MedRxiv Prepr Serv Health Sci.* 24 juill 2020;
63. Reichard RR, Kashani KB, Boire NA, Constantopoulos E, Guo Y, Lucchinetti CF. Neuropathology of COVID-19: a spectrum of vascular and acute disseminated encephalomyelitis (ADEM)-like pathology. *Acta Neuropathol (Berl).* juill 2020;140(1):1-6.
64. Fabbri VP, Foschini MP, Lazzarotto T, Gabrielli L, Cenacchi G, Gallo C, et al. Brain ischemic injury in COVID-19-infected patients: a series of 10 post-mortem cases. *Brain Pathol Zurich Switz.* janv 2021;31(1):205-10.
65. Matschke J, Lütgehetmann M, Hagel C, Sperhake JP, Schröder AS, Edler C, et al. Neuropathology of patients with COVID-19 in Germany: a post-mortem case series. *Lancet Neurol.* nov 2020;19(11):919-29.
66. Poyiadji N, Shahin G, Noujaim D, Stone M, Patel S, Griffith B. COVID-19-associated Acute Hemorrhagic Necrotizing Encephalopathy: Imaging Features. *Radiology.* août 2020;296(2):E119-20.
67. Shahmirzaei S, Naser Moghadasi A. Association of COVID-19 and Acute Disseminated Encephalomyelitis (ADEM) in the absence of pulmonary involvement. *Autoimmun Rev.* mars 2021;20(3):102753.
68. Han T, Kang J, Li G, Ge J, Gu J. Analysis of 2019-nCoV receptor ACE2 expression in different tissues and its significance study. *Ann Transl Med.* sept 2020;8(17):1077.
69. Frara S, Allora A, Castellino L, di Filippo L, Loli P, Giustina A. COVID-19 and the pituitary. *Pituitary.* 3 mai 2021;1-17.
70. Squires E. *Applied Animal Endocrinology.* *Anim Feed Sci Technol - ANIM FEED SCI TECH.* 1 janv 2004;114.
71. El Sayed SA, Fahmy MW, Schwartz J. Physiology, Pituitary Gland. In: *StatPearls [Internet].* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cité 13 juill 2021]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459247/>

72. SFEndocrino [Internet]. [cité 13 juill 2021]. Disponible sur: <http://sfendocrino.org/article/999/polycopie-des-enseignants-4eme-edition-2019>
73. Patel H, Jessu R, Tiwari V. Physiology, Posterior Pituitary. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cité 14 juill 2021]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526130/>
74. Pal R, Banerjee M. COVID-19 and the endocrine system: exploring the unexplored. *J Endocrinol Invest*. 2 mai 2020;1-5.
75. Salonia A, Pontillo M, Capogrosso P, Gregori S, Tassara M, Boeri L, et al. Severely low testosterone in males with COVID-19: A case-control study. *Andrology*. 9 mars 2021;10.1111/andr.12993.
76. Wang Z, Xu X. scRNA-seq Profiling of Human Testes Reveals the Presence of the ACE2 Receptor, A Target for SARS-CoV-2 Infection in Spermatogonia, Leydig and Sertoli Cells. *Cells*. avr 2020;9(4):920.
77. Tian Y, Zhou L. Evaluating the impact of COVID-19 on male reproduction. *Reproduction*. 1 févr 2021;161(2):R37-44.
78. Pal R, Banerjee M. COVID-19 and the endocrine system: exploring the unexplored. *J Endocrinol Invest*. juill 2020;43(7):1027-31.
79. Kadihasanoglu M, Aktas S, Yardimci E, Aral H, Kadioglu A. SARS-CoV-2 Pneumonia Affects Male Reproductive Hormone Levels: A Prospective, Cohort Study. *J Sex Med*. févr 2021;18(2):256-64.
80. Temiz MZ, Dincer MM, Hacibey I, Yazar RO, Celik C, Kucuk SH, et al. Investigation of SARS-CoV-2 in semen samples and the effects of COVID-19 on male sexual health by using semen analysis and serum male hormone profile: A cross-sectional, pilot study. *Andrologia*. 26 nov 2020;e13912.
81. Segars J, Katler Q, McQueen DB, Kotlyar A, Glenn T, Knight Z, et al. Prior and novel coronaviruses, Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), and human reproduction: what is known? *Fertil Steril*. juin 2020;113(6):1140-9.
82. Ding T, Wang T, Zhang J, Cui P, Chen Z, Zhou S, et al. Analysis of Ovarian Injury Associated With COVID-19 Disease in Reproductive-Aged Women in Wuhan, China: An Observational Study. *Front Med*. 19 mars 2021;8:635255.
83. Gu WT, Zhou F, Xie WQ, Wang S, Yao H, Liu YT, et al. A potential impact of SARS-CoV-2 on pituitary glands and pituitary neuroendocrine tumors. *Endocrine*. 30 mars 2021;1-9.
84. Alzahrani AS, Mukhtar N, Aljomaiah A, Aljamei H, Bakhsh A, Alsudani N, et al. The Impact of COVID-19 Viral Infection on the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. *Endocr Pract*. févr 2021;27(2):83-9.
85. Vogel F, Reincke M. Endocrine risk factors for COVID-19: Endogenous and exogenous glucocorticoid excess. *Rev Endocr Metab Disord*. 9 juill 2021;1-18.
86. Wheatland R. Molecular mimicry of ACTH in SARS – implications for corticosteroid treatment and prophylaxis. *Med Hypotheses*. 2004;63(5):855-62.

87. Lisco G, De Tullio A, Stragapede A, Solimando AG, Albanese F, Capobianco M, et al. COVID-19 and the Endocrine System: A Comprehensive Review on the Theme. *J Clin Med*. 29 juin 2021;10(13):2920.
88. Garg MK, Gopalakrishnan M, Yadav P, Misra S. Endocrine Involvement in COVID-19: Mechanisms, Clinical Features, and Implications for Care. *Indian J Endocrinol Metab*. 2020;24(5):381-6.
89. Annane D, Pastores SM, Arlt W, Balk RA, Beishuizen A, Briegel J, et al. Critical Illness-Related Corticosteroid Insufficiency (CIRCI): A Narrative Review from a Multi-specialty Task Force of the Society of Critical Care Medicine (SCCM) and the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Crit Care Med*. déc 2017;45(12):2089-98.
90. Chua MWJ, Chua MPW. Delayed Onset of Central Hypocortisolism in a Patient Recovering From COVID-19. *AACE Clin Case Rep*. 28 déc 2020;7(1):2-5.
91. Caron P. Thyroid disorders and SARS-CoV-2 infection: From pathophysiological mechanism to patient management. *Ann Endocrinol*. oct 2020;81(5):507-10.
92. Baldelli R, Nicastrì E, Petrosillo N, Marchioni L, Gubbiotti A, Sperduti I, et al. Thyroid dysfunction in COVID-19 patients. *J Endocrinol Invest*. 8 juin 2021;1-5.
93. Croce L, Gangemi D, Ancona G, Liboà F, Bendotti G, Minelli L, et al. The cytokine storm and thyroid hormone changes in COVID-19. *J Endocrinol Invest*. 2021;44(5):891-904.
94. Vassiliadi DA, Ilias I, Pratikaki M, Jahaj E, Vassiliou AG, Detsika M, et al. Thyroid hormone alterations in critically and non-critically ill patients with SARS-CoV-2 infection. *Endocr Connect*. 19 mai 2021;10(6):646-55.
95. Chen M, Zhou W, Xu W. Thyroid Function Analysis in 50 Patients with COVID-19: A Retrospective Study. *Thyroid*. 1 janv 2021;31(1):8-11.
96. Ilias I, Diamantopoulos A, Botoula E, Athanasiou N, Zacharis A, Tshipilis S, et al. Covid-19 and Growth Hormone/Insulin-Like Growth Factor 1: Study in Critically and Non-Critically Ill Patients. *Front Endocrinol*. 16 juin 2021;12:644055.
97. Elkarow MH, Hamdy A. A Suggested Role of Human Growth Hormone in Control of the COVID-19 Pandemic. *Front Endocrinol*. 9 nov 2020;11:569633.
98. Wei L, Sun S, Zhang J, Zhu H, Xu Y, Ma Q, et al. Endocrine cells of the adenohypophysis in severe acute respiratory syndrome (SARS) This paper is one of a selection of papers published in this special issue entitled "Second International Symposium on Recent Advances in Basic, Clinical, and Social Medicine" and has undergone the Journal's usual peer review process. *Biochem Cell Biol*. 1 août 2010;88(4):723-30.
99. Habib MB, Sardar S, Sajid J. Acute symptomatic hyponatremia in setting of SIADH as an isolated presentation of COVID-19. *IDCases*. 1 juin 2020;21:e00859.
100. Ho KS, Narasimhan B, Kumar A, Flynn E, Salonia J, El-Hachem K, et al. Syndrome of inappropriate antidiuretic hormone as the initial presentation of COVID-19: A novel case report. *Nefrologia*. 2021;41(2):218-20.

101. Amir M, Renata A, Ratana LT. Symptomatic sinus bradycardia due to electrolyte imbalances in syndrome of inappropriate antidiuretic hormone (SIADH) related covid-19: a case report. *BMC Infect Dis.* 21 mai 2021;21:465.
102. Sherazi A, Bedi P, Udevbulu E, Rubin V, Alasadi L, Spitalewitz S. Hyponatremia and Encephalopathy in a 55-Year-old Woman with Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion as an Isolated Presentation of SARS-CoV-2 Infection. *Am J Case Rep.* 24 mars 2021;22:e930135-1-e930135-4.
103. Concepción Zavaleta MJ, Ildelfonso Najarro SP, Moreno Marreros DM, Concepción Urteaga LA. SIADH and severe COVID-19 pneumonia in elderly patients: a therapeutic challenge in developing countries. *Intern Emerg Med.* 24 avr 2021;1-3.
104. Puig-Domingo M, Marazuela M, Yildiz BO, Giustina A. COVID-19 and endocrine and metabolic diseases. An updated statement from the European Society of Endocrinology. *Endocrine.* 8 mai 2021;1-16.
105. Berni A, Malandrino D, Parenti G, Maggi M, Poggesi L, Peri A. Hyponatremia, IL-6, and SARS-CoV-2 (COVID-19) infection: may all fit together? *J Endocrinol Invest.* 1 août 2020;43(8):1137-9.
106. 02- ANOMALIES DU BILAN DE L'EAU ET DU SODIUM - Article complet - - [Manuel de NÉPHROLOGIE 8 e édition] [Internet]. [cité 18 juill 2021]. Disponible sur: <http://cuen.fr/manuel/spip.php?article2>
107. de Melo IS, Sabino-Silva R, Cunha TM, Goulart LR, Reis WL, Jardim ACG, et al. Hydroelectrolytic Disorder in COVID-19 patients: Evidence Supporting the Involvement of Subfornical Organ and Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus. *Neurosci Biobehav Rev.* mai 2021;124:216-23.
108. Oliveira VC, Carrara RCV, Simoes DLC, Saggiaro FP, Carlotti CG, Covas DT, et al. Sudan Black B treatment reduces autofluorescence and improves resolution of in situ hybridization specific fluorescent signals of brain sections. *Histol Histopathol.* août 2010;25(8):1017-24.
109. Im K, Mareninov S, Diaz MFP, Yong WH. An Introduction to Performing Immunofluorescence Staining. In: Yong WH, éditeur. *Biobanking* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2019 [cité 29 mai 2021]. p. 299-311. (Methods in Molecular Biology; vol. 1897). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-8935-5_26
110. Poirier J. Autres lésions cérébrales d'origine artérielle. In: *Manuel de neuropathologie.* 3^e éd. p. 94-95-96-97-8. (MAsson).
111. Poirier J. Pathologie d'origine veineuse. In: *Manuel de neuropathologie.* 3^e éd. p. 99-100. (Masson).
112. Lersy F, Willaume T, Brisset J-C, Collange O, Helms J, Schneider F, et al. Critical illness-associated cerebral microbleeds for patients with severe COVID-19: etiologic hypotheses. *J Neurol.* 21 nov 2020;1-9.
113. Toeback J, Depoortere SD, Vermassen J, Vereecke EL, Driessche VV, Hemelsoet DM. Microbleed patterns in critical illness and COVID-19. *Clin Neurol Neurosurg.* 2021;5.
114. Fanou EM, Coutinho JM, Shannon P, Kiehl T-R, Levi MM, Wilcox ME, et al. Critical

Illness–Associated Cerebral Microbleeds. *Stroke*. 1 avr 2017;48(4):1085-7.

115. Fitsiori A, Pugin D, Thieffry C, Lalive P, Vargas MI. Unusual Microbleeds in Brain MRI of Covid-19 Patients. *J Neuroimaging* [Internet]. [cité 20 août 2021]; Disponible sur: <https://www-ncbi-nlm-nih-gov.ressources-electroniques.univ-lille.fr/pmc/articles/PMC7361874/>
116. Choi Y, Lee MK. Neuroimaging findings of brain MRI and CT in patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Radiol*. déc 2020;133:109393.
117. Egbert AR, Cankurtaran S, Karpiak S. Brain abnormalities in COVID-19 acute/sub-acute phase: A rapid systematic review. *Brain Behav Immun*. oct 2020;89:543-54.
118. Satturwar S, Fowkes M, Farver C, Wilson AM, Eccher A, Girolami I, et al. Postmortem Findings Associated With SARS-CoV-2. *Am J Surg Pathol*. mai 2021;45(5):587-603.
119. Malik P, Patel K, Akrmah M, Donthi D, Patel U, Khader SN, et al. COVID-19: a Disease with a Potpourri of Histopathologic Findings—a Literature Review and Comparison to the Closely Related SARS and MERS. *Sn Compr Clin Med*. 10 août 2021;1-28.
120. Lee M-H, Perl DP, Nair G, Li W, Maric D, Murray H, et al. Microvascular Injury in the Brains of Patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 4 févr 2021;384(5):481-3.
121. Kandemirli SG, Altundag A, Yildirim D, Tekcan Sanli DE, Saatci O. Olfactory Bulb MRI and Paranasal Sinus CT Findings in Persistent COVID-19 Anosmia. *Acad Radiol*. janv 2021;28(1):28-35.
122. Aragão MFVV, Leal MC, Filho OQC, Fonseca TM, Valença MM. Anosmia in COVID-19 Associated with Injury to the Olfactory Bulbs Evident on MRI. *Am J Neuroradiol*. 1 sept 2020;41(9):1703-6.
123. Cervós-Navarro J, Diemer NH. Selective vulnerability in brain hypoxia. *Crit Rev Neurobiol*. 1991;6(3):149-82.
124. Rahaman P, Del Bigio MR. Histology of Brain Trauma and Hypoxia-Ischemia. *Acad Forensic Pathol*. sept 2018;8(3):539-54.
125. James PB, Calder IM. Anoxic asphyxia--a cause of industrial fatalities: a review. *J R Soc Med*. août 1991;84(8):493-5.
126. Ordinola AAM, Osmar SS, Marussi VHR, Rojas SSO, Baeta AM, Chaddad Neto FE, et al. Cerebral hemorrhage during the active phase of SARS-CoV-2 infection in a patient with amyloid angiopathy: case report. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2020;32(4):603-5.
127. Fraiman P, Freire M, Moreira-Neto M, Godeiro-Junior C. Hemorrhagic stroke and COVID-19 infection: Coincidence or causality? *eNeurologicalSci*. 16 sept 2020;21:100274.
128. Zhang-Nunes SX, Maat-Schieman MLC, Duinen SG van, Roos RAC, Frosch MP, Greenberg SM. The Cerebral β -Amyloid Angiopathies: Hereditary and Sporadic. *Brain Pathol*. 2006;16(1):30-9.
129. Fang C-W, Chen Y-C, Liao I-C, Lin C-CK. Primary Granulomatous Angiitis of the Central Nervous System With Amyloid Angiopathy: A Case Report and Literature Review.

The Neurologist. févr 2015;19(3):73-8.

130. Salvarani C, Hunder GG, Morris JM, Brown RD, Christianson T, Giannini C. A β -related angiitis. *Neurology*. 29 oct 2013;81(18):1596-603.
131. Ichimata S, Hata Y, Yoshida K, Nishida N. Autopsy of a multiple lobar hemorrhage case with amyloid- β -related angiitis. *Neuropathology*. 2020;40(3):280-6.
132. Lersy F, Anheim M, Willaume T, Chammas A, Brisset J-C, Cotton F, et al. Cerebral vasculitis of medium-sized vessels as a possible mechanism of brain damage in COVID-19 patients. *J Neuroradiol*. mai 2021;48(3):141-6.
133. Riera-Martí N, Romaní J, Calvet J. SARS-CoV-2 infection triggering a giant cell arteritis. *Med Clin (Barc)*. 12 mars 2021;156(5):253-4.
134. Hanafi R, Roger P-A, Perin B, Kuchcinski G, Deleval N, Dallery F, et al. COVID-19 Neurologic Complication with CNS Vasculitis-Like Pattern. *Am J Neuroradiol*. 1 août 2020;41(8):1384-7.
135. Kokjohn TA, Roher AE. Antibody Responses, Amyloid- β Peptide Remnants and Clinical Effects of AN-1792 Immunization in Patients with AD in an Interrupted Trial. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. avr 2009;8(2):88-97.
136. Orgogozo J-M, Gilman S, Dartigues J-F, Laurent B, Puel M, Kirby LC, et al. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after A β 42 immunization. *Neurology*. 8 juill 2003;61(1):46-54.
137. Nicoll JAR, Wilkinson D, Holmes C, Steart P, Markham H, Weller RO. Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid- β peptide: a case report. *Nat Med*. avr 2003;9(4):448-52.
138. Serrano GE, Walker JE, Arce R, Glass MJ, Vargas D, Sue LI, et al. Mapping of SARS-CoV-2 Brain Invasion and Histopathology in COVID-19 Disease. *MedRxiv Prepr Serv Health Sci*. 18 févr 2021;2021.02.15.21251511.
139. Stevenson AJ, McCartney DL, Hillary RF, Campbell A, Morris SW, Bermingham ML, et al. Characterisation of an inflammation-related epigenetic score and its association with cognitive ability. *Clin Epigenetics*. 27 juill 2020;12:113.
140. Green C, Shen X, Stevenson AJ, Conole ELS, Harris MA, Barbu MC, et al. Structural brain correlates of serum and epigenetic markers of inflammation in major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. févr 2021;92:39-48.
141. Les bases de l'IRM [Internet]. [cité 29 mai 2021]. Disponible sur: <http://media-theque.cyim.com/mediatheque/embed.aspx?m=23316&channel=14951>
142. T1 et T2 et phase de relaxation du phénomène de résonance magnétique nucléaire en IRM [Internet]. IMAIOS. [cité 29 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.imaios.com/fr/e-Cours/e-MRI/RMN/relaxation-rmn>
143. Paramètres TR et TE et pondérations en T1, T2, densité protonique en IRM - Récapitulatif [Internet]. IMAIOS. [cité 29 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.imaios.com/fr/e-Cours/e-MRI/Signal-RMN-et-Contraste-de-base/Signal-weighting>

144. Contraste Signal T1 T2 T2* Transfert de Magnétisation | CERF - Collège des Enseignants en Radiologie de France [Internet]. [cité 29 mai 2021]. Disponible sur: <https://cerf.radiologie.fr/contraste-signal-t1-t2-t2-transfert-de-magn%C3%A9tisation>
145. FLAIR [Internet]. [cité 29 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.info-radiologie.ch/flair.php>
146. Shams S, Martola J, Cavallin L, Granberg T, Shams M, Aspelin P, et al. SWI or T2*: Which MRI Sequence to Use in the Detection of Cerebral Microbleeds? The Karolinska Imaging Dementia Study. *Am J Neuroradiol.* juin 2015;36(6):1089-95.

ANNEXE

Principes physiques de l'IRM

Le principe de l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) est d'induire un champ magnétique pour étudier les noyaux d'hydrogène qui sont présents en grande quantité dans l'eau et donc dans les tissus. L'intensité de ce champ magnétique est exprimée en Tesla (T).

Un noyau d'hydrogène est constitué d'un proton et d'un électron. Le proton a un mouvement intrinsèque de rotation appelé spin. Dans une IRM les protons sont soumis à un champ magnétique statique (B_0) et vont s'aligner sur l'axe de B_0 selon deux orientations en fonction de leur spin (+ ou $- 1/2$) et vont se répartir en deux populations dites « parallèle » et « antiparallèle » avec un discret excès pour la population « parallèle » qui est à l'origine du vecteur d'aimantation macroscopique. Plus ce vecteur est élevé et plus le signal perçu est intense. Il est proportionnel à la densité de protons dans un tissu et à l'intensité du champ magnétique

La vitesse de rotation des protons autour de l'axe de B_0 est appelée fréquence de précession.

Un second champ magnétique oscillant (B_1) ou onde de radio fréquence (RF) est ensuite appliqué et va avoir pour but de faire basculer l'axe de rotation des protons. C'est ce qui s'appelle l'excitation. Pour ce faire il faut que B_1 soit en résonance avec la fréquence de précession des protons afin de pouvoir leur transmettre de l'énergie. De ce fait tous les protons basculés sont dits en phase et ont la même fréquence de précession.

Quand B_1 est interrompu, les protons dont l'axe avait dévié reviennent à leur position initiale en fonction de l'axe de B_0 sans cesser de tourner et vont restituer l'énergie emmagasinée au cours de la phase d'excitation qui est enregistrée en Résonance Magnétique Nucléaire (RMN). C'est la phase de relaxation. Cette phase a une composante longitudinale (T_1) et une composante transversale (T_2) (141,142).

T_1 dépend de la collision entre les atomes. Si le nombre de collisions est très grand

ou très faible (comme dans le LCR ou dans l'os), les atomes vont mettre du temps à retrouver leur axe longitudinal initial. En revanche si le nombre de collisions est modéré (comme dans la graisse), le temps de relaxation T1 sera court. Cela se traduit par un hypersignal pour le tissu adipeux et un hyposignal pour le LCR ou l'os.

T2 est lié à la vitesse déphasage des protons. Une fois la levée de B1, l'agitation des protons va faire que leur rotation va se déphaser et donc que leur fréquence de précession va varier. Plus l'agitation des protons dans un tissu sera élevée et plus la vitesse de déphasage sera grande. Cela se traduit par exemple par un hypersignal du LCR et un hyposignal du tissu adipeux (143).

T1 et T2 sont toujours enregistrés ensemble lors de l'acquisition d'une séquence et c'est le fait de favoriser l'un ou de l'autre qui va être à l'origine de la pondération T1 ou T2. Pour ce faire il faut répéter les phases d'excitation et de relaxation en faisant varier le temps de répétition (TR) et le temps d'écho (TE) où TR est le délai entre les phases d'excitation et TE est le délai suivant la phase d'excitation à partir duquel le signal est enregistré (144).

Quand le TR et le TE sont courts c'est la pondération en T1 qui est favorisée. A l'inverse quand le TE et le TR sont longs c'est la pondération en T2. L'angle de bascule lors de l'excitation va également varier en fonction de la pondération souhaitée et sera généralement de 90° en pondération T2 et inférieur à 90° en pondération T1.

Ces séquences utilisent le principe de l'écho de gradient (EG) ou d'écho de spin (ES). L'EG est caractérisé par un angle de bascule inférieur à 90° sans RF à 180° de rephasage ce qui permet de diminuer le TR et le TE. L'ES est caractérisée par un angle de bascule de 90° puis une impulsion à -180° de rephasage afin de compenser les hétérogénéités de champ.

Les caractéristiques des autres séquences découlent de ces principes.

Le signal Fluid Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) correspond à une forte pondération en T2 grâce à un long TE et TR avec suppression artificielle du signal du LCR grâce à une inversion de l'angle de bascule des protons qui est initialement de 90° et qui va basculer de 180° suite à une inversion du champ magnétique oscillant. Cette séquence permet de mieux voir l'interface ventricule/parenchyme péri-ventriculaire et les anomalies de signal de la substance blanche (145).

Le fer provoque une inhomogénéité du champ magnétique ou « effet de susceptibilité » qui entraîne une relaxation plus rapide des protons. Les séquences Susceptibility Weighted Imaging (SWI) et T2 * permettent de mieux détecter les microhémorragies en détectant mieux les sources de susceptibilité magnétique liées à l'atome de fer avec une sensibilité plus grande pour le SWI (146).

La séquence de diffusion (DTI) se base sur le principe des mouvements browniens. Dans un premier temps, B0 est appliqué avec un gradient d'intensité différent en fonction de la localisation des protons par rapport à l'axe de B0, c'est ce qu'on appelle le gradient de déphasage. Ainsi, en fonction de leur localisation les protons n'ont pas la même fréquence de précession avec une avance ou un retard de phase proportionnelle à leur position par rapport à l'axe du gradient. Dans un second temps un gradient opposé au premier est appliqué afin que si un proton est resté immobile il ait un déphasage nul et émette un signal intense. Si un proton s'est déplacé, il a un déphasage non nul, proportionnel à son déplacement selon le gradient et émet un signal plus faible.

Au final les images obtenues se caractérisent par leur résolution spatiale qui est la taille du plus petit élément qui sera visible. Celle-ci dépend de l'épaisseur de coupe, du

champ de vue (partie de l'espace analysé) et de la dimension de la matrice (nombre de pixels par champ de vue).

Elles vont également se caractériser leur caractère jointif ou non. Les séquences dites « 2D » sont caractérisées par des images non jointives avec des espaces non imagés entre deux coupes. Les séquences « 3D » sont caractérisées par des images jointives sans espace entre les coupes.

AUTEUR : Nom : DEWISME

Prénom : Julie

Date de soutenance : Lundi 11 Octobre 2021

Titre de la thèse : Étude morphologique des lésions encéphaliques et hypothalamiques présentes chez quatre patients décédés des suites d'une infection par le SARS-CoV2.

Thèse - Médecine - Lille 2021

Cadre de classement : Anatomie et Cytologie Pathologiques

DES + spécialité : Anatomie et Cytologie Pathologiques

Mots-clés : SARS-CoV2 ; COVID-19 ; SNC ; hypothalamus ; cerveau ; ACE2 ; histologie ; IRM.

Résumé :

Introduction : Le SARS-CoV2 est un virus de la famille des *Coronavirus* responsable de la COVID-19. Les premiers symptômes sont surtout respiratoires mais il existe des symptômes neurologiques centraux et périphériques. Le virus a déjà été mis en évidence dans le SNC et notamment la protéine S qui lui permet de pénétrer dans les cellules via le récepteur de l'ACE2. Le passage du SARS-CoV2 dans le SNC pourrait se faire par voie rétrograde ou hématogène et notamment via les organes circumventriculaires. L'hypothalamus a un rôle central dans la régulation neuroendocrine et il existe des premières descriptions cliniques de désordres de l'axe hypothalamo-hypophysaires au cours de la COVID-19. L'identification de lésions morphologiques hypothalamiques pourrait permettre d'expliquer ces désordres.

Méthodes : Les tissus cérébraux de quatre patients décédés de la COVID-19 ont été prélevés dans le cadre de la cohorte LICORNE. Ceux de deux patients contrôles décédés en réanimation ont été étudiés dans le cadre de la collection Lille Neurobank. Les cerveaux ont été fixés en Formol puis étudiés en IRM 3T. Les hypothalamus ont été prélevés et deux d'entre eux ont été étudiés en IRM 7T. Une étude histologique et en IHC a été faite sur les encéphales et une étude en IF a été réalisée sur les hypothalamus.

Résultats : L'étude des encéphales a montré pour les patients infectés des lésions de nature vasculaire d'intensité variable sans localisation préférentielle. Chez l'un des patients il existait une vascularite granulomateuse accompagnant une angiopathie amyloïde pure. Il n'a pas été montré de lésion histologique récurrente de la région hypothalamique. L'ACE2 était exprimée par l'épithélium des plexus choroïdes, la paroi des vaisseaux non fenestrés, les cellules gliales et neuronales. Il existait une immunoréactivité pour la protéine S dans la région hypothalamique pour trois des patients infectés.

Conclusion : Cette étude préliminaire a montré des lésions vasculaires cérébrales chez des patients décédés de la COVID-19 pouvant réaliser un tableau de CRAM. Elle rapporte pour la première fois le cas d'un patient décédé d'une vascularite granulomateuse compliquant une angiopathie amyloïde et faisant suite à une infection par le SARS-CoV2. Nous avons confirmé l'expression d'ACE2 dans la région hypothalamique, qui pourrait être une zone de passage du virus.

Composition du Jury :

Président : Madame le Professeur Emmanuelle LETEURTRE

Assesseurs : Monsieur le Docteur Vincent PREVOT, Monsieur le Docteur Thibaud LEBOUVIER, Monsieur le Docteur Grégory KUCHCINSKI

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Claude-Alain MAURAGE

