



RÉTABLISSEMENT DE LA FONCTION MOTRICE RESPIRATOIRE GRÂCE AUX IMPLANTS NEURaux OPTOGÉNÉTIQUES

Ivo Lieberam, UK,

Subvention : € 80 000

La majorité des animaux (y compris les êtres humains) qui vivent sur la terre, respirent de l'air à travers leurs poumons. L'expansion et la contraction des poumons pendant la respiration sont contrôlées par un groupe de muscles attachés à la cage thoracique. Le rythme de la respiration est généré dans le cerveau puis transmis aux muscles par l'intermédiaire d'un type de cellules nerveuses spécialisées appelées « motoneurones respiratoires ». Les patients souffrant de la Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) perdent la capacité de respirer car en détruisant les motoneurones respiratoires, la maladie entraîne la perte de connexion avec les muscles contrôlant la respiration ce qui induit la paralysie de ces muscles essentiels. La défaillance respiratoire qui s'ensuit est la cause principale de décès des patients atteints par la SLA.

Nous proposons de développer un nouveau type d'implant composé d'éléments biologiques et électroniques qui serviront à apporter aux muscles « déconnectés » un nouveau système de respiration artificiel.

Ce système profitera de deux récentes découvertes de la science biomédicale : i) les motoneurones peuvent être produits par des cellules souches embryonnaires, un type de cellules immatures qui peuvent être transformées en n'importe quel type spécifique de cellules. En effet, il a été démontré que les cellules nerveuses dérivées de cellules souches embryonnaires survivent et innervent les muscles du corps lorsqu'elles sont implantées dans le système nerveux de l'hôte. ii) Les canaux à rhodopsines sont des détecteurs photosensibles moléculaires que les algues et bactéries utilisent pour détecter la lumière. Quand un gène codant pour un canal rhodopsine est intégré dans des cellules humaines (ou autre), alors ces cellules acquièrent la capacité d'être contrôlées par la lumière. Cette photosensibilité est cruciale car elle apporte une interface de communication entre le composant biologique qui se connecte au muscle (motoneurones dérivés de cellules souches greffées) et un pacemaker électronique qui génère le rythme respiratoire.

Récemment, nous avons réussi à produire des motoneurones dérivés de cellules souches embryonnaires comprenant un gène codant pour un canal à rhodopsine. Ces neurones se connectent au muscle lorsqu'ils sont cultivés dans une boîte de pétri et peuvent déclencher des contractions musculaires lorsqu'ils sont activés par des flashes lumineux. Notre plan est de transférer les motoneurones dérivés de cellules souches embryonnaires au sein de nerfs respiratoires qui dégénèrent dans des souris-modèles de la SLA, puis de les laisser se reconnecter aux muscles respiratoires et par la suite de contrôler la respiration par le biais de flashes lumineux.

Ces flashes de lumière réguliers seront produits par le pacemaker et transmis aux motoneurones par des câbles de fibres optiques à l'intérieur du corps. En principe, notre implant neural sera similaire à un





pacemaker traditionnellement utilisé pour le muscle cardiaque, sauf que la connexion au muscle se fera par des motoneurones artificiels greffés et que le stimulus (lumière) est spécifique à ces cellules nerveuses et n'affecte pas d'autre tissu. Si les tests dans les souris modèles de SLA sont réussis, nous projetons d'adapter cette technologie à l'être humain. La thérapie que nous proposons ici est conçue pour rétablir la respiration par le remplacement permanent des cellules nerveuses malades avec de nouvelles cellules nerveuses saines et artificielles. Ainsi, la fonction de l'implant neural ne sera pas affectée par la dégénérescence progressive des motoneurones du patient. Si nous réussissons, alors cette approche sera utilisée pour atténuer le symptôme de la SLA le plus grave pour la vie du patient (défaillance respiratoire), que la maladie soit d'origine sporadique ou génétique. Dans le long terme, une approche similaire pourrait être développée pour rétablir d'autres fonctions motrices comme la marche.

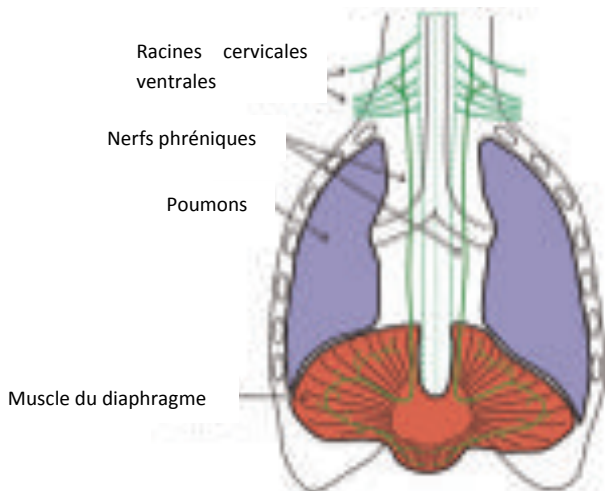
Buts spécifiques:

- 1) Nous planifions d'établir plusieurs lignes stables de cellules souches embryonnaires, portant chacune un transgène codant pour un gène de canal à rhodopsine différent, de dériver des motoneurones de ces cellules et de tester « l'aptitude » de chacun de ces variants par stimulation par la lumière *in vitro*.
- 2) Nous développerons des méthodes pour la différenciation et purification d'astrocytes provenant de cellules souches embryonnaires que nous avons l'intention d'utiliser au sein du greffon comme support sain des motoneurones dérivés de cellules souches embryonnaires *in vivo*.
- 3) Afin d'établir et d'optimiser cette technologie d'implant optogénétique, nous utiliserons un modèle de lésion du nerf sciatique pour insérer les motoneurones dérivés de cellules souches embryonnaires dans le nerf et déterminer si les neurones greffés étendent des axons et établissent des contacts synaptiques avec les muscles des membres inférieurs (par exemple, le gastrocnemius).
- 4) Nous connecterons le greffon contenant les motoneurones à l'intérieur du nerf sciatique à un pacemaker optique par l'intermédiaire de câbles de fibres optiques et stimulerons les contractions musculaires du muscle du membre inférieur par des flashes lumineux afin d'établir une interaction neuromusculaire fonctionnelle entre les neurones greffés et le muscle de l'hôte (récipient) ayant perdu sa connexion nerveuse (dénervé).
- 5) Après optimisation de la technologie concernant l'implant optogénétique dans le modèle du nerf sciatique, nous planifions ensuite de greffer des motoneurones dérivés de cellules souches embryonnaires dans le nerf phrénique de rats adultes dans lesquels le diaphragme aura été dénervé d'un côté et de tester la capacité des cellules implantées à innover de façon fonctionnelle le diaphragme semi-dénervé. Ce modèle sera ensuite développé pour relier le greffon neural à un pacemaker optique *ex vivo* afin d'imposer un rythme inspiratoire optogénétique sur le muscle du diaphragme.

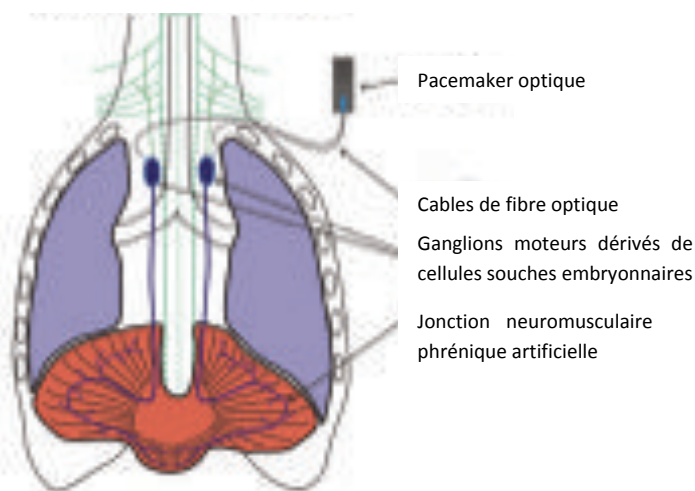




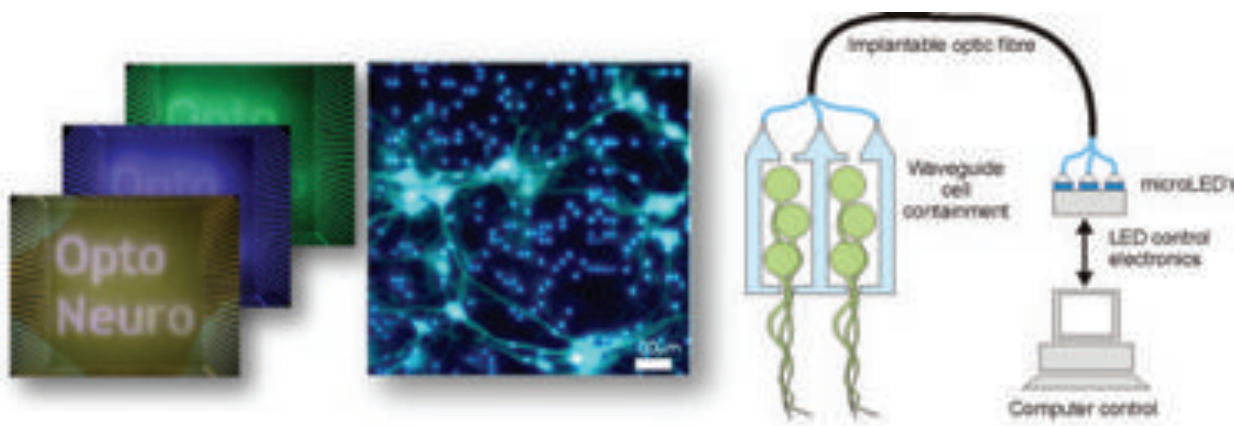
Normale innervation du diaphragme



Innervation du diaphragme par un implant neural optogénétique



Design de l'implant neural optogénétique du nerf phrénique. Le schéma sur la gauche montre l'anatomie normale de la cavité thoracique et la trajectoire du nerf phrénique jusqu'à innervations du diaphragme. Le schéma sur la droite représente l'implant neural que nous souhaitons utiliser pour rétablir la fonction du diaphragme dans la SLA, après dégénérescence du noyau phrénique.



L'interface optoélectronique (Gauche, Centre) L'équipe du Dr. Degenaar a développé une gamme de stimulateurs optoélectroniques utilisant la technologie microLED. Ces systèmes ont réussi à stimuler des neurones en culture in vitro ainsi que dans des tissus ex-vivo (Droite). Nous allons développer une structure de confinement de guide d'ondes dans le but d'empêcher la migration de ces motoneurones dérivés de cellules souches embryonnaires et de permettre une distribution constante de la lumière.

ÉQUIPE

Dr Ivo Lieberam, chercheur en génétique et immunologie, Medical Research Council Center for Developmental Neurobiology, King's College London, GB

Pr Linda Greensmith, chercheur en neuroscience, Institut de Neurologie de l'University College London, GB

Dr Patrick Degenaar, chercheur en bioélectronique, School of Electrical, Electronic and Computer Engineering, Newcastle University, GB



Rétablissement de la fonction motrice respiratoire grâce à des implants neuraux optogéniques

Appel à Projets 2010

Subvention: 80 000 €

Durée du projet: 18 mois

Investigateur: Ivo Lieberam, King's College de Londres, Royaume Uni

Point sur les résultats - décembre 2012

Notre projet visait à établir les données in vitro et in vivo nécessaires pour la mise au point d'un « pacemaker » du diaphragme révolutionnaire à base de cellules souches embryonnaires. La restauration d'une fonction respiratoire normale en faisant contracter le diaphragme de façon artificielle ne représente pas un traitement de la SLA mais permettrait un progrès considérable dans la qualité de vie des malades. De plus, une fois la technologie développée, elle pourrait être utilisée pour restaurer d'autres fonctions déficientes comme avaler. Les implants neuronaux que nous proposons seront composés de tissu neural dérivé directement de cellules souches embryonnaires, les motoneurons et les cellules gliales et d'un stimulateur électronique. Le composant électronique génèrera un rythme respiratoire et émettra des signaux lumineux, les composants neuronaux recevront le signal lumineux pour les traduire en impulsion électrique au niveau du diaphragme.

Cette étude pilote nous a permis la mise au point de cellules transgéniques qui survivent au moins 5 semaines après implantation (A1), elles présentent des axones (A2) et sont capables de former une jonction neuromusculaire(A3). Les cellules transgéniques ont pu être greffées avec succès sur le nerf sciatique (B)

Les deux prochaines étapes de ce projet consistent à activer in vivo le muscle par la lumière suite à la greffe de l'implant développé puis d'introduire le même matériel génétique dans les cellules souches humaines afin de produire du tissu nerveux humain artificiel, qui sera nécessaire pour l'adaptation de la technologie aux patients.

