

III- Thématique

Présentation de la thèse de la doctorante T. Pichet :

Le système nerveux autonome et greffe de neurones dérivés de cellules souches après une lésion corticale aigüe.

Thèse du 01/10/2024 au 30/09/2027 encadrée par : Pr. Nasr N, Dr. Prestoz L et Dr. Belnoue

3.1 Contexte de la recherche :

Pour résumer en quelques mots le contexte de la recherche :

Le traumatisme crânien touche beaucoup de personnes et peut avoir des séquelles graves. La neurotransplantation pourrait être une technique prometteuse pour diminuer certaines conséquences de ces séquelles. Mais il faudrait pouvoir améliorer l'efficacité de la neurotransplantation en améliorant le taux de survie des neurones greffés.

La stimulation du nerf vague, technique de traitement déjà utilisée dans le traitement de l'épilepsie, pourrait permettre d'améliorer ce taux de survie

L'équipe de recherche souhaite donc évaluer l'impact de la stimulation du nerf vague sur l'intégration fonctionnelle du greffon après lésions du cortex moteur chez le rat adulte.

Ci-dessous les explications plus complètes.

Le plus souvent lors d'un traumatisme crânien c'est le cortex qui est touché du fait de sa localisation anatomique. La lésion corticale traumatique résulte d'un choc à la tête et correspond à la perte de neurones au niveau de la zone lésée.

En France, chaque année, on recense environ 150 000 personnes victimes de traumatismes crâniens dont 30% sont hospitalisées et 20% développent des séquelles graves. $\frac{1}{4}$ des personnes ont entre 15 et 24 ans. Les conséquences de ces traumatismes crâniens peuvent être motrices ou sociales (handicaps invisibles)

Les lésions sont réparties en :

- lésions primaires qui sont les conséquences directes du choc : œdème, hématome, lésions microvasculaires.
- lésions secondaires qui sont les conséquences durables du traumatisme : rupture de la barrière hémato-encéphalique, mort cellulaire et le développement d'une inflammation.

Les stratégies de traitement des lésions traumatiques sont variées et selon :

- la gravité du traumatisme
- les circonstances de survenue de l'accident

Parmi les stratégies de traitement envisagées, la **neurotransplantation** (greffe de neurones) apparaît comme une technique prometteuse. La neurotransplantation consiste à greffer des neurones issus de cellules souches pour remplacer les neurones morts à la suite du traumatisme.

Depuis plusieurs années, le laboratoire fait des recherches sur des animaux. Des neurones issus de cellules souches ont été greffés au niveau du cortex.

Les chercheurs ont observé des bénéfices :

- récupération motrice partielle des animaux
- diminution de l'inflammation

Toutefois, il **faudrait arriver à améliorer la survie des neurones greffés**. Pour cela, il faut obtenir une augmentation de la vascularisation et une diminution de l'inflammation locale.

La stimulation du nerf vague apparaît comme étant une technique prometteuse pour obtenir ces résultats.

Le nerf vague fait partie intégrante du système nerveux autonome. On l'appelle aussi la 10ème paire des nerfs crâniens. Il relie le cerveau aux organes périphériques vitaux dont le cœur.

Il est composé à

- 80% de fibres afférentes qui transportent les informations de la périphérie vers le cerveau.
- 20% de fibres efférentes qui font le trajet inverse donc du cerveau vers la périphérie.

Le nerf vague aide le corps à retourner à une situation de repos après par exemple une situation de stress.

Quand il est activé, il va induire par l'activation des fibres efférentes :

- une diminution de la fréquence respiratoire
- une diminution de l'inflammation cérébrale

et par l'activation des fibres afférentes :

- une diminution de la fréquence cardiaque
- une diminution de l'inflammation périphérique

Pour activer le nerf vague, on peut implanter un dispositif qui permet de le stimuler (autorisation de mise sur le marché en 2013). Des électrodes posées sur le nerf envoient des petites pulsions électriques pour stimuler le nerf.

Cette technique est déjà utilisée chez l'Homme en clinique notamment pour améliorer les conditions de vie de personnes épileptiques et résistantes aux traitements médicamenteux.

Cette technique a montré de nombreux bénéfices. Chez 60% des patients implantés avec ce type de dispositif, la fréquence des crises diminue d'au moins de moitié.

Cependant, avant de pouvoir appliquer cette technique aux lésions corticales traumatiques, il va falloir approuver la méthode sur un modèle animal de lésions corticales.

Chez l'animal, les chercheurs ont très peu de bibliographie sur le sujet et les données sont très hétérogènes (notamment au niveau des paramètres de stimulation)

Il n'y a pas de réel consensus sur le rôle de la stimulation du nerf sur la récupération fonctionnelle, neuroanatomique et sur la réponse inflammatoire

Les chercheurs se demandent donc quel est l'impact de la stimulation du nerf vague à la fois sur l'inflammation, sur la lésion cérébrale et sur la récupération motrice.

3. 2 Objectif de la recherche :

L'objectif principal de la thèse de la doctorante est d'évaluer l'impact de la stimulation du nerf vague sur l'intégration fonctionnelle du greffon après lésions du cortex moteur chez le rat adulte.

Pour cela elle va :

- dans un premier temps, évaluer les paramètres de stimulation optimaux du nerf vague permettant la récupération fonctionnelle et neuroanatomique
- puis évaluer si les paramètres cardiovasculaires sont prédictifs de la récupération fonctionnelle et neuroanatomique
- et enfin, elle pourra évaluer l'impact de la combinaison de la stimulation du nerf vague et de la greffe de neurones corticaux sur la récupération fonctionnelle et neuroanatomique

3. 3 Méthode :

Dans le projet, la doctorante va créer une lésion unilatérale du cortex moteur chez le rat adulte. Un protocole de stimulation du nerf vague est mis en place, avec deux types de stimulation à tester :

- une stimulation aiguë qui consiste en une seule stimulation de forte intensité
- une stimulation chronique qui consiste en des stimulations de plus faibles intensités mais à plusieurs reprises.

1. Évaluer les paramètres de stimulation optimaux du nerf vague permettant la récupération fonctionnelle et neuroanatomique

a) Les tests moteurs :

Pour l'évaluation de la récupération fonctionnelle, le thésard utilise 3 types de tests qui permettent de mesurer l'utilisation des membres antérieurs.

- Stepping Test qui mesure le nombre de pas que fait l'animal sur une distance déterminée, en avant et en arrière, et ceux pour chaque patte.
- Test du Cylindre qui mesure le nombre d'appui que fait l'animal sur la paroi du cylindre
- OpenField : qui mesure l'activité locomotrice globale des animaux en calculant la distance parcourue par l'animal sur une durée donnée.

b) Les études neuroanatomiques

Les études neuroanatomiques vont permettre d'évaluer le volume de la lésion.

La doctorante va couper les cerveaux des animaux au cryostat qui permet de faire des coupes très fines. Cela permettra ensuite de faire les colorations et les marquages fluorescents permettant d'évaluer les volumes de la lésion.

Elle va aussi évaluer l'inflammation cérébrale post lésion en utilisant des marqueurs fluorescents.

Elle va également évaluer l'inflammation systémique (périphérique) grâce à des analyses d'échantillons sanguins.

Le projet est d'évaluer si les paramètres cardiovasculaires sont prédictifs de la récupération fonctionnelle et neuroanatomique

2. Évaluer si les paramètres cardiovasculaires sont prédictifs de la récupération fonctionnelle et neuroanatomique

Le thésard va utiliser un dispositif de télémétrie qui permet de surveiller en temps réel la pression artérielle et le rythme cardiaque chez le rat avant et après la stimulation.

C'est une technique innovante et peu invasive.

Le but est de quantifier l'impact de la stimulation sur le système cardio vasculaire.

3.4 Mise au point de la technique :

Avant de faire réellement les expériences, plusieurs mises au point ont dû être mises en place. Au laboratoire, initialement, la lésion corticale traumatique était effectuée sur des souris. Cependant, l'accès au nerf vague est plus réduit chez les souris que sur les rats. Ils ont dû mettre au point le modèle de lésion corticale sur le rat.

Ils peuvent valider le modèle de lésion corticale :

- s'il y a un déficit moteur après la lésion
- si la taille de la lésion est satisfaisante
- s'il y a une réaction inflammatoire autour de la lésion

Depuis le début de la thèse, la doctorante a aussi dû mettre au point la technique de stimulation du nerf vague. Elle a réalisé de nombreux essais pour trouver les paramètres de stimulation idéaux. Elle a testé différentes fréquences, différentes intensités et différentes durées de stimulation avant de trouver le protocole qui convient le mieux.

Elle a trouvé le protocole optimal qui permet d'avoir une réponse respiratoire à la suite de la stimulation vagale, ce qui prouve que c'est bien le nerf vague qui a été stimulé.

Avec l'ensemble des résultats obtenus et leur comparaison, elle a pu faire valider le modèle animal lésé et stimulé.

3. 5 Résultats préliminaires

Dans un premier temps, la thésarde a pu démontrer qu'autour de la lésion du cortex, il y a une inflammation. Sur l'image présentée, le marquage fluorescent vert permet de montrer l'inflammation autour de la lésion. Sur un rat sain, le repérage est inexistant.

Pour les tests moteurs, elle a pu valider son modèle car elle a pu montrer qu'il y a une diminution de l'activité locomotrice après avoir créé une lésion chez les animaux lésés par rapport aux animaux non lésés.

Après stimulation, elle a pu observer une récupération motrice partielle de certains rats. Ce sont des résultats encourageants. Cette première étape demande confirmation par l'augmentation d'animaux lésés pour valider cette expérience.

La thèse doctorante se termine en fin 2027.

Sa planification est la suivante :

- Poursuivre la mise au point de la stimulation du nerf vague jusqu'au premier trimestre 2026.
- D'ici à fin 2026, évaluer si les paramètres cardiovasculaires sont prédictifs de la récupération fonctionnelle et neuroanatomique.
- D'ici fin 2027, évaluer si la stimulation du nerf vague va améliorer la greffe de neurones sur les animaux.