Centre L'Espoir, Hellemmes, Samedi 19 Mars 2011

Nouveautés dans les lésions médullaires traumatiques

Luc Bauchet[1,2,3], Nicolas Lonjon[1,2], Charles Fattal[3]

1:Département de Neurochirurgie, CHU de Montpellier

2:INSERM U 1051, Institut des Neurosciences de Montpellier

3:Centre Mutualiste Neurologique Propara, Montpellier

Plan

- Introduction : Panorama des voies de la Recherche

1. **Épidémiologie**, et prévention ++
2. Physiopathologie (rappels)
3. Neuroprotection
4. **Régénération +++**
5. Restauration fonctionnelle et BCI

- Conclusion

Introduction

Panorama des voies de la Recherche

(Bauchet et al. Annals of Physical and Rehabilitation Medicine 52 (2009) 330–351)

Panorama des voies de la Recherche

Prise en charge pré-hospitalière et médico-chirurgicale initiale des blessés médullaires

Douleur, Spasticité, Dysrégulations neurovégétatives, Troubles psychologiques réactionnels, Troubles trophiques, Complications urinaires, respiratoires, etc.

Traumatisme

Prévention

Neuroprotection

Réparation
- Régénération
  - ↓facteurs inhibiteurs
  - ↑croissance axonale
- Reconnexion
- Greffes cellulaires

Restauration fonctionnelle

Rééducation, Réadaptation, Appareillage, Les prises en charges sphinctériennes et sexuelles, Réinsertion socio-professionnelle, etc.

Panorama des voies de la Recherche

- **C'est aussi approfondire nos connaissances sur la moelle épinière (ME) animale et humaine, normale et pathologique**
  - L'anatomie de la (ME) animale et humaine (faisceaux, taille)
  - La biologie du système nerveux central
  - La physiologie du système nerveux central
  - L'étude radiologique de la ME (IRM) chez l'animal (IRM petit animal à haut champ 9 T) et l'Homme (étude des faisceaux DTI)
  - La physiopathologie des lésions de la ME
    - Lésion primaire / lésion secondaire dans les traumatismes médullaires aigus (TMA) (les travaux de Tator CH et al.)
  - L'étude histologique de la ME normale (Montpellier) et traumatisée (Kakulas)
    - les sections anatomiques complètes sont rares, quelques fibres persistantes peuvent permettre une fonctionnalité importante

Epidémiologie

Épidémiologie des lésions médullaires

- L'incidence et la prévalence des lésions médullaires ne sont pas connues avec précision et varient selon les pays.
- La 1ière cause : traumatique (appelée traumatisme médullaire aigu (TMA) dans la terminologie française, ou spinal cord injury (SCI) dans la littérature anglosaxone) dans **80% (↘)** des cas : voiture, moto, chutes, accident du travail, sport et loisirs, *violence*.
- L'ensemble des autres causes sont dites "médicales" et représenteraient environ **20% (↗)** et sont une conséquence de maladies très diverses : sclérose en plaque, sclérose latérale amyotrophique, myélite infectieuse et parasitaire, ischémie ou hémorragie intra ou peri médullaire, tumeur bénigne ou maligne de la moelle épinière ou de ses enveloppes, processus dégénératifs, malformations, etc.

Épidémiologie des TMA (traumatisme médullaire aigu)

- Incidence : 10 à 83 nouveaux cas/an/million d'habitants
- « *prévalence : 223 à 755 cas/millions d'habitants* »
- Aux États Unis : (*National Spinal Cord Injury Statistical Center, 2006*)
  - Incidence : 11 000/ an ; prévalence : 250 000 personnes
- En France :
  - Incidence : 1500/ an (*IRME*) ; 934 /an (*enquête Tétrafigap, Albert et al. 2005*).

Épidémiologie des TMA (suite)

- Gens jeunes : la majorité ont entre 16 et 30 ans
  - Moyenne d'âge : 32 –33 ans
  - Un deuxième pic d'incidence vers la soixantaine (myélopathie cervico-arthrosique décompensée par un trauma bénin)
- Sexe ratio : 3,5 hommes pour 1 femme
- Atteinte (complète/incomplète) et niveau lésionnel
  - les tétraplégies incomplètes 34,1%
  - les paraplégies complètes 23,0%,
  - les tétraplégies complètes 18,3%
  - les paraplégies incomplètes 18,5%

d'après le National Spinal Cord Injury Statistical Center (*NSCISC, 2006*)

- Seulement 21,6 % des patients retrouvent une activité professionnelle (Yen et al. 1998).

Tendance évolutive des étiologies des TMA par groupe (années de survenue de la lésion médullaire)

Données provenant du « National Spinal Cord Injury Statistical Care » annual statistical report 2009 (https://www.nscisc.uab.edu)

	Year of Injury							
Etiology n(%)	1973-1979	1980-1984	1985-1989	1990-1994	1995-1999	2000-2004	2005-2009	Total
Vehicular Accidents	2,142 (46.9)	2,237 (45.2)	1,620 (42.2)	1,198 (36.4)	1,450 (40.0)	1,635 (47.5)	1,294 (41.3)	11,576
Violence	605 (13.3)	792 (16.0)	723 (18.8)	952 (28.9)	764 (21.1)	478 (13.9)	471 (15.0)	4,785
Sports	655 (14.4)	705 (14.2)	390 (10.2)	248 (7.5)	254 (7.0)	302 (8.8)	247 (7.9)	2,801
Falls	752 (16.5)	836 (16.9)	796 (20.7)	659 (20.0)	846 (23.3)	792 (23.0)	857 (27.3)	5,538
Other	406 (8.9)	377 (7.6)	311 (8.1)	235 (7.1)	305 (8.4)	232 (6.7)	260 (8.3)	2,126
Unknown	3 (0.1)	3 (0.1)	2 (0.1)	3 (0.1)	5 (0.1)	5 (0.1)	5 (0.2)	26
Total	4,563	4,950	3,842	3,295	3,624	3,444	3,134	26,852

Espérance de vie selon le niveau traumatisé et l'âge de survenue du traumatisme

Life expectancy (years) for post-injury by severity of injury and age at injury

		For persons who survive the first 24 hours				
Age at Injury	No SCI	Motor Functional at Any Level	Para	Low Tetra (C5-C8)	High Tetra (C1-C4)	Ventilator Dependent-Any Level
20	58.8	52.3	44.6	39.4	35.1	18.1
40	39.9	33.9	27.2	22.9	19.4	8.0
60	22.5	17.5	12.6	9.6	7.5	1.8

Données provenant du National Spinal Cord Injury Statistical Center (https://www.nscisc.uab.edu)

Estimation du coût financier des TMA aux USA en 2009 (*NSCISC, 2009*) **(https://www.nscisc.uab.edu)**

Severity of Injury	**First Year**	**Each Subsequent Year**
High Tetraplegia (C1-C4)	$ 829 843	$ 148 645
Low Tetraplegia (C5-C8)	$ 535 867	$ 60 887
Paraplegia	$ 303 227	$ 30 855
Incomplete Motor Functional at any Level	$ 244 562	$ 17 139
Pour **1 patient** avec une durée d'hospitalisation initiale 7-9 mois		

Importance de ces chiffres pour les pouvoirs publics et les demandes de subventions publiques ou privées

Prévention
des lésions traumatiques de la Moelle Épinière

Prévention des lésions de la ME

- Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), la prévention est "l'ensemble des mesures visant à éviter ou à réduire le nombre et la gravité des maladies, des accidents et des handicaps".

L'OMS distingue trois phases de prévention (P) :

- P primaire : **vise à empêcher la survenue de la maladie ou d'un accident**
  - Campagne préventives : sécurité routière : Voiture, moto : vitesse, alcool, drogues; Les plongeons en eau peu profonde
  - Obliger l'individu : port de la ceinture de sécurité
  - Obliger l'industrie automobile : rendre l'Airbag obligatoire

(OMS: rapport mondial sur la prévention des traumatismes dus aux accidents de la circulation, 2004)

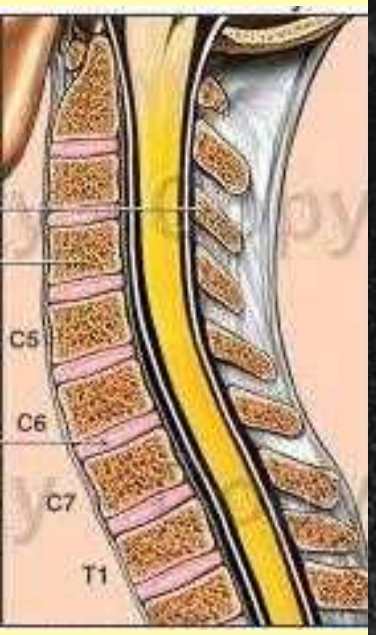
- P secondaire : **traitement des premières atteintes, dépistage précoce**
  - La prévention secondaire des lésions médullaires traumatiques (ramassage, neuroprotection, chirurgie décompressive précoce)

- P tertiaire : **réduire les séquelles d'une maladie ou d'un accident et de favoriser la réinsertion du malade**
  - différentes stratégies expérimentales de réparation médullaire (Gimenez y Ribotta et Privat, 1998, Gimenez y Ribotta et al., 2002 ; Orsal et al., 2002 ; Schwab et al., 2006 ; Lim et Tow, 2007, Bauchet et al., 2009) qui pourront être appliquées à l'Homme.
  - Restauration fonctionnelle
    - Transferts tendineux, musculaires voire nerveux
    - Stimulation électrique (respiration: stimulation phrénique, locomotion: projet SUAW, miction: Brindley, préhension: freehand système).
  - Prises en charges médicales (douleur, spasticité, troubles trophiques, etc.), rééducation, réadaptation, réinsertion socio-professionnelle.

Physiopathologie (rappels)

(Bauchet et al. 2009; autres)

Physiopathologie



impact

force

lésion primaire

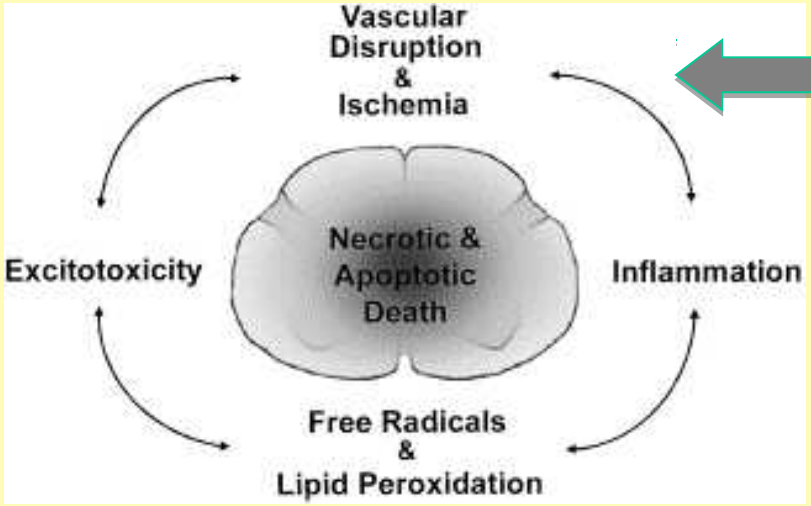
Moelle

Destruction cellulaire

Section axonale

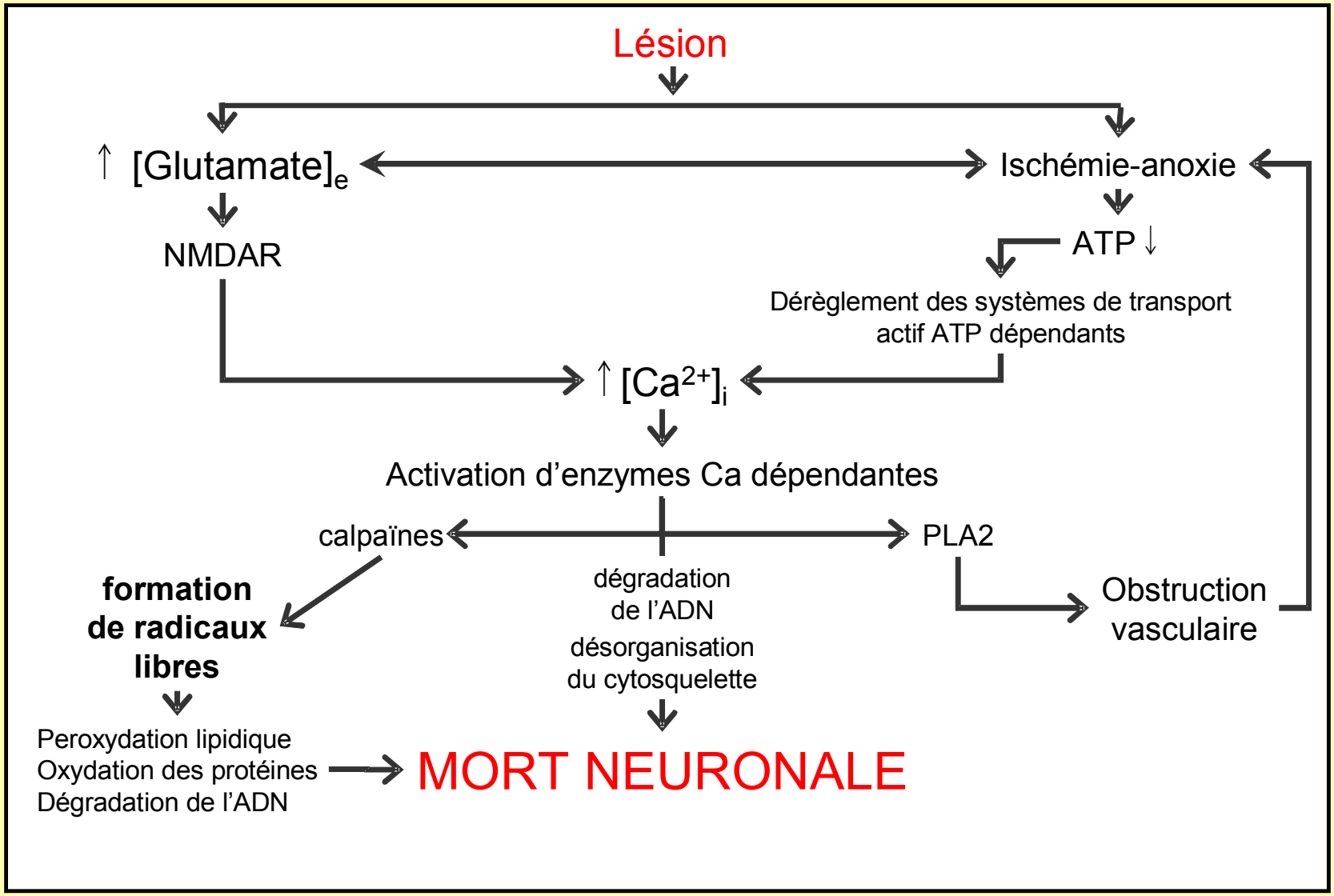
Lésions vasculaires

lésion secondaire



1. Altération de la micro perfusion, excitotoxicité *(glutamate),*
2. ↗ [Ca++]i, faïte énergétique, libération de radicaux libres, réponse inflammatoire, l'apoptose, etc.

Représentation schématique de la cascade excitotoxique



Mécanismes de la lésion primaire → Mécanismes de la lésion secondaire

D'après Schwartz et Fehlings 2002

secondes

Phase aigüe

Impact initial
Compression
Contusion / impaction
Lacération
Déchirements

Rupture des axones
Rupture des cellules endothéliales
Rupture de la barrière hémato-médullaire (BHM)

Evènements vasculaires
- Hémorragie, ischémie, hypoxie
- Hypotension systémique, vasospasme artériolaire
- Thrombose, rupture de la micro-circulation

Changements métaboliques
- Utilisation accrue du glucose, perte d'oxygène
- baisse de la production d'ATP, acidose

Perturbation de l'équilibre ionique

Changements biochimiques
- Peroxydation lipidique, radicaux lib
- Excitotoxicité

heures

Phase subaigüe

Œdème

Phénomènes cellulaires
- Inflammation :
  - Infiltration des leucocytes
  - Invasion par les macrophages
  - réactivité microgliale
- Réactivité astrocytaire et formation de la cicatrice gliale

semaines

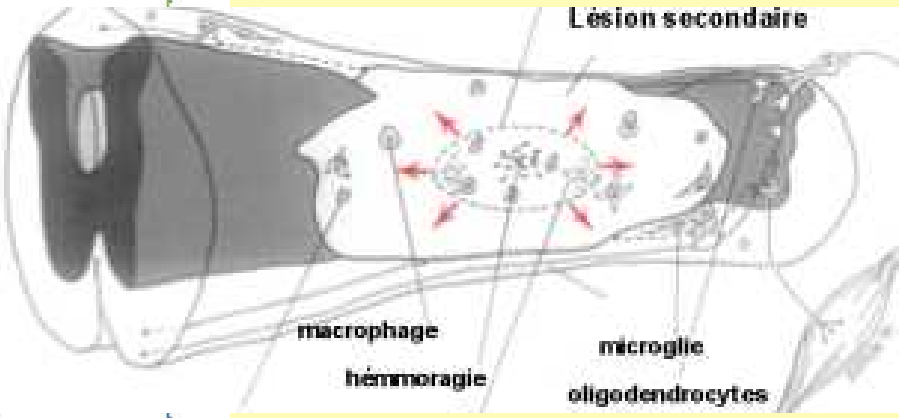
Phase chronique

Apoptose oligodendrocytaire et démyélinisation

Formation de cavités cystiques

Evolution des réactions Biochimiques et cellulaires au cours de la lésion médullaire

Lésion primaire



Cellules nécrotiques

Cellules apoptotiques

D'après Beattie et Bresnahan

Implications thérapeutiques des mécanismes des lésions primaires et secondaires

Lésion primaire

<u>Le + fréquent</u> :

la sommation d'un impact avec une compression persistante

« justifie la chirurgie en urgence si absence de contre indication» ? oui (LB)

-burst fractures (fractures compression)
-fractures dislocations,
-hernies discales compressives post traumatiques
-luxation cervicale compressive (urg à la réduction)
-rares hématomes compressifs.

En pratique, pb des lésions dorsales complètes et quid des grosses moelle mono et pluri segmentaires ?

Lésion primaire

+ rarement

Un impact seul, sans compression persistante:
-lésions par hyper extension ou distraction
-luxations spontanément réduites
-lésions par effet de souffle

Une section et/ou perte de substance
-blessure par arme blanche
-ou arme à feu

Pas d'urgence chirurgicale, quoi qu'une stabilisation chirurgicale relativement rapide favorise la prise en charge pour la mobilisation, le nursing et la réadaptation.

Note+++ : Luxation cervicale

Avant

<u>En urgence</u>

Réduction

→

Externe

ou

Traction

Après

Le concept de lésion secondaire ➔ Neuroprotection

- L'une des particularités des lésions traumatiques du SNC réside dans leur auto-aggravation (Braund et al., 1990) et a abouti au concept de lésion primaire et de lésion secondaire.
- S'il paraît difficile de pouvoir agir sur la lésion primaire *stricto sensu*, la recherche de molécules minimisant la lésion secondaire nourrit un espoir dans les possibilités de récupération fonctionnelle après traumatisme médullaire.

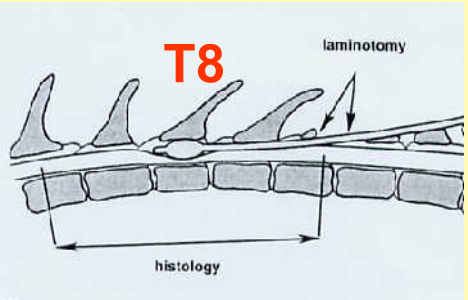
Neuroprotection

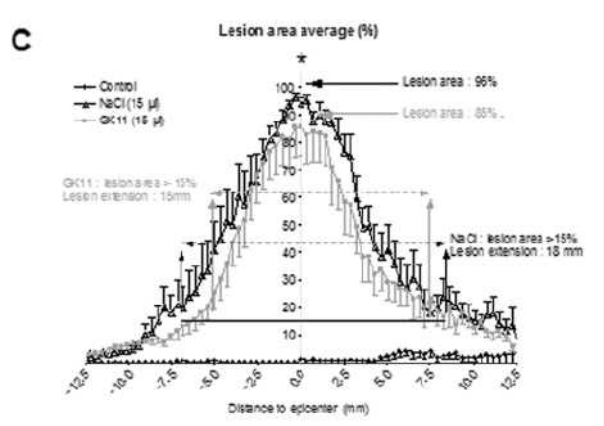
- Fenêtre temporelle courte (qlq heures au max)
- Nombreuses molécules évaluées :

corticoïdes, naloxone, gangliosides, gacyclidine (GK11), TRH, riluzole, nimodipine, minocycline, érythropoïétine (EPO), hypothermie, etc.

- Conditions expérimentales disparates +++
- Il y a des résultats intéressants sur le plan expérimental

Ex: Modèle de lésion médullaire : Technique standardisée, +GK11 (Lonjon et al 2010)





Effets fonctionnels

- Mais aucun résultats significatif chez l'homme actuellement

Prise en charge clinique actuelle recommandations

- Aucune médullo-protection n'est actuellement validée
- Contrôle étroit : TA et glycémie
- Chirurgie rachidienne dans les 48 h
- Délai plus court (6-8 heures si la lésion est incomplète)
- Prise en charge rééducative précoce
- Prévention des complications

SFAR 2003 Prise en charge d'un blessé adulte présentant un traumatisme vertébro-médullaire)

Stratégies de réparation de la moelle

Stratégie de réparation de la moelle

Régénération

Stimuler la repousse axonale

Neutraliser les inhibiteurs (collagène-myéline)

Réduire la cicatrice gliale

Pontages

Moelle-moelle

Moelle-racines/nerfs

Moelle-muscles

OEC

Olfactory Ensheathing Cells

Thérapies substitutives

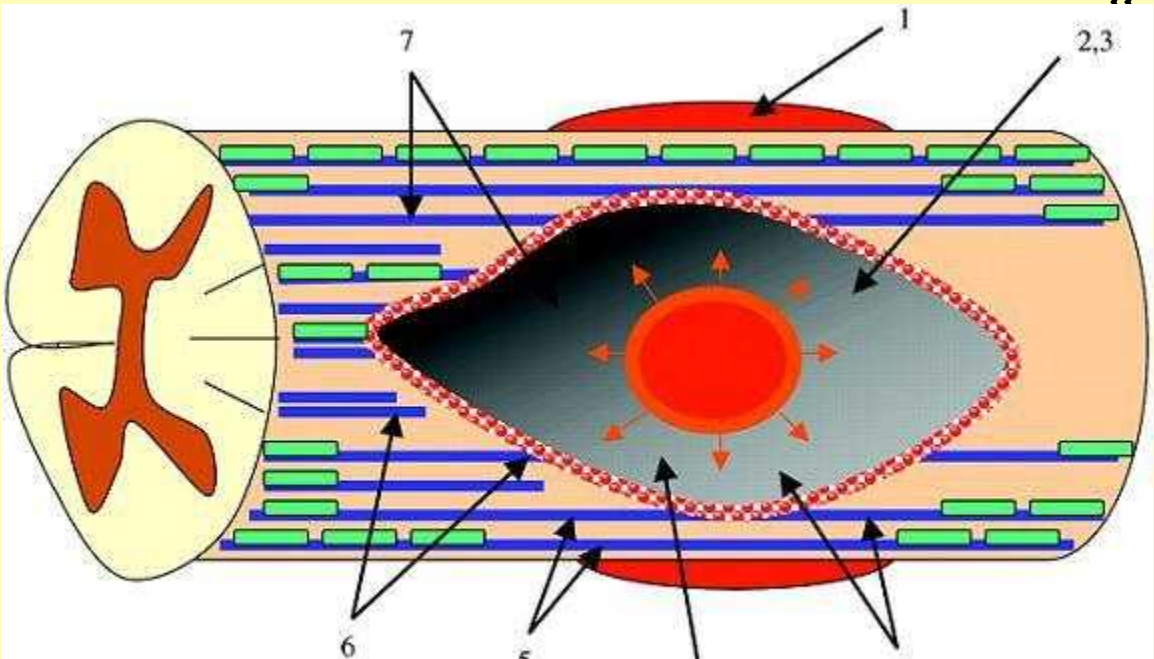
« Cellules souches »

Remplacer les cellules détruites

(les neurones - les oligodendrocytes)

Support trophique

Stimulation endogène



Régénération

Régénération

- La régénération des cellules nerveuses est **abortive** dans le SNC des mammifères, alors qu'elle existe dans le SNC des invertébrés et dans le SN périphérique des mammifères.

nd ➔1) Études fondamentales des mécanismes de la régénération

- chez les invertébrés *(intérêt des modèles invertébrés dans l'étude de la neurobiologie et des circuits neuronaux: Clarac et Pearlstein, 2007)*

- dans le SNP des mammifères (Desouches et al 2005: *réparation du SNP,* Yannas: *régénération du SNP et biomatéraux* Haastert et Grothe, 2007: *thérapie génique comme stratégie de reconstruction du SNP*).

➔2) Études des mécanismes inhibiteurs et stratégies de blocage de ces mécanismes et/ou de stimulation de la repousse axonale.

Régénération : moduler la cicatrice gliale et diminuer l'inhibition de la repousse axonale

- La formation de la cicatrice débute dès les premiers jours après le traumatisme
  - Les astrocytes deviennent hyperplasiques et hypertrophiques (astrocytes réactifs)
  - Participation de la microglie, des oligodendrocytes, des fibroblastes et autres cellules inflammatoires et de diverses molécules inhibitrices de la repousse axonale (protéines associées à la myéline).

(Pour revue : Gimenez y Ribotta et al., 2002 ; Schwab et al., 2006)

Stratégies expérimentales visant à diminuer la formation de la cicatrice gliale

- **La radiothérapie** précoce à faible dose, chez le rat favorise la récupération fonctionnelle.
- **L'injection locale** de Et Br (**ethidium bromide**) ou **d'anticorps spécifiques**, ou l'injection systémique **d'IL-10** diminue la réaction inflammatoire et/ou la prolifération cellulaire et diminue la formation de la barrière astrocytaire de manière significative en conditions expérimentales
- **L'injection locale de 7β-hydroxycholestéryl-oléate** (connu pour des effets cytotoxiques en cancérologie) diminue la réaction astrocytaire, et favorise la repousse des voies sérotoninergiques.
- L'utilisation expérimentale de **thérapie génique** (virus dirigés contre les astrocytes) neutralise l'hyperplasie astrocytaire.
- L'utilisation de souris transgéniques a montré que la non fabrication de GFAP (normalement fabriquée par les astrocytes activés) est un élément important pour la permissivité astrocytaire.

Stratégies visant à bloquer les molécules inhibitrices de la repousse axonale (1)

- **L'injection locale de chondroïtinase** (enzyme dégradant certaines molécules de la matrice extra cellulaire) favorise la récupération fonctionnelle chez le rat lésé par hémisection ou contusion médullaire (Iaci et al., 2007) ; **et la combinaison avec des cellules de Schwann**, et des **olfactory ensheathing cells** (OEC) permet une régénération des fibres de chaque côté d'une section médullaire et reconnecte différents noyaux du tronc cérébrale (Vavrek et al., 2007).

Stratégies visant à bloquer les molécules inhibitrices de la repousse axonale (2)

- Les **protéines inhibitrices issues de la myéline** (Nogo-A, MAG et Omgp) bloquent la capacité intrinsèque des axones à repousser (pour revue: Schwab et al., 2006).

➔L'application d'anticorps (associés le plus souvent à des facteurs neurotrophiques) permet la repousse axonale de différents neurones dont les corticospinaux.

- Les mécanismes d'action sont un peu controversé (Ferraro, 2007).
- L'injection de macrophages et/ou de lymphocytes activés pourrait entraîner des problèmes d'immunisation à long terme et éventuellement entraîner des phénomènes de démyélinisation.
- Quelques essais cliniques ont été effectués (proneuron biotechnologies).

Régénération : facteurs favorisants la repousse axonale

- Exemple de Greffe pont :

  Moelle – muscle dénervé

  Moelle – nerfs

  Moelle – racines motrices

  Moelle – moelle

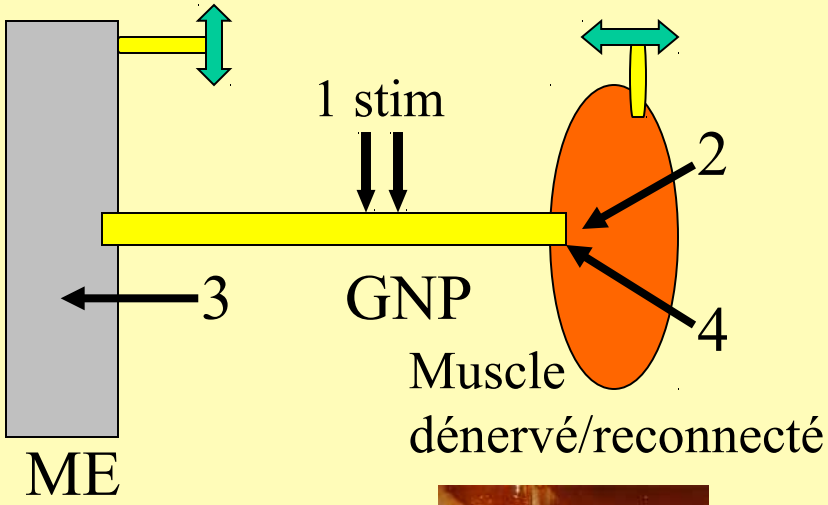
  -avec greffons nerveux périphériques

  -avec biomatériaux (Neurogel-Woorly, autres)

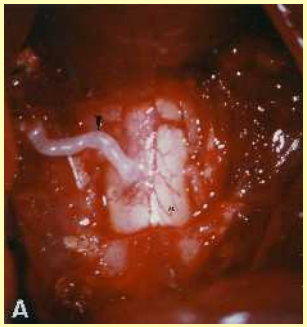
Reconnexion fonctionnelle moelle épinière/muscle dénervé

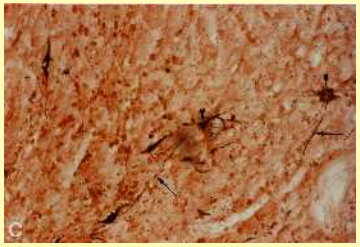
avec un greffon de nerf périphérique (GNP) autologue, chez le rat adulte

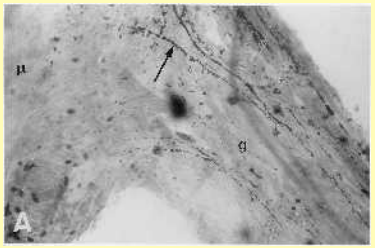
(modèle JC Horvat, Rhrich-Haddout et al., J Neurosci Res. 2001)



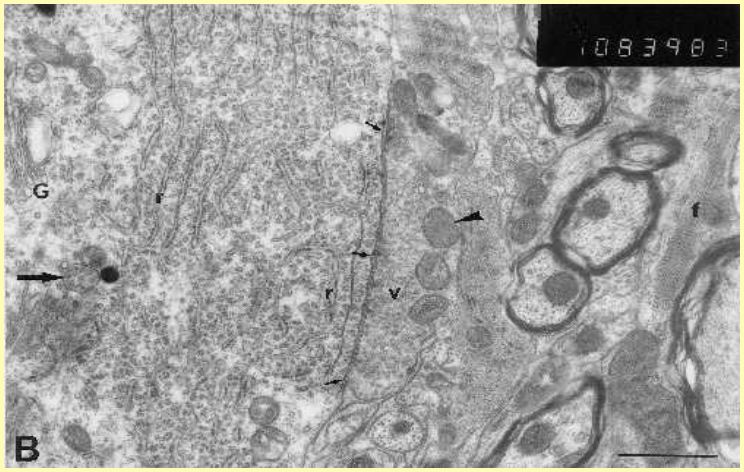
1: stimulation électrique
2: marquage rétrograde (HRP)
3: analyse histologique de la moelle épinière (ME): MESULAM pour la révélation de l'HRP et immunohistochimie AC(ChAT, CGRP, périphérine), et ultrastructure
4: analyse histologique du muscle (nouvelles jonctions neuromusculaires)







couverture synaptique des neurones marqués



<u>Application chez l'homme</u>: Tadié et al

J Neurotrauma. 2002

Partial return of motor function in paralyzed legs after surgical bypass of the lesion site by nerve autografts three years after spinal cord injury.

Tadie M, Liu S, Robert R, Guiheneuc P, Pereon Y, Perrouin-Verbe B, Mathe JF.

J Neurotrauma. 2002 Aug;19(8):909-16.

- Spinal cord injuries often result in irreversible loss of motor and somatosensory functions below the lesion level. Treatment is limited to physiotherapy aimed at compensating disability. We previously showed that re-establishment of tissue continuity can be achieved in animal models through nerve autografts implanted between the rostral spinal ventral horn and the caudal ventral roots. Rostral motor neuron axons could thus reach peripheral targets, leading to some return of motor function. We used a similar approach in a paraplegic patient with stabilized clinical states three years after spinal cord traumatic damage at the T9 level. Three segments from autologous sural nerves were implanted into the right and left antero-lateral quadrant of the cord at T7-8 levels, then connected to homolateral L2-4 lumbar ventral roots, respectively. Eight months after surgery, voluntary contractions of bilateral adductors and of the left quadriceps were observed. Muscular activity was confirmed by motor unit potentials in response to attempted muscle contraction. Motor-evoked potentials from these muscles were recorded by transcranial magnetic stimulation. These data support the hypothesis that muscles have been re-connected to supra-spinal centers through motor neurons located in the rostral stump of the damaged cord. They suggest that delayed surgical reconstruction of motor pathways may contribute to partial functional recovery.

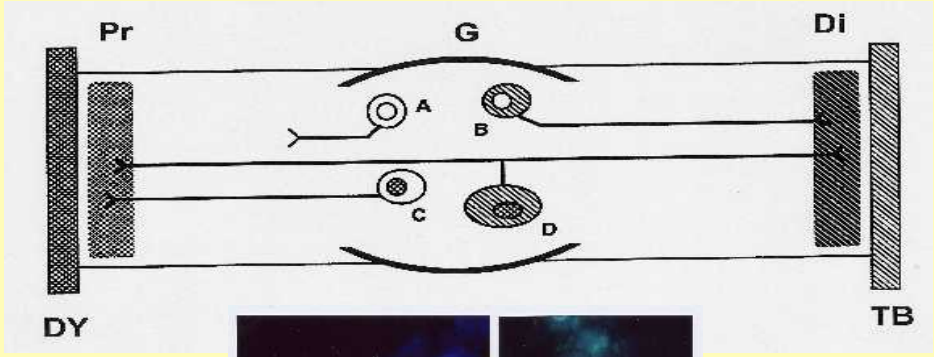
Projet : Pontages radiculo-médullaires après traumatismes de la moelle épinière

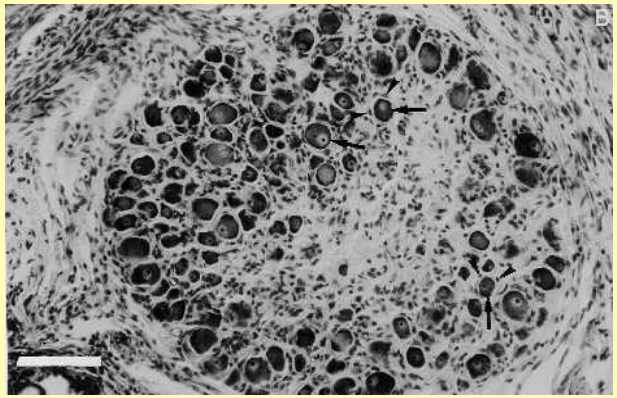
- Essai de phase II (environ 10 patients)
- Méthodologie d'après Tadié et al., 2002
- Projet déposé à l'AFSSAPS en 2009
- Actuellement : ?

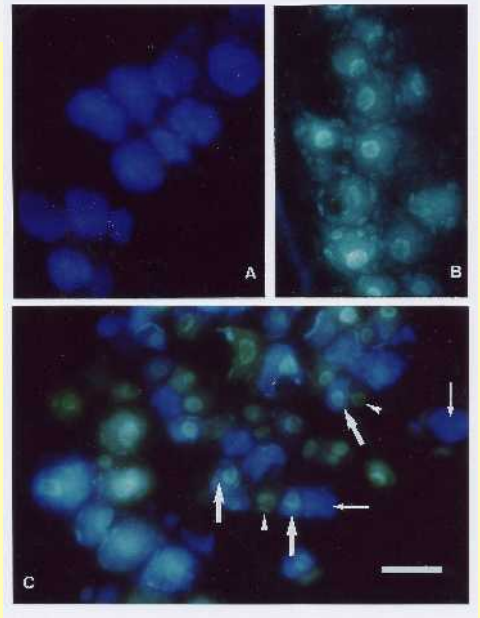
- Limitation à ce modèle : la sensibilité

La boucle sensitive *Bauchet et al. Exp Neurol 2001*

Les neurones sensoriels primaires survivent et peuvent effectuer une repousse axonale bidirectionnelle lorsqu'ils sont greffés dans un fragment de nerf isolé, laissé in situ, chez le rat adulte.







<u>Application dans le SNC</u>:
La théorie du domino
- Davies et al. Nature 1997
-ME: résultats: 0
Bauchet np

La théorie du domino : perspectives

- En guidant la sypnaptogénèse et associé à des cellules permissives tq les OEC ou les cellules souches ➔ reconnections dans la moelle?
- Cellules d'interface entre le SNC et des composants électroniques ?

Olfactory Ensheathing Cells

Olfactory Ensheathing Cells

- Ensheathing olfactory glial cells (OEC) can be considered, with stem cells, as the other most important cell type for developing therapeutic cellular transplantation strategies following lesion of the central nervous system (CNS) and particularly in the case of spinal cord injury. **OECs are macroglial cells whose precursors are located in the olfactory mucosa. OEC ensheath the axons of the sensory olfactory neurons, from the peripheral mucosa to the central olfactory bulbs.** These glial cells constitute one of the rare macroglial cells which, after removal in the adult mammal, can survive in culture and multiply. After post-traumatic transplantation in the CNS, these cells have induced several instances of functional recovery after injury of different neural systems. The "OEC transplantation effect" consists in modifying the central inhibitory environment to make it more propitious for axonal regrowth and cell survival (reduction of the glial scar; releasing of numerous survival and neurotrophic factors, and of surface, extracellular matrix and adhesion molecules). In addition to the fact that OEC can ensheath and/or myelinate central axons, migrate in the CNS and accompany the growing axons over a relatively long distance, they also can be obtained from olfactory mucosa. OEC thus constitute a preferential candidate for autologous transplantation for the purposes of repair. (*Polentes et Gauthier, 2005*)

- *Feron Rev Neurol 2007 ; Stamegna et al (Gauthier) Exp Neurol 2011 in press*

Olfactory Ensheathing Cells: Transplantion chez l'Homme

Cellules autologues:

- Portugal : Lima *(Lima et al., J Spinal Cord med, 2006)*
- Australie : ***Feron*** *et al., 2005;* ***Mackay-Sim*** *et al., Brain 2008*

  Phase I clinical trial, 5 patients

  2005:« We conclude transplantation of autologous olfactory ensheathing cells into the injured spinal cord is feasible and is safe up to one year post-implantation »

  2008: résultats limités: 1 patients amélioration sensitive

Cellules embryonnaires:

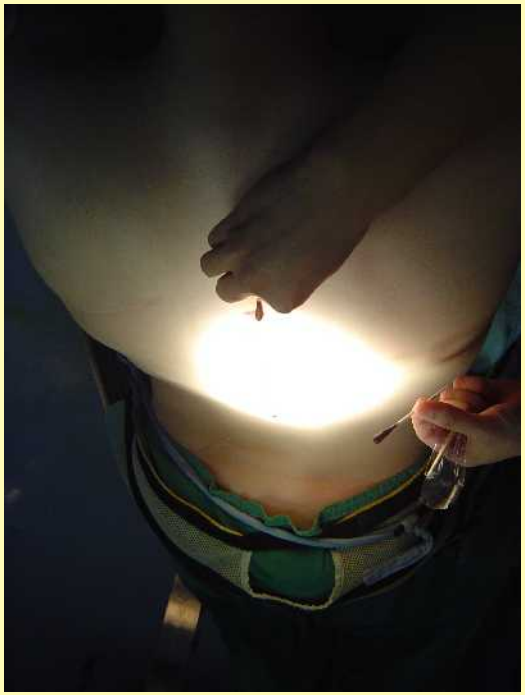
- Chine : Huang

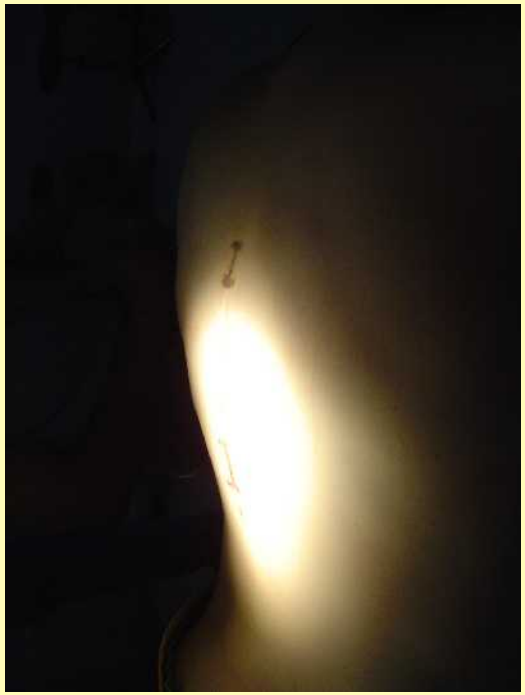
Safety of fetal olfactory ensheathing cell transplantation in patients with chronic spinal cord injury. A 38-month follow-up with MRI. *(Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. 2006)*

Cellular transplants in China: observational study from the largest human experiment in chronic spinal cord injury.

Dobkin BH, Curt A and Guest J *(Neurorehabil Neural Repair, 2006)*

- BACKGROUND: In China, fetal brain tissue has been transplanted into the lesions of **more than 400 patients** with spinal cord injury (SCI). Anecdotal reports have been the only basis for assuming that the procedure is safe and effective. OBJECTIVE: To compare available reports to the experiences and objective findings of patients who received pre-operative and postoperative assessments before and up to 1 year after receiving cellular implants. METHODS: Independent observational study of 7 chronic SCI subjects undergoing surgery by Dr Hongyun Huang in Beijing. Assessments included lesion location by magnetic resonance imaging, protocol of the American Spinal Injury Association (ASIA), change in disability, and detailed history of the perioperative course. RESULTS: Inclusion and exclusion criteria were not clearly defined, as subjects with myelopathies graded ASIA A through D and of diverse causes were eligible. Cell injection sites did not always correlate with the level of injury and included the frontal lobes of a subject with a high cervical lesion. Complications, including meningitis, occurred in 5 subjects. Transient postoperative hypotonicity may have accounted for some physical changes. No clinically useful sensorimotor, disability, or autonomic improvements were found. CONCLUSIONS: **The phenotype and the fate of the transplanted cells, described as olfactory ensheathing cells, are unknown. Perioperative morbidity and lack of functional benefit were identified as the most serious clinical shortcomings. The procedures observed did not attempt to meet international standards for either a safety or efficacy trial. In the absence of a valid clinical trials protocol, physicians should not recommend this procedure to patients.**





毛朱室(一)

毛朱室(一)

-Transplantation de OEC embryonnaires

- Résultats : ?
  - Des éléments intéressants (expérimentaux, témoignages, etc.) mais rien de formellement évalué chez l'homme actuellement.

-Transplantation de OEC autologues

- Résultats :
  - Carlos Lima : rien de prouvé
  - Feron/ Mackay-Sim (2008) : 1 pt ↗ sensitive
- Perspectives 201X: essai multicentrique ?

Cellules souches et/ou progénitrices

3 exemples chez l'homme

- 1 essai clinique
- 1 technique employée chez l'homme hors essai
- 1 travail de recherche fondamental

2 exemples chez l'animal

combinaisons de différentes stratégies

Transplantation Cellules souches/Homme

- Autologous bone marrow transplantation in patients with subacute and chronic spinal cord injury *(Sykova et al., 2006 Cell Transplantation)*
  - 20 patients
  - Injection intra artérielle (branche de A. vertébrale) versus intra veineux entre 10 à 467 j
- Résultats partiels :
  - art > vein
  - Précoce > tardif
- Le seul résultat important est chez un patient cervical incomplet

Transplantation Cellules souches/Homme

- XCELL Center (Dusseldorf) http://www.xcell-center.com
  - Injections de cellules souches autologues provenant de la moelle osseuse
  - Nombreuses situations cliniques : TMA, SLA, IMC, etc.
  - Plusieurs centaines de patients (10 000 euros/injection)
  - Évaluation ???
- XCell-Center GmbH Gets Approval by French Health Authorities to Conduct Clinical Trial with Stem Cells for Chronic Spinal Cord Injury (injection par PL)
  - Clermont Ferrand : Tel Jean Chazal (**17/03/2011**) accords CPP et AFFSAPS pour essai clinique randomisé, pts en liste d'attente, mais pb récent en Allemagne (lors injection ventriculaire) ➔ tout suspendu pour le moment.

Cellules souches/progénitrices/Homme: travail fondamental

Travail collaboratif montpelliérain:

- Service de Neurochirurgie, Unité 583 de l'INSERM, Agence de Biomédecine (Établissement Français des Greffes), Coordination Hospitalière, Département d'Anesthésie Réanimation, Service de Neurologie
- Prélèvement de ME humaine lors de dons d'organes à visée thérapeutique, selon les règles de l'Établissement Français des Greffes et le respect du don du corps.

Travail collaboratif montpelliérain

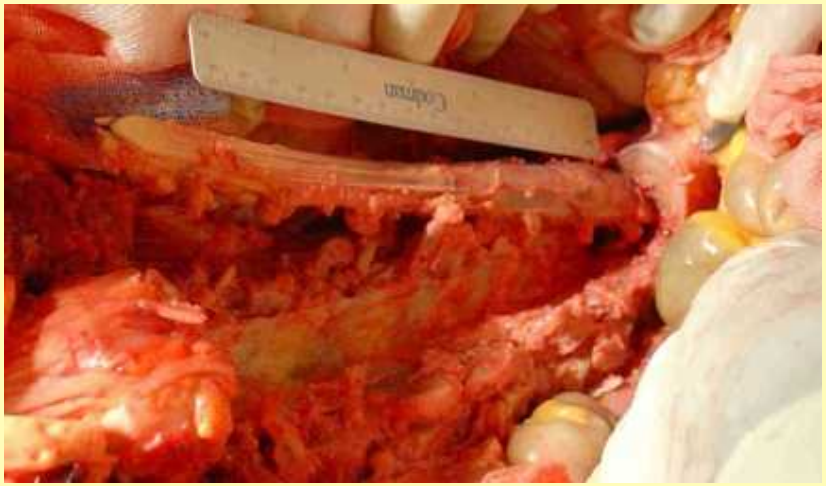
Journal of Neuroscience Research 86: 1916-1926 (2008)

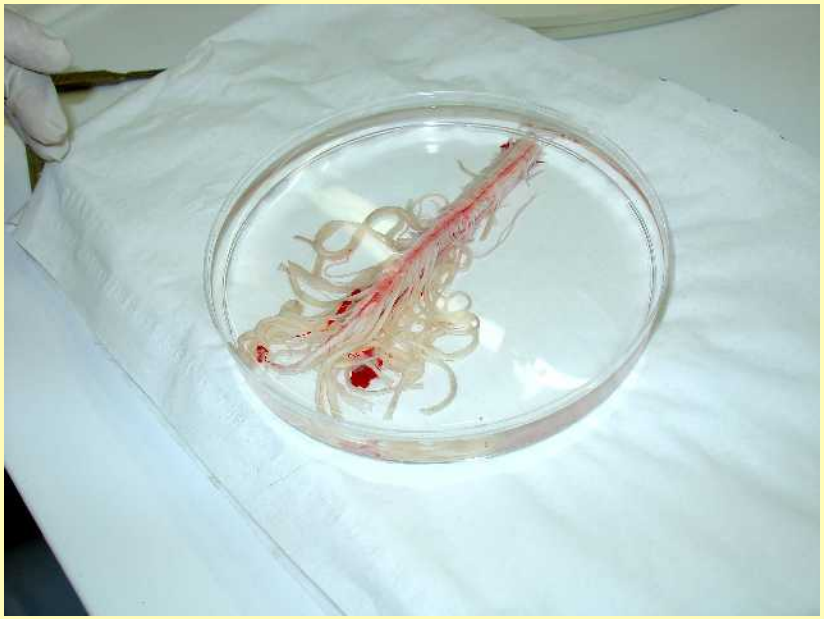
Adult human spinal cord harbors neural precursor cells that generate neurons and glial cells in vitro.

C. Dromard [1.], H. Guillon [1.], V. Rigau [2..], C. Ripoll [1..], J.C. Sabourin [1], F.E. Perrin [1], F. Scamps [1], S. Bozza [1], P. Sabatier [3], N. Lonjon [13], H. Duffau [3], F. Vachiery-Lahaye [4], M. Prieto [7], C. Tran Van Ba 1, L. Deleyrolle [1], A. Boularan [5], K. Langley [1], M. Gaviria [7], A. Privat [1], J.P. Hugnot [1...],

L. Bauchet [136...]

1 INSERM U583, 2 Service d'Anatomopathologie, 3 Département de Neurochirurgie, 4 Coordination hospitalière de prélèvement et Etablissement Français des Greffes, 5 Département Anesthésie Réanimation C, 6 Centre Propara Languedoc-Mutualité, 7 NEUREVA, Montpellier, France





Étude de la moelle épinière humaine

« cellule souches ? »

Travail collaboratif coordonné par Luc Bauchet

(INSERM, Agence de Biomédecine, coordination hospitalière, département de neurochirurgie)

- 1ier Objectif: (travail avec **JP Hugnot**)

  1) Caractérisation du tissu

  2) Recherche de cellules souches ou progénitrices dans la moelle épinière adulte

10 prélèvements de moelle épinière humaine

- Tissu médullaire « frais »

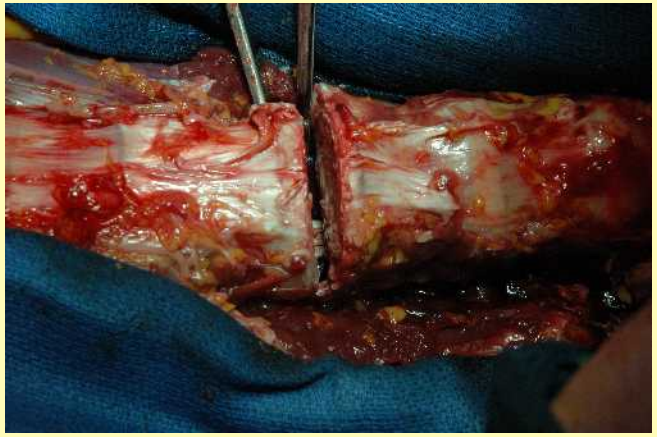
  (interruption cardiaque inférieure à 3 heures)

- sujet en mort encéphalique

Prélèvements de moelle épinière humaine

(réalisation - analyse)

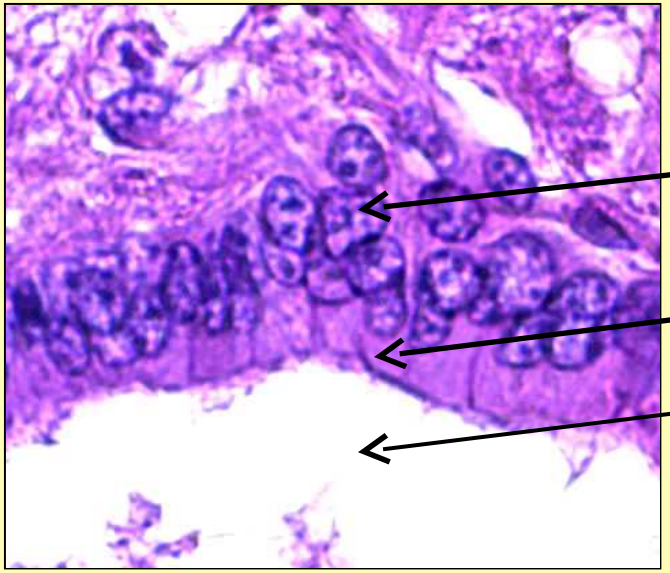
- Sujet donneur d'organe à visée thérapeutique
- Voie d'abord identique que pour le prélèvement thérapeutique
- Prélèvement d'un segment de moelle thoraco-lombaire avec les ganglions rachidiens



- Histologie et cytologie
- Analyse en microscopie électronique
- Recherche de marqueurs de cellule souche
- Approche en culture « in vitro »

Résultats (Caractérisation du tissu médullaire humain)

1/ Structure cellulaire de la région sous épendymaire en Microcopie optique et électronique

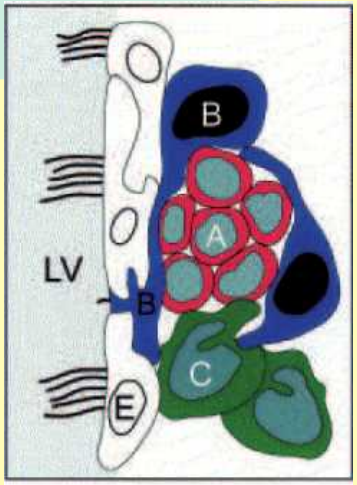


Cellules Sous épendymaires

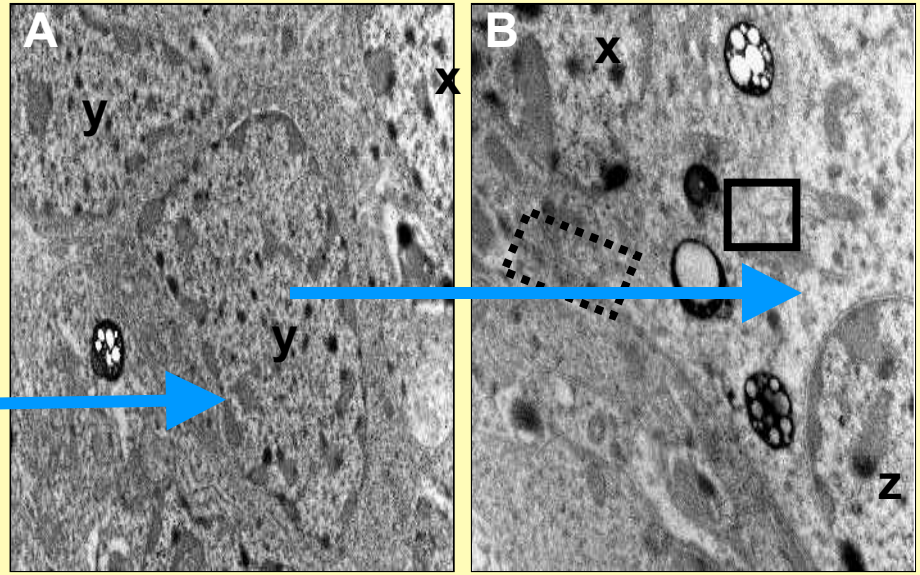
Cellules épendymaires

Canal central

Coloration Hématoxyline éosine



D'après A. Alvarez-Buylla

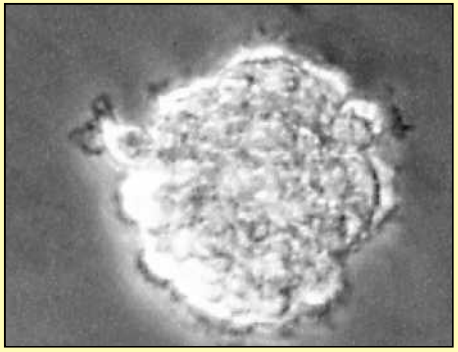


Type **B**

Type **C**

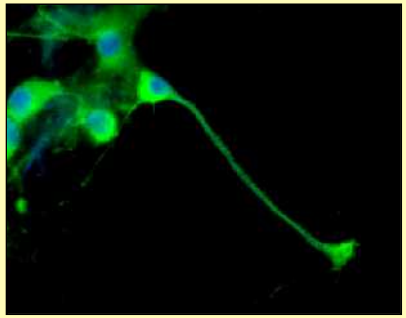
Dromard et al, J Neuroscience Research 2008

Conclusion
(caractérisation de tissu médullaire humain)

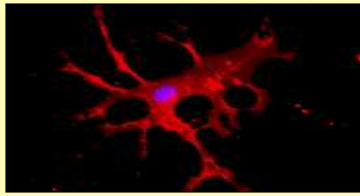


- Cellules qui survivent aux conditions de prélèvements
- Cellules qui prolifèrent *in vitro*
  formation de neurosphère
- Cellules qui expriment des marqueurs de cellules immatures du SNC
- Différentiation vers les 3 lignées: neuronale, oligodendrocytaire et astrocytaire

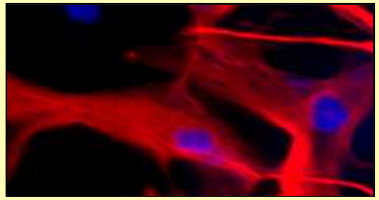
Neurones (b3 tubulin)



Oligodendrocytes (O4)



Astrocytes (GFAP)



⇨ **Limites**

- Absence d'autorenouvellement à long terme et absence de prolifération clonale

Dromard et al, J Neuroscience Research 2008

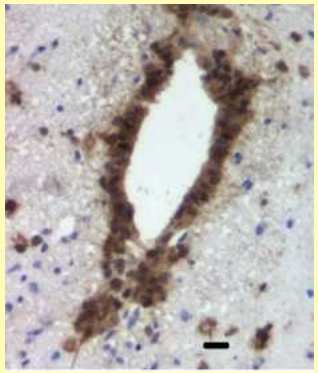
Cellules progénitrices neurales

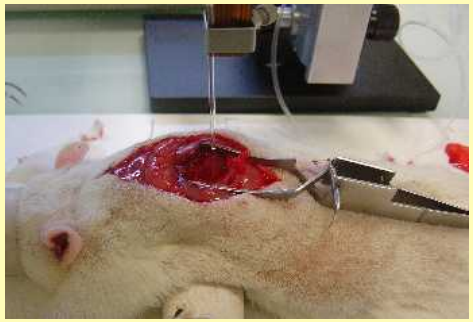
Travail collaboratif montpelliérain (suite)

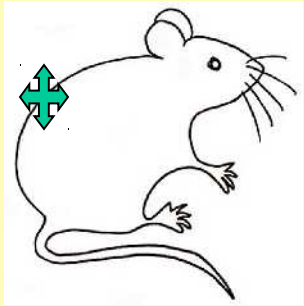
Deuxième objectif : transplantation dans la moelle épinière lésée du rat

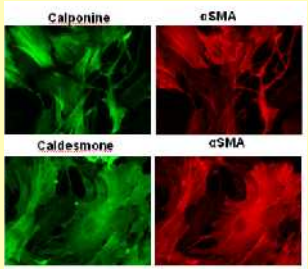
N Lonjon, F Perrin, JP Hugnot

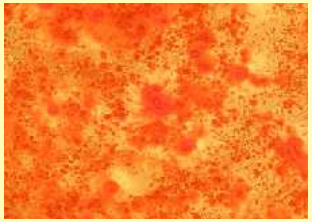
ME humaine











Mamaeva et al, Soumis

Demonstration of vascular osteogenic mesenchymal cells in human spinal cord

Aucun effet fonctionnels

MAIS

Travail collaboratif montpelliérain (suite)

Troisième objectif : étude du Système sérotoninergique médullaire humain

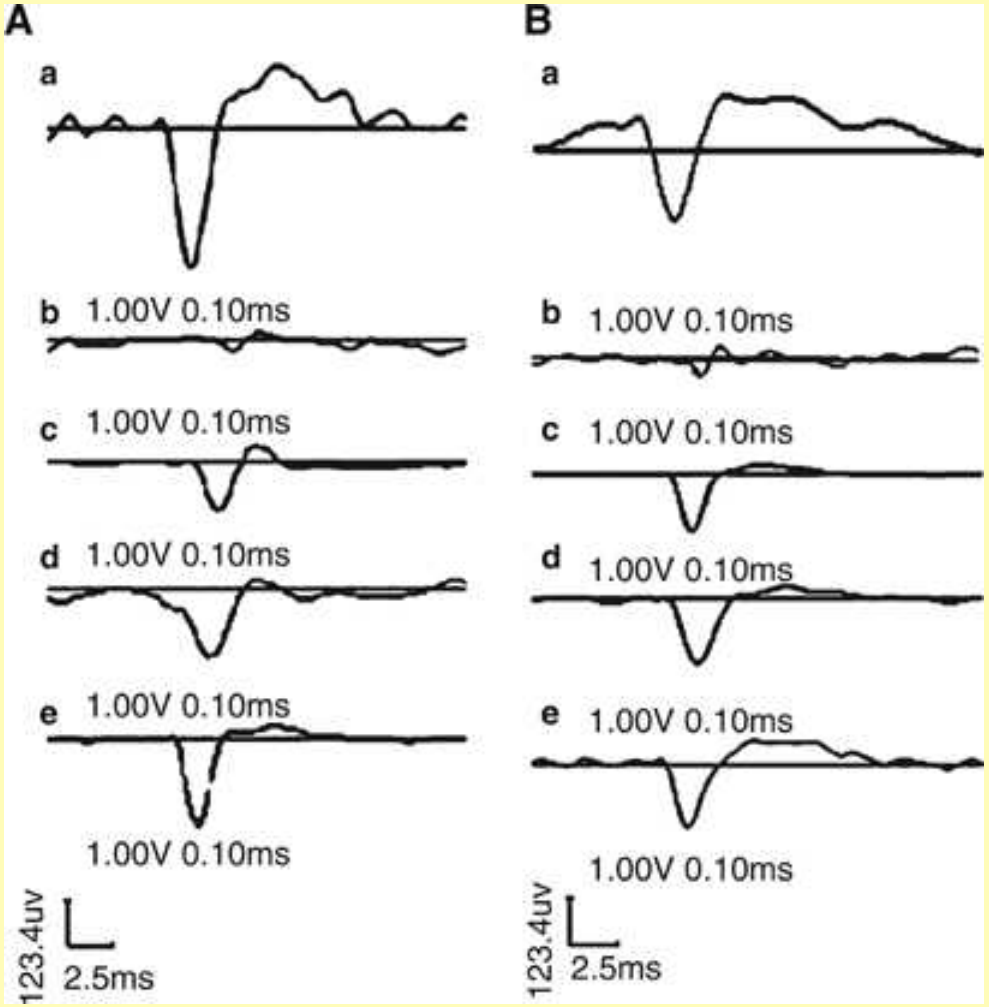
Serotonin expression in adult human thoracic spinal cord, travail avec A Privat

Perrin et al. soumis

Au niveau de la moelle lombaire, l'innervation sérotoninergique est encore plus marquée dans la corne ventrale (motoneurones)

Cellules souches (suite)
Expérimentation chez l'animal

- Cotransplant of neural stem cells and NT-3 gene modified Schwann cells promote the recovery of transected spinal cord injury *(Guo et al., 2007 Spinal Cord)*. **Expérimentation chez l'animal**
  - *Cellules souches : proviennent de l'hippocampe de rats néonataux*
  - *Cellules de Schwann : proviennent de nerfs sciatiques et plexus brachiaux de rats néonataux*
  - *Les cellules de Schwann sont génétiquement modifiées par un adénovirus et expriment du NT3 (facteur de croissance).*
  - *Les rats receveurs ont une section médullaire dorsale complète.*



The <u>cortical motor evoked potential</u> (**A**) and <u>cortical somatosensory evoked potential</u> (**B**) of rats 67 days after surgical procedures.

(**a**) Normal control group.

(**b**) SCI control group.

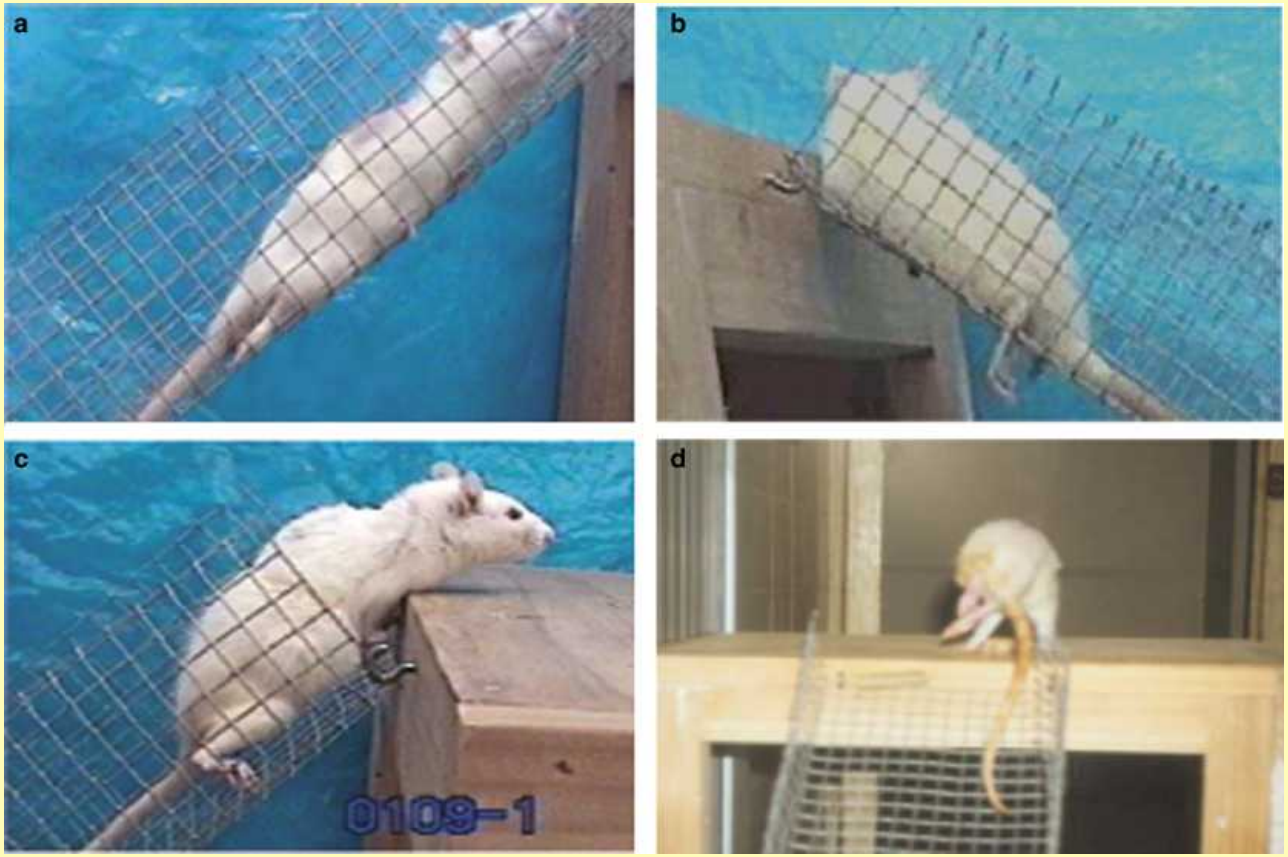
(**c**) NSCs grafted group.

(**d**) SCs+NSCs cografted group.

(**e**) NT3-SCs+NSCs cografted group

SCI: spinal cord injury, NSCs : neural stem cells,
SCs: Schwann cells; NT3: neurotrophine-3

Guo et al., 2007



The SCI rats climbed onto the inclined grid 60 days after surgical procedures. (**a** and **b**) An example of SCI control rat was climbing with the forelimbs. The hindlimbs were drawing (**a**) or falling (**b**). (**c**) An example of NSCs grafted rat was climbing with the hindlimbs stepping grid. (**d**) An example of NT3-SCs+NSCs grafted rat skipping with the hindlimbs when it climbing onto the inclined grid

Guo et al., 2007

Cellules souches (suite)
Expérimentation chez l'animal, ex. 2

- **Grafted Human Embryonic Progenitors Expressing Neurogenin-2 Stimulate Axonal Sprouting and Improve Motor Recovery after Severe Spinal Cord Injury**

Florence E. Perrin, Guillaume Boniface, Che Serguera, Nicolas Lonjon, Angeline Serre, Monica Prieto, Jacques Mallet, Alain Privat

Plos one décembre 2010

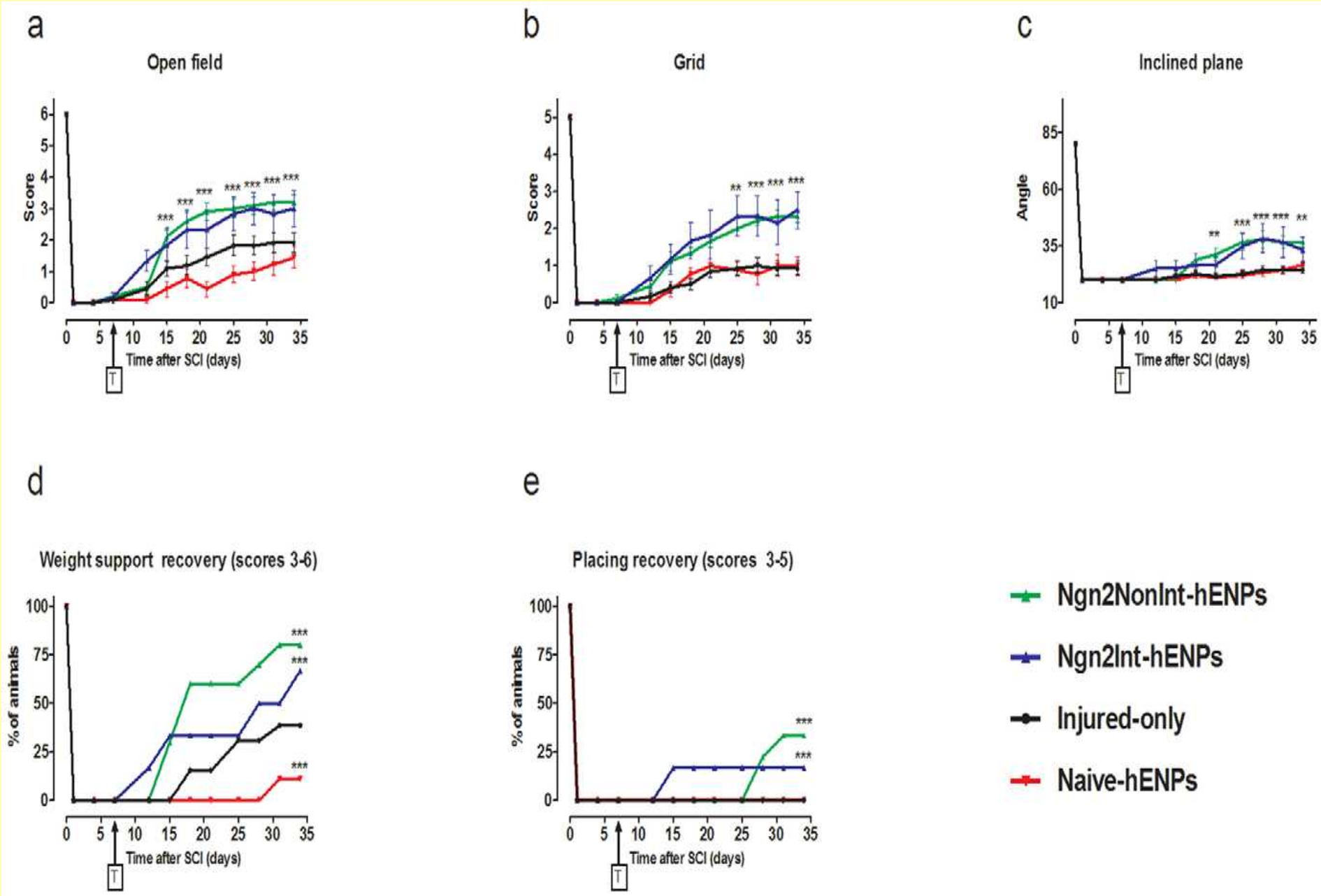
<u>Méthodes</u> :

-chez le rat adulte, greffe une semaine après une lésion sévère par compression [modèle standardisé (Lonjon et al. 2009)

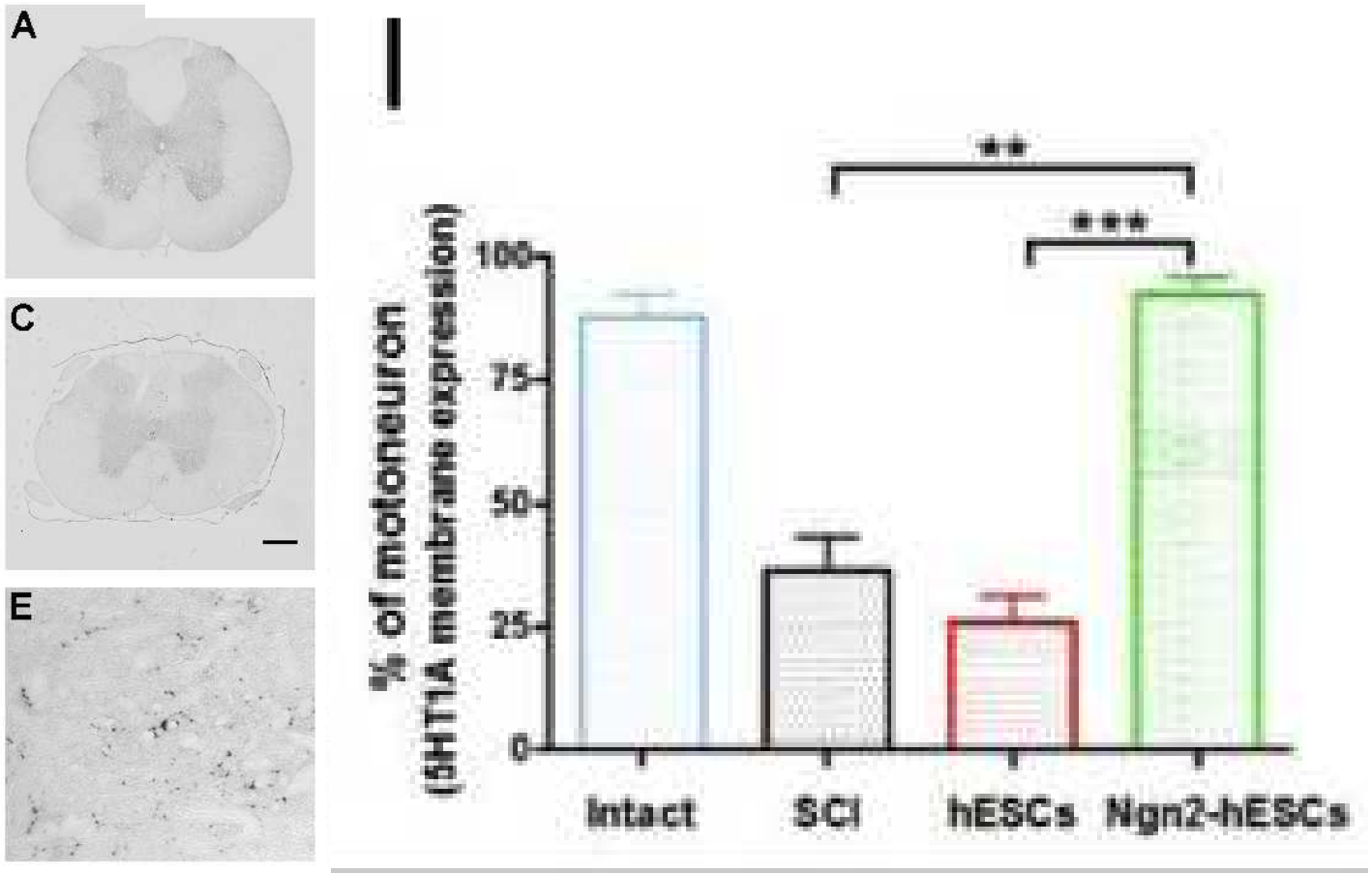
-Greffes de cellules progénitrices neurales embryonnaires humaines (hENPs) génétiquement modifiées (vecteur lentiviral dérivé du virus HIV-1), de manière intégrative et non intégrative (les non intégratifs présentant moins de risques) exprimant la Neurogenine 2 (facteur de transcription dans la neurogénèse), et naïves.

-Étude du système sérotoninergique

Résultats fonctionnels



Expression des fibres sérotoninergiques et de ses récepteurs après lésion médullaire



Restauration partielle des fibres (5HT) et préservation des récepteurs 5HT1A à la Membranes des motoneurones

Conclusion de l'étude

- La transplantation de cellules progénitrices neurales embryonnaires humaines (hENPs) exprimant la Neurogénine 2 restaure le «weight support » et améliore la fonction motrice.
- De plus ceci est corrélé avec la restauration de l'innervation sérotoninergique au niveau de la moelle lombaire
- Par ailleurs, 1 mois après la transplantation, aucune cellule n'est retrouvée dans le tissu médullaire transplanté (ceci plaide pour l'effet trophique du modèle)
- Dans ce modèle, la transplantation de cellules naïves est délétère

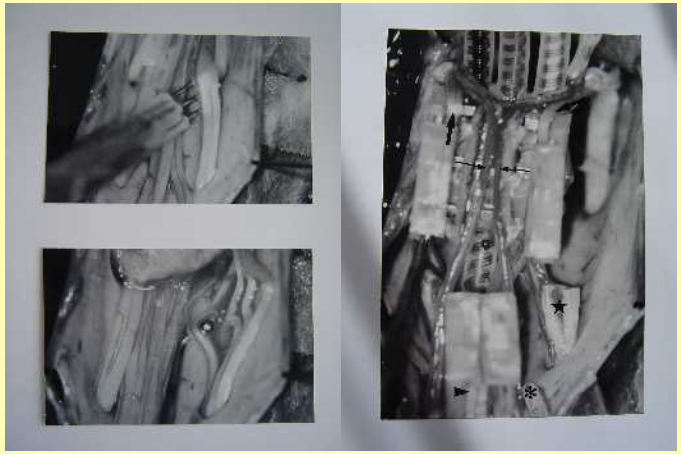
Restauration fonctionnelle

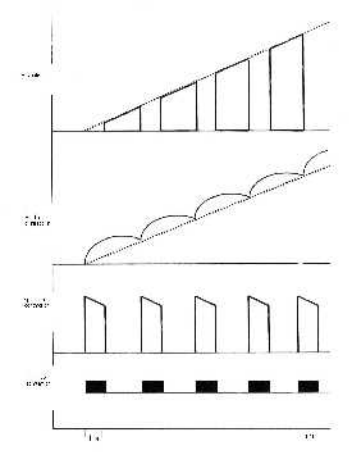
Stratégies utilisant la moelle sous-lésionnelle

- Entraînement et les procédés pharmacologiques (les travaux de Barbeau et Rossignol)
- Transplantations de tissu embryonnaire monoaminergique (sérotonine) qui ont montré tout d'abord une réactivation des centres de l'érection-éjaculation (travaux de Privat) puis des centres de la locomotion (travaux de Privat et Orsal)
- Stimulation électrique épidurale (Dimitrijévic) plaide en faveur d'un CPG (central pattern generator) chez l'Homme
- Microsimulations intraspinales (Mushahwar et al., 2007 ; lau et al., 2007).

Stratégies utilisant les stimulations extra-médullaires

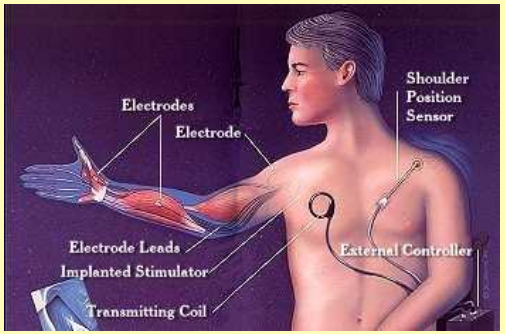
- Stimulations radiculaires (Brindley)





Actuellement: Travaux sur la stimulation sélective des fibres du détrusor

- Stimulations nerveuses et musculaires (SUAW et Freehand system)



-Actuellement: miniaturisation et sélectivité des électrodes, développement des systèmes de rétrocontrôles, asservissement par ordinateurs, etc.

-Étude de la posture (avant de faire marcher il faut tenir debout)

Brain computer interface (BCI) ou utilisation du cerveau couplé à l'ordinateur

- Les procédés peuvent être dits invasifs par l'utilisation d' électrodes corticales, ou sous-durales ou non invasifs
- Il existe dans le système nerveux de nombreux phénomènes qui peuvent être l'objet d'éléments de codage: en partant du plus élémentaire au plus complexe, on peut citer:
  - la décharge des neurones,
  - les potentiels de champs locaux,
  - les activités électroencéphalographiques (EEG avec les rythmes alpha, bêta et gamma),
  - l'onde P.300,
  - les variations de concentration en oxy- et deoxyhémoglobine, etc.
- Un apprentissage important est une constante à tous ces procédés.

Conclusion 1

1. L'imagination humaine et les avancées technologiques permettent d'espérer des progrès dans la réparation et/ou la restauration des fonctions de la moelle épinière.
2. Une compétition entre le développement des stratégies biologiques (régénération, développement des matériaux de support favorisant la repousse axonale, cellules souches, thérapie génique, etc.) et celui des stratégies électriques et électroniques.
3. Les traitements combinés sont peut être la solution

Conclusion 2

- Mais, il faut garder à l'esprit:
  - La recherche est longue et progresse par étape
  - L'expérimentation est un préalable
  - L'évaluation doit être rigoureuse et répondre aux règles techniques et éthiques
  - Les risques inéluctables du passage à l'Homme
  - Les risques de toute thérapeutique qu'elle soit médicale ou chirurgicale
- Des guidelines pour conduire des essais cliniques ont été proposés par l'International Campaign for Cures of spinal cord injury Paralysis (ICCP, Spinal Cord mars 2007: 4 articles).

Conclusion 3

- Les essais cliniques:
  - vont probablement se développer
  - ils concerneront tout d'abord un nombre limité de patients
  - Les effets fonctionnels et bénéfiques pour les patients seront probablement modestes.

Merci pour votre attention

Centre L'Espoir, Hellemmes, Samedi 19 Mars 2011

Nouveautés dans les lésions médullaires traumatiques

Luc Bauchet[1,2,3], Nicolas Lonjon[1,2], Charles Fattal[3]

1:Département de Neurochirurgie, CHU de Montpellier

2:INSERM U 1051, Institut des Neurosciences de Montpellier

3:Centre Mutualiste Neurologique Propara, Montpellier