

Etat d'Avancement des Travaux

Durée du Projet : 3 ans

Début du financement du Projet : Septembre 2005

Etat d'avancement des travaux : Janvier 2006

Nom des Demandeurs

Patrick DECHERCHI

François FERON

Discipline

Neurosciences (Neurobiologie-Neurophysiologie)

Titre du projet : Récupération de la locomotion et de la sensori-motricité après lésion du système nerveux central et greffe de cellules engainantes olfactives, associée à l'administration d'un immunomodulateur (FK506) et à la pratique d'exercices sur ergomètre.

Equipe : Patrick DECHERCHI (MCU-HDR)
François FERON (PU)
Tanguy MARQUESTE (MCU)
Olivier ALLUIN (Doctorant)
John Ivan BIANCO (Post-Doctorant) - *arrivé à Marseille 01-11-05*
Pascal ZENATTI (Technicien)

EXPOSE DU PROJET DE RECHERCHE

Récupération de la locomotion et de la sensori-motricité après lésion du système nerveux central et greffe de cellules engainantes olfactives, associée à l'administration d'un immunomodulateur (FK506) et à la pratique d'exercices sur ergomètre.

La régénération axonale de voies nerveuses centrales et périphériques par des greffes de cellules « engainantes » du système olfactif (CEO), associées ou non à l'administration d'un immunomodulateur et à la pratique d'exercices musculaires, sera étudiée dans le cadre d'une collaboration entre l'équipe du Dr Patrick DECHERCHI (« *Déterminants Physiologiques de l'Activité Physique* », UPRES EA3285, Université de la Méditerranée (Aix-Marseille II)) et l'équipe du Pr François FERON (« *Neurobiologie des Interactions Cellulaires et Neuropathologie* » - CNRS UMR 6184, Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée (Aix-Marseille II)). Ces deux équipes de recherches possèdent le *savoir faire* pour i) prélever, cultiver et purifier les cellules engainantes olfactives (CEO), qu'elles soient d'origine périphérique ou centrale ; ii) quantifier une récupération fonctionnelle de la locomotion ; iii) réaliser des études électrophysiologiques pour évaluer la régénération axonale ; iv) pratiquer une étude immuno-histologique approfondie.

Ce projet de recherche associe des approches cellulaires et globales. Jusqu'à présent, la majorité des études se sont attachées à étudier isolément un seul facteur. Nous nous proposons d'adopter une démarche multifactorielle et séquentielle. Nous souhaitons étaler dans le temps trois interventions ayant pour objectifs respectifs l'inhibition des dégâts causés par la réaction inflammatoire, l'induction de la repousse axonale et le maintien en activité des afférences et des efférences nerveuses. Nous sommes en effet persuadés, à l'image de ce qui se fait pour les attaques cardiaques, que les traumatisés médullaires devront à l'avenir recevoir dès les premières heures un traitement approprié et ensuite poursuivre leur réhabilitation grâce à des interventions complémentaires, notamment la thérapie cellulaire et la kinésithérapie.

Ce projet de recherche est établi sur une durée de 3 ans. Il nécessite d'opérer 80 rats qui seront évalués pendant 20 semaines. Un suivi quotidien des rats est nécessaire, surtout pendant les trois semaines qui suivent la transection spinale. En effet, suite au traumatisme, les rats sont incapables d'uriner et l'équipe doit se relayer pour vider leur vessie trois fois par jour, chaque jour de la semaine. La réussite du projet est en grande partie liée à l'embauche sur 3 ans d'un jeune chercheur post-doctorant, le Dr John BIANCO, qui est à la fois expert dans le modèle rat de paraplégie et la greffe de cellules olfactives nasales dans la moelle épinière.

A. Le contexte scientifique.

Les traumatismes de la moelle épinière chez l'homme ont longtemps été considérés comme inopérables. Toutefois, depuis plusieurs années, de nombreuses équipes à travers le monde ont décidé de prendre à bras le corps ce problème et ont mené des études précliniques sur des animaux, avec une attention toute particulière portée sur la thérapie cellulaire. Des essais cliniques chez l'homme sont déjà en cours. Parmi eux, citons l'essai de Phase II au cours duquel des macrophages activés sont injectés dans la moelle épinière, 14 jours après le traumatisme, afin de minimiser les dommages secondaires et d'améliorer la récupération fonctionnelle (www.spinalcordtrial.com). Cet essai fait suite à un essai de Phase I concernant 8 patients et dont les résultats n'ont pas encore été publiés. D'autre part, il a été procédé à une transplantation de moelle épinière fœtale dans le syrinx de deux patients sans qu'aucun effet négatif soit observé 18 mois après l'opération (Wirth et al., 2001).

De notre côté, suite à l'accumulation des travaux sur le potentiel thérapeutique des cellules engainantes, y compris nos propres travaux (Lu et al., 2001; Lu et al., 2002; Li et al., 2003a), nous avons mis en place un essai clinique de phase I basé sur la greffe autologue de cellules engainantes chez trois patients paraplégiques. La sélection des patients s'est faite sur trois critères : une lésion complète de la moelle épinière, un traumatisme au niveau du thorax médian afin de réduire d'éventuels risques de tétraplégie consécutifs à l'intervention et enfin des patients capables de supporter le stress et l'espoir parfois déçu que font naître de tels essais. Cet essai contrôlé est mené en simple aveugle. Un article faisant le point sur cet essai, un an après la greffe, est actuellement soumis pour publication. Les résultats définitifs seront connus dans deux ans.

Nous envisageons d'ores et déjà de mettre en place un essai Phase II. Selon toute vraisemblance, celui-ci sera multicentrique, avec des greffes qui auront lieu en Australie mais également en Europe, notamment à Marseille et à Caen. En attendant, nous devons continuer à obtenir le plus d'informations à partir de modèles animaux.

Les cellules engainantes sont des cellules gliales spécialisées qui engainent les axones des neurones olfactifs sensoriels (Doucette, 1993). Tout comme les cellules de Schwann, les cellules engainantes ont la propriété de favoriser la croissance axonale. Autre avantage qui, cette fois, les différencie des cellules de Schwann, elles vivent et s'associent avec la glie du système nerveux central (SNC), à savoir les astrocytes et les oligodendrocytes (Gudino-Cabrera et al., 2000). Ces caractéristiques exceptionnelles ont conduit de nombreux chercheurs à les utiliser dans des modèles précliniques de transplantation après contusion, transection ou hémisection de la moelle. Depuis les premières expériences de rhizotomie

dorsale, qui ont eu lieu il y a environ 10 ans, plus de 50 études ont été publiées (Ramon-Cueto and Nieto-Sampedro, 1994; Franklin et al., 1996; Smale et al., 1996; Li et al., 1997). Fait particulièrement remarquable, il a été montré que les cellules engainantes olfactives qui ne myélinisent pas les axones olfactifs (ceux ci ont un diamètre trop petit) ont la capacité d'entourer de gaines de myéline les axones en régénération lorsqu'elles sont greffées dans des moelles épinières traumatisées, que ce soit après une lésion du tractus corticospinal (Li et al., 1998b) ou dans des modèles excito-toxiques de démyélinisation (Franklin et al., 1996; Imaizumi et al., 1998; Kato et al., 2000; Kocsis et al., 2004).

Cette régénération est associée à une amélioration de la fonction locomotrice (Cheng et al., 1997; Li et al., 1997, 1998a; Xu et al., 1999; Ramon-Cueto, 2000; Ramon-Cueto et al., 2000) et respiratoire (Li et al., 2003a). Le potentiel thérapeutique supérieur des cellules gliales olfactives par rapport à celui des cellules de Schwann a ainsi été démontré puisque le nombre d'axones traversant le site de lésion est considérablement augmenté lorsque les cellules engainantes sont placées à l'interface d'un tube rempli de cellules de Schwann et de la moelle épinière endommagée (Ramon-Cueto et al., 1998).

Dans chaque situation où la thérapie cellulaire est envisagée, de nombreuses expérimentations fondamentales doivent être réalisées avant que des essais cliniques puissent être entrepris. Un des problèmes fondamentaux est de savoir si les cellules peuvent être obtenues à partir des patients eux-mêmes, ce qui éviterait l'utilisation de traitement immunosuppresseur. Avec les cellules de Schwann, ce problème peut être facilement résolu puisqu'il est possible d'obtenir de grandes quantités de cellules de Schwann humaines à partir de petites quantités de cellules prélevées. Désormais, ceci est également possible avec les CEO (Bianco et al., 2004) sans perte de fonction, ni de prolifération incontrôlée. C'est donc une avancée considérable pour les cliniciens qui considèrent les CEO comme le type cellulaire le plus prometteur pour améliorer la régénération des fibres nerveuses après lésion du système nerveux.

Il est toutefois illusoire de croire que des greffes de cellules engainantes suffiront à rétablir toutes les connexions nerveuses chez des patients paraplégiques ou tétraplégiques. D'autres interventions seront nécessaires, au rang desquels nous comptons un traitement immuno-modulateur et des exercices musculaires (particulièrement le maintien en activité des muscles paralysés à la suite de la lésion spinale).

Le traumatisme médullaire induit i) une inflammation qui va conduire à la formation d'une cicatrice gliale dommageable à la repousse axonale et ii) une dégénérescence axonale rapide. Il est donc important de trouver des molécules qui ont la capacité de réduire à

la fois l'inflammation et la dégénérescence. Parmi les candidats les plus prometteurs, se trouvent des neuroimmunophilines telles que la cyclosporine et le FK506 (ou Tacrolimus), deux médicaments déjà utilisés chez l'humain comme immunosuppresseurs (Gold, 2000). Il a été démontré que ces deux molécules ont une action neuroprotectrice mais que seul FK506 aide à la régénération axonale (Madsen et al., 1998; Bavetta et al., 1999; Wang and Gold, 1999; Iwasaki et al., 2002; Nottingham et al., 2002; Lang-Lazdunski, 2004). Nous nous proposons d'administrer FK506 par voie systémique (cette molécule passe sans problème la barrière hémato-encéphalique) chez les animaux paraplégiques, dès le lendemain du traumatisme et jusqu'à la greffe de cellules engainantes.

Par ailleurs, il a été observé, à la fois chez l'animal et chez l'homme, que la pratique d'exercices quotidiens sur tapis roulant avait un effet bénéfique sur la récupération de la locomotion (Wernig et al., 1998; Lankhorst et al., 2001; Thota et al., 2001; Moshonkina et al., 2002). Afin de compléter notre approche multifactorielle et séquentielle dans la réhabilitation des rats paraplégiques, nous envisageons d'inclure une séance quotidienne d'entraînement actif afin de maintenir la masse musculaire mais également de favoriser la régénération des fibres motrices et sensibles.

B. Le projet de recherche.

Dans la continuité des travaux que nous avons précédemment réalisés, nous transplanterons les cellules engainantes olfactives issues de la muqueuse nasale au niveau thoracique T10, après transection de la moelle épinière. Afin de nous rapprocher des conditions cliniques, nous utiliserons comme précédemment (Lu et al., 2002) un modèle de lésion chronique. Autrement dit, la greffe sera différée et se fera un mois après le traumatisme.

Notre étude comportera huit groupes de 10 rats. Comme cela est indiqué dans le tableau ci-dessous, nous pourrions comparer individuellement chacun des traitements mais également leur association, deux par deux ou encore lorsque les trois sont associés de manière séquentielle. L'animal sera entraîné sur l'ergomètre avant le traumatisme et poursuivra cet exercice après la transection. L'administration de FK506 se fera dès le lendemain du traumatisme et se poursuivra jusqu'à la greffe. La greffe se fera avec des cellules cultivées et préalablement transfectées avec une protéine fluorescente (GFP) afin de pouvoir distinguer *post mortem* les cellules exogènes des cellules endogènes.

Groupes	Exercice	Immunosuppresseur	COE
1) Contrôle	non	non	non
2) Exercice	oui	non	non
3) FK506	non	oui	non
4) COE	non	non	oui
5) Exercice + FK506 + COE	oui	oui	oui

Récupération comportementale

La récupération de la fonction locomotrice chez les animaux dont la moelle épinière a été lésée sera analysée au moyen de l'échelle BBB dans des conditions de champ ouvert et lors de l'escalade d'une grille inclinée à 45 degrés. Ces observations seront réalisées en aveugle, une fois par semaine pendant 15 semaines, par deux observateurs indépendants. Par ailleurs, nous visualiserons et enregistrerons avec un équipement vidéo les mouvements des pattes postérieures des animaux placés dans un « couloir » rempli d'eau (couloir de nage). Nous pourrions ainsi mesurer la récupération de la locomotion sans interférence avec les mouvements réflexes induits par la marche sur un solide.

Récupération fonctionnelle

Il s'agira d'analyser l'efficacité des CEO sur la restauration de la boucle sensori-motrice et donc de valider cette stratégie de réparation du SNC. Quatre mois après la première intervention chirurgicale, l'électrophysiologie permettra d'étudier la restauration de la métabosensibilité, de la proprioception et des efférences motrices.

Les réflexes spinaux seront étudiés dans des conditions de repos et suite à une stimulation électrique itérative fatigante du muscle et des injections dans l'environnement de substances (KCl, lactate, bradykinine, ...) connues pour augmenter la décharge des métaborécepteurs. La mise en jeu des fuseaux neuromusculaires et des organes tendineux de Golgi par des vibrations appliquées au muscle, nous permettra d'évaluer le fonctionnement de la boucle sensori-motrice. L'influence des centres corticaux sur ces réflexes spinaux sera également explorée par des stimulations électriques corticales. Cette étude sera réalisée à l'aide d'électrodes d'enregistrement placées sur les racines rachidiennes dorsales et ventrales innervant le muscle étudié et par des enregistrements intraspinaux permettant de mesurer le niveau d'excitabilité des motoneurons et des interneurons de la boucle sensori-motrice. Les caractéristiques contractiles seront analysées simultanément. Des enregistrements seront

également réalisés au niveau des nerfs et des structures respiratoires et cardiovasculaires. Ainsi, nous pourrions étudier la restauration fonctionnelle de la boucle sensori-motrice et des ajustements respiratoires et cardiovasculaires induits par la mise en jeu de la sensibilité métaboceptive qui avait été altérée par la lésion spinale.

Voies nerveuses régénérant

Cette étude sera complétée par un marquage antérograde trans-synaptique des voies nerveuses à partir de l'injection d'un traceur dans le muscle étudié. Ainsi, nous pourrions avoir des informations plus précises sur les éventuelles restaurations fonctionnelles, c'est-à-dire si elles résultent de la régénération axonale de neurones axotomisés et de reconnections avec les neurones d'origine ou s'il s'agit de la mise en jeu de voies parallèles épargnées par la lésion ou d'un remodelage fonctionnel des circuits neuronaux. L'utilisation de marqueurs fins nous permettra d'obtenir des informations sur les zones de projection centrale de ces afférences. Enfin, l'étude du phénotype et des activités enzymatiques (LDH et CS) des fibres musculaires nous donnera des informations sur le degré de réinnervation motrice et les adaptations musculaires suite à la lésion spinale.

Analyse histologique

Suite à l'étude électrophysiologique, les animaux seront perfusés et les moelles épinières collectées pour être étudiées sur le plan histologique. Nous utiliserons les marquages immuno-histochimiques classiques ainsi que la technique de microscopie électronique pour quantifier i) la repousse des fibres sérotoninergiques dans la zone de lésion de la moelle épinière ; ii) la myélinisation des axones ayant régénéré ; iii) les interactions entre cellules engainantes et axones.

Références bibliographiques

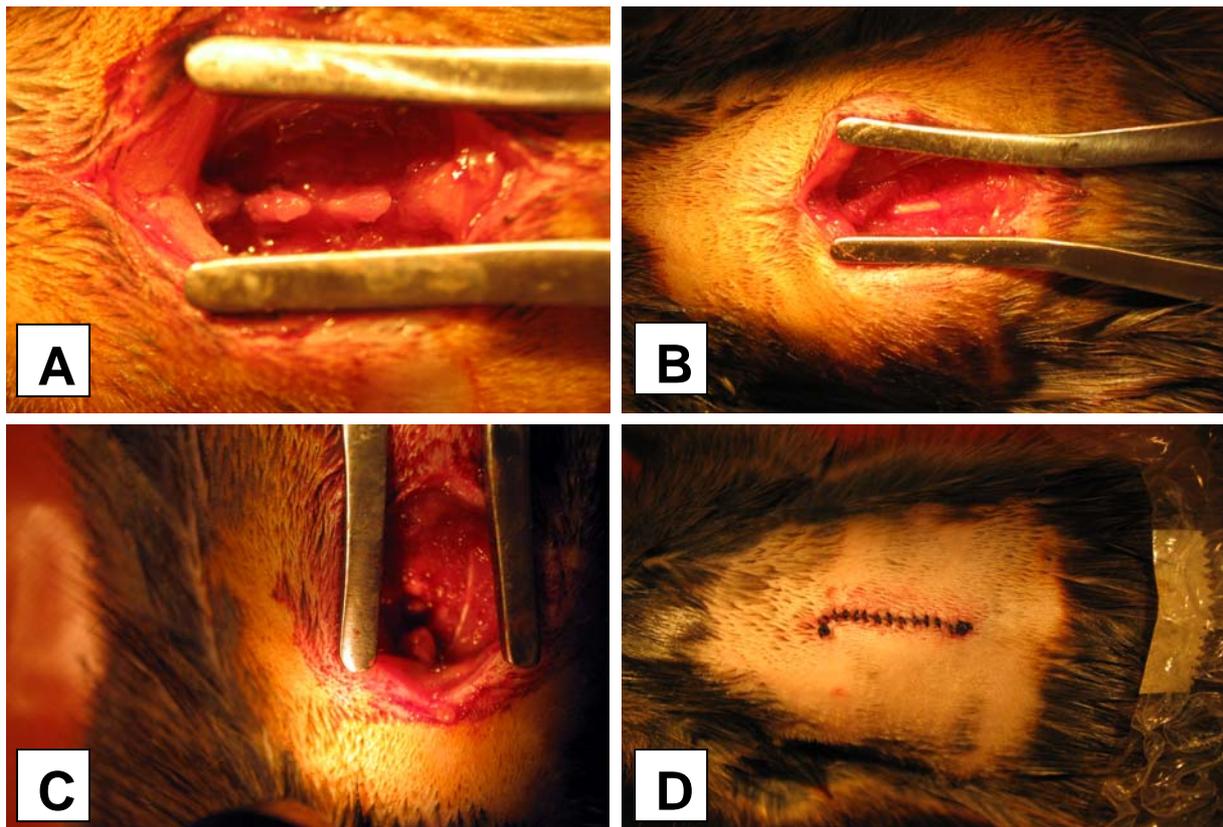
- Bavetta S, Hamlyn PJ, Burnstock G, Lieberman AR, Anderson PN (1999) The effects of FK506 on dorsal column axons following spinal cord injury in adult rats: neuroprotection and local regeneration. *Exp Neurol* 158:382-393.
- Bianco JI, Perry C, Harkin DG, Mackay-Sim A, Feron F (2004) Neurotrophin 3 promotes purification and proliferation of olfactory ensheathing cells from human nose. *Glia* 45:111-123.
- Cheng HW, Rafols JA, Goshgarian HG, Anavi Y, Tong J, McNeill TH (1997) Differential spine loss and regrowth of striatal neurons following multiple forms of deafferentation: a Golgi study. *Exp Neurol* 147:287-298.
- Doucette R (1993) Glial Cells in the Nerve Fiber Layer of the Main Olfactory Bulb of Embryonic and Adult Mammals. *Microscopy Research and Technique* 24:113-130.
- Franklin RJ, Gilson JM, Franceschini IA, Barnett SC (1996) Schwann cell-like myelination following transplantation of an olfactory bulb-ensheathing cell line into areas of demyelination in the adult CNS. *Glia* 17:217-224.

- Gold BG (2000) Neuroimmunophilin ligands: evaluation of their therapeutic potential for the treatment of neurological disorders. *Expert Opin Investig Drugs* 9:2331-2342.
- Gudino-Cabrera G, Pastor AM, de la Cruz RR, Delgado-Garcia JM, Nieto-Sampedro M (2000) Limits to the capacity of transplants of olfactory glia to promote axonal regrowth in the CNS. *Neuroreport* 11:467-471.
- Imaizumi T, Lankford KL, Waxman SG, Greer CA, Kocsis JD (1998) Transplanted olfactory ensheathing cells remyelinate and enhance axonal conduction in the demyelinated dorsal columns of the rat spinal cord. *J Neurosci* 18:6176-6185.
- Iwasaki Y, Ichikawa Y, Igarashi O, Iwamoto K, Kinoshitata M, Ikeda K (2002) Neuroprotective actions of FK506 and cyclosporin A on motor neuron survival following neonatal axotomy. *Neurol Res* 24:573-576.
- Kato T, Honmou O, Uede T, Hashi K, Kocsis JD (2000) Transplantation of human olfactory ensheathing cells elicits remyelination of demyelinated rat spinal cord. *Glia* 30:209-218.
- Kocsis JD, Akiyama Y, Radtke C (2004) Neural precursors as a cell source to repair the demyelinated spinal cord. *J Neurotrauma* 21:441-449.
- Lang-Lazdunski L (2004) About the neuroprotective effects of FK-506, l-carnitine and azathioprine on spinal cord ischemia-reperfusion injury. *Eur J Cardiothorac Surg* 25:1129-1130.
- Lankhorst AJ, ter Laak MP, van Laar TJ, van Meeteren NL, de Groot JC, Schrama LH, Hamers FP, Gispen WH (2001) Effects of enriched housing on functional recovery after spinal cord contusive injury in the adult rat. *J Neurotrauma* 18:203-215.
- Li Y, Field PM, Raisman G (1997) Repair of adult rat corticospinal tract by transplants of olfactory ensheathing cells. *Science* 277:2000-2002.
- Li Y, Field PM, Raisman G (1998a) Regeneration of adult rat corticospinal axons induced by transplanted olfactory ensheathing cells. *J Neurosci* 18:10514-10524.
- Li Y, Field PM, Raisman G (1998b) Regeneration of adult rat corticospinal axons induced by transplanted olfactory ensheathing cells. *J Neurosci* 18:10514-10524.
- Li Y, Decherchi P, Raisman G (2003a) Transplantation of olfactory ensheathing cells into spinal cord lesions restores breathing and climbing. *J Neurosci* 23:727-731.
- Li Y, Sauve Y, Li D, Lund RD, Raisman G (2003b) Transplanted olfactory ensheathing cells promote regeneration of cut adult rat optic nerve axons. *J Neurosci* 23:7783-7788.
- Lu J, Feron F, Mackay-Sim A, Waite PM (2002) Olfactory ensheathing cells promote locomotor recovery after delayed transplantation into transected spinal cord. *Brain* 125:14-21.
- Lu J, Feron F, Ho SM, Mackay-Sim A, Waite PM (2001) Transplantation of nasal olfactory tissue promotes partial recovery in paraplegic adult rats. *Brain Res* 889:344-357.
- Madsen JR, MacDonald P, Irwin N, Goldberg DE, Yao GL, Meiri KF, Rimm IJ, Stieg PE, Benowitz LI (1998) Tacrolimus (FK506) increases neuronal expression of GAP-43 and improves functional recovery after spinal cord injury in rats. *Exp Neurol* 154:673-683.
- Moshonkina T, Avelev V, Gerasimenko Y, Mathur R, Bijlani RL (2002) Treadmill training accelerates restoration of locomotion after complete spinal cord transection in the rat. *Indian J Physiol Pharmacol* 46:499-503.
- Nottingham S, Knapp P, Springer J (2002) FK506 treatment inhibits caspase-3 activation and promotes oligodendroglial survival following traumatic spinal cord injury. *Exp Neurol* 177:242-251.
- Ramon-Cueto A (2000) Olfactory ensheathing glia transplantation into the injured spinal cord. *Prog Brain Res* 128:265-272.
- Ramon-Cueto A, Nieto-Sampedro M (1994) Regeneration into the spinal cord of transected dorsal root axons is promoted by ensheathing glia transplants. *Exp Neurol* 127:232-244.
- Ramon-Cueto A, Plant GW, Avila J, Bunge MB (1998) Long-distance axonal regeneration in the transected adult rat spinal cord is promoted by olfactory ensheathing glia transplants. *J Neurosci* 18:3803-3815.
- Ramon-Cueto A, Cordero MI, Santos-Benito FF, Avila J (2000) Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia. *Neuron* 25:425-435.
- Smale KA, Doucette R, Kawaja MD (1996) Implantation of olfactory ensheathing cells in the adult rat brain following fimbria-fornix transection. *Exp Neurol* 137:225-233.
- Thota A, Carlson S, Jung R (2001) Recovery of locomotor function after treadmill training of incomplete spinal cord injured rats. *Biomed Sci Instrum* 37:63-67.
- Wang MS, Gold BG (1999) FK506 increases the regeneration of spinal cord axons in a predegenerated peripheral nerve autograft. *J Spinal Cord Med* 22:287-296.
- Wernig A, Nanassy A, Muller S (1998) Maintenance of locomotor abilities following Laufband (treadmill) therapy in para- and tetraplegic persons: follow-up studies. *Spinal Cord* 36:744-749.
- Wirth ED, 3rd, Reier PJ, Fessler RG, Thompson FJ, Uthman B, Behrman A, Beard J, Vierck CJ, Anderson DK (2001) Feasibility and safety of neural tissue transplantation in patients with syringomyelia. *J Neurotrauma* 18:911-929.
- Xu XM, Zhang SX, Li H, Aebischer P, Bunge MB (1999) Regrowth of axons into the distal spinal cord through a Schwann-cell-seeded mini-channel implanted into hemisectioned adult rat spinal cord. *Eur J Neurosci* 11:1723-1740.

AVANCEMENT DES TRAVAUX

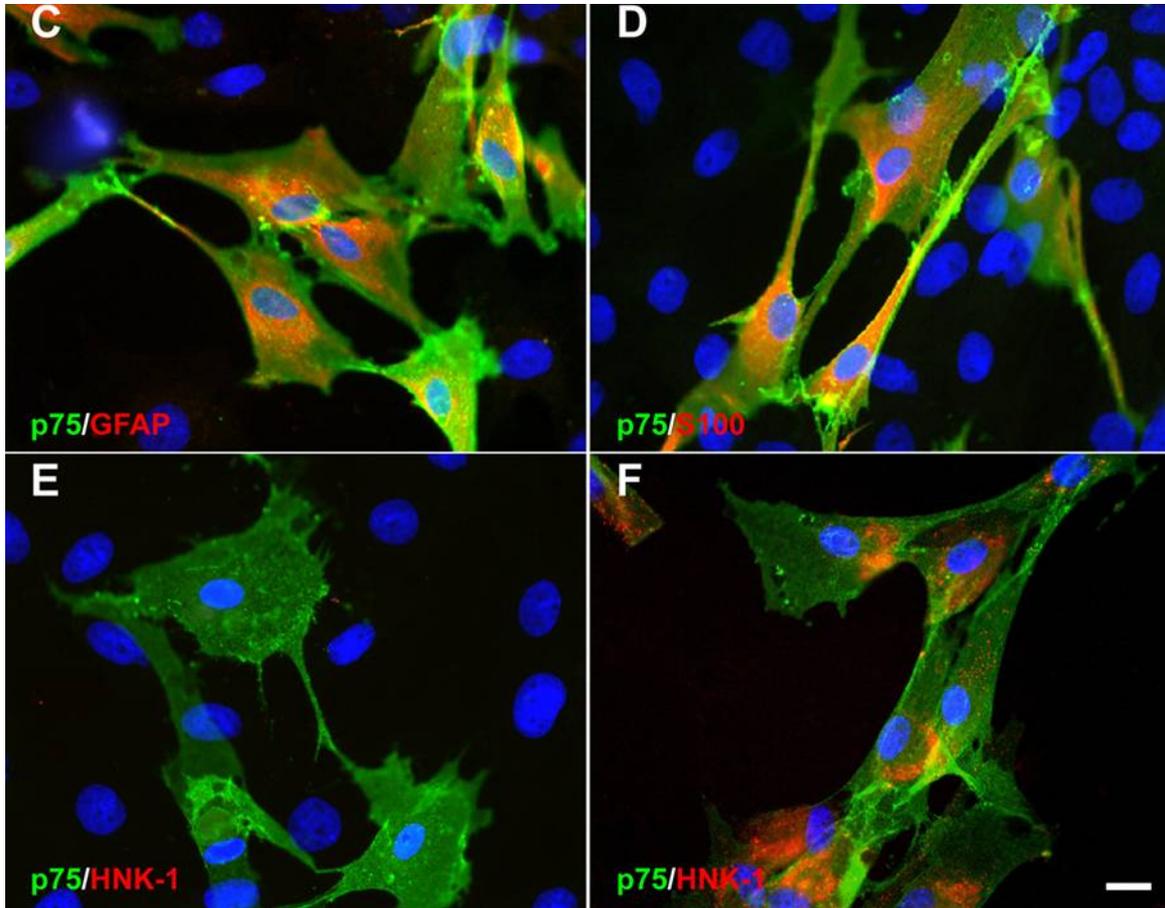
John Bianco, chercheur post-doctorant australien financé par l'ALARME, l'Association *Demain Debout et la Fondation Intermarché*, est arrivé à Marseille début novembre. En concertation avec Olivier ALLUIN, étudiant en thèse, Tanguy MARQUESTE, enseignant-chercheur, Pascal ZENATTI, responsable de l'association « Centre de recherches hyperbarie appliquées aux handicaps », de Patrick DECHERCHI et de François FERON, il a commencé à mettre en œuvre l'étude décrite ci-dessus.

Au cours de sa thèse, John BIANC a utilisé plusieurs modèles animaux de paraplégie. Comme le montre les photos ci-dessous, il maîtrise parfaitement le modèle de transection qui est utilisé dans notre étude.



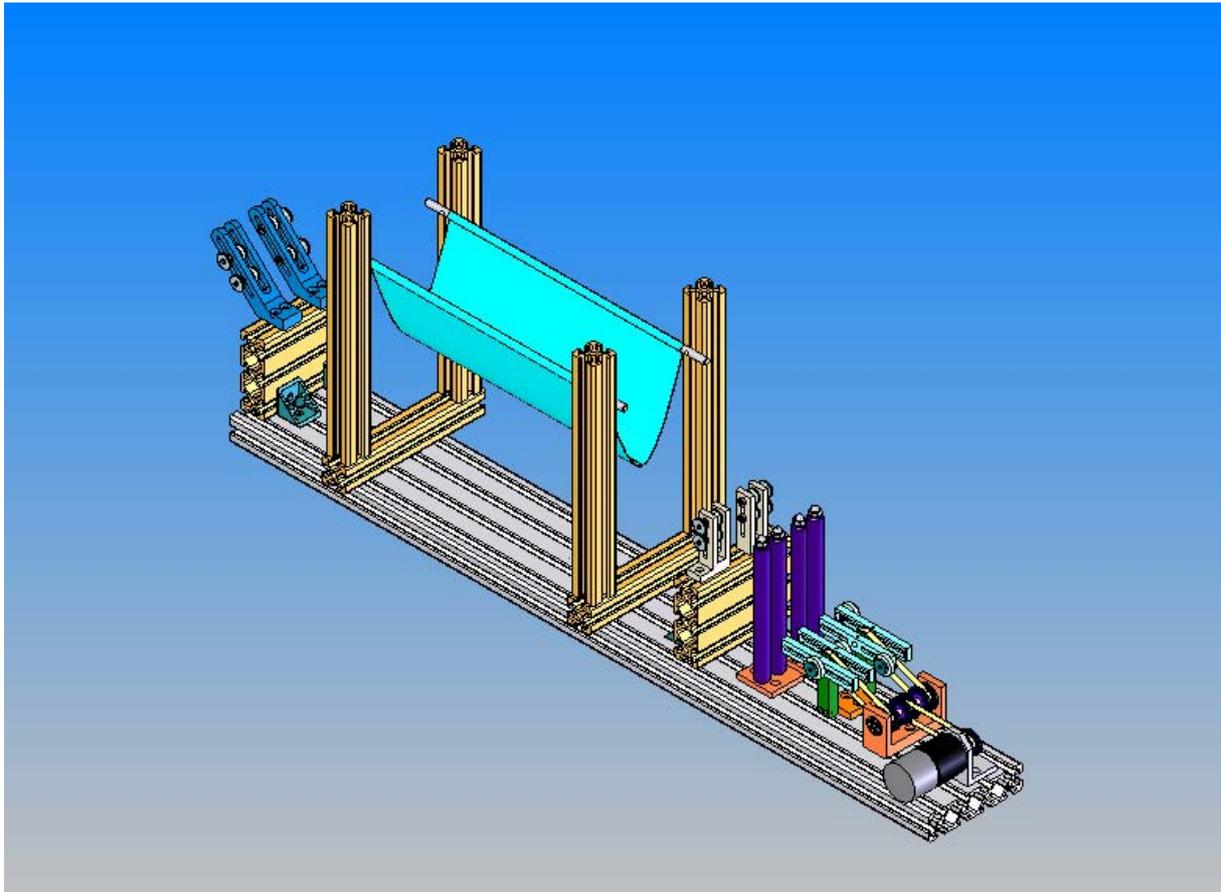
Transection de la moelle épinière. La peau et les muscles dorsaux sont incisés aux niveaux T9-T10 afin de découvrir la colonne vertébrale (A). Il est ensuite procédé à une laminectomie dans le but d'exposer la moelle épinière (B). La moelle est sectionnée au niveau T10. Une microspatule est utilisée afin de vérifier qu'aucune fibre nerveuse n'a été laissée intacte (C). Après la pose d'un gel de collagène entre les deux extrémités, les muscles dorsaux et la peau sont recousus (D).

John BIANCO est également un expert de la culture de cellules engainantes. La figure ci-dessous indique qu'il est possible de cultiver de manière très pure les cellules engainantes olfactives et de les distinguer, grâce à des anticorps, des cellules de Schwann.



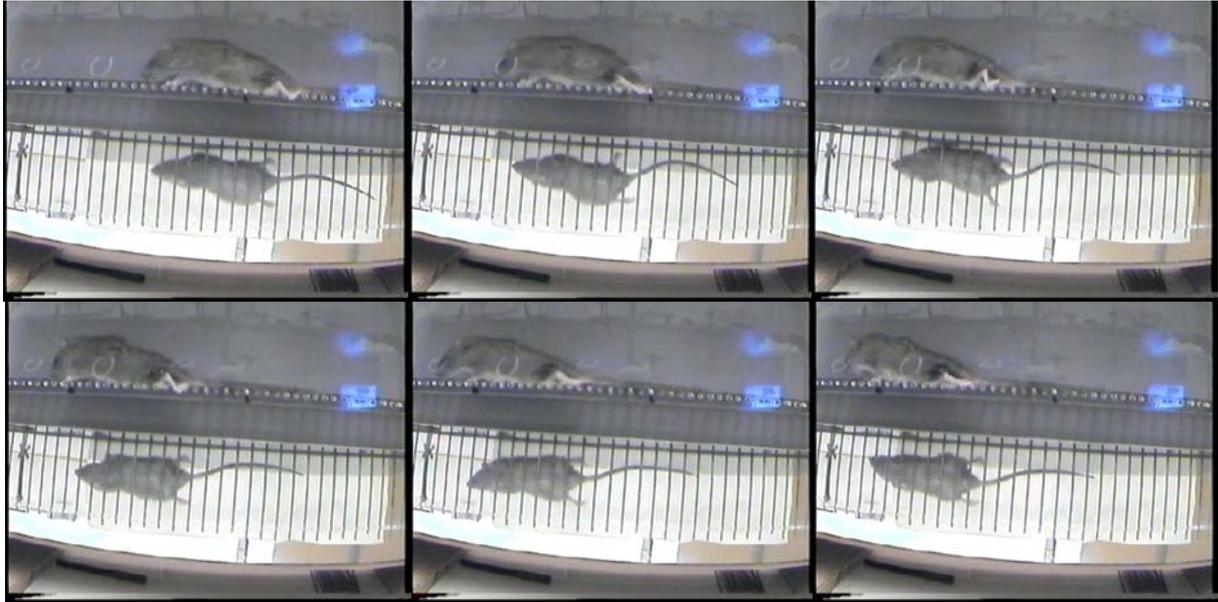
Culture comparée de cellules engainantes et de cellules de Schwann. Tout comme les cellules de Schwann, les cellules engainantes expriment les antigènes p75, GFAP (C) et S100 (D). En revanche, les cellules de Schwann sont immuno-positives pour HNK1 (F) mais pas les cellules engainantes (E).

Avant de mettre en œuvre les procédures de transection et ensuite les diverses stratégies de réparation, nous avons dû mettre au point l'ergomètre qui permettra d'entraîner les rats et nous assurer que nous disposions et que nous maîtrisions tous les instruments de mesure de la récupération de la locomotion. Le premier ergomètre (voir schéma ci-dessous) sera disponible mi-janvier.

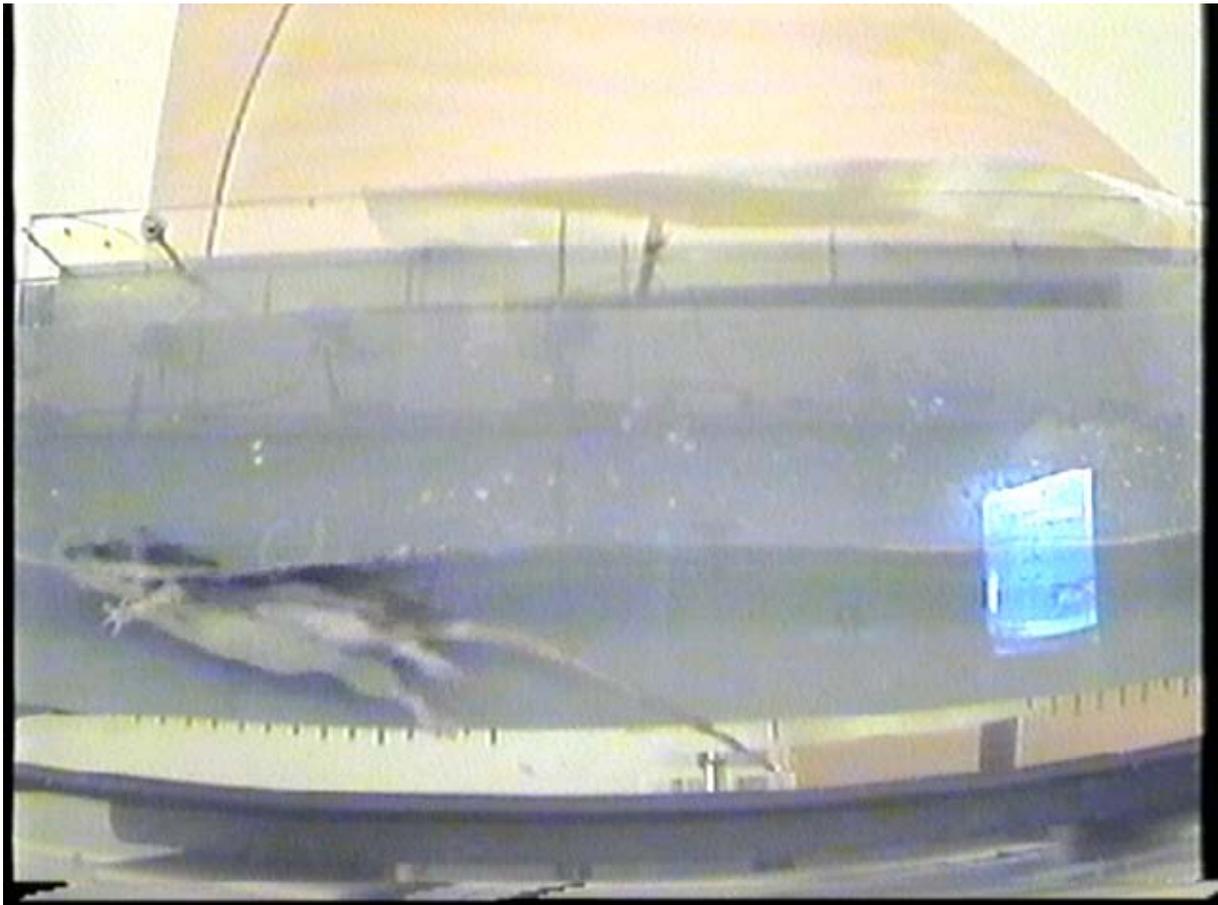


Ergomètre pour rats paraplégiques mis au point par Pascal ZENATTI. L'animal ayant subi un traumatisme de la moelle épinière est posé sur la brassière de contention (bleu azur) et ses pattes arrière sont attachées à des filins, eux-mêmes reliés par l'intermédiaire d'un système de poulie à un moteur (gris-noir). Chaque animal sera « entraîné » durant 30 minutes, cinq jours par semaine, pendant 16 semaines.

Parallèlement, Olivier ALLUIN et Tanguy MARQUESTE ont mis au point les instruments qui permettront d'évaluer la récupération motrice des animaux. Les figures ci-dessous décrivent les grilles inclinées et le couloir de nage qui seront utilisées. Les mouvements des hanches, des genoux et des chevilles seront visualisés grâce à une caméra reliée à un système informatique d'analyse du mouvement (système SimiMotion[®]). Celui-ci permet de digitaliser des images afin de projeter sur des axes des cibles contrastées, mais également de les suivre sur des images successives (film) par exemple, des points de couleurs vifs placés sur les articulations des membres inférieurs de l'animal. Par la suite, le système permet à partir de ces points de couleurs, d'obtenir la variation des angles articulaires des membres au cours d'une séquence de pas, et donc nous permet d'évaluer la restauration du patron de locomotion.



Evaluation de la locomotion sur grille. Grâce à un miroir placé sous la grille, il est possible de mesurer la récupération motrice des animaux paraplégiques (calcul du taux de réussite, i.e. le nombre de fois où l'animal réussit à attraper un des barreaux de la grille avec les membres inférieurs) après greffe de cellules engainantes et/ou utilisation l'ergomètre. Les animaux seront testés sur une grille horizontale et sur une grille inclinée à 45°.



Evaluation de la nage chez un rat paraplégique. Toutes les 4 semaines, la récupération motrice des rats paraplégiques sera mesurée grâce à un test de natation dans une piscine en verre. La nage de l'animal sera filmée et analysée avec le système SimiMotion® afin d'évaluer la restauration du patron de nage des membres inférieurs.