

PROJET NEUROSCHOOL - AtmosR

« Traitements pharmacologiques des atteintes respiratoires du Syndrome d'Ondine »

CONTEXTE :

Le syndrome d'Ondine est une maladie génétique rare et mortelle, affectant les principales fonctions du système nerveux autonome. Le symptôme principal des patients souffrant de cette maladie est une sévère hypoventilation nocturne nécessitant une assistance respiratoire, et une respiration diurne parfois insuffisante, entraînant un risque vital permanent. Le syndrome d'Ondine est provoqué par une mutation hétérozygote du gène PHOX2B, le plus souvent caractérisée par une expansion d'alanine (de +4 à +13 alanines).

La reproduction de la mutation humaine du syndrome d'Ondine chez la souris par une approche knock-in, représente un outil puissant pour la compréhension des mécanismes de la maladie et la recherche d'une solution thérapeutique. Des souris portant la mutation Phox2b-27Ala (+7 alanines) ont été générées. Elles ont permis de déterminer que d'un point de vue mécanistique, l'atteinte ventilatoire est notamment due à l'altération de la réponse à l'hypercapnie, c'est-à-dire la capacité à augmenter la fréquence respiratoire en présence d'une forte concentration de CO₂. Il a notamment été mis en évidence que plusieurs groupes de neurones (dont les neurones du Noyau Rétro Trapézoïde, ou RTN) normalement impliqués dans le contrôle central de la respiration, sont partiellement absents ou détériorés chez les animaux mutants.

Si ces souris ont permis de mieux comprendre le syndrome d'Ondine aux niveaux physiologique, cellulaire et moléculaire, leur phénotype sévère respiratoire empêche leur utilisation dans le cadre de test de solution thérapeutique puisque ces mutants décèdent tous dans les heures suivant la naissance. Dans le but de développer un médicament pour le syndrome d'Ondine, AtmosR a développé un nouveau modèle de souris mutantes, portant la mutation Phox2b-25Ala. La corrélation entre la taille de l'expansion d'alanine et la sévérité des symptômes respiratoires qui existe chez les patients se retrouve chez l'animal, puisque seulement une partie de ces mutants décèdent à la naissance, laissant la possibilité de tester l'efficacité de solutions thérapeutiques sur la ventilation.

OBJECTIF :

AtmosR souhaite renforcer le programme de collaboration déjà en place avec le Dr Jean-Christophe Roux et son équipe (UMR 1251) en vue d'étudier les effets de molécules préalablement identifiées par AtmosR sur la restauration de la réponse à l'hypercapnie chez les souris porteuses de la mutation Phox2b-25Ala *in vivo*. Le programme consiste également en l'analyse des effets et des mécanismes d'action des molécules candidates d'AtmosR dans ce modèle murin, dans l'objectif d'identifier un candidat médicament pour la clinique.

PROGRAMME :

Ce projet sera réalisé sur le modèle génétique murin PGK^{cre};Phox2b^{25Ala}. Ces souris sont en cours de caractérisation du point de vue de leur phénotype respiratoire lors des premiers jours de vie ainsi que de leur survie. Le programme consiste dans un premier temps en la finalisation de cette caractérisation, notamment celle de la réponse à l'hypercapnie chez les animaux mutants survivant au-delà de la première semaine de vie, et dans un second temps en l'étude de l'effet des molécules candidates d'AtmosR sur cette réponse à l'hypercapnie.

Caractérisation de la réponse à l'hypercapnie chez les souris Phox2b^{25Ala}.

Le phénotype respiratoire des souris PGK^{cre};Phox2b^{25Ala} sera analysé par pléthysmographie sur corps entier, et notamment lors de challenges hypercapniques similaires à ceux décrits dans la littérature dans le contexte

du syndrome d'Ondine (alternance entre air ambiant et un mélange contenant 8% de CO₂ - voir Ramanantsoa et al. Journal of Neuroscience, 2011). La réponse à l'hypercapnie sera analysée à différents temps : P1-3, P7, P14, P21 et P28. Cela permettra de déterminer si l'absence de réponse à l'hypercapnie observée à P0 se maintient dans le temps chez les animaux mutants, ou si des compensations totales ou partielles se mettent en place. Ces expériences permettront de déterminer la fenêtre d'intervention pour la deuxième partie du projet concernant les interventions thérapeutiques.

Ces expériences seront réalisées sur les animaux PGK^{cre};Phox2b^{25Ala} ainsi que sur les contrôles intra-portée (animaux PGK^{cre}).

Analyse du potentiel thérapeutique des molécules ATS:

Deux des molécules candidates identifiées et développées par AtmosR seront testées dans le modèle PGK^{cre};Phox2b^{25Ala} afin d'évaluer leur capacité à restaurer une réponse hypercapnique normale, ainsi que leur impact sur la survie des animaux. Les composés présentant les meilleurs effets sur ces paramètres seront ensuite étudiés en termes de mécanismes d'action. Ces composés sont issus de la recherche interne d'AtmosR et ont déjà été caractérisés en termes de pharmacologie générale, mais aussi en termes d'intérêt dans le cadre du syndrome d'Ondine (in vitro et/ou ex vivo sur des tronc cérébraux d'animaux mutants).

- Effet des composés ATS sur la réponse à l'hypercapnie :

La capacité de deux composés ATS à restaurer la réponse à l'hypercapnie chez les souris mutantes PGK^{cre};Phox2b^{25Ala} sera évaluée par pléthysmographie à l'âge déterminé comme optimal lors de la caractérisation longitudinale du phénotype respiratoire des animaux. Selon les résultats, les composés pourront être testés d'abord en aigu (à un âge précis ou plusieurs âges, pour évaluer la durée de l'effet du composé testé) puis de manière chronique.

- Effet des composés ATS sur la survie :

Les composés ATS présentant un effet sur la réponse à l'hypercapnie seront évalués sur leur capacité à améliorer la survie des animaux mutants. Cette étude s'effectuera préférentiellement sur des portées issues du croisement de souris homozygotes PGK^{cre} et Phox2b^{25Ala} afin d'obtenir uniquement des animaux mutants chez qui seront comparés les groupes avec drogue ou avec véhicule. Ces résultats seront comparés chez les animaux mutants ainsi que sur des animaux contrôles intra-portée, après traitement par les molécules candidates ou par le véhicule seul.

- Mécanismes moléculaires des composés ATS :

Pour finir, les effets cellulaires et moléculaires des composés présentant les meilleurs résultats seront évalués. Pour cela, plusieurs paramètres seront analysés chez les animaux mutants, notamment au niveau de cerveau et du tronc cérébral : régulation de l'expression de gènes d'intérêt (PHOX2B et gènes cibles des molécules ATS) ; évaluation de l'inflammation ; pharmacocinétique et pharmacodynamique des composés ; signalisation sérotoninergique... Ces résultats seront comparés chez les animaux mutants ainsi que sur des animaux contrôles intra-portée, après traitement par les molécules candidates ou par le véhicule seul.