

**DIFFERENCIATION, PROTECTION ET REGENERATION
DES CELLULES CILIEES ET DES NEURONES AUDITIFS DE MAMMIFERES**

par M^{me} le D^r Brigitte MALGRANGE (U.Lg)

Les surdités de perception se caractérisent, pour la plupart, par une atteinte de l'oreille interne, plus particulièrement des cellules ciliées et des neurones auditifs. A l'heure actuelle, aucun traitement permettant de restaurer la fonction auditive ne peut être proposé. En vue de restaurer la fonction auditive après une lésion de l'oreille interne, deux stratégies peuvent être envisagées : la régénération et la protection des cellules ciliées et des neurones du ganglion spiral.

La régénération des cellules ciliées de la portion auditive de l'oreille interne semble, dans le cas des mammifères, limitée à la période du développement. L'ambition des travaux exposés dans la première partie de ce travail est de restaurer la fonction auditive par l'induction d'une régénération des cellules de l'organe de Corti. Celle-ci n'est possible que si des progéniteurs de cellules ciliées sont identifiés au sein de l'organe de Corti. Ainsi, dans cette partie de notre travail nous avons suivi en parallèle deux stratégies : d'une part, nous basant sur la découverte de cellules souches neurales dans un modèle de culture en suspension, nous avons étudié la différenciation cellulaire dans des cultures en suspension d'organe de Corti d'animaux nouveau-nés. Nous avons

ainsi montré que dans ces conditions de culture, nous pouvions obtenir la formation de petites sphères formées essentiellement de cellules nestine positives, marqueur de cellules immatures. Nous avons également recherché si ces cellules immatures, qui prolifèrent, pouvaient générer des cellules ciliées. Nous avons ainsi montré que certaines cellules ayant proliféré exprimaient la myosine VIIA, marqueur spécifique de cellules ciliées. Nous avons également montré que des cellules nestine-positives sont présentes dans des organes de Corti d'animaux P15, que l'on peut considérer comme adultes du point de vue de la maturation de l'organe de Corti ouvrant ainsi des perspectives thérapeutiques.

Parallèlement, comme l'organisation tridimensionnelle et la composition cellulaire de l'organe de Corti sont très complexes, nous avons recherché les progéniteurs des cellules ciliées dans des cultures d'organes de Corti d'animaux embryonnaires prélevés d'une seule pièce et en utilisant un modèle expérimental dans lequel est induite la production de cellules ciliées surnuméraires. Ainsi, nous avons tenté d'identifier des progéniteurs dans des cultures d'explants d'organes de Corti d'embryons de rat de dix-neuf jours dans lesquelles, après cinq jours de culture apparaissent spontanément des cellules ciliées et des cellules de Deiters surnuméraires sur une longueur correspondant à 10% de la longueur totale de chaque explant. Ces cellules surnuméraires apparaissent sans prolifération préalable, par conséquent vraisemblablement via une trans-différenciation directe de cellules présentes dans l'environnement proche des cellules ciliées. A l'aide de techniques de microscopie électronique et d'immunofluorescence, nous avons montré que les cellules de Hensen avaient la capacité de se différencier en cellules ciliées et en cellules de Deiters, un autre type de cellules de soutien. Ces cellules, pour autant qu'elles aient les mêmes propriétés dans l'oreille humaine, pourraient être recrutées pour restaurer la fonction auditive chez l'individu déficient auditif.

L'objectif de la deuxième partie de ce travail est de prévenir ou de bloquer la mort cellulaire survenant au cours des surdités acquises. Ainsi notre travail a étudié le rôle protecteur

- 1/ des facteurs trophiques,
- 2/ des inhibiteurs d'enzyme et
- 3/ de la substance P, un neuropeptide présent dans le système efférent latéral.

Nous avons ainsi montré que :

- la privation en facteurs trophiques des CC de cobayes adultes cultivées en explant et des neurones de ganglions spiraux en cultures dissociées induit leur mort par un mécanisme de type apoptotique. Cette dégénérescence peut être prévenue en présence de facteurs de croissance tels que le GDNF, le TGF β 1, l'IGF-1, le FGF1 et l'EGF pour les CC et en présence de BDNF et NT-3 pour les neurones de ganglions spiraux ;
- la destruction spécifique des CC in vivo induit une mort neuronale secondaire qui peut être prévenue par l'administration conjointe du BDNF ou de la NT-3 :

- les inhibiteurs de caspases ou de calpaïnes protègent différemment les cellules (les CC et les neurones) en fonction du type d'agression. La mort cellulaire induite par le cisplatine est diminuée en présence d'inhibiteurs de caspases, la mort par privation en facteurs trophiques est prévenue en présence d'inhibiteurs de caspases ou de calpaïnes, tandis que la mort cellulaire induite par le cisplatine est sensible aux seuls inhibiteurs de caspases ;
- le cisplatine induit la génération de ROS dans des cultures d'organes de Corti de rats néonataux et l'administration de molécules anti-oxydantes protège contre cette mort cellulaire ;
- la substance P présente au niveau du système efférent latéral a un rôle neuroprotecteur. Elle prévient la mort des neurones de ganglions spiraux en culture dissociée induite par la privation en facteurs trophiques par un mécanisme intracellulaire impliquant l'activation de la voie des MAP kinases via la PKC et le [Ca²⁺].

Cependant, à l'heure actuelle, l'applicabilité de ces traitements de l'homme reste extrêmement difficile pour plusieurs raisons parmi lesquelles une inadéquation du modèle animal ou de la voie d'administration, l'existence d'une fenêtre thérapeutique irréalisable avec un prétraitement par la molécule potentiellement otoprotectrice et surtout le fait que toutes les études que nous avons décrites sont concentrées sur le blocage l'un seul type ou mécanisme de mort cellulaire laissant la possibilité d'une mort cellulaire alternative. Une des possibilités pour résoudre ce problème serait d'adopter une stratégie de traitement utilisant plusieurs molécules otoprotectrices agissant sur des mécanismes d'action intracellulaires différents.

(Applaudissements)

*
* *