

**« Recherche expérimentale et Mort subite du nourrisson : Gène Necdin, Sérotonine et Déficits respiratoires »  
ou « Des souris et des mômes... » Gérard Hilaire**

En quoi la recherche chez l'animal peut-elle contribuer à améliorer la compréhension de la MSN ?  
Pour y répondre, Gérard Hilaire évoque les travaux de 3 équipes de chercheurs, celles dirigées par :  
- lui-même, Gérard Hilaire, CNRS « mp3-respiration », Marseille : contrôle nerveux de la respiration  
- Françoise Muscatelli, INSERM, INMED, Marseille : génétique  
- Jorge Gallego, INSERM, Hôpital Robert Debré, Paris : physiologie

**1) Les questions abordées par l'équipe mp3-respiration : pourquoi étudier la respiration ?**

**mp<sup>3</sup> - respiration**  
maturation plasticity  
physiology pathology

« mp3-respiration » : un clin d'œil aux « jeunes » chercheurs, m pour maturation, 3xp pour plasticité, physiologie et pathologie

**La « respiration » est une fonction vitale :** « sans respiration, pas d'oxygène, pas de vie »  
C'est quelque chose d'automatique, apparemment simple, mais en fait c'est très complexe..., avec :  
- deux systèmes, d'une part la « pompe respiratoire » qui grâce à environ 100 muscles différents provoque l'entrée d'air dans les poumons et permet l'oxygénation du sang au niveau pulmonaire; d'autre part les muscles des voies aériennes supérieures qui modulent le flux d'air. Tous ces muscles qui doivent fonctionner de façon coordonnée ne se contractent pas spontanément (à la différence du cœur), mais sont commandés par :  
- un réseau de cellules nerveuses (ou réseau nerveux respiratoire) qui est situé dans le tronc cérébral et élabore la commande rythmique (les ordres pour ces muscles), imposant le rythme des mouvements de la cage thoracique ;  
- la « pompe cardiaque » permet la distribution du sang oxygéné au niveau pulmonaire à tout l'organisme, y compris au système nerveux central (SNC) ; comme la « pompe respiratoire », la « pompe cardiaque » est indispensable à la vie, et on parle donc souvent de fonction « cardio-respiratoire »

**Dès la naissance, le bébé doit pouvoir respirer : « maturation »**

- Le réseau nerveux respiratoire commence à fonctionner pendant la grossesse, bien avant la naissance : il y a des mouvements respiratoires in utero, qui ne servent encore à rien, mais le réseau est déjà capable de fonctionner  
- on étudie la maturation de ce réseau nerveux respiratoire, et le rôle des facteurs génétiques et environnementaux qui permettent ou qui entravent cette maturation.

**Le bébé doit, dès la naissance, adapter en permanence sa respiration**

**« plasticité, physiologie, pathologie »**

A la naissance, le bébé doit non seulement être capable de fournir ces mouvements rythmiques, mais en plus il doit pouvoir les adapter en permanence à ce qu'il fait (cris, pleurs, déglutition...).

Donc le réseau nerveux respiratoire doit s'adapter aux autres fonctions, ainsi qu'aux modifications  
- de l'environnement du bébé (température, oxygène, gaz carbonique, etc.)  
- et de son comportement (prise de biberon, émotions, pleurs, etc.).

Si le rythme respiratoire n'est pas normal et/ou si ces régulations fonctionnent mal, des situations pathologiques se mettent en place à cause de la mauvaise oxygénation du sang

L'équipe mp3-respiration étudie le rôle des facteurs génétiques et environnementaux dans ces régulations.

## 2) Les approches expérimentales de l'équipe : comment étudier la respiration ?

La souris est un bon modèle animal, étudié en laboratoire du stade fœtal au stade adulte, et plus âgé... (par ex : maladie d'Alzheimer). On peut étudier des souris de Souches normales, ou de Souches transgéniques, modifiées pour certaines caractéristiques.

On met en place des approches **in vivo** (chez l'animal vivant), et des approches **in vitro** (sur des tissus isolés en laboratoire)

### Etudes in vivo :

Chez la souris bébé et chez la souris adulte.

On place une ou plusieurs souris normales non anesthésiées dans une chambre étanche où l'air est renouvelé en permanence. Des capteurs détectent les mouvements de la cage thoracique des souris. Il est possible d'enregistrer ainsi l'activité respiratoire en continu de 4 ou 8 souris en même temps.

On observe que :

- la fréquence et l'amplitude des mouvements respiratoires sont très variables à la naissance et deviennent stables avec l'âge
- chez le prématuré, après césarienne sous anesthésie à 18j de gestation (soit 80% du terme, la gestation d'une souris durant 20 jours) : l'activité respiratoire existe déjà ; elle est très variable, très irrégulière avec parfois de longues apnées. Le réseau nerveux respiratoire est donc déjà fonctionnel avant même la naissance.
- à 16j de gestation (75% du terme), l'activité respiratoire est limitée à des gasps, elle est incompatible avec la vie.

On peut aussi, in vivo, étudier l'adaptation respiratoire selon l'environnement où se trouve l'animal :

- au bruit : la peur lui fait modifier son rythme respiratoire
- à la modification de la concentration en oxygène ( $O_2$ ). Quand le mélange gazeux s'appauvrit en  $O_2$ , en passant de 21% d'  $O_2$  (air normal) à 10% d' $O_2$  :
  - à J8 : la fréquence augmente un peu, et surtout l'amplitude augmente
  - à J3- J5 : l'adaptation est moindre, ici c'est surtout la fréquence qui augmente
  - préterme : seul le rythme s'accélère

### Etudes in vitro :

Un premier article sur le sujet a été publié en 1984 par Suzue (Japon), avec des bébés rats. On prend des animaux qu'on anesthésie pour prélever le tronc cérébral, que l'on place dans une chambre de survie in vitro, et on enregistre l'activité du nerf qui normalement innerve le principal muscle de la pompe respiratoire, le diaphragme. On voit des décharges nerveuses rythmiques indiquant que le réseau nerveux respiratoire isolé in vitro reste fonctionnel.

Si on garde le diaphragme solidaire du tronc cérébral avec les connexions nerveuses, on observe des contractions, et si on garde la cage thoracique, on va voir qu'il y a des mouvements rythmiques. Donc, dans le tronc cérébral isolé in vitro, le réseau nerveux respiratoire continue à élaborer sa commande nerveuse.

Cette approche technique a été adaptée du nouveau-né au fœtus de rat, puis au nouveau-né de souris et finalement au fœtus de souris par l'équipe marseillaise.

On peut placer une micro-électrode dans le réseau nerveux, qui enregistre l'activité d'un neurone et un seul (cellule nerveuse) pour voir comment fonctionne ce réseau, c'est du fondamental.

### Etudes de pharmacologie

In vivo : en injectant un médicament pour voir comment se modifie la respiration... mais on ne peut pas en connaître le mécanisme exact, à quel niveau il agit.

In vitro : si on ajoute un médicament dans le milieu de survie, on sait qu'il diffuse dans le tronc cérébral et donc on agit sur les centres respiratoires. On peut savoir si c'est une action centrale et non périphérique.

Par exemple : on peut ajouter au milieu de survie de la sérotonine, qui est un neuromédiateur : la fréquence des activités nerveuses respiratoires augmente, l'amplitude baisse un peu. La sérotonine a modifié l'activité centrale.

**Souris transgéniques** : on leur a modifié 1 gène, pour comprendre comment ce gène agit sur l'activité du réseau, sur sa maturation...Exemple : on peut supprimer le gène **Necdin** et **étudier la respiration des Souris déficientes pour le gène Necdin**, avec des approches in vivo et in vitro. Chez ces souris, le rythme respiratoire est anormalement irrégulier avec des pauses respiratoires révélant que le gène **Necdin** joue un rôle dans la maturation du réseau nerveux respiratoire.

### 3) Recherche fondamentale, Naître & Vivre et Mort Subite du Nourrisson

« **Une longue histoire** », commencée il y a 20 ans, lors de la première réunion « grand public » organisée par N&V à Saint Denis.

Gérard Hilaire était venu spontanément y présenter son hypothèse de recherche:

**la sérotonine jouerait un rôle dans la Mort Subite du Nourrisson...**

Il a par la suite reçu quelques soutiens financiers, un prix de recherche « N&V » sur la MSN...

Récemment, en 2008, une aide financière pour l'organisation d'une **session spécifique Mort Subite du Nourrisson** lors d'un congrès international sur le contrôle respiratoire « International Symposium on Respiratory Control » à Saint-Maximin en Provence, où sont venus une centaine des meilleurs chercheurs sur le contrôle respiratoire. Dans cette session, 5 chercheurs ont présenté des travaux sur la MSN.

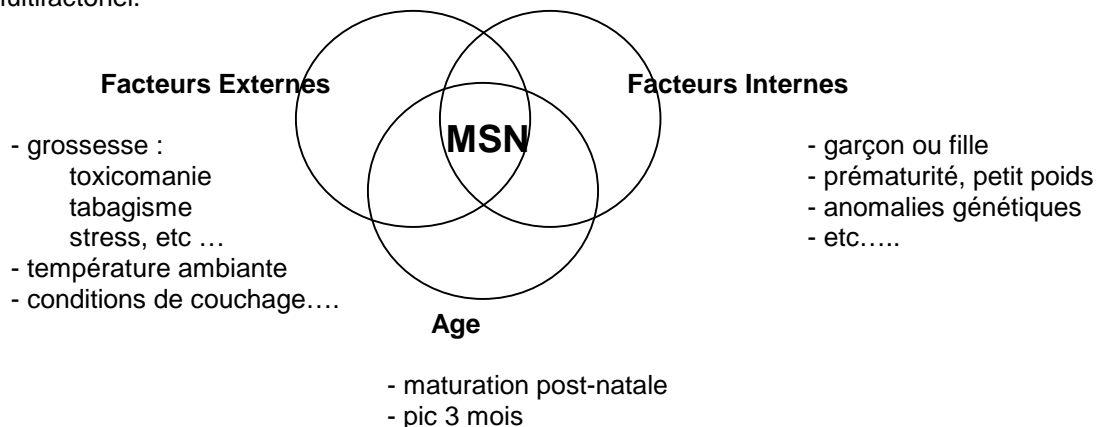
Suivi d'une publication où Naître et Vivre est remerciée :

**Paterson DS, Hilaire G, Weese-Mayer DE. Medullary serotonin defects and respiratory dysfunction in sudden infant death syndrome. *Respir Physiol Neurobiol* 2009;168:133-43.**

#### Les publications en lien avec la MSN

Quand on cherche sur une banque de données scientifiques comme « Pubmed », on trouve énormément de publications.

En effet, on peut aborder la question par de multiples pistes, sur le principe d'un événement multifactoriel.



Ainsi, sur Pubmed, qui regroupe les revues internationales avec comité de lecture, on trouve :

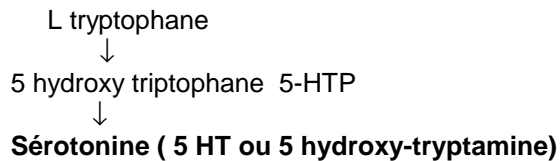
- **9423** publications sur Mort Subite du Nourrisson = SIDS (en comparaison : 79 962 sur VIH et SIDA)
- ces articles sur la MSN proposent des centaines d'hypothèses pour expliquer la Mort Subite du Nourrisson dont de nombreuses font appel à des dysfonctionnements
  - respiratoires (500 références ) ou cardiovasculaires (1000)
  - du système à sérotonine (105 références),
  - du système respiratoire (666 références),
  - et/ou du système cardiovasculaire (980 références).....

#### Les neurones à sérotonine

- se trouvent sur la ligne médiane du tronc cérébral (on peut les visualiser avec des marqueurs)
- fabriquent de la sérotonine
- envoient des filaments vers les neurones respiratoires+vers les neurones du centre cardio-vasculaire
- sont donc connectés aux neurones respiratoires
- ils agissent sur la pompe respiratoire (et sur la pompe cardiaque)
- donc ils ont un rôle sur l'oxygénation du sang et du cerveau

#### La Sérotonine 5HT

Sa voie de synthèse est connue : les neurones à sérotonine captent un acide aminé, le tryptophane, dans le milieu extra-cellulaire et le transforment grâce à des enzymes



La sérotonine joue un rôle dans la modulation de très nombreuses fonctions nerveuses : maturation du SNC, humeur, anxiété, dépression, appétit, déglutition, prise alimentaire, régulation thermique, régulation cardiaque, sommeil, activité locomotrice.....

Des anomalies du système de la sérotonine altèrent donc de nombreuses fonctions, et même l'oxygénation du cerveau donc la production de sérotonine elle-même.

D'où l'intérêt de rechercher ce qui peut altérer le système à sérotonine, dans chacune de ses étapes

#### **4) Travaux publiés: Gène Necdin, Sérotonine et Troubles Respiratoires**

##### **Gène Necdin et Syndrome de Prader-Willi**

travaux en commun depuis 4-5 ans avec Françoise Muscatelli et son équipe de recherche(génétique), des médecins du centre de référence PWS et des hôpitaux marseillais, et l'équipe mp3-respiration ( maturation).

F.Muscatelli avait créé une souche de souris mutantes pour le gène Necdin, c'est un bon modèle pour le syndrome de Prader-Willi.

Le syndrome de Prader-Willi est une maladie rare (1/20 000)

qui implique plusieurs gènes (4 ou 5), dont 1 est le gène Necdin

Ses symptômes sont complexes, dont:

- une atonie dès la naissance, avec des difficultés à s'alimenter, à tenir sa tête
- puis en grandissant, apparaît une hyperphagie, et une obésité
- chez ces adolescents obèses, il y a des arrêts respiratoires fréquents (rythme anormal),
- avec peu de réponses respiratoires à O<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub> (régulation anormale),

Quelques travaux en commun ont permis d'expliquer que la sérotonine exerce une certaine modulation du rythme respiratoire.

**Zanella S, Watrin F, Mebarek S, Marly F, Roussel M, Gire C, Diene G, Tauber M, Muscatelli F, Hilaire G. Necdin plays a role in serotonergic modulation of the mouse respiratory network: implication for Prader-Willy syndrome. The journal of neuroscience 2008;28(7):1745-1755.**

**Chez un nouveau-né humain** pour qui le diagnostic de PW a été fait à J2 par génotypage devant une grande hypotonie néo-natale, les enregistrements respiratoires montrent des apnées plus fréquentes que chez le nouveau-né normal : donc, les apnées du PW sont présentes dès la naissance, avant que l'obésité ne se développe, elles ne sont donc pas secondaires à l'obésité comme on le pensait.

##### **Chez l'animal, in vivo :**

Chez le nouveau-né de souris rendues déficientes pour le gène Necdin, on a constaté

- des apnées plus fréquentes (parfois 250 apnées/heure) mais avec une très forte variabilité d'un animal à l'autre
- une forte mortalité

Chez une souris d'1 mois (équivalent= adolescent), on constate aussi

- un grand nombre d'apnées, de même avec une très forte variabilité.
  - une mauvaise réponse à l'hypoxie ou à l'excès de CO<sub>2</sub> : dans une boîte étanche, si on met les souris en hypoxie (moins d'O<sub>2</sub>) : elles ventilent moins que les souris normales
- Est-ce que ces anomalies sont d'origine nerveuse centrale ou d'origine périphérique ?

**On passe alors aux expériences in vitro :** avec un tronc cérébral totalement isolé

- de souris normale : rythme très régulier
  - de souris mutante pour le gène Necdin : rythme très irrégulier avec des pauses,
  - de plus, le réseau respiratoire isolé répond peu au manque d'O<sub>2</sub> et à l'excès de CO<sub>2</sub>
- Donc, dès la naissance on a des anomalies dans la genèse du rythme et dans la régulation.

Si on rajoute de la sérotonine au milieu de survie :

- chez la souris normale : la fréquence augmente
- chez la souris mutante : la fréquence ralentit, donc la sérotonine n'a pas un effet normal chez le mutant

On peut aussi apprécier des anomalies par l'histologie : on compte les neurones à sérotonine :

- le nombre de neurones à sérotonine est identique chez le normal et chez le mutant
- mais les neurones à sérotonine fonctionnent de façon anormale chez le mutant : il y a une anomalie du métabolisme de la sérotonine chez les mutantes (on ne sait pas encore à quel niveau : synthèse, transport, libération... ?)

En résumé :

Le syndrome de Prader-Willy est une maladie rare, et implique plusieurs gènes dont le gène *Necdin*.

Les souris déficientes uniquement pour le gène *Necdin* ont des troubles respiratoires, mais n'ont pas toutes les symptômes du syndrome de Prader-Willy

- 1) *Necdin* est exprimé par les neurones à sérotonine chez la souris normale
- 2) chez la souris mutante, l'absence de *Necdin* entraîne une altération du système à sérotonine
- 3) l'altération du système à sérotonine entraîne des troubles respiratoires, on le sait parce que c'est ce qu'on a regardé. D'autres troubles que les troubles respiratoires peuvent exister.

Pour voir si cela a des effets sur d'autres fonctions, il faut encore aller plus loin, et faire appel à des physiologistes, comme Jorge Gallego...projet sur 3 ans.

## 5) Travaux en cours / Médecins des Centres de Références MSN ???

Les points forts du travail avec F.Muscatelli :

Sans le gène *Necdin*, on constate des troubles respiratoires. Mais avec :

- une grande variabilité des déficits respiratoires chez les porteurs de la mutation : pourtant ce sont les mêmes souris, identiques sur le plan génétique à part ce gène....rôle de facteurs externes ???
- une forte mortalité spontanée entre la naissance et J2 (30%)
- in vitro les réseaux respiratoires ne répondent pas à un excès de CO<sub>2</sub>

In vivo si les bébés souris nouveau-nés sont soumis à un air enrichi en CO<sub>2</sub> ( 5 mn, 4% de CO<sub>2</sub>) :

- il y a une plus forte mortalité chez les mutants, qui passe de 30% à 50%
- pas de décès chez les bébés souris normaux

On doit donc s'intéresser au rôle du facteur externe qu'est l'excès de CO<sub>2</sub>.

C'est donc une hypothèse de recherche pour la MSN, parmi beaucoup d'autres : est-ce qu'une mutation du gène *Necdin* qui va altérer le système à sérotonine pourrait-elle provoquer d'autres troubles ? et contribuer à des problèmes de MSN ?

Cette hypothèse de recherche peut concerner non seulement les équipes de recherche de F.Muscatelli (génétique), J Gallego (physiologie), G Hilaire (maturation) mais aussi les médecins des centres de référence MSN

### Conclusion :

La recherche expérimentale aide car elle fournit des hypothèses de travail. On ne peut pas démontrer ainsi quoi que ce soit en pathologie humaine.

Mais la recherche expérimentale peut permettre de dégager des pistes de travail, des hypothèses, pour les étudier, puis passer le relais aux médecins.

On peut ainsi faire des « aller-retour » entre l'observation chez l'humain et des hypothèses à tester chez l'animal, et c'est comme ça qu'on peut avancer. Le dialogue est très fructueux.

## « Troubles du contrôle respiratoire néonatal : apport des modèles murins »

**Jorge Gallego**

**Inserm U676 Robert Debré Paris :** Unité (dirigée par P. Gressens) qui travaille sur le développement cérébral du nouveau-né, au sens large : prématurité, et où une équipe s'intéresse plus particulièrement au développement du contrôle respiratoire. Lui-même est physiologiste, non médecin, travaille sur l'animal depuis 1995, en lien avec des médecins qui s'occupent de MSN.

**Problème à résoudre : le pourquoi** de l'apnée néonatale (arrêt et pauses respiratoires du nouveau-né) et donc de l'hypoxie cérébrale ? Celle-ci est grave, parfois fatale ou peut compromettre le développement de l'enfant. On rentre là dans la problématique du malaise grave et de la mort subite.

Les causes des apnées ? on a de nombreuses hypothèses à étudier chez l'animal

- de nombreux facteurs de prédisposition génétique (quel lien entre l'anomalie génétique et le trouble respiratoire?)

- l'environnement fœtal : nicotine, cocaïne... par ex on a montré les conséquences respiratoires de l'exposition prénatale à la cocaïne ; un modèle de consommation de tabac pendant la gestation a un effet sur les récepteurs nicotiques qui aboutit à leur inactivation par saturation, ce qui produit à la naissance des anomalies respiratoires

- la prématurité : l'enfant est très immature, en particulier les réseaux du tronc cérébral qui contrôlent sa respiration, ce qui favorise l'instabilité respiratoire, les apnées et l'hypoxie.

Tout cela est très complexe. Les troubles précoces de la commande respiratoire concernent :

- la génération du rythme par le réseau de neurones respiratoires
- la sensibilité au CO<sub>2</sub>
- la sensibilité à l'hypoxie

ils peuvent être d'origine périphérique ou centrale

Même si l'enfant naît à terme, cette régulation n'est pas complètement mature à la naissance.

Et en plus, les problèmes respiratoires sont fortement liés :

- au sommeil : les apnées sont liées au niveau de vigilance
- à la température ambiante : une incidence directe de la température sur le contrôle respiratoire
- à la réaction d'éveil à l'hypoxie (souvent évoquée dans la MSN) : ce réflexe est très bien décrit chez le nouveau-né, déclenché par une anomalie de la chimie de la respiration (manque d'O<sub>2</sub>), fait intervenir des centres nerveux qui sont situés dans le cerveau au-dessus du tronc cérébral.

Les « problèmes respiratoires à la naissance » concernent donc en fait :

- la génération du rythme,
- les systèmes de régulation chimique (oxygène et gaz carbonique dans le sang),
- la régulation thermique
- les mécanismes d'éveil

Il est donc nécessaire pour prendre en considération tous ces facteurs, de disposer de modèles in vivo. On travaille sur le souriceau nouveau-né : souriceau parce que modèle de prédilection pour les études génétiques, nouveau-né parce que on a un système en développement (différent des systèmes de l'adulte).

### **Exploration respiratoire du souriceau nouveau-né (nné)**

La souris n'est pas très facile à étudier. A la naissance : tout petit (entre 1 et 2 g), pas d'audition, pas de vision, pas de locomotion, de poils... cela apparaît dans les deux premières semaines de vie.

Le souriceau est plus immature qu'un nouveau-né humain, la naissance n'a pas lieu au même moment du développement (myélinisation par ex) : le souriceau né à terme est plutôt un modèle de prématurité. On peut estimer qu'à J8, la maturation équivaut à celle d'un nouveau-né humain à terme.

### **Les enregistrements et mesures concernent :**

- la respiration : on observe les pauses physiologiques du nné, parfois très longues
- l'activité cardiaque : la conséquence de la pause respiratoire est une bradycardie
- les vocalisations ultrasoniques : le nné souris communique ainsi avec sa mère. C'est le témoin de sa capacité de réaction au manque d'O<sub>2</sub> : c'est à la fois un indice d'éveil (est-il réveillé par le trouble ou continue-t-il à dormir ? c'est sa capacité à réagir) et un indice d'anxiété
- les mouvements : le fait de manquer d'O<sub>2</sub> provoque chez le souriceau comme chez l'enfant une réaction d'éveil assez stéréotypée : microéveil, mouvements défensifs, puis éveil complets avec pleurs ≈ ici vocalisations

- la température : ça influence fortement les réactions en cas de manque d'O<sub>2</sub>, on la mesure par les émissions infrarouges, notamment au niveau des cellules de la région de la base du cou, les cellules brunes adipeuses du cou qui produisent de la chaleur (méthode non invasive, pour éviter de poser un capteur)
- la consommation d'O<sub>2</sub> : mesure au niveau de l'organisme entier

Ces méthodes de mesure sont non invasives, y compris celle de la respiration : mesure des modifications de la pression que produit l'animal en respirant dans une boîte fermée (pléthysmographie) : inspiration, expiration, amplitude, fréquence...

On a donc construit des machines : chambre pour le souriceau, caméra infrarouge, écrans pour piloter les expériences, micros,....c'est le seul laboratoire de sommeil pour souriceau dans le monde...

Le souriceau n'a aucun capteur sur lui, il dort sur un tapis de capteurs (ECG.....)

Il est peu séparé de sa mère (pas trop longtemps parce que la séparation maternelle, est un facteur de stress): les enregistrements durent pendant 20 à 25 mn, au maximum 45 mn.

On les poursuit de la naissance à J21 (âge du sevrage)

### **Quelle stratégie de défense contre l'hypoxie chez le souriceau né ?**

C'est très différent chez le né et chez l'adulte.

Par exemple : en regardant la consommation d'O<sub>2</sub> de l'ensemble de l'organisme, à 33°(température confortable) et à 26°(froide) ;

À 33°: une fois stabilisée, on fait 2 tests d'hypoxie (mélange gazeux appauvri en O<sub>2</sub>) et on compare avec d'autres animaux en condition normale : la consommation d'O<sub>2</sub> baisse un peu, il s'adapte au manque d'O<sub>2</sub> en réduisant sa consommation d'O<sub>2</sub>.

Au froid (26°, c'est très froid), il va d'abord produire de la chaleur avec ses cellules brunes adipeuses du cou, mais cette production de chaleur consomme beaucoup d'O<sub>2</sub>. Là, si l'O<sub>2</sub> vient à manquer, immédiatement, il limite sa consommation, y compris l'activité respiratoire, et de façon brutale. Si l'air revient, il reprend sa thermogénèse pour combattre le froid.

Ce sont des stratégies compliquées, sur le plan même de la consommation. Il faut avoir ces notions en tête quand on étudie les troubles respiratoires.

Sur le plan respiratoire, on regarde les courbes de ventilation soit à 3h, soit à 12 h soit à 48h de vie, lorsqu'on l'expose à un manque d'O<sub>2</sub> (concentration de 5% pendant 30 secondes):

à H 3 : sa sensibilité est très faible il augmente un tout petit peu sa ventilation,

à H 12 : il augmente d'abord sa ventilation, dans un premier temps, pour tenter de restaurer le niveau d'oxygène, mais ça ne peut pas suffire, alors comme il ne peut pas compenser, il diminue toute son activité, dont la respiration et se met en hypo-métabolisme pour réduire au maximum la consommation d'O<sub>2</sub> : c'est la réponse biphasique à l'hypoxie.

La réaction d'éveil survient quand ? dans la première phase, il ne passe rien, pas d'éveil. Elle vient après : lorsque le système physiologique n'a pas réussi à résoudre le problème, la réaction comportementale intervient, il bouge, tente de se dégager s'il y a une obstruction (museau enfoui)...

Dès H3, la réaction comportementale d'éveil est présente, elle permet au souriceau de se protéger.

Ces stratégies de défense contre l'hypoxie ne sont pas intangibles, elles dépendent fortement de **l'environnement, en particulier de la température ambiante**

Tests à 33° et à 26° :

à 33° (confort thermique) : lors du test d'hypoxie, la ventilation augmente puis diminue, pas de vocalisations, peu de mouvements, petite réaction d'éveil

à 26 ° (au froid): la ventilation est plus élevée au départ, il est un peu à la limite, quand l'O<sub>2</sub> tombe, il débranche tout, tout de suite : la réponse respiratoire diminue.

On peut mettre en évidence des capacités chez le souriceau qu'on ne pourrait pas démontrer chez un enfant. Par exemple, **l'anticipation de l'hypoxie** :

On met le souriceau dans un milieu hypoxique en présence d'une odeur artificielle particulière (odeur 1) et dans un milieu normoxique avec une autre odeur 2, cela plusieurs fois. On le met en présence de l'odeur 1 (avec O<sub>2</sub> normal), il va produire des vocalises, il a une réaction comportementale. Il ne l'a pas en présence de l'odeur 2. L'odeur est devenue un signal de danger et donc entraîne une réaction comportementale. À J6 de vie (correspond à la prématurité chez l'homme), il a la capacité d'anticiper le danger par des signaux avant-coureurs.

Donc, le souriceau né est un bon modèle pour étudier :

- les troubles précoces du contrôle respiratoire
- les réactions d'éveil à l'hypoxie
- le rôle de la température
- le rôle des facteurs génétiques

Les « gènes impliqués dans le contrôle de la respiration » : c'est une expression un peu prétentieuse, car comme on l'a vu, il y a tellement de choses qui interviennent de manière directe ou indirecte dans le contrôle de la respiration, que l'étude des gènes (très nombreux) est très complexe.

Exemple : on s'est intéressé en collaboration avec l'équipe de Necker (avec Loïc De Pontual) et une autre de l'Ecole normale supérieure, **au gène phox2b**

C'est un gène primordial pour le développement du système nerveux autonome

Il est impliqué dans le syndrome d'Ondine [dès les premiers jours de vie, le nouveau-né ne respire pas assez pendant le sommeil] « hypoventilation centrale pendant le sommeil », sans réponse au CO<sub>2</sub>, maladie irréversible, due à une mutation hétérozygote du gène phox2b chez la plupart des patients

En génétique humaine : il est admis que ce gène est responsable de cette maladie.

Ce que permet l'expérimentation animale :

- c'est de savoir quel est le rôle de ce gène dans le contrôle de la respiration : par des souris sur lesquelles on a invalidé ce gène et on observe ce qui se passe sur le plan respiratoire ?

- on peut aller plus loin, et reproduire chez des souris cette mutation pour voir si elles ont la maladie ?

Par les analyses polysomnographiques, on voit que les mutants phox2b font des apnées du sommeil, ne font pas d'apnées à l'éveil.

Mais on sait que ce gène phox2b joue un rôle dans le développement du système nerveux autonome, on s'attend donc à ce que d'autres fonctions soient touchées : effectivement, au froid la consommation d'O<sub>2</sub> n'est pas normale, donc la thermogénèse n'est pas normale, par rapport aux témoins. Donc l'anomalie respiratoire se révèle dans les réponses au froid ou au chaud, à l'hypoxie....

Les souriceaux chez qui on a reproduit la mutation du syndrome d'Ondine :

- meurent tous dans les 2 premières heures

- à 20 mn de vie: les normaux ont une activité respiratoire stable, et ils augmentent leur respiration si on augmente la concentration en CO<sub>2</sub> ( ce réflexe est normalement présent dès la naissance)

Les mutants ont une respiration irrégulière, instable, diminuée par rapport aux témoins, voir nulle. Si on augmente la concentration en CO<sub>2</sub>, ils ne modifient rien, n'ont pas de réactions.

On peut aller plus loin grâce à ce modèle en montrant qu'il y a chez les mutants une structure qui intervient dans la génération du rythme respiratoire et dans la sensibilité au CO<sub>2</sub> et qui a disparu.

On en profite pour faire des hypothèses sur la façon de traiter les apnées.

On sait qu'il y a deux structures en jeu, une principale le complexe pré-Bötzinger et une secondaire, le noyau trapézoïde, et l'une compense l'autre. La première est sensible aux opioïdes endogènes libérés de façon importante à la naissance, chez l'animal normal le noyau trapézoïde peut compenser la génération du rythme. Chez le mutant qui est dépourvu de la deuxième structure, le centre inhibé à la naissance n'est pas compensé. On va essayer de traiter en bloquant l'action des opioïdes : ça réduit la durée des apnées. Cela ne veut pas dire qu'on a un traitement facile, mais ça donne une démarche : on a une hypothèse, on essaie de comprendre pourquoi il y a un problème, on essaie de le résoudre par un essai pharmacologique...Et ça donnera peut-être une piste pharmacologique chez l'homme.

La discussion s'est ensuite poursuivie sur les possibilités d'organiser des liens entre Naître et Vivre, les centres de référence MSN et les équipes de recherche .