




OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible

This is an author's version published in: <https://oatao.univ-toulouse.fr/27363/>

Hacene, Sirine . *Thérapie cellulaire sur un modèle d'AVC sur le marmouset : le système nerveux entérique comme alternative pour les neuro-greffes*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2020, 171 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: tech-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

ANNEE 2020 THESE : 2020 – TOUTOULOUSE – 4099

THERAPIE CELLULAIRE SUR UN MODELE D'AVC SUR LE MARMOSET : LE SYSTEME NERVEUX ENTERIQUE COMME ALTERNATIVE POUR LES NEURO-GREFFES

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

HACENE Sirine
Née le 22/06/1995 à NICE (06)

Directrice de thèse : Mme Isabelle RAYMOND-LETRON

JURY

PRESIDENT :
M. Olivier ABBO

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Isabelle RAYMOND-LETRON
M. Fabrice CONCHOU

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRES INVITEES :
Mme Isabelle LOUBINOUX
Mme Carla CIRILLO

Docteure, Inserm, ToNIC, TOULOUSE
CRCN INSERM, ToNIC, TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : Professeur Pierre SANS

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie - Thérapeutique*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **PETIT Claude**, (Emérite) - *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1° CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des aliments d'Origine animale*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie Vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- Mme **HAGEN-PICARD, Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie Médicale Animale et Comparée*

PROFESSEURS 2° CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
- Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
- Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
- M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
- Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
- M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et Économie de la santé animale*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRES DE CONFÉRENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*

- Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
 M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
 M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
 M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
 Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
 M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
 Mme **BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
 Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
 Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
 M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
 M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
 Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie- Bactériologie-Pathologie infectieuse*
 Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et Industrie des aliments*
 Mme **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
 M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et Industrie des aliments*
 M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
 Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
 Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
 Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie - Analgésie*
 Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des Equidés*
 Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
 M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
 M. **LHERMIE Guillaume**, *Economie de la santé animale*
 M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
 Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
 Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
 M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
 Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
 M. **VERGNE Timothée**, *Santé publique vétérinaire – Maladies animales règlementées*
 Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

CHARGES D'ENSEIGNEMENT CONTRACTUELS

- M. **BOLON Pierrick**, *Production et pathologie aviaire*
 M. **LEYNAUD Vincent**, *Médecine interne*
 Mme **ROBIN Marie-Claire**, *Ophthalmologie*
 Mme **TOUSSAIN Marion**, *Pathologie des équidés*

ENSEIGNANT DE PREMIERE ANNEE COMMUNE AUX ETUDES VETERINAIRES

- Mme **GAUCHARD Cécile**, *Biologie-écologie-santé*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mme **BLONDEL Margaux**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
 M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie-Imagerie médicale*
 M. **COMBARROS-GARCIA Daniel**, *Dermatologie vétérinaire*
 M. **GAIDE Nicolas**, *Histologie, Anatomie Pathologique*
 M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
 M. **LESUEUR Jérémy**, *Gestion de la santé des ruminants – Médecine collective de précision*
 M. **TOUITOU Florian**, *Alimentation animale*

Remerciements

À Monsieur le Professeur Olivier ABBO,

PUPH en Chirurgie Viscérale Pédiatrique, CHU de Toulouse

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.
Hommages respectueux.

A Madame le Docteur Isabelle RAYMOND LETRON,

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Histologie - Anatomie Pathologique vétérinaire

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse.
Soyez assurée de ma gratitude pour votre soutien,
Mes plus sincères salutations respectueuses.

A Monsieur le Docteur Fabrice CONCHOU

Maître de Conférences de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Imagerie médicale

Pour m'avoir fait l'honneur de participer à mon jury de thèse.
Mes remerciements les plus sincères et respectueux.

A Madame Isabelle LOUBINOUX,

Directrice de Recherche de l'équipe iDREAM – UMR1214 – ToNIC Inserm/UPS

Imagerie médicale

Pour m'avoir accueillie dans votre équipe de recherche iDREAM,
Pour votre investissement, votre encadrement et votre soutien dans ce projet de thèse,
Mes très sincères remerciements et hommages respectueux.

A Madame Carla CIRILLO

CRCN - équipe iDREAM – UMR1214 – ToNIC Inserm/UPS

Pour m'avoir fait l'immense honneur de participer à vos travaux d'étude.
Pour m'avoir encadrée, et soutenue de la meilleure des manières tout au long de ce projet de thèse.
Pour votre disponibilité, votre aide inestimable et votre gentillesse,
Soyez assurée de ma profonde reconnaissance.

Table des matières

LISTE DES FIGURES	13
LISTE DES TABLEAUX	14
LISTE DES ACRONYMES	15
INTRODUCTION GENERALE	17
PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	23
1 NEUROANATOMIE FONCTIONNELLE DE LA MOTRICITE MANUELLE	25
1.1 <i>Système moteur : structure, organisation et fonctions</i>	25
1.1.1 Structure du système nerveux central.....	25
1.1.1.1 Composition cellulaire du système nerveux central	25
1.1.1.2 Organisation structurelle générale	25
1.1.2 Organisation fonctionnelle corticale	26
1.1.3 Système moteur.....	28
1.1.3.1 Le système moteur cortical	28
1.1.3.2 Voies descendantes	28
1.2 <i>Réalisation d'un mouvement volontaire du bras et de la main</i>	29
2 L'ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL ISCHEMIQUE	30
2.1 <i>Données épidémiologiques</i>	30
2.2 <i>Facteurs de risque</i>	31
2.3 <i>Etiologie</i>	32
2.4 <i>Physiopathologie</i>	32
2.4.1 Unité cérébrovasculaire	32
2.4.2 Mécanismes physiopathologiques	34
2.4.2.1 Physiopathologie de l'ischémie	34
2.4.2.2 Physiopathologie de la reperfusion	38
2.5 <i>Mécanismes de récupération</i>	39
2.5.1 Plasticité cérébrale et mécanismes de compensation	39
2.5.2 Mécanismes de régénération spontanée	41
3 STRATEGIES THERAPEUTIQUES ACTUELLES ET FUTURES	42
3.1 <i>Possibilités thérapeutiques</i>	43
3.1.1 Thérapeutiques d'urgence	43
3.1.2 La thrombolyse intraveineuse	43
3.1.3 La thrombectomie mécanique.....	44
3.1.4 Autres thérapeutiques médicamenteuses.....	44
3.1.4.1 Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine	44
3.1.4.2 Facteurs activateurs/inhibiteurs	45
3.1.5 Thérapeutiques alternatives ou complémentaires	45
3.2 <i>Thérapies cellulaires</i>	46

3.2.1	Objectifs thérapeutiques	46
3.2.2	Sources et types cellulaires	46
3.2.3	Voies d'administration.....	48
3.2.4	Modalités d'administration	48
3.2.5	Mécanismes thérapeutiques	48
3.2.5.1	Remplacement cellulaire.....	48
3.2.5.2	Effets paracrines	49
3.2.6	Développement translationnel	49
3.2.7	Essais cliniques	50
4	LE MODELE ANIMAL ET LE MODELE DE LESION CEREBRALE	53
4.1	<i>Marmouset : modèle de primate non-humain</i>	<i>53</i>
4.1.1	Ecologie et biologie.....	53
4.1.2	Présence dans le domaine expérimental	54
4.1.3	Considérations éthiques quant à son emploi expérimental.....	55
4.1.4	Avantages du modèle marmouset dans l'évaluation de déficits moteurs d'origine cérébrale	56
4.2	<i>Malonate : modèle de lésion cérébrale</i>	<i>58</i>
4.2.1	Données moléculaires	58
4.2.2	Propriétés chimiques	58
4.2.3	Méthode non vasculaire de lésions cérébrales	60
4.2.4	Validation du modèle malonate.....	60
5	METHODES D'EVALUATION STRUCTURELLE ET SENSORIMOTRICE	62
5.1	<i>Imagerie cérébrale : Imagerie par Résonance Magnétique.....</i>	<i>62</i>
5.1.1	Fonctionnement général	62
5.1.2	Intérêts dans l'évaluation lésionnelle de l'AVC	62
5.2	<i>Tests comportementaux : protocoles hospitaliers en médecine humaine</i>	<i>64</i>
5.3	<i>Tests disponibles en expérimentation animale</i>	<i>65</i>
5.3.1	Test de stimulation tactile	66
5.3.2	Extinction tactile.....	66
5.3.3	Grip test	67
5.3.4	Tâche de récupération d'objets contrainte par des déviations	68
5.3.5	D'autres tests.....	69
6	LE SYSTEME NERVEUX ENTERIQUE.....	69
6.1	<i>Système nerveux entérique.....</i>	<i>69</i>
6.1.1	Anatomie.....	69
6.1.2	Organogenèse	72
6.1.3	Physiologie et fonctions	74
6.1.4	Composition cellulaire : neurones et glie	75
6.2	<i>Les cellules gliales entériques.....</i>	<i>77</i>
6.2.1	Unicité du type cellulaire	77
6.2.2	Types et localisations.....	77
6.2.3	Fonctions physiologiques.....	79
6.2.4	Marqueurs cellulaires spécifiques	80
6.2.5	Potentiels pour des neurogreffes	83

6.2.5.1	Effets trophiques.....	85
6.2.5.2	Effets neuroprotecteurs.....	86
6.2.5.3	Effets supports mécaniques.....	86
6.2.5.4	Effets supports fonctionnels.....	86
6.2.5.5	Effets immunomodulateurs.....	87
6.2.5.6	Effets modulateurs de l'inflammation.....	88
6.2.5.7	Effets neurogéniques.....	89
6.2.6	Biosécurité des cellules gliales entériques.....	93
PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE		95
1	MATERIELS ET METHODES	97
1.1	<i>Marmouset : modèle animal</i>	<i>97</i>
1.1.1	Etude pilote : choix du marmouset.....	97
1.1.2	Choix pour l'évaluation sensorimotrice	97
1.1.2.1	Echelle neurologique : évaluation somatosensorielle et motrice.....	98
1.1.2.2	Staircases colline et vallée.....	100
1.1.3	Entraînements.....	101
1.1.3.1	Programme d'entraînement et d'évaluation pré et post-lésionnelle	101
1.2	<i>Modèle de lésion cérébrale</i>	<i>102</i>
1.2.1	Protocole de préparation.....	102
1.2.2	Protocole de réalisation de la lésion cérébrale	103
1.3	<i>Imagerie cérébrale.....</i>	<i>104</i>
1.3.1	Choix du paramétrage	104
1.3.2	Méthodes d'interprétation	105
1.4	<i>Cultures cellulaires de cellules gliales entériques.....</i>	<i>105</i>
1.4.1	Origine des cellules de la xéno greffe.....	105
1.4.2	Protocole d'isolement cellulaire	106
1.4.3	Marquage et caractérisation cellulaire	107
1.4.4	Expression du potentiel neurogénique des CGE <i>in vitro</i>	108
1.4.5	Protocole de préparation de l'allogreffe	111
1.4.6	Protocole et méthodes de transplantation.....	111
2	RESULTATS	114
2.1	<i>Préambule</i>	<i>114</i>
2.2	<i>Caractérisations de la lésion cérébrale</i>	<i>114</i>
2.2.1	Evaluation structurelle par imagerie cérébrale.....	114
2.2.2	Evaluation fonctionnelle	115
2.2.2.1	Effets généraux.....	115
2.2.2.2	Effets moteurs et comportementaux	115
2.3	<i>Evaluation des effets de la transplantation</i>	<i>116</i>
2.3.1	Evaluation de la lésion cérébrale par IRM	116
2.3.1.1	Suivi du volume lésionnel	116
2.3.1.2	Suivi de la neurogreffe.....	119
2.3.2	Evaluation motrice et comportementale : suivi de la récupération fonctionnelle.....	121
2.3.2.1	Echelle neurologique	121

2.3.2.2	Staircases vallée et colline.....	124
2.3.2.3	Facteurs de variation	127
3	DISCUSSION	130
3.1	<i>Avantages de la transplantation.....</i>	<i>130</i>
3.1.1	« Safety » des cellules gliales entériques	130
3.1.2	Risque de rejet immunologique	130
3.1.3	Risque tumorigénique.....	131
3.1.4	Réduction du volume lésionnel	132
3.1.5	Absence d'effets secondaires sur la récupération fonctionnelle	136
3.2	<i>Limites de la transplantation.....</i>	<i>136</i>
3.2.1	Evaluation des déficits sensorimoteurs.....	136
3.3	<i>Perspectives futures.....</i>	<i>138</i>
3.3.1	Analyses immunohistochimiques.....	138
3.3.1.1	Protocole de préparation des coupes tissulaires	139
3.3.1.2	Protocole de préparation de l'immunomarquage	139
3.3.2	Poursuite de l'évaluation structurelle et fonctionnelle	140
3.3.3	Modalités de la transplantation : vers la réalisation de greffes autologues	140
	CONCLUSION GENERALE	143
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	147
	ANNEXES	169

Table des annexes

Annexe 1 Frise chronologique du projet d'étude.....	169
Annexe 2 Tableau récapitulatif de la médication utilisée lors des interventions chirurgicales.....	169
Annexe 3 Associations anatomiques de l'intensité des signaux (hyposignal et hypersignal).....	170
Annexe 4 Evolution de l'état clinique du marmouset greffé.	170

Liste des figures

Figure 1 Représentation schématique de l'anatomie structurelle interne des hémisphères.	26
Figure 2 Organisation structurelle de la surface des hémisphères cérébraux (face latérale).....	27
Figure 3 Représentation de la carte des aires corticales de Brodmann.	27
Figure 4 Organisation somatotopique du cortex moteur primaire.	28
Figure 5 Représentation schématique de la voie descendante du faisceau corticospinal.	29
Figure 6 Situation épidémiologique des accidents vasculaires cérébraux ischémiques.	31
Figure 7 Schéma de l'organisation structurelle de l'unité neurovasculaire.	34
Figure 8 Mécanismes physiopathologiques de l'accident vasculaire cérébral.....	36
Figure 9 Représentation schématique des artères collatérales lors d'un accident vasculaire	37
Figure 10 Représentation graphique de l'évolution spatiotemporelle de la lésion d'ischémie.....	38
Figure 11 Cinétique des mécanismes physiopathologiques de l'ischémie cérébrale.....	39
Figure 12 Illustration du mécanisme de vicariance.	40
Figure 13 Représentation des mécanismes physiopathologiques, protecteurs et régénératifs	42
Figure 14 Profil de la cinétique des mécanismes physiopathologiques et approches thérapeutiques.	43
Figure 15 Développement d'une thérapie cellulaire pour la gestion de l'accident vasculaire.....	52
Figure 16 Critères de diagnose du marmouset commun (<i>C. jacchus</i>).....	53
Figure 17 Comparaison anatomique entre l'homme, deux autres espèces de primates.....	56
Figure 18 Carte des aires corticales chez le marmouset (A) et l'homme (B).	56
Figure 19 Organisation somatotopique du cortex moteur primaire chez le marmouset.	57
Figure 20 Fonction oxydative de la succinate déshydrogénase.	59
Figure 21 Séquences IRM (en diffusion, FLAIR, T2*, angiographie en temps de vol) incluses	63
Figure 22 Dispositif du grip test ou test de préhension.	67
Figure 23 Dispositif d'évaluation cognitive et motrice établi par Taylor et al (1990).	68
Figure 24 Organigramme des systèmes nerveux.	70
Figure 25 Représentation schématique du système nerveux entérique.	71
Figure 26 Analyse immunohistochimique du plexus myentérique et du plexus sous-muqueux.....	71
Figure 27 Migration des progéniteurs de la crête neurale lors de l'embryogenèse.	73
Figure 28 Interactions entre le système nerveux entérique et les autres structures digestives.	74
Figure 29 Innervation extrinsèque du tractus digestif.	75
Figure 30 Comparaison entre configuration des astrocytes et des cellules gliales entériques	76
Figure 31 Profil transcriptionnel des cellules gliales entériques.....	77
Figure 32 Les quatre types morphologiques de cellules gliales entériques.....	78
Figure 33 Comparaison entre la distribution des astrocytes et celle des cellules gliales entériques. ...	80
Figure 34 Représentation schématique de la différenciation des cellules souches neurales	81
Figure 35 Sous-populations de cellules gliales entériques.	82
Figure 36 Analyse immunohistochimique d'une coupe transversale d'intestin grêle révélant.....	83

Figure 37 Analyse immunohistochimique d'une coupe transversale d'intestin grêle révélant.....	83
Figure 38 Représentation schématique de la communication cerveau-intestins.....	84
Figure 39 Diverses fonctions des cellules gliales entériques intraganglionnaires.....	87
Figure 40 Synthèse schématique des réponses cellulaires des cellules gliales entériques.....	89
Figure 41 Représentation schématique de l'origine et du devenir des cellules gliales entériques.....	90
Figure 42 Potentiel neurogénique des cellules gliales entériques intraganglionnaires.....	92
Figure 43 Génération de neurones et de la glie <i>in vivo</i> chez des modèles de souris transgéniques... ..	93
Figure 44 Dispositif du staircase colline (A) et vallée (B).....	101
Figure 45 Programme d'entraînement et d'évaluation sensorimotrice des marmousets.....	102
Figure 46 Localisation stéréotaxique de la zone d'injection intracérébrale.....	104
Figure 47 Immunomarquage des cellules gliales entériques primaires.....	108
Figure 48 Observations microscopiques des neurosphères primaires et secondaires générées.....	109
Figure 49 Analyse d'immunomarquage des neurosphères.....	110
Figure 50 Localisation des sites de transplantation et orientation des injections.....	113
Figure 51 Images IRM pondérées en T2 en vue coronale, sagittale, et axiale à 24h post-lésion.....	115
Figure 52 Images IRM pondérée en T2 selon la vue coronale, sagittale et axiale, au cours.....	117
Figure 53 Evolution des volumes lésionnels du marmouset greffé et des marmousets témoins.....	118
Figure 54 Evolution du volume et de l'intensité du signal T2 de la greffe au cours du temps.....	119
Figure 55 Evolution de l'intensité du signal T2 du site lésionnel et de la greffe au cours du temps... ..	120
Figure 56 Evolution des volumes de la lésion et de la greffe au cours du temps.....	120
Figure 57 Evolution des scores de l'échelle neurologique au cours du temps pour l'hémicorps.....	123
Figure 58 Evolution des scores aux deux versions du staircase (vallée et colline) au cours du.....	126
Figure 59 Evaluation de l'influence du volume lésionnel initial sur l'évolution du score.....	127
Figure 60 Evaluation de l'influence de la « motivation » sur l'évolution du score neurologique.....	129

Liste des tableaux

Tableau 1 : Echelle neurologique : évaluation de la motricité et de la sensibilité des hémicorps.....	99
---	----

Liste des acronymes

15dPGJ2 : 15-deoxy-12,14-prostaglandine J2
ACM : Artère cérébrale moyenne
AD : Tissus adipeux
ATP : Adénosine triphosphate
AVC : Accident vasculaire cérébral
BEI : Barrière épithélio-intestinale
BFABP : Protéine de liaison des acides gras de type cérébral
BHE : Barrière hémato-encéphalique
CCN : Cellule de la crête neurale
CEI : Cellule épithéliale intestinale
CGE : Cellule gliale entérique
CGE_{IM} : Cellule Gliale Entérique intramusculaire
CGE_{Muqueuse} : Cellule Gliale Entérique de la muqueuse
CGE_{PM} : Cellule Gliale Entérique du plexus myentérique
CGE_{PSM} : Cellule Gliale entérique du plexus sous-muqueux
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité
CMN : Cellule mononucléaire
CPE : Cellule progénitrice endothéliale
CPN : Cellule progénitrice neurale
CSE : Cellule souche embryonnaire
CSH : Cellule souche hématopoïétique
CSN : Cellule souche neurale
ENCC : Cellule entérique de la crête neurale
ENSC : Cellule souche neurale entérique
FCS : Faisceau corticospinal
GDNF : Facteur neurotrophique dérivant de la lignée cellulaire gliale
GFAP : Protéine acide fibrillaire gliale
HAS : Haute autorité de la santé
IFN- γ : Interféron-gamma
IHC : Immunohistochimie
IL-1 : Interleukine-1
IM : Voie intramusculaire
iPSC : Cellule souche pluripotente induite
IV : Voie intraveineuse
M1 : Cortex moteur primaire
MAPC : Cellule progénitrice adulte multipotente
MO : Moelle osseuse

MS : Cortex moteur supplémentaire
NE : Neurone entérique
NGF : Facteur de croissance du tissu nerveux
NOS : Oxyde nitrique synthase
OMS : Organisation mondiale de la santé
pENCC : Cellule pré-entérique de la crête neurale
PM : Cortex prémoteur
pMCAo : Occlusion mécanique permanente de l'artère cérébrale moyenne
PNH : Primate non-humain
S100 β : Protéine S100 de liaison du calcium intracytoplasmique
SDH : Enzyme succinate déshydrogénase
SI : Cortex somatosensoriel primaire
SNC : Système nerveux central
SNE : Système nerveux entérique
SNP : Système nerveux périphérique
Sox10 : Facteur de transcription-10 à domaine SRY (Sex determining region Y)
UNGE : Unité neuro-glio-épithéliale digestive
UNV : Unité neurovasculaire
VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

Introduction générale

Introduction générale

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), les maladies cérébrovasculaires font parties des principales causes de mortalité en France et dans le reste du monde (1). L'atteinte majeure est l'accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique. Avec une incidence comprise entre 100 000 à 145 000 AVC par an en France (2), l'AVC se révèle donc central dans le domaine de la santé publique.

Ces données sont à considérer avec importance face aux conséquences des AVC. On recense, à ce jour, 15 à 20 % de décès au terme du premier mois suivant un AVC. Et lorsque les personnes victimes d'AVC survivent, 75 % d'entre elles conservent des séquelles fonctionnelles (motrices, sensibles, cognitives, sensorielles) modérées à sévères, durables (2). L'AVC ischémique s'impose ainsi comme la première cause de handicap sévère acquis chez l'adulte. Les répercussions de cette atteinte sont chroniques, accompagnées souvent de faibles espoirs de récupération. Par ailleurs, les thérapeutiques développées ces dernières années, la thrombolyse intravasculaire et la thrombectomie endovasculaire d'urgence, ne concernent que les quelques 10 à 15% des patients arrivant dans les 6 heures à l'hôpital (3) et ne permettent de répondre que partiellement aux conséquences de la maladie. De plus, ils ne permettent pas de garantir l'absence de survenue de déficits sensorimoteurs ou cognitifs et n'envisagent pas de promouvoir une amélioration de la récupération à long terme. L'unique perspective de rétablissement en phase chronique repose actuellement sur les médecines complémentaires, et notamment la rééducation, unique option thérapeutique.

Du fait de l'incidence et de la sévérité de l'AVC, l'urgence de proposer d'autres thérapeutiques est donc palpable. Les études pré-cliniques et cliniques œuvrent à la mise en place d'un traitement pouvant harmoniser récupération structurelle, et motrice. Le projet présenté ici s'inscrit dans cette dernière démarche, en intégrant les travaux de recherche de l'équipe iDREAM, de l'unité ToNIC (Toulouse NeuroImaging Center), UMR 1214, Inserm/UPS. Il aborde le concept de thérapie cellulaire, inclus dans le domaine prometteur de la médecine régénérative. A ce jour, il faut noter que de nombreuses modalités, faisant varier les sources et les types cellulaires, sont explorées dans l'élaboration de transplantations (4). Pourtant, aucune thérapie cellulaire n'est actuellement disponible pour une utilisation effective en clinique (5). Les protocoles restent encore insatisfaisants d'un point de vue thérapeutique ou

nécessitent encore le temps de la validation de leur efficacité et de leur innocuité chez l'homme (6).

Le présent projet envisage ainsi une nouvelle source de cellules, issues du système nerveux entérique. Ce dernier, considéré comme le « second cerveau » (7) contient des cellules gliales semblables à celles du cerveau (astrocytes, microglie, oligodendrocytes) (8), et présentant un potentiel neurogénique et neurotrophique (9, 10). Ces cellules sont donc les candidates idéales pour une thérapie cellulaire dans un contexte d'ischémie cérébrale, en alliant remplacement cellulaire et régénération tissulaire. Ces cellules gliales entériques seront exploitées par le biais d'une greffe intracérébrale. *In fine*, les répercussions structurelles et fonctionnelles seront estimées, par imagerie cérébrale (Imagerie par Résonance Magnétique) et évaluation sensorimotrice (échelle neurologique et tests comportementaux), respectivement, dans le cadre d'un modèle de lésion cérébrale focale chez le marmouset (*Callithrix jacchus*). Pour la réalisation de ce projet, de nombreux avantages sont associés à l'emploi d'une espèce de primates non-humains, notamment en termes de proximité phylogénétique à l'homme (similitudes anatomo-structurelles et comportementales) (11) et d'aisance dans la gestion zootechnique. Par ailleurs, pour le modèle de lésion cérébrale, des études antérieures de l'équipe de recherche ont permis d'en établir sa validité (12, 13). Il consiste en l'injection intracérébrale de malonate. Ce dernier, neurotoxine inhibitrice du mécanisme mitochondrial de la respiration cellulaire (14), permet de reproduire des lésions cérébrales focales, significatives, répétables et rémanentes en phase chronique (12, 13). De plus, afin de faciliter l'évaluation des déficits fonctionnels et leur évolution, le modèle a été exploité dans un contexte de lésion unilatérale du cortex moteur primaire, contrôlant la motricité du membre antérieur controlésionnel. Ce modèle fait ainsi écho à la situation chez l'homme, où les infarctus cérébraux surviennent majoritairement dans ce territoire cérébral (15), et sont à l'origine de dépendance fonctionnelle et de dégradation durable de la qualité de vie.

Dans **une première partie**, selon les données de la littérature, seront évoqués quelques éléments de la neuroanatomie cérébrale, les mécanismes physiopathologiques de l'AVC ischémique, et les processus de récupération spontanée. Un point sera aussi fait sur les stratégies thérapeutiques disponibles, en mettant l'accent sur l'état d'avancement de la thérapie cellulaire. Par la suite, les différents avantages du modèle animal (marmouset) et du modèle de lésion cérébrale

(malonate) seront abordés, ainsi que les moyens d'évaluations des déficits sensorimoteurs. Enfin, seront considérées les propriétés des cellules gliales entériques, investies dans ce projet.

Dans **une seconde partie**, seront développés le protocole de travail et les résultats obtenus dans le cadre de la xénotransplantation intracérébrale de cellules gliales entériques dans un modèle marmouset de lésion cérébrale. Une discussion suivra afin d'établir les apports de ce projet, d'une part, et les limites associées, d'autres part.

Le second cerveau sera-t-il en mesure de sauver le premier ?

Partie I : Etude bibliographique

1 Neuroanatomie fonctionnelle de la motricité manuelle

1.1 Système moteur : structure, organisation et fonctions

1.1.1 Structure du système nerveux central

1.1.1.1 *Composition cellulaire du système nerveux central*

Le système nerveux central (SNC) est composé de neurones et de cellules « support », les cellules gliales (16). Brièvement, les neurones exécutent principalement les fonctions nerveuses, et les cellules gliales jouent un rôle de support mécanique et fonctionnel, et de protection des neurones. On distingue morpho-fonctionnellement trois catégories de cellules gliales : (1) les oligodendrocytes, participant à la formation de la gaine de myéline autour des axones, (2) la microglie, assurant des fonctions comparables aux macrophages systémiques, (3) et les astrocytes, assurant l'homéostasie de l'environnement dans lequel se trouvent les neurones (régulation des concentrations ioniques, des concentrations en neurotransmetteurs, des pressions osmotiques du milieu extracellulaire) (16).

1.1.1.2 *Organisation structurelle générale*

Le SNC présente une première subdivision anatomique avec l'encéphale et la moelle spinale (17). L'encéphale est constitué du cerveau, du cervelet et du tronc cérébral. Une autre subdivision morphologique est celle de la substance blanche et de la substance grise. La substance blanche est constituée des axones et des cellules gliales formant des faisceaux nerveux. Quant à la substance grise, cette dernière regroupe l'ensemble des dendrites et des corps cellulaires des neurones. En surface des hémisphères cérébraux, la substance grise correspond au cortex cérébral (**Figure 1**).

D'autre part, concernant les structures internes du cerveau, les corps cellulaires des neurones peuvent être regroupés et former des structures fonctionnelles, les « noyaux » (16) (**Figure 1**). Parmi eux, se trouvent le noyau lentiforme et le noyau caudé qui forment le ganglion de la base. Le thalamus, servant de relais entre le cortex cérébral et les régions plus caudales de l'encéphale, est également composé de plusieurs noyaux. Ces structures sont séparées par la capsule interne, appartenant à la substance blanche.

On retrouve également de nombreuses fibres nerveuses qui connectent les différentes parties d'un hémisphère cérébral entre elles ou les deux hémisphères cérébraux entre eux. Le corps calleux illustre ce dernier (**Figure 1**).

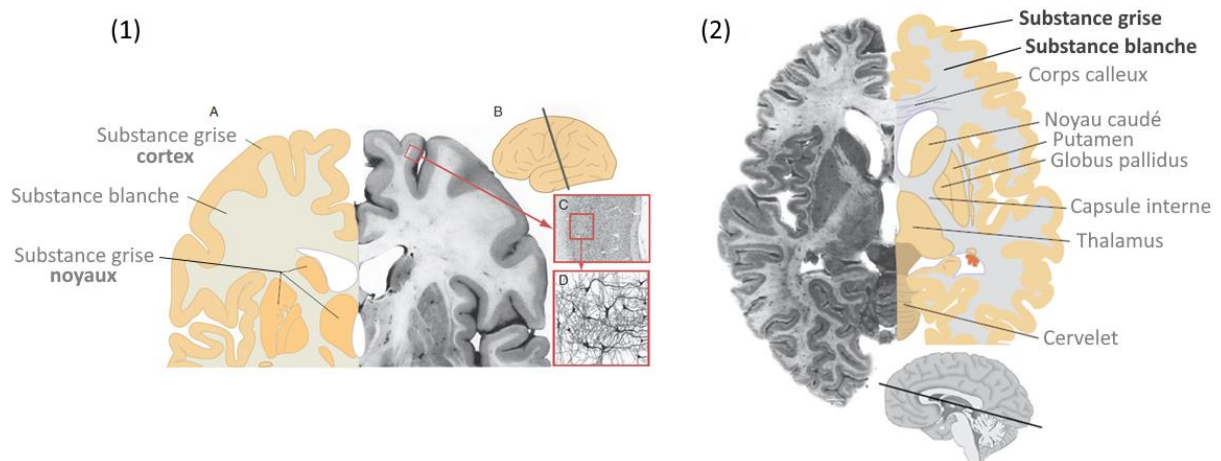


Figure 1 Représentation schématique de l'anatomie structurale interne des hémisphères cérébraux en coupe coronale (1) et axiale (2). Le cortex cérébral (B), appartenant à la substance grise (A), contient les dendrites et les corps cellulaires des neurones (C, D). (2) Le noyau lentiforme est composé du putamen, latéralement et du globus pallidus, médialement. Le putamen et le noyau caudé forment, ensemble, le striatum. *Adapté de (16).*

1.1.2 Organisation fonctionnelle corticale

A l'échelle macroscopique, le cortex cérébral peut être subdivisé en quatre lobes distincts : le lobe frontal, le lobe pariétal, le lobe temporal, et le lobe occipital (**Figure 2**) (16, 18). Les reliefs de la surface corticale délimitent ces régions. Le cortex cérébral présente également une subdivision fonctionnelle. La région de la circonvolution précentrale coïncide avec le cortex moteur primaire (M1), qui est la région impliquée dans l'exécution du mouvement. La circonvolution post-centrale est nommée cortex somatosensoriel primaire (SI). Elle réceptionne les informations sensibles (tactiles et proprioceptives) provenant des différentes parties du corps (**Figure 2**).

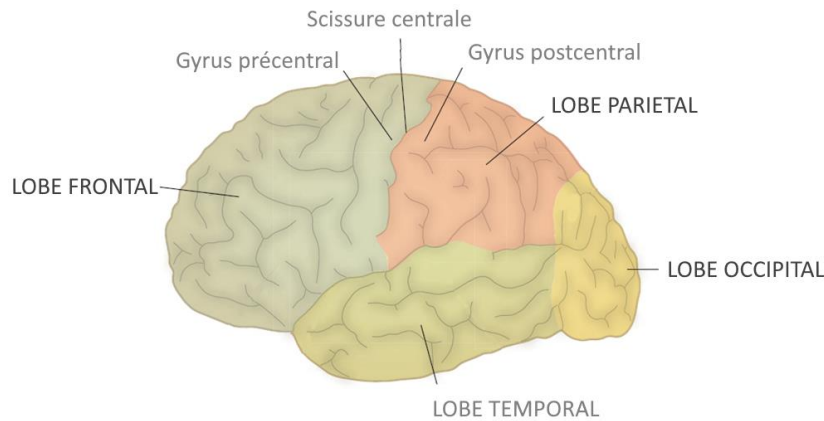


Figure 2 Organisation structurelle de la surface des hémisphères cérébraux (face latérale). Adapté de (16).

Plus précisément, l'analyse de l'ensemble du cortex cérébral permet de distinguer 50 régions fonctionnelles corticales différentes sur chacun des deux hémisphères cérébraux (16, 19). Dans la nomenclature de Brodmann, M1 correspond à l'aire 4. Cette dernière est délimitée caudalement par les aires 1, 2, et 3 (SI) et antérieurement par l'aire 6 (cortex prémoteur (PM)) (Figure 3).

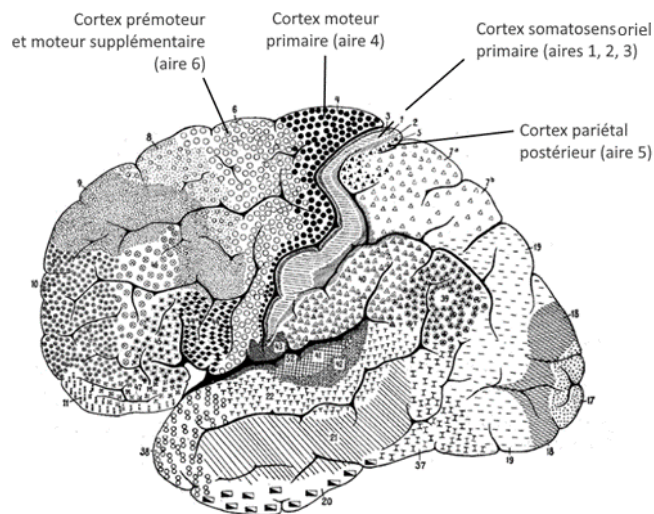


Figure 3 Représentation de la carte des aires corticales de Brodmann. Adapté de (19).

Enfin, à l'échelle microscopique, le cortex cérébral fait apparaître une répartition des corps neuronaux en 6 couches, parallèles à la surface corticale, et numérotées de 1 à 6 de la surface vers la profondeur (16). En particulier, la couche 5 contient les corps cellulaires des « neurones pyramidaux », qui projettent leur axone vers les neurones de la moelle spinale. Elle est particulièrement bien développée au niveau de M1.

1.1.3 Système moteur

1.1.3.1 Le système moteur cortical

Le système moteur cortical inclut trois régions : le cortex moteur primaire (M1), le cortex prémoteur (PM), et le cortex moteur supplémentaire (MS) (20). La surface de M1 est organisée topographiquement en territoires spécialisés dans l'exécution du mouvement d'une région particulière du corps (21). Dans cette organisation somatotopique (**Figure 4**), la contraction des membres pelviens, des membres thoraciques et des muscles de la face est représentée de l'aspect médial vers l'aspect latéral de M1 (16). Et la superficie du territoire cortical correspondant à chacune des parties du corps est proportionnelle aux contrôles fins et complexes nécessaires à leur contraction (exemple de la représentation étendue de la main sur M1 et la capacité à réaliser des mouvements fractionnés des doigts).

Une organisation comparable est retrouvée au sein de SI et de PM (21).

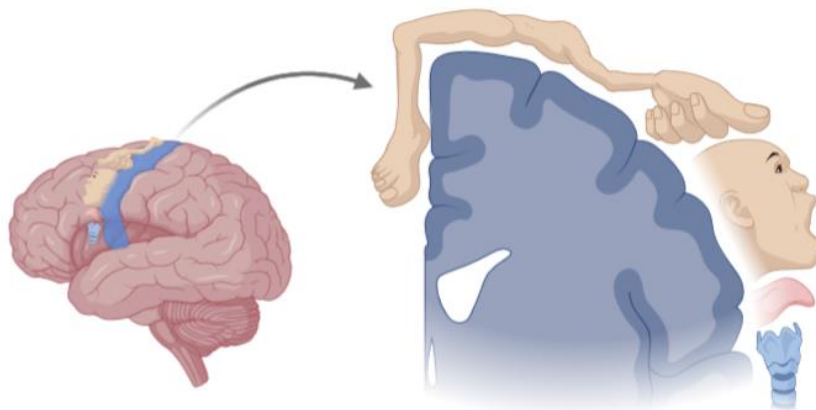


Figure 4 Organisation somatotopique du cortex moteur primaire. La répartition des différents muscles du corps est représentée en surface de M1. *Réalisation personnelle (BioRender ©), inspirée de (16, 22).*

1.1.3.2 Voies descendantes

Dans la suite du système moteur, l'on retrouve le faisceau pyramidal ou faisceau corticospinal (FCS), correspondant à l'une des voies nerveuses reliant le cortex cérébral aux neurones de la moelle spinale (**Figure 5**). Les fibres du FCS naissent principalement au niveau de M1 et secondairement au niveau des régions adjacentes (PM, MS, SI, cortex pariétal postérieur (aire 5)) (**Figure 3**). Elles empruntent ensuite une voie descendante passant notamment par la capsule interne et le bulbe rachidien,

situé entre le cerveau et la moelle spinale. Une majorité de fibres (75 – 85 %) réalisent une décussation puis se poursuivent au niveau de la moelle spinale (**Figure 5**). Dans le cas des membres thoraciques, les muscles distaux (poignée, main, doigts) sont intégralement concernés par cette décussation, à la différence des muscles proximaux (épaule). Par conséquent, par le biais des fibres corticospinales, M1 contrôle les mouvements intentionnels de la main qui lui est controlatérale (23) (**Figure 5**). Fonctionnellement, le FCS intervient notamment dans deux composantes majeures de la motricité manuelle : la force et la dextérité (24).

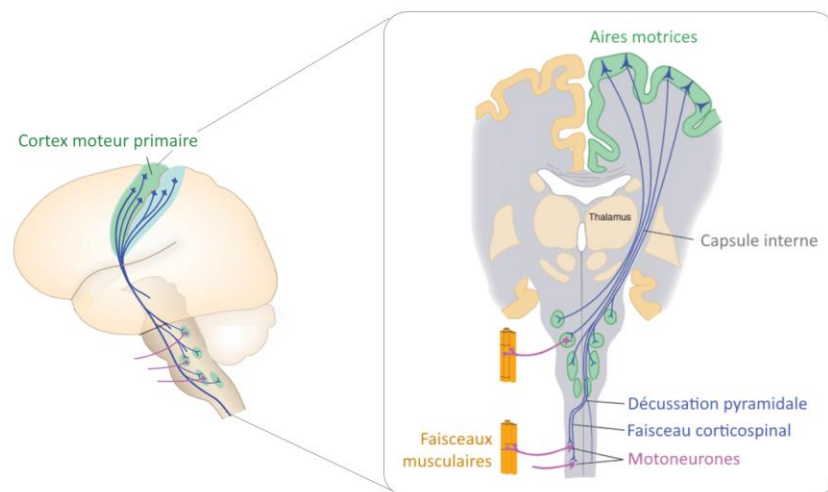


Figure 5 Représentation schématique de la voie descendante du faisceau corticospinal. Les fibres du FCS réalisent une décussation caudalement au bulbe rachidien, engendrant l'innervation des muscles controlatéraux à l'aire corticale de départ. Les motoneurones sont les neurones de la moelle spinale provenant du cortex moteur. *Adapté de (16).*

1.2 Réalisation d'un mouvement volontaire du bras et de la main

L'exécution d'un mouvement nécessite la participation de M1 (23, 25). Toutefois, la réalisation d'un mouvement volontaire est un mécanisme complexe passant par une boucle motrice, impliquant plusieurs régions cérébrales. Ainsi, un mouvement de précision de la main (préhension) passe par l'intégration d'informations provenant : (1) du cortex visuel primaire (lobe occipital) pour la localisation et la visée de l'objet, (2) du cortex préfrontal pour la planification et l'organisation du mouvement intentionnel (23), (3) du cortex pariétal puis (4) de PM pour la préparation du mouvement

intentionnel permettant avec (5) M1, son exécution. Enfin, (5) SI intervient également pour un « feedback » sensitif permettant l'ajustement du mouvement (16). M1 est ainsi à comprendre comme la région corticale ayant une influence directe sur le groupe musculaire concerné par le mouvement volontaire. De plus, les connections entre M1 et les motoneurons spinaux sont monosynaptiques (absence d'interneurones, intermédiaires entre des neurones) chez l'homme, à la différence des autres régions corticales motrices. Une atteinte de M1 est donc susceptible d'induire un déficit moteur des régions musculaires concernées.

2 L'accident vasculaire cérébral ischémique

2.1 Données épidémiologiques

Le terme « accident vasculaire cérébral » (AVC) regroupe un ensemble hétérogène d'atteintes cérébrovasculaires (26). Il est défini, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), comme le « *développement rapide de signes cliniques localisés ou globaux de dysfonction cérébrale avec des symptômes durant plus de vingt-quatre heures, pouvant entraîner la mort, et sans autre cause apparente qu'une origine vasculaire* » (27). Il s'agit d'une définition reposant sur les aspects principalement cliniques de l'AVC. En 2013, l'American Stroke Association s'est proposée de préciser cette définition en incluant les outils de diagnostic par imagerie (28).

Le terme AVC recouvre classiquement deux types distincts : les AVC ischémiques, comprenant **les infarctus cérébraux** ; et les AVC hémorragiques (2). Les AVC ischémiques sont majoritaires et représentent près de 85% des AVC (29).

A nouveau, selon l'OMS, l'AVC représenterait la seconde cause de mortalité dans le monde (1). De plus, il correspond à la troisième cause d'invalidité non traumatique (30). Selon la sévérité de l'AVC, les déficits fonctionnels acquis peuvent représenter un risque majeur de dépendance (30). Selon la Haute Autorité de Santé (HAS), 40% des patients victimes d'AVC conservent des séquelles fonctionnelles de gravité minimale à sévère, avec 25 % des patients gardant des séquelles lourdes au-delà d'un an (30).

Concernant les paramètres épidémio-cliniques des AVC ischémiques (15), la prévalence des AVC a connu une forte augmentation entre 1990 et 2005, avant de

décroître entre 2005 et 2013. L'augmentation des maladies cardiovasculaires au cours des dernières décennies contrecarrée par la suite par l'amélioration et la diffusion des mesures préventives est mise en cause. Toutefois, à l'échelle globale, la prévalence des AVC ischémiques demeure en accroissement depuis 1990 (31). L'incidence des AVC devrait continuer à accroître d'ici 2030, selon les estimations de l'OMS (32).

En France, la prévalence des AVC serait de 1,6% dans la population globale et de l'ordre de 3,2% dans la population âgée de plus de 50 ans (33). Concernant l'incidence, celle-ci est estimée à 130 000 cas par an (29) (Figure 6).

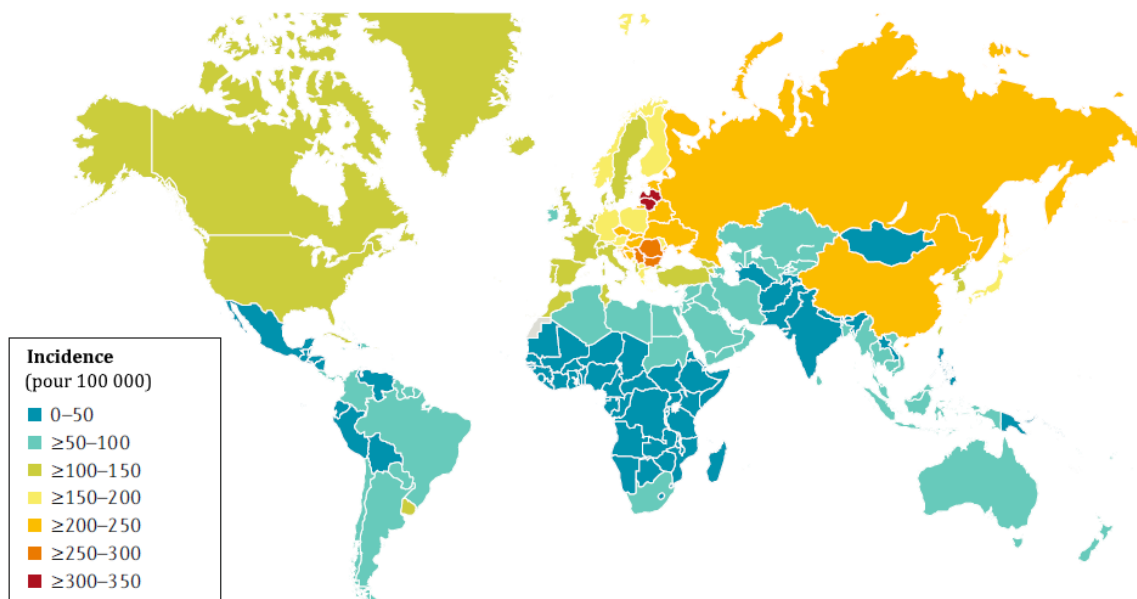


Figure 6 Situation épidémiologique des accidents vasculaires cérébraux ischémiques. Répartition mondiale des incidences des AVC. En France, l'incidence est estimée à 130 000 cas par an. Les données sont extraites de l'analyse du *Global Burden of Disease Study* (2017). Adapté de (31).

2.2 Facteurs de risque

Il est possible de distinguer deux grands types de facteurs de risque de l'AVC : les facteurs de risques « non modifiables », et les facteurs de risque « modifiables ».

Les facteurs de risque non modifiables incluent, notamment, l'âge, le genre, les facteurs génétiques et les antécédents familiaux (31). Ces facteurs représentent des variables inhérentes aux individus, auxquelles ils ne peuvent se soustraire. Pour exemple, les hommes seraient davantage touchés par les AVC ischémiques que les femmes (34).

Quant aux facteurs de risque modifiables, ces derniers renvoient aux facteurs sur lesquels peuvent agir les individus concernés (31). Il s'agit du principal bras de levier des mesures préventives. Selon INTERSTROKE (étude internationale de cas-témoins sur les facteurs de risque de l'AVC (35)), 10 facteurs seraient impliqués dans plus de 90% du risque de survenu d'un AVC ischémique (35). Parmi ces facteurs, l'on retrouve notamment : l'hypertension artérielle, les cardiopathies (infarctus du myocarde, valvulopathies), la consommation de tabac et d'alcool, le diabète sucré, ou encore la sédentarité (31). L'hypertension artérielle demeure le facteur de risque le plus important (36).

2.3 Etiologie

L'étiologie de l'AVC est vaste et variée (26). L'AVC ischémique correspond à l'interruption du débit sanguin cérébral, suite à une occlusion artérielle cérébrale, le plus souvent par une plaque d'athérome, ou par un embolie (2).

Les principales causes d'AVC ischémique sont l'athérosclérose artérielle, les cardiopathies emboligènes (fibrillation atriale, endocardite bactérienne), et les vasculopathies (lipohyalinose, vascularite) (26).

Dans les cas fréquents d'athérosclérose, l'AVC peut se manifester à la suite d'une atteinte proximale ou distale. En effet, les thrombi peuvent se former suite à l'érosion, par des phénomènes inflammatoires ou ulcératifs, de l'enveloppe formant la plaque d'athérosclérose, puis l'exposition du cœur de l'athérome à la circulation sanguine (31). Les thrombi ainsi formés occluent alors le vaisseau athérosclérotique ou atteignent des régions à distance par embolisation. Les AVC ischémiques surviennent le plus fréquemment au niveau de l'artère cérébrale moyenne (ACM) (37).

2.4 Physiopathologie

2.4.1 Unité cérébrovasculaire

La barrière hémato-encéphalique (BHE) s'établit en intermédiaire dynamique entre le SNC et le reste de la circulation systémique (38). Elle permet de maintenir

l'homéostasie de l'environnement cérébral (38). Elle est ainsi incluse anatomiquement et fonctionnellement dans l'unité neurovasculaire (UNV) (16) (**Figure 7**). Cette dernière comprend les principaux constituants du SNC, dont les neurones, les interneurones, la glie (astrocytes, microglie, oligodendrocytes et épendymocytes), les péricytes, les cellules endothéliales, les myocytes et les composants de la matrice extracellulaire (39, 40) (**Figure 7**).

Pour maintenir leur niveau intense d'activité métabolique (16), les neurones présentent de nombreuses mitochondries qui réalisent la « respiration cellulaire », au cours de laquelle est produit l'énergie cellulaire sous forme d'ATP (adénosine triphosphate). Toutefois, l'ATP n'est produit par les neurones qu'en condition aérobie (présence d'oxygène) et à partir du glucose, substrat préférentiel (16). Dans cette situation, les neurones jouent alors un rôle de « senseurs » des variations d'apport en nutriments et oxygène. Ils retranscrivent ces informations aux astrocytes (41) ou interneurones adjacents (40). De là, l'UNV enclenche les ajustements de la microcirculation cérébrale par vasomodulation (vasoconstriction, vasodilatation) (42).

Ainsi, les astrocytes assurent le maintien du tonus vasculaire (40). Ils modulent également la plasticité cérébrale et la transmission synaptique neuronale (43), par le biais de gliotransmetteurs excitateurs ou inhibiteurs (44), tels que l'acide γ -aminobutyrique (GABA), le glutamate, ou le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) (45).

Par ailleurs, les péricytes correspondent aux cellules murales assurant le soutien physique des cellules endothéliales et participent à l'angiogenèse (46). Grâce à leur capacité contractile (47), et tout comme les myocytes (40), ils modulent le diamètre vasculaire afin d'ajuster le débit sanguin à l'activité neuronale (48).

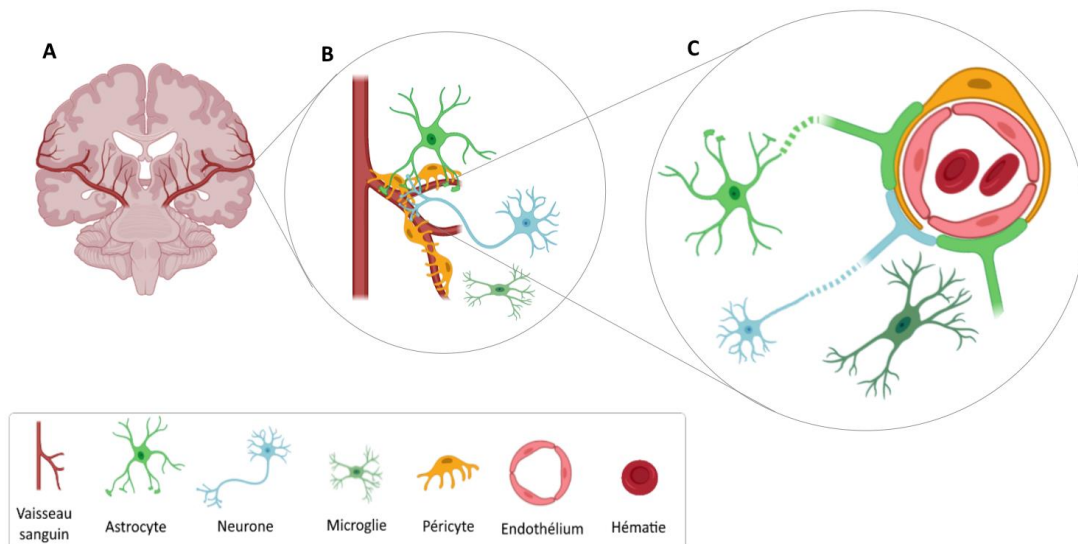


Figure 7 Schéma de l'organisation structurale de l'unité neurovasculaire. (A) Le réseau vasculaire cérébral définit la BHE et est formé par les cellules endothéliales. La BHE est incluse dans la notion d'UNV. (B) Les éléments clés de cette UNV sont les neurones, les cellules gliales, les péricytes, les cellules endothéliales, les myocytes et la matrice extracellulaire (non représentée). (C) L'endothélium est enveloppé par les péricytes, et directement ou indirectement par les pieds astrocytaires (16). Réalisation personnelle (BioRender©).

2.4.2 Mécanismes physiopathologiques

2.4.2.1 Physiopathologie de l'ischémie

2.4.2.1.1 Au niveau tissulaire

Les acteurs de l'UNV sont donc en première ligne lors d'un phénomène d'ischémie-reperfusion, au cours duquel ont lieu l'effondrement de l'UNV, et la rupture de la BHE (**Figure 8**).

Suite à la formation d'une thrombo-embolie à l'origine d'un infarctus cérébral (26), les mécanismes physiopathologiques de l'ischémie cérébrale correspondent aux conséquences du déficit énergétique induit (16). Ce dernier engendre l'incapacité pour les neurones à maintenir l'équilibre de leur gradient électrolytique transmembranaire. Ce déséquilibre ionique est alors à l'origine d'une perturbation des voies de signalisation neuronale (31), et d'une dépolarisation neuronale anoxique, favorisant la libération d'acides aminés excitateurs (glutamate). Etant également atteintes via l'activation des récepteurs 5 métabotropiques du glutamate (mGluR5), les cellules gliales n'assurent plus la clairance extracellulaire des neurotransmetteurs. Ceci

renchérit ainsi l'augmentation de la concentration extracellulaire en glutamate (**Figure 8**). Or, les neurones présentent des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA), impliqués dans les mécanismes de transmission synaptique (49). Dans cette situation pathologique, ces récepteurs NMDA sont suractivés par le glutamate. On parle alors de phénomène d'excitotoxicité, correspondant à une dégénérescence neuronale secondaire à l'hyperactivation de ces récepteurs (50).

De plus, le déséquilibre du gradient ionique induit l'entrée intracellulaire importante de calcium Ca^{2+} (51, 52), à l'origine d'autres processus délétères, comme l'activation de l'oxyde nitrique synthase (NOs) produisant des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (comme les radicaux libres) (53). Il est également à l'origine de l'initiation des mécanismes de nécrose et d'apoptose (31) (**Figure 8**). D'autre part, les astrocytes présentent des aquaporines (AQP), qui sont des canaux transmembranaires actifs, et qui permettent les échanges de molécules d'eau avec le milieu extracellulaire (16). Lors du déséquilibre du gradient électrolytique, l'entrée d'eau au sein des cellules engendre une turgescence pathologique, à l'origine d'un œdème cérébral, dit cytotoxique (16).

Par la suite, d'autres astrocytes activés, prolifèrent (« astroglie ») et acquièrent un phénotype, soit pro-inflammatoire, soit immunomodulateur dans les 48-96 heures post-ischémie (54). Et certains forment alors une « cicatrice gliale » hermétique et inhibitrice de la régénération neuronale (54).

Parmi la glie, les oligodendrocytes participent au phénomène de dégénérescence wallérienne correspondant à la dégénérescence retrograde des fibres nerveuses (13, 31) (**Figure 8**).

Par ailleurs, la rupture de la BHE tend à la rendre permissive aux cellules inflammatoires périphériques (31). Un processus inflammatoire s'initie donc et est caractérisé par l'activation rapide de la microglie résidente, suivie de l'afflux de macrophages, de polynucléaires neutrophiles et de lymphocytes d'origine systémique (31, 55, 56). En périlésionnel, les macrophages et la microglie activée sécrètent notamment des cytokines pro-inflammatoires INF- γ (interféron gamma) et IL-1 (interleukine-1) et les macrophages réalisent la phagocytose des débris nécrotiques (56) (**Figure 8**).

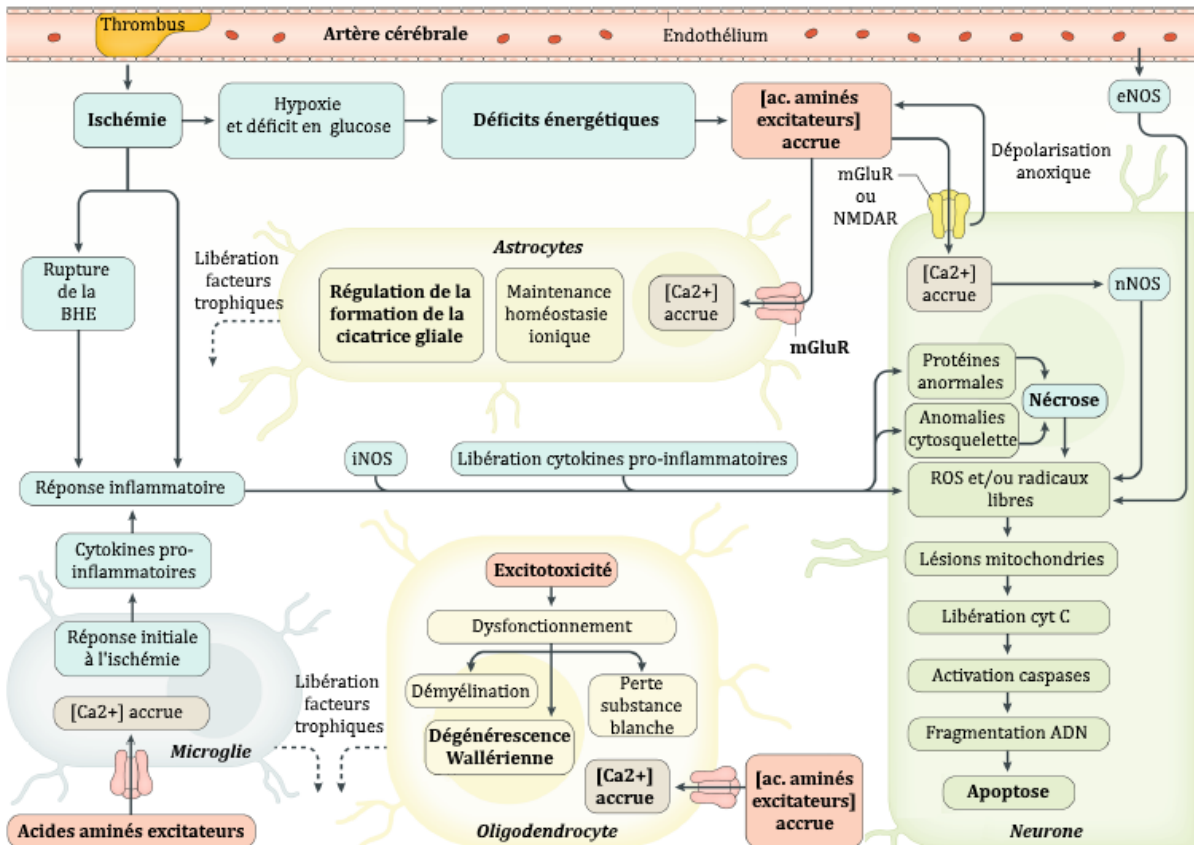


Figure 8 Mécanismes physiopathologiques de l'accident vasculaire cérébral. L'occlusion d'une artère cérébrale par un thrombus est le premier événement à l'origine du phénomène d'ischémie cérébrale. (2) Celle-ci s'accompagne d'un défaut d'oxygène et de substrat énergétique (glucose) à l'origine d'une altération du métabolisme cellulaire et d'une déficience énergétique pour toutes les cellules du territoire concerné (neurones, glie, endothélium). (3) La dépolarisation anoxique et le défaut de clairance mènent à l'augmentation de la concentration extracellulaire d'acides aminés excitateurs, notamment le glutamate. (4) Les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDAR ou NMDA) et les récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR) favorisent alors l'augmentation de la concentration intracellulaire calcique via un flux entrant et la libération à partir de réserves calciques intracellulaires. (5) La rupture de la BHE et la libération de cytokines pro-inflammatoires par la glie sont à l'origine de l'initiation d'une réponse inflammatoire. (6) L'ensemble cumulatif des conséquences de l'ischémie résulte en la mort neuronale, via différents mécanismes dont la nécrose, et l'apoptose. eNOS : oxyde nitrique synthase endothéliale ; nNOS : oxyde nitrique synthase neuronale ; iNOS : oxyde nitrique synthase inductible ; mGluR : Récepteur métabotrope du glutamate ; NMDAR : Récepteur du N-méthyl-D-glutamate ; [CA2+] : concentration calcique ; [ac. Aminés excitateurs] : concentration en acides aminés excitateurs ; cyt C : cytochrome C. *Adapté de (31).*

2.4.2.1.2 Au niveau vasculaire

Suite à l'altération de l'intégrité de la BHE près du site lésionnel, l'œdème cytotoxique est accompagné par la formation d'un œdème vasogénique (16). Celui-ci survient

généralement dans les 3 à 5 jours post-AVC chez l'homme et constitue l'une des complications les plus fréquentes (31).

Des modifications de la microvascularisation apparaissent également en périphérie et à distance du site d'infarctus. Suite à un AVC, il est possible de définir deux zones ischémiques distinctes : le cœur ischémique et la pénombre ischémique (57) (Figure 9). Le cœur ischémique est le territoire directement atteint par l'infarctus, où les lésions sont irréversibles. La pénombre ischémique correspond aux territoires en périphérie du cœur ischémique, recevant une perfusion déficiente mais suffisante pour les cellules pour conserver un niveau métabolique minimal (26).

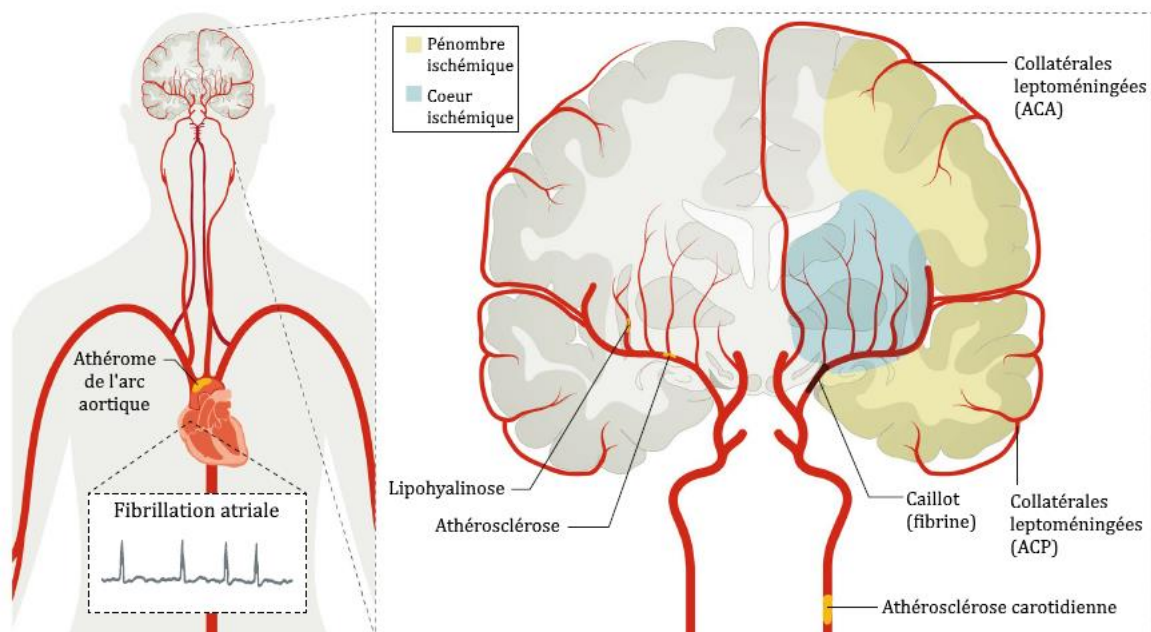


Figure 9 Représentation schématique des artères collatérales lors d'un accident vasculaire cérébral. Lors de l'occlusion proximale de l'ACA, le territoire cérébral lésé tend à évoluer en deux zones distinctes : le cœur ischémique et la pénombre ischémique. Distalement au cercle de Willis, un relais vasculaire est alors permis par les collatérales (leptoméningées) issus de l'artère cérébrale antérieure (ACA) et postérieure (ACP). Cette suppléance vasculaire apporte un soutien au métabolisme de base des cellules des territoires atteints. ACA : Artère cérébrale antérieure ; ACP : Artère cérébrale postérieure. *Adapté de (31).*

Ces deux zones sont identifiables électrophysiologiquement et histologiquement : mort cellulaire et infiltration neutrophilique au niveau du cœur ischémique, et viabilité cellulaire accompagnée d'une impotence électrique neuronale et une infiltration microgliale au niveau de la pénombre ischémique (31, 58). La reprise d'une perfusion

normale améliore les lésions tissulaires éventuelles de la pénombre ischemique. Elle est réalisable notamment grâce à l'adaptation dynamique de la vascularisation cérébrale (**Figure 10**). Le cercle de Willis est une structure vasculaire pouvant générer des artères collatérales en cas d'occlusion artérielle cérébrale (31), via les anastomoses leptoméningées (31) (**Figure 9**). Ces dernières atteignent préférentiellement la pénombre ischemique, limitant l'extension du cœur ischemique (59) (**Figure 9, Figure 10**).

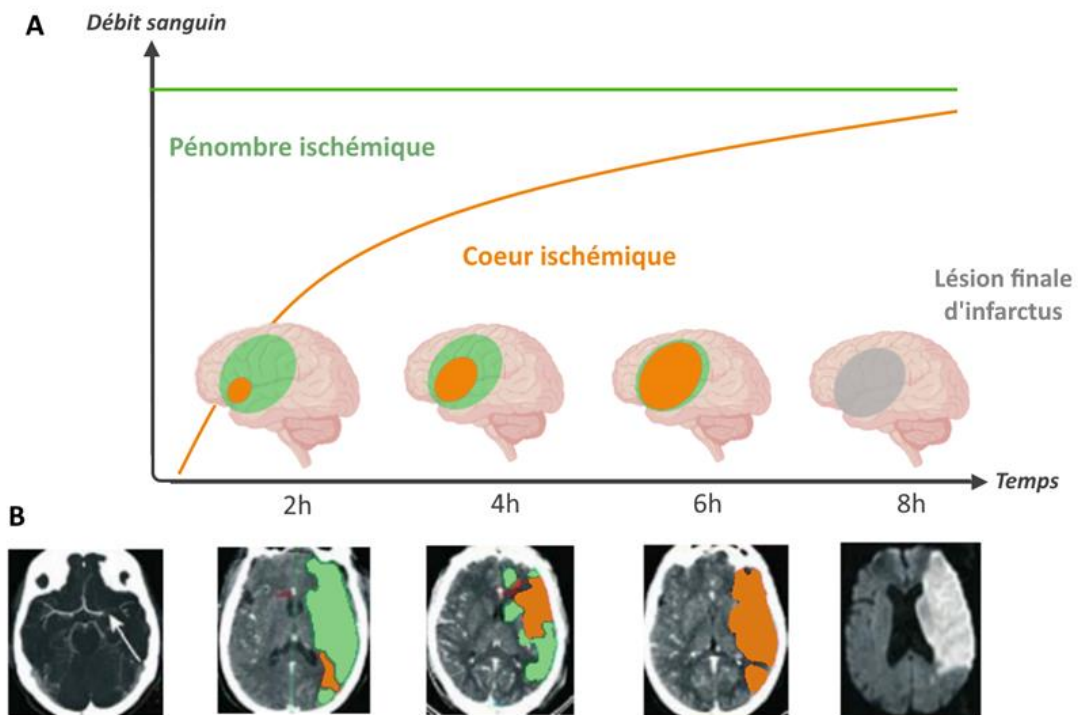


Figure 10 Représentation graphique de l'évolution spatiotemporelle de la lésion d'ischémie cérébrale en phase aiguë. (A) Le cœur ischemique (orange) s'étend progressivement aux dépens de la pénombre ischemique (vert). La cinétique d'évolution est variable, entre autres, en fonction de la suppléance vasculaire (collatérales), des mécanismes de neuroprotection (voir ci-dessous), et de la reperfusion spontanée et thérapeutique. La lésion finale de l'infarctus (gris), généralement moins étendue que la pénombre ischemique, caractérise l'extension du cœur ischemique. (B) Examens de tomodensitométrie ou d'IRM, permettant d'estimer le volume lésionnel. *Inspiré de (58).*

2.4.2.2 Physiopathologie de la reperfusion

Les mécanismes physiopathologiques de l'AVC se poursuivent au-delà de l'ischémie cérébrale. Un phénomène délétère d'«ischémie-reperfusion» peut survenir suite à la reperfusion, notamment thérapeutique, des territoires lésés. Il n'est alors pas

impossible de voir une dégradation clinique du patient (31). Ce phénomène est favorisé par l'ischémie prolongée engendrant le collapsus des capillaires distaux, dont la reperfusion rapide peut résulter en des hémorragies secondaires (31, 60).

L'ensemble des événements présentés ci-dessus s'enchaîne dans le temps avec une cinétique qui est propre aux mécanismes impliqués (dépolérisation, inflammation, mort cellulaire). Le graphique suivant replace donc ces mécanismes dans la chronologie de l'AVC (Figure 11).

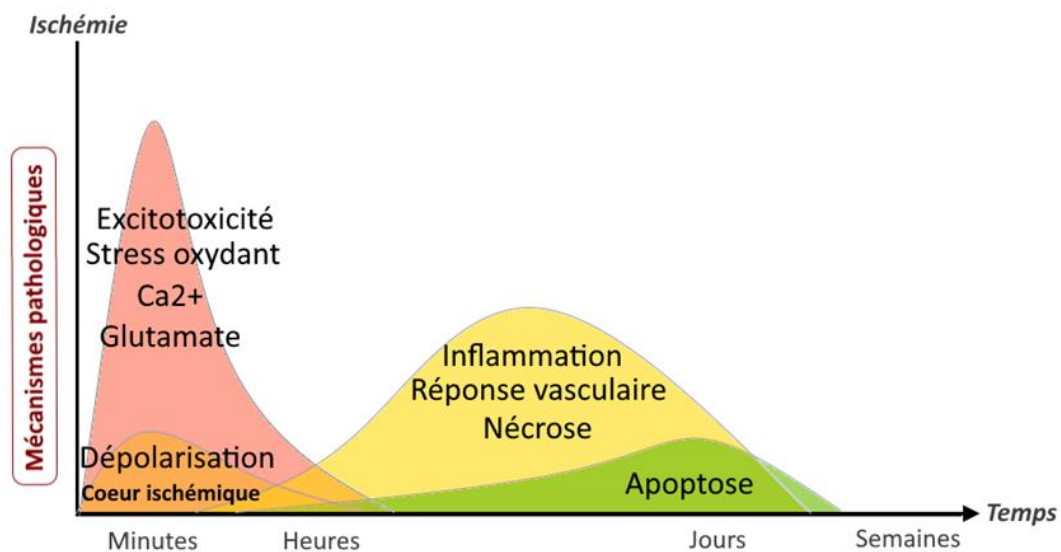


Figure 11 Cinétique des mécanismes physiopathologiques de l'ischémie cérébrale. Les données temporelles ne sont pas à l'échelle. Réalisation personnelle. Inspirée de (39).

2.5 Mécanismes de récupération

2.5.1 Plasticité cérébrale et mécanismes de compensation

De nombreux mécanismes de récupération se mettent en place à la suite d'une ischémie cérébrale. Quelques-uns seront présentés ici.

Ces mécanismes peuvent être générés par la « plasticité cérébrale », qui se définit comme la capacité pour le cerveau à développer, modifier ou constituer des connexions neuronales alternatives à celles lésées (31). La plasticité cérébrale peut impliquer, par exemple, la modification de l'efficacité synaptique ou la synaptogenèse (formation de synapses) (31). La « vicariance » est un processus qui fait appel à la

plasticité cérébrale. Elle implique l'existence de circuits nerveux capables de suppléer la fonction des zones cérébrales déficientes (61). Pour exemple, il peut s'agir du recrutement de régions cérébrales adjacentes, ipsilatérales ou controlatérales non lésées pour la réalisation d'une fonction motrice (**Figure 12**). A l'opposé, on peut retrouver la compensation, qui suppose l'exécution d'une fonction par d'autres mécanismes (62). Cliniquement, la compensation impliquerait, par exemple, d'utiliser le membre thoracique sain lorsque l'autre membre est impotent.

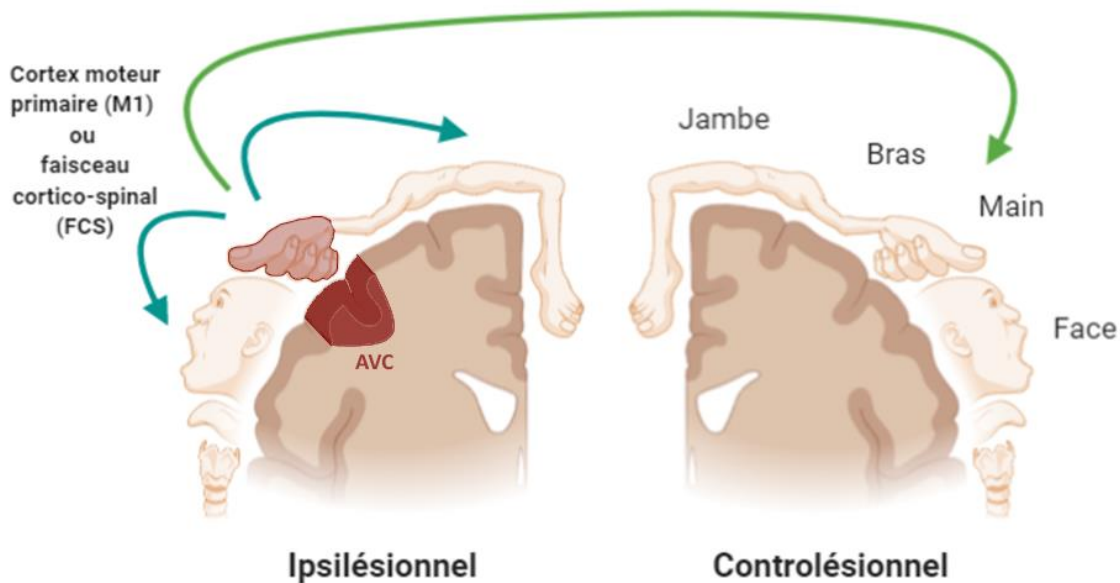


Figure 12 Illustration du mécanisme de vicariance. Recrutement des régions motrices controlésionnelles (vert) ou ipsilésionnelles (bleu) dans le cas d'un AVC au niveau de la région de M1, modulant l'activité motrice de la main. M1 : Cortex moteur primaire ; FCS : Faisceau cortico-spinal. *Réalisation personnelle (BioRender ©). Inspiré de (63).*

Par ailleurs, à l'inverse des exemples précédents, un phénomène de « plasticité maladaptative » (64) peut également survenir (**Figure 13**). Pour exemple, lorsqu'un membre thoracique déficitaire n'est plus utilisé au profit du membre sain à long terme, l'hémisphère cérébral controlésionnel (sain) est donc recruté pour réaliser les fonctions de l'hémisphère cérébral ipsilésionnel (lésé). Dans ce cas, les communications interhémisphériques via le corps calleux peuvent engendrer une augmentation de l'excitabilité de l'hémisphère cérébral sain et l'inhibition de l'hémisphère lésé (65). Or, l'activité cérébrale est trophique pour tous les territoires cérébraux. Ainsi, cette « non-utilisation » acquise du membre thoracique déficitaire est susceptible d'aggraver ses déficits moteurs.

2.5.2 Mécanismes de régénération spontanée

Des mécanismes régénératifs interviennent également en phase de récupération. Au sein du SNC adulte, les cellules souches de la zone sous-granulaire (ZSG) du gyrus denté de l'hippocampe et de la zone sous-ventriculaire (ZSV) des ventricules latéraux ont une capacité proliférative illimitée et un potentiel de différenciation en cellules neuronales, gliales ou endothéliales (39, 66). Dans un contexte pathologique, la neurogenèse est stimulée et les neurones néoformés migrent jusqu'au site lésionnel où ils pourront réaliser un remplacement cellulaire (67).

Toutefois, si un potentiel neurogénique et gliogénique ont pu être mis en évidence dans certaines régions du cerveau, dans ce contexte, ils demeurent relativement faibles par rapport aux mécanismes de plasticité cérébrale. De plus, expérimentalement, ces neurones restés dans la pénombre ischémique seraient davantage impliqués dans la modification du micro-environnement par la synthèse de facteurs trophiques (31, 68). Associés aux facteurs de croissance synthétisés par les astrocytes (BDNF, et facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)), ces facteurs trophiques permettent l'initiation des processus d'angiogenèse, de croissance axonale, puis de synaptogenèse (39, 58).

Ainsi, les mécanismes de plasticité cérébrale et de régénération tissulaire s'effectuent successivement sur plusieurs mois. Le graphique suivant retranscrit la chronologie des grands événements ayant lieu au cours de la phase aiguë et chronique de la récupération (**Figure 13**).

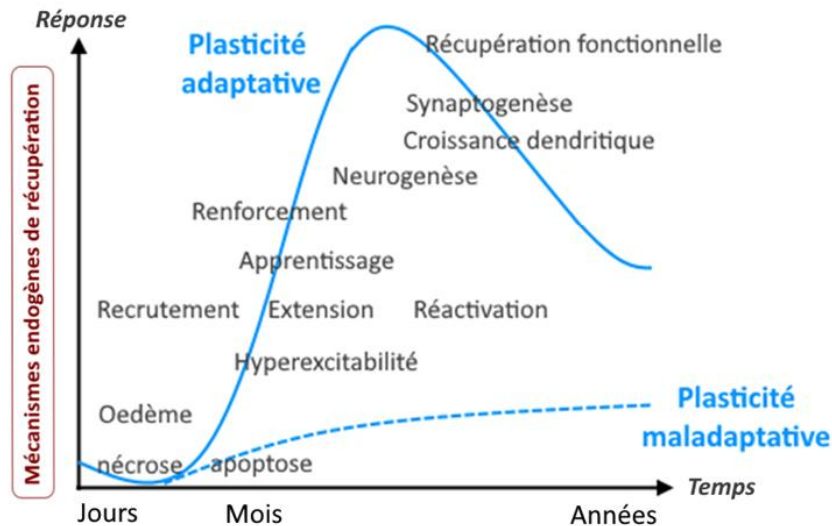


Figure 13 Représentation des mécanismes physiopathologiques, protecteurs et régénératifs lors de la phase de récupération fonctionnelle d'une ischémie cérébrale. Les deux niveaux de la plasticité (adaptative et maladaptative) sont également représentés. *Réalisation personnelle. Inspirée de (63).*

3 Stratégies thérapeutiques actuelles et futures

Les approches thérapeutiques dans le domaine des maladies cérébrovasculaires sont de mieux en mieux guidées (Figure 14). En prémisses de leur mise en place, elles bénéficient notamment des recommandations du groupe STAIR, Stroke Therapy Academic Industry Roundtable (69), rassemblant chercheurs académiques et industriels dévolus à l'amélioration des essais pré-cliniques et cliniques dans ce domaine. Ces recommandations ciblent toutes les étapes du développement d'une stratégie thérapeutique (69).

Les procédures thérapeutiques disponibles actuellement comprennent des traitements pharmacologiques (agents thrombolytiques, agents neuroprotecteurs), chirurgicaux (thrombectomie mécanique, stent, angioplastie, craniectomie décompressive) et alternatifs (physiothérapie). Hormis la prise en charge d'urgence, aucun consensus sur la thérapeutique à adopter n'est établi, à ce jour. La gestion médicale du patient se détermine, entre autres, en fonction des objectifs thérapeutiques et de la période post-ischémique (Figure 14).

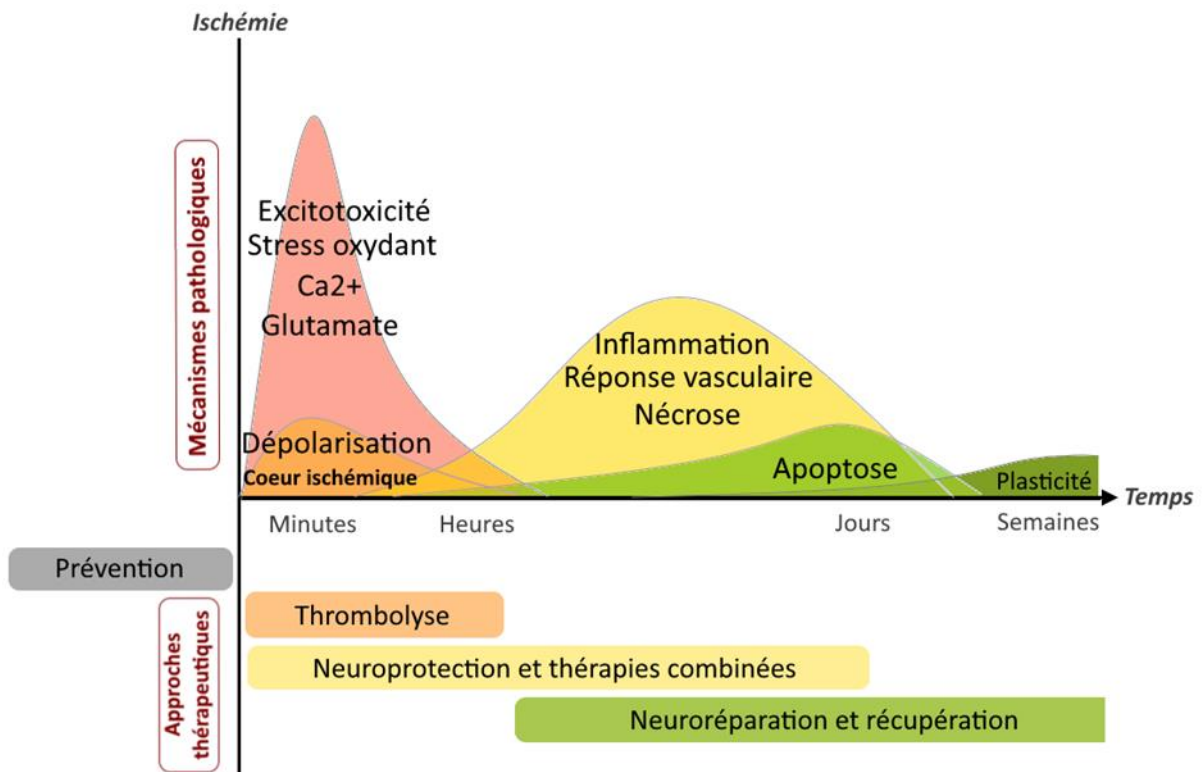


Figure 14 Profil de la cinétique des mécanismes physiopathologiques et approches thérapeutiques. Avant toute thérapeutique curative, se trouvent les moyens de prévention (facteurs modifiables) permettant de limiter au mieux la survenue d'un épisode d'ischémie cérébrale. Les techniques de gestion thérapeutique se déterminent, par la suite, en fonction de la phase post-ischémique. La prise en charge d'urgence vise à limiter l'aggravation des lésions, en favorisant la reperfusion cérébrale (thrombolyse). Des techniques de neuroprotection permettent de limiter les répercussions tissulaires de l'ischémie, en phase subaiguë. Enfin, la régénération tissulaire et la plasticité cérébrale sont ciblées en phase chronique. *Réalisation personnelle, inspirée de (39).*

3.1 Possibilités thérapeutiques

3.1.1 Thérapeutiques d'urgence

La thrombolyse intraveineuse et la thrombectomie mécanique correspondent aux deux traitements de reperfusion actuellement validés pour la gestion en urgence lors d'un AVC ischémique (70).

3.1.2 La thrombolyse intraveineuse

La thrombolyse intraveineuse correspond à un traitement fibrinolytique, à l'aide de l'Altéplase ou rt-PA (ACTILYSE®) (2). Son action cible la dissolution du thrombus (31),

afin de restaurer la perfusion du territoire cérébral atteint et limiter l'extension de la lésion ischémique (39).

Toutefois, la thrombolyse doit être initiée dans un délai recommandé de 4 heures 30 (maximum 9 heures) suivant le début de l'ischémie cérébrale (3). Cette fenêtre thérapeutique étant restreinte, seul 10% des patients présentés en urgence peuvent y prétendre (70). De plus, les risques hémorragiques et de survenue du phénomène d'ischémie-reperfusion ne sont pas négligeables (71).

3.1.3 La thrombectomie mécanique

La thrombectomie endovasculaire consiste en la canalisation (coil retrievers, stent retriever, aspiration) de la partie proximale de l'artère intracrânienne occluse (3) (artère basilaire, carotide interne intracrânienne et ACM) (2). A l'instar de la thrombolyse, la thrombectomie mécanique est à initier dans les 6 heures (maximum 24 heures) suivant le début de l'AVC. Elle constitue une alternative (fibrinolyse inaccessible, contre-indications), ou un complément thérapeutique à la thrombolyse (2).

Toutefois, ces deux traitements présentent de nombreuses limites non négligeables, dont le faible nombre de patients éligibles. Et leur effet thérapeutique n'inclut pas la résolution des lésions ischémiques et des déficits fonctionnels.

3.1.4 Autres thérapeutiques médicamenteuses

Outre les antiagrégants plaquettaires et antithrombotiques (72), un nombre important de traitements médicamenteux tente de faire les preuves de leur efficacité afin de répondre à la demande de restauration fonctionnelle. Quelques exemples seront présentés, ci-dessous.

3.1.4.1 *Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine*

L'une des complications fréquente d'un AVC est la dépression (30 à 50 % des patients à risque). Cette dernière pourrait être consécutive à la répercussion psychologique des déficits moteurs, ou à la dégradation de l'estime de soi lors de dépendance

fonctionnelle à un tiers. Le phénomène dépressif post-infarctus cérébral assombrirait non seulement le pronostic fonctionnel mais également vital. C'est dans ce contexte que les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) ont été envisagés dans la prise en charge de l'AVC. Ils ont démontré actuellement leur efficacité et leur tolérance chez les patients (73). Pour exemple, dans un essai clinique en double aveugle contre placebo et combinant évaluation clinique et fonctionnelle en IRM, une corrélation a été établie entre la prise d'une monodose de fluoxétine (20 mg) et l'amélioration des performances motrices chez des patients hémiparétiques en phase aiguë (74). En plus de l'effet préventif des phénomènes dépressifs, la fluoxétine module ainsi la plasticité cérébrale (IRM fonctionnelle) (75).

3.1.4.2 Facteurs activateurs/inhibiteurs

Une autre approche thérapeutique est envisageable par l'abord de l'inhibition ou la promotion des mécanismes cellulaires endogènes.

Les facteurs de croissance neurotrophique sont susceptibles d'apporter une action neuroprotectrice et de favoriser la récupération structurale et fonctionnelle (76). Pour exemple, le facteur de croissance des fibroblastes (bFGF) aurait un effet bénéfique sur la croissance axonale, la synaptogenèse, la prolifération gliale et l'angiogenèse. Une réduction du volume lésionnel est également constatée (77).

Cependant, ces traitements restent encore au rang d'essais cliniques.

3.1.5 Thérapeutiques alternatives ou complémentaires

A l'inverse, sachant la plasticité cérébrale relativement faible et lente dans ce contexte pathologique, une modulation de cette plasticité cérébrale par des techniques alternatives et la **rééducation** (39) est de plus en plus envisagée dans la prise en charge globale des patients (73).

Parmi les techniques disponibles se trouvent l'imagerie motrice (répétition mentale d'une tâche motrice) (78), la kinésithérapie (79) et la kinésithérapie par contrainte induite visant à limiter le phénomène de « non-utilisation acquise » du membre parétique (immobilité contrainte du membre sain) (80).

3.2 Thérapies cellulaires

3.2.1 Objectifs thérapeutiques

De plus en plus de travaux de recherches se focalisent sur la thérapie cellulaire. Cette dernière tente notamment d'associer intégrité tissulaire (protection, réparation) et récupération fonctionnelle (4, 39). Différents types cellulaires sont employés et pour chacun, des modalités d'administration y sont spécifiques (voie d'administration, posologie, moment et durée de la thérapie).

La thérapie cellulaire repose sur deux mécanismes principaux : le remplacement cellulaire et/ou la libération de facteurs trophiques (81, 82). Dans son aspect pratique, cela permettrait de limiter la multiplicité des traitements, pour n'en employer qu'un seul.

3.2.2 Sources et types cellulaires

Plusieurs sources cellulaires existent. Selon des méta-analyses, la moelle osseuse (MO) s'impose comme source cellulaire optimale (83, 84). Toutefois, d'autres sources semblent plus profitables, notamment d'un point de vue pratique. Pour exemple, le tissu adipeux (AD) est intéressant (85), par sa disponibilité, et son accessibilité par des méthodes peu invasives (lipoaspiration) (86).

Toutefois, au-delà de l'aspect pratique, la nature du tissu d'origine influence la nature des facteurs tissulaires associés aux cellules. Ces facteurs constituent une limite dans le choix de la source cellulaire. Pour exemple, en 2011, dans un modèle rongeur d'AVC ischémique, Ikegame et al. ont mis en évidence une amélioration clinique (réduction du volume lésionnel et de l'œdème, augmentation de la concentration en cytokines pro-angiogéniques) chez les individus ayant reçu une greffe de cellules souches mésenchymateuses (CSM) provenant du tissu adipeux (AD-CSM), par rapport à ceux ayant reçu une greffe de MO-CSM (87). Et cette variabilité s'observe également pour les effets secondaires (par exemple, AD-CSM et risque thrombo-embolique (88)).

D'autre part, le type de cellules détermine le mécanisme d'action, et préfigure les effets de la thérapie. Le type cellulaire doit donc être fonction des objectifs thérapeutiques ciblés (phase aiguë ou chronique) (89).

A ce jour, les études précliniques et cliniques ont permis de tester différents types cellulaires (89), tels que les cellules souches embryonnaires (CSE), les cellules souches pluripotentes induites (iPSC, en anglais), les CSM, les cellules progénitrices adultes multipotentes (MAPC, en anglais), les cellules progénitrices endothéliales (CPE), et les cellules mononucléaires (CMN) (Figure 15). Toutefois, ces études ne permettent pas de faire consensus sur le type cellulaire le plus efficace (85).

Les iPSC correspondent à des cellules somatiques reprogrammées pour retrouver un état embryonnaire (89) et exprimer les gènes de pluripotence (Oct4, Klf4, Sox2 et c-Myc) (90, 91). Bien que potentiellement intéressantes pour la réalisation de transplantation autologue, les iPSC présentent un risque tumorigène non négligeable (89).

Par ailleurs, un grand nombre de source de cellules souches est actuellement exploité (tissu neural adulte, sang périphérique, AD, MO, cordon ombilical, pulpe dentaire) (89). Les plus fréquemment exploitées sont les CSM. Elles peuvent donner lieu à des greffes autologues ou allogéniques (89), sachant leur faible immunogénicité (85). Elles ne présentent pas de risque tumorigène (89). De plus, transitoirement neurotransplantées, elles tendent à fournir de nombreux facteurs trophiques, favorisant neurogenèse, synaptogenèse et angiogenèse (89). Toutefois, leur innocuité reste, à ce jour, débattue. De plus, la rémanence de cellules souches au site d'injection serait limitée (environ 5%) dans les jours qui suivent leur transplantation (92).

Enfin, dernier exemple, avec les cellules progénitrices neurales (CPN). Ces dernières participent à la régénération neuronale endogène du cerveau adulte (93). Pour la thérapie cellulaire, elles peuvent provenir de tissu embryonnaire, fœtal ou adulte et être aisément amplifiées en culture (94, 95). De plus, elles présentent des capacités de migration et de pluripotence (96). Toutefois, leur utilisation reste controversée en raison de considérations éthiques (origine embryonnaire et fœtale) et de leur risque tumorigène (85).

3.2.3 Voies d'administration

A ses débuts, la thérapie cellulaire s'abordait par voie intraparenchymateuse. Actuellement, les essais explorent d'autres voies d'administration (intraveineuse, intra-artérielle, intrathécale) (89, 97).

A nouveau, aucun consensus n'est établi concernant la voie d'administration. Celle-ci est à définir en fonction des autres modalités de la thérapie (type cellulaire, effets et objectifs thérapeutiques, etc.). Pour exemple, la voie intraveineuse est facilement accessible, peu invasive et rapide. Elle n'en demeure pas moins limitée par un effet-dilution, un risque de répartition systémique, une atteinte non prévisible de l'organe cible et une possible filtration pulmonaire et rénale (98). Devant la nature de l'atteinte, la voie intracérébrale (ou intraparenchymateuse) stéréotaxique conviendrait donc davantage malgré le caractère invasif (89).

3.2.4 Modalités d'administration

Par ailleurs, l'échéance de la thérapie cellulaire doit être déterminée en fonction des objectifs thérapeutiques (89). La thérapie cellulaire en phase aiguë (< 3 semaines) à subaiguë ([3 semaines – 6 mois]) (99) est réalisée préférentiellement afin de limiter la perte cellulaire par le biais d'effets neuroprotecteurs et anti-inflammatoires (85), ou de réaliser un remplacement cellulaire. La thérapie cellulaire en phase chronique (> 6 mois) (99) vise, quant à elle, la récupération fonctionnelle (89), par le biais de facteurs trophiques, par exemple (85).

De plus, l'ensemble des modalités d'administration doit être déterminé avec précision afin d'assurer la reproductibilité des résultats (effets thérapeutiques) (92).

3.2.5 Mécanismes thérapeutiques

3.2.5.1 Remplacement cellulaire

Les premiers essais ayant ciblé en particulier le remplacement cellulaire ont exploité les CPN d'origine humaine ou porcine fœtale (xénotransplantation) (94, 100). Une amélioration fonctionnelle associée à une survie et une différenciation cellulaire modestes a été rapportée dans des modèles AVC sur rongeurs (95). Toutefois, les

problématiques éthiques, les risques (zoonotique, tumorigène) et les effets secondaires (thrombophlébite) mitigent les résultats (85, 100).

Certains essais se focalisent plus spécifiquement sur la reconstruction de l'UNV (85). Parmi les premières études, on peut retrouver les cellules souches hématopoïétiques (CSH) ou les cellules progénitrices endothéliales (CPE) exploitées sur modèle rongeur d'ischémie cérébrale (85). Les CPE peuvent s'intégrer au réseau vasculaire préexistant et initier une neurogenèse (101).

3.2.5.2 Effets paracrines

De nombreux types cellulaires peuvent modifier favorablement leur micro-environnement via la libération de facteurs.

Pour exemple, les cellules souches de la pulpe dentaire (CSPD) (102) présentent des propriétés immunomodulatrices, neuroprotecteurs et des effets neurogéniques, via notamment la sécrétion de facteurs neurotrophiques (facteur de croissance nerveuse (NGF), neurotrophin-3, BDNF, GDNF, facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)) (103). Néanmoins, leur innocuité n'est pas encore établie et leur efficacité reste à être prouvée (98).

Par ailleurs, en raison de l'atteinte généralisée à l'ensemble des cellules du territoire concerné (neurones, astrocytes, cellules endothéliales, etc.) (4), la thérapie optimale se veut être au plus exhaustive sur les effets régénératifs (81), en incluant neurogenèse, angiogenèse, synaptogenèse, gliogenèse (4). C'est notamment le cas pour les cellules souches neurales (CSN), apportant une neuroprotection (prévention de l'apoptose neuronale), des effets immunomodulateurs locaux et systémiques, une stimulation de la neurogenèse et l'angiogenèse endogènes et limitant la formation de la cicatrice gliale (104). Toutefois, leur innocuité reste aussi à être validée en phase clinique (85).

3.2.6 Développement translationnel

Le groupe « Stem cell Therapeutics as an Emerging Paradigm in Stroke » (STEPS) a établi les principales lignes directrices sur le développement translationnel d'une

biothérapie (105). Ces recommandations rejoignent celles sur l'expérimentation animale (STAIR) (69), au regard des précautions à prendre vis-à-vis de la transposition d'un protocole thérapeutique au domaine clinique.

Le schéma de développement de toute stratégie thérapeutique s'appréhende de la manière suivante. La commercialisation sur le marché d'un traitement nécessite de passer par un ensemble de 4 phases. La phase 0 correspond à la découverte ou la recherche du futur traitement et ses essais précliniques (*in vitro* et *in vivo* sur modèle animal) (106). Les phases suivantes (I-III) sont dites cliniques, et réalisées avec des patients humains. Les recommandations STEPS sont alors, en partie, axées sur les objectifs de chacune de ces phases cliniques. Les premières phases (phases I/IIa) doivent montrer l'innocuité et la faisabilité de la transplantation dans un contexte d'ischémie cérébrale. Ce dernier inclut de recruter un large panel de patients, représentatif de l'ensemble des sous-types de l'AVC ischémique et des intensités de sévérité variées (107). Une fois les deux paramètres (sécurité et faisabilité) vérifiés, la phase suivante (phases IIb) peut se focaliser alors sur l'efficacité de la thérapie. Cette phase implique de restreindre au mieux les participants à un groupe homogène de patients (déficit fonctionnel comparable). Enfin, les phases plus tardives (phases II/III) devront adopter la méthodologie standard des essais cliniques (randomisation, contrôle, en aveugle) pour confirmer l'efficacité de la thérapie (107) (Figure 15).

3.2.7 Essais cliniques

Une des difficultés de la transposition d'une thérapie cellulaire chez l'homme réside dans la détermination d'un protocole d'administration adapté, et la reproductibilité de l'effet thérapeutique (107, 108).

De nombreux essais sont en cours et tentent de développer la stratégie thérapeutique la plus satisfaisante, d'un point de vue régénératif, en majorant l'innocuité. En 2019, Negoro et al. ont réalisé l'analyse des données d'enregistrement des essais cliniques à travers le monde (à l'aide des banques de données : ClinicalTrials.gov, tenue par la bibliothèque américaine de médecine (NLM), et le Système d'enregistrement international des essais cliniques (ICTRP) de l'OMS). Une certaine tendance ressort de l'analyse (5). En phase aigüe, les CSM sont utilisées de manière préférentielle, par voie intraveineuse, à forte dose, apportant notamment leur effets immunomodulateurs.

En phase chronique, diverses sources cellulaires sont employées, notamment par voie intracrânienne, à plus faible dose (5). Les transplantations sont davantage autologues (52%), à mettre en relation avec le risque minoré de rejet immunitaire (5). De plus, les CSM et les CMN composent majoritairement les transplantations, et proviendraient principalement de la MO (60% des études).

Les essais cliniques se répartissent généralement entre la phase I et les phases II. Pour exemple, le projet de Steinberg et al., mené entre 2011 et 2016 correspond à un essai de phase I/IIa, non randomisé, constitué d'un groupe (n = 18) bénéficiant d'une transplantation allogénique de cellules stromales modifiées provenant de la MO (2,5, 5, ou 10 x 10⁶) par voie intracrânienne. L'évaluation fonctionnelle a été réalisée sur deux ans par le biais d'échelles neurologiques (NIHSS et mRS) (voir **5 Méthodes d'évaluation structurelle et sensorimotrice**). Les résultats font état de la faisabilité, l'innocuité de la greffe, et de l'amélioration des scores fonctionnels (à l'exception du score mRS) (109).

Quelques études parviennent aux dernières phases cliniques. Pour exemple, MultiStem® Administration for Stroke Treatment and Enhanced Recovery Study (MASTERS-2) est une étude randomisée, en quadruple aveugle, avec groupe contrôle, ayant débutée en 2018 et employant des MO-CSM allogéniques, dans le cas d'AVC ischémiques (110).

A ce jour, aucune thérapie cellulaire pour l'AVC n'est disponible pour un usage en clinique. La poursuite des recherches se rend donc indispensable, afin notamment d'établir les modalités les plus satisfaisantes de la thérapie cellulaire. La figure suivante illustre le schéma de développement scientifique dans le contexte des AVC (**Figure 15**).

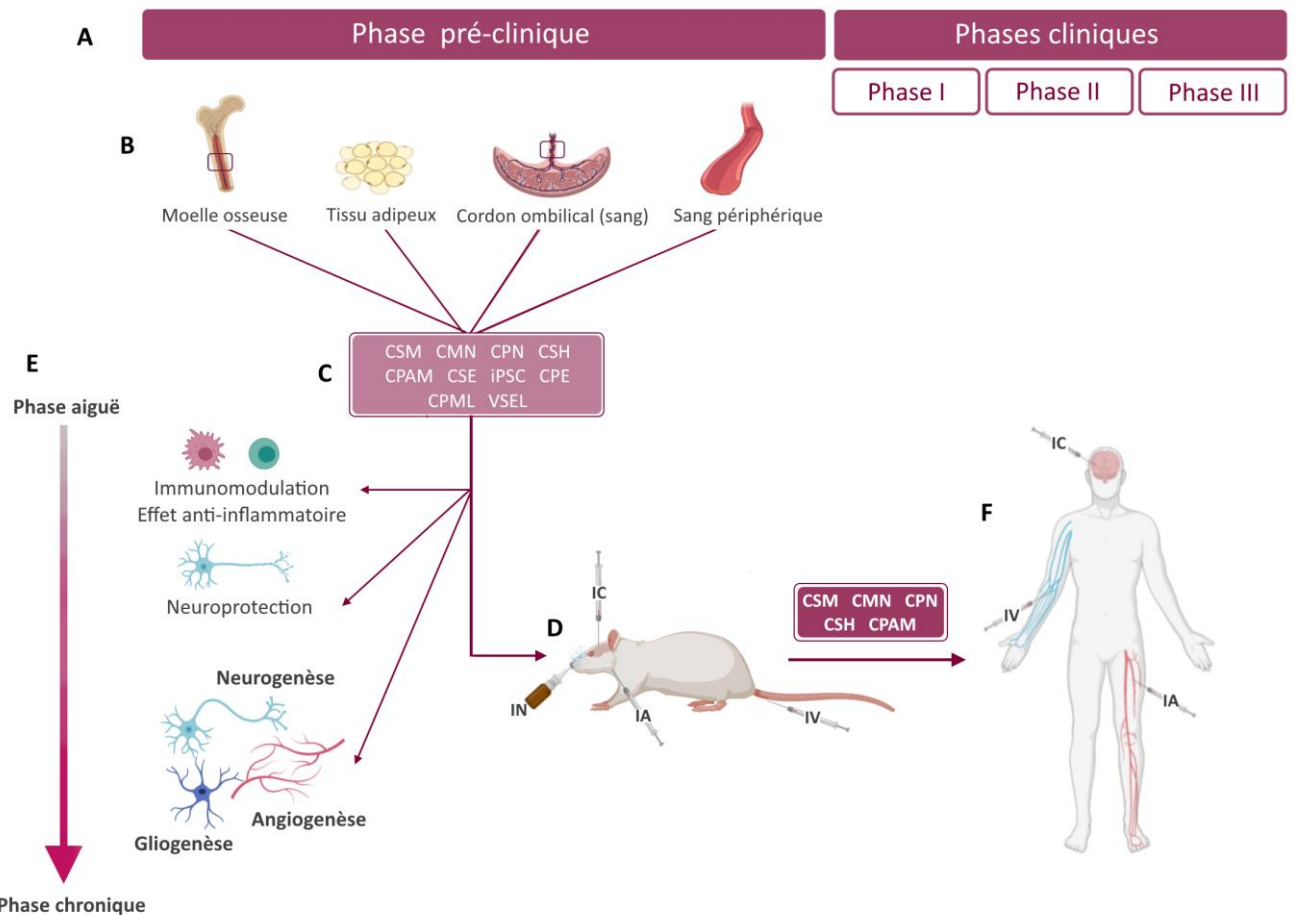


Figure 15 Développement d'une thérapie cellulaire pour la gestion de l'accident vasculaire cérébral chez l'homme.

(A) Déroulement du concept « du laboratoire à la clinique ». La phase préclinique inclut notamment les étapes expérimentales *in vitro* et *in vivo* (modèle animal). Elle permet d'établir l'innocuité et l'efficacité des cellules utilisées dans le cadre d'un protocole thérapeutique. Elle aboutit sur l'élaboration des modalités de la thérapie pour sa transposition chez l'homme (phases cliniques). (B) Les sources principales de cellules : la moelle osseuse, le tissu adipeux, le sang du cordon ombilical, le sang périphérique. (C) Le choix peut alors se porter sur différents types de cellules, ayant des propriétés variées (pluripotence, multipotence). (D) Le choix de la voie d'administration est inclus dans la stratégie thérapeutique. Différentes voies sont accessibles. (E) La phase pré-clinique permet la conception d'un protocole répondant aux objectifs thérapeutiques. La thérapie cellulaire peut ainsi être réalisée en phase aiguë et cibler les mécanismes de neuroprotection et de modulation de l'inflammation. Les thérapies en phase chronique ciblent davantage les processus de régénération tissulaire (neurogenèse, gliogenèse, angiogenèse) et les phénomènes de plasticité cérébrale (synaptogenèse). (F) Enfin, le développement clinique permet de confirmer ou infirmer la faisabilité et l'efficacité de la thérapie cellulaire chez l'homme. CSM : cellule souche mésenchymateuse ; CMN : cellule mononucléaire ; CPM : cellule progénitrice neurale ; CSH : cellule souche hématopoïétique ; CPAM : cellule progénitrice adulte multipotente ; CSE : cellule souche embryonnaire ; iPSC : cellule souche pluripotente induite ; CPE : cellule progénitrice endothéliale ; CPML : cellule progénitrice du muscle lisse ; VSEL : petite cellule souche embryonnaire-like ; IC : intracrânienne ; IN : intranasale ; IA : intra-artérielle ; IV : intraveineuse. Réalisation personnelle (BioRender ©), inspiré de (85, 98, 106).

4 Le modèle animal et le modèle de lésion cérébrale

4.1 Marmouset : modèle de primate non-humain

4.1.1 Ecologie et biologie

Le ouistiti ou marmouset commun (*Callithrix jacchus* (Linnaeus, 1758)) est un petit primate du « Nouveau Monde », appartenant à la famille des Cébidés et au genre *Callithrix*.

Il s'agit d'une espèce endémique du nord du Brésil (11), qui possède une grande capacité d'adaptation à de nouveaux environnements (forêt atlantique tropicale humide, et forêts épineuses de Caatinga) (11, 111).

C'est un primate de petite taille, mesurant en moyenne entre 14 et 18 cm. Le poids corporel moyen en milieu sauvage est d'environ 322 g, variant notamment selon l'âge et le genre (112). C'est une espèce diurne, arboricole, dont les individus se réunissent et vivent en groupes sociaux de 3 à 17 individus dans le milieu naturel (11). De manière générale, la communication intraspécifique est riche et se réalise grandement par le biais de signaux visuels, auditifs, olfactifs et tactiles.

Parmi les critères de diagnose de l'espèce de marmouset commun, l'on peut retrouver de longues houppes auriculaires blanches (3 cm) ou grisâtres, une tache pileuse blanche au niveau du front, un pattern strié du pelage sur le tiers caudal du dos, et un pattern annelé de gris clair (anneaux étroits) et noir (anneaux larges) sur le pelage de la queue (Figure 16).

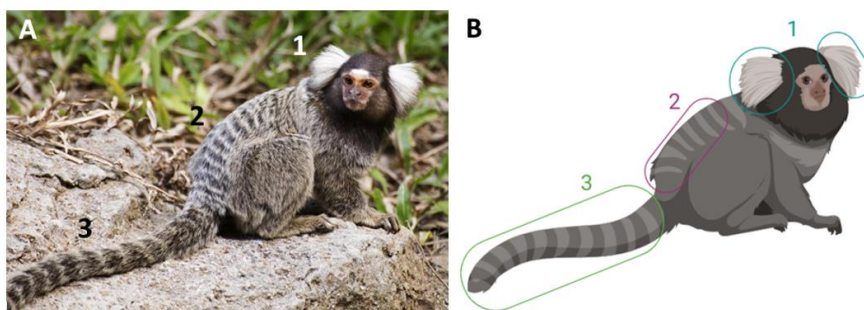


Figure 16 Critères de diagnose du marmouset commun (*C. jacchus*). Les critères morphologiques de diagnose incluent : (1) une houppes auriculaire blanche, (2) un pelage strié en région dorso-caudale, (3) et une longue queue annelée. *Image de Wild Kratts Wiki, 2019.*

Ainsi, le marmouset se présente comme une espèce adaptative écologiquement. Toutefois, il comprend également une richesse de comportements sociaux, qu'il est indispensable de reconnaître et d'inclure dans le cadre de la captivité, notamment dans le domaine de la recherche.

4.1.2 Présence dans le domaine expérimental

Dans le domaine expérimental, le marmouset se révèle être un compromis idéal entre les rongeurs et les grands primates, vis-à-vis de la fiabilité scientifique du modèle et des considérations éthiques (113).

Tout d'abord, en tant que primates non humains (PNH), le marmouset présente l'avantage d'une proximité phylogénétique à l'homme plus grande que celle des modèles rongeurs (114).

Le monde des sciences le convoite également pour sa grande compliance. Le marmouset est une espèce de primate de petit gabarit, dont la contention et les manipulations peuvent se faire assez aisément. Il présente également une période de gestation courte, une maturité sexuelle tôt et un taux de reproduction relativement élevé, maintenu en captivité (113). D'autre part, il tire l'avantage non négligeable de présenter moins de risques zoonotiques, en comparaison aux autres PNH (par exemple, *Herpesvirus simiae* et macaques) (113). De plus, le marmouset commun présente une grande diversité de comportements sociaux, proche de celle de l'homme (115). Il devient alors plus aisé d'anticiper leur gestion technique en captivité, d'une part et d'exploiter des techniques semblables à celles utilisées chez l'homme (par exemple, l'évaluation comportementale), d'autre part.

Concernant le domaine des neurosciences, une base de données sur sa neuroanatomie est actuellement disponible aux scientifiques (115). Comme les rongeurs, le marmouset est une espèce lissencéphale, c'est-à-dire dont le cortex cérébral est dépourvu de circonvolutions (116). D'un point de vue technique, cette particularité en fait un modèle de laboratoire intéressant pour les études intervenant au niveau cortical (exemple de l'implantation de microélectrodes).

D'autre part, de nombreuses recherches dans différents domaines ont recours au marmouset. Ce dernier intervient, entre autres, dans le cadre d'études sur le système

auditif (117) ou visuel (118). Les marmousets sont aussi employés en tant que modèle dans l'étude de la moelle spinale (119). En effet, ce sont des animaux dextres (116), adaptés aux études de récupération fonctionnelle de la motricité manuelle dans le cas de lésions neurologiques. De plus, les marmousets montrent des capacités d'apprentissage et une curiosité qui facilitent les entraînements de comportements itératifs en l'absence de restriction alimentaire (116). Enfin, ils sont de plus en plus inclus dans la recherche sur le vieillissement, les maladies liées à l'âge et les maladies neurodégénératives, telles que la maladie de Parkinson (120).

4.1.3 Considérations éthiques quant à son emploi expérimental

Les marmousets présentent une facilité de régie qui n'est effective que si des mesures de précautions à l'emploi des PNH sont prises.

Dans le cadre de détention en animalerie, les marmousets sont à apparier au minimum par deux au sein d'une cage (121). Les groupes sont alors formés d'individus de genre et de statut social compatibles avec une cohabitation paisible. Cette disposition offre la possibilité à cette espèce sociale de pouvoir exprimer une partie importante de ses comportements sociaux. De plus, il est préférable de placer les cages des marmousets côte-à-côte et/ou en face avec la possibilité pour chacun de pouvoir communiquer visuellement et vocalement avec d'autres individus (121).

Concernant l'alimentation, les marmousets reçoivent quotidiennement une ration adaptée à leur besoins, mise à disposition de manière libre et de l'eau *ad libitum* (111). Des restrictions alimentaires sont à imposer uniquement lors de la réalisation d'anesthésie générale en vue d'opérations chirurgicales, d'exams d'imagerie et éventuellement d'évaluations comportementales (122).

Une surveillance de l'état de santé générale est réalisée quotidiennement à bi-quotidiennement par le personnel zootechnique. Et un contrôle clinique, voire paraclinique si nécessaire, est réalisé régulièrement par le vétérinaire référant du laboratoire.

4.1.4 Avantages du modèle marmouset dans l'évaluation de déficits moteurs d'origine cérébrale

En comparaison au rat, le marmouset présente un ratio substance blanche/substance grise élevé, proche de l'homme, et un cerveau de taille 4 fois supérieure à celle du rat (Figure 17).

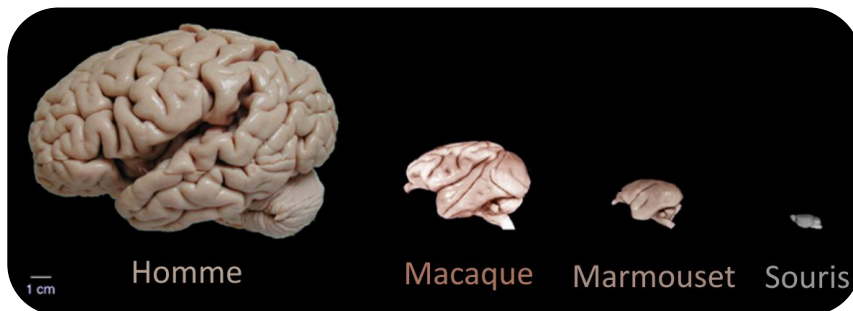


Figure 17 Comparaison anatomique entre l'homme, deux autres espèces de primates (macaque, marmouset) et une espèce de rongeur (souris). *Adaptée de (20).*

Par ailleurs, de nombreuses similitudes existent entre le système moteur des marmousets et celui de l'homme. Ainsi, Walker et al. ont permis de mettre en évidence une organisation générale des aires motrices corticales conservée entre les marmousets, les hommes et les macaques (116), à commencer par le cortex moteur primaire (M1, aire 4) (Figure 18).

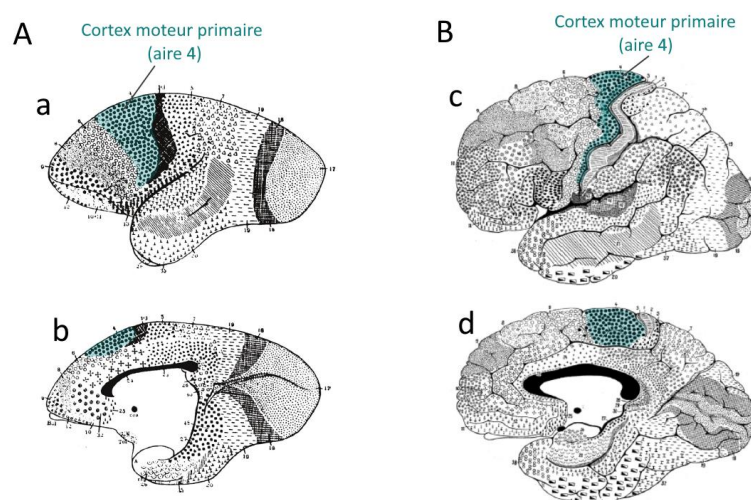


Figure 18 Carte des aires corticales chez le marmouset (A) et l'homme (B). L'organisation corticale et la répartition du cortex moteur primaire (M1 ou aire 4 de Brodmann) chez l'homme et le marmouset sont semblables. (a, c) Face latérale du cortex cérébral, (b, d) face médiale du cortex cérébral. *Adapté de (19, 115).*

Par ailleurs, malgré une variation interindividuelle, le marmouset présente une organisation somatotopique de M1 comparable à celle de l'homme. Les muscles des membres pelviens, axiaux (cou, tronc, queue), des membres thoraciques et de la face sont représentés de la face médiale vers la face latérale de M1 (**Figure 19**).

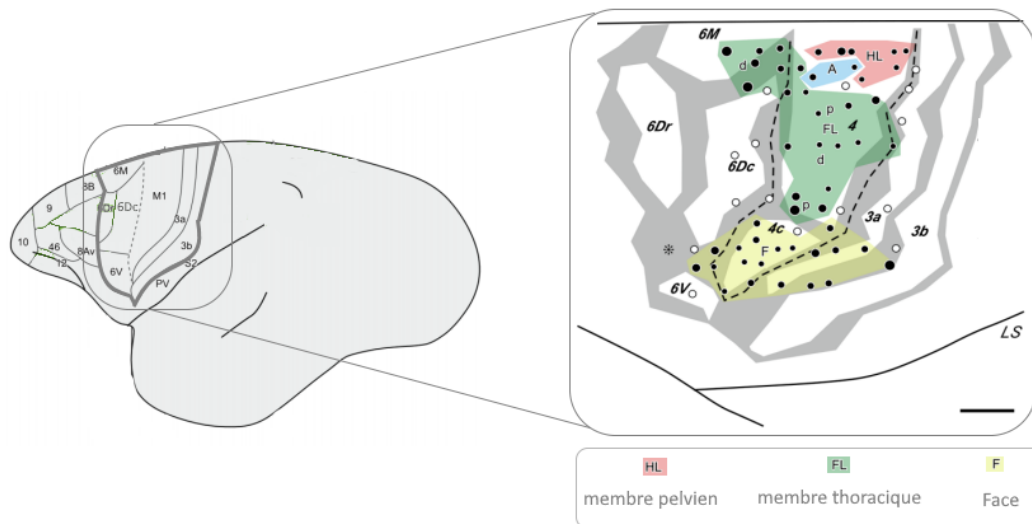


Figure 19 Organisation somatotopique du cortex moteur primaire chez le marmouset. La représentation des muscles des membres pelviens, des membres thoraciques et de la face est représentée sur M1 avec une disposition medio-latérale. Cette organisation somatotopique chez le marmouset se retrouve chez l'homme. *Réalisation personnelle, illustrations extraites de (123).*

Enfin, les fibres des voies descendantes reliant M1 aux motoneurones spinaux subissent également une décussation. Les mouvements des muscles d'un hémicorps sont donc bien initiés par les territoires corticaux (M1) controlatéraux (124).

L'ensemble de ces caractéristiques, complété par celles de l'anatomie cérébrale structurelle et fonctionnelle, font du marmouset un modèle animal adéquat pour l'exploration de déficits moteurs d'origine cérébrale (20, 115).

4.2 Malonate : modèle de lésion cérébrale

Dans le cadre de l'étude, les lésions induites par l'AVC ischémique doivent pouvoir être simulées de manière fiable afin de pouvoir valider la stratégie thérapeutique proposée.

Le modèle AVC utilisé ici repose sur l'injection de malonate. Ses modalités d'action sont rapportées dans les parties suivantes.

4.2.1 Données moléculaires

Le malonate est un composé acide dicarboxylique, servant de substrat à l'enzyme malonyl-CoA synthétase (ACSF3), synthétisant la coenzyme malonyl-CoA, au sein du métabolisme mitochondrial des mammifères. Cette coenzyme est un composé majeur, impliqué dans la synthèse et l'oxydation des acides gras (125).

4.2.2 Propriétés chimiques

Le malonate est un inhibiteur compétitif réversible de l'enzyme succinate déshydrogénase (SDH) (126, 127). Cette dernière est une enzyme mitochondriale et participe à la respiration cellulaire synthétisant l'énergie cellulaire, sous forme d'ATP (adénosine triphosphate) (128). Intégrée à la chaîne de transfert des électrons, la SDH intervient plus précisément dans le cycle de Krebs et les voies de phosphorylation oxydative (129), où elle oxyde le succinate en fumarate (126) (**Figure 20**). Cependant, certaines substances, telles que le malonate qui est un analogue structural du succinate, peuvent aussi se fixer à l'enzyme et l'inactiver (130).

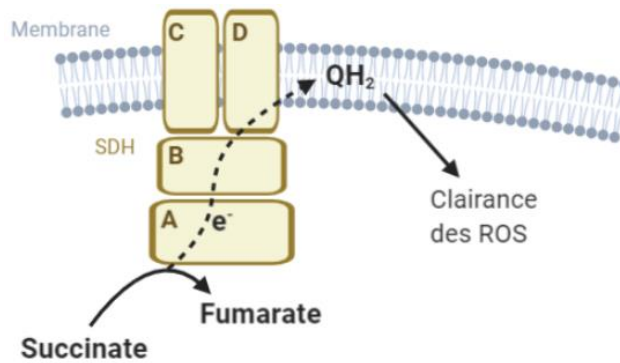


Figure 20 Fonction oxydative de la succinate déshydrogénase. Les sous-unités de la SDH (A-D) forment le complexe II de la chaîne de transfert des électrons. Le succinate, intermédiaire du cycle de Krebs, est oxydé en fumarate. Les électrons et les hydrogènes sont transférés à une co-enzyme (QH₂), intervenant dans les mécanismes antioxydants (clairance des ROS). *Inspiré de (126).*

En interférant avec les mécanismes de la respiration cellulaire, le malonate exerce donc un déficit énergétique, à l'origine d'effets cytotoxiques (14). En effet, à l'instar des mécanismes physiopathologiques de l'ischémie, la déplétion en ATP engendrée par l'inhibition de la SDH induit une dépolarisation membranaire à long terme des cellules, à l'origine d'une accumulation d'acides aminés excitateurs (glutamate, GABA) (131). Ceci favorise donc le phénomène d'excitotoxicité secondaire via la suractivation des récepteurs NMDA (132). L'entrée massive de calcium Ca²⁺ dans l'espace intracellulaire (133), entraîne avec elle, l'augmentation de l'eau intracellulaire, responsable de la turgescence et potentiellement de la mort de ces cellules. A cela, s'ajoute également l'activation d'enzymes protéolytiques lors de l'augmentation de la concentration intracellulaire de Ca²⁺ (16). Ce sont ainsi autant de mécanismes menant à la mort neuronale et gliale (134).

De plus, ces altérations métaboliques sont renforcées par la défaillance du système anti-oxydant des mitochondries, le glutathion (GSH), ou encore la coenzyme nicotinamide adénine dinucléotide (NADH/NAD⁺) (135). Ainsi, en présence de malonate, provoquant une augmentation des ROS, et une réduction de la synthèse des composants anti-oxydants, un stress oxydatif survient et peut être à l'origine de la mort des cellules (127, 135, 136).

4.2.3 Méthode non vasculaire de lésions cérébrales

Les modèles vasculaires d'AVC ont montré leur preuves, comme ceux, par exemple, employant la technique de pMCAo, occlusion mécanique permanent de l'artère cérébrale moyenne chez le modèle rongeur (137). Toutefois, l'hétérogénéité des lésions cérébrales induites pousse à adopter de nouveaux modèles, davantage reproductibles (16, 138).

Au cours des années 1990, quelques modèles lésionnels tentent de mettre en évidence les effets toxiques du malonate *in vitro* et *in vivo*. En 1993, Beal et al. évaluent les lésions induites suite à des injections intrastriatales de malonate sur un modèle rat (139). Ils mettent ainsi en évidence la formation de lésions d'excitotoxicité dose-dépendants (134).

Si le corps cellulaire est atteint initialement suite à l'inhibition par le malonate, les axones ne sont pas épargnés par les phénomènes d'excitotoxicité et de stress oxydatif (134). De plus, l'évolution des lésions fait apparaître des lésions dont la configuration est proche du cœur et de la pénombre ischémique, rencontrées lors d'un AVC (140) (voir **2. L'accident vasculaire cérébral ischémique**).

4.2.4 Validation du modèle malonate

A ce jour, de nombreuses études analysent les effets du malonate sur les neurones du striatum (131, 134) et plus largement, du système dopaminergique nigrostrié (141), en raison de la sensibilité accrue des neurones dopaminergiques à la déficience énergétique. Le malonate est alors inclus dans les essais précliniques comme modèle de lésions cérébrales (maladies neurodégénératives, et AVC).

Le modèle d'AVC sur marmouset développé dans le cadre de ce projet s'inscrit dans la continuité des travaux de recherches entrepris par Loubinoux et al. (12, 13, 142). Le modèle de lésion cérébrale choisi ici repose sur l'utilisation du malonate, dont les effets ont été évalués sur le long terme. Il a ainsi été validé, tout d'abord, sur un modèle rongeur (*Rattus norvegicus*, rat) (142) avant d'être transposé pour la première fois sur un modèle de PNH (*Callithrix jacchus*, marmouset), en 2015 (12, 143). Le protocole expérimental initial a été mis en place par Demain et al. (2015). Il consistait en la

réalisation d'une injection stéréotaxique de malonate au niveau de M1, controlatéral au membre thoracique dominant de chaque marmouset. Dans un premier temps, un volume de malonate de 4 μL à 3 mol/L a été envisagé pour la réalisation d'une lésion corticale chez le marmouset ($n = 1$). Toutefois, si ce volume a été extrapolé à partir de l'étude princeps sur le modèle rat (142), cette dose de malonate s'est révélée insuffisante pour générer une lésion étendue de M1 ($0,07 \text{ cm}^3$), et engendrer des déficits moteurs associés. Par conséquent, la dose a été ajustée à 8 μL (3 mol/L). Il en a résulté des lésions suffisamment étendues de M1 et des déficits fonctionnels consécutifs. Un animal contrôle négatif a reçu une injection stéréotaxique intracorticale de PBS (solution tampon) à un volume identique (8 μL). L'évaluation clinique des déficits fonctionnels a été réalisée par le biais de tests comportementaux : le «dynamometric pull test » (DPT) pour l'évaluation de la force de traction, et les tests de staircase pour l'évaluation de la préhension et de la dextérité. De plus, une évaluation sensorimotrice est établie par le biais d'une échelle neurologique. Enfin, le site de lésion induite par le malonate est caractérisé par le biais d'examen d'imagerie (IRM, *in vivo*), et d'analyses histologiques (immunohistochimie, post-mortem). Les résultats montrent ainsi l'apparition de lésions cérébrales focales de volume important ($0,31 \pm 0,07 \text{ cm}^3$, $n = 11$), à l'origine de déficit de force et de dextérité du membre thoracique controlésionnel. Les examens d'IRM permettent de confirmer la présence, la localisation de la lésion cérébrale, l'étendue du volume lésionnel et son évolution au cours du temps. De plus, les analyses immunohistochimiques permettent de caractériser les lésions induites : lésion cavitaire, atrophie hémisphérique, corticale et du noyau caudé, destruction axonale et dégénérescence wallérienne à distance du site d'injection. Une certaine corrélation est établie entre les structures cérébrales atteintes et la sévérité des déficits moteurs. De plus, ces derniers sont évaluables dès 48 heures post-lésion et persistent jusqu'à 3 mois, minimum, associés à une récupération fonctionnelle spontanée (12, 143).

Concernant la dose de malonate, celle-ci doit être déterminée sommairement selon deux critères. Le premier renvoie à la concentration de malonate permettant de déplacer le point d'équilibre des concentrations du malonate et du succinate, en favorisant la fixation préférentielle du malonate à la SDH. De plus, les lésions induites par le malonate sont doses-dépendantes (134, 144). Par conséquent, il est indispensable d'administrer une dose suffisante pour induire une altération

fonctionnelle (12), en incluant le phénomène de clairance physiologique du malonate à l'origine de la réversion des effets recherchés.

En somme (144), le malonate est considéré comme un modèle fiable de lésions cérébrales (12, 13, 132) pour l'évaluation de nouvelles stratégies thérapeutiques. La procédure est peu invasive et simple. Et les lésions cérébrales associées sont reproductibles, quantifiables, et persistantes en phase chronique.

5 Méthodes d'évaluation structurelle et sensorimotrice

5.1 Imagerie cérébrale : Imagerie par Résonance Magnétique

5.1.1 Fonctionnement général

Les technologies d'imagerie ont permis de réaliser de nombreux progrès dans le domaine de la recherche et de la médecine. Suite à la tomographie, utilisant les rayons-X, il a été possible d'étudier le SNC à l'aide de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) (16), reposant sur les principes de la résonance magnétique nucléaire (RMN) (145). Plus précisément, les techniques non invasives d'IRM reposent sur les signaux émis par les protons de l'eau lorsqu'ils sont exposés à un champ magnétique (champ radiofréquence) (145). Les images obtenues apparaissent alors en nuance de gris, selon la densité de protons caractérisant les tissus (substance blanche et substance grise) et selon les caractéristiques des spins (moment cinétique) du tissu (16).

Dans l'ensemble, les techniques d'IRM permettent de mettre en évidence les différentes caractéristiques structurales et fonctionnelles du tissu nerveux (31), avec une résolution élevée selon les paramètres d'acquisition (16). Ce sont les anomalies de couleurs et de formes au sein d'une structure, induisant un contraste plus ou moins prononcé, qui permettent d'identifier la présence d'une lésion cérébrale (hémorragie, infarctus, tumeur) (16).

5.1.2 Intérêts dans l'évaluation lésionnelle de l'AVC

Chez l'homme, une suspicion clinique est faite avant tout diagnostic d'un AVC ischémique. Elle est appuyée sur l'identification d'un déficit fonctionnel focal ou asymétrique d'apparition suraiguë (hémiparésie, aphasie, héminegligence spatiale,

etc.) (31). En milieu hospitalier, le diagnostic de certitude se fait ensuite de manière précoce par imagerie cérébrale (IRM) (2), avec des anomalies détectables dès les premières minutes suivant l'AVC (146). La Haute Autorité de la Santé (HAS) recommande alors la réalisation systématique de séquences IRM pondérées en diffusion, T2*, Flair, angiographie en temps de vol ou time-of-flight (TOF) (**Figure 21**) (147). La neuroimagerie doit permettre de remplir certains objectifs, tels que (147): (1) confirmer l'infarctus, préciser sa localisation et son étendue, (2) localiser le siège de l'occlusion artérielle, (3) rechercher les causes de l'infarctus, (4) évaluer l'étendue de la pénombre ischémique.

Dans les cas fréquents d'infarctus au niveau de l'artère cérébrale moyenne (ACM), un score ASPECTS (Alberta Stroke Program Early CT Score) peut également être attribué (147). Ce dernier est relatif à l'étendue de la lésion cérébrale au niveau des territoires desservis par l'ACM (score de 10 : aucune atteinte ; score de 0 : atteinte ischémique généralisée à tout le territoire considéré). Le score ASPECTS conditionne notamment la prise en charge. Toutefois, ce système reste imprécis et incomplet. Par conséquent, une évaluation du volume lésionnel par des méthodes de quantification semi-automatique y est donc souvent associée.

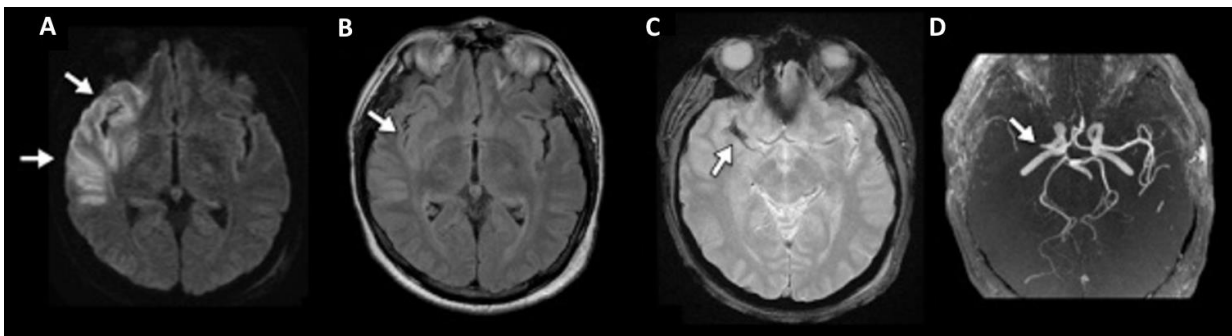


Figure 21 Séquences IRM (en diffusion, FLAIR, T2*, angiographie en temps de vol) incluses dans un protocole classique d'urgence en médecine humaine. (A) La séquence en diffusion permet de visualiser la lésion cérébrale, de manière précoce, par rapport à la (B) séquence en FLAIR. Cette dernière permet de confirmer une modification du flux artériel du territoire atteint (C) La séquence T2* permet l'estimation de l'étendue du thrombus ou de l'hémorragie. (D) L'angiographie confirme l'occlusion artérielle. *Adapté de (147).*

Par ailleurs, au-delà de sa valeur diagnostique, la neuroimagerie permet de réaliser l'évaluation et le suivi de l'intégrité des tissus cérébraux au cours du temps.

Ainsi, dans le cadre du présent projet, cet outil de neuroimagerie fournit de nombreux avantages à son utilisation. Tout d'abord, il s'agit d'une technique accessible, non invasive, et réalisable *in vivo*. De plus, peu de limitations s'opposent à son recours chez l'animal à l'exception de celles imposées par les contre-indications à l'anesthésie générale. Par conséquent, l'IRM s'accorde avec un suivi paraclinique à long terme. Elle tendrait à se rendre indispensable en l'absence d'autres techniques accessibles pour le suivi structural du SNC *in vivo*, à savoir : détermination du volume lésionnel, évaluation des lésions dégénératives primaires (tissus lésés) et secondaires (tissus à distance), établissement de liens de corrélation lésion-clinique. Par ailleurs, cité précédemment, l'IRM est l'examen de choix dans le cadre du diagnostic et de l'exploration d'un AVC chez le patient. Dans le cadre de cette étude préclinique ayant pour ambition d'évoluer vers un essai clinique, l'IRM permet donc de s'approcher au mieux des démarches cliniques usuelles, actuellement en place dans le domaine hospitalier.

5.2 Tests comportementaux : protocoles hospitaliers en médecine humaine

Par ailleurs, l'évaluation quantitative de l'état d'un patient victime d'un AVC est réalisée par le biais de tests ou d'échelles neurologiques. Elle permet ainsi de renforcer le diagnostic, d'apporter les éléments de sévérité et d'évolution de l'ischémie cérébrale et d'orienter les modalités de prise en charge du patient (2).

De nombreuses échelles d'évaluation sont actuellement disponibles. Cependant l'utilisation d'un nombre restreint est recommandé par l'HAS afin de standardiser la prise en charge des patients (2).

Parmi ces tests et échelles, l'on retrouve (2) :

- **Le score National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS)** : il permet l'évaluation de la sévérité de l'AVC. Le score est compris entre 0 (patient normal) et 42 (gravité maximale).
- **Le Score de Rankin modifié (mRS)** : il permet l'évaluation de la sévérité des déficits fonctionnels, en définissant le degré d'autonomie/dépendance du patient en période post-infarctus. Le score est compris entre 0 (absence de symptômes) à 6 (décès). Au cours des essais cliniques, il est possible d'évaluer l'effet d'une stratégie thérapeutique à l'aide de l'échelle mRS. Le succès d'un

traitement est considéré lorsqu'une indépendance fonctionnelle est retrouvée, associée à un score mRS compris entre 0 et 2 (31).

- **Index de Barthel** : ce test permet l'évaluation de l'indépendance fonctionnelle du patient. Le score est compris entre 0 (état grabataire), 60 (dépendance modérée, retour au domicile envisageable), et 100 (indépendance complète) (148).
- **European Stroke Scale (ESS)** : cette échelle neurologique permet de définir la sévérité de l'ischémie cérébrale et d'estimer l'évolution dans le cas d'un AVC au niveau de l'ACM. Le score est compris entre 0 (sévérité maximale, dépendance fonctionnelle) et 100 (absence de symptômes) (149).

Les fonctions motrices des membres supérieurs chez l'homme doivent faire l'objet d'une attention particulière, en ce qu'elles constituent le facteur impactant le plus la qualité de vie et la dépendance fonctionnelle des patients victimes d'AVC. Notamment, la dextérité, la force et la coordination peuvent être sévèrement détériorées. Ainsi, de manière translationnelle, il est nécessaire d'établir des protocoles d'évaluation fonctionnelle sur modèles animaux permettant d'apprécier les déficits moteurs et leur évolution (récupération, dégradation) (64), et pouvoir estimer l'efficacité de la stratégie thérapeutique étudiée (37).

5.3 Tests disponibles en expérimentation animale

A ce jour, de nombreux tests d'évaluation fonctionnelle sont proposés dans le cadre de modèle AVC chez le PNH. Les tests comportementaux doivent être inclus dans le protocole d'étude comme un outil complémentaire des examens d'imagerie (IRM structurale) et des analyses immunohistochimiques (150).

Pour une majorité, les tests proposés respectent les qualités de dispositifs écologiques vis-à-vis des animaux les exploitant. De plus, un nombre croissant de tests tente de limiter les contentions des animaux et converge vers les préceptes éthiques de l'expérimentation animale. Les marmousets sont réputés, en particulier, pour être aisément sujets au stress lié à leur environnement (nouveaux opérateurs ou dispositifs) (151).

5.3.1 Test de stimulation tactile

Ainsi, en 1992, Annett et al. proposent un test équivalent au Von Frey hair test (152) (modèle rongeur) adapté à son utilisation chez le marmouset, plus particulièrement dans un modèle de maladie de Parkinson (153). Ce test permet d'identifier des déficits sensoriels en fonction de la réponse motrice fournie à la suite d'un stimulus tactile cutané. Ce dernier est réalisé par le biais d'un pinceau au niveau de la région du corps à tester, en prenant soin d'intervenir en dehors du champ visuel de l'individu. Chaque partie du corps est généralement soumise à 3 tentatives. Un score entre 0 (aucune réponse) et 2 (réponse marquée) est attribué à chacune des tentatives (154).

Toutefois, si ce test de stimulation tactile permet d'établir la présence d'un déficit somatosensoriel à la suite d'une neurolésion, il semble manquer de sensibilité. En effet, suite à plusieurs séances d'entraînement, les marmousets montrent une moindre propension à répondre, en l'absence ou présence de déficits sensorimoteurs (151, 153).

5.3.2 Extinction tactile

Une alternative à ce test, le « marquage adhésif » ou « extinction tactile » (153), consiste en la fixation d'un morceau de ruban adhésif sur une partie du corps de l'individu, de manière bilatérale puis laisser l'individu dans la cage, où un retrait volontaire est attendu. Ce test permet d'évaluer, en particulier, les déficits sensorimoteurs chroniques. Le temps de latence, entre le retour en cage et le retrait du ruban adhésif est mesuré. Un score selon l'intensité de la réponse (absence de réponse, réponse modérée ou réponse marquée) est là aussi attribué à chaque essai. Ce test repose sur la notion d'extinction, c'est-à-dire la capacité à percevoir un stimulus seul mais à ne plus le percevoir lorsqu'un autre stimulus est réalisé simultanément (155). Il permet ainsi de révéler la présence éventuelle d'une hémignégligence sensorimotrice, caractérisée par une diminution ou l'absence d'utilisation de l'hémicorps controlésionnel (156).

5.3.3 Grip test

Par ailleurs, le « grip test » ou « test de préhension » permet d'évaluer les réflexes de saisie et la force musculaire des membres thoraciques (et pelviens) (151). Ce test est fréquent en expérimentation. Une adaptation pour une utilisation chez le marmouset a été proposée par Virley et al. en 2004 (157). Le test consiste en la proposition d'un pinceau ou d'un stylo à l'individu. Chaque membre est testé à plusieurs reprises (2 à 3 fois). Un score entre 0 (aucune saisie) et 2 (forte saisie et résistance à la traction) est attribué à chaque tentative et pour chaque membre. Une amélioration de ce test est possible par élaboration d'un dispositif relié à un dynamomètre (12), quantifiant la force motrice des membres thoraciques lors de l'action de traction. Toutefois, quel que soit le dispositif employé, ce test reste fortement dépendant de la motivation de l'individu, stimulée au mieux par la mise à disposition de récompenses alimentaires (**Figure 22**) (12, 13, 151).

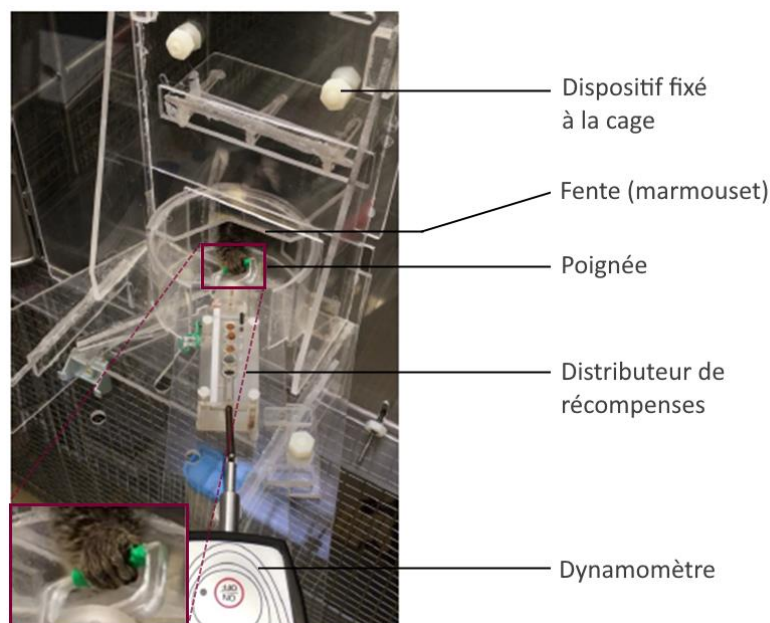


Figure 22 Dispositif du grip test ou test de préhension. Il permet d'évaluer la capacité de préhension et la force motrice des membres thoraciques chez le marmouset dans un modèle de lésion cérébrale. Le dispositif est doté d'une poignée que le marmouset saisit. Cette poignée est associée à un distributeur de récompenses alimentaires (billes de pain d'épice), enclenché lors de la traction de la poignée. Enfin, cette dernière est reliée à un dynamomètre par le biais d'un ressort, permettant l'évaluation quantitative de la force de traction des membres. L'évaluation se fait de manière individuelle sur chaque membre. *Images extraites de (13).*

5.3.4 Tâche de récupération d'objets contrainte par des déviations

D'autres dispositifs permettent l'évaluation de la motricité des membres antérieurs chez le PNH. En 2016, McEntire et al. ont notamment développé un système comportemental d'évaluation de la motricité fine, de la coordination manuelle et des fonctions cognitives sur un modèle d'AVC chez le grivet d'Afrique (158, 159). Ce système comprend des tâches de récupération d'objets contraintes par des déviations (ORTBD, *object retrieval task with barrier-detour*). Il s'agit d'une adaptation du dispositif développé par Taylor et al. en 1990 (160). Pour la réalisation des tâches, les primates sont disposés face à une boîte de plexiglass au sein de laquelle se trouve une récompense alimentaire. L'accès à cette dernière est soumis à des niveaux de difficulté accrue, générés par l'orientation de la boîte et le type de déviation contrainte par la main de l'individu lors de la phase de récupération. Le score de performances est noté à partir de trois points incluant (1) la capacité de récupération des récompenses dans les différents niveaux de difficulté, (2) le choix du membre thoracique utilisé, (3) et l'issue de la récupération de la récompense (succès ou échec) (Figure 23).

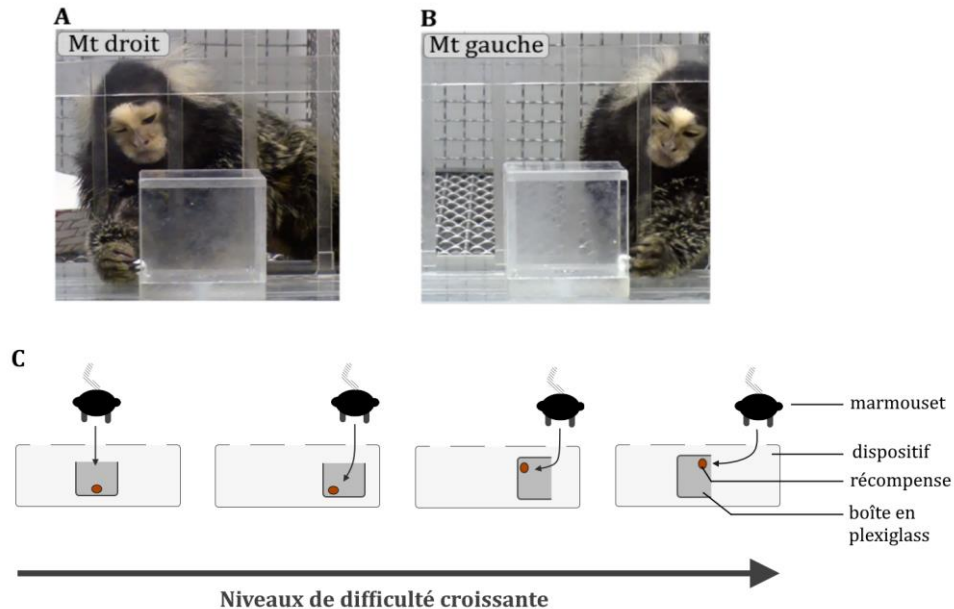


Figure 23 Dispositif d'évaluation cognitive et motrice établi par Taylor et al (1990). Le système ORTBD (*object retrieval task with barrier-detour*) permet notamment l'évaluation de la dextérité chez un modèle de PNH. Le marmoset est présenté devant une boîte de plexiglass contenant une récompense. Le dispositif est conçu de sorte à permettre son emploi par les deux membres thoraciques, droit (A) et gauche (B), de manière individuelle. (C) La disposition et l'orientation de la boîte permettent de définir des niveaux de difficulté différente. Mt : Membre thoracique. *Réalisation personnelle, images adaptées de (158).*

La sensibilité du dispositif est satisfaisante (159). Toutefois, à nouveau, les scores comportementaux sont à confronter aux résultats des examens d'imagerie et des analyses immunohistochimiques.

5.3.5 D'autres tests

Bien d'autres méthodes d'évaluation sensorimotrice chez le marmouset sont proposées. Parmi elles, l'on retrouve les échelles neurologiques, et les dispositifs « d'escalier » ou « staircase » vallée et colline (161) qui ont été retenus pour ce projet. Ils seront présentés dans la partie expérimentale (voir **Partie II : A. Marmouset : modèle animal**).

6 Le système nerveux entérique

6.1 Système nerveux entérique

Les prémisses de connaissances concernant le système nerveux entérique (SNE) remonteraient aux travaux de Starling et Bayliss, en 1899, décrivant les mécanismes d'innervation de l'intestin grêle (162). Les différentes caractéristiques du SNE seront dévoilées progressivement, au cours des décennies qui suivent. Une nouvelle discipline associée se crée alors, la neurogastroentérologie (163).

6.1.1 Anatomie

Le SNE constitue l'un des systèmes nerveux les plus étendus et complexes du système nerveux périphérique (SNP) (164). L'activité du SNE demeure indépendante du SNC (165) (**Figure 24**).

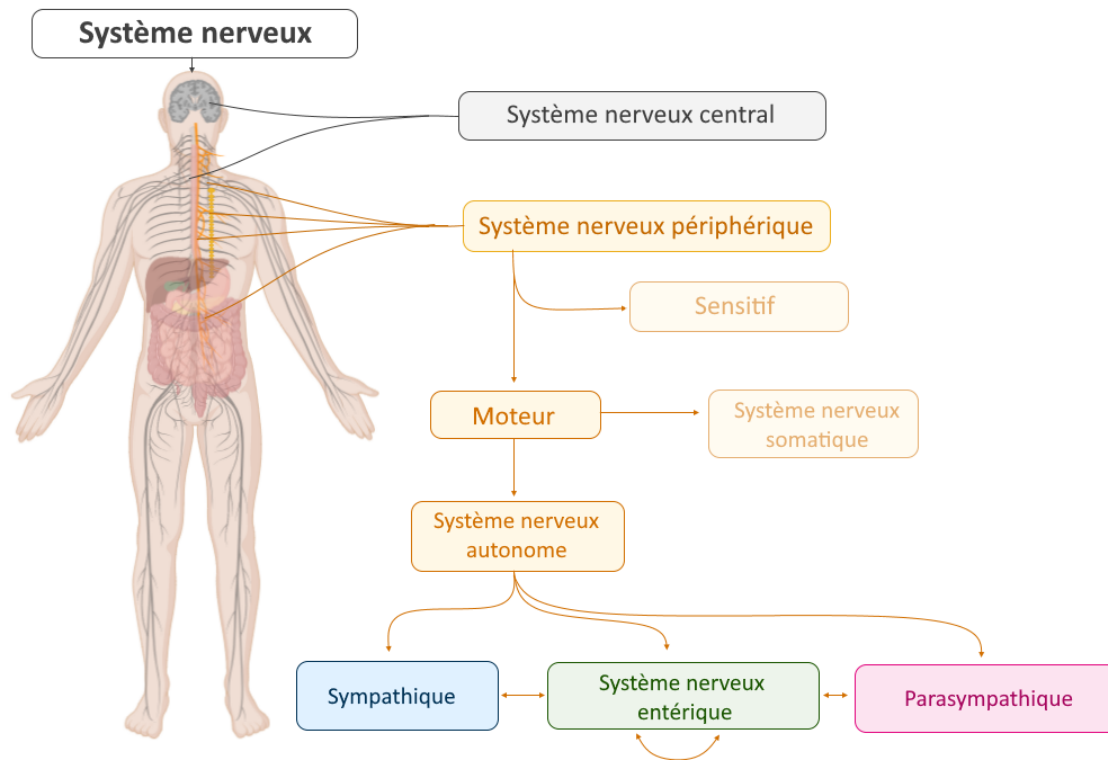


Figure 24 Organigramme des systèmes nerveux. Le système nerveux entérique (SNE) fait partie d'une des divisions du système nerveux périphérique (SNP). Plus précisément, la subdivision motrice du SNP se ramifie en système nerveux somatique (activité volontaire) ou autonome (activité involontaire). Ce dernier comprend le système nerveux sympathique, parasympathique et entérique (166). Réalisation personnelle (BioRender ©).

Toutefois, le SNE s'approprie des caractéristiques structurales et fonctionnelles proches de celles du SNC (164). Tout comme le SNC, il est composé de deux grands groupes de cellules, les neurones (NE) et les cellules gliales entériques (CGE) (167). Ces cellules sont regroupées sous forme de ganglions entériques, interconnectés. L'ensemble constitue les réseaux intrinsèques de neuroglie du tractus gastro-intestinal (167), dont les deux principaux réseaux continus sont : le plexus myentérique et le plexus sous-muqueux (167, 168). Le plexus myentérique ou « plexus d'Auerbach » est le plus étendu, localisé entre la couche musculaire circulaire et longitudinale, et parcourant l'intégralité du tube digestif (de l'œsophage au sphincter anal interne) (167). Quant au plexus sous-muqueux ou « plexus de Meissner », ce dernier est moins étendu. Il est situé entre la couche musculaire circulaire et la sous-muqueuse intestinale, et est localisé principalement au niveau de l'intestin grêle et du gros intestin (167, 169) (Figure 25).

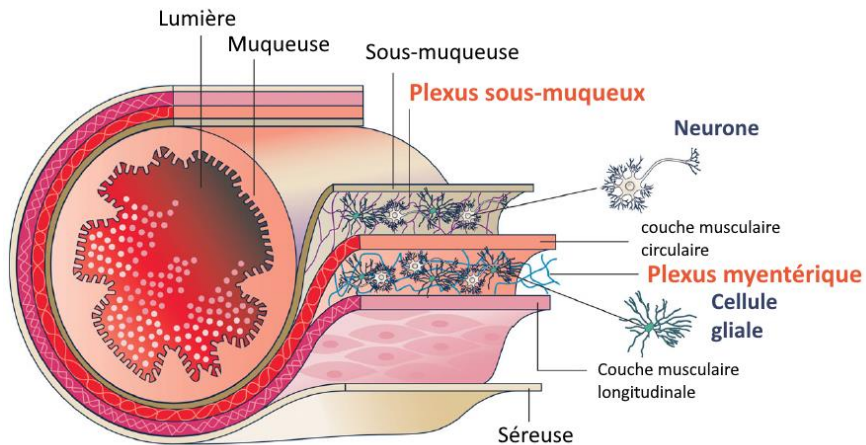


Figure 25 Représentation schématique du système nerveux entérique. Les neurones et cellules gliales entériques sont regroupés en ganglions au sein de deux plexus principaux : le plexus sous-muqueux (interne) et le plexus myentérique (externe). *Adapté de (170).*

Les plexus se distinguent également par la densité de leurs structures neuronales et gliales. Le plexus sous-muqueux présente moins de neurones par ganglion et *in toto* mais également des connexions interganglionnaires plus éparses que le plexus myentérique (164, 167, 170) (**Figure 26**).

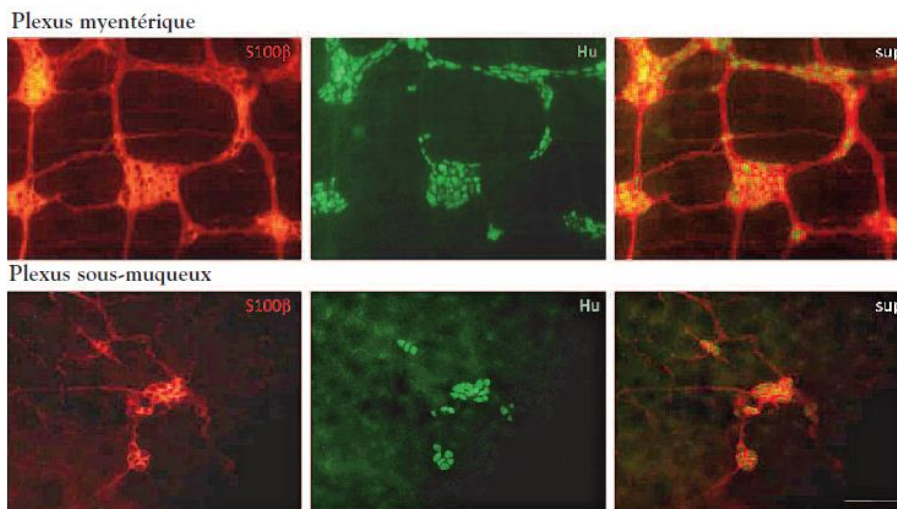


Figure 26 Analyse immunohistochimique du plexus myentérique et du plexus sous-muqueux chez le rat. Les cellules gliales entériques (CGE) (rouge) sont identifiées par le marqueur cytoplasmique S100 β . Les neurones entériques (NE) (vert) sont identifiés à l'aide du marqueur nucléaire Hu. La superposition des images d'immunomarquage (sup) permet de révéler la structure ganglionnaire des plexus. Les ganglions entériques sont connectés par le biais de fibres interganglionnaires. La structure du plexus myentérique apparaît plus dense que celles du plexus sous-muqueux. Barre d'échelle : 100 μ m. *Adapté de (163).*

Chez certaines espèces de mammifères, le nombre de plexus entériques peut s'élever à plus de neuf, tel que chez l'homme (163). Toutefois, le nombre de plexus principaux, dominant par leur composition en neurones et en glie et par leur importance dans les fonctions digestives, se maintient à deux, avec le plexus myentérique et le plexus sous-muqueux (164, 169, 171).

6.1.2 Organogenèse

Au cours de l'embryogenèse chez les vertébrés, la mise en place du SNE est initiée par l'invasion du mésenchyme de l'œsophage par les précurseurs entériques dérivant des cellules de la crête neurale (CCN), appelées cellules pré-entériques de la crête neurale (pENCC) (168). Par la suite, ces dernières migrent dans le sens rostro-caudal du tube digestif et colonisent la région myentérique. Quelques jours plus tard, elles subissent une migration radiale en direction de la région sous-muqueuse du tractus gastro-intestinal. Les précurseurs dérivant de la crête neurale rostro-troncale colonisent l'œsophage et l'extrémité proximale de l'estomac (164, 172). Ceux de la crête neurale vagale colonisent la majorité du tractus intestinal (164, 169). Enfin, ceux de la crête neurale sacrale colonisent la partie distale de l'intestin (173) (**Figure 27**).

A ce stade, les pENCC deviennent ainsi les cellules entériques de la crête neurale (ENCC) (174). Ces dernières prolifèrent et effectuent une dernière migration rostro-caudale, afin de coloniser l'intégralité du tube digestif de manière uniforme (175). Durant cette phase, un pool de ENCC initie de manière simultanée la différenciation neuronale et gliale (165). L'ontogenèse du SNE se clôture par la configuration des cellules en ganglions entériques interconnectés (165, 167) et la formation de circuits neuronaux (168).

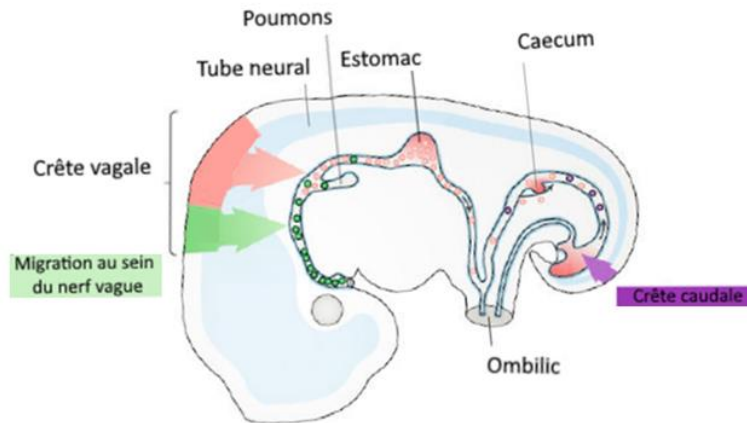


Figure 27 Migration des progéniteurs de la crête neurale lors de l'embryogenèse. Les progéniteurs de la crête neurale (pENCC) migrent vers le tube digestif depuis le niveau vagal (vert, rouge) et sacral (175) (violet). *Adapté de (166).*

Le développement normal du SNE est assuré par de nombreuses molécules régulatrices (166, 176, 177), dont le facteur de transcription Sox10 et le récepteur tyrosine kinase RET (166). Lors de l'embryogenèse, l'expression de Sox10 par les ENCC est nécessaire pour leur survie et le maintien de leur multipotence, entre autres (166). Quant à RET, ce dernier est un récepteur des facteurs neurotrophiques dérivant de la lignée cellulaire gliale (GDNF) (165, 166). Ce dernier est indispensable au chimiotactisme des ENCC le long et en profondeur de la paroi du tube digestif (178). De plus, il intervient comme signal de prolifération (178) et de différenciation neuronale des précurseurs entériques (165), et dans la survie neuronale (173, 179).

De nombreuses études *in vitro* ont permis de mettre en évidence la modulation de l'expression du facteur de transcription Sox10 et du récepteur RET par les progéniteurs entériques (9) lors de leur différenciation. En substance, la régulation négative de l'expression de Sox10 et le maintien de celui de RET favorisent la formation des NE (Sox-/Ret+) et celle des différents sous-types neuronaux. A contrario, le maintien de l'expression de Sox10 et la régulation négative de l'expression de RET promeuvent la formation de CGE (Sox10+/Ret-) (166, 180).

6.1.3 Physiologie et fonctions

Le SNE n'est pas un système isolé structurellement et fonctionnement. Il entretient de nombreuses interactions dynamiques avec les composants des autres systèmes nerveux, mais également avec l'épithélium intestinal, le microbiote, les cellules musculaires, endocriniennes, endothéliales et immunitaires, entre autres (171, 181) (Figure 28).

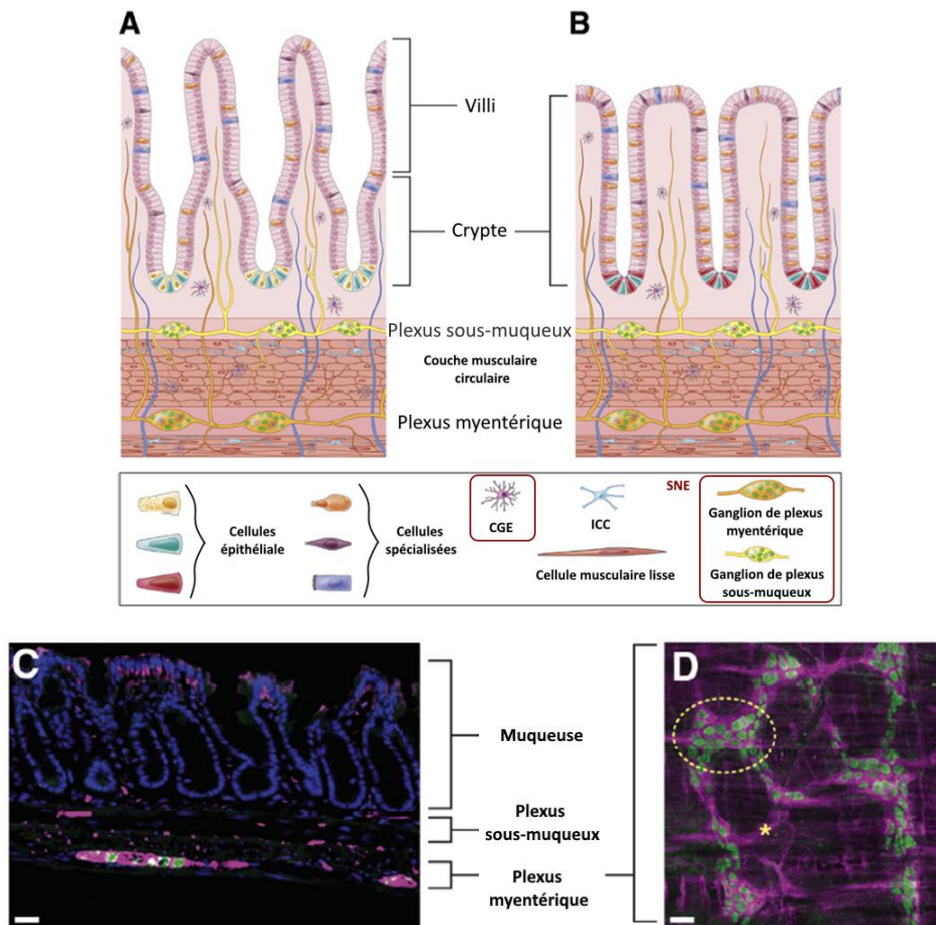


Figure 28 Interactions entre le système nerveux entérique et les autres structures digestives.

(A) Schéma en coupe longitudinale de l'intestin grêle. L'épithélium présente de nombreuses invaginations, appelés vili, marqués par des cryptes en profondeur. (B) Schéma en coupe du colon. (A, B) Le tractus gastro-intestinal reçoit une innervation intrinsèque composée des neurones et cellules gliales intraganglionnaires du plexus sous-muqueux (jaune) et myentérique (orange). (C) Analyses d'immunofluorescence d'une couche longitudinale de colon. Le marqueur DAPI permet le repère des cellules (bleues, cellules épithéliales), Le marqueur HuC/D permet d'identifier les neurones (verts) et PGP9.5, les prolongements neuronaux (magenta). (D) Section longitudinale d'un ganglion (cercle jaune) issu du plexus myentérique. Barre d'échelle : 50 μm . ICC : cellule interstitielle de Cajal, CGE : cellule gliale entérique, SNE : système nerveux entérique. (1) *Adapté de* (181).

Le tractus gastro-intestinal réalise de nombreuses fonctions indispensables à la vie, telles que la digestion, l'absorption, la sécrétion, les mouvements péristaltiques, et l'émonctoires (164, 165, 171). Pour cela, le tractus est sous le contrôle d'une double innervation. Une première innervation est dite innervation intrinsèque, et établie par les neurones et les cellules gliales du SNE. Une seconde innervation ou innervation extrinsèque est réalisée par les neurones du système sympathique et parasympathique (via le nerf vague et le nerf pelvien), entre autres (171, 173) (**Figure 29**).

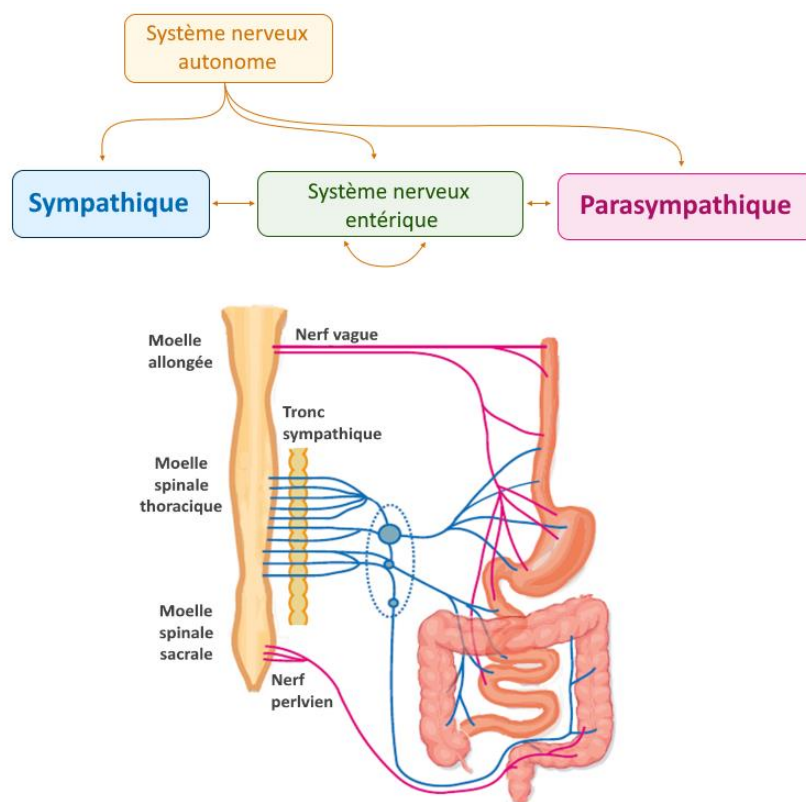


Figure 29 Innervation extrinsèque du tractus digestif. Cette innervation extrinsèque est composée du système sympathique et parasympathique (via le nerf vague et le nerf pelvien). *Réalisation personnelle, illustration adaptée de (182).*

6.1.4 Composition cellulaire : neurones et glie

Au sein du SNE, il existerait près de 15 types de neurones au niveau de l'intestin grêle, et près d'une vingtaine au niveau du gros intestin chez l'homme (171). Les NE sont regroupés en 3 grandes catégories différentes de neurones : les neurones afférents

primaires intrinsèques (IPAN), les interneurones, et les neurones intestinofugaux (IFAN). Les IPAN régulent l'état de la lumière intestinale et l'homéostasie de la paroi du tube digestif (168). Les interneurones réalisent l'interface entre les NE des différents ganglions. Enfin, les IFAN contrôlent l'activité des couches musculaires (168).

Par ailleurs, le SNE inclut une population de CGE, qui domine en nombre la population de NE (183). Par exemple, chez l'homme, le nombre de CGE est environ 7 fois plus important que celui des NE (167). Cette observation reste valable chez d'autres espèces de mammifères (184, 185).

Au sein des ganglions entériques, les NE et les CGE présentent des contacts membranaires étroits (186) et forment un ensemble cohérent en l'absence de cellules cohésives ou de fibres de collagène, comme observés au sein des autres parties du SNP. Ces caractéristiques font ainsi écho à celles du SNC entre les neurones et les astrocytes (164) (**Figure 30**).

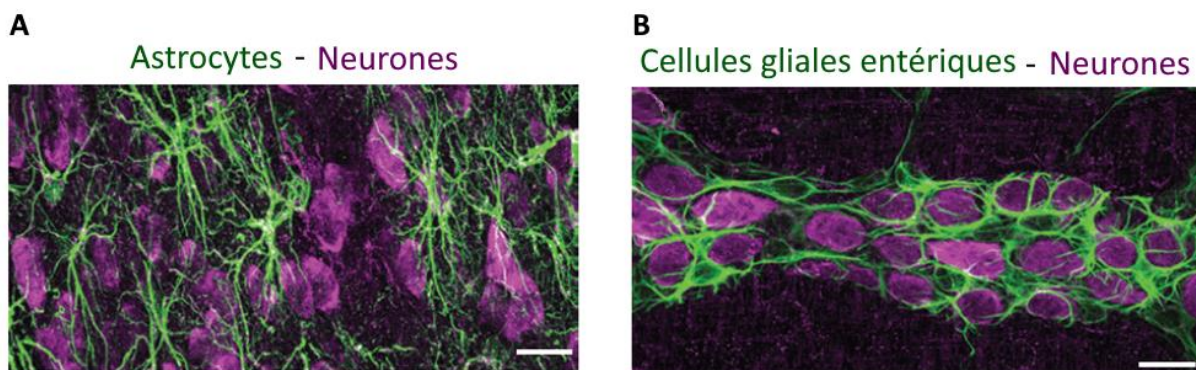


Figure 30 Comparaison entre configuration des astrocytes et des cellules gliales entériques chez un modèle rongeur. Les cellules gliales entériques intraganglionnaires et les astrocytes partagent des caractéristiques morphologiques communes. (a) Les astrocytes du SNC (vert), identifiés par le marqueur GFAP, présentent une morphologie en étoile bordant les cellules neuronales (magenta), identifiées par le marqueur NeuN. (b) Les CGE du plexus myentérique (vert), identifiées par le marqueur GFAP, sont également disposées autour des NE (magenta), identifiés par le marqueur Hu. Barre d'échelle : 20 μ m. GFAP : Glial Fibrillary Acidic Protein (protéine acide fibrillaire gliale). *Adapté de (187).*

6.2 Les cellules gliales entériques

6.2.1 Unicité du type cellulaire

C'est en 1899 que Dogiel observe et décrit pour la première fois les CGE. Pourtant, il aura fallu plusieurs décennies avant de voir fleurir un intérêt particulier pour ces cellules dans le monde de la recherche. C'est notamment le cas des travaux de Gabella (1972) (184). Les CGE étaient initialement définies comme des cellules de Schwann (177). Mais Gabella établit enfin l'unicité des CGE en 1972 (183, 184). Les CGE sont dorénavant reconnues comme distinctes phénotypiquement et fonctionnellement de toutes les autres cellules gliales connues (184) (**Figure 31**). Toutefois, elles n'excluent pas de présenter une combinaison particulière de caractéristiques partagées avec les cellules de Schwann, les astrocytes, les oligodendrocytes et, étonnamment, les neurones (188) (**Figure 31**).

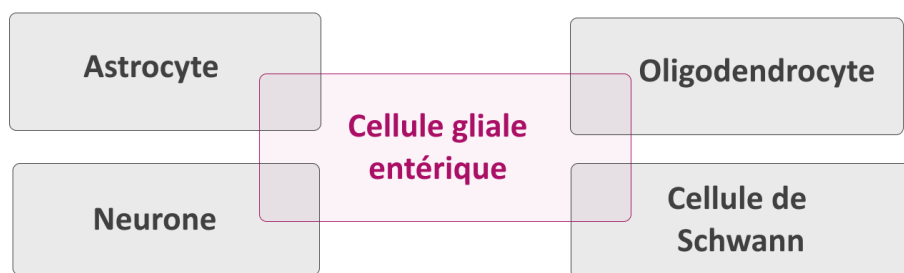


Figure 31 Profil transcriptionnel des cellules gliales entériques. Les CGE partagent des caractéristiques morpho-fonctionnelles avec le phénotype neuronal et ceux des cellules gliales du SNC (astrocyte, oligodendrocyte) et du SNP (cellule de Schwann). La représentation n'est pas à l'échelle. Réalisation personnelle, inspiré de (170).

6.2.2 Types et localisations

De récentes études ont permis de mettre en évidence la plasticité et l'hétérogénéité des CGE. Celles-ci proviennent d'un unique pool de cellules de la crête neurale (168). Pourtant, ce sont les conditions de leur micro-environnement qui déterminent le phénotype de chacun des types et sous-types de CGE (172). De plus, grâce à l'identification du profil d'expression de marqueurs cellulaires et du profil d'activité, il a été possible de caractériser plusieurs sous-populations de CGE (189).

Ainsi selon leur localisation et leur morphologie, les CGE sont regroupées en 4 types différents (187, 189). En 1994, Hanani et Reichenbach décrivaient le type I intraganglionnaire ou « glie entérique protoplasmique » et le type II ou « glie entérique fibreuse », localisée au sein des faisceaux de fibres nerveuses (190). En 2012, Gulbransen et Sharkey démontraient l'existence de deux autres types de CGE, le type III ou « glie entérique muqueuse », localisé au niveau de l'espace sous-épithélial, et le type IV ou « glie entérique intramusculaire », étroitement lié aux fibres nerveuses des couches musculaires (**Figure 32**). Toutefois, dans un souci de cohérence, Gulbransen et Sharkey proposent une classification des CGE en lien de préférence avec leur localisation au sein du tube digestif. Ainsi, l'on parlera de la glie entérique du plexus myentérique (CGE_{PM}), la glie du plexus sous-muqueux (CGE_{PSM}), la glie de la muqueuse ($CGE_{Muqueuse}$) et la glie intramusculaire (CGE_{IM}) (187).

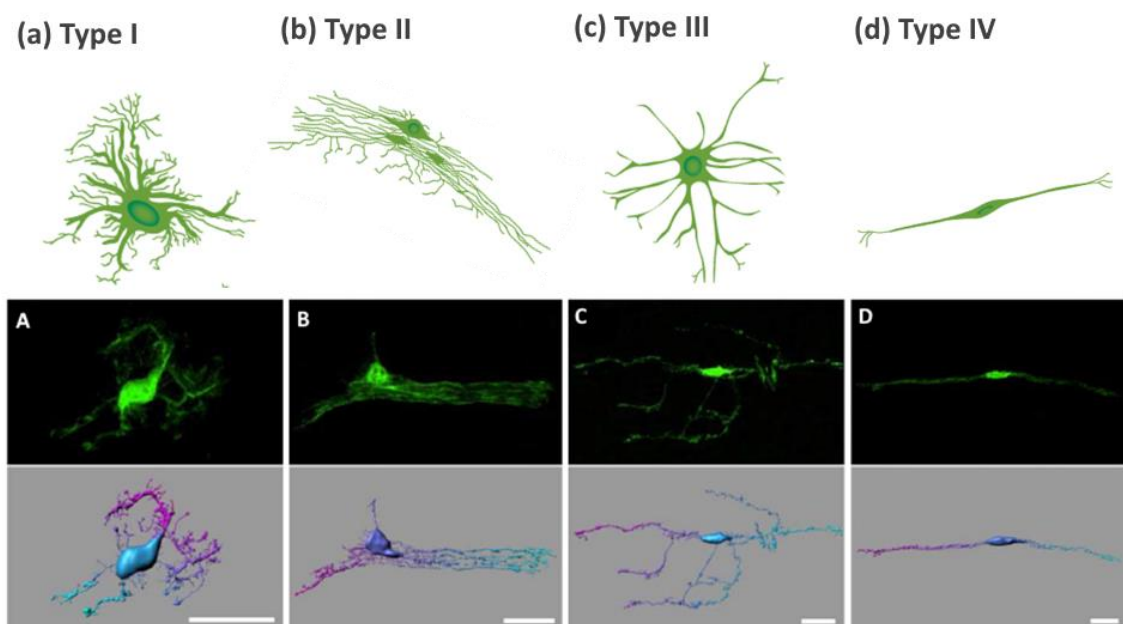


Figure 32 Les quatre types morphologiques de cellules gliales entériques. (a – d) Illustrations schématiques (A – D) Observation microscopique (immunomarquage) et modélisation tridimensionnelle. (a et A) Type I ou « glie entérique protoplasmique » : glie intraganglionnaire présentant un aspect étoilé, associé à des prolongements cytoplasmiques courts, irréguliers. (b et B) Type II ou « glie entérique fibreuse » : présente au niveau des faisceaux interganglionnaires. (c et C) Type III ou « glie entérique muqueuse » : sous-épithéliale, présentant de nombreux prolongements cytoplasmiques longs. (d et D) Type IV ou « glie entérique intramusculaire » : allongée, présente le long des fibres nerveuses intramusculaires. *Adapté de (187, 189).*

A ce jour, aucune donnée confirme explicitement que ces différents types de CGE ont des rôles fonctionnels réellement distincts. Les CGE de type I détiendraient une fonction intégrative des informations paracrines issues des NE et une fonction modulatrice de l'activité neuronale au sein du plexus myentérique (191). Les CGE de type II et III pourraient refléter un phénotype davantage immature (189). L'expression de récepteurs, de canaux transmembranaires ou encore la combinaison de marqueurs cellulaires sont également des points de divergence entre les différents types de CGE. Toutefois, malgré cette variabilité morphologique, les CGE demeurent une population cellulaire qui semble globalement homogène sur le plan moléculaire, physiologique et fonctionnel (191). Elles seraient dotées d'un même pool de fonctions cellulaires diverses, exprimées en fonction des caractéristiques de leur micro-environnement.

6.2.3 Fonctions physiologiques

Les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale forment une barrière physique, contrôlant le passage de nutriments, de fluides, et limitant les phénomènes de translocation bactérienne et le passage d'éléments toxiques (163). Les CGE jouent un rôle fondamental dans l'intégrité de cette barrière intestinale, en contrôlant la prolifération des cellules épithéliales intestinales (CEI) et leurs adhérences cellulaires (192).

D'autre part, le tractus gastro-intestinal est soumis à de nombreux stress mécaniques. Le SNE s'adapte par le biais de variations de l'épaisseur et de la profondeur des ganglions, entre autres, réalisées par les CGE intraganglionnaires. Ces dernières structurent les ganglions au sein des plexus pour le maintien de leur intégrité et celle des neurones, lors de ces stress physiques (183).

Par ailleurs, les CGE et les astrocytes partagent de nombreuses fonctions. A l'instar de l'unité neuro-vasculaire du SNC, le tractus digestif présente son homologue fonctionnel, nommé « unité neuro-glio-épithéliale digestive » (UNGE) (163) (**Figure 33**). Dans ce système, les CGE s'apparentent aux astrocytes et la barrière épithéliale (BEI) se rapproche de la barrière hémato-encéphalique (BHE) (163). Les astrocytes et les CGE régissent la perméabilité de leur barrière respective (193) (**Figure 33**).

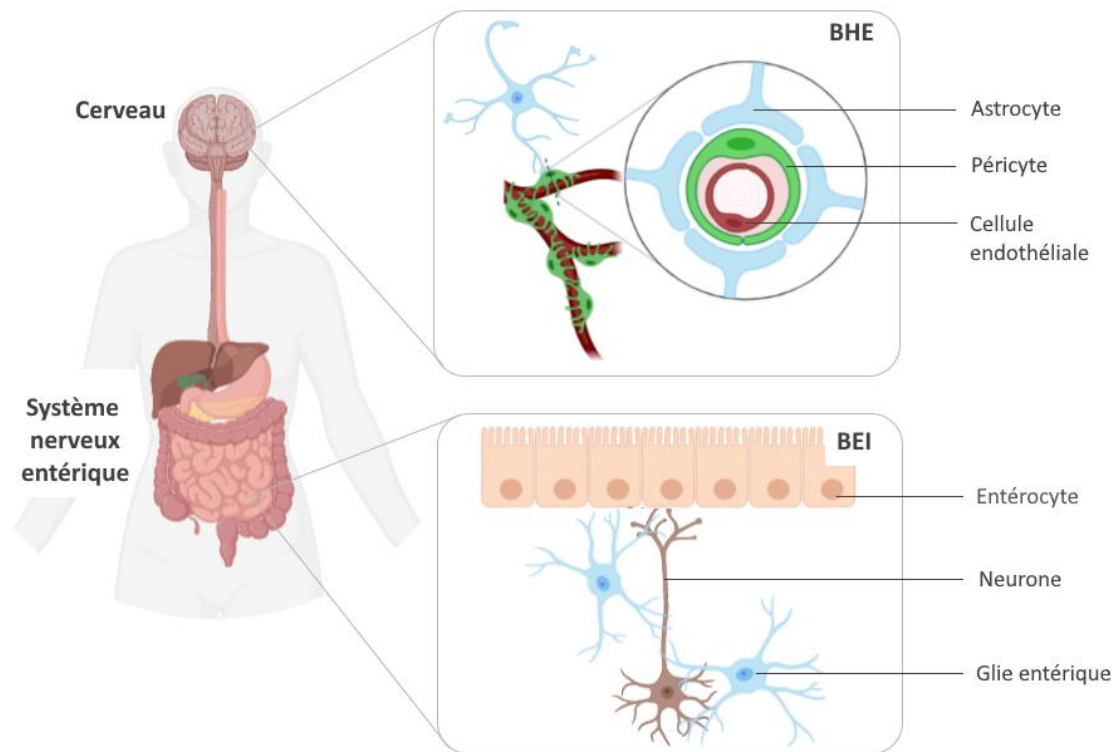


Figure 33 Comparaison entre la distribution des astrocytes et celle des cellules gliales entériques. La barrière hémato-encéphalique (BHE) est formée par les cellules endothéliales, les péricytes et les terminaisons des astrocytes. La barrière épithélio-intestinale (BEI) comprend la proximité d'entérocytes, de neurones et de la glie entérique. BHE : Barrière hémato-encéphalique ; BEI : Barrière épithélio-intestinale. Réalisation personnelle (BioRender ©).

6.2.4 Marqueurs cellulaires spécifiques

De nombreuses cellules entériques partagent des marqueurs en commun, dont la combinaison particulière permet d'identifier le phénotype cellulaire (188) (Figure 34).

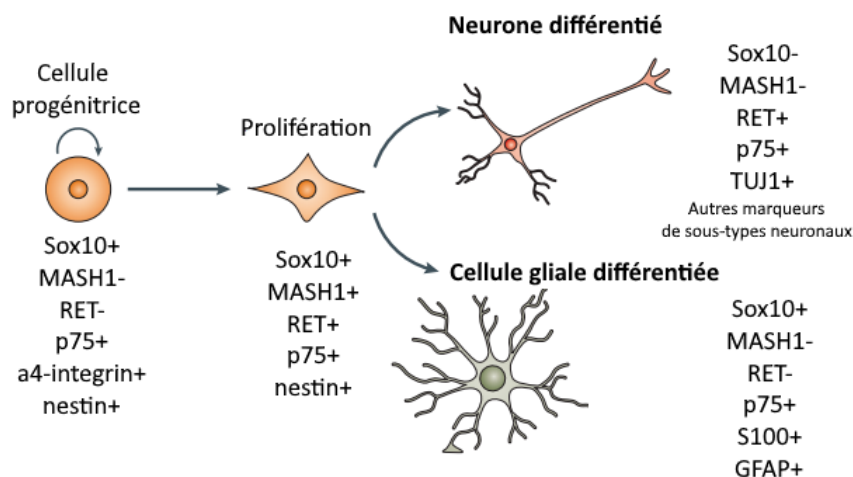


Figure 34 Représentation schématique de la différenciation des cellules souches neurales entériques. Chaque type cellulaire exprime une combinaison spécifique de marqueurs. *Adapté de (165).*

Chez les mammifères, les marqueurs des CGE matures et des ENCC les mieux décrits sont les suivants (194) : la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP) (195), la protéine S100 de liaison du calcium intra-cytosolique (S100β) (196), et la protéine de liaison des acides gras de type cérébral (BFABP). L'un des plus fréquemment rencontrés est le facteur GFAP. Ce dernier est un filament intermédiaire (185) et un marqueur dynamique des CGE (189). Plus spécifiquement, l'expression du marqueur GFAP reflète simultanément la maturité des CGE et leur réactivité (197). Cependant, si les marqueurs GFAP, mais également S100β sont les plus fréquents, toutes les CGE ne les expriment pas systématiquement (197, 198) (**Figure 35**).

D'autres marqueurs sont également disponibles à l'identification des CGE et des progéniteurs entériques, tels que les facteurs de transcription-2/8/9/10 à domaine SRY (Sex determining region Y) (Sox 2/8/9/10) (187, 199). En particulier, les gènes *sox2* et *sox10* codent pour les marqueurs des CGE les plus fréquemment employés actuellement. Le facteur de transcription Sox10 fait notamment partie des marqueurs non-astrocytaires (200, 201).

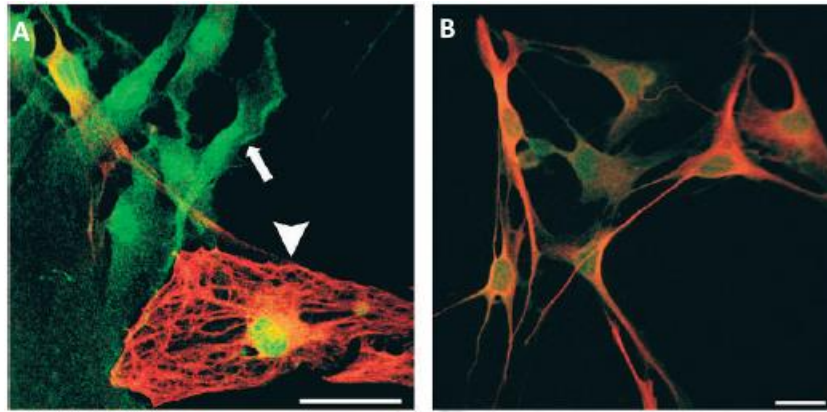


Figure 35 Sous-populations de cellules gliales entériques. (A) Observation microscopique de CGE associées à un double marquage d'immunofluorescence, dont le marqueur S100 β (rouge) et GFAP (vert). L'immunomarquage de CGE permet de mettre en évidence l'existence de deux types de glie entérique : GFAP+ (rouge, tête de flèche) et GFAP- (vert, flèche). (B) Ces deux types de glie entérique présentent une morphologie semblable et établissent des contacts via leurs prolongements cytoplasmiques. *Source* (197).

En 2015, Rao et al. identifient un marqueur largement exprimé par les CGE chez la souris, la lipophiline ou protéolipide de la myéline de type 1 (PLP1) (188). Les CGE, identifiées par l'expression des marqueurs GFAP et/ou S100 β , coexprimeraient également le marqueur PLP1 (188), protéine structurale fondamentale de la myéline (202). Ainsi, dans l'étude de Rao et al., les marqueurs S100 β et PLP1 semblent appropriés en tant que marqueurs de la population gliale entérique par l'étendue de leur expression dans la population de CGE (188, 203) (**Figure 36, Figure 37**). Cependant, les CGE GFAP+ se concentrent majoritairement au niveau des ganglions du plexus myentérique et sous-muqueux (188). Par conséquent, le marqueur GFAP permet également d'identifier les CGE intraganglionnaires.

Mais bien que PLP1, GFAP, S100 β ou Sox10, soient considérés comme des marqueurs gliaux entériques, ils ne représentent individuellement que partiellement la population gliale entérique (188). A ce jour, il n'existe donc pas de réel consensus concernant les meilleurs marqueurs d'identification des CGE (170).

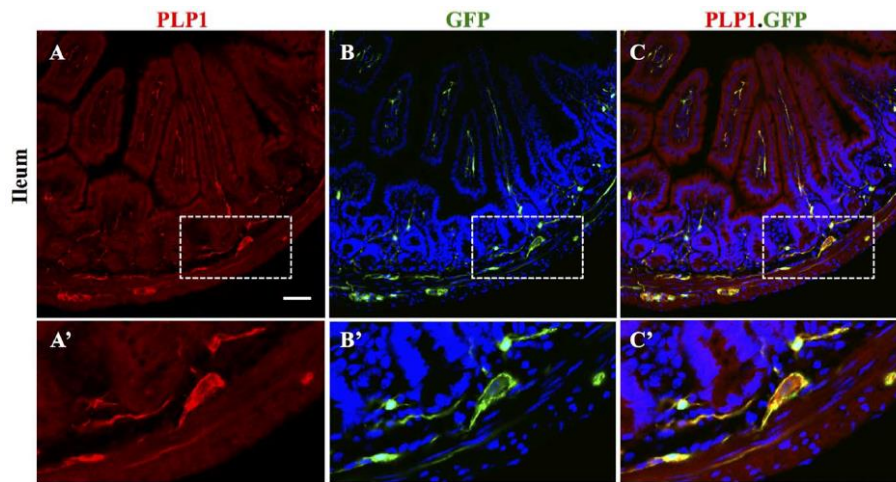


Figure 36 Analyse immunohistochimique d'une coupe transversale d'intestin grêle révélant la population de cellules gliales entériques PLP1+/GFAP+ (souris transgéniques). Les marquages des CGE PLP1+ (rouge) et des cellules GFAP+ (vert) se superposent au niveau d'un certain nombre de CGE. Barre d'échelle (A-C) : 50 μ m, (A'-C') : 20 μ m. *Source* (188).

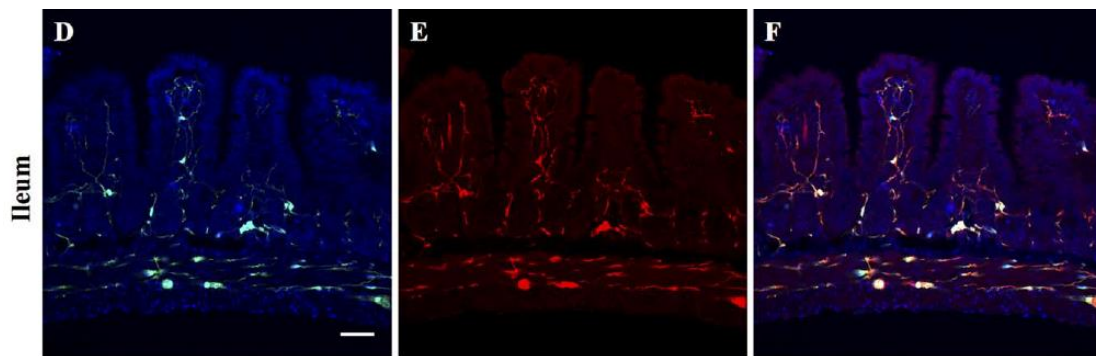


Figure 37 Analyse immunohistochimique d'une coupe transversale d'intestin grêle révélant la population de cellules gliales entériques PLP1+/S100 β + (souris transgéniques). Les marquages des CGE PLP1+ (vert) et des cellules S100 β + (rouge) se superposent également au niveau d'un certain nombre de CGE. Barre d'échelle (A-C) : 50 μ m. *Source* (188).

6.2.5 Potentiels pour des neurogreffes

Avant la réalisation d'une neurogreffe de CGE, il est nécessaire de s'interroger sur la faisabilité d'une telle procédure. Ainsi, sur la base des données de la littérature, les prochaines parties se consacreront aux propriétés des CGE permettant d'anticiper les apports et les éventuelles limites de leur transplantation.

Tout d'abord, sera ici envisagé le scénario inverse.

Dans le concept contemporain de l'« axe cerveau-intestins », le tube digestif est considéré comme un « second cerveau » (164) ou un « petit cerveau intestinal » (204), à la fois indépendant fonctionnellement et éminemment lié à l'activité cérébrale (**Figure 38**). Tout comme le SNC, le SNE est soumis au risque de survenue de neuropathies congénitales ou acquises. Dans le cas d'une neuropathie caractérisée par une déficience neuronale, il est alors possible d'envisager le SNC comme une source de cellules pour la réalisation de greffes entériques. Ces dernières participeraient au remplacement neuronal entérique, afin de favoriser la restauration fonctionnelle du tube digestif.

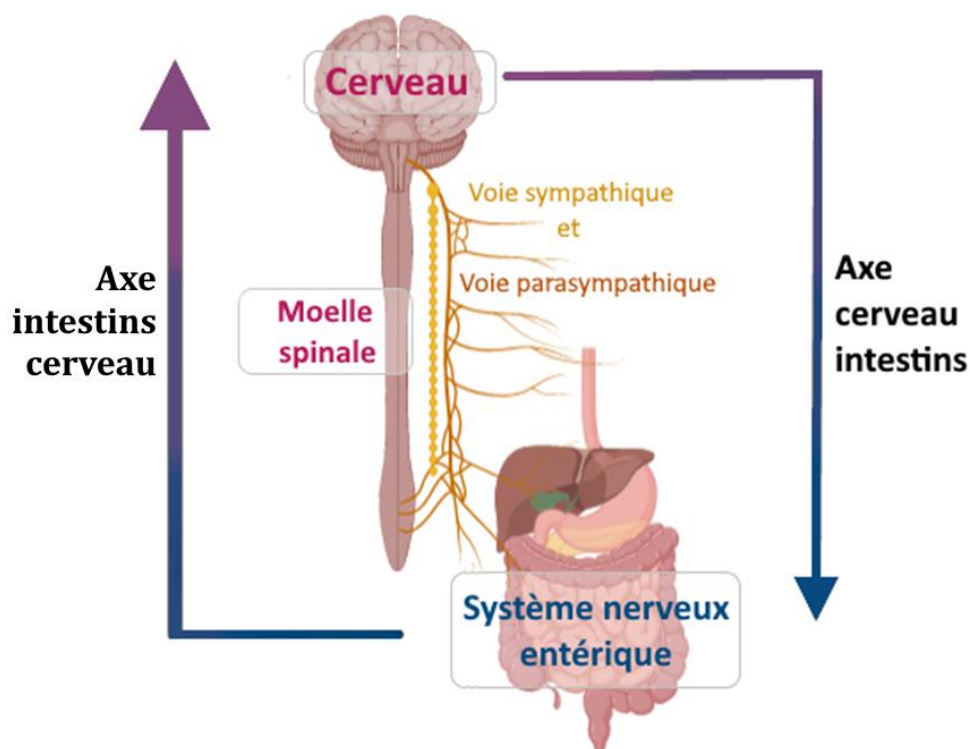


Figure 38 Représentation schématique de la communication cerveau-intestins. Le système nerveux entérique (SNE) est autonome. Toutefois, ses fonctions sont régulées et modulées à différents niveaux du système nerveux. Le SNE est notamment « connecté » au SNC, fonctionnellement et structurellement, définissant un axe de communication bidirectionnelle, « cerveau-intestins » et « intestins-cerveau ». *Réalisation personnelle (BioRender ©).*

En 2005, Micci et al. ont mis en évidence l'efficacité d'une transplantation intrapylorique de cellules souches neurales (NSC) sur des modèles de souris déficientes en neurones nitrinergiques, qui sont connus pour intervenir dans la relaxation des muscles lisses du sphincter œsophagien inférieur et du sphincter

pylorique (205, 206). Les NSC ont été initialement isolées à partir de la zone subventriculaire issue du cerveau d'embryons de souris (205). Une analyse immunohistochimique et une évaluation fonctionnelle du tube digestif ont été réalisées une semaine après la transplantation (205). Elle révèle la différenciation des NSC-GFP+ transplantées en neurones nitrinergiques fonctionnels (expression de l'oxyde nitrique synthase (NOS)), et en moindre effectif, en cellules gliales. Ces deux types cellulaires adoptent même une configuration semblable à celle des ganglions du plexus myentérique. Et surtout, une reprise fonctionnelle significative du tube digestive est constatée chez les animaux ayant reçu la greffe (205).

Cette étude mène à la conclusion suivante : le SNC est une source potentielle de cellules pour la réalisation de transplantations au sein du tube digestif afin de rétablir les fonctions lors de neuroentéropathies. La question qui émerge alors de ces observations est de savoir si l'expérience inverse mène à des résultats comparables.

A ce jour, les études portant sur les transplantations de tissus entériques neurogéniques sont encourageantes. On peut notamment citer celles de Belkind-Gerson et al. (207). En 2016, leurs travaux ont permis de confirmer la faisabilité d'une transplantation de cellules souches neurales entériques (ENSC) dans le parenchyme cérébral de modèles de rongeurs cérébrolésés. La réalisation de la thérapie cellulaire par voie locale ou systémique a montré une survie des ENSC transplantées, leur prolifération et leur différenciation en cellules neuronales et gliales. De plus, les cellules transplantées sont capables de stimuler localement la neurogenèse endogène de manière significative (207).

Il est donc réaliste d'envisager des résultats comparables pour une thérapie cellulaire à partir de CGE dans le cadre d'atteintes cérébrales.

Au-delà du potentiel neurogénique attendu, plusieurs propriétés des CGE peuvent être recherchées.

6.2.5.1 Effets trophiques

Au sein du SNE, les NE exerceraient une dépendance trophique vis-à-vis des CGE (208). Dans les études reposant sur des modèles animaux ayant subi une ablation des CGE, la résultante en est l'atrophie voire la perte des NE (209).

A l'instar des cellules gliales du SNC, les CGE régulent la formation, le maintien et le fonctionnement des synapses neuronales (208). De plus, dans le cas de lésions du SNE, Joseph et al. ont mis en évidence une étroite association entre les CGE et les fibres nerveuses, leur permettant de participer à la croissance axonale (210).

6.2.5.2 Effets neuroprotecteurs

Les CGE exercent une action neuroprotectrice en limitant le stress oxydatif, directement par le biais de la sécrétion de glutathion, molécule antioxydante (211) et indirectement, par le biais de la 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandine J2 (15d-PGJ2) (212). Cette dernière favoriserait à son tour la synthèse et la sécrétion de glutathion (212).

De plus, les CGE assurent également une neuroprotection contre un effet excitotoxique par le biais de la clairance des substances neuroactives, telles que l'ATP et le glutamate au niveau de l'espace synaptique (213).

6.2.5.3 Effets supports mécaniques

Au sein du SNE, les CGE_{MP} et CGE_{SMP} sont connues pour constituer un support physique aux neurones (9, 187).

De même, l'étude de Micci et al. qui avait permis de mettre en évidence l'efficacité fonctionnelle de la transplantation intrapylorique de NSC dans un contexte de neuropathie entérique (205), a aussi révélé que les cellules gliales néoformées étaient principalement retrouvées en périphérie des neurones. L'étude suggère la formation d'un support physique par les cellules gliales, permettant aux neurones de s'ancrer plus solidement au sein de la paroi digestive (205).

6.2.5.4 Effets supports fonctionnels

Il existe de nombreux contacts contigus entre les CGE et les NE, au niveau desquels les CGE interviennent pour moduler l'activité neuronale de différentes manières (187). D'une part, elles approvisionnent les neurones en précurseurs de neurotransmetteurs (ex. glutamine), et sécrètent des médiateurs neuroactifs (214) (**Figure 39**). D'autre part, sur le modèle des astrocytes, elles prennent part au fonctionnement synaptique (208,

215). L'excitabilité des CGE se manifeste par le relargage de leur glutamate, permettant de moduler la transmission synaptique et l'excitabilité neuronale.

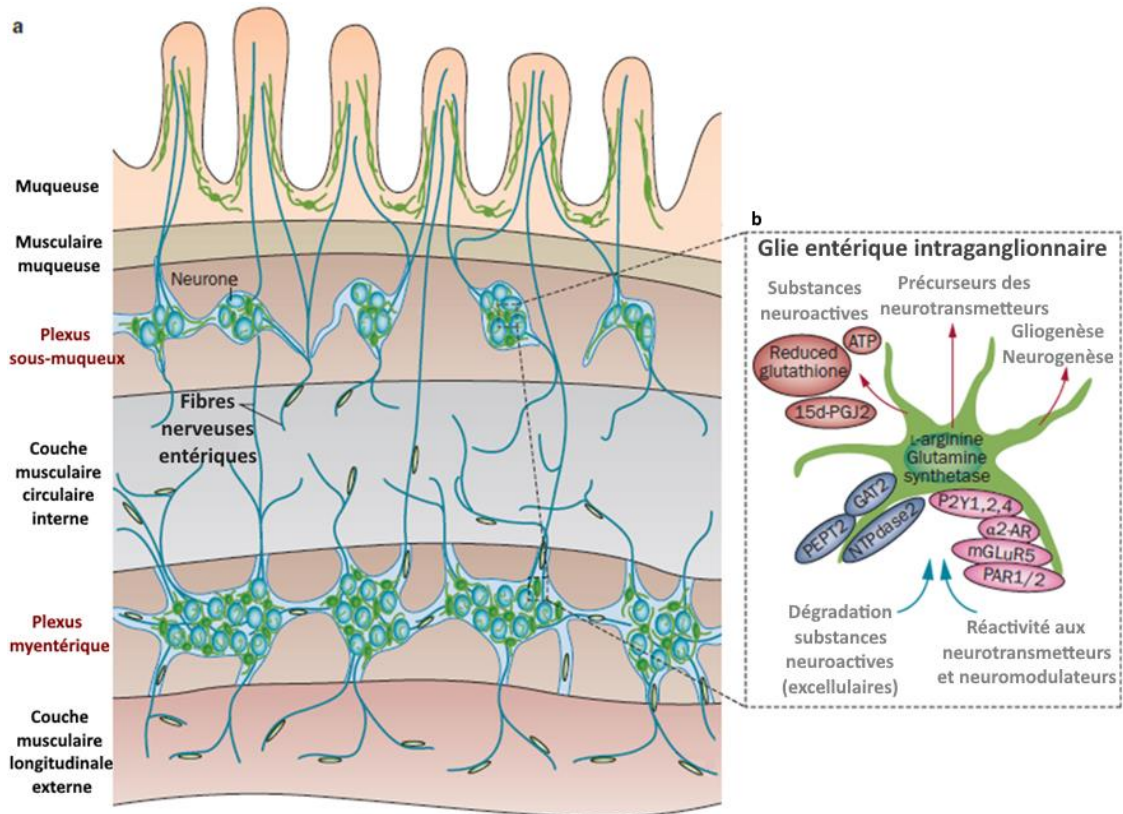


Figure 39 Diverses fonctions des cellules gliales entériques intraganglionnaires. (a) Présence de plusieurs sous-populations de CGE à différentes localisations et de fonctions distinctes. (b) Diverses fonctions des CGE intraganglionnaires. α_2 -AR: α_2 récepteur adrénergique; 15d-PGJ2: 15-deoxy- Δ 12,14-prostaglandine J2; GAT2: Transporteur GABA de type 2 sodium- et chlorure-dépendent; mGluR5: Récepteur glutamate métabotrope de type 5; NTPdase2: Diphosphohydrolase triphosphate ectonucléoside de type 2; PAR1/2: Récepteur activé à la protéase de type 1/2; PEPT2: Transporteur de peptide de type 2; CGE: Cellule gliale entérique. *Adapté de* (187).

Par ailleurs, le potassium K^+ relargué dans le milieu extracellulaire lors de l'activité neuronale est pris en charge par les canaux et transporteurs transmembranaires des CGE (216), limitant l'effet délétère de son accumulation sur l'excitabilité neuronale (187), et potentialisant l'action post-synaptique (208, 213).

6.2.5.5 Effets immunomodulateurs

En conditions physiologiques, les CGE participent à l'homéostasie immunitaire de la paroi gastro-intestinale (217). Elles seraient investies notamment lors d'entéropathies inflammatoires, telles que la maladie de Crohn (217).

Dans le cadre de leurs travaux d'étude, Kermarrec et al. ont mis en évidence en 2016 le potentiel immunomodulateur des CGE (217). Ils ont ainsi révélé les capacités inhibitrices des CGE_{MP} sur la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T, *in vitro*. Un des mécanismes implique le récepteur de la protéine de mort cellulaire programmée 1 (PD-1), exprimé par les lymphocytes T (218), et son ligand (PD-L1), protéine de surface des cellules gliales (219). L'interaction récepteur/ligand (PD-1/PD-L1) engendre alors l'inhibition de la prolifération des lymphocytes T activés (220).

6.2.5.6 Effets modulateurs de l'inflammation

Les CGE répondent au stimuli pro-inflammatoires et participent de manière active aux processus inflammatoires (198) (**Figure 40**). Elles sécrètent, par exemple, des médiateurs inflammatoires, dont les interleukines (IL)-1, et IL-6 (187, 221).

Par ailleurs, au cours d'un processus inflammatoire, l'expression de la protéine de liaison, S100 β , tend à augmenter. A la manière d'une cytokine pro-inflammatoire, cette dernière engendre une modulation des signaux de l'inflammation aiguë par les CGE (198). A des concentrations nanomolaires, S100 β présente un effet neurotrophique, en participant à la croissance, la survie et la différenciation des neurones (222). A des concentrations micromolaires, S100 β intervient dans les processus neuroinflammatoires et neurodégénératifs du SNE (222).

Le potentiel anti-inflammatoire des CGE est également appréhendé dans le cas de certaines études *in vivo* où l'inhibition de l'activité des CGE induit des effets délétères. Ainsi, en 1998, Bush et al. mettent en place un modèle de souris exemptes de cellules gliales GFAP+. La perte de CGE se traduit par une augmentation de la perméabilité de l'épithélium intestinal, l'induction d'une réaction inflammatoire sévère et une nécrose hémorragique de l'intestin grêle. Au niveau cellulaire, la perte de CGE a entraîné une atrophie neuronale du plexus myentérique (209). Bush et al. parviennent ainsi à démontrer les effets anti-inflammatoires importants des CGE, par exemple, induits indirectement par l'inhibition de la synthèse de facteurs pro-inflammatoires (192) (**Figure 40**).

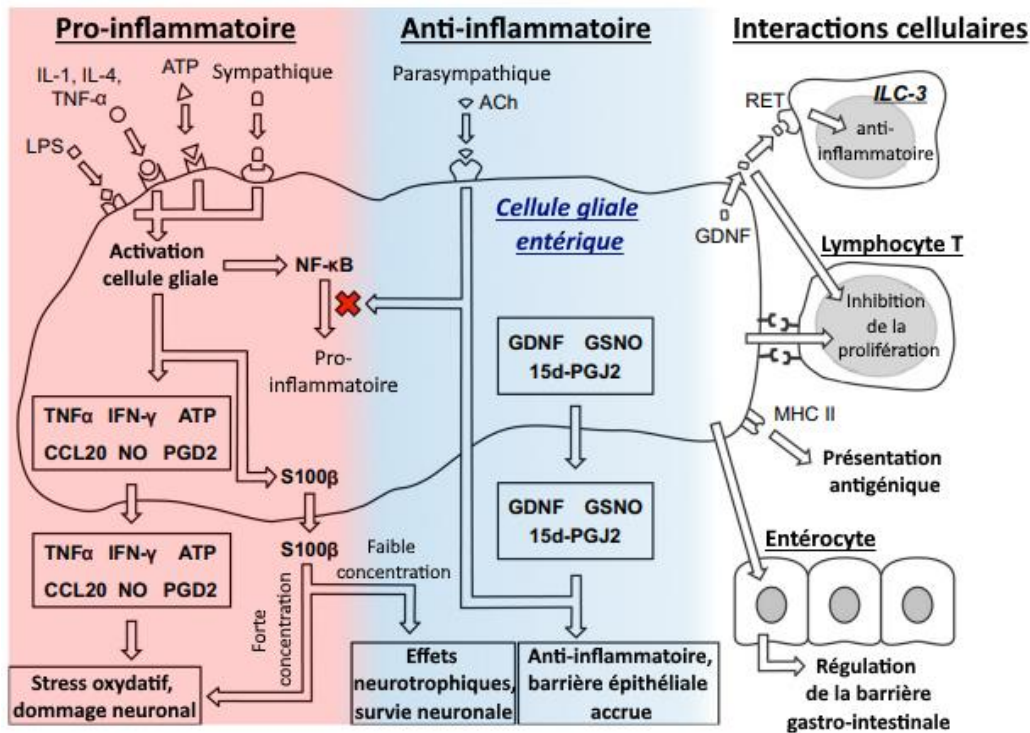


Figure 40 Synthèse schématique des réponses cellulaires des cellules gliales entériques dans un contexte inflammatoire. Le contexte inflammatoire est distingué selon les deux catégories d'effets : pro-inflammatoire (rouge) ou anti-inflammatoire (bleu). Ces derniers peuvent également donner lieu à l'interaction entre les CGE et d'autres types de cellules (lymphocyte, entérocyte) (blanc). GDNF : facteur neurotrophique dérivé de lignée cellulaire gliale ; GSNO : S-nitrosoglutatione; d'origine gliale, 15d-PGJ2 : 15-deoxy-12,14-prostaglandin J2; ILC : Lymphocyte innée, MHC : complexe d'histocompatibilité majeure. *Adapté de (223).*

6.2.5.7 Effets neurogéniques

L'effet neurogénique des CGE est principalement recherché dans le cadre de cette étude.

Chez les mammifères adultes, les lignées cellulaires de la glie périphérique (cellules de Schwann, glie du corps carotidien), peuvent se différencier et retrouver les propriétés des cellules souches de la crête neurale (224, 225), à la suite d'un stress tissulaire (lésion, infection, dissociation tissulaire) (224). Quant aux CGE, de récentes études sur les CGE_{PM} ont permis de mettre en évidence un potentiel neurogénique inducible dans des conditions similaires (inflammation aigüe, infection bactérienne), *in vitro* (177, 210, 226).

In vivo, ce sont notamment les travaux de Laranjeira et al. qui ont permis de révéler la neurogenèse des CGE (Sox10+/GFAP+) en réponse à des stimuli chimiques nocifs

(9). A l'issue de leur étude sur modèles rongeurs, Laranjeira et al. démontrent l'existence chez les CGE d'un potentiel de transformation en cellules progénitrices neurales, à l'origine de NE et CGE (9) (Figure 41). De plus, *in vitro*, selon le micro-environnement de culture, les CGE sont susceptibles de donner des sous-types variés de neurones (9). Ces travaux ont également permis de révéler la compétence fonctionnelle de ces neurones néoformés, qui est notamment caractérisée par une excitabilité et des synapses effectives (9).

En explorant les caractéristiques et les potentiels des CGE, Laranjeira et al. anticipent également l'intérêt de ces cellules pour la thérapie cellulaire dans le contexte de neuropathies (9).

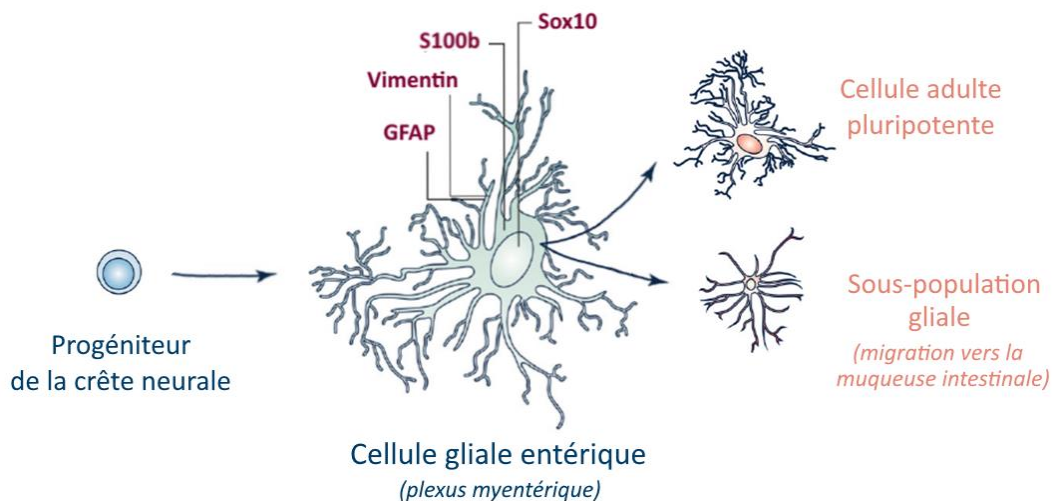


Figure 41 Représentation schématique de l'origine et du devenir des cellules gliales entériques.

Les CGE_{PM} proviennent de la différenciation de progéniteurs de la crête neurale. Par la suite, elles acquièrent progressivement leur phénotype mature. A l'âge adulte, selon les conditions de leur micro-environnement, elles peuvent alors se différencier, et donner des cellules pluripotentes (potentiel neurogénique et gliogénique). *Adapté de (170).*

Les mécanismes mis en jeu au cours de la neurogenèse *in vivo* restent encore à découvrir. Toutefois, de récentes études permettent de fournir les premières réponses. En 2009, Liu et al. ont révélé une neurogenèse entérique chez l'animal adulte induite par la présence d'agonistes du récepteur sérotoninergique 5-hydroxytryptamine 4 (5-HT4) (227).

Concernant le potentiel neurogénique et gliogénique des CGE, Joseph et al. ont évalué le devenir des CGE (CD49b+), en conditions normales puis mises en présence

de différents stimuli *in vivo* (210). Ils ont ainsi mis en évidence qu'une neurogenèse et une gliogenèse à partir de ces cellules étaient présentes en conditions physiologiques et pathologiques. Toutefois, les analyses immunohistochimiques révèlent une neurogenèse de faible intensité, y compris en conditions pathologiques. Cette observation constitue tout de même une preuve supplémentaire du potentiel neurogénique des CGE (177, 228).

Par la suite, en 2017, Belkind-Gerson et al., apportent des précisions sur ce potentiel neurogénique et gliogénique, sur un modèle de souris transgéniques. Des analyses immunohistochimiques ont révélé l'existence de deux sous-populations de CGE. En réponse à des stimuli inflammatoires, l'une de ces deux sous-populations prolifère afin d'assurer le maintien d'un pool constant de CGE, et l'autre subit une « transdifférentiation », ou différenciation neuronale (226).

Par ailleurs, en 1991, les travaux de Dulac et al. mènent à supposer que la pluripotence des CGE est conservée *in situ* mais est exprimée préférentiellement en fonction de leur environnement physique (jonctions serrées) et chimique (172, 229) (**Figure 42**). La neurogenèse constitutive par les CGE est possible mais n'est pas initiée de manière spontanée (9, 210). Ce sont l'ensemble des signaux de l'environnement, émis par les neurones, les autres CGE, le microbiote, ou encore les cellules immunitaires qui oriente le phénotype dynamique des CGE (228).

Par ailleurs, dans le cadre de la greffe de CGE, le potentiel neurogénique des CGE doit s'accompagner du potentiel gliogénique pour pouvoir être exploité de manière optimale et durable (170). En effet, les neurones nécessitent inévitablement le soutien mécanique et fonctionnel des cellules gliales pour permettre leur bon fonctionnement et leur survie (208) (**Figure 43**).

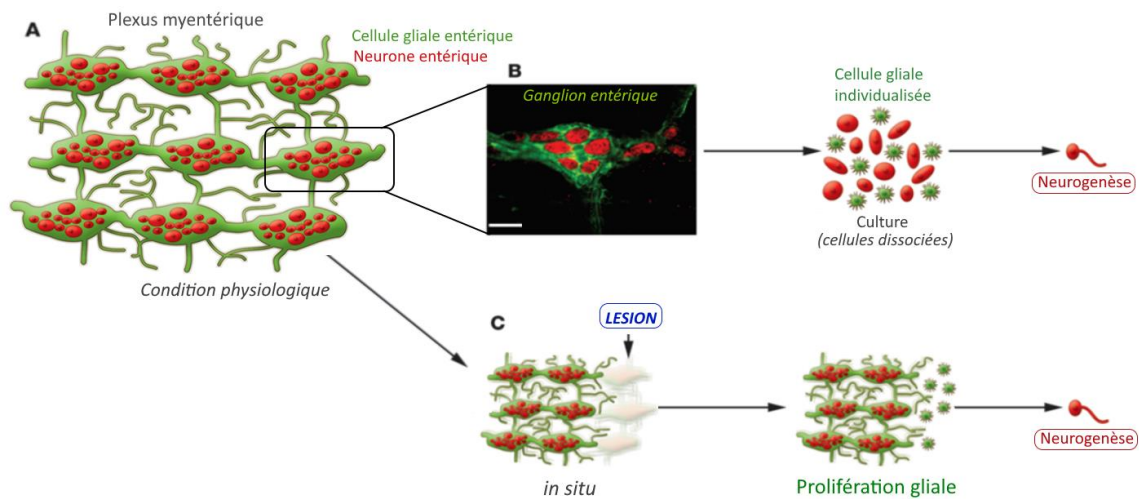


Figure 42 Potentiel neurogénique des cellules gliales entériques intraganglionnaires. L'initiation de la neurogenèse peut se réaliser à la suite de la rupture des jonctions serrées entre les CGE. (A) Schéma de la structure d'un ganglion du plexus myentérique. Les neurones entériques (rouges) sont identifiés à l'aide du marqueur immunohistochimique HuC/D. Les CGE (vert) forment un réseau dense autour des neurones, et sont identifiées à l'aide du marqueur S100 β . (B) Le réseau ganglionnaire est ensuite dissocié et les cellules neuronales et gliales sont mises en culture. Une sous-population de CGE est alors à l'origine d'un processus de neurogenèse. (C) Le phénomène est envisageable *in vivo*. Une lésion du SNE, à l'origine de la rupture partielle du réseau glial induit alors la gliogenèse dont une sous-population isolée structurellement de CGE initie la neurogenèse. *Source* (228).

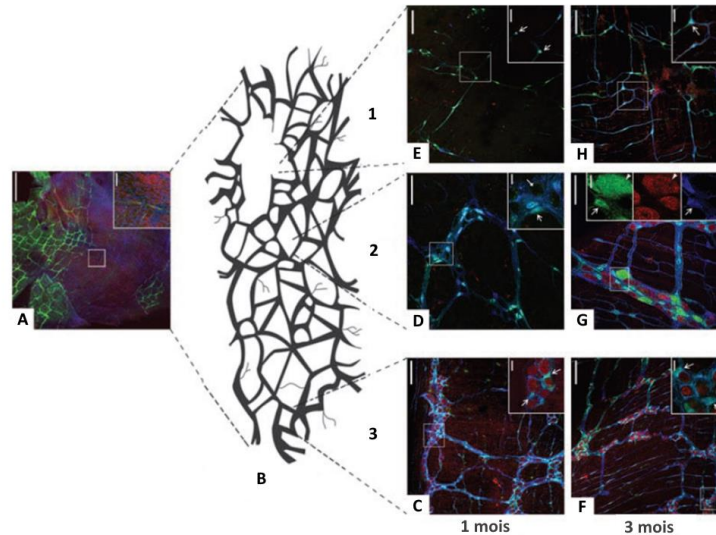


Figure 43 Génération de neurones et de la glie *in vivo* chez des modèles de souris transgéniques.

(A) Observation microscopique de préparation de plexus myentérique et sous-muqueux de tube digestif issus de souris transgéniques. Les territoires ciblés ont subi une ablation des cellules neuronales (HuC/D⁺, rouge) et gliales (S100β⁺, bleu). (B) Représentation schématique d'un plexus entérique au niveau d'un territoire ayant subi l'ablation de NE et CGE. (C – H) Observations microscopiques des préparations de plexus myentérique et sous-muqueux au niveau de régions, à distance (C et F), adjacentes (D et G) ou au centre de la zone aganglionique (E et H). Les préparations ont été analysées à 1 mois (C-E) ou 3 mois (F-H). L'analyse confirme une neurogenèse et une gliogenèse au niveau du site aganglionique et à distance à 3 mois. *Source* (9).

6.2.6 Biosécurité des cellules gliales entériques

Le choix des cellules à utiliser dans le cadre d'une thérapie cellulaire doit se baser sur le potentiel et les propriétés bénéfiques que peuvent apporter les cellules. Toutefois, il est indispensable de connaître et reconnaître les risques sanitaires à l'emploi de ces cellules. Ainsi, en dehors des maladies infectieuses zoonotiques, seront ici abordées les maladies neurodégénératives susceptibles d'être véhiculées et « transmises » par les CGE.

Tout d'abord, la maladie de Kreutzfeldt-Jacob est une maladie neurodégénérative progressive et irrémédiablement létale, due à la dissémination d'isoformes pathologiques de la protéine prion (PrP^C) (230). La maladie atteint également les astrocytes, de manière précoce. Et ces derniers seraient responsables de la transmission du prion à la population neuronale (231). Par conséquent, dans une démarche d'extrapolation de ces observations, il est légitime de s'interroger sur le rôle

potentiel de vecteur de prion des CGE. Ces dernières exprimeraient cette protéine (PrP^c) de manière constitutive, et sont des cibles potentielles du prion infectieux (232). De récentes études ont démontré la présence de sites de réplication de cette protéine au sein du plexus myentérique, en précédant toute réplication au niveau du SNC (233). Toutefois, si ces observations sont constatées expérimentalement sur modèles rongeurs (232, 234), aucune preuve n'a actuellement été établie concernant la présence et la potentielle transmission de la protéine du prion par les CGE humaines.

Par ailleurs, la maladie de Parkinson est caractérisée par le dépôt d'agrégats de synucleine- α , appelés corps ou neurites de Lewy, au niveau de neurones du SNC (235). De récentes études ont mis en évidence des corps de Lewy au niveau du tractus gastro-intestinal, lors des stades pré-symptomatiques chez l'homme. En 2003, Braak et al. émettent ainsi l'hypothèse d'une atteinte précoce du SNE à l'origine d'une diffusion en direction du SNC par le biais des fibres préganglionnaires vagues (236). Cette hypothèse est renforcée par les observations de Shannon et al. en 2012, mettant en évidence la présence de corps de Lewy au sein de NE et CGE coliques. Toutefois, de même que pour la maladie d'Alzheimer (plaques amyloïdes), aucune transmission directe à partir des CGE n'a été démontrée chez l'homme (164).

Enfin, les CGE sont actuellement classées en cellules humaines de niveau de biosécurité 1, donc autorisées à être manipulées en animalerie conventionnelle (237).

En définitive, les CGE semblent présenter une certaine sécurité biologique qui conforte leur utilisation dans le cadre d'une thérapie cellulaire.

Partie II : Etude expérimentale

1 Matériels et méthodes

1.1 Marmouset : modèle animal

1.1.1 Etude pilote : choix du marmouset

Le projet présenté ici correspond à une étude pilote. Cette dernière consiste en l'application, à faible échelle, d'un protocole de recherche afin de vérifier l'adéquation de sa conception. Pour cela, les critères d'admissibilité des sujets, et les procédures du protocole sont évalués (238). Ce projet visera donc à affirmer la faisabilité mais également la sécurité d'une neurogreffe de CGE dans un contexte de lésion cérébrale.

La population animale est, ici, réduite à un individu, correspondant à l'animal bénéficiant de la greffe de CGE. Les résultats obtenus pour ce marmouset seront alors comparés avec les résultats obtenus chez 6 autres marmousets cérébrlésés dans le cadre d'un même protocole de lésion cérébrale, et recrutés lors d'études antérieures de l'équipe. Les marmousets (*Callithrix jacchus*) ont été sélectionnés, entre autres, sur la base de leur bonne santé, l'absence de contre-indications à l'anesthésie générale et leur aptitude à utiliser de manière satisfaisante les dispositifs des tests comportementaux. En respectant le principe « Réduire » de la règle des 3R, le projet s'insère au mieux dans une démarche éthique de l'expérimentation animale sur des PNH.

Tous les animaux sont détenus selon les directives européennes (EU Directive 2010/63). Le protocole a été approuvé par la direction départementale de la Protection des Populations (DDPP) de la Haute-Garonne et le Comité d'éthique pour l'expérimentation animale Midi-Pyrénées (autorisation du Ministère n°8873 dans une animalerie agréée, autorisation n°B3155501). Tous les efforts ont été fournis afin de minimiser le nombre d'animaux utilisés et les souffrances imposées.

1.1.2 Choix pour l'évaluation sensorimotrice

Il est indispensable d'évaluer les déficits sensorimoteurs des marmousets. Ces évaluations permettent, d'une part, de confirmer l'absence de déficits antérieurs à la lésion induite, à l'origine de biais potentiels. Par ailleurs, elles permettent d'attester cliniquement le type et l'intensité des déficits induits par la lésion. Enfin, elles

permettront de constater l'absence ou la présence d'effets, bénéfiques ou délétères, du protocole thérapeutique sur la récupération fonctionnelle.

Pour cela, les dispositifs exploités doivent remplir certaines conditions. Dans une démarche pratique, ils doivent permettre de réaliser un suivi au long court. Ainsi, le choix s'oriente vers des méthodes, *a fortiori*, réalisables *in vivo*, adaptées aux objectifs d'évaluation, dont les résultats sont exploitables, comparables et d'intérêt clinique significatif. D'autre part, dans une démarche éthique, ils doivent intégrer les principes du bien-être animal et de la gestion éthique des animaux de laboratoires. S'impose donc à eux le fait d'être le moins invasif possible, de limiter le stress, et de ne pas compromettre l'intégrité physique au-delà du modèle AVC défini. Les dispositifs exploités, ici, adoptent les principes d'entraînement par renforcement positif et se basent sur la motivation et le volontariat des marmousets entraînés.

1.1.2.1 Echelle neurologique : évaluation somatosensorielle et motrice

Les déficits fonctionnels engendrés par la lésion cérébrale sont principalement moteurs. Toutefois, des déficits sensoriels peuvent être constatés, et influencer l'évaluation fonctionnelle globale. Une échelle neurologique est ainsi employée pour chaque marmouset. Elle est extraite du protocole d'étude de Le Friec et al. (2020) (143), élaboré dans le laboratoire ToNIC (Tableau 1). Cette échelle modifiée inclut les capacités à utiliser les tests comportementaux (escaliers), et l'évaluation de la sensibilité des membres thoraciques et pelviens. Un score est attribué de manière séparée pour chacun des côtés de l'animal, avec un score maximal de 22 points par hémicorps. Un score de référence est établi en période pré-opératoire. Puis les marmousets sont évalués deux fois par semaine en période post-opératoire.

MOTRICITE /10		Date	
Membre thoracique		G	D
Saisie de pince	Absence de contact	0	
	Contact sans saisie	1	
	Saisie moins forte	2	
	Saisie aussi forte	3	
Utilisation volontaire	Absence d'utilisation du dispositif	0	
	Utilisation avec le membre non déficitaire	1	
	Utilisation spontanée	2	

Visée	Anormale	0		
	Normale	1		
Marche	Anormale	0		
	Normale	1		
Membre pelvien				
Debout	Impossible	0		
	Déséquilibre	1		
	Normal	2		
Marche	Anormale	0		
	Normale	1		
<i>SENSIBILITE /7</i>				
Membre thoracique				
Support du poids (au sol)	Boiterie de soutien	0		
	Boiterie d'appui ou déficit proprioceptif	1		
	Normal	2		
Fréquence	Jamais	0		
	Moins que la patte saine	1		
	Autant que la patte saine	2		
Sensibilité	Anormale	0		
	Normale	1		
Membre pelvien				
Support du poids (au sol)	Anormal	0		
	Normal	1		
Sensibilité	Anormale	0		
	Normale	1		
Tronc				
Statique	Déséquilibre	0		
	Normale	1		
Sauts	Absents	0		
	Réduits	1		
	Normaux	2		
Mastication	Ne mange pas	0		
	Anormale	1		
	Normale	2		

Tableau 1 : Echelle neurologique : évaluation de la motricité et de la sensibilité des hémicorps.

Le statut neurologique final intègre l'utilisation des dispositifs de comportement ("Utilisation volontaire") et de la proprioception ("Support du poids"). Un score maximal de 22 points est attribuable à chaque hémicorps. *Adaptée de Le Friec et al. (2020) (143).*

1.1.2.2 Staircases colline et vallée

La dextérité manuelle est définie par l'habilité motrice des membres thoraciques. Elle est ici évaluée par le biais des tests de staircase « colline » et « vallée » (12, 13), d'après l'adaptation des dispositifs proposés par Marshall et Ridley (2003) (161), où les marches ont été creusées pour augmenter la difficulté. Les marmousets effectuent une série d'actions consécutives : saisie, maintien et déplacement d'une récompense alimentaire (**Figure 44**).

Dans son ensemble, le dispositif correspond à une plaque de Plexiglas, suspendue à la cage des marmousets lors de la réalisation des tests et présentant deux unités de 5 marches. Le staircase colline est pourvu de deux fentes latérales, celui en vallée est pourvu d'une fente centrale, permettant le passage et l'évaluation individuelle des deux membres thoraciques. Le test est réalisé comme suit :

- Le marmouset est convié à se rapprocher du dispositif.
- En quête des récompenses, il introduit le membre thoracique adéquat au niveau de la fente correspondante.
- Une récompense alimentaire est alors disposée et accessible sur chacune des marches.

Dans le cadre de l'évaluation, les marches sont associées à des niveaux de difficulté croissante de la marche la plus basse vers la plus haute (cinquième marche). Des points sont attribués de la première marche (1 point), à la cinquième (5 points) (**Figure 44**). Chaque test est chronométré. L'intervalle de temps d'un test est défini entre la récolte de la première récompense et la récolte de la cinquième récompense à l'aide d'un unique membre. Une durée maximale par test de 5 mins/membre a été établie. Ainsi à chaque test, les marmousets reçoivent un score correspondant à la somme des points cumulés par la récupération des récompenses, avec un total maximal de 15 points par membre. Toutefois, à la différence du système de Marshall et Ridley, des points sont aussi attribués lors de la récupération d'une récompense, qui est tombée sur une marche inférieure. Le point correspond alors à celui de la marche associée (d'après la thèse d'Alice Le Fric (13)).

Par ailleurs, en raison de la difficulté de ségrégation entre déficit moteur et déficit visuospatial, le test staircase colline est donc complété par le test staircase vallée. Par

ce dernier, le champ visuel controlésionnel, potentiellement sous héminégligence est géré par le membre thoracique ipsilatéral (sain) et inversement. Ceci permet la détection de tout déficit visuospatial.

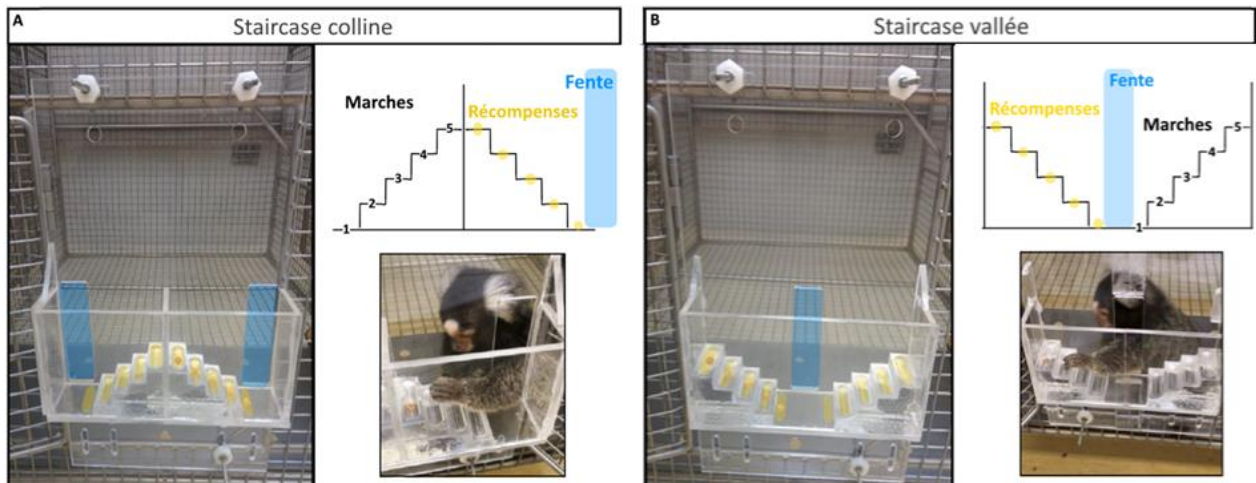


Figure 44 Dispositif du staircase colline (A) et vallée (B). Les récompenses sont ici disposées de sorte à pouvoir évaluer le membre thoracique gauche. *Images extraites de (12, 13).*

1.1.3 Entraînements

1.1.3.1 Programme d'entraînement et d'évaluation pré et post-lésionnelle

Les marmousets sont entraînés durant les deux mois précédents la chirurgie, à raison de 3 à 5 fois par semaines aux différents dispositifs comportementaux. La fin des entraînements est rendue effective à la suite de l'établissement d'un plateau de performances pour chacun des membres thoraciques. Une valeur de référence, définie comme étant la moyenne des scores obtenus pour chaque test et pour l'échelle neurologique la semaine précédant la procédure chirurgicale, est ainsi attribuée à chaque membre. Le membre dominant (meilleurs scores) deviendra alors le futur membre controlésionnel (ou membre déficitaire). L'intérêt est de pouvoir augmenter la sensibilité des évaluations fonctionnelles (12).

Pour la réalisation des entraînements, une restriction alimentaire (12 h) est imposée, avec un accès à l'eau maintenu. Les récompenses consistent en de petits morceaux de pain d'épice, adaptés à l'utilisation des dispositifs par les marmousets, et de taille raisonnable pour limiter les écarts au régime alimentaire normal des animaux.

Suite à la simulation de la lésion cérébrale (voir : **1.2 Modèle de lésion cérébrale**), les animaux sont testés sur les dispositifs à raison de 2 fois par semaine durant un mois, puis 2 fois durant la première semaine de chaque mois suivant, jusqu'à la fin de la réalisation du projet (9 mois) (**Figure 45**).

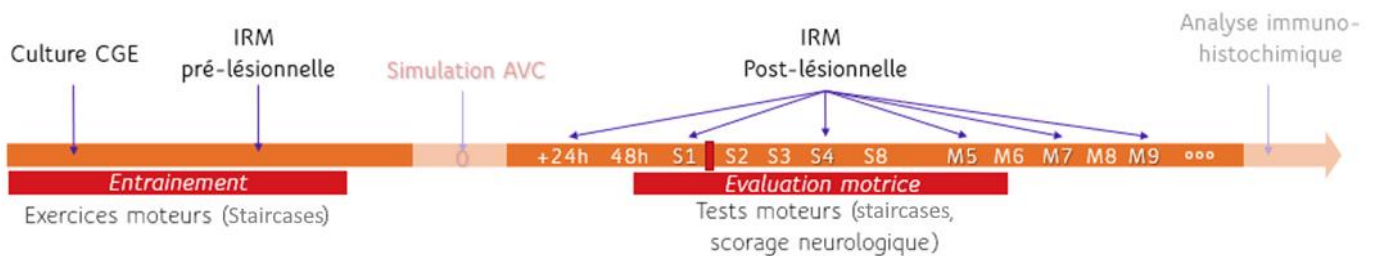


Figure 45 Programme d'entraînement et d'évaluation sensorimotrice des marmousets. Les marmousets sont entraînés au préalable des chirurgies à raison de 3 fois par semaine, jusqu'à atteindre un seuil de performances maximales. Les évaluations par tests moteurs et échelle neurologique sont réalisées dès 48 heures suivant la simulation de la lésion cérébrale. Les marmousets sont ensuite évalués à raison de 2 fois par semaine (S) durant le premier mois puis 2 fois par semaine, la première semaine de chaque mois (M) qui suivent.

1.2 Modèle de lésion cérébrale

1.2.1 Protocole de préparation

Les animaux sont mis à jeun 12h précédant la chirurgie, avec un maintien de l'accès à l'eau. Deux à trois heures avant l'anesthésie, une antibioprophylaxie est initiée par voie intramusculaire (IM) à l'aide d'antibiotique longue action (oxytétracycline, 20 µg/kg, Terramycine longue action®, Pfizer). Dix minutes avant l'anesthésie, une injection de glycopyrrolate (20 µg/kg, IM, Robinul-V®, Vetoquinol) est réalisée afin de limiter le ptyalisme. Dans un même temps, un traitement anti-inflammatoire est administré afin de limiter la formation d'un œdème cérébral (dexaméthasone, 2 mg/kg, IM, Dexadreson®, Intervet). Les marmousets sont ensuite anesthésiés à l'aide d'alfaxalone (7 mg/kg, IM, Alfaxan®). Un relais de maintenance par isoflurane (à 1–3%) est instauré. La saturation en oxygène (SpO₂) associée a été maintenue supérieure à 95%, la température rectale proche de 37,5°C par le biais de coussins thermiques.

Les paramètres vitaux (fréquence cardiaque, fréquence respiratoire, température), en relation avec les signes de narcose et d'analgésie sont régulièrement évalués tout au long de la procédure chirurgicale. Les valeurs usuelles considérées pour l'espèce marmouset sont les suivantes : fréquence cardiaque supposée comprise entre 200 et 300 battements par minutes (bpm), fréquence respiratoire comprise entre 10 et 30 mouvements par minutes (mpm) (239).

1.2.2 Protocole de réalisation de la lésion cérébrale

La lésion cérébrale est induite via une injection intracorticale de malonate (voir *Malonate : modèle de lésion cérébrale*). La procédure est réalisée sur sept marmousets communs dont deux femelles et cinq males âgés d'environ 5,1 ans et pesant environ 390 g. Les marmousets ont été placés dans un cadre stéréotaxique, en décubitus ventral, la tête maintenue en place par le biais de barres d'oreille. Les conditions chirurgicales aseptiques sont appliquées au niveau de la zone d'intervention, le cuir chevelu. Une anesthésie locale est réalisée par infiltration sous-cutanée de lidocaïne (15 µl en deux points d'injection de part et d'autre de la future ligne d'incision, Laocaïne®, Intervet). Le cuir chevelu est incisé, 5 à 10 minutes plus tard. Un trou de trépanation est ensuite réalisé (2 x 2 mm) sous irrigation d'une solution isotonique salée de NaCl 0,9% stérile. La dure-mère est alors incisée, permettant un accès à la surface du cerveau. L'injection intracorticale de 8 µl de malonate (Sigma®) à la concentration de 3 mol/L dans une solution tampon de phosphate de Dulbecco (DPBS, Gibco®) est initiée. Les injections sont réalisées à l'aide d'une seringue de 10 µL (Hamilton 701N Series, Phymep, gauge : 0.485 mm, diamètre interne : 0,22 mm), à un débit d'administration de 1 µL/min.

Les coordonnées stéréotaxiques sont déterminées afin de cibler le cortex moteur primaire (crânio-caudal + 6 mm, médio-latéral ± 4,5 mm, dorso-ventral – 2,5 mm par rapport au bregma, selon *l'Atlas Stéréotaxique du cerveau du marmouset*) (**Figure 46**) de l'hémisphère cérébral contrôlant la motricité du membre thoracique dominant. À la suite de l'injection, l'aiguille est maintenue en place durant 5 minutes supplémentaires afin de limiter tout reflux de malonate.

La reconstruction cutanée est ensuite réalisée par points simples cutanés à l'aide d'un fil résorbable (Vicryl, décimale 3, 75 mm, section ronde). Le réveil post-anesthésique

complet est effectué en salle de préparation avant la remise en cage, où l'accès à l'aliment et l'eau est rétabli.

Une surveillance quotidienne est réalisée durant toute la durée de la convalescence. Une reprise motrice partielle sans assistance est observée en moyenne 2 à 3 jours post-postopératoires.

L'analgésie et la prise en charge d'un œdème cérébral post-opératoire sont assurées par l'administration d'une corticothérapie à l'aide de dexaméthasone (1 mg/kg, une fois par jour, pendant 3 jours puis 0,5 mg/kg, une fois par jour pendant 3 jours, en IM, Dexadreson®, Intervet).

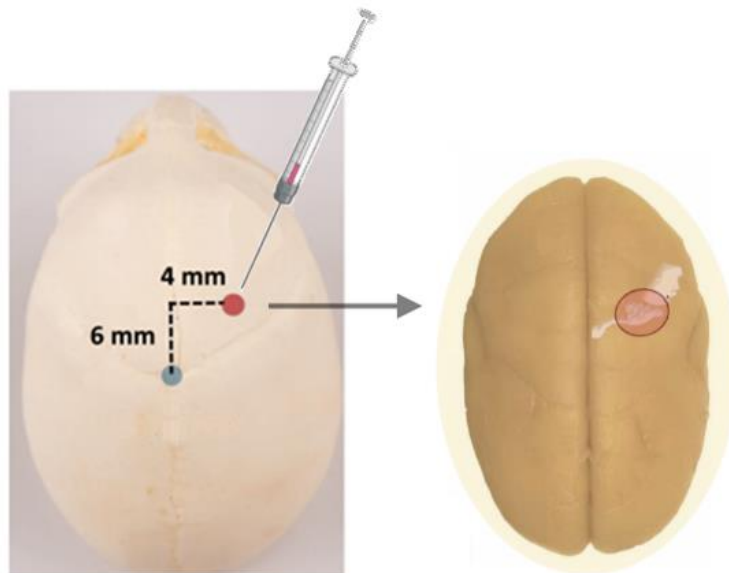


Figure 46 Localisation stéréotaxique de la zone d'injection intracérébrale. Le bregma (bleu), point d'intersection entre la suture coronale et sagittale, est le point de repère stéréotaxique pour la détermination du site de ponction du crâne et d'injection intracortical (malonate). Le point de forage (rouge) est situé au niveau de M1 contrôlant la motricité du membre thoracique dominant (controlésionnel). *Adapté de (12).*

1.3 Imagerie cérébrale

1.3.1 Choix du paramétrage

Initialement, chaque marmouset devait être soumis à une évaluation longitudinale par IRM en période pré-opératoire, puis 24h, une semaine, 4 semaines et 12 semaines post-opératoires, voire 5 à 8 mois pour certains animaux. Toutefois, les circonstances sanitaires ont contraint le personnel du laboratoire à reporté toute mise en contact avec

les marmousets. Par conséquent, une adaptation du protocole pour le marmouset greffé s'est imposée comme suit : IRM en période pré-opératoire, puis 24h, une semaine, 4 semaines, 5 mois et 7 mois post-opératoires. Dans la poursuite de l'évaluation clinique et paraclinique de l'effet de la neurogreffe à long terme, des examens d'IRM sont également prévus prochainement à 9 mois puis 12 mois post-lésion.

Les examens IRM des marmousets sont effectués sous anesthésie générale, afin de limiter le stress induit par l'appareil en marche et assurer l'immobilité des animaux pendant l'acquisition d'images.

L'appareil utilisé est un scanner IRM 3 Tesla Achieva (Philips) muni d'une antenne solénoïde. Le marmouset est positionné au sein de l'antenne, en décubitus ventral sous anesthésie générale (alfaxalone, 7 mg/kg en IM puis maintien isoflurane à 1,5–3%, débit entre 0,65 et 0,75 L/min).

1.3.2 Méthodes d'interprétation

L'analyse des lésions tissulaires, du volume lésionnel, et de l'œdème au cours du temps reposera principalement sur les séquences des images IRM pondérées en T2. Le volume lésionnel est mesuré par une méthode de segmentation semi-automatique de régions d'intérêts (ROIs), via le logiciel MRICron ou ITKsnap.

1.4 Cultures cellulaires de cellules gliales entériques

1.4.1 Origine des cellules de la xéno greffe

Les CGE ont été isolées à partir d'échantillons d'intestin grêle d'aspect morphologique et macroscopique sain, prélevés chirurgicalement sur un patient admis au service des maladies digestives du Centre Hospitalier Universitaire de Purpan (Toulouse). La biocollection est soumise à un protocole éthique approuvé par l'application nationale de la gestion de la conservation d'éléments du corps humain (CODECOH) (protocole DC - 2015-2443).

Suite à la biopsie, les prélèvements sont introduits dans une solution refroidie de Krebs-Henseleit stérile oxygénée, composée en (mmol/L) : 117 NaCl, 4,7 KCl, 1,2

MgCl₂, 6 H₂O, 1,2 NaH₂PO₄, 25 NaHCO₃, 2,5 CaCl₂ 2 H₂O, et 11 glucose (Sigma-Aldrich), associée à un mélange gazeux (5% CO₂, 95% O₂), en équilibre au pH 7,4.

1.4.2 Protocole d'isolement cellulaire

Le protocole d'isolement des CGE a été conçu par Cirillo et al. (2011) (198). Il s'inspire, entre autres, des protocoles d'isolement du plexus myentérique proposés par Von Boyen et al. (2004) (197) et Schäfer et al. (1996) (240).

Le tissu intestinal est préparé pour la réalisation de sa dissection mécanique. Le tissu est incisé le long du bord mésentérique, mis à plat puis introduit avec la couche muqueuse dirigée vers le haut dans une boîte de pétri contenant une solution de Krebs-Henseleit, renouvelée toutes les 5 minutes. Sous microscope, la muqueuse et la couche sous-muqueuse sont disséquées afin de mettre en évidence le plexus sous-muqueux. Ce dernier est ensuite découpé en fines sections.

Les réseaux ganglionnaires interconnectés sont enchâssés à la matrice extracellulaire de manière cohésive. De plus, le risque de contaminations par des cellules d'origine endogène (myocytes, fibroblastes) ou exogène (bactéries, levures, champignons) (241) n'est pas exclu. Par conséquent, une digestion enzymatique est réalisée. Cette dernière est initiée sous agitation mécanique, par le biais d'une solution contenant des protéases (1 mg/mL, Sigma-Aldrich Co.) et des collagénases (1.25 mg/mL, Sigma). Les ganglions entériques ainsi isolés sont prélevés à l'aide d'une loupe puis placés en flasque de culture, recouverts du milieu de culture gliale, composé d'une solution de Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Gibco®, Sigma-Aldrich Co.) enrichi à 10% d'un sérum de veau fœtal inactivé (SVF), d'un mélange nutritif F12 (Gibco®, Sigma-Aldrich Co.) et d'une solution antibiotique-antimycotique (Sigma-Aldrich Co.). Les flasques de culture sont ainsi incubées à 37°C, 5% de CO₂ et 95% d'humidité relative.

Les cultures parviennent à une confluence, dans les 2-3 semaines suivantes. Passés sept jours, les neurones entériques disparaissent des cultures. Quant aux CGE, leur croissance peut être limitée par le développement concomitant et non souhaité de cellules non gliales, telles que les fibroblastes et les myocytes. En effet, l'une des contraintes majeures lors de la culture de cellules spécialisées à croissance lente est la croissance satellite de fibroblastes (242). Toutefois, la sélection des ganglions par

un opérateur expérimenté rend le risque de cette contamination négligeable. De plus, la glycoprotéine de surface Thy-1 sur ces cellules, ainsi que les cellules neuronales d'autre part, offre également la possibilité de renforcer la sélection des CGE en l'exploitant dans un procédé de trypsinisation au sein des cultures. La densité des CGE restantes, des fibroblastes et myocytes résiduels est évaluée par observation microscopique et analyse d'immunomarquage *ad hoc*.

1.4.3 Marquage et caractérisation cellulaire

La caractérisation antigénique des cultures de cellules secondaires de CGE est réalisée par immunofluorescence. Dans un premier temps, les cellules sont placées dans une chambre de culture LAB-TEK^{MC} sur lame à 8 compartiments. Un lavage au DPBS est ensuite réalisé avant de fixer les cellules dans du paraformaldéhyde (PFA) à 4% pendant 30 minutes à température ambiante. Les sites de liaison non-spécifiques sont masqués par le biais d'une solution de tampon phosphate salin (PBS)-Triton X à 0,1 mol/L, associée à un sérum caprin à 4% (tampon de blocage) pendant 2 heures à température ambiante.

Par la suite, les cellules sont incubées à 4°C durant une nuit en présence d'anticorps primaires monoclonaux anti-S100 β murin et polyclonaux anti-GFAP lagomorphe. Les cultures sont soumises à trois lavages à l'aide d'une solution de PBS. Elles sont ensuite incubées en présence d'une solution d'anticorps secondaires (anticorps caprin anti-murin, et anticorps caprin anti-lagomorphe, respectivement) couplés à des fluorochromes (AlexaFluor, Molecular Probes®, Invitrogen) et d'un tampon de blocage à température ambiante durant 2 heures (**Figure 47**).

Les contrôles négatifs assurent l'absence de marquages non-spécifiques. Ils sont ainsi obtenus par suppression de l'étape d'incubation en présence des anticorps primaires.

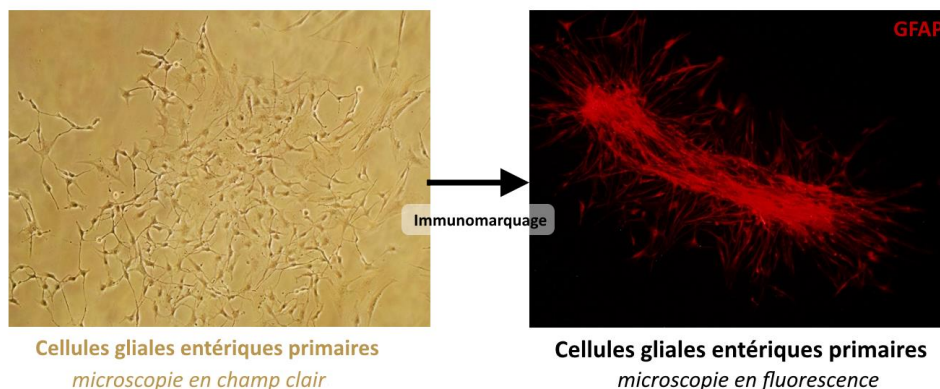


Figure 47 Immunomarquage des cellules gliales entériques primaires. L'immunomarquage est ici réalisé à l'aide d'anticorps dirigés contre la protéine GFAP, marqueur des cellules gliales. L'examen immunohistochimique permet de révéler un marquage positif, confirmant l'expression du marqueur GFAP par les cellules. La morphologie cellulaire observée en microscopie à champ clair (gauche), d'une part, et l'expression du marqueur GFAP (droite), d'autre part, permettent de démontrer le phénotype glial des cellules obtenues en culture. Observations réalisées à l'aide d'un microscope ZEISS AXIOVERT 40 C (camera 3CCD) (gauche) et d'un microscope confocal ZEISS LSM710 (plateforme imagerie du CPTP) (droite). *Crédit Cirillo C. (2020).*

1.4.4 Expression du potentiel neurogénique des CGE *in vitro*

Au cours de cette étude, l'expression du potentiel neurogénique des CGE a également été démontrée *in vitro*.

La capacité des CGE à générer des progéniteurs neuronaux est révélée par leur aptitude à former des neurosphères (NS). Ces dernières correspondent à des colonies hétérogènes de cellules indifférenciées de forme sphérique et non adhérentes (243). Elles sont formées à partir de cellules au potentiel de progéniteurs neuronaux, mises en flasques de culture non adhérentes en présence du facteur de croissance épidermique (EGF) et du facteur de croissance basique fibroblastique (bFGF) (244). Ces cellules prolifèrent et forment alors à ce stade des NS primaires (NSI). Ces dernières peuvent être dissociées et amplifiées à nouveau pour fournir les NS secondaires (NSII), ou être mises en culture en l'absence des facteurs de croissance pour pouvoir se différencier en neurones et cellules gliales (243, 245).

Dans le cadre de l'étude, la formation des NS se fait suite à l'isolement des CGE selon le même protocole décrit précédemment (protocole de Cirillo et al. (2011) (198)). Les CGE obtenues sont placées dans des flasques non adhérentes contenant le milieu de croissance des NS, composé des facteurs de croissance bFGF et EGF (20 ng/mL), et des suppléments N2 1%, et B27. Les cultures sont ensuite incubées à 37°C, sous atmosphère contrôlée (95% O₂, et 5% CO₂). Le milieu est renouvelé à raison d'une fois par semaine. Les NSI sont ainsi obtenues après une période de prolifération de deux semaines. Les NSII sont générées à la suite de l'isolement des cellules par l'action protéolytique de l'acutase (Sigma-Aldrich) et une nouvelle mise en culture dans des conditions identiques aux précédentes. Ainsi, *in vitro*, la mise en culture des CGE isolées, en présence de facteurs de croissance (bFGF et EGF) et en flaques non adhérentes, a permis de former des NSI et des NSII (Figure 48). Les CGE présentent donc un potentiel de précurseurs des cellules neuronales et gliales. Ce potentiel est alors confirmé par des analyses immunohistochimiques (Figure 49).

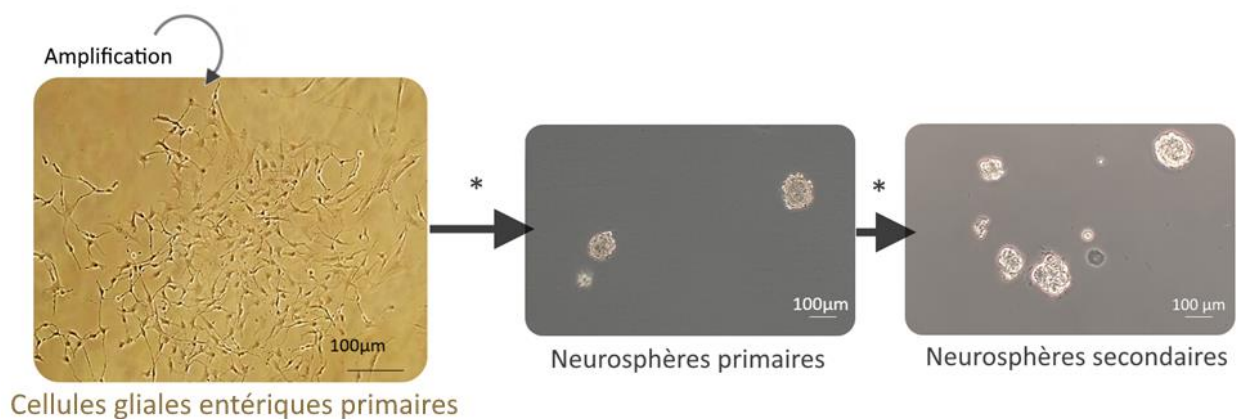


Figure 48 Observations microscopiques des neurosphères primaires et secondaires générées par les cellules gliales entériques. Ces observations sont réalisées dans le cadre de la démonstration du potentiel neurogénique des CGE. Observations réalisées à l'aide d'un microscope ZEISS AXIOVERT 40 C (camera 3CCD). Grossissement x 10. (*) Mise en culture des CGE en présence des facteurs de croissance, bFGF et EGF, en flasques de culture non adhérentes. *Crédit Cirillo C. (2020).*

Un immunomarquage des NS a été réalisé à l'aide des marqueurs des cellules progénitrices neurales (Nestin et Sox10), du marqueur neuronal (β -Tubulin) et des marqueurs des cellules gliales (GFAP, Sox10). Plus précisément, concernant les marqueurs utilisés et les phénotypes cellulaires identifiés :

(1) Nestin est une protéine des filaments intermédiaires (cytosquelette), marqueur des CSN et CPN (246, 247). Ces dernières ont un potentiel neurogénique et gliogénique (248, 249).

(2) β -Tubulin III ou Tuj-1 est une protéine structurale composant le microtubule (250) (cytosquelette). Il s'agit d'un marqueur des cellules neuronales (251), notamment exprimé en phase précoce de la différenciation neuronale (252).

(3) La protéine acide fibrillaire gliale (GFAP) est un marqueur glial (CGE immatures et réactives) (253).

(4) Sox10 est un marqueur des cellules gliales matures et immatures (201) et des cellules souches de la crête neurale (189, 254).

L'observation au microscope confocal met en évidence la superposition de ces marqueurs par tout ou partie des cellules des NS (**Figure 49**). Les NS coexpriment donc les marqueurs des lignées neuronales (β -Tubulin) et gliales (GFAP). Les CGE présentent donc bien un potentiel de différenciation neuronale et gliale.

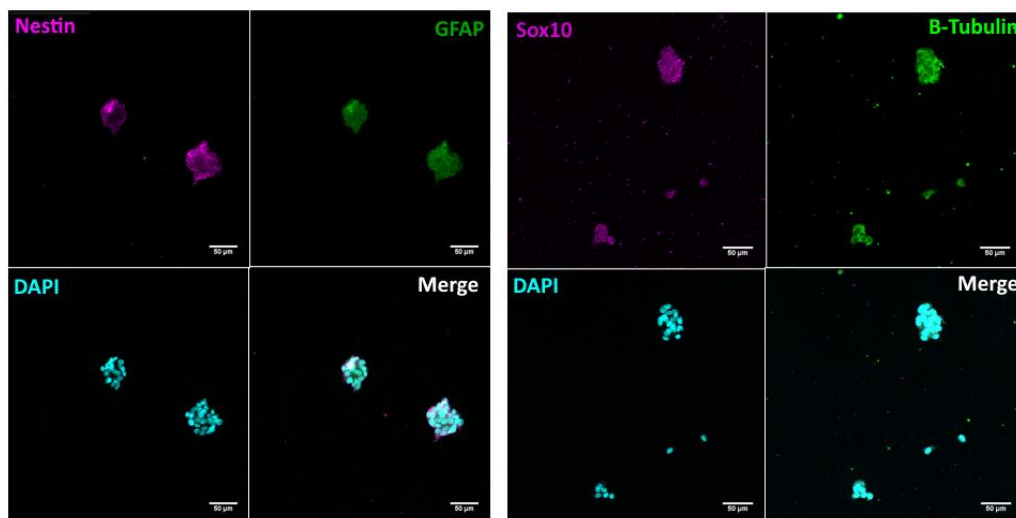


Figure 49 Analyse d'immunomarquage des neurosphères. Les NS sont soumises à un immunomarquage en présence des marqueurs des cellules progénitrices neurales (Nestin, Sox10), des cellules neuronales (β -Tubulin), et des cellules gliales (GFAP). Le marqueur DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole), est un marqueur nucléaire (255), permettant d'identifier tous les types cellulaires. Observations réalisées à l'aide d'un microscope confocal ZEISS LSM710 (plateforme imagerie du CPTP). *Crédit Cirillo C. (2020).*

Dans un même contexte, en 2013, Belkind-Gerson et al. avaient mis en évidence que les NS obtenues à partir de CGE Nestin+/GFAP+ donnaient des cellules neuronales (Tuj-1), gliales (GFAP), et mésenchymateuses, *in vitro* (249). À la suite de leur transplantation dans un intestin dépourvu de ganglions entériques chez le poussin, des cellules dérivant de ces NS se sont alors différenciées en neurones.

En définitive, les CGE, isolées à partir du plexus sous-muqueux humain, présentent bien un potentiel neurogénique, *in vitro*. Cette étape préliminaire permet d'appréhender l'expression de ce potentiel *in vivo*.

1.4.5 Protocole de préparation de l'allogreffe

L'allogreffe est préparée à partir des CGE secondaires (CGE III), extraites des flasques de culture par trypsinisation. Les cellules ainsi individualisées sont dénombrées et disposées à constituer l'allogreffe, composée d'un total de **1 x 10⁶ CGE, réparties dans 75 µL du milieu de croissance gliale**, dépourvu du sérum SVF et de la solution antibiotique (pénicilline/streptomycine).

1.4.6 Protocole et méthodes de transplantation

Au préalable de la transplantation, une détermination précise de la localisation et du volume lésionnel est réalisée à partir des images IRM en T2. Ces paramètres permettent de déterminer les coordonnées stéréotaxiques des futures zones de transplantations. En effet, la greffe n'est pas réalisée à l'emplacement même de la lésion cavitaire, qui représente un milieu inflammatoire délétère pour la survie des CGE. Par conséquent, les **transplantations sont réalisées en zone périlésionnelle**, suffisamment proche du site d'intérêt pour constituer un pool de cellules accessible. Ceci permet également de limiter l'extension de la lésion.

La procédure de transplantation de l'allogreffe est réalisée sur un marmouset (femelle, âgée de 6 ans, pesant 371 g) lésé au niveau de l'hémisphère droite.

L'animal est soumis à une restriction alimentaire de 12h précédant la chirurgie avec maintien de l'accès à l'eau. Deux heures avant la chirurgie, l'analgésie est initiée par l'injection d'un anti-inflammatoire d'acide tolfénamique (1 mg/kg, IM, Tolfedine ®,

Vetoquinol). Dix à quinze minutes avant l'anesthésie, une injection de glycopyrrolate (10 µg/kg, IM, Robinul-V®, Vetoquinol) est réalisée afin de limiter le ptyalisme. L'anesthésie du marmouset est ensuite induite à l'aide d'alfaxalone (7 mg/kg, IM, Alfaxan®). Un relais de maintenance par isoflurane (à 1–3%, débit de 1 L/min d'O₂) est instauré. La saturation en oxygène a été maintenue supérieure à 95%, la température rectale proche de 37,5°C par le biais de coussins thermiques. Le marmouset est placé en décubitus ventral, dans un cadre stéréotaxique, la tête maintenue en place par le biais de barres d'oreille.

Les paramètres vitaux (fréquence cardiaque, fréquence respiratoire, température), en relation avec les signes de narcose et d'analgésie sont régulièrement évalués tout au long de l'anesthésie.

Les conditions chirurgicales aseptiques sont appliquées au niveau de la zone d'intervention, le cuir chevelu. Un traitement anti-inflammatoire stéroïdien est administré afin de limiter la formation d'un œdème cérébral (dexaméthasone, 2 mg/kg, IM, Dexadreson®, Intervet). Une anesthésie locale est réalisée par infiltration sous-cutanée de lidocaïne (15 µl en deux points d'injection de part et d'autre de la future ligne d'incision, Laocaïne®, Intervet). Cinq à dix minutes plus tard, le cuir chevelu est incisé et la galéa (fascia épicroânien reliant les muscles pauciers) (256) est écartée au niveau de l'ancienne plaie chirurgicale. La transplantation est réalisée par la répartition du volume total de l'allogreffe en 4 sites d'injection périlésionnels (**Figure 50**). Ainsi, deux sites de transplantation reçoivent un équivalent estimé à $1,67 \times 10^5$ CGE (12,5 µL), et deux autres sites de transplantation reçoivent environ $3,33 \times 10^5$ CGE (25 µL), administrées par le biais d'une seringue Hamilton 25 ml (série 701, gauge : 0.48 mm), à un débit compris entre 7,3 et 8,3 µL/min. La seringue est laissée en place durant une minute supplémentaire afin de limiter tout reflux de l'allogreffe.

La reconstruction cutanée est réalisée par points simples cutanés à l'aide d'un fil résorbable (Vicryl, décimale 3.0, 75 mm, aiguille à section ronde). Une antibiothérapie longue action est initiée en fin de procédure chirurgicale (oxytétracycline, 20 µg/kg, IM, Terramycine longue action®, Pfizer).

Le réveil complet est effectué en salle de préparation avant la remise en cage, où l'accès à l'aliment et l'eau est rétabli. Une surveillance quotidienne est réalisée durant toute la durée de la convalescence, par l'équipe d'expérimentateurs et le personnel

zootechnique : état général du pelage, comportement, mobilité, prise alimentaire et poids corporel. La reprise fonctionnelle partielle sans assistance est observée environ 2 à 3 jours post-opératoires.

L'analgésie et la prise en charge d'un œdème cérébral post-opératoire sont assurées par l'administration en fin de chirurgie d'une corticothérapie à l'aide de dexaméthasone (2 mg/kg, IM, Dexadreson[®], Intervet), pendant 2 jours.

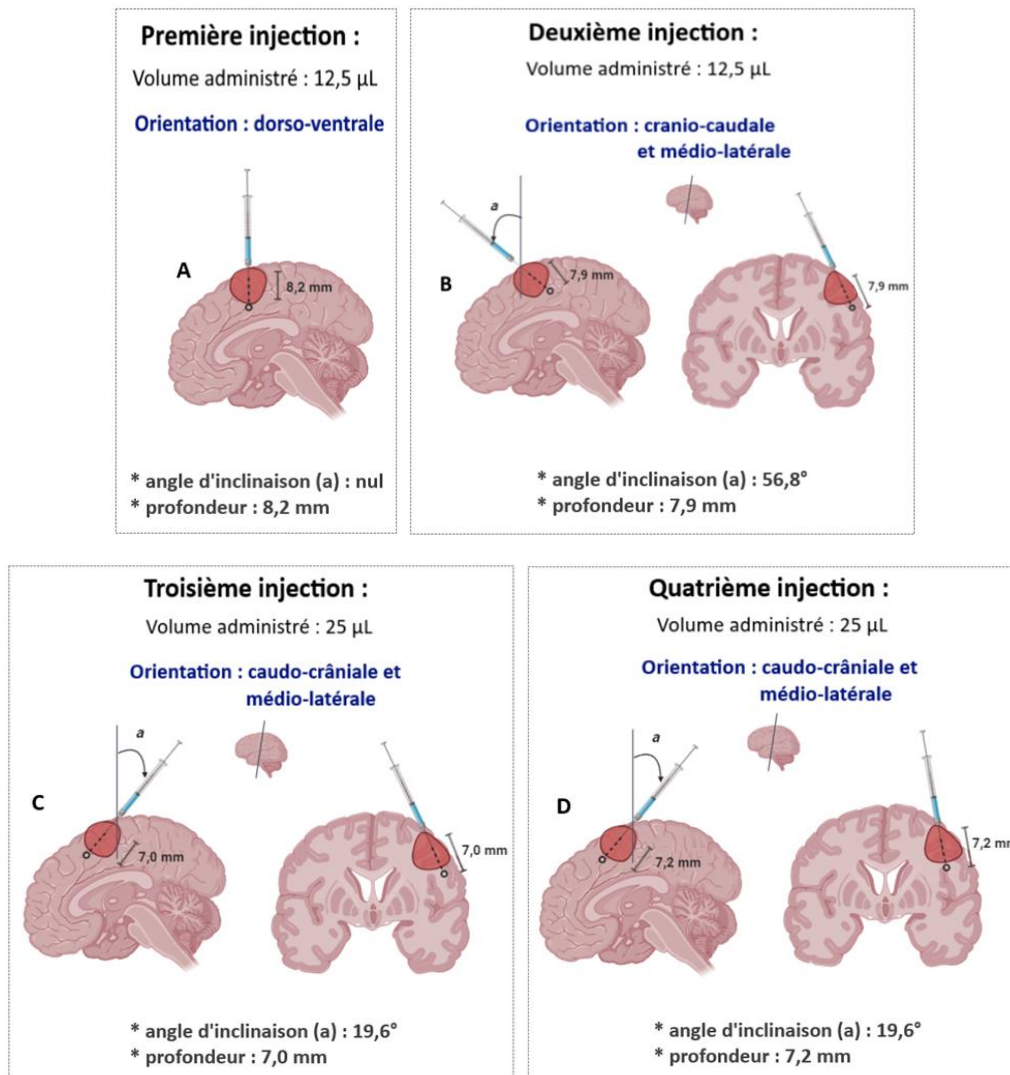


Figure 50 Localisation des sites de transplantation et orientation des injections. Les sites de transplantation ont été déterminés par analyse des images IRM (T1, T2), pour être localisés en zone périlésionnelle sans léser de structures cérébrales clés (ex. capsule interne, ventricules) ou extra-cérébrales. Les angles d'inclinaison (a) sont estimés à partir d'une section verticale. La troisième injection (C) se distingue de la quatrième injection (D) par la présence d'une angulation médio-latérale moins prononcée. Le volume total associé à l'allogreffe est de 75 µL, représentant 1×10^6 CGE. Réalisation personnelle (BioRender[®]).

2 Résultats

2.1 Préambule

Le projet entrepris ici correspond à une étude pilote incluant un cas unique, sélectionné pour la réalisation de la transplantation intracérébrale de CGE. L'évaluation anatomo-structurale (IRM) et fonctionnelle (tests sensorimoteurs) des effets de la greffe est donc effectuée de manière qualitative, sans pouvoir fournir de réelles données statistiques. Toutefois, dans la continuité des projets de thérapie cellulaire de l'équipe de recherche iDREAM, les résultats ont été comparés avec ceux de 6 marmousets d'une étude antérieure de l'équipe, basée sur un même protocole de lésion cérébrale et d'évaluations (13). Les données de ces 6 animaux estiment l'évolution structurale et fonctionnelle principalement sur la période des 3 mois post-lésion.

2.2 Caractérisations de la lésion cérébrale

2.2.1 Evaluation structurale par imagerie cérébrale

Les images IRM en T2 acquises 24 heures post-lésion permettent d'estimer le volume lésionnel engendré par l'administration intraparenchymateuse de malonate. Pour l'animal greffé, l'injection de malonate (8 μ L, à 3 mol/L) a été à l'origine d'une anomalie hyperintense en T2 (**Figure 51**). Cette anomalie correspond à la lésion cérébrale induite, dont le volume est estimé à 496 mm³. Cette lésion inclut une grande partie des coordonnées stéréotaxiques de M1 (**Figure 51**). La région de M1 responsable de la motricité du membre thoracique controlésionnel est bien concernée par la neurolésion (**Figure 51**). Toutefois, cette dernière est étendue et inclut aussi les régions de M1 impliquées dans la motricité de la face, du tronc et du membre pelvien controlésionnels. De plus, la neurolésion comprend des territoires corticaux adjacents à M1, dont le cortex prémoteur (PM), le cortex somatosensoriel (S1), le cortex pariétal, le cortex cingulaire ; et des régions sous-corticales, dont la substance blanche sous-corticale, le corps calleux, la capsule interne, le noyau caudé, le putamen, et le thalamus (**Figure 51**).

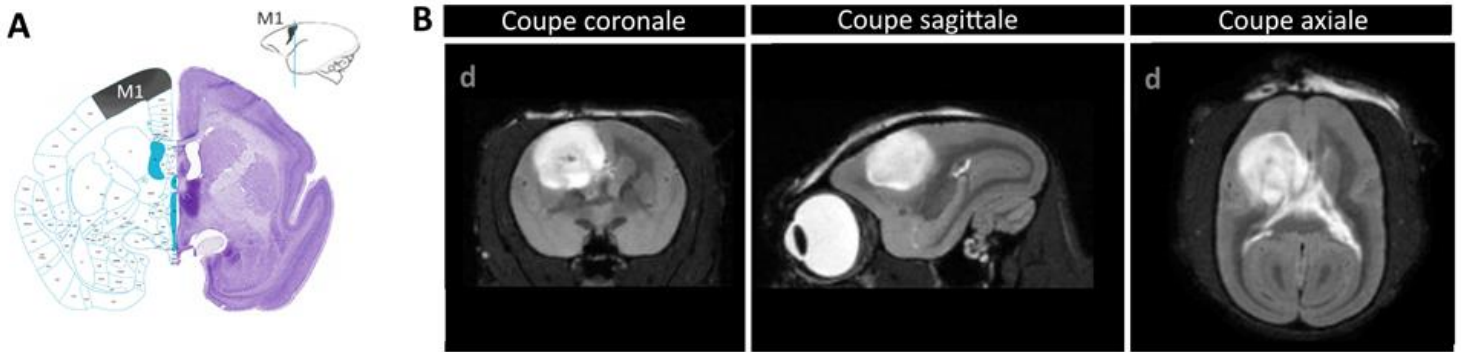


Figure 51 Images IRM pondérées en T2 en vue coronale, sagittale, et axiale à 24h post-lésion chez le marmouset greffé. (B) L'injection stéréotaxique de malonate (8 μ L, à 3 mol/L) a induit l'apparition d'une anomalie hyperintense en T2, associée à la formation d'un œdème vasogénique et d'une lésion étendue (496 mm³), visible à l'IRM (T2) 24 heures suivant l'opération. Cette neurolésion est localisée dans l'hémisphère cérébral droit centrée au niveau du cortex moteur primaire (M1) (A). Elle concerne le territoire de M1 correspondant à la motricité du membre thoracique controlésionnel (gauche). Etant étendue, la neurolésion inclut également tout ou partie du cortex prémoteur (PM) et cingulaire, du cortex somatosensoriel (S1) et des structures sous-corticales adjacentes à M1. Enfin, un effet masse de l'hémisphère cérébral droit vers l'hémisphère gauche est constaté. M1 : Cortex moteur primaire ; d : droite (convention radiologique des images IRM). (A) Les représentations histologiques et schématiques de M1 en coupe coronale sont extraites de l'atlas *The Marmoset Brain in Stereotaxic Coordinates* (257). Crédit Loubinoux I. (2020).

2.2.2 Evaluation fonctionnelle

2.2.2.1 Effets généraux

Pour le marmouset greffé, les procédures chirurgicales (neurolésion, transplantation) se sont déroulées sans incidents majeurs, sur une durée moyenne de 2h40 entre l'induction anesthésique et le réveil.

Les éléments importants de l'évolution de l'état clinique général du marmouset greffé au cours du temps sont rapportés (**Annexe 4**).

2.2.2.2 Effets moteurs et comportementaux

Durant la période de convalescence, les animaux (greffé et témoins) ont pu réaliser les tests comportementaux (staircases) dès la première semaine post-lésion, bien que l'animal greffé et deux témoins n'aient pu les effectuer avec le membre thoracique

controlésionnel durant la période d'étude. Cette situation ne semble pourtant pas refléter l'état réel de récupération motrice du membre déficitaire, comme pourront l'attester l'évolution des scores neurologiques et l'observation à distance au long cours.

2.3 Evaluation des effets de la transplantation

2.3.1 Evaluation de la lésion cérébrale par IRM

2.3.1.1 *Suivi du volume lésionnel*

À la suite de l'opération (24h post-lésion), le volume lésionnel de l'individu greffé est estimé à environ 496 mm³, à partir des images IRM en T2 (**Figure 52**). Celui-ci est considéré comme faisant partie des volumes lésionnels les plus importants obtenus par l'équipe de recherche depuis la mise en place du modèle malonate chez le marmouset (12, 13) (**Figure 52, Figure 53**).

A 8 jours post-lésion, une réduction du volume lésionnel du marmouset greffé est constatée et le volume est estimé à 367,3 mm³. Par la suite, à 1 mois post-lésion, le volume lésionnel du marmouset greffé diminue notablement en trois semaines de 367,3 à 18,8 mm³, soit une réduction de plus de 90% du volume lésionnel initial (**Figure 53**). La cinétique d'évolution du volume est particulièrement marquée lorsque comparée à celle d'un ensemble de marmousets témoins (n = 6). La diminution des volumes lésionnels des individus témoins caractérise la régression spontanée de la lésion en l'absence de traitement.

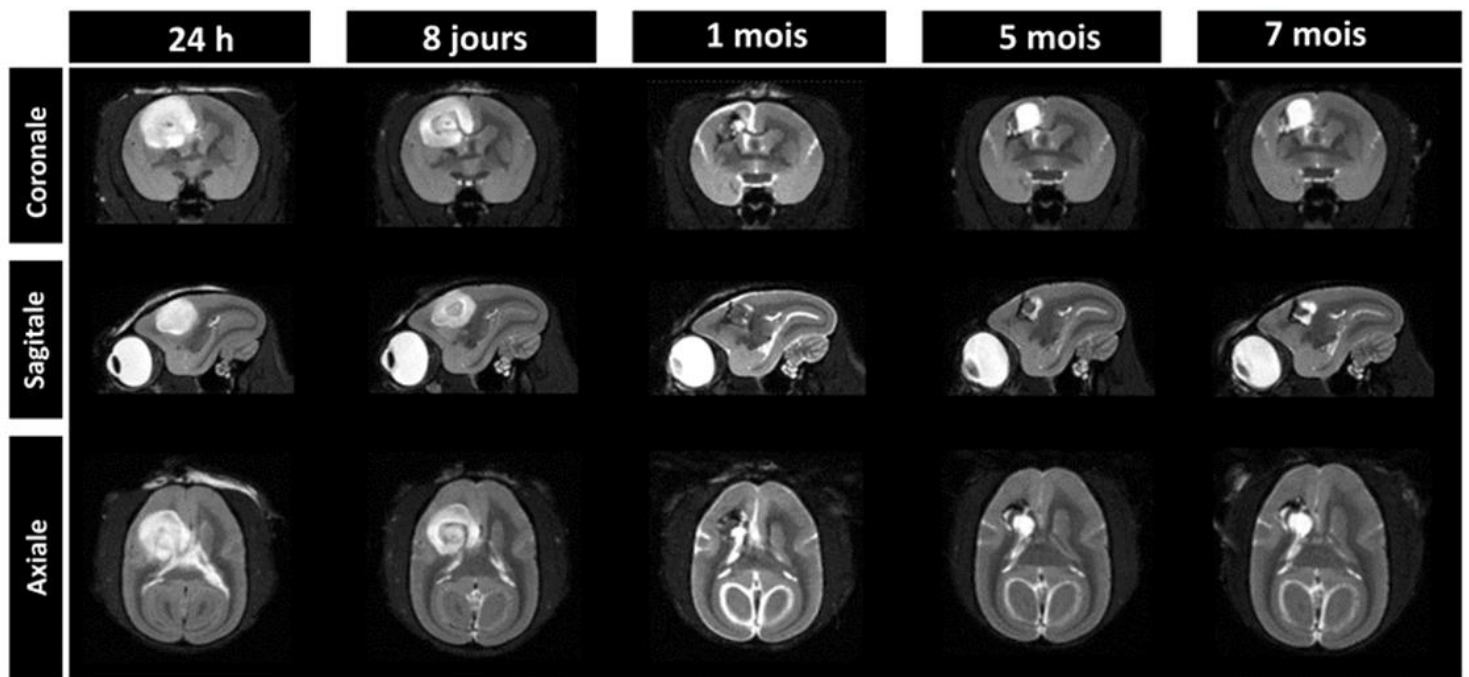


Figure 52 Images IRM pondérée en T2 selon la vue coronale, sagittale et axiale, au cours du temps chez le marmouset greffé. *Crédit Loubinoux I. (2020).*

La conjoncture sanitaire ayant contraint la suspension de toute intervention expérimentale sur les animaux du laboratoire, les acquisitions d'images IRM programmées à 3 mois n'ont pas été réalisées. Un report de 2 mois a alors été imposé. Ainsi à 5 mois post-lésion, le volume lésionnel du marmouset greffé a présenté une augmentation d'environ 44 mm^3 par rapport au volume à 1 mois post-lésion, soit un volume lésionnel de $63,0 \text{ mm}^3$ à 5 mois. De plus, à 5 mois post-lésion, les lésions tissulaires laissent place progressivement à une anomalie hyperintense en IRM pondérée en T2, laissant supposée une évolution en lésion cavitaire (**Figure 52, Figure 55**). Ce volume lésionnel se stabilise ensuite, en atteignant une valeur de $67,4 \text{ mm}^3$ à 7 mois post-lésion (**Figure 53**).

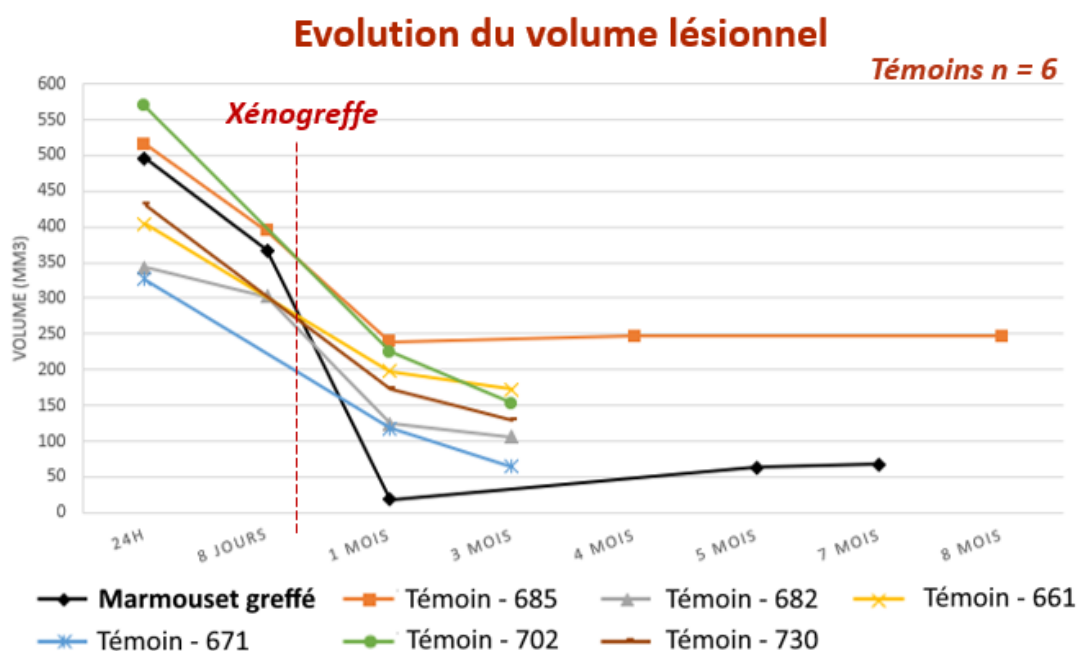


Figure 53 Evolution des volumes lésionnels du marmouset greffé et des marmousets témoins au cours du temps en post-lésion. L'évolution du volume lésionnel du marmouset greffé est confrontée à celle de plusieurs témoins (n=6) inclus dans les projets de l'équipe (12, 13).

Ainsi, la transplantation de CGE est à l'origine d'une amélioration significative du volume lésionnel en phase subaiguë (1 mois post-lésion).

Par ailleurs, un effet-masse est présent au niveau de la lésion, associé à un déplacement vers l'hémisphère cérébral gauche de la fissure longitudinale et de la région corticale médiale droite. Ce phénomène est, en partie, la résultante de l'œdème cérébral vasogénique post-lésionnel. Sur les IRM en T2, l'œdème et l'effet masse sont observables à 24h et 8 jours post-lésion (Figure 53). A partir de 1 mois, l'effet-masse est estompé et l'œdème semble en grande partie résorbé (Figure 53).

Le volume d'œdème est estimé à partir des images IRM en T2 sur la base de l'augmentation du volume de l'hémisphère cérébral ipsilésionnel par rapport à l'hémisphère controlésionnel (sain) (volume exprimé en pourcentage). Ainsi, concernant le marmouset greffé, il est d'environ 13,8% à la suite de l'opération (24h post-lésion), soit un volume de 317,2 mm³. Par la suite, ce volume n'est pas majoré à 8 jours post-lésion, avec une valeur de 12,5%.

2.3.1.2 Suivi de la neurogreffe

Par ailleurs, sur les images IRM pondérées en T2 à partir de 1 mois post-lésion, il est possible d'estimer les volumes hypointenses associés à la greffe (**Figure 54**). Ainsi, à 1 mois post-lésion, le volume de greffe est d'environ 41,8 mm³. Entre 1 mois et 5 mois, ce volume diminue presque de moitié, pour atteindre un volume de 22,7 mm³ à 5 mois post-lésion puis 18,0 mm³ à 7 mois post-lésion. Dans un premier temps, les territoires concernés par la transplantation des CGE font apparaître des anomalies hypointenses (zones sombres), attestant soit de la grande cellularité de la greffe, soit d'une néovascularisation très importante.

Par la suite, l'intensité du signal associée à la greffe tend à augmenter avec le temps (5 mois et 7 mois post-lésion) (**Figure 54**). Elle est également accompagnée de l'augmentation de l'intensité de la lésion (**Figure 55**).

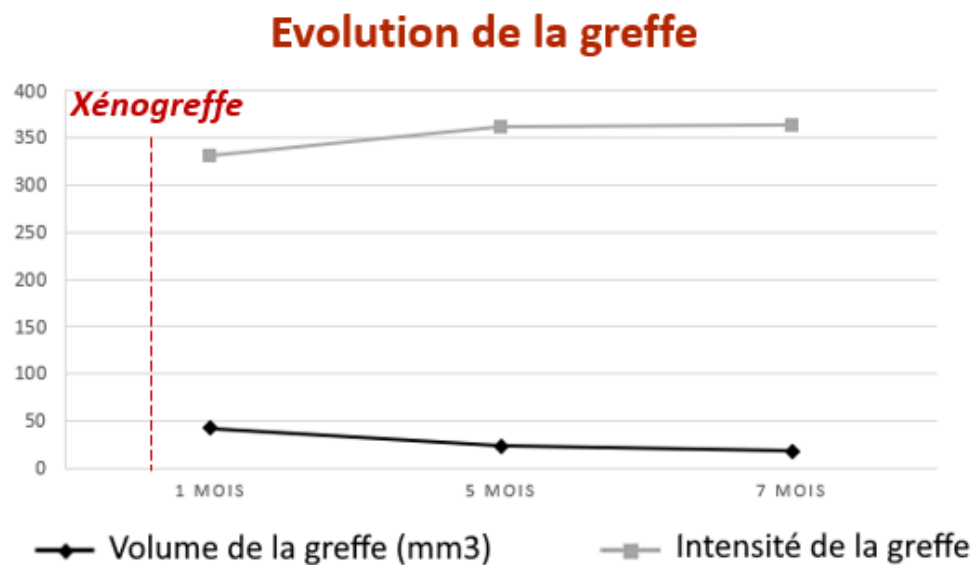


Figure 54 Evolution du volume et de l'intensité du signal T2 de la greffe au cours du temps (1 mois, 5 mois et 7 mois post-lésion).

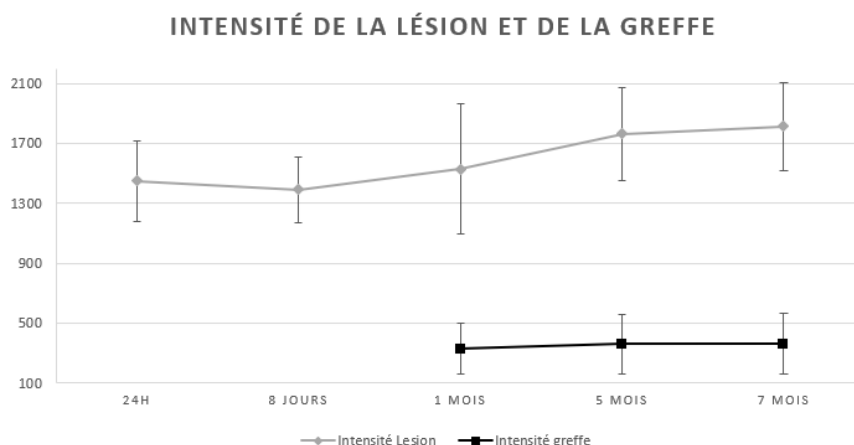


Figure 55 Evolution de l'intensité du signal T2 du site lésionnel et de la greffe au cours du temps.

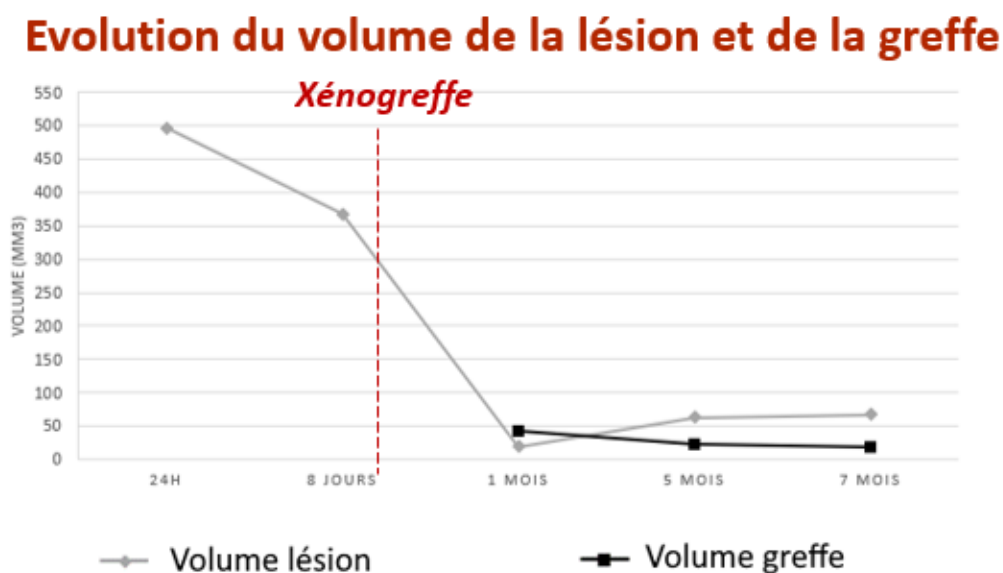


Figure 56 Evolution des volumes de la lésion et de la greffe au cours du temps.

D'autre part, une diminution du volume et une augmentation de l'intensité simultanées de la greffe (Figure 54) sont constatées.

Par ailleurs, la variation volumique de la greffe est comparée à celle de la lésion. Une augmentation du volume de la lésion apparaît de manière concomitante à une diminution du volume de la greffe à partir de 1 mois post-lésion, se poursuivant à 5 et 7 mois post-lésion (Figure 56). La variation volumique pour la lésion est estimée à 44 mm³ contre 19 mm³ pour la greffe (Figure 56).

Ainsi, le volume lésionnel et le volume de la greffe connaissent des variations opposées au cours du temps. Des hypothèses concernant une relation volumique entre ces deux volumes (lésion cérébrale et greffe de CGE) seront proposées en discussion.

2.3.2 Evaluation motrice et comportementale : suivi de la récupération fonctionnelle

2.3.2.1 Echelle neurologique

Concernant le score neurologique, à la suite de la chirurgie (48h post-lésion), le marmouset greffé présente une dégradation de son score neurologique, modérée pour l'hémicorps (18/22) et le membre thoracique (9/12) ipsilésionnels, et une dégradation marquée pour l'hémicorps (5/22) et le membre thoracique (2/12) controlésionnels (**Figure 57**). La situation est comparable pour les marmousets témoins (n=6) à 48h post-lésion. Toutefois, la baisse du score neurologique du marmouset greffé est significativement moins importante que celle des témoins du côté ipsilésionnel.

Par la suite, une augmentation progressive de ces scores est observée pour les deux membres thoraciques après 48h post-lésion sans nouvelle dégradation suite à la greffe (« 2 semaines post-lésion ») pour le marmouset greffé.

A partir de 2 semaines post-lésion, le score neurologique du membre thoracique sain (ipsilésionnel) de l'animal greffé atteint un plateau de valeurs maximales (22/22 hémicorps, 12/12 membre thoracique). Quant au membre thoracique déficitaire (controlésionnel), ce dernier présente une augmentation progressive des scores neurologiques, sans pour autant atteindre sa valeur de référence. En effet, à 9 mois, le score est de 18/22, contre un score de référence (pré-lésionnel) de 22/22.

Cette augmentation progressive des scores présente une cinétique d'évolution biphasique chez les marmousets greffé et témoins. En effet, pour exemple, chez le marmouset greffé, les scores du membre déficitaire augmentent un peu plus rapidement entre 48h et 3 semaines post-lésion, avec un gain de 8 points, soit une récupération sensorimotrice de 67% en 3 semaines. Puis, l'augmentation du score se poursuit mais de manière plus lente à partir de 1 mois, avec un gain de 6 points entre 1 mois et 9 mois post-lésion, soit une récupération fonctionnelle de 33% en 8 mois. Ce sont notamment les items concernant la motricité et la sensibilité tactile des membres qui récupèrent le plus lentement. La sensibilité superficielle de la face

palmaire (membre thoracique) et plantaire (membre pelvien) de l'hémicorps controlésionnel n'a pu être rétablie, y compris à 9 mois post-lésion, chez l'animal greffé. Concernant les capacités motrices du membre thoracique controlésionnel, le marmouset greffé présente une constance de ses déficits moteurs au cours du temps. De plus, l'évolution du score pour l'hémicorps controlésionnel du marmouset greffé n'est pas différente significativement de celle des témoins lésés. La transplantation de CGE ne semble donc pas avoir induit d'effets délétères ou bénéfiques sur la récupération du statut sensorimoteur du membre controlésionnel dans les 3 mois suivant la lésion, en comparant aux 6 témoins, et dans les 8 mois, en comparant aux deux témoins (témoin-685 et témoin-682, n=2) présentant des valeurs pour cette période. Néanmoins, une amélioration progressive des items de performances motrices est constatée à partir de 8 et 9 mois post-lésion chez le marmouset greffé. La poursuite de l'évaluation en phase chronique permettrait de définir d'éventuels effets plus tardifs de la greffe sur la récupération neurologique.

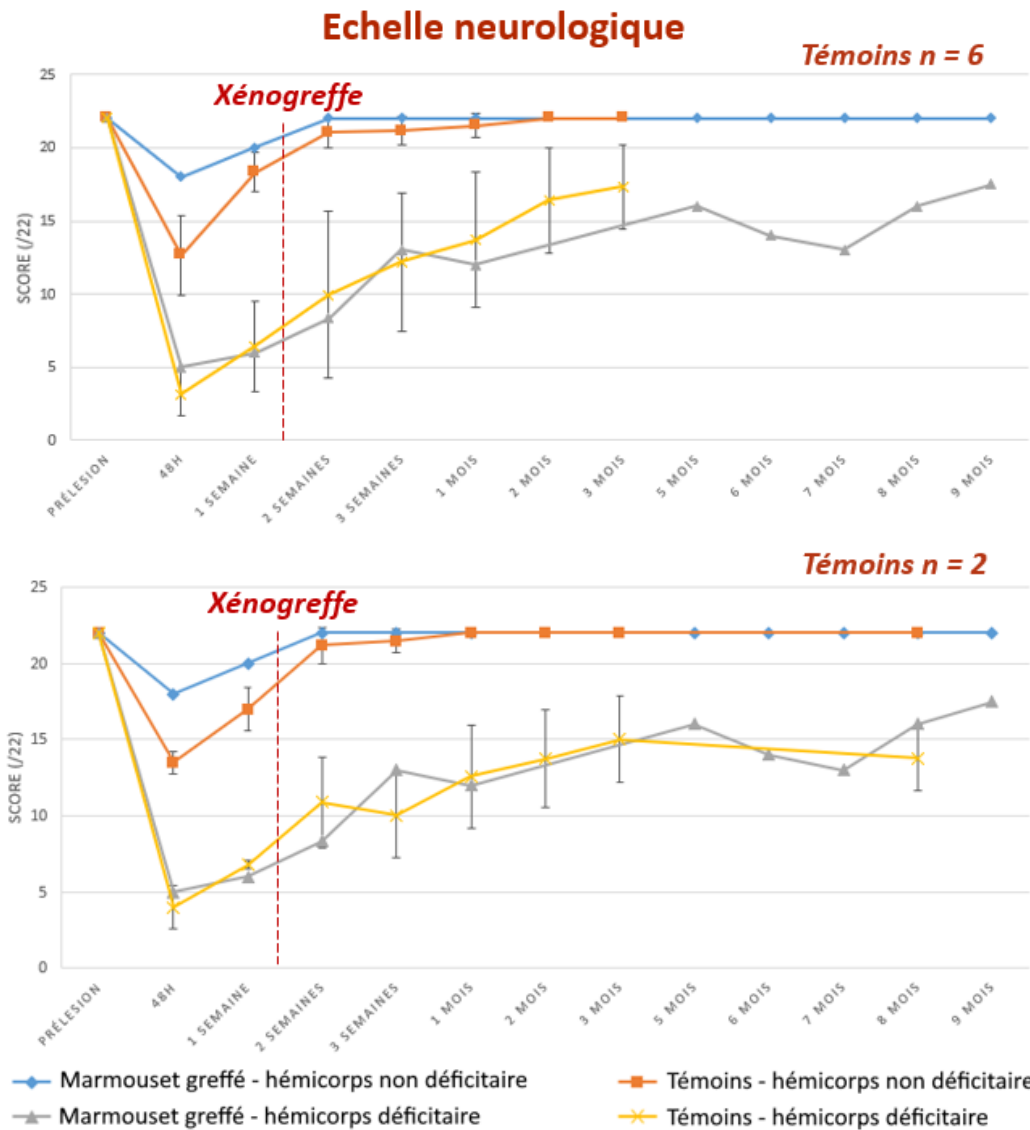


Figure 57 Evolution des scores de l'échelle neurologique au cours du temps pour l'hémicorps ipsilésionnel (sain) et controlésionnel (déficient) de l'animal greffé et des animaux témoins. Evolution comparée des résultats entre l'animal greffé et les 6 marmousets témoins jusqu'à 3 mois post-lésion (graphique en haut, n=7). Evolution comparée des résultats entre l'animal greffé et deux témoins dont les résultats jusqu'à 8 mois étaient disponibles (graphique en bas, n=3). L'évolution permet d'évaluer l'effet de la lésion et de la greffe sur le score neurologique du membre controlésionnel, par rapport au membre ipsilésionnel. Les données à chaque point du temps correspondent aux moyennes et aux écart-types standards des scores obtenus sur la période donnée.

2.3.2.2 Staircases vallée et colline

Concernant le marmouset lésé-greffé et les témoins lésés (n=6), les tests de staircases à 48h post-lésion n'ont pu être réalisés, en raison de l'état de convalescence des individus.

Par ailleurs, l'animal greffé présente une diminution marquée des scores aux staircases colline et vallée entre la période pré-lésion et 1 semaine post-lésion, pour le membre thoracique controlésionnel (**Figure 58**). Les scores des deux versions du test pour ce membre sont réduits à une valeur de 0/15, et persistent à cette valeur tout au long de la période d'évaluation (9 mois) (**Figure 58**). Une situation comparable chez deux témoins (témoin-685 et témoin-682, n=2) est également constatée. En revanche le reste des témoins présente une augmentation du score aux deux versions du staircase pour le membre déficitaire à partir de 1 semaine post-lésion, qui se poursuit jusqu'à 3 mois.

Concernant le membre thoracique ipsilésionnel, les tests ont été réalisés avec aisance dès 2 semaines post-lésion pour les témoins et 3 semaines post-lésion pour le marmouset greffé. Les scores de ce membre chez le marmouset greffé sont constants au cours du temps pour les deux versions du test, à l'exception des séances à 2 semaines. En effet, une légère diminution des scores est observée, avec une valeur de 11/15, en comparaison au score pré-lésionnel et post-lésionnel (> 3 semaines) de 14-15/15. Ce résultat peut être mis en relation avec la compression de l'hémisphère controlésionnel par l'œdème post-lésion, l'atteinte des fibres corticospinales non-décussées ou la phase de convalescence du marmouset ayant été soumis à la seconde chirurgie (transplantation).

Toutefois, il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes concernant les résultats pour les 2 premiers mois post-lésion au staircase vallée et sur les 3 premiers mois pour le staircase colline, pour le membre déficitaire. La période de 3 mois semble donc trop faible pour faire apparaître un éventuel effet bénéfique de la greffe sur la récupération de la dextérité. La poursuite de la comparaison entre le marmouset greffé et des témoins lésés au-delà de 3 mois permettrait une évaluation en phase chronique.

D'autre part, un point peut être fait sur les variations modérées des scores pour le membre sain du marmouset greffé, constatées avec les deux versions du staircase.

Ces variations peuvent être dû à des modifications de l'environnement du marmouset, tel qu'à 1 mois post-lésion avec le changement des opérateurs réalisant les évaluations ou à 7 mois post-lésion lors du changement du congénère partageant la cage. Ces éléments peuvent involontairement induire une modification de l'attention et de la participation des marmousets.

Par ailleurs, l'absence de formation d'un réel plateau de performances et le retard de récupération de la dextérité pour le membre thoracique déficitaire, notamment au staircase vallée, chez l'individu greffé, peut inclure la possibilité d'un phénomène d'héminégligence transitoire. Ce dernier a été constaté à l'observation à distance (rotation dans le sens opposé à la neurolésion en phase aiguë, défaut de mastication associé à une tombée des aliments du côté controlésionnel, absence de réponse à des stimuli visuels présents dans l'hémichamp visuel controlésionnel).

Concernant le membre thoracique controlésionnel, le marmouset greffé l'utilisait de manière peu adroite, avec une imprécision de visée et un défaut de préhension. De plus, les parties du test dévolues à l'évaluation du membre déficitaire étaient systématiquement accomplies avec le membre sain, en engageant les deux membres dans les fentes du dispositif. Ce comportement s'est maintenu malgré les difficultés d'accès pour le marmouset et des incitations au changement de membre par l'expérimentateur. Toutefois, l'absence d'utilisation du membre déficitaire, y compris plusieurs mois à la suite de la lésion, n'est pas un phénomène totalement inhabituel. Cette situation est observée chez deux animaux témoins et s'est déjà produite au cours des autres études antérieures de l'équipe (12, 13), sans qu'aucune corrélation soit établie avec le volume lésionnel. De plus, d'autres facteurs intercurrents (absence d'entraînement durant plusieurs mois, déficit de motivation) ont probablement participé à l'établissement et la persistance de ce comportement de manière durable.

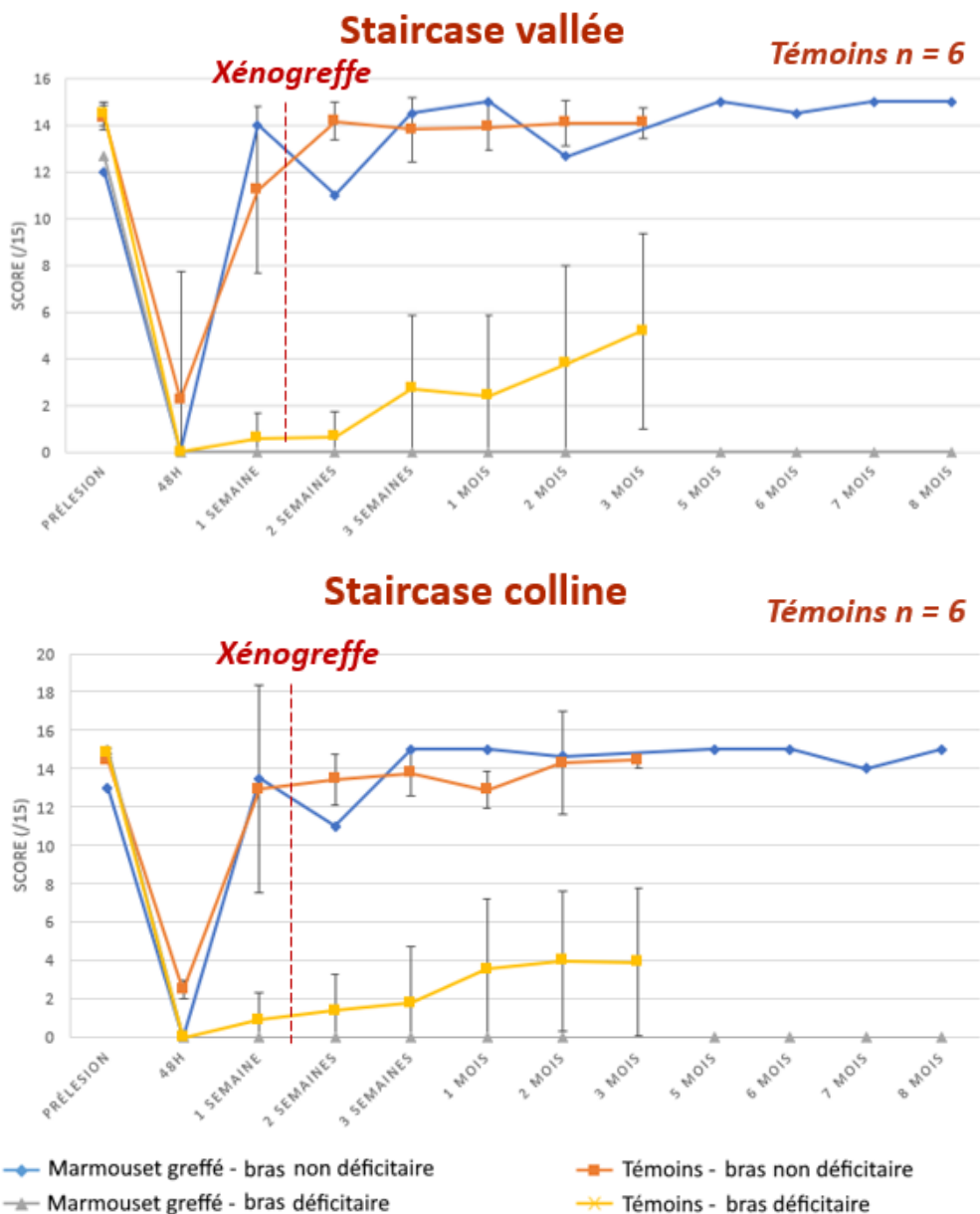


Figure 58 Evolution des scores aux deux versions du staircase (vallée et colline) au cours du temps chez le marmouset greffé et les animaux témoins (n=6). Les performances motrices du membre ipsilésionnel tendent à se stabiliser et atteindre un plateau. A l'inverse, les tests témoignent d'une perte des performances de dextérité du membre thoracique controlésionnel à la suite de l'injection de malonate, persistant au long terme, pour les deux versions du staircase pour le marmouset greffé et deux témoins (créant cette forte variabilité). Les données à chaque point-temps correspondent aux moyennes et aux écart-types standards des scores obtenus à la période donnée.

2.3.2.3 Facteurs de variation

Au regard des résultats obtenus pour le marmouset greffé et de la variabilité observée au sein de la population de témoins, l'influence de deux facteurs sur la récupération fonctionnelle est alors évaluée. Elle concerne notamment le volume lésionnel initial et la « motivation » des marmousets.

En effet, bien que réalisées dans le cadre d'un même protocole, les injections stéréotaxiques de malonate n'ont pas induit des volumes lésionnels identiques. Nous analysons alors l'influence de ce volume lésionnel sur l'évolution du score neurologique du membre thoracique controlatéral. Pour cela, nous distinguons deux groupes sur la base de ce volume. La moyenne du volume lésionnel initial est d'environ 440 mm³. Seront alors distingués les marmousets présentant un volume supérieur à cette moyenne et ceux présentant un volume inférieur. Nous obtenons ainsi un groupe de 4 marmousets, composé du témoin-671, du témoin-682, du témoin-661, et du témoin-730 dont le volume lésionnel initial est inférieur à 440 mm³; et un autre groupe de 3 marmousets, composés du marmouset greffé, du témoin-685 et du témoin-702 dont le volume lésionnel initial est supérieur à 440 mm³ (Figure 59).

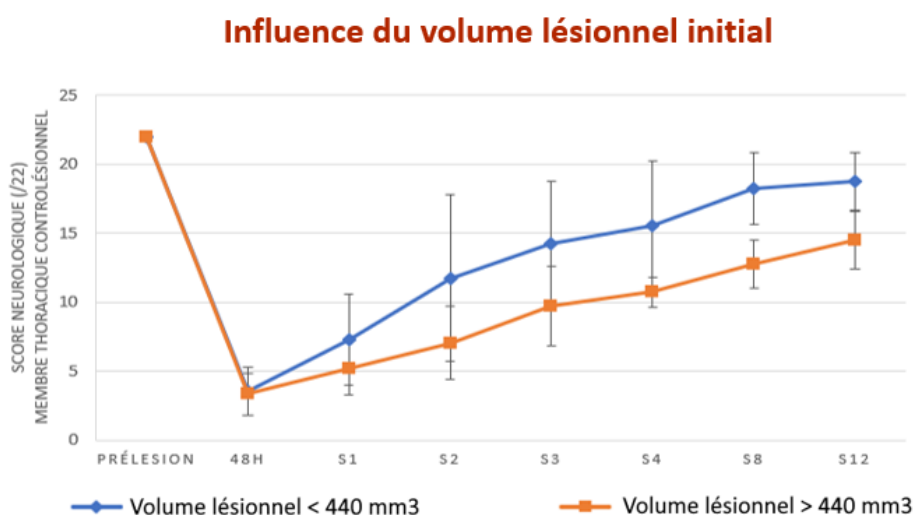


Figure 59 Evaluation de l'influence du volume lésionnel initial sur l'évolution du score neurologique pour l'hémicorps (membre) déficitaire au cours du temps chez le marmouset greffé et les témoins (n=6). Le volume lésionnel initial moyen étant de 440 mm³, deux groupes de marmousets sont distingués : le groupe présentant des volumes lésionnels < 440 mm³ (n=4) et le groupe présentant des volumes lésionnels > 440 mm³ (n=3). Les données à chaque point-temps correspondent aux moyennes et aux écart-types standards des scores obtenus à la période donnée.

Il existe donc une évolution du score de l'échelle neurologique du membre thoracique controlésionnel comparable entre les deux groupes. Toutefois, il semble qu'il y ait une moindre amélioration du déficit neurologique dans le groupe de marmousets présentant une « grande lésion » par rapport à ceux présentant une lésion initiale de plus petit volume.

Par conséquent, au vu des résultats obtenus, le volume lésionnel initial ne peut ici expliquer la variabilité des résultats obtenus par les marmousets pour les tests de staircase et l'échelle neurologique. Ces résultats restent à confirmer avec une plus grande puissance statistique.

Par ailleurs, l'influence de la « motivation » des marmousets est également évaluée, au regard de l'absence d'évolution de la dextérité entre le groupe constitué du marmouset greffé et des deux autres marmousets témoins présentant des résultats similaires (témoin-685 et témoin-682 ayant eu un score = 0, jusqu'à 8 mois post-lésion) avec l'autre groupe de témoins. Les premiers auraient pu montrer une déficience de motivation qui a alors conduit à la non-utilisation du membre thoracique déficitaire, bien qu'une amélioration de ce déficit sensorimoteur aurait pu apparaître. Ainsi selon les scores obtenus aux staircases, deux groupes de marmousets sont distingués : les marmousets dits « démotivés » (n=3) et les marmousets dits « motivés » (n=4). L'influence de ce statut psychologique sur la récupération du déficit neurologique est alors évaluée pour les deux hémicorps (**Figure 60**).

Influence de la « motivation »



Figure 60 Evaluation de l'influence de la « motivation » sur l'évolution du score neurologique pour les deux hémicorps (membres) au cours du temps chez le marmouset greffé et les témoins (n=6). L'évolution du score aux deux versions du staircase ont fait apparaître deux profils différents de marmousets : le groupe de marmousets dit « démotivés » avec un score au staircase = 0 jusqu'à 3 mois (n=3) et les marmousets « motivés » avec un score au staircase > 0 avant 3 mois post-lésion (n=4). Les données à chaque point-temps correspondent aux moyennes et aux écart-types standards des scores obtenus à la période donnée.

A nouveau, les résultats mettent en évidence une évolution du score à l'échelle neurologique comparable entre les deux groupes (« motivés »/ « démotivés »), avec une légère diminution du score neurologique des marmousets « démotivés ».

Par conséquent au vu des résultats incluant un faible effectif d'animaux, il n'est pas envisageable à ce stade d'attribuer une influence significative de la motivation ou du volume lésionnel sur les résultats obtenus aux staircases, et *a fortiori* sur la récupération de la dextérité du membre thoracique controlésionnel.

Cependant, la personnalité et la motivation (258) sont à ce jour reconnus pour influencer grandement l'issue d'une thérapie de réhabilitation et impacter la récupération fonctionnelle chez le patient. Ainsi, ces résultats obtenus à partir des 7 marmousets (1 animal greffé et 6 témoins) restent à confirmer, notamment accompagnés d'une puissance statistique suffisante. Il est néanmoins possible de confirmer que l'écart entre les résultats obtenus chez les marmousets considérés comme « démotivés » dont l'animal greffé, et les autres marmousets, n'est pas notable.

En définitif, l'injection de malonate est à l'origine de l'acquisition d'un déficit sévère et chronique de la dextérité du membre thoracique controlésionnel, qui ne semble pas être amélioré par la greffe. La transplantation de CGE n'induit donc aucun effet (délétère ou bénéfique) marquant sur la récupération de la dextérité du membre controlésionnel chez le marmouset neurolésé.

Ces conclusions sont toutefois à considérer dans le cadre de cette étude pilote (faible effectif), et basées sur les résultats des tests comportementaux effectués ici. La confirmation de ces résultats est donc attendue.

3 Discussion

Cette étude pilote qui portait sur l'utilisation des CGE pour la réalisation d'une neurogreffe s'est révélée satisfaisante dans l'accomplissement de ses objectifs. Dans les parties suivantes, seront abordés les avantages et les limites d'une telle transplantation mais également les perspectives futures de cette étude.

3.1 Avantages de la transplantation

3.1.1 « Safety » des cellules gliales entériques

3.1.2 Risque de rejet immunologique

L'un des risques majeurs lors d'une xénotransplantation est le rejet immunologique. Ce dernier correspond à la destruction de la greffe suite à la reconnaissance des cellules du non-soi par le système immunitaire de l'hôte (259). Malgré sa relative tolérance immunitaire, le SNC n'est pourtant pas dépourvu de mécanismes immunologiques. Le rejet fait alors intervenir les antigènes de surface des cellules exogènes. Les principaux antigènes sont ceux du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) (259), reconnus par les lymphocytes T (260). Cette présentation antigénique est alors à l'origine de l'initiation d'une réponse immunitaire marquée. Le rejet de neurogreffe survient généralement dans les jours qui suivent la transplantation mais peut également apparaître en phase chronique. Elle se manifeste

alors par des signes neurologiques et généraux. Des traitements immunomodulateurs (260), tels que la corticothérapie ou la sérothérapie (261), sont généralement associés à la transplantation en prévention.

La nature et l'origine des cellules jouent un rôle important dans la survenue de ce phénomène. Pour exemple, dans un modèle AVC (MCAo), la transplantation de cellules progénitrices et souches neurales humaines chez des rats a été à l'origine d'un rejet de greffe 2 mois post-transplantation (262). D'autres ont pu montrer une sécurité et une efficacité d'une xénogreffe au-delà de 10 mois (263).

Dans le cadre de notre étude, aucune immunothérapie n'a ciblé ce phénomène. Le marmouset greffé a néanmoins présenté une amélioration de son état général, sans signes de détérioration à long terme.

Ainsi, bien que les CGE expriment le complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMHII) et qu'elles soient susceptibles d'être ciblées par les cellules immunitaires (264–266), elles ne semblent pas induire de rejet de greffe clinique en phase aiguë et chronique (9 mois), au vu des arguments suivants. Le potentiel immunomodulateur des CGE a pu influencer la réaction de l'hôte à la suite de la transplantation. En effet, les CGE sont susceptibles de sécréter des facteurs anti-inflammatoires et neuroprotecteurs, tels que GDNF (197, 212). La fixation de GDNF au niveau des récepteurs spécifiques RET (tyrosine kinase) présents à la surface des lymphocytes T permet de juguler leur production de cytokines pro-inflammatoires (267, 268) et de favoriser la libération d'interleukines anti-inflammatoires (IL-22) (268).

L'analyse immunohistochimique qui sera réalisée ultérieurement devrait répondre plus précisément à la question concernant la survenue d'un éventuel rejet de greffe insidieux.

3.1.3 Risque tumorigénique

Une autre étape fondamentale de cette étude était de vérifier la sûreté des CGE vis-à-vis des phénomènes néoplasiques.

Le risque tumorigénique des CGE n'a pas été établi, à ce jour (269). Au contraire, les CGE seraient impliquées dans la diminution de la progression de certains cancers

(270).

Ici, la survenue d'un processus tumoral est évaluée cliniquement et par neuroimagerie. Ainsi, une tumeur cérébrale, telle que le gliome, est susceptible d'engendrer des signes cliniques généraux (nausées, vomissements, anorexie) et des signes en lien avec sa localisation (hémiparésie, aphasie, cécité, etc.) (271). Ainsi, concernant le marmouset greffé, la résolution de certaines atteintes (hémiparésie, récupération motrice et sensitive partielle) et l'amélioration de l'état général de l'animal permettent de suggérer l'absence de tumeur clinique dans les 9 mois post-transplantation. Ces observations sont renforcées par l'évolution structurelle du cerveau établie par les examens d'imagerie. En effet, selon la nature de la tumeur cérébrale, l'IRM en T2 peut faire apparaître des signes directs (masse tumorale) ou indirects (effet masse) (272). Ici, la régression progressive des anomalies associées à la lésion cérébrale permet de supposer l'absence de formation d'un processus tumoral.

Le risque néoplasique des CGE serait donc absent chez l'animal greffé dans les 9 mois post-transplantation. La poursuite de l'évaluation clinique et structurelle, et la réalisation d'une analyse immunohistochimique au-delà de 12 mois permettront de confirmer cette observation. Toutefois, il n'est pas exclu que ce risque soit présent au-delà de cette période. En effet, si certaines cellules, telles que les iPSC, peuvent induire la formation d'une tumeur en près de 2 semaines (273), des cellules souches neurales fœtales engendrent des tumeurs plusieurs mois voire plusieurs années suite à la transplantation (274). De plus, la nature des cellules transplantées et leur état de différenciation sont susceptibles de faire varier ce risque. Pour exemple, les iPSC restées indifférenciées suite à leur transplantation représenteraient un plus grand risque de développement de tératome, par rapport aux iPSC différenciées (275). Par conséquent, en transplantant les CGE sous leur forme différenciée, il est attendu que le risque tumorigénique soit davantage minoré.

3.1.4 Réduction du volume lésionnel

Le marmouset greffé a présenté une diminution significative du volume lésionnel à 1 mois (3 semaines post-transplantation). La greffe de CGE serait donc impliquée favorablement dans l'évolution des lésions cérébrales. Plusieurs hypothèses sont alors envisageables concernant les mécanismes impliqués.

Tout d'abord, la principale hypothèse renvoie au potentiel neurogénique et gliogénique des CGE (9), à l'origine du remplacement cellulaire du territoire lésé. En effet, *in vitro*, la différenciation neuronale des CGE est précédée par une importante prolifération et une dédifférenciation en progéniteurs neuronaux. Comme l'atteste la formation des neurosphères *in vitro*, les CGE peuvent se dédifférencier en cellules progénitrices neurales en quelques jours (< 2 semaines). Et ces cellules progénitrices sont susceptibles de se différencier en neurones à partir de 3 jours, *in vitro* (9). Par conséquent, en confirmant la capacité migratrice des CGE greffées en périlesionnel vers le site lésionnel (276), il est concevable que les CGE greffées aient participé au remplacement cellulaire de la zone cérébrale lésée dans les 3 semaines post-transplantation. Dans le cas où ces cellules s'intègrent au tissu endogène, ceci permettrait une réduction précoce et significative du volume lésionnel.

La cohérence de cette hypothèse peut être appuyée par les variations simultanées et opposées des volumes de la lésion et de la greffe en phase subaiguë. En effet, à partir de 1 mois, le volume de la lésion augmente, alors que celui de la greffe diminue avec une amplitude comparable. Un phénomène de « vases communicants » est supposé. Il pourrait être causé par cette probable migration des CGE greffées du site de transplantation périlesionnel vers le site lésionnel. Dans un premier temps, ces cellules auraient pu participer à la réduction du volume lésionnel avant 1 mois. Puis, il est possible que ces cellules greffées mais aussi les cellules exogènes et endogènes néoformées aient ensuite dégénéré en arrivant au site lésionnel en raison de l'environnement inflammatoire. A l'origine de leur accumulation dans la lésion cavitaire, ce phénomène pourrait ainsi induire l'augmentation du volume lésionnel au-delà de 1 mois.

Les variations du volume de greffe, mais également d'intensité du signal T2, sont toutefois à interpréter avec précautions puisque pouvant correspondre à plusieurs phénomènes. Pour exemple, ici, la diminution du volume et l'augmentation de l'intensité de la greffe sont concomitantes. En termes biologiques, ces événements peuvent correspondre à une diminution de la cellularité de la greffe (augmentation de la densité de protons libres). Cette dernière est alors attribuable à plusieurs processus, dont la migration des cellules, ou leur dégénérescence. Une analyse immunohistochimique permettra ainsi de faire une ségrégation entre ces processus en

confirmant l'éventuelle survie, la prolifération et la différenciation des cellules issues de la greffe.

De plus, les CGE présentent des effets immunomodulateurs, anti-inflammatoires et neurotrophiques (192, 267, 277). Par conséquent, étant donnée la réalisation de la greffe en phase aiguë, il est probable que ces cellules aient modifié favorablement l'environnement du tissu lésé. Par une action paracrine, les CGE pourraient être à l'origine d'un effet (neuro)protecteur anti-apoptotique et donc modulateur de la dégénérescence cellulaire. Par la suite, en phase subaiguë, dans le cas où les cellules de la greffe survivraient, il est possible d'envisager une action trophique (neurogenèse, angiogenèse) sur les tissus endogènes. Ces effets protecteurs, d'une part, et trophiques, d'autre part, pourraient ainsi expliquer la réduction significative et marquée du volume lésionnel à un 1 mois.

Par ailleurs, il est possible d'envisager une action positive de la greffe sur l'œdème vasogénique. En effet, à la suite de la lésion cérébrale, un œdème se met en place. En provoquant une « distorsion anatomique » au niveau de l'hémisphère cérébral ipsilésionnel, l'œdème a engendré une augmentation apparente du volume lésionnel. En considérant une résorption rapide et importante de l'œdème, il est possible d'attribuer la réduction du volume lésionnel à celle de l'œdème, dont la résorption aurait pu être améliorée par la greffe. Les volumes de l'œdème cérébral des témoins n'étant pas disponibles, une étude comparée serait souhaitée afin de confirmer ou invalider l'hypothèse. Toutefois, dans la mesure où l'individu greffé présente un volume lésionnel post-greffe particulièrement bas par rapport aux témoins, l'effet probable de la greffe sur l'œdème cérébral ne peut expliquer à lui-seul cette réduction marquée du volume lésionnel à 1 mois. Il est à supposer que des mécanismes précoces aient entraîné des effets supérieurs à ceux engendrés par les processus endogènes de récupération spontanée.

A ce stade, l'hypothèse d'un remplacement cellulaire et d'un effet protecteur et trophique par les CGE restent parmi les hypothèses les plus probables. Toutefois, elles sont encore à confirmer. De plus, un lien de corrélation entre réduction du volume lésionnel et récupération fonctionnelle est à établir.

Malgré tout, ce même volume lésionnel présente une augmentation à 5 et 7 mois post-lésion. Cette augmentation reste toutefois minime en comparaison au volume initial. Plusieurs hypothèses peuvent y être associées. Parmi elles, un phénomène artéfactuel à l'IRM en T2 a pu interférer avec l'analyse. En effet, suite à une lésion cérébrale, notamment une ischémie cérébrale chez l'homme, un phénomène de « buée » (« MRI fogging ») entre 1 et 3 semaines est constaté (278, 279). Il correspondrait, entre autres, à l'envahissement du site lésionnel par des macrophages. Ces cellules réalisent la clairance des débris cellulaires, principalement de nature lipidique, engendrés par la dégénérescence cellulaire post-ischémique. Lorsqu'elles sont chargés, leur présence est alors associée à une diminution de l'eau libre (278). Ce phénomène se traduit à l'IRM en T2 par un signal de moindre intensité et donc au masquage de l'étendue réelle des lésions. Une fois ces macrophages évacués du site lésionnel, le volume réel de la lésion tend alors à apparaître. Marshall et al. ont pu constater ce phénomène chez le marmouset à 3 semaines post-lésion, dans le cadre d'un modèle AVC (MCAo) (280). Dans cette étude, Marshall et al. mettent en évidence qu'à partir de 10 semaines, le volume lésionnel était identique au volume défini à l'analyse histologique. Par conséquent, il est envisageable d'attribuer l'augmentation du volume lésionnel aux artéfacts induits par les processus inflammatoires post-lésionnels. Toutefois, cette hypothèse reste moins probable ici en raison du bon contraste obtenu sur les images IRM en T2.

Enfin, des lésions de dégénérescence secondaire de la substance blanche et de la substance grise peuvent survenir plusieurs mois après une lésion cérébrale (281, 282). Ce phénomène est rapporté chez l'homme (283) et le marmouset (12), associé à une atrophie corticale, et sous-corticale. Dans le cas du marmouset greffé, l'atrophie de l'hémisphère cérébral ipsilésionnel est estimée entre 2,0 et 4,8%, par rapport à l'hémisphère sain à 5 et 7 mois. Par conséquent, il est probable que cette atrophie progressive en région périlésionnelle ait contribué à la légère augmentation du volume lésionnel en phase chronique.

Nous pouvons donc dire qu'à 9 mois post-greffe, cette xénotransplantation est sécuritaire. Cependant, une confirmation à plus grande échelle et à plus long terme, associée à une analyse immunohistochimique, reste nécessaire.

3.1.5 Absence d'effets secondaires sur la récupération fonctionnelle

Dans le cas du marmouset greffé, aucune récupération de la dextérité n'a pu être mise en évidence aux deux versions du staircase (12). Le volume lésionnel de ce marmouset était important en phase aiguë, et incluait le territoire cortical ciblé, et d'autres régions corticales et sous-corticales adjacentes. Pourtant, en dépit d'une réduction significative du volume lésionnel dès 1 mois, les déficits moteurs ont persisté. D'autres facteurs pourraient donc entrer en compte dans les résultats de ces tests (défaut d'entraînement, déficience de motivation, déficit sensitif et proprioceptif, qualité des dispositifs).

Il est possible de prendre encore plus de recul sur l'issue des tests. En effet, sur la base de l'évolution positive du statut neurologique de l'hémicorps controlésionnel et de l'observation clinique, le marmouset a tout de même présenté une amélioration des déficits de force et de dextérité du membre déficitaire.

Par conséquent, l'effet de la greffe sur la récupération fonctionnelle n'est pas majoré par rapport à celle de la récupération spontanée observée chez les témoins jusqu'à 3 mois. Cependant, en considérant l'impact des déficits sensitifs et proprioceptifs sur la motricité, et leur latence de récupération (16), il est possible d'indiquer que la greffe n'a pas été délétère. Ainsi, la xénotransplantation intracérébrale de CGE n'engendre pas d'effets secondaires sur la motricité au cours des 9 mois post-greffe.

De plus, il n'est pas exclu que la greffe ait engendré une reconstruction tissulaire. Toutefois, celle-ci ne semble pas fonctionnelle pour le moment. Un suivi à plus long terme est donc indispensable.

3.2 Limites de la transplantation

3.2.1 Evaluation des déficits sensorimoteurs

Parmi les facteurs ayant influencé les résultats des tests comportementaux, l'on retrouve les processus de compensation. En effet, chez le patient présentant un déficit fonctionnel, des phénomènes compensatoires se mettent en place afin d'assurer son autonomie. Ils sont également constatés chez les modèles animaux (37). Pour exemple, lors de la réalisation d'une tâche motrice, les animaux cérébrlésés utilisent

de manière préférentielle le membre thoracique sain au détriment du membre déficitaire. Ce fût le cas pour l'animal greffé dans notre étude. Autre exemple, en 1999, Nudo et al. constatent que des individus (saïmiri) cérébrolésés au niveau de M1 inspectaient de manière systématique leur main à la suite de la récupération d'une récompense, qu'ils aient réussi ou échoué à la saisir (284). Ils montrent alors qu'au-delà de l'aspect purement moteur des déficits fonctionnels, ces derniers peuvent être majorés voire confondus avec des déficits sensitifs (284). En termes temporels, une neurolésion de M1 peut engendrer la persistance du déficit d'intégration sensitive durant plusieurs mois, et inversement. Chez le patient, un rétablissement sensitif partiel est estimé à plus de 4 mois (285). Dans le cas d'un modèle animal, le phénomène de compensation s'estompe le plus souvent à partir de 3 mois post-lésion (284).

Ce constat contraint donc à relativiser les résultats obtenus aux tests comportementaux et à questionner la pertinence de l'évaluation sensorimotrice.

En effet, bien que l'échelle neurologique objective des déficits fonctionnels, il semble qu'elle ne permette pas de faire une ségrégation nette entre déficits moteurs purs et sensitifs. L'élaboration d'une échelle neurologique idéale reste tout de même une étape épineuse. De nombreuses versions sont actuellement disponibles. En 2015, Puentes et al. conçoivent une échelle neurologique pour une utilisation spécifique chez le marmouset, le Marmoset Neurologic Score (MNS) (286), qui inclut des items cohérents avec son répertoire comportemental (aptitude à grimper). L'équipe iDREAM a également contribué à améliorer grandement l'échelle neurologique utilisée (travaux de thèse d'Alice Le Friec (12, 13)). Toutefois, elle offre une vision globale du statut neurologique de l'animal permettant difficilement de préciser, à proprement parler, les paramètres sensitifs et moteurs.

Ainsi, de nouveaux moyens d'évaluation sensorimotrice sont à envisager afin de mieux définir les déficits fonctionnels et d'estimer leur réponse lors de l'essai d'une stratégie thérapeutique.

3.3 Perspectives futures

3.3.1 Analyses immunohistochimiques

Les circonstances sanitaires particulières (pandémie de la Covid-19) ont contraint à repenser le protocole expérimental initial. Ainsi, les examens IRM et les séances d'évaluation sensorimotrice ont été décalés dans le temps. De même, l'analyse immunohistochimique (IHC) du tissu cérébral lésé du marmouset greffé devait clôturer cette étude, afin d'évaluer de manière exhaustive les effets de la greffe de CGE. Elle avait été envisagée au préalable à 6 mois post-lésion. Dans ce contexte, l'échéance de cette analyse IHC a alors été reportée à plus de 6 mois, en phase chronique tardive. Une survie des CGE est attendue. Toutefois, la transplantation intracrânienne de CGE dans un modèle AVC chez le marmouset est un projet encore inédit. L'appui sur les données de la littérature est donc restreint. En revanche, l'extrapolation des résultats de certaines études permet d'établir des hypothèses sur la probable survie de ces cellules transplantées et de justifier le choix d'une nouvelle échéance pour l'analyse IHC.

Ainsi, en 1994, dans un modèle de neurodégénérescence, Twe et al. réalisent la transplantation intrastriatale (striatum) d'un fragment de plexus myentérique disséqué de jeunes rats chez des animaux adultes, une à deux semaines après la réalisation d'une neurolésion (acide quinolinique) (287, 288). L'analyse IHC révèle alors la survie des cellules neuronales et gliales (au sein des ganglions entériques) jusqu'à 6 semaines suivant la transplantation. Twe et al. confirment même la conservation d'une morphologie cellulaire similaire à celle *in situ* (288). En 2016, une durée minimale de survie et d'activité des CGE isolées de 2 mois est confirmée lors de leur transplantation intracérébrale chez un modèle rongeur de maladie d'Alzheimer (276). Enfin, dans la mesure où les CGE présentent de nombreuses caractéristiques morphologiques, moléculaires et fonctionnelles avec les astrocytes et les oligodendrocytes (10, 183, 184, 186), une extrapolation de résultats obtenus à partir de ces cellules est donc envisageable. Ainsi, dans le cadre d'une transplantation de cellules gliales au niveau d'une région spinale démyélinisée chez un modèle rongeur, O'Leary et Blakemore ont permis de mettre en évidence l'initiation d'un processus de remyélinisation par les oligodendrocytes greffés et leur survie jusqu'à un an (289). De même, suite à une transplantation de progéniteurs des astrocytes au sein d'une région saine de S1 chez

un modèle rongeur, les astrocytes dérivant de la greffe présentent une survie et une intégration fonctionnelle au réseau neuronal endogène au-delà d'un an (60 semaines) (290). Par conséquent, il est concevable que l'analyse IHC reportée dans le cadre de ce projet puisse à son tour faire la preuve d'une survie à long terme des CGE greffées. Dans le cas contraire, un examen prévu de l'ensemble des autres processus histologiques (neurogenèse, gliogenèse, angiogenèse, inflammation, etc.) sera réalisé.

La suite du protocole expérimental sera ainsi envisagée comme suit :

3.3.1.1 Protocole de préparation des coupes tissulaires

Le marmouset transplanté sera anesthésié (alfaxalone, 9 mg/kg, en IM, Alfaxan®), puis euthanasié (pentobarbital de sodium, 100 mg/kg, par voie intrapéritonéale, Doléthal®, Vetoquinol). Le cerveau est ensuite perfusé à l'aide d'une solution tampon NaCl 0,9% héparine 0,1% réchauffé puis par une solution de paraformaldéhyde (PFA) à 4% refroidie administrées par voie intracardiaque. Une craniotomie large puis une extraction du cerveau de la boîte crânienne sont réalisées. Le cerveau est placé dans un bain de PFA 4% puis dans des bains successifs de solution de sucrose à des concentrations croissantes (10%, 20% puis 30%). Les cerveaux sont coupés en sections coronales de 30 µm à l'aide d'un microtome de congélation (Microm HM 450®, Microm France, Francheville, France).

3.3.1.2 Protocole de préparation de l'immunomarquage

Les coupes histologiques ainsi préparées seront disposées pour la réalisation de colorations et d'un immunomarquage. Dans un premier temps, les coupes sont réservées pour une coloration au Nissl, permettant d'identifier la substance grise par coloration du soma des neurones (corps de Nissl) (291). D'autres coupes sont colorées au bleu de luxol rapide (LFB) afin de mettre en évidence la substance blanche par coloration de la myéline (291). Une contre-coloration à l'aide du crésyl violet, pour révéler la cytoarchitecture (291), est réalisée toutes les 12 à 14 coupes coronales afin de localiser le site lésionnel et les structures adjacentes. Par la suite, un immunomarquage est réalisé afin d'identifier différents types cellulaires dont les cellules gliales matures, la microglie réactive, et les neurones à l'aide des marqueurs

S100 β , GFAP, Iba1 et Nestin, respectivement. Pour cela, les coupes sont perméabilisées et bloquées par immersion dans une solution tampon d'immunohistochimie (IHC) correspondant à une solution de 0,1 mol/L d'un tampon phosphate contenant 0,1% de Triton X-100 (Sigma-Aldrich) et 4% de sérum caprin (Sigma-Aldrich), durant 2 heures à température ambiante. Les coupes sont ensuite incubées pendant 24 heures avec des marqueurs primaires (anticorps anti-S100 β lagomorphe, Abcam #52642, dilués au 1/300 ; anticorps anti-GFAP lagomorphe, Dako #Z0334, dilués au 1/1000 ; anticorps anti-Iba1 caprin, Abcam #ab5076, dilués au 1/500 et anticorps anti-Nestin caprin, Santa Cruz #sc-21246, dilués au 1/300) dans une solution de tampon d'IHC. À la suite de lavages successifs au PBS, les coupes sont incubées en présence des anticorps secondaires respectifs (anticorps couplés à des fluorochromes, AlexaFluor, Molecular Probes®, Invitrogen, dilués au 1/1000), dans une solution de tampon IHC pendant 2 heures à température ambiante. Par ailleurs, les noyaux cellulaires sont révélés par une contre-coloration à l'aide du marqueur DAPI (dilué au 1/5000 dans une solution de PBS, Sigma-Aldrich) (12, 13). Les images seront acquises avec un microscope confocale Zeiss de la plateforme imagerie du CPTP (référence : Zeiss confocal LSM710).

3.3.2 Poursuite de l'évaluation structurelle et fonctionnelle

Pour l'heure, d'autres projets sont en perspective. L'objectif serait de confirmer les effets structurelles et cliniques réels de la greffe. Pour se faire, le protocole expérimental initial sera poursuivi jusqu'à la formation d'un plateau de performances sensorimotrices (échelle neurologique et staircases). Une fois ce plateau établi et au-delà de 12 mois post-lésion, la greffe et les éventuels tissus exogènes néoformés devraient pouvoir être extraits. Sur la base de l'évolution des évaluations sensorimotrices et des données IRM réalisés après l'extraction de la greffe, ses effets potentiels sur la récupération fonctionnelle pourront alors être établis.

3.3.3 Modalités de la transplantation : vers la réalisation de greffes autologues

Se posent ensuite les problématiques liées aux objectifs d'une transposition vers une transplantation autologue des CGE. Cette dernière s'impose comme une modalité de

transplantation à privilégier au vu du bénéfice concernant le risque de rejet immunologique (85).

Ainsi, les techniques de prélèvements des ganglions entériques pour la réalisation de ces autogreffes pourront s'adapter à une utilisation chez l'homme. Dans le cadre de cette étude préclinique, le plexus sous-muqueux des échantillons intestinaux a été isolé, en épargnant le plexus myentérique. Bien que le nombre de CGE au sein du plexus myentérique soit plus élevé par rapport à celui du plexus sous-muqueux (183), ce choix s'avère être stratégique. En effet, les CGE tirent l'avantage d'être relativement aisées à isoler, cultiver et amplifier (276). De plus, il est possible d'anticiper des prélèvements non invasifs de l'intestin par le biais de biopsies sous endoscopie, qui pourront atteindre de manière non délétère le plexus sous-muqueux.

Conclusion générale

Conclusion générale

En conclusion, ce projet de thèse a permis d'établir la faisabilité, la sûreté et l'efficacité en phase chronique d'une xénotransplantation intracérébrale de cellules gliales entériques dans un modèle de lésion cérébrale chez le marmouset.

Le système nerveux entérique trouve ainsi sa place comme source de cellules pour la réalisation de transplantations. Les cellules gliales entériques en question présentent un riche potentiel neurogénique et gliogénique, démontré expérimentalement par la capacité à générer des progéniteurs neuraux, *in vitro*. Cette capacité a ainsi été mise à l'épreuve lors de la transplantation des cellules gliales entériques chez un marmouset neurolésé. L'évolution au cours du temps des déficits sensorimoteurs du membre thoracique controlésionnel induits a été évaluée. Un suivi longitudinal par neuroimagerie (imagerie par résonance magnétique) confirme l'impact de ces cellules gliales entériques. Ces dernières favoriseraient la récupération structurelle en améliorant significativement la réduction du volume lésionnel en phase subaiguë à 1 mois. L'évaluation clinique a ensuite tenté de révéler un effet de la greffe sur la récupération du statut sensorimoteur (échelle neurologique) et de la dextérité (tests comportementaux) du membre controlésionnel. Elle permet de confirmer l'absence d'effets secondaires (rejet de greffe ou processus tumoral) au cours des 9 mois post-transplantation. Toutefois, aucun effet bénéfique supérieur à la récupération spontanée ne lui est attribuable.

Une poursuite de l'étude au-delà de 12 mois et l'augmentation de l'effectif de l'étude permettraient d'asseoir les effets structurels et cliniques de la neurogreffe de cellules gliales entériques au long court.

De nombreux projets sont en perspective pour la suite de cette étude pilote. Tout d'abord, il reste à confirmer la sécurité et l'impact des cellules gliales entériques, en vue de la réalisation translationnelle d'autogreffe chez l'homme. De plus, il est possible d'envisager qu'une amélioration de la survie et de l'intégration tissulaire des cellules greffées soient un gage d'optimisation de leurs effets. Une possible amélioration de la greffe pourrait ainsi passer par la combinaison des cellules avec un bio-implant, tel que les hydrogels. Ce dernier, constitué de biomatériaux, est susceptible d'améliorer

la survie des cellules transplantées par la création d'un milieu semi-permissif, limitant leur contact avec l'environnement neuroinflammatoire (292). D'autre part, il fournit un support physique facilitant l'adhérence cellulaire et orientant de manière préférentielle la migration des cellules transplantées.

En définitive, le système nerveux entérique est une source cellulaire intéressante dans la gestion thérapeutique de déficits fonctionnels chroniques. Les résultats présentés restent encore à être confirmés. Toutefois, les cellules gliales entériques devraient pouvoir bénéficier de l'action synergétique de deux approches thérapeutiques ambitieuses, la thérapie cellulaire et la bio-ingénierie.

Quant à l'ultime question concernant ce deuxième cerveau au renfort du premier, le chemin vers la lumière (intestinale) est proche.

To be continued.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, Isabelle RAYMOND-LETRON, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directrice de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **HACENE Sirine** intitulée « **Thérapie cellulaire sur un modèle d'AVC sur le marmouset : le système nerveux entérique comme alternative pour les neuro-greffes** » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 13/11/2020
Enseignant-chercheur de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeure Isabelle RAYMOND-LETRON



Vu :
Le Président du jury
Professeur Olivier ABBO



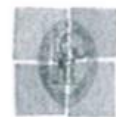
Vu :
Le Directeur de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
M. Pierre SANS



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université Paul Sabatier
M. Jean-Marc BROTO



Mme HACENE Sirine
a été admis(e) sur concours en : 2015
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le: 09/07/2019
a validé son année d'approfondissement le: 15/10/2020
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.



Université
de Toulouse

Références bibliographiques

1. WHO. The global burden of cerebrovascular disease. *WHO | Global Health Estimates* [en ligne]. 2012. [Consulté le 20 octobre 2020]. Disponible à l'adresse : http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/en/
2. HUGUETTE, LHUILLIER-NKANDJEU. Rapport d'évaluation technologique: Thrombectomie des artères intracrâniennes par voie endovasculaire. *Haute Autorité de santé*. novembre 2016. pp. 85.
3. COLLÈGE DE LA HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ. *Accident vasculaire cérébral : prise en charge précoce (alerte, phase préhospitalière, phase hospitalière initiale, indications de la thrombolyse)*. Haute Autorité de Santé (HAS), 2009. Haute Autorité de Santé.
4. BORLONGAN, Cesario V. Concise Review: Stem Cell Therapy for Stroke Patients: Are We There Yet? *STEM CELLS Translational Medicine*. 16 mai 2019. pp. sctm.19-0076. DOI 10.1002/sctm.19-0076.
5. NEGORO, Takaharu, OKURA, Hanayuki, MAEHATA, Midori et HAYASHI, Shigekazu. Trends in clinical trials for stroke by cell therapy: data mining ClinicalTrials.gov and the ICTRP portal site. *npj Regenerative Medicine*. décembre 2019. Vol. 4, n° 1, pp. 20. DOI 10.1038/s41536-019-0082-7.
6. WECHSLER, Lawrence R., BATES, Damien, STROEMER, Paul, ANDREWS-ZWILLING, Yaisa S. et AIZMAN, Irina. Cell Therapy for Chronic Stroke. *Stroke*. mai 2018. Vol. 49, n° 5, pp. 1066-1074. DOI 10.1161/STROKEAHA.117.018290.
7. GERSHON, Michael D. The Enteric Nervous System: A Second Brain. *Hospital Practice*. 15 juillet 1999. Vol. 34, n° 7, pp. 31-52. DOI 10.3810/hp.1999.07.153.
8. GERSHON, Michael D. et ROTHMAN, Taube P. Enteric glia. *Glia*. 1991. Vol. 4, n° 2, pp. 195-204. DOI 10.1002/glia.440040211.
9. LARANJEIRA, Catia, SANDGREN, Katarina, KESSARIS, Nicoletta et RICHARDSON, William. Glial cells in the mouse enteric nervous system can undergo neurogenesis in response to injury. *Journal of Clinical Investigation*. 1 septembre 2011. Vol. 121, n° 9, pp. 3412-3424. DOI 10.1172/JCI58200.
10. GULBRANSEN, Brian D. Enteric Glia. *Colloquium Series on Neuroglia in Biology and Medicine: From Physiology to Disease*. 31 juillet 2014. Vol. 1, n° 2, pp. 1-70. DOI 10.4199/C00113ED1V01Y201407NGL002.
11. DE FÁTIMA ARRUDA, Maria, YAMAMOTO, Maria Emilia, DE ALMEIDA PESSOA, Daniel Marques et ARAUJO, Arrilton. Taxonomy and Natural History. In : *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* [en ligne]. Elsevier, 2019. pp. 3-15. [Consulté le 8 juin 2020]. ISBN 978-0-12-811829-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012811829000017>
12. DEMAÏN, Boris, LOUBINOX, Isabelle, VIEU, Christophe, ÉCOLE DOCTORALE COMPORTEMENT, Langage et LABORATOIRE D'ANALYSE ET D'ARCHITECTURE DES SYSTÈMES. *Preuve de concept d'une stratégie thérapeutique avec des neuro-implants microstructurés dans un nouveau modèle de lésion cérébrale focale chez le marmouset*. Toulouse 3 - Paul Sabatier, 2015.
13. LE FRIEC, Alice, LOUBINOX, Isabelle et REMY EL-BOUSTANI, Florence. *Evolution of corticospinal tract integrity in stroked marmoset monkeys. Towards a bioimplant and stem cell therapeutic strategy*. Doctorat. Toulouse : Université Toulouse 3 - Paul Sabatier, 2019.
14. KIMURA, Y. et NIWA, T. Inhibitory Effect of Malonate on the Respiration of Brain Tissue, with Special Reference to the Potassium Effect. *Nature*. mai 1953. Vol. 171, n° 4359, pp. 881-882. DOI 10.1038/171881a0.
15. FEIGIN, Valery L., KRISHNAMURTHI, Rita V., PARMAR, Priya et GBD 2013 WRITING GROUP AND GBD 2013 STROKE PANEL EXPERTS GROUP. Update on the Global Burden of Ischemic and Hemorrhagic Stroke in 1990-2013: The GBD 2013 Study. *Neuroepidemiology*. 2015. Vol. 45, n° 3, pp. 161-176. DOI 10.1159/000441085.
16. BRODAL, Per. *The central nervous system: structure and function*. 4th ed. New York : Oxford University Press, 2010. ISBN 978-0-19-538115-3. QP370 .B76 2010

17. MALINOWSKI, Mark N. Anatomy of the Brain and Brain Stem. In : DEER, Timothy R., POPE, Jason E., LAMER, Tim J. et PROVENZANO, David (éd.), *Deer's Treatment of Pain* [en ligne]. Cham : Springer International Publishing, 2019. pp. 49-59. [Consulté le 9 mai 2020]. ISBN 978-3-030-12280-5. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-12281-2_7
18. OPENSTAX COLLEGE. *Anatomy and physiology* [en ligne]. Houston, Texas : Rice University, 2013. [Consulté le 5 novembre 2020]. ISBN 978-1-938168-13-0. Disponible à l'adresse : https://openstaxcollege.org/files/textbook_version/hi_res_pdf/13/col11496-op.pdf
19. JUDAŠ, Miloš, CEPANEC, Maja et SEDMAK, Goran. Brodmann's map of the human cerebral cortex or Brodmann's maps? *Translational Neuroscience* [en ligne]. 1 janvier 2012. Vol. 3, n° 1. [Consulté le 4 novembre 2020]. DOI 10.2478/s13380-012-0009-x. Disponible à l'adresse : <https://www.degruyter.com/doi/10.2478/s13380-012-0009-x>
20. VAN ESSEN, David C., DONAHUE, Chad J., COALSON, Timothy S., KENNEDY, Henry et HAYASHI, Takuya. Cerebral cortical folding, parcellation, and connectivity in humans, nonhuman primates, and mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 26 décembre 2019. Vol. 116, n° 52, pp. 26173-26180. DOI 10.1073/pnas.1902299116.
21. PENFIELD, W. et RASMUSSEN, T. *The cerebral cortex of man: a clinical study of localization of function*. 3. New York, 1950. Macmillan.
22. BEAR, Mark F., CONNORS, Barry W. et PARADISO, Michael A. *Neuroscience: exploring the brain*. 2. ed., [Nachdr.]. Baltimore, Md. : Lippincott Williams & Wilkins, 2004. ISBN 978-0-7817-3944-3.
23. JOHNS, Paul. Sensory and motor pathways. In : *Clinical Neuroscience* [en ligne]. Elsevier, 2014. pp. 49-59. [Consulté le 4 novembre 2020]. ISBN 978-0-443-10321-6. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780443103216000047>
24. LEMON, Roger N. Descending Pathways in Motor Control. *Annual Review of Neuroscience*. juillet 2008. Vol. 31, n° 1, pp. 195-218. DOI 10.1146/annurev.neuro.31.060407.125547.
25. PARIKH, Pranav J, FINE, Justin M et SANTELLO, Marco. Dexterous Object Manipulation Requires Context-Dependent Sensorimotor Cortical Interactions in Humans. *Cerebral Cortex*. 14 mai 2020. Vol. 30, n° 5, pp. 3087-3101. DOI 10.1093/cercor/bhz296.
26. GONZÁLEZ, R. Gilberto, HIRSCH, Joshua A., LEV, Michael H. et SCHAEFER, Pamela W. (éd.). Causes of Ischemic Stroke. In : GONZÁLEZ, R. Gilberto, HIRSCH, Joshua A., LEV, Michael H. et SCHAEFER, Pamela W. (éd.), *Acute Ischemic Stroke* [en ligne]. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2011. pp. 25-42. [Consulté le 10 octobre 2020]. ISBN 978-3-642-12750-2. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-12751-9_2
27. AHO, K., HARMSSEN, P., HATANO, S., MARQUARDSEN, J. et SMIRNOV, V. E. Cerebrovascular disease in the community: results of a WHO collaborative study. *Bulletin of the World Health Organization*. 1980. Vol. 58, n° 1, pp. 113-130.
28. SACCO, Ralph L., KASNER, Scott E., BRODERICK, Joseph P. et CAPLAN, Louis R. An Updated Definition of Stroke for the 21st Century: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. juillet 2013. Vol. 44, n° 7, pp. 2064-2089. DOI 10.1161/STR.0b013e318296aeca.
29. BÉJOT, Yannick, TOUZÉ, Emmanuel, JACQUIN, Agnès, GIROUD, Maurice et MAS, Jean-Louis. Épidémiologie des accidents vasculaires cérébraux. *médecine/sciences*. août 2009. Vol. 25, n° 8-9, pp. 727-732. DOI 10.1051/medsci/2009258-9727.
30. HAS. *Pertinence des soins: Accident vasculaire cérébral Pertinence des parcours de rééducation/réadaptation après la phase initiale de l'AVC* [en ligne]. Haute Autorité de Santé (HAS), 2019. Disponible à l'adresse : https://has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2019-06/app_260_note_de_problematique_ssr_avc_cd_2019_05_22_vfinale.pdf
31. CAMPBELL, Bruce C. V., DE SILVA, Deidre A., MACLEOD, Malcolm R. et COUTTS, Shelagh B. Ischaemic stroke. *Nature Reviews Disease Primers*. décembre 2019. Vol. 5, n° 1, pp. 70. DOI 10.1038/s41572-019-0118-8.

32. MATHERS, Colin D, LONCAR, Dejan et WHO. Updated projections of global mortality and burden of disease, 2002-2030: data sources, methods and results. *PLoS Medicine*. novembre 2006. Vol. 3, n° 11, pp. 130. DOI <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030442>.
33. SCHNITZLER, Alexis, WOIMANT, France, TUPPIN, Philippe et DE PERETTI, Christine. Prevalence of Self-Reported Stroke and Disability in the French Adult Population: A Transversal Study. BOLTZE, Johannes (éd.), *PLoS ONE*. 18 décembre 2014. Vol. 9, n° 12, pp. e115375. DOI 10.1371/journal.pone.0115375.
34. JOHNSON, Catherine Owens, NGUYEN, Minh, ROTH, Gregory A et NICHOLS, Emma. Global, regional, and national burden of stroke, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology*. mai 2019. Vol. 18, n° 5, pp. 439-458. DOI 10.1016/S1474-4422(19)30034-1.
35. O'DONNELL, Martin J, XAVIER, Denis, LIU, Lisheng, ZHANG, Hongye et CHIN, Siu Lim. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *The Lancet*. juillet 2010. Vol. 376, n° 9735, pp. 112-123. DOI 10.1016/S0140-6736(10)60834-3.
36. LAWES, Carlene M.M., BENNETT, Derrick A., FEIGIN, Valery L. et RODGERS, Anthony. Blood Pressure and Stroke: An Overview of Published Reviews. *Stroke*. mars 2004. Vol. 35, n° 3, pp. 776-785. DOI 10.1161/01.STR.0000116869.64771.5A.
37. WON, Jinyoung, YI, Kyung Sik, CHOI, Chi-Hoon, JEON, Chang-Yeop et SEO, Jincheol. Assessment of Hand Motor Function in a Non-human Primate Model of Ischemic Stroke. *Experimental Neurobiology*. 31 août 2020. Vol. 29, n° 4, pp. 300-313. DOI 10.5607/en20023.
38. HAWKINS, Brian T. et DAVIS, Thomas P. The Blood-Brain Barrier/Neurovascular Unit in Health and Disease. *Pharmacological Reviews*. juin 2005. Vol. 57, n° 2, pp. 173-185. DOI 10.1124/pr.57.2.4.
39. BORDET, Régis, OUK, Thavarak, ONTÉNIENTE, Brigitte et CHARRIAUT-MARLANGUE, Christiane. Ischémie cérébrale: Les pistes thérapeutiques de demain. *médecine/sciences*. octobre 2009. Vol. 25, n° 10, pp. 847-854. DOI 10.1051/medsci/20092510847.
40. MUOIO, V., PERSSON, P. B. et SENDESKI, M. M. The neurovascular unit - concept review. *Acta Physiologica*. avril 2014. Vol. 210, n° 4, pp. 790-798. DOI 10.1111/apha.12250.
41. FIGLEY, Chase R. et STROMAN, Patrick W. The role(s) of astrocytes and astrocyte activity in neurometabolism, neurovascular coupling, and the production of functional neuroimaging signals: Astrocyte control of fMRI and PET signals. *European Journal of Neuroscience*. février 2011. Vol. 33, n° 4, pp. 577-588. DOI 10.1111/j.1460-9568.2010.07584.x.
42. DUCHEMIN, Sonia, BOILY, Michaël, SADEKOVA, Nataliya et GIROUARD, Hélène. The complex contribution of NOS interneurons in the physiology of cerebrovascular regulation. *Frontiers in Neural Circuits* [en ligne]. 2012. Vol. 6. [Consulté le 20 octobre 2020]. DOI 10.3389/fncir.2012.00051. Disponible à l'adresse : <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fncir.2012.00051/abstract>
43. HAYDON, Philip G. et CARMIGNOTO, Giorgio. Astrocyte Control of Synaptic Transmission and Neurovascular Coupling. *Physiological Reviews*. juillet 2006. Vol. 86, n° 3, pp. 1009-1031. DOI 10.1152/physrev.00049.2005.
44. HUBBARD, Jacqueline A. et BINDER, Devin K. Gliotransmitters. In : *Astrocytes and Epilepsy* [en ligne]. Elsevier, 2016. pp. 53-73. [Consulté le 21 octobre 2020]. ISBN 978-0-12-802401-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012802401000003X>
45. SANTELLO, Mirko, CALÌ, Corrado et BEZZI, Paola. Gliotransmission and the Tripartite Synapse. In : KREUTZ, Michael R. et SALA, Carlo (éd.), *Synaptic Plasticity* [en ligne]. Vienna : Springer Vienna, 2012. pp. 307-331. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. [Consulté le 21 octobre 2020]. ISBN 978-3-7091-0931-1. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-3-7091-0932-8_14
46. ARMULIK, Annika, GENOVÉ, Guillem, MÄE, Maarja, NISANCIOGLU, Maya H. et WALLGARD, Elisabet. Pericytes regulate the blood–brain barrier. *Nature*. novembre 2010. Vol. 468, n° 7323, pp. 557-561. DOI 10.1038/nature09522.
47. KAWAMURA, H., SUGIYAMA, T., WU, D. M., KOBAYASHI, M. et YAMANISHI, S. ATP: a vasoactive signal in the pericyte-containing microvasculature of the rat retina. *The Journal of Physiology*. 15 septembre 2003. Vol. 551, n° 3, pp. 787-799. DOI 10.1113/jphysiol.2003.047977.

48. PEPPIATT, Claire M., HOWARTH, Clare, MOBBS, Peter et ATTWELL, David. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature*. octobre 2006. Vol. 443, n° 7112, pp. 700-704. DOI 10.1038/nature05193.
49. VYKLICKY, V., KORINEK, M., SMEJKALOVA, T., BALIK, A. et KRAUSOVA, B. Structure, Function, and Pharmacology of NMDA Receptor Channels. *Physiological Research*. 26 février 2014. pp. S191-S203. DOI 10.33549/physiolres.932678.
50. PETROVIĆ, M., HORÁK, M., SEDLÁČEK, M. et VYKLICKÝ, L. Physiology and pathology of NMDA receptors. *Prague Medical Report*. 2005. Vol. 106, n° 2, pp. 113-136.
51. NOWAK, L., BREGESTOVSKI, P., ASCHER, P., HERBET, A. et PROCHIANTZ, A. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*. février 1984. Vol. 307, n° 5950, pp. 462-465. DOI 10.1038/307462a0.
52. WU, Qiu Jing et TYMIANSKI, Michael. Targeting NMDA receptors in stroke: new hope in neuroprotection. *Molecular Brain*. décembre 2018. Vol. 11, n° 1, pp. 15. DOI 10.1186/s13041-018-0357-8.
53. LOVE, Seth. Oxidative Stress in Brain Ischemia. *Brain Pathology*. 5 avril 2006. Vol. 9, n° 1, pp. 119-131. DOI 10.1111/j.1750-3639.1999.tb00214.x.
54. CHOUDHURY, Gourav Roy et DING, Shinghua. Reactive astrocytes and therapeutic potential in focal ischemic stroke. *Neurobiology of Disease*. janvier 2016. Vol. 85, pp. 234-244. DOI 10.1016/j.nbd.2015.05.003.
55. CHAMORRO, Ángel, MEISEL, Andreas, PLANAS, Anna M., URRÁ, Xabier et VAN DE BEEK, Diederik. The immunology of acute stroke. *Nature Reviews Neurology*. juillet 2012. Vol. 8, n° 7, pp. 401-410. DOI 10.1038/nrneurol.2012.98.
56. ZRZAVY, Tobias, MACHADO-SANTOS, Joana, CHRISTINE, Sheren et BAUMGARTNER, Christoph. Dominant role of microglial and macrophage innate immune responses in human ischemic infarcts: Inflammation in Ischemic Lesions. *Brain Pathology*. novembre 2018. Vol. 28, n° 6, pp. 791-805. DOI 10.1111/bpa.12583.
57. KAUFMANN, Anthony M., FIRLIK, Andrew D., FUKUI, Melanie B., WECHSLER, Lawrence R. et JUNGRIES, Charles A. Ischemic Core and Penumbra in Human Stroke. *Stroke*. janvier 1999. Vol. 30, n° 1, pp. 93-99. DOI 10.1161/01.STR.30.1.93.
58. DETANTE, O., JAILLARD, A., MOISAN, A. et BARBIEUX, M. Physiopathologie de l'ischémie cérébrale. *EMC - Neurologie*. juillet 2014. Vol. 11, n° 4, pp. 12. DOI 10.1016/S0246-0378(14)65721-3.
59. LIEBESKIND, David S. Collateral Circulation. *Stroke*. septembre 2003. Vol. 34, n° 9, pp. 2279-2284. DOI 10.1161/01.STR.0000086465.41263.06.
60. BAI, Jilin et LYDEN, Patrick D. Revisiting Cerebral Postischemic Reperfusion Injury: New Insights in Understanding Reperfusion Failure, Hemorrhage, and Edema. *International Journal of Stroke*. février 2015. Vol. 10, n° 2, pp. 143-152. DOI 10.1111/ij.12434.
61. FINGER, Stanley. Chapter 51 Recovery of function. In : *Handbook of Clinical Neurology* [en ligne]. Elsevier, 2009. pp. 833-841. [Consulté le 7 novembre 2020]. ISBN 978-0-444-52009-8. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0072975208021519>
62. BERLUCCHI, Giovanni. Brain plasticity and cognitive neurorehabilitation. *Neuropsychological Rehabilitation*. octobre 2011. Vol. 21, n° 5, pp. 560-578. DOI 10.1080/09602011.2011.573255.
63. CIRILLO, Carla, BRIHMAT, Nabila, CASTEL-LACANAL, Evelyne et LOUBINOX, Isabelle. Post-stroke remodeling processes in animal models and humans. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. janvier 2020. Vol. 40, n° 1, pp. 3-22. DOI 10.1177/0271678X19882788.
64. JONES, Theresa A. Motor compensation and its effects on neural reorganization after stroke. *Nature Reviews Neuroscience*. mai 2017. Vol. 18, n° 5, pp. 267-280. DOI 10.1038/nrn.2017.26.
65. ROLAND, Jarod L., SNYDER, Abraham Z., HACKER, Carl D., MITRA, Anish et SHIMONY, Joshua S. On the role of the corpus callosum in interhemispheric functional connectivity in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 12 décembre 2017. Vol. 114, n° 50, pp. 13278-13283. DOI 10.1073/pnas.1707050114.

66. ZAKRZEWSKI, Wojciech, DOBRZYŃSKI, Maciej, SZYMONOWICZ, Maria et RYBAK, Zbigniew. Stem cells: past, present, and future. *Stem Cell Research & Therapy*. décembre 2019. Vol. 10, n° 1, pp. 68. DOI 10.1186/s13287-019-1165-5.
67. NAKATOMI, Hirofumi, KURIU, Toshihiko, OKABE, Shigeo, YAMAMOTO, Shin-ichi et HATANNO, Osamu. Regeneration of Hippocampal Pyramidal Neurons after Ischemic Brain Injury by Recruitment of Endogenous Neural Progenitors. *Cell*. août 2002. Vol. 110, n° 4, pp. 429-441. DOI 10.1016/S0092-8674(02)00862-0.
68. JIN, K., WANG, X., XIE, L., MAO, X. O. et ZHU, W. Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 29 août 2006. Vol. 103, n° 35, pp. 13198-13202. DOI 10.1073/pnas.0603512103.
69. FISHER, Marc, FEUERSTEIN, Giora, HOWELLS, David W. et HURN, Patricia D. Update of the Stroke Therapy Academic Industry Roundtable Preclinical Recommendations. *Stroke*. juin 2009. Vol. 40, n° 6, pp. 2244-2250. DOI 10.1161/STROKEAHA.108.541128.
70. ERBAULT, Marie, SOLOMIAC, Agnès, FOUCHARD, Arnaud et MAY-MICHELANGELI, Laetitia. *Prise en charge initiale de l'accident vasculaire cérébral*. Campagne 2017. Haute Autorité de Santé, 2017. Haute Autorité de Santé.
71. KANAZAWA, Masato, TAKAHASHI, Tetsuya, NISHIZAWA, Masatoyo et SHIMOHATA, Takayoshi. Therapeutic Strategies to Attenuate Hemorrhagic Transformation After Tissue Plasminogen Activator Treatment for Acute Ischemic Stroke. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 2017. Vol. 24, n° 3, pp. 240-253. DOI 10.5551/jat.RV16006.
72. MONDOLONI, Pauline, GUENEAU, Pauline, BÉJOT, Yannick et FAGNONI, Philippe. Traitement de l'accident vasculaire cérébral. In : *Pharmacie Clinique et Thérapeutique* [en ligne]. Elsevier, 2018. pp. 735-751.e2. [Consulté le 29 octobre 2020]. ISBN 978-2-294-75077-9. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9782294750779000414>
73. CHOLLET, François. Médicaments antidépresseurs et récupération fonctionnelle après accident vasculaire cérébral. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*. janvier 2017. Vol. 201, n° 1-3, pp. 467-479. DOI 10.1016/S0001-4079(19)30508-4.
74. PARIENTE, Jérémie, LOUBINOX, Isabelle, CAREL, Christophe et ALBUCHER, Jean-François. Fluoxetine modulates motor performance and cerebral activation of patients recovering from stroke. *Annals of Neurology*. décembre 2001. Vol. 50, n° 6, pp. 718-729. DOI 10.1002/ana.1257.
75. CHOLLET, François, TARDY, Jean, ALBUCHER, Jean-François, THALAMAS, Claire et LOUBINOX, Isabelle. Fluoxetine for motor recovery after acute ischaemic stroke (FLAME): a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet Neurology*. février 2011. Vol. 10, n° 2, pp. 123-130. DOI 10.1016/S1474-4422(10)70314-8.
76. FISHER, Marc et FINKLESTEIN, Seth. Pharmacological Approaches to Stroke Recovery. *Cerebrovascular Diseases*. 1999. Vol. 9, n° Suppl. 5, pp. 29-32. DOI 10.1159/000047573.
77. AY, Hakan, AY, Ilknur, KOROSHETZ, Walter J. et FINKLESTEIN, Seth P. Potential Usefulness of Basic Fibroblast Growth Factor as a Treatment for Stroke. *Cerebrovascular Diseases*. 1999. Vol. 9, n° 3, pp. 131-135. DOI 10.1159/000015941.
78. LOTZE, Martin et COHEN, Leonardo G. Volition and Imagery in Neurorehabilitation. *Cognitive and Behavioral Neurology*. septembre 2006. Vol. 19, n° 3, pp. 135-140. DOI 10.1097/01.wnn.0000209875.56060.06.
79. WOIMANT, France. Place du kinésithérapeute dans la prise en charge précoce de l'AVC. *Kinésithérapie, la Revue*. juin 2012. Vol. 12, n° 126, pp. 1-2. DOI 10.1016/j.kine.2012.05.001.
80. TAUB, Edward, CRAGO, Jean E. et USWATTE, Gitendra. Constraint-induced movement therapy: A new approach to treatment in physical rehabilitation. *Rehabilitation Psychology*. 1998. Vol. 43, n° 2, pp. 152-170. DOI 10.1037/0090-5550.43.2.152.
81. MOSKOWITZ, Michael A., LO, Eng H. et IADECOLA, Costantino. The Science of Stroke: Mechanisms in Search of Treatments. *Neuron*. juillet 2010. Vol. 67, n° 2, pp. 181-198. DOI 10.1016/j.neuron.2010.07.002.

82. LIU, Xinfeng, YE, Ruidong, YAN, Tao, YU, Shan Ping et WEI, Ling. Cell based therapies for ischemic stroke: From basic science to bedside. *Progress in Neurobiology*. avril 2014. Vol. 115, pp. 92-115. DOI 10.1016/j.pneurobio.2013.11.007.
83. WU, Qing, WANG, Yuexiang, DEMAERSCHALK, Bart M, GHIMIRE, Saruna et WELLIK, Kay E. Bone marrow stromal cell therapy for ischemic stroke: A meta-analysis of randomized control animal trials. *International Journal of Stroke*. avril 2017. Vol. 12, n° 3, pp. 273-284. DOI 10.1177/1747493016676617.
84. KERN, Susanne, EICHLER, Hermann, STOEVE, Johannes, KLÜTER, Harald et BIEBACK, Karen. Comparative Analysis of Mesenchymal Stem Cells from Bone Marrow, Umbilical Cord Blood, or Adipose Tissue. *Stem Cells*. mai 2006. Vol. 24, n° 5, pp. 1294-1301. DOI 10.1634/stemcells.2005-0342.
85. MANGIN, Gabrielle et KUBIS, Nathalie. Cell Therapy for Ischemic Stroke: How to Turn a Promising Preclinical Research into a Successful Clinical Story. *Stem Cell Reviews and Reports*. avril 2019. Vol. 15, n° 2, pp. 176-193. DOI 10.1007/s12015-018-9864-3.
86. SIMONACCI, Francesco, BERTOZZI, Nicolò, GRIECO, Michele Pio et RAPOSIO, Edoardo. From liposuction to adipose-derived stem cells: indications and technique. *Acta Bio Medica Atenei Parmensis*. 23 mai 2019. Vol. 90, n° 2, pp. 197-208. DOI 10.23750/abm.v90i2.6619.
87. IKEGAME, Yuka, YAMASHITA, Kentaro, HAYASHI, Shin-Ichiro et MIZUNO, Hiroshi. Comparison of mesenchymal stem cells from adipose tissue and bone marrow for ischemic stroke therapy. *Cytotherapy*. juillet 2011. Vol. 13, n° 6, pp. 675-685. DOI 10.3109/14653249.2010.549122.
88. TATSUMI, Kohei, OHASHI, Kazuo, MATSUBARA, Yoshinori et KOHORI, Ayako. Tissue factor triggers procoagulation in transplanted mesenchymal stem cells leading to thromboembolism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. février 2013. Vol. 431, n° 2, pp. 203-209. DOI 10.1016/j.bbrc.2012.12.134.
89. KENMUIR, Cynthia L et WECHSLER, Lawrence R. Update on cell therapy for stroke. *Stroke and Vascular Neurology*. juin 2017. Vol. 2, n° 2, pp. 59-64. DOI 10.1136/svn-2017-000070.
90. TAKAHASHI, Kazutoshi et YAMANAKA, Shinya. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. août 2006. Vol. 126, n° 4, pp. 663-676. DOI 10.1016/j.cell.2006.07.024.
91. XIAO, Bin, NG, Huck Hui, TAKAHASHI, Ryosuke et TAN, Eng-King. Induced pluripotent stem cells in Parkinson's disease: scientific and clinical challenges. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. juillet 2016. Vol. 87, n° 7, pp. 697-702. DOI 10.1136/jnnp-2015-312036.
92. AMER, Mahetab H., ROSE, Felicity R. A. J., SHAKESHEFF, Kevin M., MODO, Michel et WHITE, Lisa J. Translational considerations in injectable cell-based therapeutics for neurological applications: concepts, progress and challenges. *npj Regenerative Medicine*. décembre 2017. Vol. 2, n° 1, pp. 23. DOI 10.1038/s41536-017-0028-x.
93. KOJIMA, Takuro, HIROTA, Yuki, EMA, Masatsugu et TAKAHASHI, Satoru. Subventricular Zone-Derived Neural Progenitor Cells Migrate Along a Blood Vessel Scaffold Toward the Post-Stroke Striatum. *STEM CELLS*. 2010. pp. N/A-N/A. DOI 10.1002/stem.306.
94. KONDZIOLKA, D., WECHSLER, L., GOLDSTEIN, S. et MELTZER, C. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology*. 22 août 2000. Vol. 55, n° 4, pp. 565-569. DOI 10.1212/WNL.55.4.565.
95. ISHIBASHI, Satoru, SAKAGUCHI, Masanori, KUROIWA, Toshihiko, YAMASAKI, Mami et KANEMURA, Yonehiro. Human neural stem/progenitor cells, expanded in long-term neurosphere culture, promote functional recovery after focal ischemia in Mongolian gerbils. *Journal of Neuroscience Research*. 15 octobre 2004. Vol. 78, n° 2, pp. 215-223. DOI 10.1002/jnr.20246.
96. FRICKER, Rosemary A., CARPENTER, Melissa K., WINKLER, Christian, GRECO, Corinne et GATES, Monte A. Site-Specific Migration and Neuronal Differentiation of Human Neural Progenitor Cells after Transplantation in the Adult Rat Brain. *The Journal of Neuroscience*. 15 juillet 1999. Vol. 19, n° 14, pp. 5990-6005. DOI 10.1523/JNEUROSCI.19-14-05990.1999.
97. RUIZ, María Esperanza et SCIOLI MONTOTO, Sebastián. Routes of Drug Administration. In : TALEVI, Alan et QUIROGA, Pablo A. M. (éd.), *ADME Processes in Pharmaceutical Sciences* [en ligne]. Cham : Springer

International Publishing, 2018. pp. 97-133. [Consulté le 18 septembre 2020]. ISBN 978-3-319-99592-2. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-99593-9_6

98. SUDA, Satoshi, NITO, Chikako, YOKOBORI, Shoji, SAKAMOTO, Yuki et NAKAJIMA, Masataka. Recent Advances in Cell-Based Therapies for Ischemic Stroke. *International Journal of Molecular Sciences*. 14 septembre 2020. Vol. 21, n° 18, pp. 6718. DOI 10.3390/ijms21186718.
99. BALLESTER, Belén Rubio, MAIER, Martina, DUFF, Armin, CAMEIRÃO, Mónica et BERMÚDEZ, Sergi. A critical time window for recovery extends beyond one-year post-stroke. *Journal of Neurophysiology*. 1 juillet 2019. Vol. 122, n° 1, pp. 350-357. DOI 10.1152/jn.00762.2018.
100. SAVITZ, Sean I., DINSMORE, Jonathan H., WECHSLER, Lawrence R., ROSENBAUM, Daniel M. et CAPLAN, Louis R. Cell therapy for stroke. *NeuroRX*. octobre 2004. Vol. 1, n° 4, pp. 406-414. DOI 10.1602/neurorx.1.4.406.
101. INGRAM, David A., MEAD, Laura E., MOORE, Daniel B. et WOODARD, Wayne. Vessel wall-derived endothelial cells rapidly proliferate because they contain a complete hierarchy of endothelial progenitor cells. *Blood*. 1 avril 2005. Vol. 105, n° 7, pp. 2783-2786. DOI 10.1182/blood-2004-08-3057.
102. SHI, Songtao et GRONTHOS, Stan. Perivascular Niche of Postnatal Mesenchymal Stem Cells in Human Bone Marrow and Dental Pulp. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1 avril 2003. Vol. 18, n° 4, pp. 696-704. DOI 10.1359/jbmr.2003.18.4.696.
103. NOSRAT, Irina V., SMITH, Christopher A., MULLALLY, Patrick et OLSON, Lars. Dental pulp cells provide neurotrophic support for dopaminergic neurons and differentiate into neurons in vitro; implications for tissue engineering and repair in the nervous system. *European Journal of Neuroscience*. mai 2004. Vol. 19, n° 9, pp. 2388-2398. DOI 10.1111/j.0953-816X.2004.03314.x.
104. ZHANG, Gui-Long, ZHU, Zhi-Han et WANG, Ye-Zhong. Neural stem cell transplantation therapy for brain ischemic stroke: Review and perspectives. *World Journal of Stem Cells*. 26 octobre 2019. Vol. 11, n° 10, pp. 817-830. DOI 10.4252/wjsc.v11.i10.817.
105. SAVITZ, Sean I., CRAMER, Steven C., WECHSLER, Lawrence et STEPS 3 CONSORTIUM: Stem Cells as an Emerging Paradigm in Stroke 3: Enhancing the Development of Clinical Trials. *Stroke*. février 2014. Vol. 45, n° 2, pp. 634-639. DOI 10.1161/STROKEAHA.113.003379.
106. RÉDA, Clémence, KAUFMANN, Emilie et DELAHAYE-DURIEZ, Andrée. Machine learning applications in drug development. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2020. Vol. 18, pp. 241-252. DOI 10.1016/j.csbj.2019.12.006.
107. THE STEPS PARTICIPANTS. Stem Cell Therapies as an Emerging Paradigm in Stroke (STEPS): Bridging basic and clinical science for cellular and neurogenic factor therapy in treating stroke. *Stroke*. février 2009. Vol. 40, n° 2, pp. 510-515. DOI 10.1161/STROKEAHA.108.526863.
108. SRIJAYA, Thekkeparambil Chandrabose, RAMASAMY, Thamil Selvee et KASIM, Noor Hayaty Abu. Advancing stem cell therapy from bench to bedside: lessons from drug therapies. *Journal of Translational Medicine*. décembre 2014. Vol. 12, n° 1, pp. 243. DOI 10.1186/s12967-014-0243-9.
109. STEINBERG, Gary K., KONDZIOLKA, Douglas, WECHSLER, Lawrence R. et LUNSFORD, L. Dade. Clinical Outcomes of Transplanted Modified Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Stroke: A Phase 1/2a Study. *Stroke*. juillet 2016. Vol. 47, n° 7, pp. 1817-1824. DOI 10.1161/STROKEAHA.116.012995.
110. HESS, David C, WECHSLER, Lawrence R, CLARK, Wayne M, SAVITZ, Sean I, FORD, Gary A et CHIU, David. Safety and efficacy of multipotent adult progenitor cells in acute ischaemic stroke (MASTERS): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet Neurology*. mai 2017. Vol. 16, n° 5, pp. 360-368. DOI 10.1016/S1474-4422(17)30046-7.
111. POWER, Michael L. et KOUTSOS, Liz. Marmoset Nutrition and Dietary Husbandry. In : *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* [en ligne]. Elsevier, 2019. pp. 63-76. [Consulté le 5 novembre 2020]. ISBN 978-0-12-811829-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128118290000042>

112. TARDIF, Suzette D., POWER, Michael L., ROSS, Corinna N. et RUTHERFORD, Julianne N. Body mass growth in common marmosets: Toward a model of pediatric obesity. *American Journal of Physical Anthropology*. janvier 2013. Vol. 150, n° 1, pp. 21-28. DOI 10.1002/ajpa.22110.
113. KORTE, Sven et EVERITT, Jeffrey. The Use of the Marmoset in Toxicity Testing and Nonclinical Safety Assessment Studies. In : *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* [en ligne]. Elsevier, 2019. pp. 493-513. [Consulté le 5 novembre 2020]. ISBN 978-0-12-811829-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128118290000273>
114. NEI, M. The Wilhelmine E. Key 2001 Invitational Lecture. Estimation of Divergence Times for a Few Mammalian and Several Primate Species. *Journal of Heredity*. 1 mai 2002. Vol. 93, n° 3, pp. 157-164. DOI 10.1093/jhered/93.3.157.
115. FUKUSHIMA, Makoto, ICHINOHE, Noritaka et OKANO, Hideyuki. Neuroanatomy of the Marmoset. In : *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* [en ligne]. Elsevier, 2019. pp. 43-62. [Consulté le 8 avril 2020]. ISBN 978-0-12-811829-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128118290000030>
116. WALKER, Jeff, MACLEAN, Jason et HATSOPOULOS, Nicholas G. The marmoset as a model system for studying voluntary motor control: Studying Motor Control with Marmosets. *Developmental Neurobiology*. mars 2017. Vol. 77, n° 3, pp. 273-285. DOI 10.1002/dneu.22461.
117. ELIADES, Steven J. et TSUNADA, Joji. Marmosets in Auditory Research. In : *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* [en ligne]. Elsevier, 2019. pp. 451-475. [Consulté le 5 novembre 2020]. ISBN 978-0-12-811829-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012811829000025X>
118. MITCHELL, Jude F. et LEOPOLD, David A. The Marmoset as a Model for Visual Neuroscience. In : *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* [en ligne]. Elsevier, 2019. pp. 377-413. [Consulté le 5 novembre 2020]. ISBN 978-0-12-811829-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128118290000224>
119. IWANAMI, A., YAMANE, J., KATOH, H., NAKAMURA, M. et MOMOSHIMA, S. Establishment of graded spinal cord injury model in a nonhuman primate: The common marmoset. *Journal of Neuroscience Research*. 15 avril 2005. Vol. 80, n° 2, pp. 172-181. DOI 10.1002/jnr.20435.
120. PHILIPPENS, Ingrid H.C.H.M. Marmosets in Neurologic Disease Research. In : *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* [en ligne]. Elsevier, 2019. pp. 415-435. [Consulté le 5 novembre 2020]. ISBN 978-0-12-811829-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128118290000236>
121. LAYNE-COLON, Donna, GOODROE, Anna et BURNS, Monika. Husbandry and Housing of Common Marmosets. In : *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* [en ligne]. Elsevier, 2019. pp. 77-91. [Consulté le 5 novembre 2020]. ISBN 978-0-12-811829-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128118290000054>
122. MARINI, Robert P., WACHTMAN, Lynn M., TARDIF, Suzette D., MANSFIELD, Keith et FOX, James G. *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research*. Academic Press, 2018. ISBN 978-0-12-811830-6. Google-Books-ID: tCt7DwAAQBAJ
123. BURMAN, Kathleen J., PALMER, Susan M., GAMBERINI, Michela et SPITZER, Matthew W. Anatomical and physiological definition of the motor cortex of the marmoset monkey. *The Journal of Comparative Neurology*. 10 février 2008. Vol. 506, n° 5, pp. 860-876. DOI 10.1002/cne.21580.
124. KONDO, Takahiro, YOSHIHARA, Yamato, YOSHINO-SAITO, Kimika et SEKIGUCHI, Tomofumi. Histological and electrophysiological analysis of the corticospinal pathway to forelimb motoneurons in common marmosets. *Neuroscience Research*. septembre 2015. Vol. 98, pp. 35-44. DOI 10.1016/j.neures.2015.05.001.
125. BOWMAN, Caitlyn E., RODRIGUEZ, Susana, SELEN ALPERGIN, Ebru S., ACOBA, Michelle G. et ZHAO, Liang. The Mammalian Malonyl-CoA Synthetase ACSF3 Is Required for Mitochondrial Protein Malonylation and Metabolic Efficiency. *Cell Chemical Biology*. juin 2017. Vol. 24, n° 6, pp. 673- 684.e4. DOI 10.1016/j.chembiol.2017.04.009.

126. WOJTOVICH, Andrew P., SMITH, C. Owen, HAYNES, Cole M., NEHRKE, Keith W. et BROOKES, Paul S. Physiological consequences of complex II inhibition for aging, disease, and the mKATP channel. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. mai 2013. Vol. 1827, n° 5, pp. 598-611. DOI 10.1016/j.bbabi.2012.12.007.
127. HENSHAW, Ross, JENKINS, Bruce G., SCHULZ, Jörg B. et FERRANTE, Robert J. Malonate produces striatal lesions by indirect NMDA receptor activation. *Brain Research*. mai 1994. Vol. 647, n° 1, pp. 161-166. DOI 10.1016/0006-8993(94)91412-5.
128. PAIN, F., BESRET, L., VAUFREY, F., GREGOIRE, M.-C. et PINOT, L. In vivo quantification of localized neuronal activation and inhibition in the rat brain using a dedicated high temporal-resolution α -sensitive microprobe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 6 août 2002. Vol. 99, n° 16, pp. 10807-10812. DOI 10.1073/pnas.162368899.
129. MARAGOS, William F. et SILVERSTEIN, Faye S. The mitochondrial inhibitor malonate enhances NMDA toxicity. *Developmental Brain Research*. août 1995. Vol. 88, n° 1, pp. 117-121. DOI 10.1016/0165-3806(95)00085-R.
130. KIMURA, T., HAUBER, J. et SINGER, T. P. Studies on succinate dehydrogenase. 13. Reversible activation of the mammalian enzyme. *The Journal of Biological Chemistry*. 10 novembre 1967. Vol. 242, n° 21, pp. 4987-4993.
131. MESSAM, Conrad A., GREENE, James G., GREENAMYRE, J. Timothy et ROBINSON, Michael B. Intra-striatal injections of the succinate dehydrogenase inhibitor, malonate, cause a rise in extracellular amino acids that is blocked by MK-801. *Brain Research*. juillet 1995. Vol. 684, n° 2, pp. 221-224. DOI 10.1016/0006-8993(95)00435-S.
132. GREENE, James G., PORTER, Richard H. P., ELLER, Robert V. et GREENAMYRE, J-Timothy. Inhibition of Succinate Dehydrogenase by Malonic Acid Produces an « Excitotoxic » Lesion in Rat Striatum. *Journal of Neurochemistry*. septembre 1993. Vol. 61, n° 3, pp. 1151-1154. DOI 10.1111/j.1471-4159.1993.tb03634.x.
133. BLANKE, Marie L. et VANDONGEN, Antonius M. J. Activation Mechanisms of the NMDA Receptor. In : VAN DONGEN, Antonius M. (éd.), *Biology of the NMDA Receptor* [en ligne]. Boca Raton (FL) : CRC Press/Taylor & Francis, 2009. Frontiers in Neuroscience. [Consulté le 6 septembre 2020]. ISBN 978-1-4200-4414-0. Disponible à l'adresse : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5274/NBK5274>
134. CUTHILL, Daniel J., FOWLER, Jill H., MCCULLOCH, James et DEWAR, Deborah. Different patterns of axonal damage after intracerebral injection of malonate or AMPA. *Experimental Neurology*. août 2006. Vol. 200, n° 2, pp. 509-520. DOI 10.1016/j.expneurol.2006.03.021.
135. FERNANDEZ-GOMEZ, Francisco J, GALINDO, Maria F, GÓMEZ-LÁZARO, Maria et YUSTE, Victor J. Malonate induces cell death via mitochondrial potential collapse and delayed swelling through an ROS-dependent pathway. *British Journal of Pharmacology*. février 2005. Vol. 144, n° 4, pp. 528-537. DOI 10.1038/sj.bjp.0706069.
136. GREENE, James G. et GREENAMYRE, J. Timothy. Exacerbation of NMDA, AMPA, and I-Glutamate Excitotoxicity by the Succinate Dehydrogenase Inhibitor Malonate. *Journal of Neurochemistry*. 23 novembre 2002. Vol. 64, n° 5, pp. 2332-2338. DOI 10.1046/j.1471-4159.1995.64052332.x.
137. REWELL, Sarah S. J., CHURILOV, Leonid, SIDON, T. Kate et ALEKSOSKA, Elena. Evolution of ischemic damage and behavioural deficit over 6 months after MCAo in the rat: Selecting the optimal outcomes and statistical power for multi-centre preclinical trials. *PLOS ONE*. 9 février 2017. Vol. 12, n° 2, pp. e0171688. DOI 10.1371/journal.pone.0171688.
138. LIU, Fudong et MCCULLOUGH, Louise D. Middle Cerebral Artery Occlusion Model in Rodents: Methods and Potential Pitfalls. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011. Vol. 2011, pp. 1-9. DOI 10.1155/2011/464701.
139. BEAL, M. Flint, BROUILLET, Emmanuel, JENKINS, Bruce et HENSHAW, Ross. Age-Dependent Striatal Excitotoxic Lesions Produced by the Endogenous Mitochondrial Inhibitor Malonate. *Journal of Neurochemistry*. septembre 1993. Vol. 61, n° 3, pp. 1147-1150. DOI 10.1111/j.1471-4159.1993.tb03633.x.
140. GREENE, J et GREENAMYRE, J. Bioenergetics and glutamate excitotoxicity. *Progress in Neurobiology*. avril 1996. Vol. 48, n° 6, pp. 613-634. DOI 10.1016/0301-0082(96)00006-8.

141. LORENC-KOCI, Elżbieta, GOŁEMBIOWSKA, Krystyna et WARDAS, Jadwiga. 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline protects terminals of dopaminergic neurons in the striatum against the malonate-induced neurotoxicity. *Brain Research*. juillet 2005. Vol. 1051, n° 1-2, pp. 145-154. DOI 10.1016/j.brainres.2005.06.007.
142. VAYSSE, Laurence, CONCHOU, Fabrice, DEMAÏN, Boris, DAVOUST, Carole et LOUBINOUX, Isabelle. Strength and fine dexterity recovery profiles after a primary motor cortex insult and effect of a neuronal cell graft. *Behavioral Neuroscience*. 2015. Vol. 129, n° 4, pp. 423-434. DOI 10.1037/bne0000067.
143. LE FRIEC, Alice, DESMOULIN, Franck, DEMAÏN, Boris, DAVOUST, Carole, ROBERT, Lorenne, CIRILLO, Carla et LOUBINOUX, Isabelle. A Reproducible New Model of Focal Ischemic Injury in the Marmoset Monkey: MRI and Behavioural Follow-Up. *Translational Stroke Research* [en ligne]. 6 avril 2020. [Consulté le 20 août 2020]. DOI 10.1007/s12975-020-00804-1. Disponible à l'adresse : <http://link.springer.com/10.1007/s12975-020-00804-1>
144. CIRILLO, Carla, LE FRIEC, Alice, FRISACH, Isabelle et LOUBINOUX, Isabelle. Focal Malonate Injection Into the Internal Capsule of Rats as a Model of Lacunar Stroke. *Frontiers in Neurology*. 11 décembre 2018. Vol. 9, pp. 1072. DOI 10.3389/fneur.2018.01072.
145. INRS. L'imagerie par résonance magnétique. *Institut National de la Recherche et de Sécurité*. novembre 2014. pp. 4.
146. HJORT, N., BUTCHER, K., DAVIS, S.M. et KIDWELL, C.S. Magnetic Resonance Imaging Criteria for Thrombolysis in Acute Cerebral Infarct. *Stroke*. février 2005. Vol. 36, n° 2, pp. 388-397. DOI 10.1161/01.STR.0000152268.47919.be.
147. LECLERC, Xavier. Rapport: Place de l'imagerie dans la prise en charge de l'AVC. *Haute Autorité de santé*. octobre 2014.
148. MAHONEY, F. I. et BARTHEL, D. W. Functional evaluation: the Barthel Index. *Maryland State Medical Journal*. février 1965. Vol. 14, pp. 61-65.
149. HANTSON, L, DE WEERDT, W, DE KEYSER, J, DIENER, H C et FRANKE, C. The European Stroke Scale. *Stroke*. novembre 1994. Vol. 25, n° 11, pp. 2215-2219. DOI 10.1161/01.STR.25.11.2215.
150. FRERET, Thomas, BOUET, Valentine, LECONTE, Claire et ROUSSEL, Simon. Behavioral deficits after distal focal cerebral ischemia in mice: Usefulness of adhesive removal test. *Behavioral Neuroscience*. 2009. Vol. 123, n° 1, pp. 224-230. DOI 10.1037/a0014157.
151. LE GAL, Rozenn, BERNAUDIN, Myriam, TOUTAIN, Jérôme et TOUZANI, Omar. Assessment of behavioural deficits following ischaemic stroke in the marmoset. *Behavioural Brain Research*. octobre 2018. Vol. 352, pp. 151-160. DOI 10.1016/j.bbr.2017.07.042.
152. SCHALLERT, T., UPCHURCH, M., LOBAUGH, N., FARRAR, S.B. et SPIRDUSO, W.W. Tactile extinction: Distinguishing between sensorimotor and motor asymmetries in rats with unilateral nigrostriatal damage. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. mars 1982. Vol. 16, n° 3, pp. 455-462. DOI 10.1016/0091-3057(82)90452-X.
153. ANNETT, L. E., ROGERS, D. C., HERNANDEZ, T. D. et DUNNETT, S. B. Behavioural analysis of unilateral monoamine depletion in the marmoset. *Brain*. 1992. Vol. 115, n° 3, pp. 825-856. DOI 10.1093/brain/115.3.825.
154. FRERET, Thomas, BOUET, Valentine, TOUTAIN, Jérôme et SAULNIER, Romaric. Intraluminal Thread Model of Focal Stroke in the Non-Human Primate. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. avril 2008. Vol. 28, n° 4, pp. 786-796. DOI 10.1038/sj.jcbfm.9600575.
155. HEILMAN, Kenneth M., VALENSTEIN, Edward et WATSON, Robert T. Neglect and Related Disorders. *Seminars in Neurology*. 2000. Vol. 20, n° 04, pp. 463-470. DOI 10.1055/s-2000-13179.
156. LAPLANE, D et DEGOS, J D. Motor neglect. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1 février 1983. Vol. 46, n° 2, pp. 152-158. DOI 10.1136/jnnp.46.2.152.
157. VIRLEY, David, HADINGHAM, Sarah J., ROBERTS, Jenny C. et FARNFIELD, Belinda. A New Primate Model of Focal Stroke: Endothelin-1—Induced Middle Cerebral Artery Occlusion and Reperfusion in the Common Marmoset. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. janvier 2004. Vol. 24, n° 1, pp. 24-41. DOI 10.1097/01.WCB.0000095801.98378.4A.

158. CHOUDHURY, Gourav R. et DAADI, Marcel M. Charting the onset of Parkinson-like motor and non-motor symptoms in nonhuman primate model of Parkinson's disease. LEE, Joohyung (éd.), *PLOS ONE*. 23 août 2018. Vol. 13, n° 8, pp. e0202770. DOI 10.1371/journal.pone.0202770.
159. MCENTIRE, Caleb R.S., CHOUDHURY, Gourav R., TORRES, April, STEINBERG, Gary K., REDMOND, D. Eugene et DAADI, Marcel M. Impaired Arm Function and Finger Dexterity in a Nonhuman Primate Model of Stroke: Motor and Cognitive Assessments. *Stroke*. avril 2016. Vol. 47, n° 4, pp. 1109-1116. DOI 10.1161/STROKEAHA.115.012506.
160. TAYLOR, J. R., ELSWORTH, J. D., ROTH, R. H., SLADEK, J. R. et REDMOND, D. E. Cognitive and motor deficits in the acquisition of an object retrieval/detour task in MPTP-treated monkey. *Brain*. 1990. Vol. 113, n° 3, pp. 617-637. DOI 10.1093/brain/113.3.617.
161. MARSHALL, J. W. B. et RIDLEY, R. M. Assessment of Cognitive and Motor Deficits in a Marmoset Model of Stroke. *ILAR Journal*. 1 janvier 2003. Vol. 44, n° 2, pp. 153-160. DOI 10.1093/ilar.44.2.153.
162. BAYLISS, W. M. et STARLING, E. H. The movements and innervation of the small intestine. *The Journal of Physiology*. 11 mai 1899. Vol. 24, n° 2, pp. 99-143. DOI 10.1113/jphysiol.1899.sp000752.
163. NEUNLIST, Michel et ROLLI-DERKINDEREN, Malvyne. Le système nerveux entérique et l'unité neuro-glio-épithéliale digestive. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*. 2013. N° 1-4, pp. 7. DOI 10.4267/2042/49219.
164. GERSHON, Michael D. The Enteric Nervous System: A Second Brain. *Hospital Practice*. 15 juillet 1999. Vol. 34, n° 7, pp. 31-52. DOI 10.3810/hp.1999.07.153.
165. HEANUE, Tiffany A. et PACHNIS, Vassilis. Enteric nervous system development and Hirschsprung's disease: advances in genetic and stem cell studies. *Nature Reviews Neuroscience*. juin 2007. Vol. 8, n° 6, pp. 466-479. DOI 10.1038/nrn2137.
166. RAO, Meenakshi et GERSHON, Michael D. Enteric nervous system development: what could possibly go wrong? *Nature Reviews Neuroscience*. septembre 2018. Vol. 19, n° 9, pp. 552-565. DOI 10.1038/s41583-018-0041-0.
167. FURNESS, John Barton. *The enteric nervous system*. Malden, Mass : Blackwell Pub, 2006. ISBN 978-1-4051-3376-0. RC817 .F87 2006
168. LARANJEIRA, Cátia et PACHNIS, Vassilis. Enteric nervous system development: Recent progress and future challenges. *Autonomic Neuroscience*. novembre 2009. Vol. 151, n° 1, pp. 61-69. DOI 10.1016/j.autneu.2009.09.001.
169. KULKARNI, Subhash, GANZ, Julia, BAYRER, James, BECKER, Laren, BOGUNOVIC, Milena et RAO, Meenakshi. Advances in Enteric Neurobiology: The "Brain" in the Gut in Health and Disease. *The Journal of Neuroscience*. 31 octobre 2018. Vol. 38, n° 44, pp. 9346-9354. DOI 10.1523/JNEUROSCI.1663-18.2018.
170. GRUBIŠIĆ, Vladimir et GULBRANSEN, Brian D. Enteric glia: the most alimentary of all glia: Enteric glia. *The Journal of Physiology*. 15 janvier 2017. Vol. 595, n° 2, pp. 557-570. DOI 10.1113/JP271021.
171. FURNESS, John Barton. *The enteric nervous system*. Malden, Mass : Wiley-Blackwell Pub, 2006. ISBN 978-1-4051-3376-0. RC817 .F87 2006
172. DOUARIN, Nicole Le, DULAC, Catherine, DUPIN, Elisabeth et CAMERON-CURRY, Patrizia. Glial cell lineages in the neural crest. *Glia*. 1991. Vol. 4, n° 2, pp. 175-184. DOI 10.1002/glia.440040209.
173. UESAKA, Toshihiro, YOUNG, Heather M., PACHNIS, Vassilis et ENOMOTO, Hideki. Development of the intrinsic and extrinsic innervation of the gut. *Developmental Biology*. septembre 2016. Vol. 417, n° 2, pp. 158-167. DOI 10.1016/j.ydbio.2016.04.016.
174. NATARAJAN, Dipa, MARCOS-GUTIERREZ, Camelia, PACHNIS, Vassilis et DE GRAAFF, Esther. Requirement of signalling by receptor tyrosine kinase RET for the directed migration of enteric nervous system progenitor cells during mammalian embryogenesis. *Development (Cambridge, England)*. novembre 2002. Vol. 129, n° 22, pp. 5151-5160.

175. YOUNG, H. M. et NEWGREEN, D. Enteric neural crest-derived cells: origin, identification, migration, and differentiation. *The Anatomical Record*. 01 2001. Vol. 262, n° 1, pp. 1-15. DOI 10.1002/1097-0185(20010101)262:1<1::AID-AR1006>3.0.CO;2-2.
176. CHALAZONITIS, Alcène. Neurotrophin-3 in the development of the enteric nervous system. In : *Progress in Brain Research* [en ligne]. Elsevier, 2004. pp. 243-263. [Consulté le 7 octobre 2020]. ISBN 978-0-444-51472-1. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0079612303460160>
177. COELHO-AGUIAR, Juliana de Mattos, BON-FRAUCHES, Ana Carina, GOMES, Ana Lúcia Tavares, VERÍSSIMO, Carla Pires et AGUIAR, Diego Pinheiro. The Enteric Glia: Identity and Functions: The Enteric Glia. *Glia*. juin 2015. Vol. 63, n° 6, pp. 921-935. DOI 10.1002/glia.22795.
178. BARLOW, Amanda, DE GRAAFF, Esther et PACHNIS, Vassilis. Enteric Nervous System Progenitors Are Coordinately Controlled by the G Protein-Coupled Receptor EDNRB and the Receptor Tyrosine Kinase RET. *Neuron*. décembre 2003. Vol. 40, n° 5, pp. 905-916. DOI 10.1016/S0896-6273(03)00730-X.
179. TARAVIRAS, S., MARCOS-GUTIERREZ, C. V., DURBEC, P., JANI, H. et PACHNIS, Vassilis. Signalling by the RET receptor tyrosine kinase and its role in the development of the mammalian enteric nervous system. *Development (Cambridge, England)*. juin 1999. Vol. 126, n° 12, pp. 2785-2797.
180. KIM, Jaesang, LO, Liching, DORMAND, Emma et ANDERSON, David J. SOX10 Maintains Multipotency and Inhibits Neuronal Differentiation of Neural Crest Stem Cells. *Neuron*. avril 2003. Vol. 38, n° 1, pp. 17-31. DOI 10.1016/S0896-6273(03)00163-6.
181. WALSH, Kathleen T. et ZEMPER, Anne E. The Enteric Nervous System for Epithelial Researchers: Basic Anatomy, Techniques, and Interactions With the Epithelium. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 2019. Vol. 8, n° 3, pp. 369-378. DOI 10.1016/j.jcmgh.2019.05.003.
182. UESAKA, T., NAGASHIMADA, M. et ENOMOTO, H. GDNF Signaling Levels Control Migration and Neuronal Differentiation of Enteric Ganglion Precursors. *Journal of Neuroscience*. 9 octobre 2013. Vol. 33, n° 41, pp. 16372-16382. DOI 10.1523/JNEUROSCI.2079-13.2013.
183. GABELLA, G. Ultrastructure of the nerve plexuses of the mammalian intestine: The enteric glial cells. *Neuroscience*. mars 1981. Vol. 6, n° 3, pp. 425-436. DOI 10.1016/0306-4522(81)90135-4.
184. GABELLA, G. Fine structure of the myenteric plexus in the guinea-pig ileum. *Journal of Anatomy*. janvier 1972. Vol. 111, n° Pt 1, pp. 69-97.
185. RUHL, Anne. Glial cells in the gut. *Neurogastroenterology and Motility*. décembre 2005. Vol. 17, n° 6, pp. 777-790. DOI 10.1111/j.1365-2982.2005.00687.x.
186. KOMURO, T., BALUK, P. et BURNSTOCK, G. An ultrastructural study of neurons and non-neuronal cells in the myenteric plexus of the rabbit colon. *Neuroscience*. juillet 1982. Vol. 7, n° 7, pp. 1797-1806. DOI 10.1016/0306-4522(82)90037-9.
187. GULBRANSEN, Brian D. et SHARKEY, Keith A. Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. novembre 2012. Vol. 9, n° 11, pp. 625-632. DOI 10.1038/nrgastro.2012.138.
188. RAO, Meenakshi, NELMS, Bradlee D., DONG, Lauren, SALINAS-RIOS, Viviana et GERSHON, Michael D. Enteric Glia express proteolipid protein 1 and are a transcriptionally unique population of glia in the mammalian nervous system. *Glia*. novembre 2015. Vol. 63, n° 11, pp. 2040-2057. DOI 10.1002/glia.22876.
189. BOESMANS, Werend, LASRADO, Reena, VANDEN BERGHE, Pieter et PACHNIS, Vassilis. Heterogeneity and phenotypic plasticity of glial cells in the mammalian enteric nervous system: Enteric Glial Cell Heterogeneity. *Glia*. février 2015. Vol. 63, n° 2, pp. 229-241. DOI 10.1002/glia.22746.
190. HANANI, Menachem et REICHENBACH, Andreas. Morphology of horseradish peroxidase (HRP)-injected glial cells in the myenteric plexus of the guinea-pig. *Cell and Tissue Research*. octobre 1994. Vol. 278, n° 1, pp. 153-160. DOI 10.1007/BF00305787.

191. BOESMANS, W., CIRILLO, C., VAN DEN ABBEEL, V. et VAN DEN HAUTE, C. Neurotransmitters involved in fast excitatory neurotransmission directly activate enteric glial cells: Neurotransmitters directly activate enteric glia. *Neurogastroenterology & Motility*. février 2013. Vol. 25, n° 2, pp. e151-e160. DOI 10.1111/nmo.12065.
192. SAVIDGE, Tor C., NEWMAN, Paul, POTHOUKAKIS, Charalabos, RUHL, Anne et NEUNLIST, Michel. Enteric Glia Regulate Intestinal Barrier Function and Inflammation Via Release of S-Nitrosoglutathione. *Gastroenterology*. avril 2007. Vol. 132, n° 4, pp. 1344-1358. DOI 10.1053/j.gastro.2007.01.051.
193. ABBOTT, N. Joan, RÖNNBÄCK, Lars et HANSSON, Elisabeth. Astrocyte–endothelial interactions at the blood–brain barrier. *Nature Reviews Neuroscience*. janvier 2006. Vol. 7, n° 1, pp. 41-53. DOI 10.1038/nrn1824.
194. HAO, Marlene M., CAPOCCIA, Elena, CIRILLO, Carla, BOESMANS, Werend et VANDEN BERGHE, Pieter. Arundic Acid Prevents Developmental Upregulation of S100B Expression and Inhibits Enteric Glial Development. *Frontiers in Cellular Neuroscience* [en ligne]. 23 février 2017. Vol. 11. [Consulté le 8 octobre 2020]. DOI 10.3389/fncel.2017.00042. Disponible à l'adresse : <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2017.00042/full>
195. JESSEN, Kristjan R. et MIRSKY, Rhona. Glial cells in the enteric nervous system contain glial fibrillary acidic protein. *Nature*. août 1980. Vol. 286, n° 5774, pp. 736-737. DOI 10.1038/286736a0.
196. FERRI, Gian-Luca, PROBERT, Lesley, COCCHIA, Domenico, MICHETTI, Fabrizio et MARANGOS, Paul J. Evidence for the presence of S-100 protein in the glial component of the human enteric nervous system. *Nature*. juin 1982. Vol. 297, n° 5865, pp. 409-410. DOI 10.1038/297409a0.
197. VON BOYEN, G B T. Proinflammatory cytokines increase glial fibrillary acidic protein expression in enteric glia. *Gut*. 1 février 2004. Vol. 53, n° 2, pp. 222-228. DOI 10.1136/gut.2003.012625.
198. CIRILLO, C., SARNELLI, G., TURCO, F., MANGO, A. et GROSSO, M. Proinflammatory stimuli activates human-derived enteroglia cells and induces autocrine nitric oxide production: Enteric glial cells activation and proliferation. *Neurogastroenterology & Motility*. septembre 2011. Vol. 23, n° 9, pp. e372-e382. DOI 10.1111/j.1365-2982.2011.01748.x.
199. HOFF, Sebastian, ZELLER, Florian, VON WEYHERN, Claus Werner Hann, WEGNER, Michael et SCHEMANN, Michael. Quantitative assessment of glial cells in the human and guinea pig enteric nervous system with an anti-Sox8/9/10 antibody. *The Journal of Comparative Neurology*. 1 août 2008. Vol. 509, n° 4, pp. 356-371. DOI 10.1002/cne.21769.
200. YOUNG, Heather M., BERGNER, Annette J. et MÜLLER, Thomas. Acquisition of neuronal and glial markers by neural crest-derived cells in the mouse intestine: Mouse Enteric Neuron and Glia Development. *Journal of Comparative Neurology*. 27 janvier 2003. Vol. 456, n° 1, pp. 1-11. DOI 10.1002/cne.10448.
201. KUHLBRODT, Kirsten, HERBARTH, Beate, SOCK, Elisabeth, HERMANS-BORGMEYER, Irm et WEGNER, Michael. Sox10, a Novel Transcriptional Modulator in Glial Cells. *The Journal of Neuroscience*. 1 janvier 1998. Vol. 18, n° 1, pp. 237-250. DOI 10.1523/JNEUROSCI.18-01-00237.1998.
202. VANDERVER, Adeline et WOLF, Nicole I. Genetic and Metabolic Disorders of the White Matter. In : *Swaiman's Pediatric Neurology* [en ligne]. Elsevier, 2017. pp. 747-758. [Consulté le 15 septembre 2020]. ISBN 978-0-323-37101-8. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323371018000990>
203. VIVES, Virginie, ALONSO, Gérard, SOLAL, Anne Cohen, JOUBERT, Dominique et LEGRAVEREND, Catherine. Visualization of S100B-positive neurons and glia in the central nervous system of EGFP transgenic mice. *The Journal of Comparative Neurology*. 17 mars 2003. Vol. 457, n° 4, pp. 404-419. DOI 10.1002/cne.10552.
204. ANNAHAZI, Anita et SCHEMANN, Michael. The enteric nervous system: "A little brain in the gut". *Neuroforum*. 25 février 2020. Vol. 26, n° 1, pp. 31-42. DOI 10.1515/nf-2019-0027.
205. MICCI, Maria–Adelaide, KAHRIG, Kristen M., SIMMONS, Rochelle S. et SARNA, Sushil K. Neural Stem Cell Transplantation in the Stomach Rescues Gastric Function in Neuronal Nitric Oxide Synthase–Deficient Mice. *Gastroenterology*. décembre 2005. Vol. 129, n° 6, pp. 1817-1824. DOI 10.1053/j.gastro.2005.08.055.
206. TACK, Jan. Neurophysiologic Mechanisms of Gastric Reservoir Function. In : *Physiology of the Gastrointestinal Tract* [en ligne]. Elsevier, 2012. pp. 951-957. [Consulté le 4 octobre 2020]. ISBN 978-0-12-382026-6. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123820266000348>

207. BELKIND-GERSON, Jaime, HOTTA, Ryo, WHALEN, Michael, NAYYAR, Naema et NAGY, Nandor. Engraftment of enteric neural progenitor cells into the injured adult brain. *BMC Neuroscience*. décembre 2016. Vol. 17, n° 1, pp. 5. DOI 10.1186/s12868-016-0238-y.
208. JESSEN, Kristjan R. Glial cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. octobre 2004. Vol. 36, n° 10, pp. 1861-1867. DOI 10.1016/j.biocel.2004.02.023.
209. BUSH, Toby G, SAVIDGE, Tor C, FREEMAN, Tom C et COX, Hilary J. Fulminant Jejuno-Ileitis following Ablation of Enteric Glia in Adult Transgenic Mice. *Cell*. avril 1998. Vol. 93, n° 2, pp. 189-201. DOI 10.1016/S0092-8674(00)81571-8.
210. JOSEPH, Nancy M., HE, Shenghui, QUINTANA, Elsa, KIM, Yun-Gi, NÚÑEZ, Gabriel et MORRISON, Sean J. Enteric glia are multipotent in culture but primarily form glia in the adult rodent gut. *Journal of Clinical Investigation*. 1 septembre 2011. Vol. 121, n° 9, pp. 3398-3411. DOI 10.1172/JCI58186.
211. WU, Guoyao, FANG, Yun-Zhong, YANG, Sheng, LUPTON, Joanne R. et TURNER, Nancy D. Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *The Journal of Nutrition*. 1 mars 2004. Vol. 134, n° 3, pp. 489-492. DOI 10.1093/jn/134.3.489.
212. ABDO, Hind, MAHÉ, Maxime M., DERKINDEREN, Pascal, BACH-NGOHOU, Kalyane, NEUNLIST, Michel et LARDEUX, Bernard. The omega-6 fatty acid derivative 15-deoxy- Δ 12,14-prostaglandin J2 is involved in neuroprotection by enteric glial cells against oxidative stress: 15d-PGJ2 and neuroprotection by enteric glial cells. *The Journal of Physiology*. 1 juin 2012. Vol. 590, n° 11, pp. 2739-2750. DOI 10.1113/jphysiol.2011.222935.
213. FLETCHER, Erica, CLARK, Melanie et FURNESS, John. Neuronal and glial localization of GABA transporter immunoreactivity in the myenteric plexus. *Cell and Tissue Research*. 1 juin 2002. Vol. 308, n° 3, pp. 339-346. DOI 10.1007/s00441-002-0566-3.
214. NAGAHAMA, Masato, SEMBA, Reiji, TSUZUKI, Masako et AOKI, Eiko. Arginine Immunoreactive Enteric Glial Cells in the Enteric Nervous System of Rat Ileum. *Neurosignals*. 2001. Vol. 10, n° 5, pp. 336-340. DOI 10.1159/000046901.
215. PORTER, James T et MCCARTHY, Ken D. Astrocytic neurotransmitter receptors in situ and in vivo. *Progress in Neurobiology*. mars 1997. Vol. 51, n° 4, pp. 439-455. DOI 10.1016/S0301-0082(96)00068-8.
216. WALZ, Wolfgang. Chloride/anion channels in glial cell membranes. *Glia*. octobre 2002. Vol. 40, n° 1, pp. 1-10. DOI 10.1002/glia.10125.
217. KERMARREC, Laetitia, DURAND, Tony, NEUNLIST, Michel, NAVEILHAN, Philippe et NEVEU, Isabelle. Enteric glial cells have specific immunosuppressive properties. *Journal of Neuroimmunology*. juin 2016. Vol. 295-296, pp. 79-83. DOI 10.1016/j.jneuroim.2016.04.011.
218. YAMANE, Hiromichi, ISOZAKI, Hideko, TAKEYAMA, Masami, OCHI, Nobuaki et KUDO, Kenichiro. Programmed cell death protein 1 and programmed death-ligand 1 are expressed on the surface of some small-cell lung cancer lines. *American Journal of Cancer Research*. 2015. Vol. 5, n° 4, pp. 1553-1557.
219. PITTET, Camille L., NEWCOMBE, Jia, ANTEL, Jack P. et ARBOUR, Nathalie. The majority of infiltrating CD8 T lymphocytes in multiple sclerosis lesions is insensitive to enhanced PD-L1 levels on CNS cells. *Glia*. mai 2011. Vol. 59, n° 5, pp. 841-856. DOI 10.1002/glia.21158.
220. FREEMAN, G. J., LONG, A. J., IWAI, Y. et BOURQUE, K. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *The Journal of Experimental Medicine*. 2 octobre 2000. Vol. 192, n° 7, pp. 1027-1034. DOI 10.1084/jem.192.7.1027.
221. MURAKAMI, Matsuka, OHTA, Toshio et ITO, Shigeo. Lipopolysaccharides enhance the action of bradykinin in enteric neurons via secretion of interleukin-1 β from enteric glial cells. *Journal of Neuroscience Research*. juillet 2009. Vol. 87, n° 9, pp. 2095-2104. DOI 10.1002/jnr.22036.
222. HUTTUNEN, Henri J., KUJA-PANULA, Juha, SORCI, Guglielmo, AGNELETTI, Anna Lisa, DONATO, Rosario et RAUVALA, Heikki. Coregulation of Neurite Outgrowth and Cell Survival by Amphotericin and S100 Proteins through Receptor for Advanced Glycation End Products (RAGE) Activation. *Journal of Biological Chemistry*. 22 décembre 2000. Vol. 275, n° 51, pp. 40096-40105. DOI 10.1074/jbc.M006993200.

223. LIEDTKE, Wolfgang, EDELMANN, Winfried, BIERI, Phyllis L., CHIU, Fung-Chow et COWAN, Nicholas J. GFAP Is Necessary for the Integrity of CNS White Matter Architecture and Long-Term Maintenance of Myelination. *Neuron*. octobre 1996. Vol. 17, n° 4, pp. 607-615. DOI 10.1016/S0896-6273(00)80194-4.
224. MCCALLUM, Sarah, OBATA, Yuuki, FOURLI, Evangelia et BOEING, Stefan. Enteric glia as a source of neural progenitors in adult zebrafish. *Neuroscience* [en ligne]. 15 février 2020. [Consulté le 25 août 2020]. DOI 10.1101/2020.02.14.949859. Disponible à l'adresse : <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.02.14.949859>
225. JESSEN, Kristjan R., MIRSKY, Rhona et ARTHUR-FARRAJ, Peter. The Role of Cell Plasticity in Tissue Repair: Adaptive Cellular Reprogramming. *Developmental Cell*. septembre 2015. Vol. 34, n° 6, pp. 613-620. DOI 10.1016/j.devcel.2015.09.005.
226. BELKIND-GERSON, Jaime, GRAHAM, Hannah K., REYNOLDS, Justin, HOTTA, Ryo et NAGY, Nandor. Colitis promotes neuronal differentiation of Sox2+ and PLP1+ enteric cells. *Scientific Reports*. décembre 2017. Vol. 7, n° 1, pp. 2525. DOI 10.1038/s41598-017-02890-y.
227. LIU, M.-T., KUAN, Y.-H., WANG, J., HEN, R. et GERSHON, M. D. 5-HT4 Receptor-Mediated Neuroprotection and Neurogenesis in the Enteric Nervous System of Adult Mice. *Journal of Neuroscience*. 5 août 2009. Vol. 29, n° 31, pp. 9683-9699. DOI 10.1523/JNEUROSCI.1145-09.2009.
228. GERSHON, Michael D. Behind an enteric neuron there may lie a glial cell. *Journal of Clinical Investigation*. 1 septembre 2011. Vol. 121, n° 9, pp. 3386-3389. DOI 10.1172/JCI59573.
229. DEVILLE, Françoise Sextier-Sainte-Claire, ZILLER, Catherine et LE DOUARIN, Nicole M. Developmental Potentials of Enteric Neural Crest-Derived Cells in Clonal and Mass Cultures. *Developmental Biology*. mai 1994. Vol. 163, n° 1, pp. 141-151. DOI 10.1006/dbio.1994.1130.
230. KOVACS, Gabor G. et BUDKA, Herbert. Prion Diseases: From Protein to Cell Pathology. *The American Journal of Pathology*. mars 2008. Vol. 172, n° 3, pp. 555-565. DOI 10.2353/ajpath.2008.070442.
231. VICTORIA, Guiliana Soraya, ARKHIPENKO, Alexander, ZHU, Seng et SYAN, Sylvie. Astrocyte-to-neuron intercellular prion transfer is mediated by cell-cell contact. *Scientific Reports*. août 2016. Vol. 6, n° 1, pp. 20762. DOI 10.1038/srep20762.
232. ALBANESE, Valeria, LAWSON, Victoria A., HILL, Andrew F. et CAPPAL, Roberto. Evidence for prion protein expression in enteroglial cells of the myenteric plexus of mouse intestine. *Autonomic Neuroscience*. juin 2008. Vol. 140, n° 1-2, pp. 17-23. DOI 10.1016/j.autneu.2008.01.008.
233. KUJALA, Pekka, RAYMOND, Claudine R., ROMEIJN, Martijn, GODSAVE, Susan F. et VAN KASTEREN, Sander I. Prion Uptake in the Gut: Identification of the First Uptake and Replication Sites. *PLoS Pathogens*. 22 décembre 2011. Vol. 7, n° 12, pp. e1002449. DOI 10.1371/journal.ppat.1002449.
234. LAWSON, Victoria A, FURNESS, John B, KLEMM, Helen M, PONTELL, Louise et CHAN, Ewan. The brain to gut pathway: a possible route of prion transmission. *Gut*. décembre 2010. Vol. 59, n° 12, pp. 1643-1651. DOI 10.1136/gut.2010.222620.
235. LÉBOUVIER, Thibaud, TASSELLI, Maddalena, PAILLUSSON, Sébastien, POUCKET, Hélène et NEUNLIST, Michel. Biopsable Neural Tissues: Toward New Biomarkers for Parkinson's Disease? *Frontiers in Psychiatry* [en ligne]. 2010. Vol. 1. [Consulté le 8 octobre 2020]. DOI 10.3389/fpsy.2010.00128. Disponible à l'adresse : <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpsy.2010.00128/abstract>
236. BRAAK, H., ROB, U., GAI, W. P. et DEL TREDICI, K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *Journal of Neural Transmission*. 1 mai 2003. Vol. 110, n° 5, pp. 517-536. DOI 10.1007/s00702-002-0808-2.
237. CNRS - Informations aux laboratoires. [en ligne]. [Consulté le 29 août 2020]. Disponible à l'adresse : <http://www.cnrs.fr/infoslabos/reglementation/CGGanimaux.htm>
238. BROOKS, Dina et STRATFORD, Paul. Les études pilotes : déterminer si elles peuvent être publiées. *Physiotherapy Canada*. avril 2009. Vol. 61, n° 2, pp. 67-67. DOI 10.3138/physio.61.2.67.
239. KRAMER, Robin et BURNS, Monika. Normal Clinical and Biological Parameters of the Common Marmoset (*Callithrix jacchus*). In : *The Common Marmoset in Captivity and Biomedical Research* [en ligne]. Elsevier, 2019.

pp. 93-107. [Consulté le 18 novembre 2020]. ISBN 978-0-12-811829-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128118290000066>

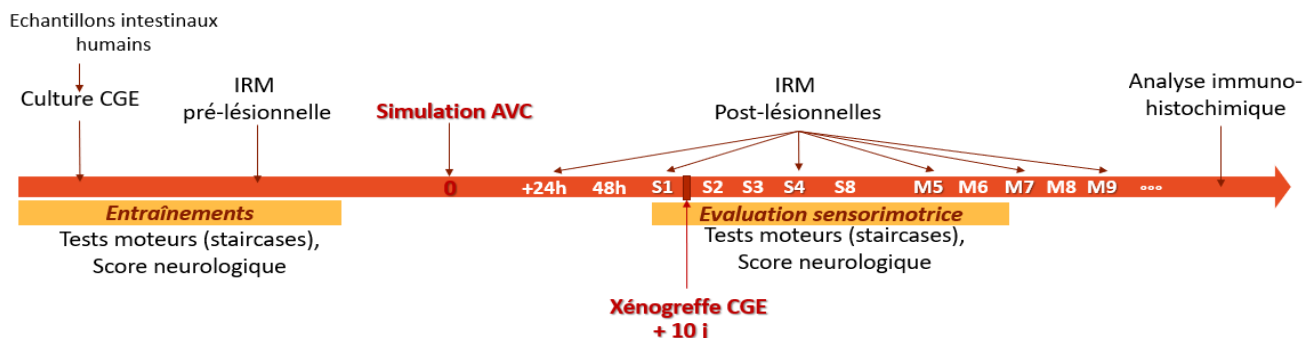
240. SCHÄFER, Karl-Herbert, SAFFREY, M.Jill, BURNSTOCK, Geoffrey et MESTRES-VENTURA, Pedro. A new method for the isolation of myenteric plexus from the newborn rat gastrointestinal tract. *Brain Research Protocols*. mai 1997. Vol. 1, n° 2, pp. 109-113. DOI 10.1016/S1385-299X(96)00017-7.
241. ACCILI, Eric A et BUCHAN, Alison M J. Primary Cell Culture of Human Enteric Neurons. . 1996. pp. 11. DOI 10.1385/0-89603-335-X:357.
242. LINGE, C, GREEN, M et BROOKS, R. A method for removal of fibroblasts from human tissue culture systems. *Experimental Cell Research*. décembre 1989. Vol. 185, n° 2, pp. 519-528. DOI 10.1016/0014-4827(89)90320-0.
243. REYNOLDS, B. et WEISS, S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science*. 27 mars 1992. Vol. 255, n° 5052, pp. 1707-1710. DOI 10.1126/science.1553558.
244. AZARI, Hassan, RAHMAN, Maryam, SHARIFIFAR, Sharareh et REYNOLDS, Brent A. Isolation and Expansion of the Adult Mouse Neural Stem Cells Using the Neurosphere Assay. *Journal of Visualized Experiments*. 20 novembre 2010. N° 45, pp. 2393. DOI 10.3791/2393.
245. PACEY, Laura, STEAD, Shelley, GLEAVE, Jacqueline, TOMCZYK, Kasia et DOERING, Laurie. Neural Stem Cell Culture: Neurosphere generation, microscopical analysis and cryopreservation. *Protocol Exchange* [en ligne]. 25 août 2006. [Consulté le 3 novembre 2020]. DOI 10.1038/nprot.2006.215. Disponible à l'adresse : <http://www.nature.com/protocolexchange/protocols/77>
246. LENDAHL, Urban, ZIMMERMAN, Lyle B. et MCKAY, Ronald D.G. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. *Cell*. février 1990. Vol. 60, n° 4, pp. 585-595. DOI 10.1016/0092-8674(90)90662-X.
247. WIESE, C., ROLLETSCHEK, A., KANIA, G. et BLYSZCZUK, P. Nestin expression a property of multi-lineage progenitor cells? *Cellular and Molecular Life Sciences*. octobre 2004. Vol. 61, n° 19-20, pp. 2510-2522. DOI 10.1007/s00018-004-4144-6.
248. SHI, Huilin, CUI, Hongjuan, ALAM, Goleeta, GUNNING, William T. et NESTOR, Andrea. Nestin expression defines both glial and neuronal progenitors in postnatal sympathetic ganglia. *The Journal of Comparative Neurology*. 20 juin 2008. Vol. 508, n° 6, pp. 867-878. DOI 10.1002/cne.21719.
249. BELKIND-GERSON, J., CARREON-RODRIGUEZ, A., BENEDICT, L. Andrew et STEIGER, C. Nestin-expressing cells in the gut give rise to enteric neurons and glial cells: Nestin gut cells give rise to neurons and glia. *Neurogastroenterology & Motility*. janvier 2013. Vol. 25, n° 1, pp. 61-e7. DOI 10.1111/nmo.12015.
250. SULLIVAN, K. F. et CLEVELAND, D. W. Identification of conserved isotype-defining variable region sequences for four vertebrate beta tubulin polypeptide classes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1 juin 1986. Vol. 83, n° 12, pp. 4327-4331. DOI 10.1073/pnas.83.12.4327.
251. KATSETOS, Christos D., DEL VALLE, Luis, GEDDES, Jennian F., ALDAPE, Ken et BOYD, James C. Localization of the Neuronal Class III β -Tubulin in Oligodendrogliomas: Comparison with Ki-67 Proliferative Index and 1p/19q Status. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. avril 2002. Vol. 61, n° 4, pp. 307-320. DOI 10.1093/jnen/61.4.307.
252. LEE, Michael K., TUTTLE, Jeremy B., REBHUN, Lionel I., CLEVELAND, Don W. et FRANKFURTER, Anthony. The expression and posttranslational modification of a neuron-specific β -Tubulin isotype during chick embryogenesis. *Cell Motility and the Cytoskeleton*. 1990. Vol. 17, n° 2, pp. 118-132. DOI 10.1002/cm.970170207.
253. YANG, Zihui et WANG, Kevin K.W. Glial fibrillary acidic protein: from intermediate filament assembly and gliosis to neurobiomarker. *Trends in Neurosciences*. juin 2015. Vol. 38, n° 6, pp. 364-374. DOI 10.1016/j.tins.2015.04.003.
254. KIM, Jaesang, LO, Liching, DORMAND, Emma et ANDERSON, David J. SOX10 Maintains Multipotency and Inhibits Neuronal Differentiation of Neural Crest Stem Cells. *Neuron*. avril 2003. Vol. 38, n° 1, pp. 17-31. DOI 10.1016/S0896-6273(03)00163-6.

255. CHAZOTTE, B. Labeling Nuclear DNA Using DAPI. *Cold Spring Harbor Protocols*. 1 janvier 2011. Vol. 2011, n° 1, pp. pdb.prot5556-pdb.prot5556. DOI 10.1101/pdb.prot5556.
256. CONNOR, David E., CHITTIBOINA, Prashant et NANDA, Anil. From Pergamon to Army Base Hospital No. 5: the history and significance of the galea aponeurotica in the evolution of neurosurgery: Historical vignette. *Journal of Neurosurgery*. août 2014. Vol. 121, n° 2, pp. 333-337. DOI 10.3171/2014.3.JNS13148.
257. PAXINOS, George, WATSON, Charles, PETRIDES, Michael, ROSA, Marcello et TOKUNO, Hironobu. *The marmoset brain in stereotaxic coordinates*. San Diego : Elsevier Science, 2012. ISBN 978-0-12-415818-4.
258. RAPOLIENĖ, Jolita, ENDZELYTĖ, Erika, JASEVIČIENĖ, Indrė et SAVICKAS, Raimondas. Stroke Patients Motivation Influence on the Effectiveness of Occupational Therapy. *Rehabilitation Research and Practice*. 30 juillet 2018. Vol. 2018, pp. 1-7. DOI 10.1155/2018/9367942.
259. PLATT, Jeffrey L. Graft Acceptance and Rejection. In : SCHWAB, Manfred (éd.), *Encyclopedic Reference of Cancer* [en ligne]. Berlin/Heidelberg : Springer-Verlag, 2001. pp. 372-374. [Consulté le 6 novembre 2020]. ISBN 978-3-540-66527-4. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/3-540-30683-8_680
260. BARKER, Roger A et WIDNER, Håkan. Immune Problems in Central Nervous System Cell Therapy. . 2004. Vol. 1, n° 4, pp. 10.
261. CICCHETTI, F., FODOR, W., DEACON, T. W. et VAN HORNE, C. Immune parameters relevant to neural xenograft survival in the primate brain: Transgenic xenotransplantation and complement inhibition. *Xenotransplantation*. janvier 2003. Vol. 10, n° 1, pp. 41-49. DOI 10.1034/j.1399-3089.2003.01130.x.
262. FAINSTEIN, Nina et BEN-HUR, Tamir. Brain Region-Dependent Rejection of Neural Precursor Cell Transplants. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 30 avril 2018. Vol. 11, pp. 136. DOI 10.3389/fnmol.2018.00136.
263. VEIZOVIC, Tina, BEECH, John S., STROEMER, R. Paul, WATSON, William P. et HODGES, Helen. Resolution of Stroke Deficits Following Contralateral Grafts of Conditionally Immortal Neuroepithelial Stem Cells. *Stroke*. avril 2001. Vol. 32, n° 4, pp. 1012-1019. DOI 10.1161/01.STR.32.4.1012.
264. CORNET, A., SAVIDGE, T. C., CABARROCAS, J. et DENG, W.-L. Enterocolitis induced by autoimmune targeting of enteric glial cells: A possible mechanism in Crohn's disease? *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 6 novembre 2001. Vol. 98, n° 23, pp. 13306-13311. DOI 10.1073/pnas.231474098.
265. GEBOES, Karel, RUTGEERTS, Paul, ECTORS, Nadine et MEBIS, Jos. Major histocompatibility class II expression on the small intestinal nervous system in Crohn's disease. *Gastroenterology*. août 1992. Vol. 103, n° 2, pp. 439-447. DOI 10.1016/0016-5085(92)90832-J.
266. RUHL, A., NASSER, Y. et SHARKEY, K. A. Enteric glia. *Neurogastroenterology and Motility*. avril 2004. Vol. 16, n° s1, pp. 44-49. DOI 10.1111/j.1743-3150.2004.00474.x.
267. CHOW, Aaron K. et GULBRANSEN, Brian D. Potential roles of enteric glia in bridging neuroimmune communication in the gut. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1 février 2017. Vol. 312, n° 2, pp. G145-G152. DOI 10.1152/ajpgi.00384.2016.
268. IBIZA, Sales, GARCÍA-CASSANI, Bethania, RIBEIRO, Hélder et CARVALHO, Tânia. Glial-cell-derived neuroregulators control type 3 innate lymphoid cells and gut defence. *Nature*. juillet 2016. Vol. 535, n° 7612, pp. 440-443. DOI 10.1038/nature18644.
269. HAO, Marlene M. A gut feeling about new therapies for glioma treatment. [en ligne]. 2018. [Consulté le 6 novembre 2020]. Disponible à l'adresse : <https://biomedicalsciences.unimelb.edu.au/news-and-events/archive-news/a-gut-feeling-about-new-therapies-for-glioma-treatment>
270. NEUNLIST, M., AUBERT, P., BONNAUD, S. et VAN LANDEGHEM, L. Enteric glia inhibit intestinal epithelial cell proliferation partly through a TGF- β -dependent pathway. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. janvier 2007. Vol. 292, n° 1, pp. G231-G241. DOI 10.1152/ajpgi.00276.2005.
271. MOLLAH, Naziruddin, BAKI, Abdul, AFZAL, Nur et HOSSEN, Akram. Clinical and Pathological Characteristics of Brain Tumor. *Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University Journal*. 11 février 2011. Vol. 3, n° 2, pp. 68-71. DOI 10.3329/bsmmuj.v3i2.7054.

272. MEHNDIRATTA, Amit et L, Frederik. Brain Tumour Imaging. In : ABUJAMRA, Ana Lucia (éd.), *Diagnostic Techniques and Surgical Management of Brain Tumors* [en ligne]. InTech, 2011. [Consulté le 6 novembre 2020]. ISBN 978-953-307-589-1. Disponible à l'adresse : <http://www.intechopen.com/books/diagnostic-techniques-and-surgical-management-of-brain-tumors/brain-tumour-imaging>
273. KAWAI, Hiromi, YAMASHITA, Toru, OHTA, Yasuyuki et DEGUCHI, Kentaro. Tridermal Tumorigenesis of Induced Pluripotent Stem Cells Transplanted in Ischemic Brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. août 2010. Vol. 30, n° 8, pp. 1487-1493. DOI 10.1038/jcbfm.2010.32.
274. AMARIGLIO, Ninette, HIRSHBERG, Abraham, SCHEITHAUER, Bernd W, COHEN, Yoram et LOEWENTHAL, Ron. Donor-Derived Brain Tumor Following Neural Stem Cell Transplantation in an Ataxia Telangiectasia Patient. *PLoS Medicine*. 17 février 2009. Vol. 6, n° 2, pp. e1000029. DOI 10.1371/journal.pmed.1000029.
275. FU, Wei, WANG, Shu Jun, ZHOU, Guang Dong, LIU, Wei et CAO, Yilin. Residual Undifferentiated Cells During Differentiation of Induced Pluripotent Stem Cells In Vitro and In Vivo. *Stem Cells and Development*. mars 2012. Vol. 21, n° 4, pp. 521-529. DOI 10.1089/scd.2011.0131.
276. ESPOSITO, Giuseppe, SARNELLI, Giovanni, CAPOCCIA, Elena et CIRILLO, Carla. Autologous transplantation of intestine-isolated glia cells improves neuropathology and restores cognitive deficits in β amyloid-induced neurodegeneration. *Scientific Reports*. septembre 2016. Vol. 6, n° 1, pp. 22605. DOI 10.1038/srep22605.
277. STEINKAMP, Martin, GUNDEL, Heike, SCHULTE, Nadine et SPANIOL, Ulrike. GDNF protects enteric glia from apoptosis: evidence for an autocrine loop. *BMC Gastroenterology*. décembre 2012. Vol. 12, n° 1, pp. 6. DOI 10.1186/1471-230X-12-6.
278. ASATO, Reinin, OKUMURA, Ryosuke et KONISHI, Jun'ji. "Fogging Effect" in MR of Cerebral Infarct: *Journal of Computer Assisted Tomography*. janvier 1991. Vol. 15, n° 1, pp. 160-162. DOI 10.1097/00004728-199101000-00029.
279. VIRLEY, David, BEECH, John S., SMART, Sean C. et WILLIAMS, Steve C. R. A Temporal MRI Assessment of Neuropathology after Transient Middle Cerebral Artery Occlusion in the Rat: Correlations with Behavior. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. mars 2000. Vol. 20, n° 3, pp. 563-582. DOI 10.1097/00004647-200003000-00015.
280. MARSHALL, J. Serial MRI, functional recovery, and long-term infarct maturation in a non-human primate model of stroke. *Brain Research Bulletin*. 15 octobre 2003. Vol. 61, n° 6, pp. 577-585. DOI 10.1016/S0361-9230(03)00214-4.
281. HARRIS, Taylor C., DE ROOIJ, Rijk et KUHL, Ellen. The Shrinking Brain: Cerebral Atrophy Following Traumatic Brain Injury. *Annals of Biomedical Engineering*. septembre 2019. Vol. 47, n° 9, pp. 1941-1959. DOI 10.1007/s10439-018-02148-2.
282. HAQUE, Muhammad E., GABR, Refaat E., HASAN, Khader M., GEORGE, Sarah et AREVALO, Octavio D. Ongoing Secondary Degeneration of the Limbic System in Patients With Ischemic Stroke: A Longitudinal MRI Study. *Frontiers in Neurology*. 5 mars 2019. Vol. 10, pp. 154. DOI 10.3389/fneur.2019.00154.
283. STEBBINS, Glenn T., NYENHUIS, David L., WANG, Changsheng, COX, Jennifer L. et FREELS, Sally. Gray Matter Atrophy in Patients With Ischemic Stroke With Cognitive Impairment. *Stroke*. mars 2008. Vol. 39, n° 3, pp. 785-793. DOI 10.1161/STROKEAHA.107.507392.
284. NUDO, Randolph J, FRIEL, Kathleen M et DELIA, Steven W. Role of sensory deficits in motor impairments after injury to primary motor cortex. *Neuropharmacology*. avril 2000. Vol. 39, n° 5, pp. 733-742. DOI 10.1016/S0028-3908(99)00254-3.
285. NUDO, Randolph J. Functional and structural plasticity in motor cortex: implications for stroke recovery. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*. février 2003. Vol. 14, n° 1, pp. S57-S76. DOI 10.1016/S1047-9651(02)00054-2.
286. PUENTES, S., KAIDO, T., HANAKAWA, T., ICHINOHE, N. et OTSUKI, T. Internal capsule stroke in the common marmoset. *Neuroscience*. janvier 2015. Vol. 284, pp. 400-411. DOI 10.1016/j.neuroscience.2014.10.015.

287. TEW, Elizabeth M.M., ANDERSON, Patrick N. et BURNSTOCK, Geoffrey. Implantation of the myenteric plexus into the corpus striatum of adult rats: survival of the neurons and glia and interactions with host brain. *Restorative Neurology and Neuroscience*. 1992. Vol. 4, n° 5, pp. 311-321. DOI 10.3233/RNN-1992-4502.
288. TEW, Elizabeth M.M., ANDERSON, Patrick N., SAFFREY, M.Jill et BURNSTOCK, Geoffrey. Transplantation of the Postnatal Rat Myenteric Plexus into the Adult Rat Corpus Striatum: An Electron Microscopic Study. *Experimental Neurology*. septembre 1994. Vol. 129, n° 1, pp. 120-129. DOI 10.1006/exnr.1994.1153.
289. O'LEARY, M. T et BLAKEMORE, W. F. Use of a rat Y chromosome probe to determine the long-term survival of glial cells transplanted into areas of CNS demyelination. *Journal of Neurocytology*. 1997. Vol. 26, n° 4, pp. 191-206. DOI 10.1023/A:1018536130578.
290. ZHANG, Kuan, CHEN, Chunhai, YANG, Zhiqi et HE, Wenjing. Sensory Response of Transplanted Astrocytes in Adult Mammalian Cortex In Vivo. *Cerebral Cortex*. septembre 2016. Vol. 26, n° 9, pp. 3690–3704. DOI 10.1093/cercor/bhw213.
291. SUVARNA, S. Kim, LAYTON, Christopher et BANCROFT, John D. *Bancroft's theory and practice of histological techniques* [en ligne]. 2019. [Consulté le 19 octobre 2020]. ISBN 978-0-7020-6886-7. Disponible à l'adresse : <https://www.clinicalkey.com/dura/browse/bookChapter/3-s2.0-C20150001435>
292. ZENG, Wen, YUAN, Wei, LI, Li, MI, Jianhong et XU, Shangcheng. The promotion of endothelial progenitor cells recruitment by nerve growth factors in tissue-engineered blood vessels. *Biomaterials*. mars 2010. Vol. 31, n° 7, pp. 1636-1645. DOI 10.1016/j.biomaterials.2009.11.037.
293. HERAN, F., DESCHAMPS, R., GOUT, O., LAFITTE, F. et PIEKARSKI, J.-D. Imagerie par résonance magnétique pratique à l'usage des neurologues. *EMC - Neurologie*. janvier 2009. Vol. 6, n° 2, pp. 1-17. DOI 10.1016/S0246-0378(09)47021-0.

Annexes



Annexe 1 Frise chronologique du projet d'étude. L'intégralité des événements mentionnés du protocole est établie pour le sujet bénéficiant de la xéno greffe de CGE suite à la lésion cérébrale (injection de malonate).

Pré-opératoire			
Médicament	Voie d'administration	Posologie	Dose administrée (ml)
Tolfedine ®, Vetoquinol	IM	1 mg/kg	0,04
Robinul-V®, Vetoquinol	IM	20 µg/kg	0,02
Alfaxan®, Dechra	IM	7 mg/kg	0,3
Dexadreson®, Intervet	IM	2 mg/kg	0,4
Laocaïne®, Intervet	SC		0,015
Terramycine longue action®, Pfizer	IM	20 µg/kg	0,04
Barres d'oreille et sonde anale : Xylocaïne 2% ® gel (chlorhydrate de lidocaïne), Aspen Pharma			
Per-opératoire			
Vetflurane ® (isoflurane), Virbac 1-3%			
Nettoyage de plaie : Bétadine ® (povidone iodée), Méda Pharma			
Si arrêt respiratoire			
Dopram ® (doxapram), Vetoquinol	IN	2 gouttes	+ massage cardiaque
Si insuffisant			
Dopram ® (doxapram), Vetoquinol	IV, SC ou IP	0.87 mg/kg	0,035
Post-opératoire			
Injection stéréotaxique (malonate/DPBS)			
Dexadreson®, Intervet	IM	1 mg/kg SID 3 jours	0,2
Transplantation CGE			
Dexadreson®, Intervet	IM	1 mg/kg SID 2 jours	0,2
Si prostration, anorexie			
Dexadreson®, Intervet	IM	2 mg/kg	0,4
Si algie marquée			
Vetergesic ® (buprénorphine), Céva	IM	25 µg/kg	0,025
Si crise épileptiforme			
Keppra ® (lévétiracétam), UCB Pharma	IM	8.3 mg/kg	0,029
Nettoyage de plaie : Bétadine ® (povidone iodée), Méda Pharma			
Prurit : Predniderm ® (prednisolone), Vetoquinol et Cothivet ® (huiles essentielles), Vetoquinol			

Annexe 2 Tableau récapitulatif de la médication utilisée lors des interventions chirurgicales.

Le tableau répertorie également les procédures à suivre en cas de survenue d' « accidents » per ou post-opératoires (arrêt respiratoire, prostration, algie marquée, crise épileptiforme). Pour l'étude, aucun recours aux procédures d'urgence n'a été nécessaire. *IM* : Intramusculaire, *SC* : Sous-cutanée, *In* : Intranasale, *IV* : Intraveineuse, *IP* : Intrapéritonéale, *SID* : Single In Day Une fois par jour, *DPBS* : Solution tampon de Phosphate de Dulbecco, *CGE* : Cellule gliale entérique.

Séquence	Hypersignal	Hyposignal
T1	Graisse	Eau
	Sang frais	Air
	Liquide riche en protides	Os
	Vaisseaux à flux lent	Tumeurs
	Calcifications	
T2	Liquide, œdème	Air
	Graisse	Os
	Dégénérescence (perte myélinique)	Sang (frais)
	Cicatrice	Liquides riches en protides
	Sang	Gliose, Fibrose
	Tumeurs	
FLAIR	Graisse	Liquide (LCS)
	Œdème	
	Cicatrice	
	Anomalie de myéline (démýélinisation)	
	Artefact de flux	
	Tumeurs	

Annexe 3 Associations anatomiques de l'intensité des signaux (hyposignal et hypersignal) des IRM. Les données sont fournies pour les IRM en pondération T1, T2 et la séquence FLAIR. *Adapté de* (293).

Date (post-lésion)	Examens à distance et observations cliniques (marmouset greffé)
Chirurgies	Réveils rapides et plutôt calmes.
1 semaine	Hémi-parésie gauche, avec boiterie de soutien du membre pelvien controlésionnel. Asymétrie faciale. Défaut de sensibilité des membres controlésionnels (toucher/piquer). Défaut de proprioception des membres controlésionnels (malposition à l'arrêt avec la face dorsale des extrémités posée sur le sol, grattages avec le membre pelvien percutant la tête plusieurs fois ou ne touchant pas le corps).
2 semaines	Bonne vigilance. Utilisation volontaire des dispositifs d'évaluation sensorimotrice (staircases), avec mobilisation du membre thoracique déficitaire sans succès de préhension. Amyotrophie des membres de l'hémicorps controlésionnel.
3 semaines	Persistance des difficultés masticatoires du côté controlésionnel. Amélioration de la proprioception du membre thoracique controlésionnel.
1 mois	Augmentation croissante de l'investissement dans la réalisation des tests. Reprise d'un appétit normal. Foraging et prise alimentaire avec le membre thoracique ipsilésionnel de manière préférentielle. Amélioration des déplacements (motilité, grimpée).
5 mois	Persistance du défaut proprioceptif des membres thoracique et pelvien controlésionnels. Récupération partielle d'une force de traction du membre thoracique déficitaire.
6 mois	Utilisation du membre thoracique déficitaire pour la préhension des aliments. Récupération motrice du membre pelvien controlésionnel, associée à une récupération sensitive partielle, très légère en face dorsale.
7 mois	Meilleur état général (qualité du pelage, toilettage).
8 mois	Bon état général. Amélioration de la force et de la dextérité du membre thoracique déficitaire (préhension et traction d'une tigette en plexiglass).

Annexe 4 Evolution de l'état clinique du marmouset greffé.

**TITRE: THERAPIE CELLULAIRE DANS UN MODELE D'ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL
CHEZ LE MARMOUSET (*Callithrix Jacchus*):**

Le système nerveux entérique comme source cellulaire alternative

Résumé: Les accidents vasculaires cérébraux peuvent être à l'origine de déficits fonctionnels sévères et chroniques. Pourtant, à l'exception de la physiothérapie, aucune thérapie efficace n'est disponible, à ce jour. La médecine régénérative demeure néanmoins prometteuse. De nombreux essais précliniques et cliniques tentent d'identifier la source et le type de cellules les plus satisfaisants. Dans cette étude pilote, une nouvelle source cellulaire pour la réalisation de transplantations est proposée, le système nerveux entérique. Ce dernier contient les cellules gliales entériques (CGE) présentant un potentiel neurogénique, que nous avons démontré *in vitro*. Dans le cadre d'un modèle marmouset de lésion cérébrale, les effets structurels et fonctionnels de la greffe de CGE sont évalués, par neuroimagerie (IRM) et tests sensorimoteurs, respectivement. Les résultats révèlent une diminution significative du volume lésionnel en phase subaiguë, à un mois post-lésionnel. De plus, aucun phénomène de rejet de greffe ou tumoral n'est rapporté. Cependant, aucun effet sur la récupération de la dextérité du membre déficitaire n'est constaté. Bien que nécessitant d'être confirmée, cette étude pilote apporte la preuve de la faisabilité, la sécurité et l'efficacité d'une transplantation intracérébrale de CGE sur un modèle marmouset de lésion cérébrale jusqu'à 9 mois suivant la greffe.

Mots-clés : accident vasculaire cérébral (AVC), cellules gliales entériques (CGE), marmouset, thérapie cellulaire, imagerie par résonance magnétique (IRM), comportement

**TITLE: CELL THERAPY IN A PRECLINICAL (*Callithrix Jacchus*) MODEL OF STROKE:
The enteric nervous system as an alternative source of cells**

Abstract: Stroke can cause severe and chronic functional deficits in patients. Yet, except for motor rehabilitation, no effective therapy is available to date. Regenerative medicine remains nevertheless promising. Many preclinical and clinical trials attempt to identify the most efficient source and type of cells. In this pilot study, a new cellular source is proposed, the enteric nervous system. The latter contains enteric glial cells (EGC) with neurogenic potential, which we have demonstrated *in vitro*. In a marmoset model of stroke, the structural and functional effects of EGC transplantation are assessed, by neuroimaging (MRI) and sensorimotor tests, respectively. The results from the MRI reveal a significant decrease in lesion volume in the subacute phase, one month post-lesion. In addition, any sign of graft rejection or tumor formation has been reported. However, there is no effect on the recovery of dexterity in the affected hand. Although it needs to be confirmed, this pilot study provides proof of the feasibility, safety and efficacy of intracerebral transplantation of EGC on a marmoset model of stroke up to 9 months post-transplant.

Keywords: cerebrovascular accident (stroke), marmoset, enteric glial cells (EGC), cell therapy, magnetic resonance imaging (MRI), behavior